

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Bactériologie	15BAC1	Mai 2015
----------------------	---------------	-----------------

Identification bactérienne : *Aerococcus urinae* et *Actinobaculum schaalii*
Antibiogramme : *E. coli* CTX-M-15 + imperméabilité et *E. coli* OXA-48

Jun 2016

Vincent CATTOIR (Caen)
Christophe de CHAMPS (Reims)
Muriel FROMAGE (Ansm)
Gérard LINA (Lyon)

Expédition : 20 mai 2015

Clôture : 15 juin 2015

Edition des compte-rendus individuels : 08 septembre 2015

Paramètres contrôlés :

Identification bactérienne : *Aerococcus urinae* et *Actinotignum (Actinobaculum) schaalii*

Antibiogramme : *Escherichia coli* (CTX-M-15 + imperméabilité) et *E. coli* OXA-48

Nombre de laboratoires concernés* : 1077

Nombre de laboratoires participants** : 1026

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

** Laboratoires ayant saisi leurs résultats sur internet avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

Cette opération de contrôle comportait deux souches lyophilisées à identifier : *Aerococcus urinae* et *Actinotignum (Actinobaculum) schaalii*, deux uropathogènes émergents dont la prévalence dans les infections urinaires est sous-estimée. En effet, les conditions de culture habituellement utilisées lors de l'examen bactériologique des urines ne leur sont pas favorables. Par conséquent, il est nécessaire de les évoquer en cas d'infection urinaire chez un patient âgé avec des facteurs prédisposants, en présence de nombreux cocci Gram + en amas ou de bacilles Gram + à l'examen direct, d'une leucocyturie significative et d'une uroculture « stérile » et/ou une absence de réponse clinique à un traitement empirique à la ciprofloxacine ou au cotrimoxazole. Dans ce cas, il est nécessaire de réaliser une culture sur gélose au sang de mouton en anaérobiose ou sous 5% CO₂ pendant au moins 48H, d'effectuer l'identification par Maldi-tof (seule technique autre que la biologie moléculaire à identifier *A. schaalii*) et de traiter par des β-lactamines.

On note une nette progression des performances de l'identification de l'espèce *A. urinae* avec 85% de diagnostics corrects, soit + 67% par rapport à l'envoi précédent en 2002. En revanche, *A. schaalii*, proposé pour la première fois dans le cadre du CNQ a été identifié par seulement 30% des participants, car cette espèce ne fait pas encore partie des bases de données des galeries et des automates d'identification majoritairement utilisés dans les LBM.

En ce qui concerne l'antibiogramme, deux souches lyophilisées d'*Escherichia coli* de sensibilité diminuée (I ou R) à au moins un carbapénème ont été proposées. Chez les entérobactéries, la résistance aux carbapénèmes est majoritairement due à une association de mécanismes de résistance (céphalosporinase et/ou BLSE associée à une perte de perméabilité membranaire) et plus rarement à l'acquisition de gènes codant pour des carbapénémases. L'émergence et la dissémination des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) est un problème de santé publique. C'est pourquoi, toute diminution de la sensibilité aux carbapénèmes sur l'antibiogramme doit faire suspecter une carbapénémase dont la présence éventuelle, si elle est confirmée par des tests complémentaires, doit être signalée à l'ARS.

La souche du lot 1, résistante à l'ertapénème (CMI = 3-4 mg/L) et sensible à l'imipénème (CMI = 0,75 mg/L), produisait une β-lactamase à spectre étendu (BLSE) du groupe CTX-M-15 associée à une imperméabilité. Près de neuf LBM sur dix ont détecté la BLSE. En revanche, seul un LBM sur cinq a rendu le diagnostic attendu « BLSE + imperméabilité ». Enfin, 44% ont indiqué « carbapénémase » (soit seule soit associée à un autre mécanisme de résistance), ce qui montre la nécessité de confirmer qu'il s'agit bien d'une carbapénémase et de l'identifier afin d'éviter tout surdiagnostic.

La souche du lot 2, résistante ou intermédiaire à une dilution près à l'ertapénème (CMI = 2-3 mg/L) et sensible ou intermédiaire à une dilution près à l'imipénème (CMI = 1,5-2 mg/L) produisait une carbapénémase OXA-48, la plus fréquente en France. Près d'un LBM sur huit a signalé la présence d'une carbapénémase, ce qui est un bon score étant donné le phénotype de résistance des souches productrices d'OXA-48 qui peut être inhabituel (CMI des carbapénèmes basses ou à la limite des concentrations critiques).

Identification bactérienne

Définition des échantillons

Bactérie (origine)	N° des échantillons	Renseignements cliniques
<i>Aerococcus urinae</i> (CHU Caen)	176, 220, 314, 361, 462, 543, 579, 935.	Monsieur X âgé de 78 ans, avec un antécédent de cancer de la prostate, présente tous les signes d'infection urinaire masculine. A noter que le patient n'a pas de sonde vésicale. Un ECBU est réalisé dont l'examen direct montre la présence de nombreuses bactéries à Gram positif et une leucocyturie supérieure à 10 ⁵ /mL. La culture sur gélose au sang met en évidence une bactérie en quantité importante (10 ⁶ UFC/mL) après 48 heures d'incubation en anaérobiose à 35°C.
<i>Actinobaculum schaalii</i> (CHU Caen)	124, 417, 480, 657, 744, 779, 891, 926.	

Résultats des participants

Le bilan des identifications bactériennes transmises par les laboratoires participants ainsi que les techniques d'identification utilisées (Maldi-Tof, biologie moléculaire, galerie, automate ou autre) sont présentés dans les tableaux I et II.

Les résultats obtenus lors de l'envoi précédent en 2002 d'une souche d'*Aerococcus urinae* sont rapportés dans le tableau III. C'était la première fois, en 2015, qu'une souche d'*Actinobaculum schaalii* était proposée dans le cadre du CNQ.

tableau I - identification des souches bactériennes : fréquence des résultats

Réponse attendue	Genre exact				Genre faux	Absence de diagnostic	Total identifications
	espèce exacte	espèce fautive	espèce non précisée	total			
<i>A. urinae</i>	411 (85,3%)	2 (0,4%)	5 (1%)	418 (86,7%)	58 (12%) ^(a)	7 (1,3%)	483
<i>A. schaalii</i>	145 (29,7%)	-	12 (2,5%)	157 (32,2%)	271 (55,5%) ^(b)	60 (12,3%)	488

^(a) : dont 18 streptocoques, 9 *Granulicatella adiacens*, 8 *Anaerococcus prevotii*, 5 entérocoques, 5 *Gemella*

^(b) : dont 109 *Actinomyces meyeri*, 28 *Aerococcus* divers, 18 *Granulicatella adiacens*, 17 streptocoques divers, 14 *Gardnerella vaginalis*, 12 *Arcanobacterium* divers, 12 *Kocuria kristinae*, 11 corynebactéries divers

tableau II - technique ou combinaison de techniques utilisée(s) selon la souche à identifier

Maldi-Tof	PCR	galerie	automate	autre	<i>A. urinae</i> (%)	<i>A. schaalii</i> (%)
			x		238 (49,3)	163 (33,4)
		x			99 (20,5)	108 (22,1)
x				x	89 (18,4)	79 (16,2)
					18 (3,7)	26 (5,3)
		x	x		21 (4,4)	16 (3,3)
x			x		7 (1,5)	10 (2,1)
		x		x	2 (0,4)	7 (1,4)
			x	x	1 (0,2)	7 (1,4)
x		x			1 (0,2)	6 (1,2)
x		x	x	x	0	3 (0,6)
	x				0	3 (0,6)
x	x				0	1 (0,2)
x	x		x		0	1 (0,2)
		x	x	x	0	1 (0,2)
x		x	x		1 (0,2)	0
x				x	1 (0,2)	0
technique non précisée					5 (1,0)	57 (11,7)
Total					483	488

tableau III - bilan des deux opérations de contrôle « *Aerococcus urinae* ».

année	effectif	espèce exacte (%)	espèce fautive (%)	espèce non précisée (%)	genre exact (%)	genre faux (%)	absence de diagnostic (%)
2015	483	85,3	0,4	1	86,7	12	1,3
2002	900	18	5	5	28	67	5

Commentaires

1 - *Aerococcus urinae*

La famille des *Aerococcaceae* comprend les genres *Aerococcus*, *Abiotrophia*, *Facklamia* et les « genres mineurs » *Dolosicoccus*, *Emerococcus*, *Globicatella* et *Ignavigranum*.

En ce qui concerne le genre *Aerococcus*, jusqu'au début des années 90, *A. viridans* était la seule espèce à être décrite dans les prélèvements humains. Depuis, quatre autres espèces isolées chez l'homme (H) et trois isolées chez l'animal (A) ont été décrites : *A. urinae* (H), *A. christensii* (H), *A. urinaehominis* (H), *A. sanguinicola* (H), *A. urinae equi* (A), *A. suis* (A) et *A. vaginalis* (A).

Aerococcus urinae et *A. sanguinicola* (moins fréquent) sont des pathogènes « émergents » isolés d'infections urinaires chez des sujets âgés, ainsi que dans des bactériémies/septicémies à point de départ urinaire qui peuvent être associées dans un tiers des cas à une endocardite.

Ce sont des cocci à Gram positif, α -hémolytiques, catalase négative souvent confondus avec les streptocoques bien qu'ils ne soient pas disposés en chainettes.

Les galeries et les automates qui ne comportaient pas l'espèce *A. urinae* dans leur base de données ont longtemps conduit à des identifications invalides ou fausses comme l'ont montré les résultats de l'opération de contrôle de 2002 avec seulement 18% et 28% de diagnostics exacts d'espèce et de genre. En 2015, les performances se sont nettement améliorées car 88% des utilisateurs d'un automate et 76% des utilisateurs d'une galerie ont répondu *A. urinae*. On note également 100% de bonnes réponses en biologie moléculaire et en Maldi-Tof. Avec cette dernière technique, les LBM ont maintenant accès à une méthode rapide et efficace d'identification des *Aerococcus*.

Pour rappel, les caractères phénotypiques d'identification d'*Aerococcus urinae* sont les suivants :

- croissance sur gélose au sang à 37°C favorisée sous 5% de CO₂
- petites colonies, α -hémolytiques, catalase négative
- cocci à Gram positif, en amas, en tétrades, en paires (pas de chainettes)
- croissance en milieu hypersalé (NaCl 6,5%)
- ADH (-), VP (-), hippurate (+), vancomycine Sensible
- pyrrolidonyl aminopeptidase : PYR (-), leucine aminopeptidase : LAP (+)
- β -glucuronidase (+), β -galactosidase (-)
- fermentation : glucose (+), saccharose (+), lactose (-), tréhalose (-), raffinose (-).

2 - *Actinobaculum schaalii*

Le genre *Actinobaculum* décrit pour la première fois en 1997 fait partie avec cinq autres genres (*Actinomyces*, *Arcanobacterium*, *Trueperella*, *Mobiluncus* et *Varibaculum*) de la famille des *Actinomycetaceae* et comportait, jusqu'en 2015, quatre espèces : *A. schaalii*, *A. suis*, *A. massiliense* et *A. urinale*. Depuis, *A. schaalii* et *A. urinale* ont été reclassés dans le nouveau genre *Actinotignum* qui comprend également une nouvelle espèce *Actinotignum sanguinis*.

Actinotignum (Actinobaculum) schaalii est un bacille à Gram positif, commensal du tractus génito-urinaire qui peut être responsable d'infections urinaires chez les patients âgés, le plus souvent avec une uropathie sous jacente. Les conditions standards de culture des urines utilisées lors de l'ECBU (gélouses ordinaires ou chromogènes incubées 24H en aérobiose) ne permettent pas son isolement car il cultive préférentiellement sur des milieux riches (gélose au sang de mouton ou de cheval et gélose chocolat) incubés en anaérobiose ou sous 5% de CO₂ pendant au moins 48H. Sur gélose au sang, les colonies sont petites (0,5-1 mm), grises et non hémolytiques (photo 1b). Une faible β -hémolyse après 3 à 5 jours d'incubation a été observée pour quelques souches.

