

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

Identification bactérienne  
Antibiogramme *Escherichia coli*

**Bactériologie**

**11BAC1**

**Avril 2011**

Edition : février 2012

Guillaume ARLET (Hôpital Tenon, Paris)  
Christophe de CHAMPS (CHU Robert Debré, Reims)  
Marie-Laure QUILICI (CNR vibrions et cholera, Institut Pasteur Paris)  
Muriel FROMAGE (Afssaps)

---

Expédition : 30 mars 2011

Clôture : 26 avril 2011

Edition des compte-rendus individuels : 20 juin 2011

Paramètres contrôlés :

**Identification bactérienne** : *Vibrio cholerae* non O1 / non O139, *Vibrio parahaemolyticus*

**Antibiogramme *E. coli*** : *E. coli* CTX-M-9 et OXA-48

Nombre de laboratoires concernés\* : 2590

Nombre de laboratoires participants\*\* : 2461

\* 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

Cette opération comportait deux souches de « vibrions non cholériques » lyophilisées à identifier : *Vibrio cholerae* non O1 / non O139 et *Vibrio parahaemolyticus*. Les deux espèces ont été correctement identifiées par environ 87,5% des laboratoires. Toutefois, le total de diagnostics de genre exact s'élève respectivement à 97 et 92% selon l'espèce considérée. Cet envoi est l'occasion de sensibiliser les biologistes à la recherche de *Vibrio* dans les selles de patients souffrant d'une gastroentérite aiguë après consommation de fruits de mer crus ou insuffisamment cuits.

En ce qui concerne l'antibiogramme, tous les laboratoires inscrits ont reçu une souche lyophilisée d'*E. coli* produisant une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu (BLSE) du groupe CTX-M-9 et une carbapénèmase de type OXA-48. Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche qu'ils avaient isolée vis-à-vis de 20 antibiotiques définis et de préciser le phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines détecté.

La production d'une BLSE, mise en évidence par 71,5% des participants, est l'occasion de faire le point sur les nouvelles recommandations faites en 2011 par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) à propos des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération et de l'aztréonam vis-à-vis des entérobactéries productrices de BLSE. La carbapénèmase, plus difficile à détecter, a été évoquée par près de 45% des participants.

# Identification bactérienne

## Définition des échantillons

Bactérie (origine)	N° des échantillons	Renseignements cliniques
<i>Vibrio cholerae</i> non O1 / non O139 (CNR, Institut Pasteur Paris)	106, 225, 288, 323, 427, 577, 601, 946.	souche isolée d'une coproculture chez un patient souffrant d'une diarrhée aqueuse aiguë et de douleurs abdominales. Le patient a consommé des fruits de mer 48 heures avant les premiers symptômes.
<i>Vibrio parahaemolyticus</i> (CNR, Institut Pasteur Paris)	137, 263, 291, 380, 412, 538, 703, 895.	

## 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				Genre faux	Total identifications
	espèce exacte	espèce fausse	espèce non précisée	Total		
<i>V. cholerae</i>	966 (87,3%) <sup>(a)</sup>	44 (4,0%) <sup>(b)</sup>	60 (5,4%)	1070 (96,7%)	37 (3,3%) <sup>(c)</sup>	1107
<i>V. parahaemolyticus</i>	980 (88,1%)	20 (1,8%)	22 (2,0%)	1022 (91,9%)	90 (8,1%) <sup>(d)</sup>	1112

(a) : dont 12 *Vibrio cholerae* non O1/non O139 (réponse correcte) et 9 *V. cholerae* O1 ou *V. cholerae* O139 (réponses incorrectes)

(b) : dont 34 *Vibrio parahaemolyticus*

(c) : dont 21 *Aeromonas*

(d) : dont 31 *Aeromonas*

tableau II - Pourcentage d'identification correcte (genre et espèce exactes) selon la technique utilisée

Méthode utilisée (effectif > 10)	<i>V. cholerae</i>	<i>V. parahaemolyticus</i>
<b>Galeries :</b>		
API 20E bioMérieux	140/183 (76,5%)	97/127 (76,4%)
API 32 GN bioMérieux	101/114 (88,6%)	115/117 (98,3%)
API 20 NE bioMérieux	83/109 (76,1%)	116/137 (84,7%)
API 32 E bioMérieux	93/105 (88,6%)	116/135 (85,9%)
API non précisée	60/87 (69%)	81/105 (77,1%)
<b>Automates :</b>		
Vitek 2 Compact bioMérieux	228/239 (95,4%)	228/250 (91,2%)
Vitek 2 bioMérieux	196/202 (97%)	174/180 (96,7%)
Microscan Siemens	18/18 (100%)	-
Phoenix Becton Dickinson	19/20 (95%)	17/17(100%)

## Commentaires

Les vibrions sont des bactéries à Gram négatif, hôtes naturels du milieu marin et plus particulièrement des eaux côtières et estuariennes du monde entier (eaux douces et saumâtres). Les vibrions d'intérêt médical comprennent les « Vibrions cholériques », agents du choléra, appartenant aux sérogroupes O1 et O139 de l'espèce *V. cholerae*, et les « Vibrions non cholériques » (VNC), comprenant les souches appartenant aux

sérogroupe autres que O1 ou O139 de l'espèce *V. cholerae* (*V. cholerae* non-O1/non-O139) et à onze autres espèces du genre *Vibrio*.

