

# Annales du Contrôle National de Qualité des Analyses de Biologie Médicale

Identification bactérienne  
Identification et antibiogramme : staphylocoque

**Bactériologie**

**10BAC1**

*Avril 2010*

Edition : février 2012

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

---

Expédition : 24 mars 2010

Clôture : 19 avril 2010

Edition des compte-rendus individuels : 07 juin 2010

Paramètres contrôlés : **Identification bactérienne** : *Serratia fonticola*, *Pantoea agglomerans*  
**Identification et antibiogramme d'un staphylocoque** : *S. aureus*, *S. lugdunensis*

Nombre de laboratoires concernés\* : 3074

Nombre de laboratoires participants\*\* : 2973

\* 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

Cet envoi comportait deux souches lyophilisées à identifier. Il s'agissait de deux entérobactéries proposées pour la première fois dans le cadre du CNQ : *Serratia fonticola* et *Pantoea agglomerans*, présentes dans l'environnement (eau, sol ou plantes) mais peu fréquemment isolées chez l'homme.

Les résultats sont bons avec 91,3% d'identifications exactes pour *S. fonticola* ; score à comparer avec celui obtenu, lors d'un contrôle précédent, pour une autre *Serratia* : *S. marcescens* (86%).

Quant à *Pantoea agglomerans*, espèce créée à la suite des problèmes taxonomiques posés par le « complexe *Enterobacter agglomerans* », elle a été précisément identifiée par 87,3% des participants tandis que 5,2% d'entre eux se sont arrêtés au diagnostic de genre « *Pantoea sp.* ».

Cette opération comportait également pour identification et antibiogramme, deux souches de staphylocoques lyophilisées : *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus lugdunensis*.

En ce qui concerne *S. aureus*, seuls 15 laboratoires sur 1389 ont rendu une identification erronée. Il s'agissait d'une souche Méti-R avec une résistance associée aux fluoroquinolones et à la tétracycline. Ces trois types de résistance n'ont pas été détectés par respectivement 4,2%, 3,9% et 3,7% des laboratoires.

En ce qui concerne *S. lugdunensis*, on note par rapport au contrôle précédent en 2005, une nette amélioration (+ 16%) de l'identification de cette espèce avec 79% de réponses correctes. Toutefois, l'analyse détaillée des réponses montre que 60 laboratoires sur 1333 confondent encore *S. lugdunensis* avec *S. aureus*. Cette souche était sensible à tous les antibiotiques à l'exception de la pénicilline G. On observe un pourcentage non négligeable de faux « Résistant » ou « Intermédiaire » à la tétracycline (5,1%), au cotrimoxazole (2,5%) ou à la fosfomycine (2,2%) et, plus inquiétant, près de 14% des laboratoires ont rendu, à tort, cette souche résistante à la méticilline.

# Identification bactérienne

## Définition des échantillons

Bactérie (origine)	N° des échantillons	Renseignements cliniques
<b><i>Serratia fonticola</i></b> (CIP 78.64 T)	106, 154, 222, 287, 342, 482, 578, 811	Un patient en dialyse péritonéale revient en urgence dans le service de Néphrologie pour douleurs abdominales et fièvre ayant débuté il y a deux jours. Le prélèvement du liquide de dialyse péritonéale par le cathéter de dialyse ramène un liquide trouble dont une partie estensemencée dans deux flacons d'hémoculture. La bactérie à identifier a été isolée au bout de 24 heures de culture.
<b><i>Pantoea agglomerans</i></b> (CIP 57.51 T)	141, 177, 206, 307, 333, 408, 596, 774	

## Résultats des participants

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

tableau I - identification des souches bactériennes : fréquence des résultats

Réponse attendue	Genre exact			entérobactéries diverses	Autres bactéries	Absence identification	Total
	espèce exacte	espèce fautive ou non précisée	Total				
<b><i>Serratia fonticola</i></b>	<b>1275 (91,3%)</b>	9 (0,6%)	1284 (91,9%)	75 <sup>a</sup> (5,4%)	26 (1,9%)	11 (0,8%)	1396
<b><i>Pantoea agglomerans</i></b>	<b>1189 (87,3%)</b>	71 (5,2%)	1260 (92,5%)	34 <sup>b</sup> (2,5%)	56 <sup>c</sup> (4,1%)	12 (0,9%)	1362