Les principaux caractères d'identification de cette espèce sont les suivants :

- bacilles ou coccobacilles Gram +, immobile, non sporulé (photo 1a)
- catalase, oxydase et uréase négatives
- hippurate (+), esculine (-), réduction des nitrates (-)
- fermentation du glucose, du ribose, du maltose et du xylose
- PYR (+), α -glucosidase (+), ADH (-), α -galactosidase (-), β -galactosidase(-)

Le tableau ci-dessous permet de les comparer à ceux d'autres espèces proches (3) :

	<i>A. schaalii</i>	<i>A. urinale</i>	<i>Actinomyces meyeri</i>	<i>Gardnerella vaginalis</i>	<i>Trueperella pyogenes</i>	<i>Trueperella bernardiae</i>
catalase	-	-	-	-	-	-
β-hémolyse	- (f) ^a	f	-	- ^c	+	v
nitrate réductase	-	-	v	-	-	-
uréase	-	v	-	-	-	-
hydrolyse hippurate	+	+	-	+	+	-
hydrolyse esculine	- (+) ^b	-	-	-	-	-
hydrolyse gélatine	-	-	-	-	+	-
β-galactosidase	-	-	+	v	+	-
α-glucosidase	+	-	+	v	+	+

+ : positif, - : négatif, v : variable, f : faible

^a : β-hémolyse faible possible après incubation prolongée, ^b : hydrolyse rapportée pour quelques isolats,

^c : positive sur gélose au sang humain

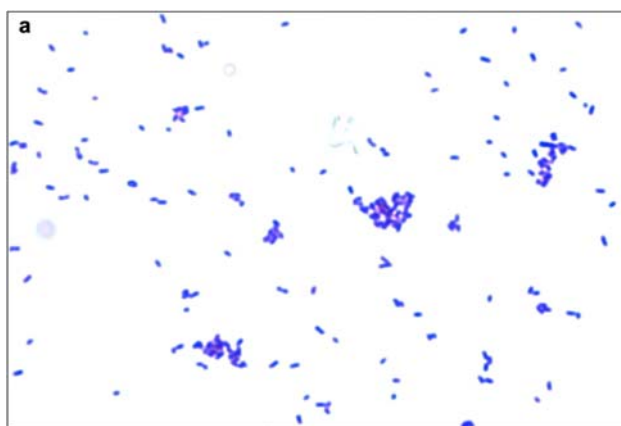


Photo 1a : *Actinotignum schaalii*
Coloration de Gram (X1000)

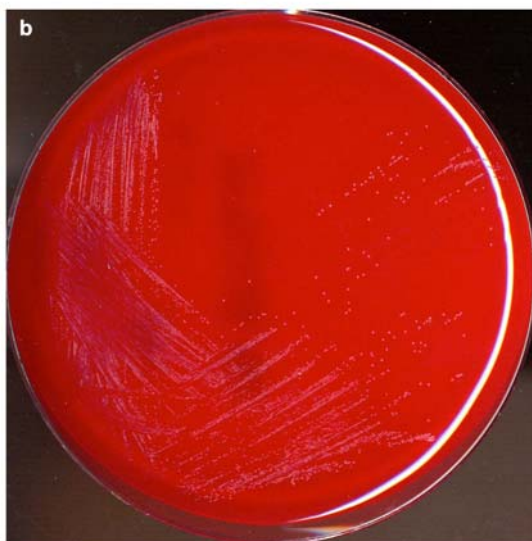


Photo 1b : *Actinotignum schaalii*
Morphologie des colonies
sur gélose columbia 5% sang de mouton
incubée 48H en anaérobiose

Comme le montrent les résultats de cette opération de contrôle, l'identification d'*A. schaalii* par les méthodes phénotypiques (galeries, automates) est fastidieuse et la plupart du temps non fiable car cette espèce ne fait pas partie de leurs bases de données. Par conséquent, cette souche a été adressée aux LBM participants à titre pédagogique : les identifications rendues par les participants n'ont pas fait l'objet d'une évaluation.

En effet, seuls 9,5% des LBM ayant utilisé une galerie ont rendu « *A. schaalii* », alors qu'ils sont 29% à avoir identifié un *Actinomyces* (en majorité « *A. meyeri* »), 10% « *Gardnerella vaginalis* » et 6% un *Arcanobacterium*. En ce qui concerne les galeries bioMérieux très utilisées, *A. schaalii* ne figure pas dans leurs bases de données. C'est pourquoi, les réponses des galeries API 20A, rapid ID32A, API Coryne sont respectivement les suivantes : « profil inacceptable », « *Actinomyces meyeri* » et « profil douteux *Gardnerella vaginalis* ». A noter que *A. schaalii* est résistant au métronidazole et n'est pas β -hémolytique sur gélose au sang humain, contrairement à *G. vaginalis*.

Les résultats sont un peu meilleurs pour les LBM qui ont utilisé un automate avec 19% « *A. schaalii* », 37% *Actinomyces* (« *A. meyeri* »), 8% « *Granulicatella adiacens* » et 7% « *Kocuria rosea* » [cocci Gram +, catalase (+), oxydase (+)]. La version v6.01 de carte ANC du Vitek2 bioMérieux conduit à « *Actinomyces meyeri* », tandis que la v7.01 en déploiement lors de ce contrôle conduit à « *A. schaalii* » (excellente identification).

Il est conseillé d'effectuer l'identification par spectrométrie de masse Maldi-tof ou séquençage du gène de l'ARNr 16S.

En conclusion, du fait de conditions de culture particulières requises et d'une identification délicate par les méthodes phénotypiques, la prévalence des trois uropathogènes émergents (*Aerococcus urinae*, *Actinotignum schaalii* et *Aerococcus sanguinicola*) est sous-estimée.

Une étude réalisée de 2012 à 2015 au CHU de Caen a montré sur 8716 urines mictionnelles une prévalence des trois espèces respectivement égale à 1,1%, 0,4% et 0,3% (soit un total de 1,8%).

Par conséquent, il est nécessaire de les évoquer en cas d'infection urinaire :

- chez un patient âgé (> 65 ans) avec des facteurs prédisposants
- et présence de nombreux cocci Gram + en amas ou bacilles Gram + à l'examen direct
- et une leucocyturie significative
- et une culture en aérobiose « stérile »
- et/ou une absence de réponse clinique à un traitement empirique à la ciprofloxacine ou au cotrimoxazole.

Dans ce cas, il faut réaliser une culture sur gélose au sang de mouton en anaérobiose ou sous 5% de CO₂ pendant au moins 48H, effectuer l'identification par Maldi-tof et traiter par des β -lactamines (amoxicilline, céfuroxime, ceftriaxone).

Bibliographie

- (1) Rasmussen M. *Aerococcus* : an increasingly acknowledged human pathogen. Clin. Microbiol. Infect., 2016, 22(1) : 22-27
- (2) Senneby E., Petersson AC., Rasmussen M. Epidemiology and antibiotic susceptibility of aerococci in urinary cultures. Diag. Microbiol. Infect. Dis., 2015, 8(2) : 49-51
- (3) Cattoir V., *Actinobaculum schaalii* : review of an emerging uropathogen, J. Inf., 2012, 64 : 260-267
- (4) Lotte R., Lotte L., Ruimy R., *Actinotignum (Actinobaculum) schaalii* : a newly recognized pathogen – review of the literature, Clin. Microbiol. Infect., 2016, 22(1) : 28-36

Antibiogramme *Escherichia coli*

Définition des échantillons

Deux échantillons contenant chacun une souche d'*Escherichia coli* lyophilisée ont été proposés : l'une productrice de BLSE associée à une modification de la perméabilité (lot 1), l'autre productrice d'une carbapénémase OXA-48 (lot 2).

Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche isolée vis-à-vis de 20 antibiotiques définis. Pour chaque antibiotique testé, le résultat « lu » permet de contrôler la qualité technique de l'antibiogramme, tandis que le résultat « transmis » correspond à l'interprétation de l'antibiogramme par le biologiste en présence d'un éventuel mécanisme de résistance.

Les laboratoires devaient également préciser le phénotype de résistance aux β -lactamines détecté en choisissant parmi les six phénotypes suivants : pénicillinase haut niveau, IRT (TEM résistante aux inhibiteurs), céphalosporinase haut niveau, BLSE, carbapénémase et imperméabilité.

En complément de l'antibiogramme, les laboratoires qui utilisent la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques) devaient rapporter les diamètres d'inhibition obtenus pour huit antibiotiques (ticarcilline-ac.clavulanique, pipéracilline-tazobactam, céfoxitine, céfotaxime, témocilline, imipénème, ertapénème, amikacine), tandis que ceux qui déterminent les CMI par la méthode des bandelettes ou dilution en gélose ou micro-dilution en milieu liquide devaient préciser celles obtenues pour quatre antibiotiques (pipéracilline-tazobactam, céfotaxime, imipénème, ertapénème).

Les numéros des échantillons ainsi que les résultats 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 IV. La détermination des CMI lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-Test et/ou par la méthode de dilution en gélose (DEG).

tableau IV - antibiogramme des deux souches d'*Escherichia coli* : résultats des experts

N° des échantillons	<i>E. coli</i> (Lot 1)		<i>E. coli</i> (Lot 2)	
	161, 268, 358, 403, 515, 630, 722, 805		139, 255, 372, 429, 686, 812, 917, 983	
Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis	Résultat lu	Résultat transmis
Amoxicilline + ac. clav.	R	R	R	R
Ticarcilline	R	R	R	R
Ticarcilline + ac. clav.	R	R	R	R
Pipéracilline	R	R	R	R
Pipéracilline + tazobactam	I / R	I / R	R	R
Céfoxitine	R	R	S / I	S / I
Céfotaxime	R	R	I	I
Ceftazidime	R	R	S	S
Céfépime	R	R	S	S
Imipénème	S	S	S	S
Méropénème	S	S	S	S
Ertapénème	R	R	R	R
Gentamicine	R	R	S	S
Amikacine	S	S	S	S
Tobramycine	R	R	S	S
Ofloxacine	R	R	S	S
Ciprofloxacine	R	R	S	S
Fosfomycine	S	S	S	S
Cotrimoxazole	R	R	S	S
Tigécycline	S	S	S	S

Résultats des participants

Les réactifs utilisés dans les laboratoires pour la réalisation de l'antibiogramme d'*E.coli* sont détaillés dans le tableau V complété, pour information, par les réactifs utilisés lors des quatre opérations précédentes « antibiogramme *E. coli* » en 2013, 2012, 2011 et 2007. On remarque que la part des automates, en particulier le Vitek de BioMérieux augmente avec près de 59% d'utilisateurs, alors qu'ils n'étaient qu'un quart en 2007. Cette évolution se fait au détriment des galeries de type ATB G- ou ATB UR qui passent dans le même temps de 56% à 10% d'utilisateurs. La part de la diffusion sur gélose par la méthode des disques reste constante à environ 20%.

Les cartes les plus utilisées sur le Vitek sont par ordre décroissant : AST-N233 (50%), AST-N235 (23%), AST-NXN05 (21%) et AST-N234 (6%).

tableau V - antibiogramme *E. coli* : réactifs utilisés en 2015 (15BAC1), 2013, 2012, 2011 et 2007.

Techniques / Réactifs	15BAC1	13BAC2	12BAC1	11BAC1	07BAC2
Galeries	10,2%	20,8%	30,8%	39,8%	55,7%
ATB G - bioMérieux	-	-	-	430	964
ATB G - EU bioMérieux	57	190	347	282	-
ATB UR bioMérieux	-	-	-	93	618
ATB UR EU bioMérieux	30	50	117	22	-
Rapid ATB UR bioMérieux	-	-	-	31	150
Rapid ATB UR EU bioMérieux	11	9	14	-	-
Rapid ATB E bioMérieux	-	-	-	28	126
Autres divers	2	3	2	4	25
Automates	58,6%	53,8%	46,9%	39,2%	25,5%
Vitek 2 bioMérieux :	572	575	654	800	795
carte AST-N233	284	NP*	NP	NP	NP
carte AST-N234	34				
carte AST-N235	133				
carte AST-XN05	121				
Microscan Walkaway Siemens	30	40	35	39	36
Phoenix Becton Dickinson	32	37	40	37	32
Disques	23,6%	22,1%	20,8%	18,9%	18,8%
BioRad	147	191	249	315	447
I2a	57	51	48	46	44
Oxoid	26	20	15	22	27
BioMérieux	-	3	7	21	46
Autres divers	-	3	5	19	35
Réactif non précisé	19 (1,9%)	41 (3,4%)	23 (1,5%)	47 (2,1%)	37 (1,1%)
Total	976	1213	1556	2236	3382

* : non précisé

Les résultats des antibiogrammes obtenus par les participants, tous réactifs confondus, sont rapportés respectivement dans les tableaux VI et VII selon la souche considérée.

