

Association de Biologie Praticienne

70 avenue des Gobelins 75013 PARIS - Tél : 01 43 31 94 87 - Fax : 01 43 37 39 92

Email : secretariatbp@orange.fr

Enregistrée à la Préfecture de la Région de l'Île de France, délégation à la formation professionnelle, sous le N°11750 397 375
SIRET : 321 609 489 00034 – NAF 9499Z

Dr Véronique Vernet-Garnier vvernetgarnier@chu-reims.fr Dr Lucien Brasme lbrasme@chu-reims.fr	Anne-Marie Fihman
Expert(s) Consultant(s) chargé(s) de l'exploitation des résultats	Responsable scientifique Coordonnateur

Bactériologie Clinique, confrontation N° 2/2016

Rapport final 03/09/2016

Echantillon : ABP 162 (BR2-3/16 mélange de 2 souches bactériennes sous forme de lyophilisat).

Recommandations de mise en culture jointes au bordereau d'envoi :

1) Remise en culture du flacon lyophilisé

- Ouvrir le flacon avec précaution pour éviter les aérosols bactériens.
- Mettre en suspension dans 1 ml de bouillon nutritif stérile (cœur-cerveille ou trypticase-soja ou autre).
- Déposer une petite goutte sur les différents milieux de culture choisis, sélectifs ou non sélectifs, en fonction de la nature du prélèvement.
- Incuber 24 heures, voire 48 h ou plus.
- La coloration de GRAM effectuée directement sur le lyophilisat peut être trompeuse et n'est pas conseillée.

2) Prélèvement : BACT16/2

M. B 66 ans, fumeur (2 paquets/J) vient consulter aux urgences pour une toux persistante, s'accompagnant d'une hyperthermie depuis 3 jours. Il est suivi depuis de nombreuses années pour une BPCO par un pneumologue. En plus d'une radio de poumons et d'un bilan inflammatoire, l'urgentiste réalise une aspiration trachéale dont voici les résultats :

Leucocytes	Nombreux
Hématies	Absence
Cellules épithéliales	Quelques
Micro-organismes	Présence de nombreux cocci à Gram négatif et de quelques cocci à Gram positif Culture : polymicrobienne à 10 ⁸ UFC / mL de BR2/16 (Gram négatif) 10 ⁶ UFC / mL de BR3/16 (Gram positif)

Il vous est demandé d'identifier la souche BR2/16 et la souche BR3/16 et, pour les 2 isolats, de rendre un antibiogramme pour 10 molécules choisies parmi une liste fixe de 30 (voir page suivante)

D'autre part, indiquez l'antibiothérapie que vous conseilleriez chez M. B, en l'absence de référent antibiotique au moment du rendu des résultats ?

Pour les résultats d'antibiogramme, la notation des réponses individuelles pour chaque antibiotique est la suivante :

- A. concordance
- B. discordance mineure (acceptable)
 - I au lieu de R ou S,
 - R au lieu de I
- C. discordance majeure (non conforme)
 - R au lieu de S,
- D. discordance très majeure (inacceptable)
 - S au lieu de R

Pour les participants ayant donné la réponse « non testé », il n'y a pas d'évaluation : la notation est « NE » (non évalué), pour les antibiotiques testés ne présentant pas d'intérêt, il n'y a pas non plus d'évaluation mais la notation est « NP » (non pertinent).

Nombre d'inscrits et nombre de réponses exploitées : 222 inscrits, 212 réponses exploitées.

Réponse attendue (catégorie A) pour l'identification de BR2/15 : *Branhamella (Moraxella) catarrhalis* (souche non productrice de pénicillinase)

L'identification d'espèce a été trouvée par 203 participants (95,8 %), en comptabilisant les réponses acceptables, on obtient 208 participants (98,1 %) ; 4 participants ont inversé les 2 isolats et n'ont pu bénéficier d'une évaluation individuelle.