a : dont 48 *Enterobacter* divers ou « *Pantoea agglomerans* »

b : dont 20 *Enterobacter* divers

c : dont 31 *Pseudomonas* divers (20 « *Pseudomonas luteola* »)

tableau II - identification selon la technique utilisée

Méthode utilisée (effectif > 10)	total	<b><i>Serratia fonticola</i></b>			<b><i>Pantoea agglomerans</i></b>		
		espèce exacte	espèce non précisée	autre	espèce exacte	espèce non précisée	autre
<b>Galeries :</b>							
API 20 E bioMérieux	677	296 (83,6)	4 (1,1)	54 <sup>a</sup> (15,3)	295 (91,3)	8 (2,5)	20 (6,2)
API 32 E bioMérieux	588	312 (98,1)	-	6 (1,9)	234 (86,7)	28 (10,4)	8(2,9)
API 32 GN bioMérieux	162	66 (97,1)	-	2 (2,9)	76 (80,9)	13 (13,8)	5 (5,3)
API 20 NE bioMérieux	33	-	-	5 (100)	-	-	28 <sup>b</sup> (100)
API non précisée	186	75 (78,9)	2 (2,1)	18(18,9)	78 (85,7)	3 (3,3)	10 (11)
BBL Crystal BD	13	3 (100)			10 (100)	-	-
<b>Automates :</b>							
Vitek 2 Compact bioMérieux	471	243 (100)	-	-	222 (97,4)	2 (0,9)	4 (1,7)
Vitek 2 bioMérieux	447	222 (98,7)	-	3 (1,3)	205 (92,3)	15 (6,8)	2 (0,9)
Phoenix Becton Dickinson	52	20 (90,9)	-	2 (9,1)	30 (100)	-	-
Microscan Siemens	38	21 (100)	-	-	17 (100)	-	-

a : dont 23 *Enterobacter* et 8 *P. agglomerans*

b : dont 18 *Pseudomonas luteola*

## Commentaires

### 1 - *Serratia fonticola*

Cette espèce est très répandue dans l'environnement, en particulier l'eau. On la retrouve aussi dans le tube digestif des oiseaux. Rarement isolée chez l'homme, elle se comporte comme un pathogène opportuniste : infection de plaie suite à une blessure ou infection respiratoire.

Les *Serratia* sont des entérobactéries mobiles. Elles fermentent le glucose sans production de gaz et sont ONPG positif. On note le caractère négatif des tests suivants : uréase, indole, TDA, H<sub>2</sub>S.

*S. fonticola* appartient bien au genre *Serratia*, même si elle diffère des autres espèces du genre par de nombreux caractères phénotypiques comme le VP, la gélatinase, la lipase, la DNase qui sont négatifs chez *S. fonticola* et positifs pour les autres *Serratia*. De plus, *Serratia fonticola* est LDC +, ODC+ et ADH –.

Proposée pour la première fois dans le cadre du CNQ, l'identification de cette espèce réalisée sur des automates ou à l'aide de galeries prêtes à l'emploi a conduit à de bons résultats avec un total de 91,3% de diagnostics exacts. On note toutefois, pour ces dernières, un meilleur score obtenu avec la galerie API 32 E par rapport à la galerie 20 E (tableau II).

### 2 - *Pantoea agglomerans*

L'espèce *Pantoea agglomerans* était nommée auparavant *Enterobacter agglomerans*. Le genre *Pantoea* a été créé en 1989 par Gavini *et al* (6). En 1988, Beji *et al* ont montré qu'*Erwinia herbicola* et *Erwinia milletiae* et *Enterobacter agglomerans* désignaient en fait une même espèce (1).

Le genre *Pantoea* rassemble des souches en général pigmentées en jaune, gélatinase positive, lysine décarboxylase négative. Les souches de *P. agglomerans* sont esculine positive, fermentent la salicine, le diagnostic différentiel peut se poser avec d'autres souches de *Pantoea*. Elle se distingue de *Pantoea dispersa* par ses capacités de fermentation de la salicine et l'hydrolyse de l'esculine (4).

Comme les autres *Enterobacter*, les souches de *P. agglomerans* sont mobiles et forment des colonies mucoïdes. Contrairement à *Enterobacter aerogenes*, leurs caractères lysine décarboxylase et ornithine décarboxylase sont négatifs.