Les phénotypes de résistance aux β -lactamines détectés pour chacune des deux souches sont rapportées dans les tableaux VIII et IX.

Les réponses attendues apparaissent en gras (tableaux VI à IX).

tableau VI - antibiogramme de la souche *E. coli* – BLSE + imperméabilité (Lot 1) : résultats des participants

Antibiotiques	Lus				Transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
Amoxicilline + ac. clavulanique	479	0,2	0,4	99,4	475	0,2	0,2	99,6
Ticaracilline	471	0,2	0,0	99,8	466	0,0	0,0	100,0
Ticaracilline + ac clavulanique	311	0,3	0,3	99,4	313	0,3	0,0	99,7
Pipéracilline	320	0,6	0,0	99,4	325	0,6	0,0	99,4
Pipéracilline + tazobactam	459	6,5	11,8	81,7	457	5,0	11,0	84,0
Céfoxitine	459	2,6	5,5	91,9	453	2,4	4,6	92,9
Céfotaxime	436	0,2	0,2	99,6	436	0,2	0,0	99,8
Ceftazidime	471	0,4	0,6	99,0	467	0,2	0,2	99,6
Céfépime	355	0,8	0,3	98,9	352	0,8	0,3	98,9
Imipénème	434	83,0	16,8	0,2	421	72,2	24,2	3,6
Méropénème	233	96,6	0,4	3,0	228	91,7	3,0	5,3
Ertapénème	422	2,1	4,0	93,9	414	2,4	4,1	93,5
Gentamicine	478	0,2	0,0	99,8	472	0,4	0,0	99,6
Amikacine	464	42,0	52,1	5,9	462	38,7	50,7	10,6
Tobramycine	380	0,3	0,0	99,7	380	0,3	0,0	99,7
Ofloxacin	442	0,2	0,0	99,8	442	0,2	0,0	99,8
Ciprofloxacine	471	0,2	0,2	99,6	468	0,2	0,0	99,8
Fosfomycine	317	99,1	0,0	0,9	313	99,0	0,0	1,0
Cotrimoxazole	455	0,0	0,0	100,0	452	0,2	0,2	99,6
Tigécycline	199	97,5	0,5	2,0	199	97	0,5	2,5

tableau VII - antibiogramme de la souche *E. coli* OXA-48 (Lot 2) : résultats des participants

Antibiotiques	Lus				Transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
Amoxicilline + ac. clavulanique	491	0,0	0,2	99,8	483	0,0	0,2	99,8
Ticaracilline	491	0,0	0,0	100,0	480	0,0	0,0	100,0
Ticaracilline + ac clavulanique	321	0,0	0,0	100,0	325	0,0	0,0	100,0
Pipéracilline	318	0,0	0,0	100,0	325	0,0	0,0	100,0
Pipéracilline + tazobactam	479	0,0	0,8	99,2	469	0,0	0,6	99,4
Céfoxitine	478	22,6	60,7	16,7	462	19,7	50,2	30,1
Céfotaxime	424	14,9	25,2	59,9	416	14,2	25,0	60,8
Ceftazidime	486	96,1	1,2	2,7	475	84,6	4,2	11,2
Céfépime	351	98,0	0,9	1,1	344	86,3	3,2	10,5
Imipénème	432	51,2	23,8	25,0	421	47,5	21,3	31,1
Méropénème	223	74,9	23,3	1,8	218	65,6	24,8	9,6
Ertapénème	441	0,7	0,9	98,4	431	0,5	1,8	97,7
Gentamicine	494	99,8	0,2	0,0	485	99,8	0,2	0,0
Amikacine	482	99,6	0,2	0,2	474	99,4	0,4	0,2
Tobramycine	391	98,7	0,8	0,5	385	98,7	0,8	0,5
Ofloxacin	450	100,0	0,0	0,0	445	100,0	0,0	0,0
Ciprofloxacine	487	100,0	0,0	0,0	478	100,0	0,0	0,2

Fosfomycine	335	99,1	0,0	0,9	333	99,1	0,0	0,9
Cotrimoxazole	480	100,0	0,0	0,0	470	100,0	0,0	0,0
Tigécycline	195	100,0	0,0	0,0	192	100,0	0,0	0,0

tableau VIII - *E. coli* BLSE + imperméabilité (Lot 1) : Phénotype de résistance aux β -lactamines ? »

	Effectif (%)
Absence de réponse	9 (1,9)
BLSE + carbapénèmase	113 (23,3)
BLSE + imperméabilité	90 (18,6)
BLSE + carbapénèmase + imperméabilité	75 (15,5)
BLSE	76 (15,6)
BLSE + Case	30 (6,2)
BLSE + Case + carbapénèmase	15 (3,1)
BLSE + Case + imperméabilité	10 (2,1)
BLSE + Case + carbapénèmase + imperméabilité	11 (2,3)
Case	15 (3,1)
Case + carbapénèmase	8 (1,6)
carbapénèmase	18 (3,7)
carbapénèmase + imperméabilité	9 (1,9)
autres	6 (1,2)
Total	485

tableau IX - *E. coli* OXA-48 (Lot 2) : Phénotype de résistance aux β -lactamines ? »

	Effectif (%)
Absence de réponse	11 (2,2)
carbapénèmase	295 (59,2)
carbapénèmase + imperméabilité	15 (3,0)
imperméabilité	10 (2,0)
carbapénèmase + Case +/- imperméabilité	52 (10,5)
carbapénèmase + BLSE +/- imperméabilité	23 (4,6)
carbapénèmase + Case + BLSE +/- imperméabilité	2 (0,4)
BLSE	32 (6,4)
Case	19 (3,8)
autres	39 (7,8)
Total	498

En ce qui concerne les diamètres d'inhibition relevés par les participants qui utilisent la méthode des disques, les paramètres statistiques pour chaque antibiotique (effectif, moyenne et écart-type) ont été calculés à partir des données fournies. Ils ont ensuite été recalculés après une troncature à 2 écart-types (opération consistant à éliminer les valeurs situées au-delà de 2 écart-types de part et d'autre de la moyenne). Pour certains antibiotiques, lorsque cela était nécessaire, deux groupes de résultats ont été distingués et traités séparément : ceux obtenus par les laboratoires ayant suivi comme référentiel le CA-SFM 2013 d'une part et ceux obtenus par les laboratoires ayant suivi le CA-SFM 2014 ou 2015 d'autre part.

L'ensemble des paramètres statistiques obtenus pour la souche du lot 1 est rapporté dans le tableau X. A l'exception du céfotaxime pour lequel on observe une résistance « contact », la distribution des diamètres d'inhibition relevés pour chacun des 7 antibiotiques, en fonction du réactif utilisé (effectif > 10) est représentée figures 1 à 10.

De la même façon, l'ensemble des paramètres statistiques obtenus pour la souche du lot 2 est rapporté dans le tableau XI et les distributions des diamètres d'inhibition (à l'exception de la témocilline et de l'association ticarcilline-ac.clavulanique pour lesquelles on note une résistance « contact ») sur les figures 11 à 19.

tableau X - E. coli (Lot 1) : diamètres d'inhibition (mm) tous réactifs confondus

Antibiotique	d-D *	effectif	effectif tr**	moyenne tr**	écart-type tr**
Ticarcilline + ac. clavulanique ^(a)	-	121	119	12,0	3,2
Pipéracilline + tazo (CASFM 2013)	17-21	83	80	18,1	2,6
Pipéracilline + tazo (CASFM 2014 et 2015)	17-20	53	50	16,3	3,1
Céfoxitine (CASFM 2013)	15-22	84	81	11,5	3,2
Céfoxitine (CASFM 2014 et 2015)	15-19	51	51	13,8	4,7
Céfotaxime ^(a)	-	R contact			
Témocilline (CASFM 2014 et 2015)	20	65	64	12,4	3,2
Imipénème ^(a)	-	154	144	27,6	1,9
Ertapénème (CASFM 2013)	26-28	82	80	19,1	4,0
Ertapénème (CASFM 2014 et 2015)	22-25	58	56	20,1	3,8
Amikacine ^(a)	-	144	141	19,2	1,7

^(a) : tous référentiels (CASFM 2013, 2014, 2015) confondus, d-D* : diamètres critiques, ** : troncature à 2 écart-types