L'ensemble des réponses est détaillé dans *le tableau I ci-dessous* :

Tableau I. Identification de BR2/16.

Identification BR2-16	N	%	Catégorie
<i>Moraxella (Branhamella) catarrhalis</i>	203	95,8%	A
<i>Moraxella sp.</i>	2	0,9%	B
<i>Neisseria sp.</i>	2	0,9%	B
<i>Moraxella nonliquefaciens</i>	1	0,5%	B
<i>Acinetobacter sp.</i>	1	0,5%	C
cocci à Gram négatif	1	0,5%	C
<i>Escherichia coli</i>	1	0,5%	C
<i>Kocuria rosea</i>	1	0,5%	C
	212	100,0%	

Les systèmes utilisés par les sont résumés dans le *tableau II ci-dessous*. Les performances des systèmes ont été évaluées en nombre de concordances (catégorie A).

Tableau II. Systèmes utilisés en première et deuxième intention pour l'identification de la souche BR 2/16 (n = 229).

Système identification BR2-16	N	%	concordances
bioMérieux - Api NH	45	21,0%	45
Oxoid - RapID NH (Remel)	3	1,4%	3
Beckman Coulter - Rapid HNID	1	0,5%	1
Becton Dickinson. - BBL Crystal <i>Neisseria/Haemophilus</i>	1	0,5%	1
bioMérieux - Api 20 NE	1	0,5%	0
<i>Sous-total galeries conventionnelles</i>	51	23,8%	50
bioMérieux - Vitek 2 NH	107	50,0%	106
bioMérieux - Vitek 2 GN	7	3,3%	3
Becton Dickinson. - Phoenix-Combo NMIC/ID-96	1	0,5%	1
<i>Sous-total systèmes automatisés</i>	115	53,7%	110
Bruker- Maldi Biotyper	39	18,2%	39
bioMérieux- Vitek MS	22	10,3%	22
Andromas	2	0,9%	2
<i>Sous-total MALDI-TOF</i>	63	29,4%	63

229

Un antibiogramme a été réalisé par 194 participants (91,5 %). Les performances des différents systèmes sont données pour les effectifs ≥ 10 .

Les résultats compilés des antibiotiques testés par les participants ayant réalisé un antibiogramme apparaissent dans *le tableau III ci-dessous* :

Tableau III. Catégories cliniques retrouvées pour la souche BR2/16.

Abbreviations : S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant ;

NE : non évalué.

Antibiotiques testés	N	S	I	R	réponse attendue	% catégories A + B				Global
						Bio-Rad disques	i2a disques	Oxoid disques	bioMérieux ATB Haemo EU	
<i>Pénicilline G*</i>	43	32	1	10	S	90,9%	NE	NE	NE	76,7%
<i>Ampicilline ou amoxicilline*</i>	143	103	2	38	S	83,9%	64,3%	70,0%	53,8%	73,4%
<i>Amoxicilline + ac. clavulanique</i>	180	180	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
<i>Céfotaxime ou ceftriaxone</i>	154	153	0	1	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	99,4%
<i>Erythromycine</i>	154	151	3	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
<i>Acide nalidixique**</i>	65	62	0	3	S	100,0%	81,3%	NE	NE	95,4%
<i>Lévofoxacine</i>	79	77	0	2	S	100,0%	83,3%	100,0%	NE	97,5%
<i>Ciprofloxacine</i>	112	111	0	1	S	100,0%	100,0%	NE	NE	99,1%
<i>Cotrimoxazole</i>	170	123	23	24	S	69,2%	94,5%	95,5%	NE	85,9%
<i>Tétracycline</i>	148	145	3	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
<i>Rifampicine</i>	85	85	0	0	***	NE	NE	NE	NE	NE