On les différencie d'*Escherichia hermannii*, *Escherichia vulneris* et *Leclercia adecarboxylata* sur le caractère Voges-Proskauer négatif de ces dernières et d'*Erwingella americana*, de *Rahnella aquatilis* et d'*Enterobacter sakazakii* sur le caractère gélatinase négative de ces dernières. Ces caractères peuvent être faibles chez *P. agglomerans* et doivent être lus après 48 h d'incubation.

Proposée pour la première fois dans le cadre du CNQ, l'identification de cette espèce réalisée sur des automates ou à l'aide de galeries prêtes à l'emploi n'a pas posé de problème. L'utilisation d'une galerie inappropriée comme la galerie API 20NE (à réserver à l'identification des bacilles Gram négatif non-entérobactéries) a conduit au diagnostic *Pseudomonas luteola*.

*P. agglomerans* est une entérobactérie ubiquitaire qui est trouvée au niveau des plantes pour lesquelles elle peut être pathogène, mais aussi dans les fèces des hommes et des animaux. D'une façon générale les bactéries du genre *Pantoea* sont isolées des végétaux (fruits) et du sol (8).

Les souches de *P. agglomerans* sont moins souvent impliquées dans les infections que celles d'*Enterobacter aerogenes* et *Enterobacter cloacae*. Elles sont surtout en cause dans les surinfections de maladies débilitantes. En l'absence de maladie sous-jacente, elles donnent rarement des infections. Elles ont été associées à la contamination de cathéters ou à des traumatismes par des plantes (piqûres végétales) et d'arthrites après traumatismes par des végétaux (2, 3, 5, 9). L'ancien *Enterobacter agglomerans* avait été la cause d'une épidémie de septicémie par contamination de liquide de perfusion (10). Des souches d'*Enterobacter agglomerans*, ou *Erwinia herbicola*, avaient été décrites dans de nombreux prélèvements d'origine humaine, concentrés érythrocytaires, sang, urines, plaies, voies respiratoires, lait maternisé, liquide céphalorachidien et selles (2, 5, 7). Des cas de septicémies nosocomiales ont été décrits aux Etats-Unis et au Danemark (10).

La sensibilité aux antibiotiques est variable, la souche décrite par Sep Hieng *et al.* en 1989 était résistante à l'ampicilline, à la carbénicilline et à la céfalotine et sensible aux autres antibiotiques testés habituellement sur les bactéries à Gram négatif (11). En fait, le niveau de sensibilité des souches est assez variable et *Pantoea agglomerans* peut s'avérer très sensible (7).

## Bibliographie

- 1- Beji, A., J. Mergaert, F. Gavini, *et al.* 1988. Subjective synonymy of *Erwinia herbicola*, *Erwinia milletiae*, and *Enterobacter agglomerans* and redefinition of the taxon by genotypic and phenotypic data. *Int. J. Syst. Bacteriol.* 38:77-88
- 2- A.T. Cruz, Cazacu A.C. and C.H. Allen. 2007, *Pantoea agglomerans*, a plant pathogen causing human disease. *J. Clin Microbiol.* 45:1989-1992.

- 3- De Champs, C., S. Le Seaux, J.J. Dubost, et al. 2000. Isolation of *Pantoea agglomerans* in two cases of septic monoarthritis after plant thorn and wood sliver injuries. J. Clin. Microbiol. 38:460-461.
- 4- Farmer, J.J., III, K.D. Boatwright, J. Michaeljanda. *Enterobacteriaceae* : Introduction and Identification. In manual of Clinical Microbiology. P.R.Murray et al. ASM Press 9<sup>th</sup> Ed. 2007 p649.
- 5- Farmer, J.J., III, G.R. Fanning, G.P. Huntley-Carter, et al. 1985, Biochemical identification of new species and biogroups of *Enterobacteriaceae* isolated from clinical specimens. J. Clin. Microbiol. 21:46-76.
- 6- Gavini et al. 1989, Transfer of *Enterobacter agglomerans* (Beijerinck 1988) Ewing and Fife 1972 to *Pantoea* gen. nov. as *Pantoea agglomerans* comb. nov. and description of *Pantoea dispersa* sp. nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 39 : 337-345
- 7- Groze, M., D. Monnet, J. Freney. Autres Entérobactéries. Sect. VII Chap 11, 2006 in Actualités permanentes en Bactériologie Clinique. J. Freney, C., F. Renaud, C. Bollet, R. Leclerc.
- 8- Kageyama, B., N. Masanori, Y. Shigea et al. 1992, *Pantoea punctata* sp. nov., *Pantoea citrea* sp. nov., and *Pantoea terrea* sp. nov Isolated from fruit and soil samples. International J. Systematic Bacteriol. 42:203-210.
- 9- Kratz, A., D. Greenberg, Y. Barki, et al. 2003. *Pantoea agglomerans* as a cause of septic arthritis after palm tree thorn injury; case report and literature review. Arch. Dis. Child. 88:542-544.
- 10- Maki, D.G., F.S. Rhame, D.C. Mackel et al. 1976, Nationwide epidemic of septicaemia caused by contaminated intravenous product : epidemiologic and clinical features. Am. J. Med. 60:471-485.
- 11- Sep Hieng, H., C. Richard, J. Marie et al. 1989, A propos d'un cas de septicémie à *Erwinia herbicola*. Méd. Mal. Infect. 19 :185-193.