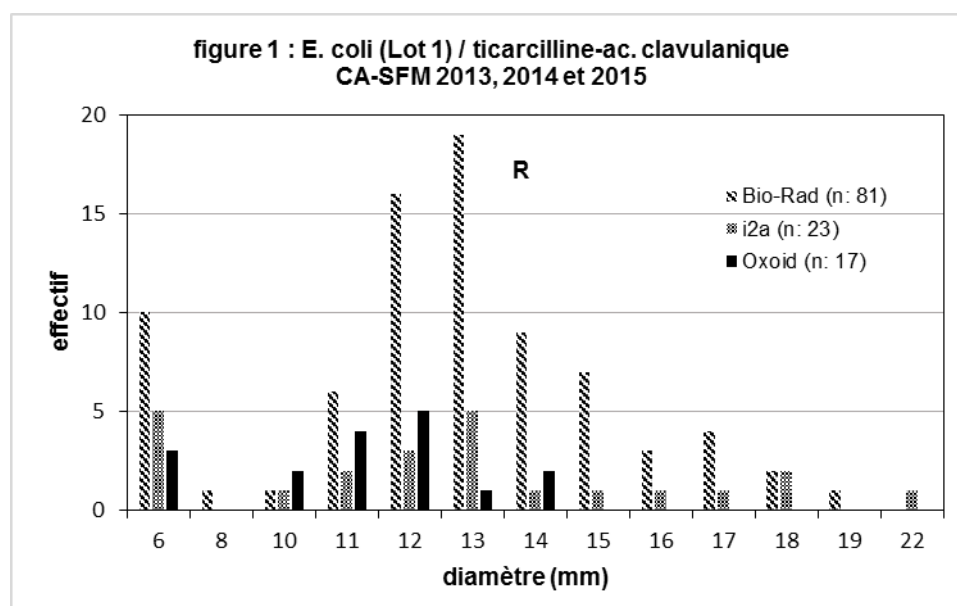


figure 2 : E. coli (Lot 1) / pipéracilline-tazobactam
CA-SFM 2013

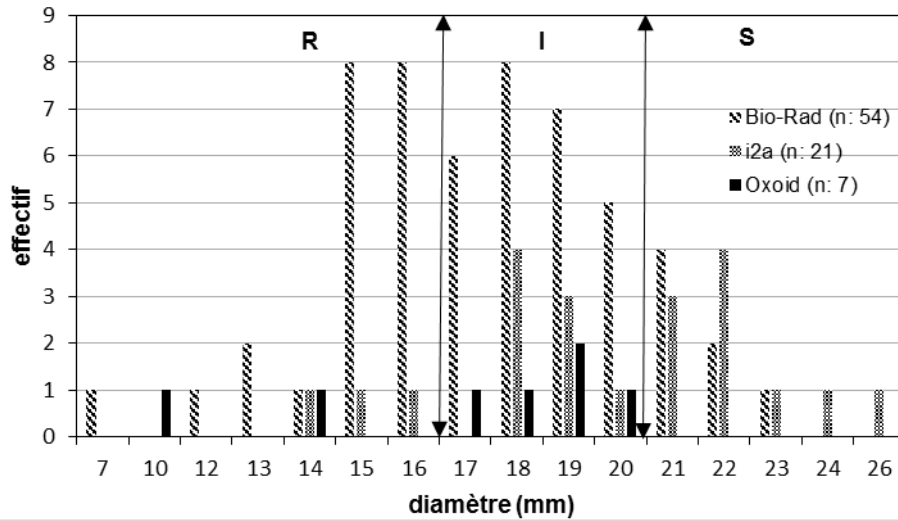


figure 3 : E. coli (Lot 1) / pipéracilline-tazobactam
CA-SFM 2014 et 2015

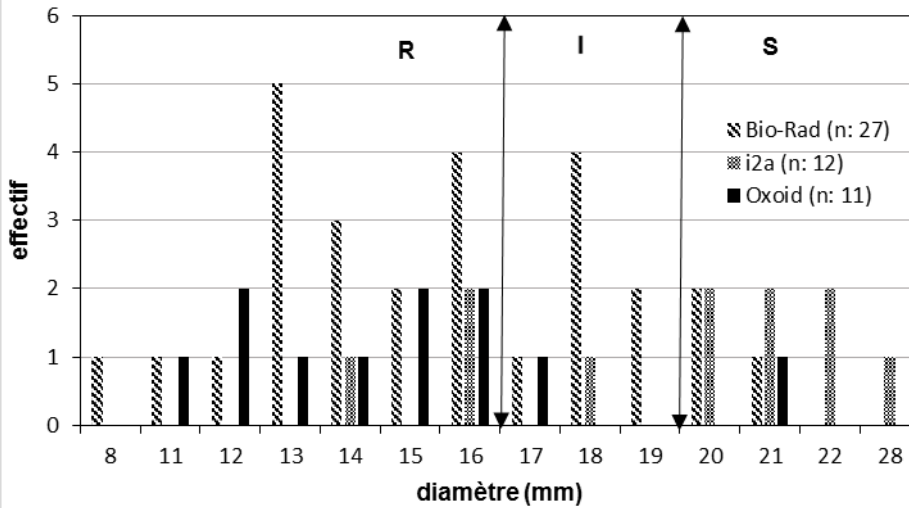


figure 4 : E. coli (Lot 1) / céfoxitine
CA-SFM 2013

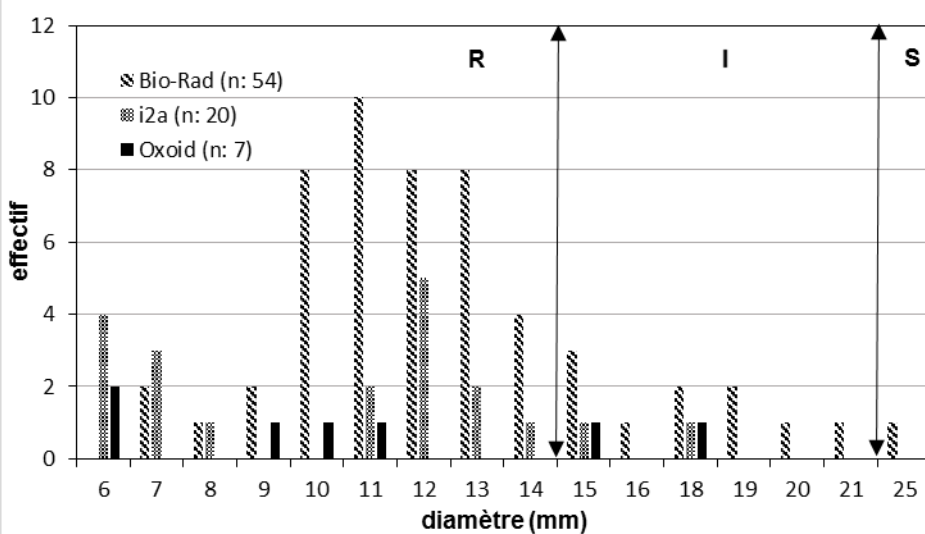


figure 5 : E. coli (Lot 1) / céfoxitine
CA-SFM 2014 et 2015

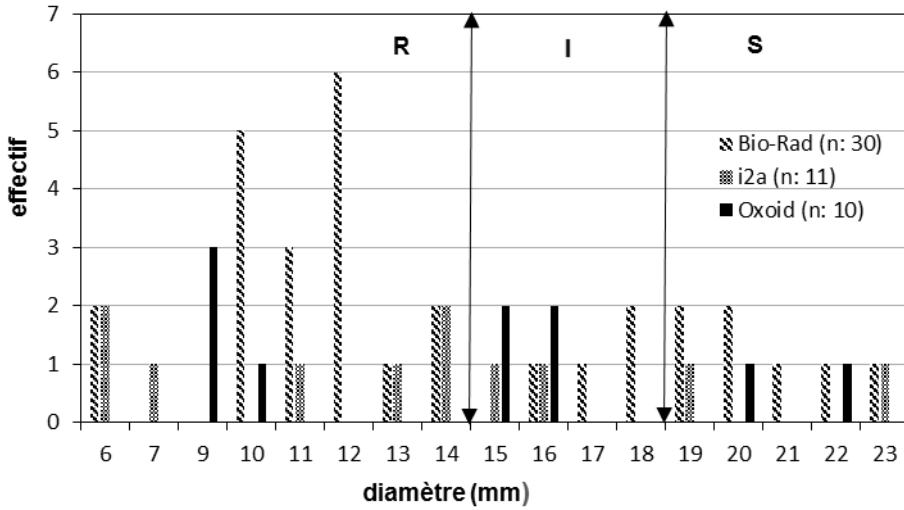


figure 6 : E. coli (Lot 1) / témocilline
CA-SFM 2014 et 2015

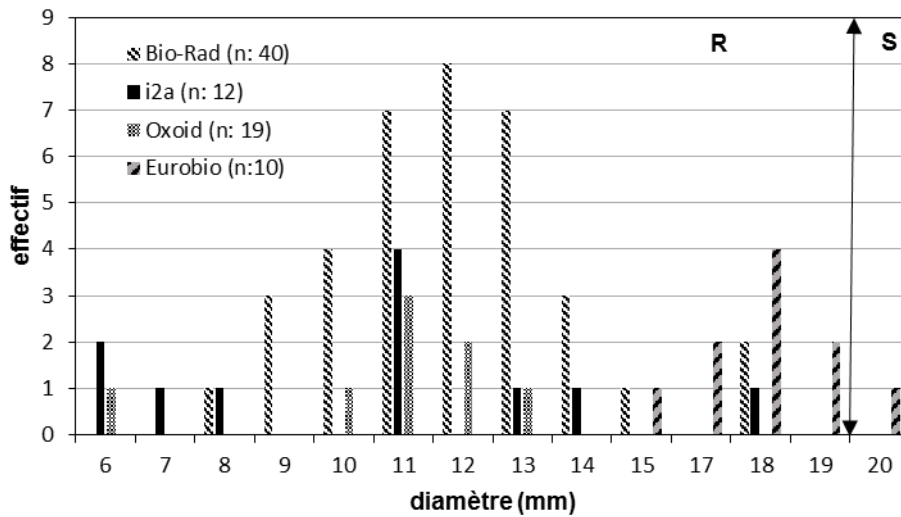


figure 7 : E. coli (Lot 1) / imipénème
CA-SFM 2013, 2014 et 2015

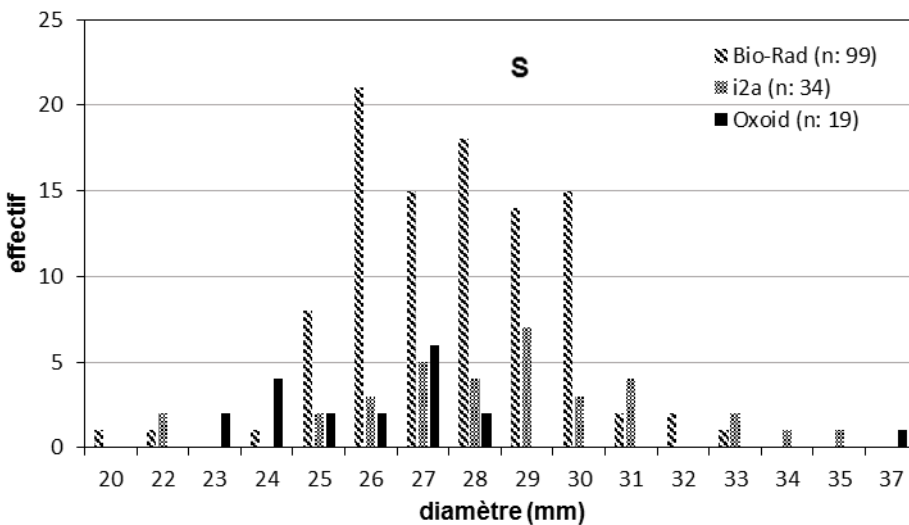


figure 8 : E. coli (Lot 1) / ertapénème
CA-SFM 2013

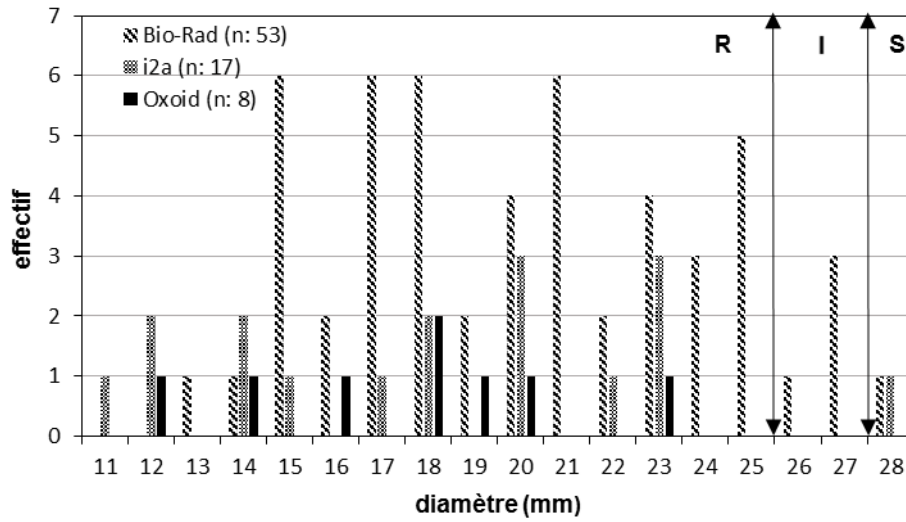


figure 9 : E. coli (Lot 1) / ertapénème
CA-SFM 2014 et 2015

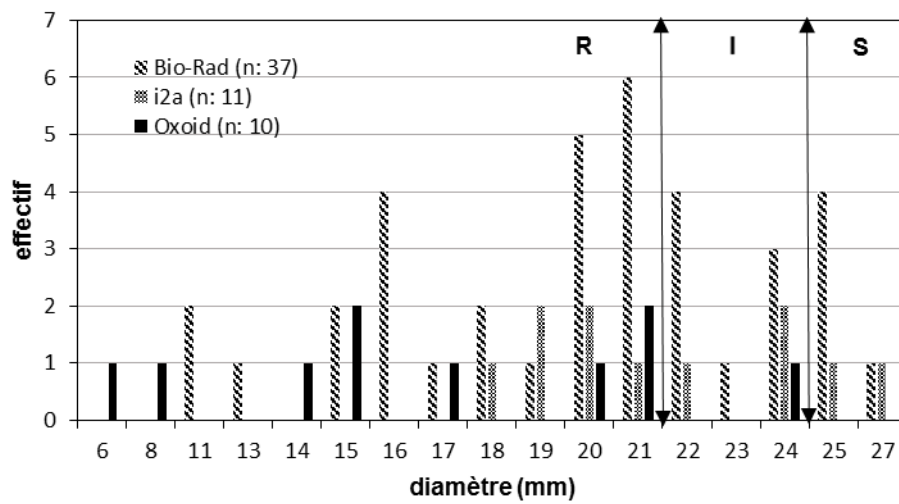


figure 10 : E. coli (Lot 1) / amikacine
CA-SFM 2013, 2014 et 2015

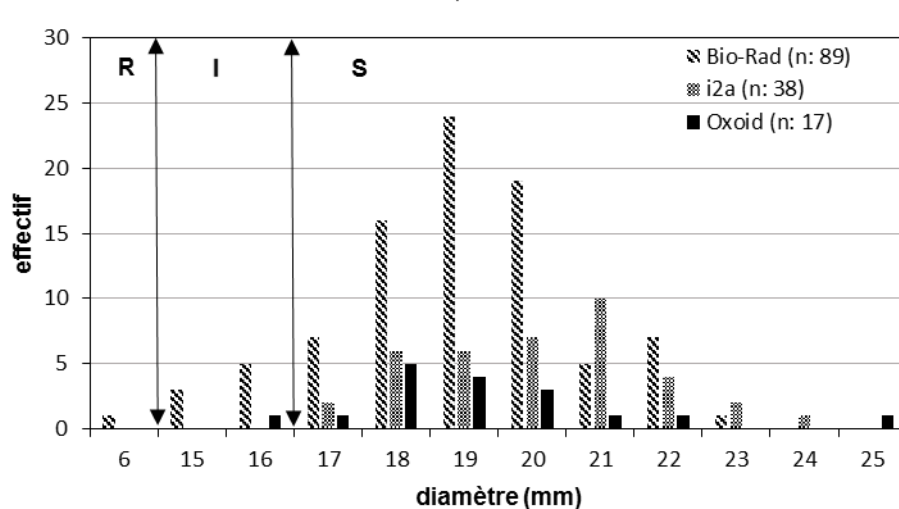


tableau XI - *E. coli* (Lot 2) : diamètres d'inhibition (mm) tous réactifs confondus