* : nécessité de rechercher une β -lactamase

** : marqueur phénotypique

*** : pas de valeurs critiques CA-SFM 2016 v1

Les performances sont très satisfaisantes, avec plus de 95 % de réponses concordantes, à l'exception de la pénicilline, l'amoxicilline et le cotrimoxazole. Rappelons que selon le dernier communiqué du CA-SFM (2016 v1) : « ...1. La majorité des souches de *M. catarrhalis* produit une bêta-lactamase, mais sa production à bas niveau peut entraîner des résultats faiblement positifs. Les souches productrices de bêta-lactamase doivent être catégorisées résistantes à la pénicilline G et aux aminopénicillines. Les souches non productrices de bêta-lactamase, sensibles à l'amoxicilline-acide clavulanique, doivent être catégorisées «sensibles» à la pénicilline G et aux aminopénicillines.... » Une bêta-lactamase est produite par plus de 90 % des souches de *B. catarrhalis*, mais doit être systématiquement recherchée, il ne s'agit en aucun cas d'une résistance naturelle.

Le système bioMérieux ATB Haemo EU a vraisemblablement été sous évalué car il ne figurait pas dans le thesaurus, cet oubli a été corrigé pour les futures évaluations.

Réponse attendue (catégorie A) pour l'identification de BR3/15 : *Streptococcus pneumoniae* (souche résistante aux bêta-lactamines)

L'identification d'espèce a été trouvée par 209 participants sur 213 réponses exploitables (98,1 %).

L'ensemble des réponses est détaillé dans *le tableau IV ci-dessous* :

Tableau IV. Identification de BR3/16.

Identification BR3-16	N	%	Catégorie
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	209	98,1%	A
<i>Erysipelothrix rhusiopathiae</i>	1	0,5%	C
<i>Micrococcus sp.</i>	1	0,5%	C
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	1	0,5%	C
Streptocoque du groupe C	1	0,5%	C
	213	100,0%	

Les systèmes utilisés par les sont résumés dans le *tableaux V ci-dessous*. Les performances des systèmes ont été évaluées en nombre de concordances (catégorie A)

Tableau V. Systèmes utilisés pour l'identification de la souche BR3/15.

Système identification BR3-16	N	%	concordances
bioMérieux - Api 20 STREP	12	5,6%	11
bioMérieux - Rapid ID32 STREP	7	3,3%	7
Beckman Coulter - MicroScan	1	0,5%	1
Becton Dickinson. - BBL Crystal gram positif	1	0,5%	1
bioMérieux - API STAPH	1	0,5%	*
<i>Sous-total galeries conventionnelles</i>	22	9,3%	20
bioMérieux - Vitek 2 GP	120	56,1%	120
Becton Dickinson. - Phoenix-Combo SMIC/ID-11	4	1,9%	4
Becton Dickinson. - Phoenix-PID	2	0,9%	2
bioMérieux - Vitek 2 ANC	2	0,9%	*
<i>Sous-total systèmes automatisés</i>	128	59,8%	126
Bruker- Maldi Biotyper	37	17,3%	37
bioMérieux- Vitek MS	22	10,3%	22
Andromas	2	0,9%	2
<i>Sous-total MALDI-TOF</i>	61	28,5%	61
non précisé	2	0,9%	*
	213		

* : pas d'évaluation, système non adapté ou non précisé.

Un antibiogramme a été réalisé par 208 participants (97,6 %).

Les résultats des antibiotiques testés sont compilés dans *le tableau VI ci-dessous* :

Tableau VI. Catégories cliniques retrouvées pour la souche BR3/16.
Abbréviations : S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant ; NE : non évalué.