## Identification et antibiogramme d'un staphylocoque

### Définition des échantillons

Deux échantillons contenant chacun une souche de staphylocoque lyophilisée ont été proposés. La composition des échantillons et les numéros associés sont détaillés ci-dessous (tableau III).

Il était demandé aux laboratoires participants d'identifier précisément (au niveau de l'espèce) la souche de staphylocoque, de réaliser un antibiogramme vis-à-vis de 16 antibiotiques définis et de préciser si la souche testée était résistante ou non à la méticilline.

tableau III - identification et antibiogramme des staphylocoques : résultats des experts

N° des échantillons	<i>Staphylococcus aureus</i> <sup>(1)</sup>		<i>Staphylococcus lugdunensis</i> <sup>(2)</sup>	
	192, 245, 364, 547, 627, 656, 713, 808		129, 238, 451, 494, 509, 602, 610, 940	
Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis	Résultat lu	Résultat transmis
Pénicilline G	R	R	R	R
Erythromycine	S	S	S	S
Lincomycine	S	S	S	S
Pristinamycine	S	S	S	S
Gentamicine	S	S	S	S
Kanamycine	S	S	S	S
Tobramycine	S	S	S	S
Fluoroquinolones	R	R	S	S
Tétracycline	R	R	S	S
Minocycline	S	S	S	S
Vancomycine	S	S	S	S
Teicoplanine	S	S	S	S
Rifampicine	S	S	S	S
Acide fusidique	S	S	S	S
Fosfomycine	S	S	S	S
Cotrimoxazole	S	S	S	S

- (1) : *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM)  
 - diamètres d'inhibition (disques bioMérieux) à l'oxacilline : 9 mm, à la céfoxitine : 15 mm, au moxalactam : 16 mm  
 - CMI oxacilline (E-test) : 16 mg/l  
 - slidex staph plus © bioMérieux : positif  
 - présence du gène *mecA*
- (2) : *S. lugdunensis* sensible à la méticilline  
 - diamètres d'inhibition (disques bioMérieux) à la céfoxitine > 30 mm, au moxalactam > 30 mm  
 - absence du gène *mecA*

## Résultats des participants

En ce qui concerne l'identification, les résultats obtenus pour chacune des deux souches sont rassemblés dans le tableau IV.

Les réactifs utilisés par les participants pour réaliser l'antibiogramme des staphylocoques sont détaillés dans le tableau V, tandis que les résultats obtenus pour chaque antibiotique, tous réactifs confondus, sont rapportés dans les tableaux VI et VII respectivement pour *S. aureus* et *S. lugdunensis* (la réponse attendue pour chaque antibiotique apparaît en gras).

En complément de l'antibiogramme, les participants devaient préciser :

- le phénotype de résistance à la méticilline de la souche testée (Méti-S ou Méti-R). Les réponses obtenues pour chaque souche sont rapportées dans le tableau VIII.