Antibiotique	d-D *	effectif	effectif tr**	moyenne tr**	écart-type tr**
Ticarcline + ac. clavulanique ^(a)	-	R contact			
Pipéracilline + tazobactam ^(a)	-	117	114	10,8	1,8
Céfoxitine (CASFM 2013)	15-22	85	83	20,9	2,0
Céfoxitine (CASFM 2014 et 2015)	15-19	45	44	21,1	2,3
Céfotaxime (CASFM 2013)	23-26	79	78	24,1	2,0
Céfotaxime (CASFM 2014 et 2015)	17-20	50	50	20,7	4,2
Témocilline (CASFM 2014 et 2015)	20	R contact			
Imipénème (CASFM 2013)	17-24	83	80	21,5	1,7
Imipénème (CASFM 2014 et 2015)	16-22	51	48	21,1	1,9
Ertapénème ^(a)	-	144	133	16,9	1,7
Amikacine ^(a)	-	130	125	23,6	1,6

(a) : tous référentiels (CASFM 2013, 2014, 2015) confondus, d-D * : diamètres critiques, ** : troncature à 2 écart-types

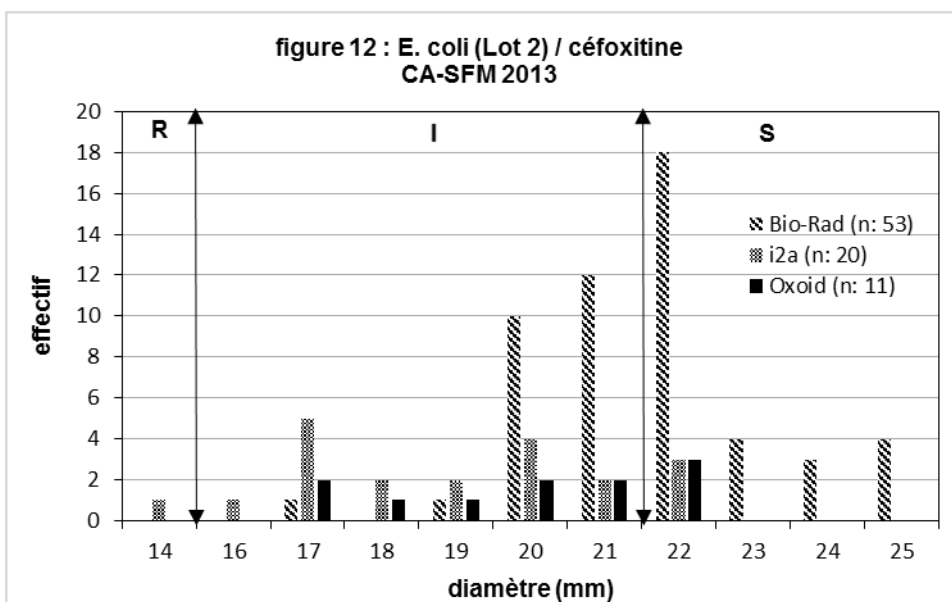
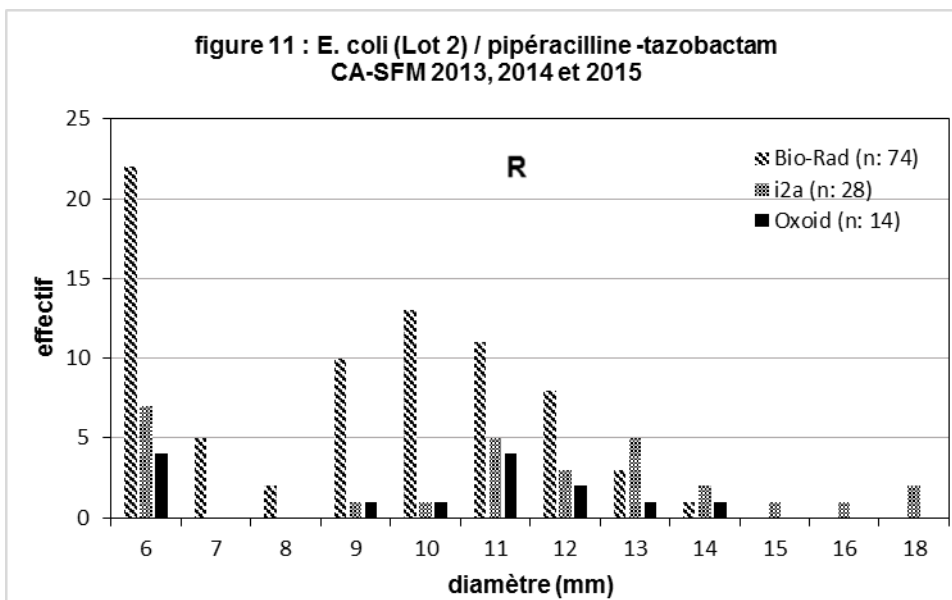


figure 13 : E. coli (Lot 2) / céfoxitine
CA-SFM 2014 et 2015

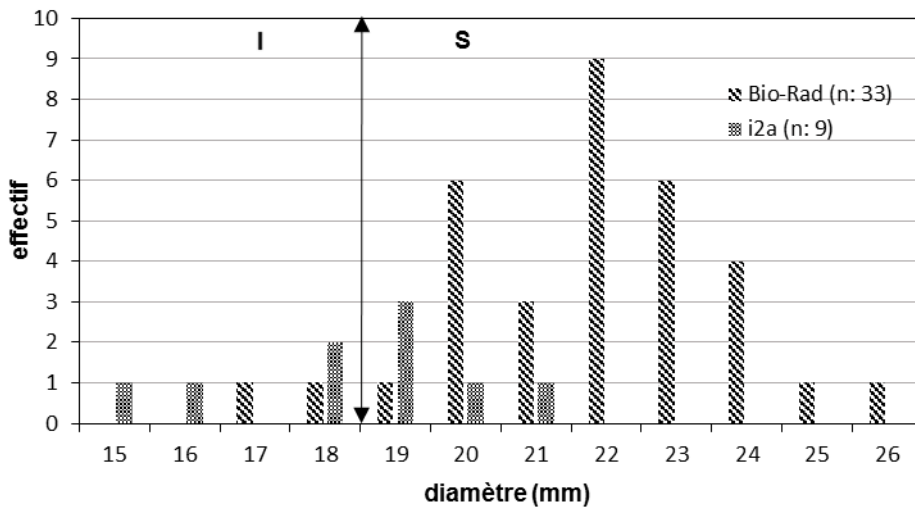


figure 14 : E. coli (Lot 2) / céfotaxime
CA-SFM 2013

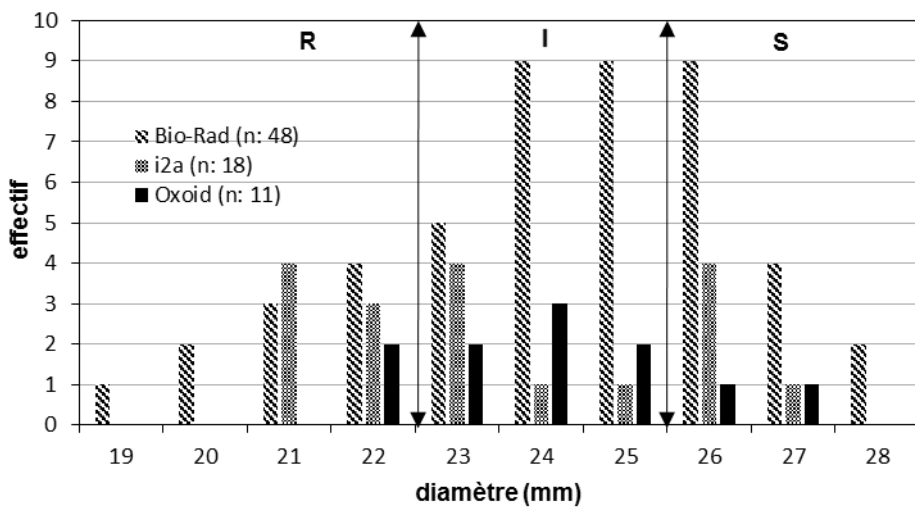
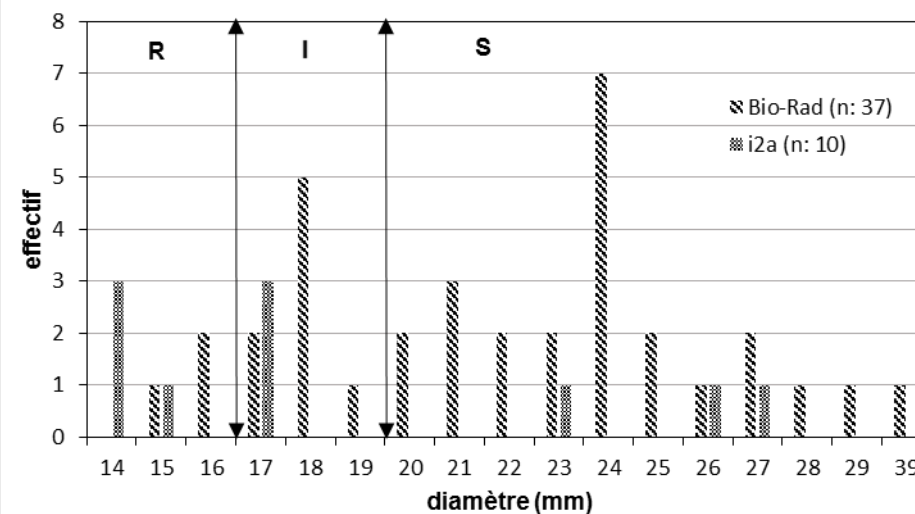
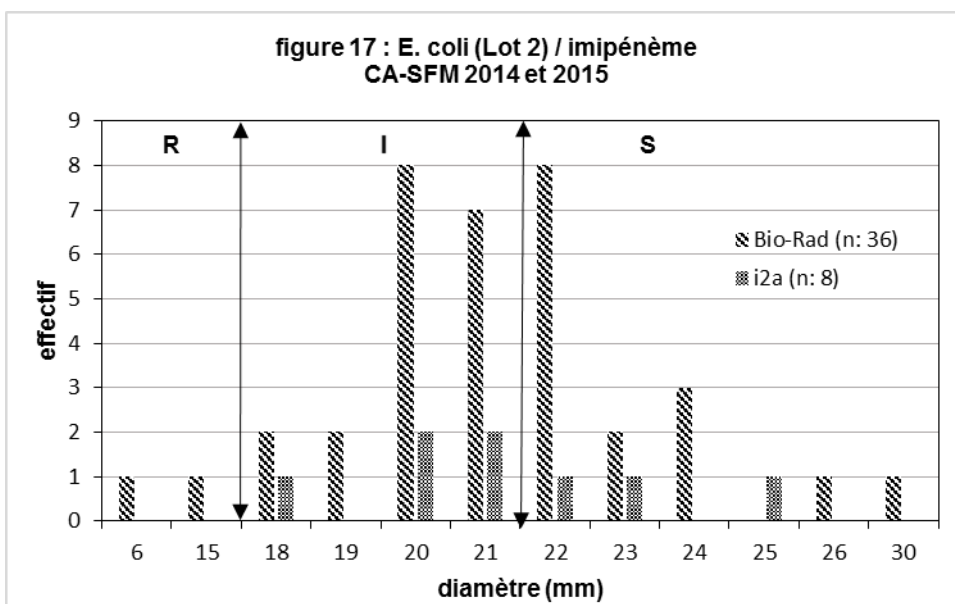
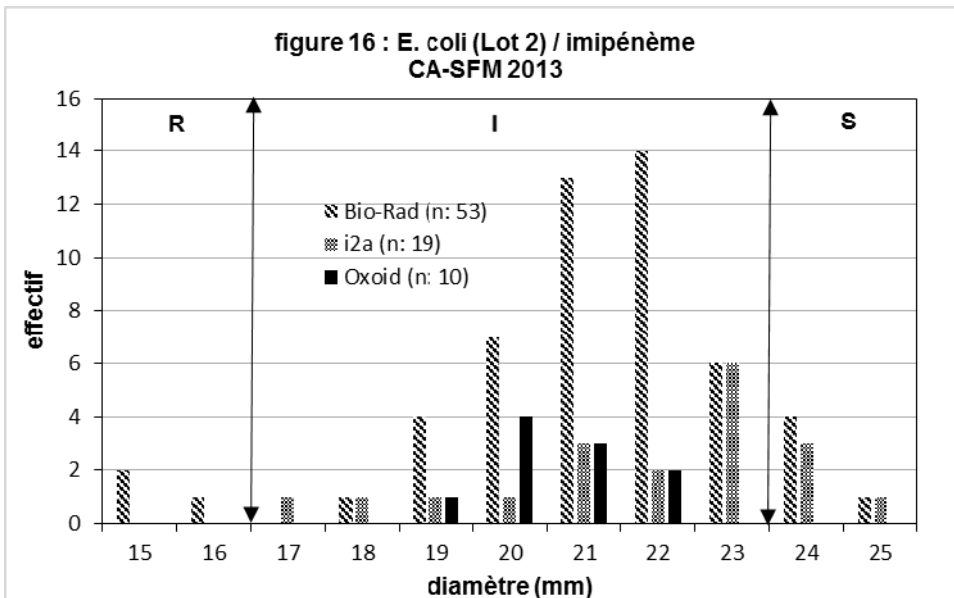