Antibiotiques testés	N	S	I	R	réponse attendue	% catégories A + B					
						bioMérieux - Vitek 2 carte AST-P576	bioMérieux - Vitek 2 carte AST-ST01	Bio-Rad disques	12a disques	Oxoid disques	Global
<i>Pénicilline G*</i>	181	1	33	147	R	96,2%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	99,4%
<i>Ampicilline ou amoxicilline*</i>	201	6	7	188	R	96,6%	100,0%	94,6%	95,2%	90,0%	97,0%
<i>Céfotaxime ou ceftriaxone*</i>	190	10	50	130	R	100,0%	96,2%	93,5%	89,5%	NE	94,7%
<i>Erythromycine</i>	204	0	0	204	R	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
<i>Clindamycine ou lincomycine</i>	155	0	1	154	R	NE	100,0%	100,0%	100,0%	NE	99,4%
<i>Pristinamycine</i>	77	65	2	10	S	50,0%	NE	93,5%	100,0%	NE	87,0%
<i>Gentamicine</i>	70	7	3	60	R**	NE	NE	90,3%	95,2%	NE	90,0%
<i>Lévofloxacine</i>	192	192	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	NE	100,0%
<i>Vancomycine</i>	190	188	0	2	S	100,0%	97,4%	100,0%	100,0%	100,0%	98,9%
<i>Cotrimoxazole</i>	167	7	7	153	R	100,0%	100,0%	92,9%	100,0%	NE	95,8%
<i>Tétracycline</i>	166	5	1	160	R	100,0%	94,8%	95,2%	93,8%	NE	97,0%
<i>Linézolide</i>	140	139	1	0	S	100,0%	100,0%	NE	NE	NE	100,0%
<i>Rifampicine</i>	60	58	1	1	S	NE	NE	100,0%	100,0%	NE	98,3%

* : nécessité de déterminer les valeurs de C.M.I.

** : résistance à bas niveau

Les résultats sont globalement satisfaisants, le score le plus bas (87 %) concerne la pristinamycine qui n'a été testée que par 37 % des participants. Concernant les bêta-lactamines, le dépistage se fait à l'aide d'un disque d'oxacilline chargé à 1 µg ; le diamètre seuil est de 20 mm. Il s'agissait bien d'une souche non sensible aux bêta-lactamines (diamètre oxacilline 1 µg = 6 mm). Dans ce cas, il convient de « *déterminer la CMI de l'antibiotique et interpréter en fonction des concentrations critiques* ».

Pour les aminosides, les 10 % de réponses erronées sont plutôt le fait d'erreurs de sémantique : rappelons que les pneumocoques appartiennent au genre *Streptococcus* et à ce titre ne sont jamais sensibles aux aminosides ; au mieux ils présente une résistance naturelle de bas niveau, au pire une résistance acquise de haut niveau.

Les valeurs de CMI ont été rendue par 124 participants (58,2 %). Elles ont été déterminées pour l'essentiel par des techniques en diffusion à l'aide de bandelettes contenant un gradient de concentration d'antibiotique. Les résultats sont résumés dans la *figure 1 ci-dessous* :