- la (les) technique(s) utilisé(es) au laboratoire pour détecter la résistance à la méticilline, à choisir parmi la liste suivante : disque d'oxacilline (5µg), de céfoxitine (30µg), de moxalactam (30µg), CMI de l'oxacilline (Etest), test d'agglutination au latex, gélose de screening (antibiotiques incorporés) chromogénique ou non, détection du gène *mecA* par PCR. Les réponses obtenues pour chaque souche sont rapportées dans le tableau IX.

tableau IV - identification d'un staphylocoque : résultats des participants

Réponse attendue	espèce exacte	espèce fausse	« staphylocoque coagulase négative »	« streptocoque »	total
<b><i>Staphylococcus aureus</i></b>	1374 (98,9%)	13 (0,9%)	2 (0,2%)	-	1389
<b><i>Staphylococcus lugdunensis</i></b>	1055 (79,1%)	153 <sup>a</sup> (11,5%)	123 (9,2%)	2 (0,2%)	1333

a : dont 60 « *S. aureus* »

tableau V - réactifs utilisés pour l'antibiogramme des staphylocoques

Réactifs	Fournisseur	Effectif (%)
<b>Automates (36,9%)</b>		
Phoenix	Becton Dickinson	52 (1,9)
Vitek 2 Compact	BioMérieux	650 (23,8)
Vitek 2	BioMérieux	264 (9,7)
Microscan	Siemens	41 (1,5)
<b>Galleries (43,4%)</b>		
ATB Staph	BioMérieux	1159 (42,4)
Rapid ATB Staph	BioMérieux	28 (1,0)
<b>Disques (16,8%)</b>		
Disques	BioMérieux	29 (1,1)
Disques	Biorad	339 (12,4)
NeoSensitabs	Eurobio	5 (0,2)
Disques	i2a	42 (1,5)
Disques	Mast Diagnostics	3 (0,1)
Disques	Oxoid	28 (1,0)
Multidisk	Sobioda	12 (0,5)
	non précisé	80 (2,9)
	Total	2732

**tableau VI** - antibiogramme *Staphylococcus aureus* : résultats des participants

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Pénicilline G	1352	0,5	0,5	<b>99</b>	1338	0,3	0,1	<b>99,6</b>
Erythromycine	1371	<b>97,8</b>	0,2	2,0	1349	<b>97,2</b>	0,2	2,6
Lincomycine	1342	<b>98,1</b>	0,3	1,6	1323	<b>97,8</b>	0,5	1,7
Pristinamycine	1369	<b>99,6</b>	0,2	0,2	1346	<b>99,6</b>	0,2	0,2
Gentamicine	1370	<b>96,9</b>	1,1	2,0	1349	<b>96,4</b>	0,5	3,1
Kanamycine	1332	<b>89,6</b>	0,6	9,8	1311	<b>88,5</b>	0,5	11,0
Tobramycine	1348	<b>96,0</b>	0,4	3,6	1329	<b>95,1</b>	0,6	4,3
fluoroquinolones	1239	3,9	0,1	<b>96</b>	1227	4,2	0,2	<b>95,6</b>
Tétracycline	1321	3,7	2,6	<b>93,7</b>	1304	3,7	2,2	<b>94,1</b>
Minocycline	1140	<b>98,1</b>	0,3	1,7	1127	<b>95,1</b>	1,1	3,8
Vancomycine	1359	<b>98,6</b>	0,8	0,6	1338	<b>98,6</b>	0,7	0,7
Teicoplanine	1323	<b>98,6</b>	0,7	0,7	1303	<b>98,6</b>	0,7	0,7
Rifampicine	1353	<b>99,6</b>	0,3	0,1	1334	<b>99,3</b>	0,5	0,2
Acide fusidique	1362	<b>99,4</b>	0,4	0,2	1339	<b>99,2</b>	0,4	0,4
Fosfomycine	1354	<b>99,8</b>	0,1	0,2	1334	<b>99,5</b>	0	0,5
Cotrimoxazole	1334	<b>99,5</b>	<0,1	0,5	1314	<b>99,4</b>	0,1	0,5