figure 15 : E. coli (Lot 2) / céfotaxime
CA-SFM 2014 et 2015





Enfin, pour la souche *E. coli* (lot 1), les CMI de l'association pipéracilline-tazobactam et du céfotaxime rapportées par les participants, toutes bandelettes confondues (E-test BioMérieux, MICE Oxoid, i2a Liofilmchem) sont détaillées dans les tableaux XII et XIII, tandis que les distributions des CMI des deux carbapénèmes (imipénème et ertapénème) en fonction de la bandelette utilisée sont reportées sur les figures 20 et 21. Le tableau XIV rassemble, pour les quatre antibiotiques, les CMI modales des participants et celles rendues par les experts.

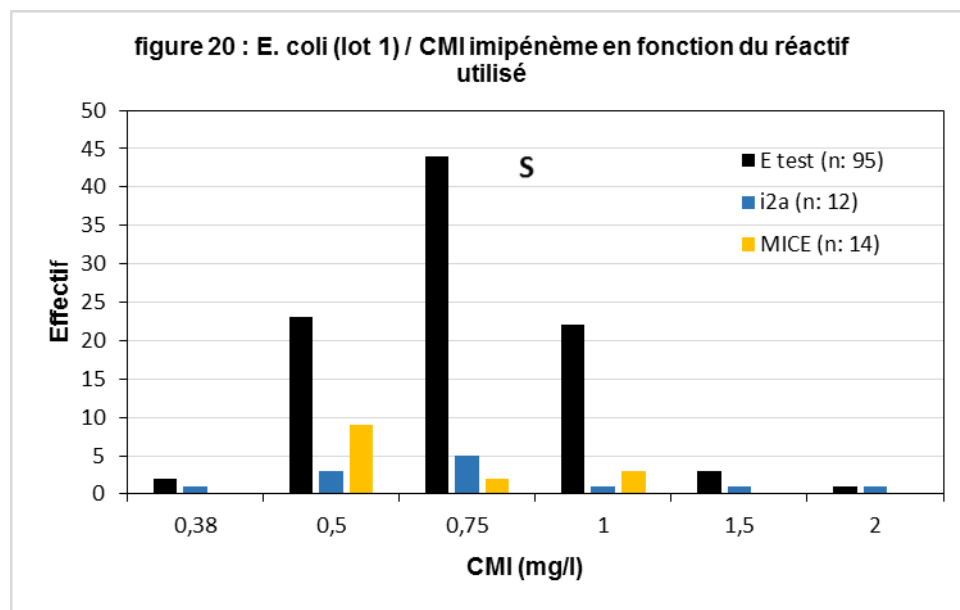
De la même façon, pour la souche *E. coli* (lot 2), les CMI de l'association pipéracilline-tazobactam rapportées par les participants (toutes > 16 mg/L) sont détaillées dans le tableau XV, tandis que les distributions des CMI du céfotaxime et des deux carbapénèmes en fonction de la bandelette utilisée sont reportées sur les figures 22 à 24. Le tableau XVI rassemble, pour les quatre antibiotiques, les CMI modales des participants et celles rendues par les experts.

tableau XII - *E. coli* (Lot 1) / pipéracilline-tazobactam : CMI toutes bandelettes confondues

CMI (mg/L)	effectif
≤ 8	3
16	5
32	6
64	3
128	1
256	1
≤ 16	1
≥ 64	1
≥ 256	6
Total	27

tableau XIII - *E. coli* (Lot 1) / céfotaxime : CMI toutes bandelettes confondues

CMI (mg/L)	effectif
32	2
≥ 32	2
> 32	10
256	1
≥ 256	1
> 256	9
Total	25



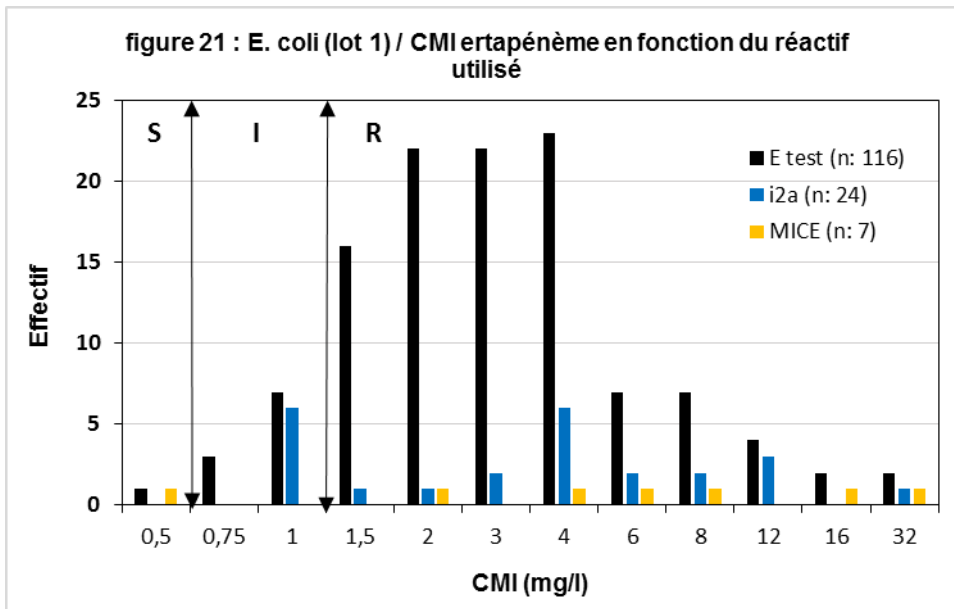


tableau XIV - E. coli (Lot 1) : récapitulatif CMI (mg/L) des quatre antibiotiques

antibiotique	c-C *	effectif	CMI modale	CMI experts
Pipéracilline + tazobactam	8-16	27	32	32
Céfotaxime	1-2	25	> 32	-
Imipénème	2-8	121	0,75	-
Ertapénème	0,5-1	147	3	4

c-C * : concentrations critiques

tableau XV - E. coli (Lot 2) / pipéracilline-tazobactam : CMI toutes bandelettes confondues

CMI (mg/L)	effectif
> 16	1
≥ 32	1
≥ 128	2
256	3
≥ 256	4
> 256	15
Total	26

figure 22 : E. coli (lot 2) / CMI céfotaxime en fonction du réactif utilisé

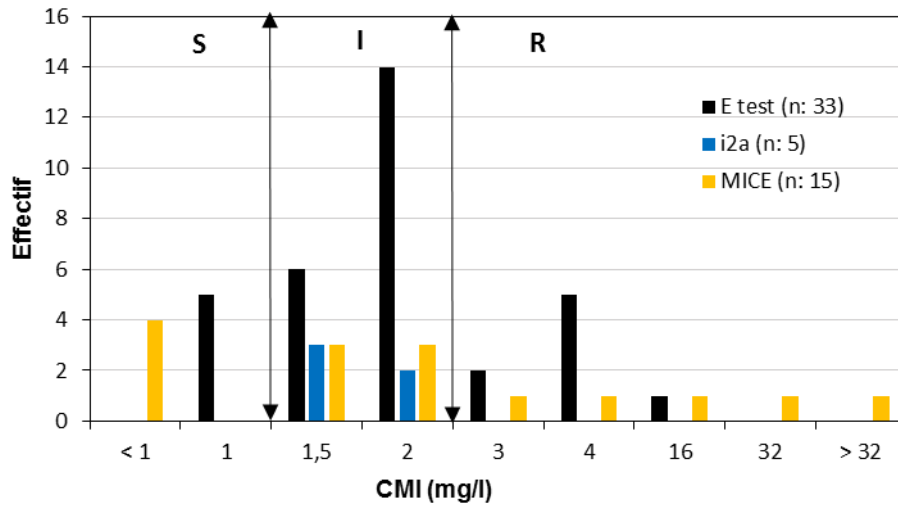


figure 23 : E. coli (lot 2) / CMI impénème en fonction du réactif utilisé

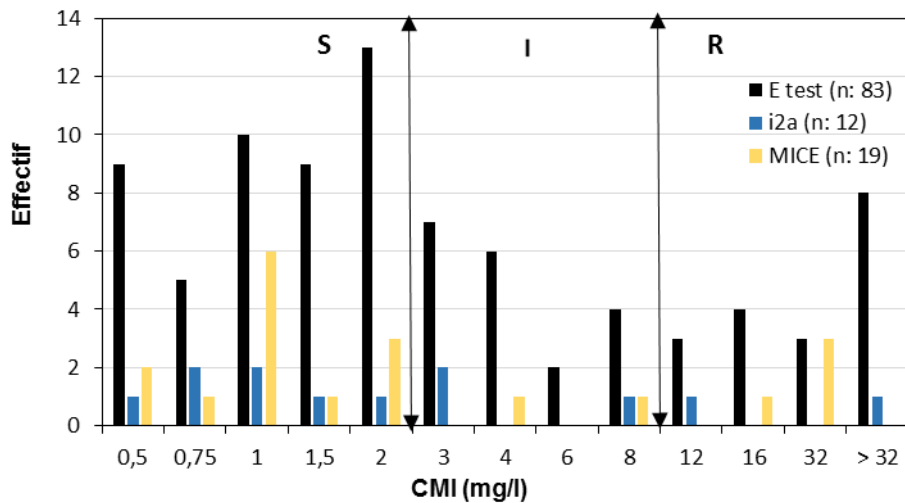


figure 24 : E. coli (lot 2) / CMI ertapénème en fonction du réactif utilisé

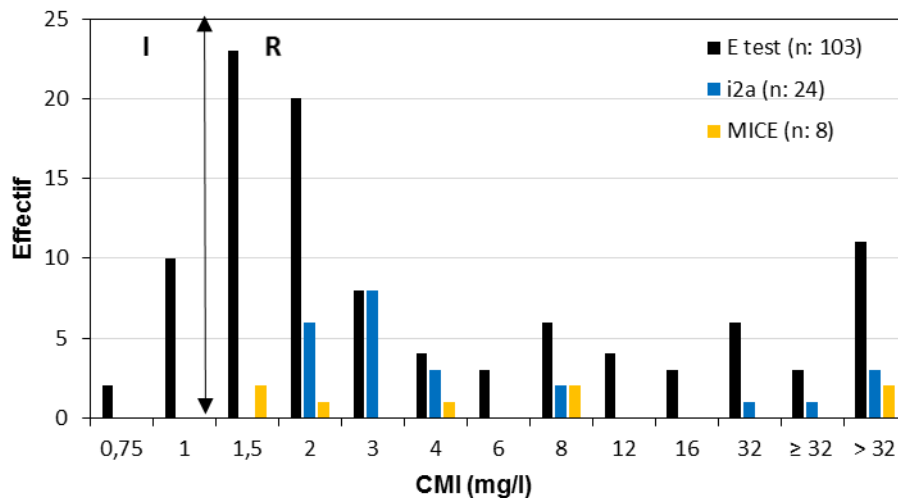


tableau XVI - *E. coli* (Lot 2) : récapitulatif CMI (mg/L) des quatre antibiotiques

