

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°3/2016

Rapport final 15/11/2016

Echantillon : ABP 16/3 (BR4/16, 1 souche bactérienne 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-cervelle 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 : BACT16/3

Mme P 54 ans est hospitalisée en hématologie pour prise en charge d'une leucémie aiguë myéloïde. Elle a bénéficié de plusieurs cures de chimiothérapie.

Au décours d'une période d'aplasie, elle présente une fièvre continue à 40°C. Une porte d'entrée digestive est évoquée devant un aspect de colite segmentaire à l'imagerie (TDM).

Deux hémocultures aéro-anaérobies sont prélevées. Les 2 flacons anaérobies se positivent en 24 heures avec la souche BR4/16.

Il vous est demandé d'identifier la souche BR4/16 de déterminer son phénotype de résistance et 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 conseillerez chez Mme P, 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 : 223 inscrits, 205 réponses exploitées.

Réponse attendue (catégorie A) pour l'identification de BR4/16 : *Bacteroides fragilis*, isolat produisant une carbapénémase de classe B.

L'identification d'espèce a été trouvée par 178 participants (86,8 %), en comptabilisant les réponses acceptables (*Bacteroides sp.* et autres espèces du groupe *fragilis*), on obtient 188 participants (91,7 %).

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

Tableau I. Identification de BR4/16.

Identification BR4-16	N	%	Notation
<i>Bacteroides fragilis</i>	178	86,8%	A
<i>Bacteroides stercoris</i>	4	2,0%	B
<i>Bacteroides sp.</i>	3	1,5%	B
<i>Bacteroides distasonis</i>	1	0,5%	B
<i>Bacteroides thetaiotamicron</i>	1	0,5%	B
<i>Bacteroides vulgatus</i>	1	0,5%	B
<i>Prevotella oralis</i>	4	2,0%	C
<i>Prevotella sp.</i>	1	0,5%	C
bactérie anaérobie	5	2,4%	C
bacille à Gram négatif anaérobie	4	2,0%	C
<i>Edwardsiella hoshinae</i>	1	0,5%	C
<i>Pantoea agglomerans</i>	1	0,5%	C
culture négative	1	0,5%	NE
	205	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 pour l'identification de la souche BR 4/16 (n = 216).

Système d'identification BR4-16	N	Concordances
bioMérieux - Api 20 A	17	15
bioMérieux - Rapid ID 32 A	9	6
Oxoid - RapID ANA II (Remel)	4	4
bioMérieux - Api 20 E	1	0
bioMérieux - Api 20 NE	1	1
<u>Sous total galeries :</u>	32	26
bioMérieux - Vitek 2 ANC	106	96
bioMérieux - Vitek 2 GN	4	3
BD - Phoenix-Combo NMIC/ID-96	1	0
<u>Sous total automates :</u>	111	99
Bruker	41	41
bioMérieux- Vitek MS	21	21
Andromas	2	2
<u>Sous total spectrométrie de masse :</u>	64	64
non effectuée ou non précisée	9	
	216	

Bacteroides fragilis est de loin l'espèce anaérobie stricte la plus souvent isolée au sein d'un laboratoire de bactériologie. Son isolement est relativement aisé de part sa faible sensibilité à l'oxygène. Son identification ne devrait pas non plus poser de problème : si on ne dispose pas de la spectrométrie de masse (100 % de concordance), il est possible d'utiliser les classiques tests d'orientation à l'aide des disques de vancomycine 5 µg, kanamycine 1000 µg et colistine 10 µg ; les genres *Bacteroides* et *Parabacteroides* étant résistant aux 3 molécules.

