

Association de Biologie Praticienne

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

Email : secretariatbap@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° 4/2016

Rapport final 24/02/2017

Echantillon : ABP 164 (BR5-6/16 mélange de 2 souches bactériennes sous forme de lyophilisat).

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

- 1) Remise en culture des flacons lyophilisés
 - Ouvrir le flacon avec précaution pour éviter les aérosols bactériens.
 - Mettre en suspension dans 1 ml de bouillon stérile (coeur-cerveille ou trypticase-soja ou bouillon glucosé).
 - 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) Prélèvements : BR5/2016 et BR6/2016

Madame D..., 28 ans présente un tableau d'infection urinaire non fébrile.

A l'interrogatoire, la patiente cite 2 épisodes de cystite aiguë dans les 4 mois précédents. Ces épisodes ont été traités, dans l'ordre chronologique par (1) Monoflocet® et (2) Uridoz®.

Un examen cytot bactériologique des urines est réalisé dont voici les résultats :

Examen direct

Leucocytes	:	1000 / mm ³ (1.000.000 / ml)
Hématies	:	800 / mm ³ (800.000 / ml)
Cylindres	:	absence
Cristaux	:	struvites (quelques)
Micro-organismes	:	présence d'une flore bactérienne abondante

Culture	:	BR5 10 ⁶ UFC / ml (bactérie à gram positif)
	:	BR6 10 ⁴ UFC / ml (bactérie à gram négatif)

Il vous est demandé d'identifier la souche BR5/16 et la souche BR6/16 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 Mme D au médecin prescripteur 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 thérapeutique, 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, 211 réponses exploitées, 5 inversions entre les 2 isolats.

Réponse attendue (catégorie A) pour l'identification de BR5/16 : *Staphylococcus saprophyticus* (souche présentant une résistance à la pénicilline, aux macrolides et à l'acide fusidique).

L'identification d'espèce a été trouvée par 210 participants (99,5 %), en sachant que 5 participants ont inversé les 2 isolats et n'ont donc pu bénéficier d'une évaluation individuelle.

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 I. Systèmes utilisés en première et deuxième intention pour l'identification de la souche BR 5/16 (n = 221).

Systèmes d'identification BR5-16	N	%	Concordances
bioMérieux - Api Staph	10	4,7%	10
Beckman Coulter - MicroScan	3	1,4%	3
bioMérieux - ID32 STAPH	3	1,4%	3
bioMérieux - RAPIDEC Staph	3	1,4%	3
Oxoid - RapID Staph Plus (Remel)	2	0,9%	1
Sous total galeries	21	10,0%	20
bioMérieux - Vitek 2	123	58,3%	123
Becton Dickinson. - Phoenix	4	1,9%	4
Sous total automates	127	60,2%	127
Nombre Bruker	45	21,3%	45
Nombre bioMérieux- Vitek MS	22	10,4%	22
Nombre Andromas	3	1,4%	3
Sous total spectrométrie de masse	70	33,2%	70
non précisé	3	1,4%	

Un antibiogramme a été réalisé par 210 participants (99,5 %). Les performances des différents systèmes, exprimées en **pourcentages de résultats concordants** (catégorie A), sont données pour les **effectifs ≥ 7** .

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

Tableau II. Catégories cliniques retrouvées pour la souche BR5/16.

Antibiotiques testés	N	S	I	R	réponse attendue	% concordance (catégorie A)					
						bioMérieux Vitek 2	Bio-Rad disques	i2a disques	BD Phoenix	Oxoid disques	Global
<i>Pénicilline G</i>	174	14	1	159	R	97,5%	80,0%	63,6%	83,3%	85,7%	91,4%
<i>Oxacilline</i>	170	93	3	74	S	45,8%	100,0%	100,0%	42,9%	100,0%	54,7%
<i>Céfoxitine</i>	70	59	0	11	S ^a	62,5%	100,0%	100,0%	75,0%	100,0%	84,3%
<i>Erythromycine</i>	162	1	0	161	R	99,1%	100,0%	100,0%	100,0%	NE	99,4%
<i>Clindamycine ou lincomycine</i>	124	124	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	NE	100,0%
<i>Pristinamycine</i>	129	129	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	NE	100,0%
<i>Amikacine</i> ^c	34	34	0	0	S	100,0%	100,0%	NE	NE	NE	100,0%
<i>Gentamicine</i>	197	197	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
<i>Tobramycine</i>	133	133	0	0	S	100,0%	100,0%	NE	100,0%	NE	100,0%
<i>Norfloxacin</i>	57	41	16	0	S ^a	46,4%	94,1%	100,0%	NE	NE	100,0%
<i>Lévofoxacin</i>	45	36	9	0	S	55,0%	100,0%	NE	100,0%	NE	80,0%
<i>Ciprofloxacine</i>	51	41	10	0	S	54,5%	100,0%	100,0%	NE	NE	80,4%
<i>Vancomycine</i>	155	155	0	0	S	100,0%	100,0%	NE	100,0%	NE	100,0%
<i>Teicoplanine</i>	120	120	0	0	S	100,0%	100,0%	NE	100,0%	NE	100,0%
<i>Cotrimoxazole</i>	197	197	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
<i>Acide fusidique</i>	129	19	0	110	R	100,0%	18,8%	50,0%	100,0%	NE	85,3%
<i>Tétracycline</i>	109	102	0	7	S	91,6%	100,0%	NE	100,0%	NE	93,6%
<i>Linézolide</i>	113	113	0	0	S	100,0%	100,0%	NE	NE	NE	100,0%
<i>Fosfomycine</i>	183	2	0	181	R ^b	99,4%	100,0%	100,0%	100,0%	83,3%	98,9%
<i>Nitrofurantoïne</i>	177	177	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	NE	NE	100,0%
<i>Rifampicine</i>	120	120	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	NE	NE	100,0%