antibiotique	c-C *	Effectif	CMI modale	CMI experts
Pipéracilline + tazobactam	8-16	28	≥ 256	-
Céfotaxime	1-2	53	2	2
Imipénème	2-8	114	2	1,5
Ertapénème	0,5-1	135	3	2

c-C * : concentrations critiques

Commentaires

Le nombre d'épisodes impliquant des EPC reste encore limité en France. Cependant, les dernières données publiées par l'InVS montrent une progression très nette ces dernières années. Les bactéries les plus fréquentes sont *Klebsiella pneumoniae* (59%) suivie d'*E.coli* (34%). Le mécanisme de résistance OXA-48 et OXA-48 like est le plus souvent retrouvé (78%).

Le choix des deux souches de cette opération de contrôle avait pour but de sensibiliser les biologistes à la détection des EPC, tout en rappelant que la sensibilité diminuée (I/R) aux carbapénèmes est plus souvent due à l'association de mécanismes de résistance : céphalosporinase chromosomique hyperproduite ou plasmidique et/ou BLSE associée à un déficit quantitatif/qualitatif des porines.

1 - *Escherichia coli* BLSE (CTX-M-15) + imperméabilité

Bêta-lactamines :

La souche d'*Escherichia coli* du lot 1 était une souche productrice de bêta-lactamase à spectre étendu CTX-M-15 associée à une oxacillinase OXA-1. Il n'y avait pas d'enzyme de type TEM, ni SHV, ni de céphalosporinase acquise.

Deux antibiotiques devaient particulièrement attirer l'attention : la céfoxitine et l'ertapénème.

La résistance à l'ertapénème pouvait évoquer la production de carbapénémase ou bien l'association d'une diminution de perméabilité et d'une bêta-lactamase à spectre étendu. La réalisation d'un antibiogramme sur Mueller Hinton supplémenté en cloxacilline (250 mg/L) (photo 2) permettait d'objectiver des images de synergie entre les céphalosporines de 3^{ème} génération et l'acide clavulanique. Mais la faible récupération de la sensibilité à la céfoxitine n'était pas en faveur d'une céphalosporinase acquise ou chromosomique hyper-exprimée.

Selon les recommandations du CA-SFM 2013, la détection d'une résistance à l'ertapénème devrait être confirmée par la réalisation d'une CMI qui est égale à 4 mg/L pour cette souche.

Toute souche avec une diminution de la sensibilité à l'ertapénème : CMI > 0,5 mg/L ou diamètre d'inhibition < 28 mm (CA-SFM 2013) ou < 25 mm (CA-SFM 2014 ou 2015) est suspecte et doit être soumise à des tests complémentaires (phénotypiques ou génotypiques) pour pouvoir affirmer la présence d'une carbapénémase.

Selon les recommandations du CA-SFM/EUCAST 2015 – annexe 2, un algorithme utilisant notamment la témocilline « algorithme phénotypique de criblage des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases au sein des souches non sensibles aux carbapénèmes » peut être appliqué.

L'application de l'algorithme donnait la séquence suivante : le diamètre autour du disque ticarcilline - acide clavulanique était < 15 mm (moyenne des participants : 12 mm) et celui de la témocilline était < 12 mm (résistance « contact »), conditions indiquant la nécessité de faire un test de confirmation de la présence d'une carbapénémase.

Parmi ces tests complémentaires, on trouve des tests colorimétriques rapides (β carba test de Biorad ou rapidec carba NP de Biomérieux), des méthodes utilisant des disques combinés avec inhibiteur (acide boronique pour les enzymes de classe A, EDTA ou acide picolinique pour les enzymes de classe B), des tests de détection de l'activité carbapénémase par MALDI TOF ou des géloses chromogéniques (ChromID Carba ou ChromID Carba SMART Biomérieux). Toutefois, concernant ce dernier type de gélose, il peut y avoir des résultats positifs en cas d'imperméabilité. Cela fait partie des limites du test et il faut confirmer la carbapénémase. La certitude de la présence d'une carbapénémase s'obtient par des méthodes de biologie moléculaire qui ciblent les gènes codant pour les carbapénémases. En cas de doute ou d'impossibilité d'effectuer ces tests, la souche doit être transmise à un laboratoire expert régional ou au CNR de la résistance aux antibiotiques.

Cette souche ne produisait pas de carbapénémase. La résistance à la céfoxitine était expliquée par un phénomène d'imperméabilité dont l'association à une bêta-lactamase à spectre étendu expliquait la diminution de sensibilité à l'ertapénème (Adler M et al. 2013). La sensibilité à l'imipénème était conservée avec une CMI modale pour l'ensemble des laboratoires à 0,75 mg/L.

Globalement, les réponses des laboratoires étaient homogènes et très satisfaisantes avec plus de 99% de réponses exactes pour chaque antibiotique sauf pour trois molécules : l'imipénème, l'association piperacilline + tazobactam et la céfoxitine (tableau VI).

Pour l'imipénème, ceci montre l'importance de réaliser des CMI lorsqu'on observe une sensibilité diminuée de la bactérie à l'ertapénème. Les réponses transmises « S » (72%) ont été moins nombreuses que les réponses lues « S » (83%) et on note 24% de réponses transmises « intermédiaire ». Cette correction de « S » en « I », principalement due au Vitek (v6), n'est pas conforme aux recommandations du CA-SFM. En effet, les résultats obtenus pour les carbapénèmes doivent être rendus comme ils ont été lus et il n'y a pas d'extrapolation à faire pour l'imipénème ou le méropénème du fait d'une diminution de sensibilité à l'ertapénème. Ceci est d'autant plus justifié pour cette souche qui ne produit pas de carbapénémase. Toutefois, même en présence d'une carbapénémase, la catégorisation ne doit pas être modifiée (CA-SFM EUCAST 2015).

Pour la piperacilline-tazobactam, la CMI a été contrôlée à 32 mg/L, très proche du break point de 16 mg/L pour la résistance. Les résultats montrent une variation relativement importante des diamètres d'inhibition entre 16 et 21 mm (CA-SFM 2013) ou entre 13 et 19 mm (CA-SFM 2014 et 2015) due aux variations à la fois des inocula et de la charge des disques. Cependant, les conséquences cliniques sont modérées puisqu'une majorité des réponses se situent entre « intermédiaire » et « résistant » (figures 2 et 3).

Enfin, on observe pour la céfoxitine 100% de réponses « R » pour les utilisateurs d'automates (Vitek, Phoenix) et de galeries, les réponses « I » ou « S » sont exclusivement dues à quelques participants utilisateurs de disques (figures 4 et 5).

En ce qui concerne le choix du phénotype de résistance aux β -lactamines (tableau VIII), 88% des laboratoires participants ont trouvé la bêta-lactamase à spectre étendu qu'il était important de détecter, ce qui est un bon score. Seuls 90 LBM (18,6%) ont rendu le phénotype de résistance attendu : BLSE + imperméabilité. Enfin, 44,8 % ont répondu carbapénémase (seule ou associée à un autre mécanisme de résistance), ce qui est préoccupant compte tenu des mesures d'isolement à mettre en place pour éviter la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRe) qui résultent d'un tel résultat. Il faut donc souligner la nécessité d'avoir une confirmation par des tests complémentaires lorsque ce diagnostic est évoqué.

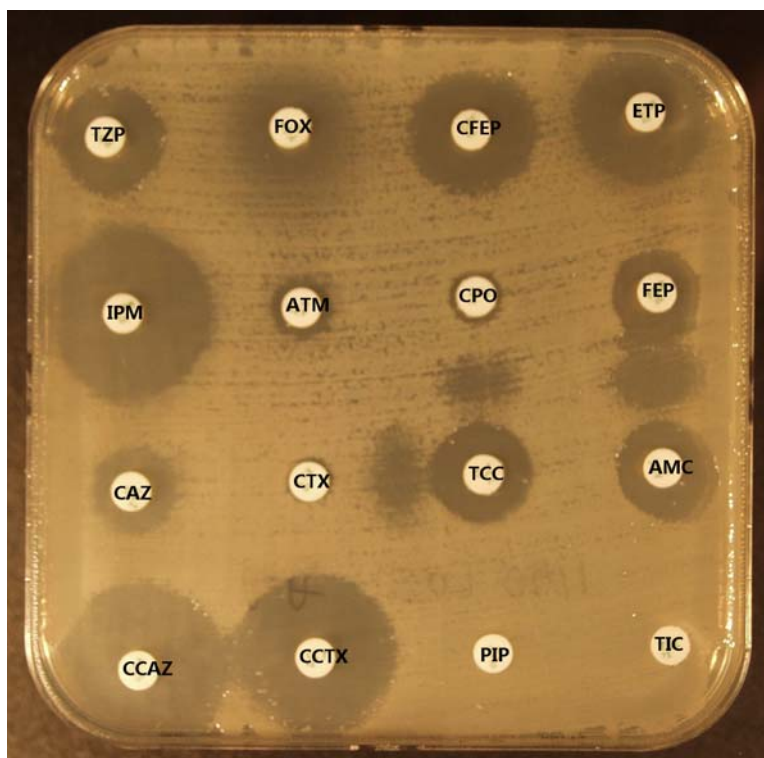


Photo 2 - antibiogramme *E. coli* lot 1 mise en évidence de la BLSE

Mueller Hinton cloxacilline (250 mg/L)
CA-SFM 2013

TZP, piperacilline + tazobactam ; FOX, céfoxitine ; ETP, ertapénème ; IPM, imipénème ; ATM, aztréonam ; CPO, cefpirome ; FEP, céfépime ; CAZ, ceftazidime ; CTX, céfotaxime ; TCC, ticarcilline + ac. clavulanique ; AMC, amoxicilline + ac. clavulanique ; PIP, piperacilline ; TIC, ticarcilline
Disques combinés : CCTX, cefotaxime + ac.clavulanique ; CCAZ, ceftazidime + ac.clavulanique ; CFEP, céfépime + ac. clavulanique

Autres antibiotiques :

Globalement, les résultats concernant les antibiotiques autres que les β -lactamines sont très satisfaisants avec plus de 99% de réponses exactes à l'exception de l'amikacine (42%) et dans une moindre mesure de la tigécycline (97,5%).

L'interprétation de la résistance à l'ertapénème était l'objet principal de cette opération de contrôle. Mais la souche avait également un phénotype de résistance aux aminoglycosides de type Tobra - Genta restant sensible à l'amikacine (CMI E-test = 8 mg/L et CMI dilution en gélose = 4 mg/L), compatible avec différentes enzymes de résistance comme l'aminoglycoside nucléotidyltransférase « ANT(2'') » ou bien encore des aminoglycosides acétyltransférases « AAC(3)-II ou AAC(3)-IV ou AAC(6')-II. Une étude récente réalisée en Espagne montrait que les enzymes les plus fréquentes chez *E. coli* étaient AAC(6')-Ib, APH(3)-Ia, ANT(2)-Ia et AAC(3)-IIa (Fernández-Martínez M 2015).