**tableau VII** - antibiogramme *Staphylococcus lugdunensis* : résultats des participants

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Pénicilline G	1312	2,0	1,6	<b>96,4</b>	1287	1,4	0,3	<b>98,3</b>
Erythromycine	1342	<b>98,3</b>	0,1	1,6	1307	<b>97,8</b>	0,2	2,0
Lincomycine	1307	<b>98,9</b>	0,2	0,9	1275	<b>98,8</b>	0,2	1,0
Pristinamycine	1343	<b>99,5</b>	0,4	0,1	1310	<b>99,5</b>	0,2	0,3
Gentamicine	1342	<b>99,6</b>	0,1	0,3	1307	<b>99,5</b>	0	0,5
Kanamycine	1298	<b>98,5</b>	0,1	1,4	1261	<b>98,3</b>	0,2	1,5
Tobramycine	1303	<b>99,2</b>	0,1	0,7	1270	<b>98,9</b>	0,1	1,0
fluoroquinolones	1214	<b>99,1</b>	0,4	0,5	1190	<b>98,8</b>	0,3	0,9
Tétracycline	1283	<b>94,9</b>	2,7	2,4	1248	<b>94,5</b>	1,7	3,8
Minocycline	1133	<b>99,9</b>	0	0,1	1111	<b>99,5</b>	0,3	0,2
Vancomycine	1322	<b>99,8</b>	0,2	<0,1	1289	<b>99,8</b>	0,2	<0,1
Teicoplanine	1278	<b>99,8</b>	0,1	0,1	1247	<b>99,8</b>	<0,1	0,2
Rifampicine	1317	<b>99,8</b>	0,2	0	1285	<b>99,7</b>	0,3	0,0
Acide fusidique	1332	<b>99,4</b>	0,4	0,2	1297	<b>99,4</b>	0,3	0,3
Fosfomycine	1325	<b>97,8</b>	0,2	2,0	1291	<b>97,5</b>	0,2	2,3
Cotrimoxazole	1296	<b>97,5</b>	0,6	1,9	1264	<b>97,5</b>	0,6	1,9

**tableau VIII** - « souche résistante à la méticilline ? » : réponses des participants

	<b>S. aureus</b> (n : 1380)	<b>S. lugdunensis</b> (n : 1352)
Pas de réponse	48 (3,5%)	79 (5,8%)
OUI	<b>1274 (92,3%)</b>	188 (13,9%)
NON	58 (4,2%)	<b>1085 (80,3%)</b>

**tableau IX** - techniques utilisées pour détecter la résistance à la méticilline

	<b><i>S. aureus</i></b> (%)	<b><i>S. lugdunensis</i></b> (%)
Pas de réponse	647 (46,9)	627 (46,4)
disque oxacilline	113 (8,2)	120 (8,9)
Oxacilline + céfoxitine	61 (4,4)	58 (4,3)
Oxacilline + céfoxitine + moxalactam	8 (0,6)	8 (0,6)
Oxacilline + céfoxitine + latex	13 (0,9)	13 (1,0)
disque céfoxitine	234 (17,0)	225 (16,6)
Céfoxitine + moxalactam	25 (1,8)	18 (1,3)
Céfoxitine + latex	18 (1,3)	21 (1,6)
Céfoxitine + gélose de screening (antibiotiques incorporés)	17 (1,2)	15 (1,1)
Céfoxitine + latex + gélose de screening	12 (0,9)	5 (0,4)
CMI oxacilline (Etest)	14 (1,0)	22 (1,6)
Latex	95 (6,9)	64 (4,7)
gélose de screening	31 (2,2)	38 (2,8)
PCR <i>mecA</i> seule ou + autre	36 (2,6)	33 (2,4)
Autres combinaisons	56 (4,0)	85 (6,3)
Total	1380	1352

## Commentaires

### 1 - Identification

C'est la 1<sup>ère</sup> fois qu'une souche de *S. aureus* est envoyée en culture pure pour identification. Les laboratoires participants étaient, de plus, informés qu'il s'agissait d'un staphylocoque dont il fallait identifier l'espèce. Les résultats sont très bons puisque seuls 15 laboratoires sur 1389 ont identifié à tort différentes espèces de staphylocoques coagulase négative à la place de *S. aureus*.

En ce qui concerne *S. lugdunensis*, cette bactérie avait déjà été envoyée en 2005 en culture pure pour identification sans que les participants soient informés qu'il s'agissait d'un staphylocoque. On notait alors respectivement 63% de diagnostics d'espèce et 96% de diagnostics de genre corrects. En 2010, les performances concernant l'identification de l'espèce sont en hausse (+16%) avec 79% de diagnostics corrects. La réponse « staphylocoque coagulase négative » donnée par 9,2% des laboratoires ainsi que les différentes espèces de staphylocoques coagulase négative autre que *S. lugdunensis* (7% des réponses) sont considérées comme des erreurs mineures. En revanche, les réponses « *S. aureus* » (60 laboratoires) et « streptocoque » (2 laboratoires) constituent des erreurs graves compte tenu du pouvoir pathogène de ces bactéries.