Le diagnostic des espèces proches de *B. fragilis* repose sur l'algorithme suivant :

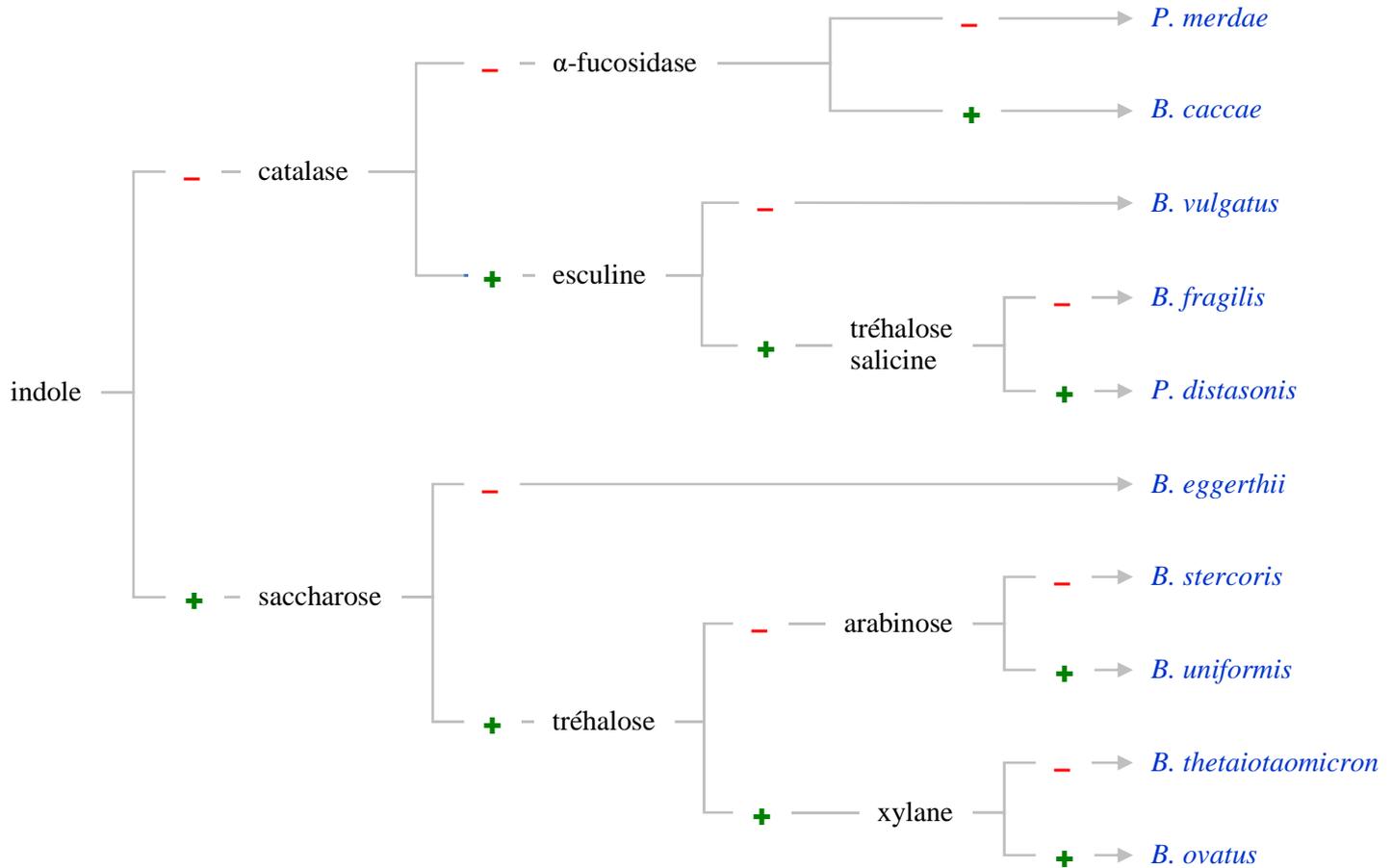


Figure 1. Identification rapide des principales espèces des genres *Bacteroides* et *Parabacteroides*.

Un antibiogramme a été réalisé par 152 participants (74,1 %). 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 BR4/16.

Abbréviations : S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant ;
NE : non évalué.