Quant à la tigécycline, les 4 (2%) laboratoires participants qui ont lu « R » étaient des utilisateurs de la galerie ATB G- Biomérieux qui ne comporte pas cet antibiotique. Il s'agit probablement d'une confusion avec la tétracycline.

En ce qui concerne les quinolones, la résistance était contact à toutes les quinolones (acide nalidixique, ofloxacine, ciprofloxacine) évoquant des résistances de type QRDR dont le mécanisme moléculaire est une modification de cible au niveau des topoisomérases des bactéries (6).

Pour le cotrimoxazole, on observait un diamètre contact au sulfamide, au triméthoprime et au cotrimoxazole. Ceci évoque une résistance par modification de la dihydrofolate réductase (DHFR) codée par des gènes *dhfrA* et *dhfrB* présents sur des intégrons et connus pour donner des résistances de haut niveau à ces molécules (7).

2 - *Escherichia coli* OXA-48

Bêta-lactamines :

La souche du lot n°2 était un *Escherichia coli*, producteur d'OXA-48 sans autre BLSE associée, ce qui est peu fréquent. Dans ce cas, les céphalosporines de 3^{ème} génération ne sont pas touchées (8).

Comme pour la souche du lot n°1, un diamètre d'inhibition < 28 mm (CA-SFM 2013) ou < 25 mm (CA-SFM 2014 ou 2015) à l'ertapénème devait faire évoquer une carbapénémase. Cette souche était plus évocatrice puisque l'imipénème était également touché.

Selon les recommandations du CA-SFM, il était nécessaire de déterminer les CMI des carbapénèmes, ce qui permettait de confirmer la résistance à l'ertapénème (CMI = 3 mg/L pour les participants et CMI = 2 mg/L pour les experts) et la sensibilité diminuée à l'imipénème (CMI = 2 mg/L pour les participants et CMI = 1,5 mg/L pour les experts, proches du break-point). La CMI du méropénème non demandée aux participants était de 1,5 mg/L.

Comme pour la souche précédente, l'application de l'algorithme recommandé par le CA-SFM/EUCAST 2015-annexe 2, aboutissait à la nécessité de réaliser un test de confirmation de carbapénémase. En effet, la réalisation d'un antibiogramme par diffusion avec un disque de témocilline et de ticarcilline-ac.clavulanique montrait une croissance bactérienne au contact des deux disques. Le phénotype de résistance évoquait une OXA-48 qui était confirmée par PCR et séquençage. On notera que le test de Hodge (photo 3) qui n'est plus recommandé car difficile à standardiser était également positif, ainsi que les tests colorimétriques, les géloses chromogéniques et le test moléculaire Xpert Carba-R de Cepheid.

Les résultats rendus par les laboratoires étaient assez homogènes sauf pour l'imipénème, le céfotaxime et la céfoxitine (tableau VII).

Comme pour la souche précédente, il faut rappeler qu'il n'y a pas lieu d'interpréter la lecture faite pour les carbapénèmes. La présence d'une carbapénémase n'interfère pas sur la catégorisation de la souche. Si le résultat lu est « S » ou « I », il doit être rapporté comme tel et ne doit pas être interprété « I » ou « R ». Or l'imipénème et le méropénème ont été faussement rendus « R » par respectivement 31% et 10% des LBM qui les ont testés. La réponse attendue pour ces molécules était « S » et une réponse « I » était considérée comme acceptable du fait de la proximité de la CMI avec la concentration critique égale à 2 mg/L. Toutefois, on remarque que les CMI de l'imipénème (figure 23) et de l'ertapénème (figure 24) sont assez dispersées avec pour certains laboratoires la présence de colonies dans la zone d'inhibition les amenant à rendre une CMI supérieure ou égale à 32 mg/L.

En principe, la céfoxitine et le céfotaxime ne sont pas touchés par l'enzyme OXA-48. La réalisation d'un antibiogramme sur gélose avec cloxacilline 250 mg/L montre une récupération de la sensibilité à ces deux molécules. On peut donc évoquer une participation de la céphalosporinase chromosomique d'*Escherichia coli* pour expliquer la sensibilité diminuée à ces deux molécules.

Pour la céfoxitine dont la concentration critique basse est de 8 mg/L, les CMI E-test et en dilution en gélose étaient respectivement égales à 12 et à 8 mg/L. C'est pourquoi la réponse attendue était « S » ou « I ». Les utilisateurs de disques ont rendus « S » ou « I » (figures 12 et 13), l'automate Phoenix « S », le Vitek « I » (CMI calculée 16 mg/L) avec une correction « R » inappropriée par certaines versions. Quant aux galeries de type

ATB G- ou ATB UR qui ne testent qu'une concentration (8 mg/L), les résultats se partageaient entre « S » et « R ».

Pour le céfotaxime dont les concentrations critiques sont respectivement égales à 1 et 2 mg/L, la CMI a été vérifiée à 2 mg/L plaçant la souche dans la zone « intermédiaire », mais là encore la fourchette est étroite expliquant la variation dans les réponses. 74,2% des laboratoires utilisant des cartes VITEK ont rendu R, alors que ceux utilisant des disques ou d'autres automates (SIEMENS ou PHOENIX) ont rendu en majorité I ou S.

En ce qui concerne l'interprétation du phénotype de résistance aux β -lactamines (tableau IX), 78% des laboratoires ont identifié une carbapénèmase ce qui correspond à un bon score. Pour les autres, on rappelle l'application de l'algorithme et l'importance de vérifier la présence éventuelle de carbapénèmase face à des phénotypes de ce type. Enfin, 11% des participants ont détecté une BLSE alors qu'il n'y avait pas de synergie, ni par la technique de l'antibiogramme standard « image en bouchon de champagne », ni par les techniques quantitatives : diamètres d'inhibition et CMI avec ou sans acide clavulanique.

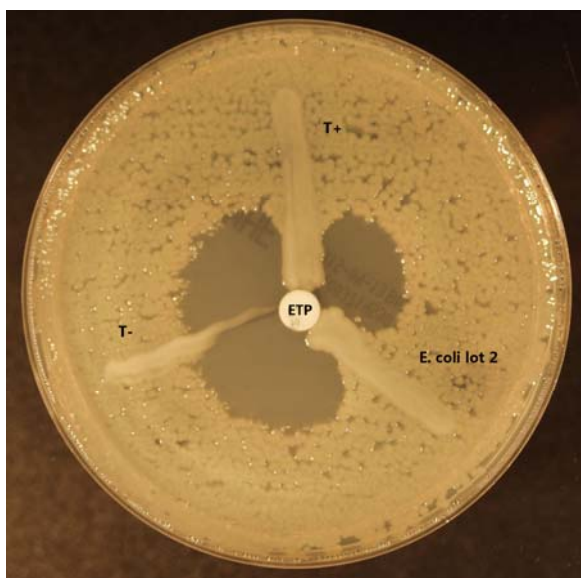


Photo 3 - Hodge Test « POSITIF »
CNQ 15BAC1 / *E. coli* OXA-48 (lot 2)

T+ : témoin positif, T - : témoin négatif, ETP : ertapénème

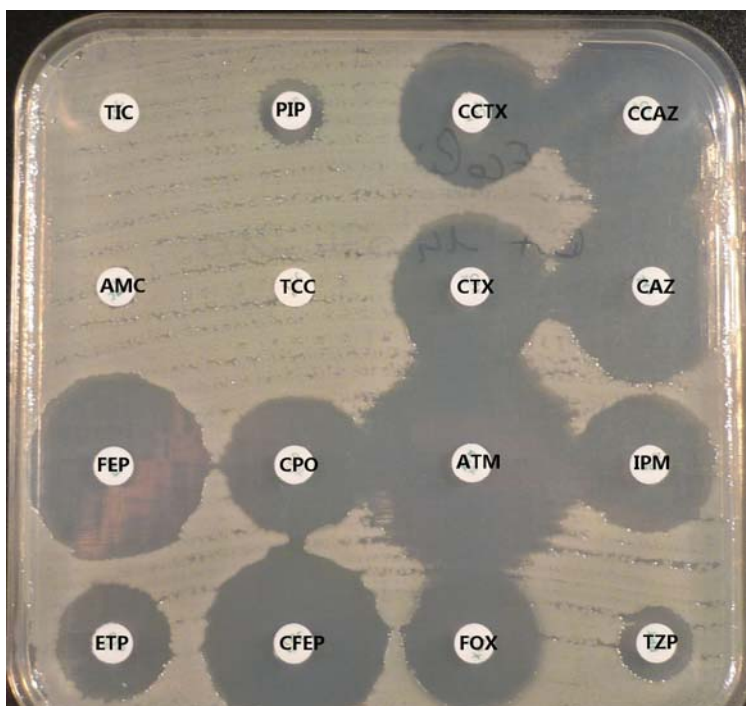


Photo 4 - antibiogramme *E. coli* lot 2

Mueller Hinton cloxacilline (250 mg/L)
CA-SFM 2013

TZP, pipéracilline + tazobactam ; FOX, céfoxitine ; ETP, ertapénème ; IPM, imipénème ; ATM, aztréonam ; CPO, cefpirome ; FEP, céfépime ; CAZ, ceftazidime ; CTX, céfotaxime ; TCC, ticarcilline + ac. clavulanique ; AMC, amoxicilline + ac. clavulanique ; PIP, pipéracilline ; TIC, ticarcilline
Disques combinés : CCTX, cefotaxime + ac.clavulanique ; CCAZ, ceftazidime + ac.clavulanique ; CFEP, céfépime + ac. clavulanique

Autres antibiotiques :

La souche était sensible à tous les antibiotiques testés autres que les β -lactamines : aminosides, fluoroquinolones, fosfomycine, cotrimoxazole et tigécycline. Les résultats sont très bons avec en moyenne 99,5% de réponses exactes.

Bibliographie

- (1) InVS. Episodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénémases en France. Situation épidémiologique du 4 septembre 2015.
Disponible sous <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Infections-associees-aux-soins/Surveillance-des-infections-associees-aux-soins-IAS/Enterobacteries-productrices-de-carbapenemases-EPC/Episodes-impliquant-des-enterobacteries-productrices-de-carbapenemases-en-France.-Situation-epidemiologique-du-4-septembre-2015>
- (2) Rapport du Haut Conseil de la Santé Publique. Prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRe). Juillet 2013.
Disponible sous <http://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=372>
- (3) Adler M, Anjum M, Andersson DI, Sandegren L. Influence of acquired β -lactamases on the evolution of spontaneous carbapenem resistance in Escherichia coli. J Antimicrob Chemother. 2013, 68(1) : 51-9.
- (4) Shaw KJ, Rather PN, Hare RS, Miller GH. Molecular genetics of aminoglycoside resistance genes and familial relationships of the aminoglycoside-modifying enzymes. Microbiol Rev. 1993, 57(1) : 138-63.
- (5) Fernández-Martínez M, Miró E, Ortega A, Bou G, González-López JJ, Oliver A, Pascual A, Cercenado E, Oteo J, Martínez-Martínez L, Navarro F; Spanish Network for the Research in Infectious Diseases (REIPI). Molecular identification of aminoglycoside-modifying enzymes in clinical isolates of Escherichia coli resistant to amoxicillin/clavulanic acid isolated in Spain. Int J Antimicrob Agents. 2015, 46 : 157-63.
- (6) Soussy C.J. Quinolones et bactéries à Gram négatif dans Courvalin P. et Leclercq R. AntibioGramme 3^{ème} édition ESKA 2012 ; Chapitre 22 : 302-15.
- (7) Goldstein F.W. Sulfamides et triméthoprime dans Courvalin P. et Leclercq R. AntibioGramme 3^{ème} édition ESKA 2012 ; Chapitre 29 : 395-404.
- (8) Potron A, Poirel L, Rondinaud E, Nordmann P. Intercontinental spread of OXA-48 beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae over a 11-year period, 2001 to 2011. Euro Surveill. 2013, 18(31).