*Staphylococcus lugdunensis* se distingue de *S. aureus* par la production d'une pyrrolidonyl arylamidase et d'une décarboxylase, et l'absence de production d'acide à partir du D-mannitol. Cette espèce comme *Staphylococcus schleiferi* peut donner des agglutinations positives avec les tests d'agglutination détectant le clumping factor (facteur d'affinité pour le fibrinogène).

Un autre test positif chez *S. aureus* l'est également chez *S. lugdunensis*, il s'agit de la recherche de nucléase thermostable. Par contre, les laboratoires utilisant des milieux de culture au mannitol pourront différencier *S. lugdunensis* de *S. aureus*. Sur les milieux chromogènes récents, *S. lugdunensis* et *S. schleiferi* peuvent donner des faux positifs dans la détection de *S. aureus*.

### 2 - antibiogramme

Cette opération de contrôle nous permet de savoir précisément quels réactifs sont utilisés dans les LBM en France, en 2010, pour la réalisation de l'antibiogramme des staphylocoques : la galerie ATB STAPH BioMérieux arrive en tête avec 42% d'utilisateurs. Elle est suivie par l'automate Vitek 2/2C BioMérieux (33%) puis par la méthode de diffusion en milieu gélosé avec les disques Biorad (12%) (tableau V).

En revanche, les réponses concernant la(les) technique(s) utilisée(s) dans les LBM pour détecter la résistance à la méticilline sont moins précises (nombreuses combinaisons possibles). Néanmoins, les techniques les plus utilisées sont par ordre décroissant : le disque de céfoxitine, le disque d'oxacilline, le



test d'agglutination au latex. On note que 69 laboratoires ont réalisé une PCR pour rechercher le gène *mecA*. Enfin, on remarque que près de la moitié des participants n'ont pas indiqué de technique spécifique en complément du réactif utilisé pour réaliser l'antibiogramme. Il s'agit en majorité d'utilisateurs de la galerie ATB STAPH ou des automates Vitek 2C ou Phoenix qui dans la moitié des cas n'utilisent pas de technique supplémentaire pour confirmer le phénotype de résistance de la souche (Méti-S ou Méti-R) (tableau IX).

### **Staphylococcus aureus**

Il s'agit d'une souche Méti-R (MRSA) avec une résistance associée aux fluoroquinolones et à la tétracycline. Les résultats obtenus par les laboratoires participants sont globalement bons (tableau VI). Les seuls points faibles rencontrés sont les suivants :

- un pourcentage élevé (9,8%) de résultats faussement « R » à la kanamycine ; ce qui est étonnant car la CMI de la kanamycine (CMI E-test = 2 mg/l) est nettement inférieure à la concentration critique basse ( $c = 8$  mg/l). L'analyse des résultats en fonction du réactif utilisé montre que les réponses « R » sont retrouvées avec la galerie ATB Staph bioMérieux (effectif : 590 avec 79,8% « S » / 19,5% « R » / 0,7% « I »).
- un pourcentage élevé (3,9%) de résultats faussement « S » aux fluoroquinolones. Là encore, on retrouve la majorité des réponses « S » avec la galerie ATB Staph biomérieux (effectif : 527 avec 93,7% « R » et 6,3% « S ») qui teste une fluoroquinolone, la lévofloxacine à 2 concentrations : 1 et 4 mg/l. Par la technique de diffusion en milieu gélosé, on note une résistance « contact » au niveau du disque d'ofloxacine. La résistance est croisée entre ces molécules et le résultat obtenu en testant l'une d'entre elles est valable pour les autres.
- plus inquiétant, une dizaine de laboratoires ont rendu cette souche résistante à la vancomycine et/ou à la teicoplanine. En ce qui concerne la sensibilité aux glycopeptides, les souches de *S. aureus* restent pour l'instant sensibles à la vancomycine mais les CMI ont tendance à augmenter. Selon le CA-SFM, «*pour les souches suspectes d'être de sensibilité diminuée aux glycopeptides, seule la détermination des CMI de la vancomycine et de la teicoplanine permet leur catégorisation clinique*». Il faut bien noter la nouveauté du CA-SFM 2011 avec une valeur critique unique égale à 2 mg/l.