^a : marqueur phénotypique (n'apparaît pas dans le compte rendu) ; ^b : résistance naturelle ; ^c : interprété d'après le résultat de la kanamycine.

Les performances sont globalement satisfaisantes, à l'exception de l'**oxacilline** et parallèlement de la **céfoxitine** : les systèmes automatisés apparaissent comme les moins aptes à rendre un résultat correct. Rappelons que selon le dernier communiqué du CA-SFM (2016 v1) : « ...La résistance des staphylocoques aux isoxazolyl-pénicillines (oxacilline, cloxacilline) est recherchée à l'aide d'un **disque de céfoxitine (30 µg)** dans les conditions standards de l'antibiogramme. Il ne doit pas être tenu compte d'une éventuelle zone fantôme pour la lecture des diamètres d'inhibition. Pour *S. aureus*, *S. lugdunensis* et *S. saprophyticus* avec des **diamètres d'inhibition de 22, 23 et 24 mm** et les autres espèces avec des diamètres d'inhibition de 24 et 25 mm, il convient de rechercher l'expression d'une PLP additionnelle (PLP2a, PLP2c) après induction par une bêta-lactamine ou la présence d'un gène *mec* additionnel (*mecA*, *mecC*) par une technique appropriée... » Une fausse résistance aux **fluoroquinolones** a été trouvée par le système Vitek 2 : il s'agit ici d'une correction thérapeutique du système expert alors que le résultat brut était « sensible », il n'est pas obligatoire d'appliquer cette correction thérapeutique, vu les concentrations urinaires élevées de cette famille d'antibiotiques. A l'inverse, les techniques en diffusion ont été prises en défaut pour l'**acide fusidique** rendu faussement sensible, en raison vraisemblablement d'une valeur de CMI modérément élevée ; dans ce dernier

cas, les conséquences thérapeutiques sont inexistantes puisque cette molécule n'est pas indiquée dans le traitement des infections urinaires et ne doit donc pas apparaître dans le compte-rendu destiné au médecin..

Réponse attendue (catégorie A) pour l'identification de BR6/15 : *Escherichia coli* (souche multi-sensible)

L'identification d'espèce a été trouvée par 210 participants sur 211 réponses exploitables (99,5 %), sans tenir compte des 5 inversions citées précédemment.

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

Tableau III. Systèmes utilisés pour l'identification de la souche BR6/15.

Systèmes d'identification BR6-16	N	%	concor- dances
bioMérieux - Api 20 E	11	5,2%	11
bioMérieux - ID 32 E	5	2,4%	5
Beckman Coulter - Plaques MicroScan conventionnelles pour gram négatifs	4	1,9%	4
Oxoid - RapID ONE (Remel)	1	0,5%	1
Sous total galleries	21	10,0%	21
bioMérieux - Vitek 2	113	53,6%	112
Becton Dickinson. - Phoenix	4	1,9%	4
Sous total automates	117	55,5%	116
Bruker	45	21,3%	45
bioMérieux - Vitek MS	20	9,5%	20
Andromas	3	1,4%	3
Sous total spectrométrie de masse	68	32,2%	68
non précisé	15	7,1%	NE

Un antibiogramme a été réalisé par 210 participants, les performances ont été évaluées comme précédemment.

Les résultats sont compilés dans **le tableau IV ci-dessous** :

Tableau IV. Catégories cliniques retrouvées pour la souche BR6/16.
 Abréviations : S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant ; NE : non évalué.