Antibiotiques testés	NE	S	I	R	réponse attendue	% catégories A + B				
						bioMérieux ATB ANA	Bio-Rad disques	i2a disques	Oxoid disques	Global
<i>Pénicilline G</i>	52	0	0	52	R	100,0%	NE	NE	NE	100,0%
<i>Ampicilline/Amoxicilline</i>	143	0	0	143	R	100,0%	100,0%	100,0%	NE	100,0%
<i>Amoxicilline + ac. clavulanique</i>	152	7	5	140	R	100,0%	90,9%	100,0%	100,0%	95,4%
<i>Ticarcilline</i>	79	1	0	78	R	100,0%	100,0%	NE	NE	98,7%
<i>Ticarcilline + ac. clavulanique</i>	98	3	0	95	R	100,0%	93,5%	NE	NE	96,9%
<i>Pipéracilline + tazobactam</i>	107	7	2	98	R	100,0%	82,8%	100,0%	NE	93,5%
<i>Céfoxitine</i>	84	3	1	80	R	96,2%	95,0%	NE	NE	96,4%
<i>Imipénème</i>	143	10	8	125	R	98,3%	86,0%	100,0%	100,0%	93,0%
<i>Clindamycine ou lincomycine</i>	127	3	0	124	R	100,0%	97,6%	87,5%	NE	97,6%
<i>Vancomycine</i>	101	3	2	96	R	100,0%	91,2%	100,0%	NE	97,0%
<i>Rifampicine</i>	105	104	0	1	S	100,0%	100,0%	91,7%	NE	99,0%
<i>Métronidazole</i>	72	72	0	0	S	100,0%	100,0%	NE	NE	100,0%

Les performances sont très satisfaisantes, avec globalement plus de 93 % de réponses concordantes. S'agissant d'un phénotype rare, ces résultats montrent la capacité des laboratoires inscrits à détecter un phénotype multi-résistant très peu rencontré en pratique quotidienne.

Malheureusement, une erreur au niveau du masque de saisie ne vous a pas permis de rendre le résultat d'un antibiotique crucial dans l'antibiogramme des bactéries anaérobies strictes, le métronidazole. Nous avons compilé tous les résultats notés en « remarque », avec une évaluation forcément tronquée, limitée à 72 réponses, mais des résultats tout à faits satisfaisants (100 % de bonnes réponses).

Rappelons que le phénotype habituel de *B. fragilis* est dû à la production d'une β -lactamase chromosomique de classe A, hydrolysant les céphalosporines à l'exception des céphamycines. Les autres phénotypes : hyperproduction de l'enzyme chromosomique, défaut de porine, étendent les résistances à d'autres molécules (ticarcilline, amoxicilline + clavulanate, ticarcilline + clavulanate, céphamycine) mais la sensibilité aux carbapénèmes est conservée. Dans le cas présent, nous sommes en présence d'une carbapénémase de classe B (métallo-enzyme sensible à l'EDTA) codée par le gène *cfiA*, conférant une résistance à l'ensemble des β -lactamines.

Cet isolat était fort heureusement sensible au métronidazole.

Antibiothérapie :

Nous sommes ici dans un contexte d'aplasie fébrile. Les options thérapeutiques en probabiliste reposent dans ce cas le plus souvent sur des pénicillines à spectre large comme l'association pipéracilline + tazobactam. Malheureusement, toutes les β -lactamines sont inactive sur cet isolat. Parmi les autres antibiotiques utilisables, pouvant être actifs sur *B. fragilis*, comme la clindamycine ou la moxifloxacine, aucun n'est actif.

Il ne reste donc que le **métronidazole** (proposée par 144 participants) ; il faudra néanmoins maintenir la pénicilline à large spectre, qui permet de conserver une action sur les autres bactéries digestives capables de translocation et tout particulièrement les entérobactéries.

Le prochain et dernier envoi de l'année comportera 2 souches.

Bien confraternellement

L. Brasme

V. Vernet-Garnier