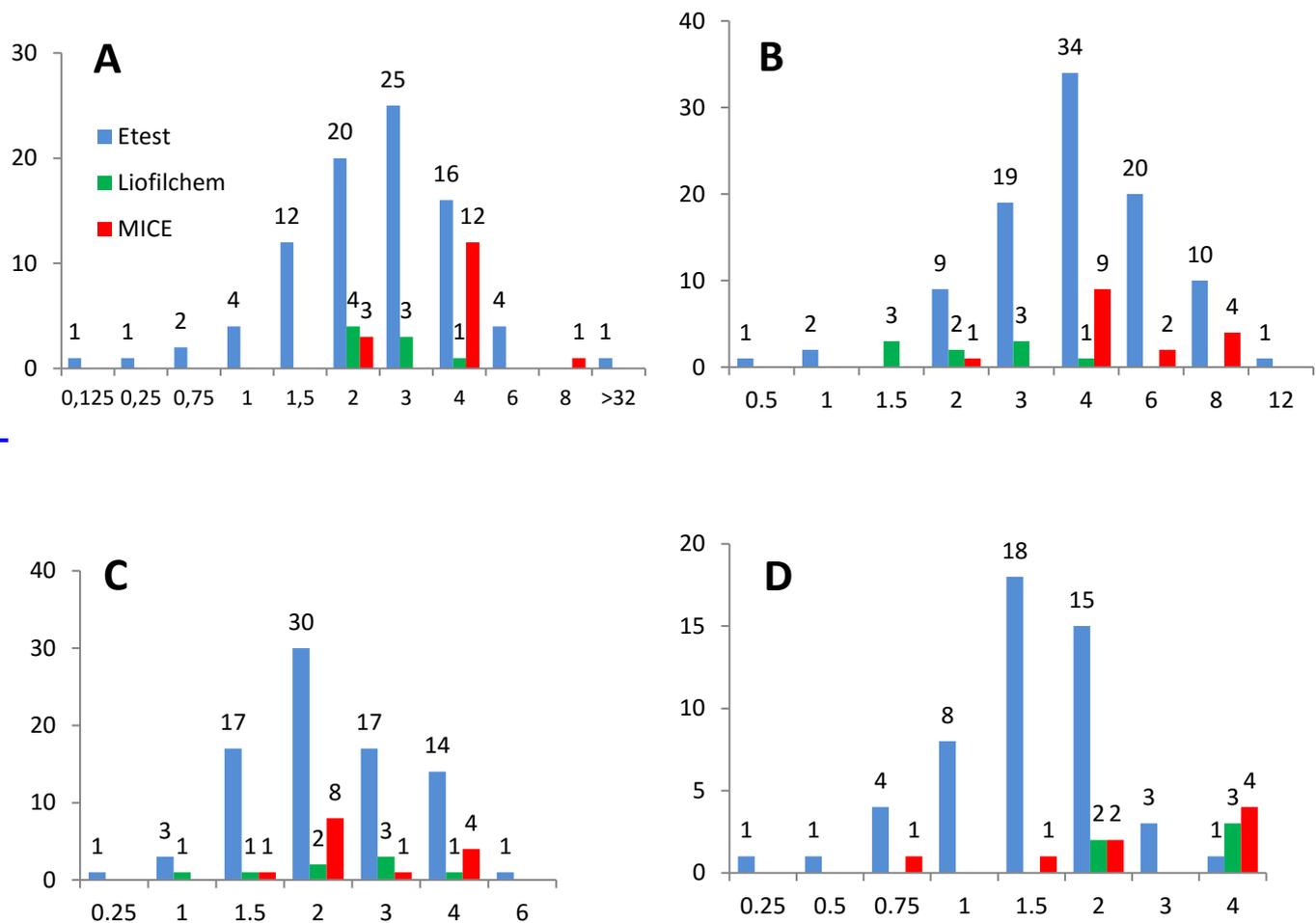


Figure 1. Répartition des valeurs de CMI de la souche BR3/16. A : pénicilline (n = 116), B : amoxicilline (n = 124), C : céfotaxime (n = 108), D : ceftriaxone (n = 65).

Antibiothérapie :

Au vu du contexte clinique, nous sommes devant une exacerbation de BPCO. Les isolats BR2 et BR3/16 sont à prendre en considération : le seuil pour les aspirations endotrachéales est de 10^5 UFC/ml.

Le profil de résistance de BR3/16 (*S. pneumoniae*) limite considérablement les possibilités thérapeutiques : l'utilisation de bêta-lactamines telles que la pénicilline G, l'amoxicilline associée ou non à l'acide clavulanique, les céphalosporines de 3^{ème} génération n'est pas envisageable (CMI attendues : pénicilline G = 4 mg/l, amoxicilline = 8 mg/l, céfotaxime = 4 mg/l).

Il ne reste donc que la lévofloxacine (proposée par la majorité d'entre vous) ainsi que la pristinaflicine face à ce tableau d'infection communautaire.

Le prochain envoi comportera 1 souche.

Bien confraternellement

L. Brasme

V. Vernet-Garnier