Antibiotiques testés	N	S	I	R	réponse attendue	% concordance (catégorie A)					
						bioMérieux Vitek 2	Bio-Rad disques	i2a disques	BD Phoenix	Oxoid disques	Global
<i>Ampicilline ou amoxicilline</i>	207	207	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
<i>Amoxicilline + clavulanate</i>	197	197	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
<i>Ticarilline</i>	133	133	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	NE	NE	100,0%
<i>Ticarilline + clavulanate</i>	18	18	0	0	S	100,0%	NE	NE	NE	NE	100,0%
<i>Pipéracilline + tazobactam</i>	118	118	0	0	S	100,0%	100,0%	NE	100,0%	NE	100,0%
<i>Céfoxitine</i>	132	132	0	0	S	100,0%	100,0%	NE	NE	NE	100,0%
<i>Céfotaxime ou ceftriaxone</i>	191	191	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%
<i>Ceftazidime</i>	130	130	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	NE	NE	100,0%
<i>Ertapénème</i>	154	154	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	NE	100,0%
<i>Imipénème</i>	60	60	0	0	S	100,0%	100,0%	NE	100,0%	NE	100,0%
<i>Amikacine</i>	146	106	40	0	S	58,3%	100,0%	100,0%	100,0%	NE	72,6%
<i>Gentamicine</i>	182	182	0	0	S	100,0%	100,0%	100,0%	NE	NE	100,0%
<i>Tobramycine</i>	36	35	0	1	S	95,7%	NE	NE	NE	NE	97,2%
<i>Norfloxacin</i>	97	96	1	0	S	96,9%	100,0%	100,0%	100,0%	NE	99,0%
<i>Lévofoxacin</i>	27	27	0	0	S	100,0%	NE	NE	NE	NE	100,0%
<i>Ciprofloxacine</i>	187	186	0	1	S	100,0%	100,0%	100,0%	87,5%	100,0%	99,5%
<i>Cotrimoxazole</i>	197	196	0	1	S	99,2%	100,0%	100,0%	100,0%	100,0%	99,5%
<i>Fosfomycine</i>	165	164	0	1	S	100,0%	100,0%	100,0%	85,7%	NE	99,4%
<i>Nitrofurantoïne</i>	194	193	0	1	S	99,3%	100,0%	100,0%	NE	NE	99,5%

Les résultats sont satisfaisants pour une telle souche.

Notez que le même problème s'est reproduit pour l'**amikacine** avec le système Vitek 2 , essentiellement la carte AST-N340 : CMI ≤ 8 mg/l donc « sensible » mais résultat « intermédiaire » suite à correction thérapeutique du système expert (absence de la tobramycine comme marqueur pour conclure)

Conduite à tenir :

Au vu du contexte clinique et du référentiel « **Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires de l'adulte** » publié sous l'égide de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) mis à jour en décembre 2015, nous sommes en présence d'une cystite aiguë simple, il n'est pas possible d'affirmer qu'il s'agit d'un épisode de cystite récidivante : la définition en étant « *au moins 4 épisodes pendant une période de 12 mois* ». La prise en charge thérapeutique est la même que pour les cystites simples.

Les 2 espèces isolées appartiennent au groupe 1 de pathogénicité dont le seuil a été fixé à 10^3 UFC/mL, il faut donc les prendre en considération toutes les 2 (même si ce cas de figure est exceptionnel dans « la vraie vie »).

En probabiliste, l'algorithme de traitement de la cystite simple à BU positive est :

- En première intention : Fosfomycine-trométamol en dose unique, inadapté ici puisque *S. saprophyticus* est naturellement résistant (recherche de nitrites négative à la BU si seule bactérie présente)
- En deuxième intention : Pivmécillinam pendant 5 jours, non indiqué également car actif uniquement sur les *Enterobacteriaceae* quoiqu'une efficacité sur *S. saprophyticus* a été rapportée dans certaines études cliniques, selon les données du Vidal
- En troisième intention : **Nitrofurantoïne pendant 5 jours** (traitement de choix ici car actif *in vitro* sur les 2 espèces) ou fluoroquinolone en dose unique, en sachant qu'il convient de préserver cette classe thérapeutique pour le traitement d'infections plus sévères.

Ne sont (théoriquement) pas indiqués :

- L'amoxicilline : en raison d'un taux de résistance élevé,
- L'amoxicilline + acide clavulanique et les céphalosporines de 3^{ème} génération : en raison de leur impact sur le microbiote,
- Le **cotrimoxazole** : en raison d'un taux de résistance élevé, indiqué cependant ici car actif sur les 2 espèces ; la durée de traitement est de **3 jours**.

Le premier envoi de l'année 2017 comportera 1 souche.

Bien confraternellement

L. Brasme

V. Vernet-Garnier