En ce qui concerne la résistance à la méticilline, 58 laboratoires ne l'ont pas détectée (tableau VIII). Parmi eux, 30 utilisent une technique spécifique de détection en plus du réactif utilisé pour réaliser l'antibiogramme (disque d'oxacilline : 13, disque de céfoxitine : 7, disques d'oxacilline + céfoxitine : 1, latex : 9) et 28 n'ont pas précisé s'ils utilisent ou non une technique complémentaire. Dans ce cas les réactifs utilisés pour l'antibiogramme sont : ATB Staph : 25, Vitek 2C : 2, disques bioMérieux : 1.

La détection de la résistance à l'oxacilline pour les Staphylocoques doit être recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30 µg) ou de moxalactam (30 µg) selon les recommandations du CA-SFM.

En dehors des méthodes de biologie moléculaire, la détection de *S. aureus* ou de *S. aureus* résistant à la méticilline peut se faire à l'aide de milieux chromogènes. Comme la plupart des tests, ils peuvent être pris en défaut. Mais surtout ils doivent être testés au préalable et une période d'apprentissage est nécessaire pour éviter les faux positifs liés à l'interprétation de colonies n'ayant pas une couleur typique.

Enfin, on voit de plus en plus des souches méticillino-résistantes et sensibles à la plupart des autres familles d'antibiotiques, y compris les fluoroquinolones.

### **Staphylococcus lugdunensis**

Il s'agit d'une souche Méti-S, sensible à tous les antibiotiques à l'exception de la pénicilline G. Les résultats obtenus par les laboratoires participants sont globalement très bons (tableau VII). Les seuls points faibles rencontrés sont les suivants :

- l'absence de détection de la résistance à la pénicilline G par 18 laboratoires. Il faut toujours vérifier l'absence de production de pénicillinase par une technique chromogénique (test nitrocéfine).
- un pourcentage non négligeable de faux « R » (2,4%) et de faux « I » (2,7%) à la tétracycline rendus par le Vitek 2C ainsi qu'un pourcentage également non négligeable de faux « R » au cotrimoxazole (1,9%) et à la fosfomycine (2%) rendus par la galerie ATB Staph. Ces résultats n'ont pas été reproduits par bioMérieux qui a testé la souche.

En ce qui concerne la recherche de la résistance à la méticilline, 188 laboratoires sur 1352 (soit 14%) ont conclu, à tort, que la souche était Méti-R (tableau VIII). Parmi eux, 69 ont utilisé une technique spécifique de détection en plus du réactif utilisé pour réaliser l'antibiogramme (disque de céfoxitine : 17, disque d'oxacilline : 16, latex : 13, disques d'oxacilline + céfoxitine : 6, disques d'oxacilline + céfoxitine + latex : 4, etc...) et 119 n'ont pas précisé s'ils avaient utilisé ou non une technique complémentaire, en plus du réactif utilisé pour l'antibiogramme. Il s'agit en majorité (76%) d'utilisateurs du Vitek 2 pour lequel on observe une discordance entre le résultat obtenu pour l'oxacilline : R (CMI > 2 mg/l) et celui du « test céfoxitine screen » qui est négatif. Or, dans ce cas, le système expert corrige vers le plus résistant et interprète « Méti-R ».

Selon les recommandations du CA-SFM : «*Pour les staphylocoques à coagulase négative, l'expression d'une PLP2a ou la présence du gène mecA doit être recherchée pour les souches catégorisées intermédiaires par les CMI de l'oxacilline. Des souches appartenant aux espèces S. saprophyticus et S. lugdunensis présentent fréquemment des valeurs intermédiaires alors qu'elles ne possèdent pas le gène mecA ou n'expriment pas de PLP2a. Ces souches sont considérées comme sensibles aux isoxazoly-pénicillines.*». Le CA-SFM précise que le gène *mecA* ou la PLP2a doivent également être recherchés chez les souches de *S. saprophyticus* et *S. lugdunensis* qui présentent des diamètres d'inhibition à la céfoxitine ou au moxalactam inférieurs à la borne basse (céfoxitine < 25 mm et moxalactam < 23 mm).