Du fait de leur habitat, deux voies d'exposition sont à l'origine des infections à VNC chez l'homme : l'ingestion d'aliments contaminés, fruits de mer crus ou insuffisamment cuits en particulier, à l'origine d'infections gastro-intestinales, pouvant dans certains cas entraîner des complications extra-digestives, et le contact direct avec l'eau de mer ou l'environnement marin, à l'origine d'infections extra-intestinales (infections de plaies, septicémies). Les VNC sont le plus souvent à l'origine d'infections sporadiques, plus rarement de toxi-infections alimentaires collectives.

Les infections chez l'homme présentent un caractère saisonnier, et sont généralement observées durant les mois les plus chauds de l'année. Cela peut être dû à l'augmentation du risque sanitaire dans les produits de la mer fraîchement récoltés, les vibrions y étant présents en quantité plus élevée lorsque la température augmente, mais également à la modification du comportement humain en période estivale qui augmente considérablement l'exposition aux infections à VNC.

Les infections gastro-intestinales sont la forme la plus courante d'infections à VNC, et sont essentiellement associées à deux espèces, *V. cholerae* et *V. parahaemolyticus*. La contamination est souvent liée à la consommation de fruits de mer crus (huîtres en particulier), insuffisamment cuits, ou re-contaminés après cuisson.

L'espèce *V. cholerae*, qui peut survivre dans un environnement moins salé que les espèces halophiles, a colonisé un habitat plus large que les autres espèces pathogènes, et se retrouve dans les eaux côtières, les eaux saumâtres et également les eaux douces des estuaires. En France, *V. cholerae* a été isolée d'échantillons prélevés dans l'océan Atlantique et la Manche, mais également d'eaux de mare ou de rivières. La gastro-entérite se manifeste sous forme de cas sporadiques ou de flambées occasionnelles. Elle est généralement de gravité modérée, associée à une diarrhée aqueuse. Aucun facteur de risque particulier n'a été associé aux gastroentérites à *V. cholerae* non-O1/non-O139.

*V. parahaemolyticus* se retrouve également dans le monde entier, mais en raison de son caractère halophile, cette espèce est habituellement présente uniquement dans la mer et les eaux saumâtres. En France, *V. parahaemolyticus* a été mise en évidence dans les estuaires et les eaux côtières de la Mer du Nord, de la Manche, de la Méditerranée, et de façon prédominante sur la côte Atlantique, à l'état libre dans l'eau ou associée au zooplancton ; elle a également été isolée de mollusques bivalves dans chacun de ces sites. Les infections à *V. parahaemolyticus* se manifestent dans la grande majorité des cas sous la forme d'une gastroentérite avec diarrhée aqueuse aiguë, parfois sanglante, des crampes abdominales, sources de douleurs importantes pouvant conduire à une hospitalisation, des nausées, des vomissements, des maux de tête, une fièvre inconstante et généralement modérée. La période d'incubation varie de 3 à 48 heures, les symptômes persistent 3 jours en moyenne, plus rarement jusqu'à 7 jours. On reconnaît généralement que l'ensemble de la population est susceptible d'être infecté par ce micro-organisme.

De même que ce qui est rapporté pour d'autres régions du monde, le recensement des cas d'infections à vibrions non cholériques en France n'est certainement pas exhaustif. Le nombre de cas confirmés ne représente pas, en particulier pour les formes bénignes, la totalité des cas réels, vraisemblablement en raison d'une absence de détection importante. En effet, il semble que peu de laboratoires aujourd'hui recherchent les *Vibrio*, qui ne font pas partie des agents étiologiques de diarrhées dont la recherche est demandée par les cliniciens.

La recherche de *Vibrio* dans les selles se fait par enrichissement en eau peptonée alcaline à 1% de NaCl et isolement, dès l'apparition d'un trouble (entre 3 et 6 heures d'incubation à 37°C), sur milieux sélectifs (TCBS ou milieu chromogène). L'isolement de *V. parahaemolyticus* sur milieu Hektoen a cependant été rapporté à plusieurs reprises au CNR par différents laboratoires, après enrichissement ; de même des souches de *V. cholerae* ont pu être isolées sur milieu Drigalski à partir de selles, parfois sans étape d'enrichissement préalable.

Les *Vibrio* sont des bactéries à Gram négatif, incurvées ou non, présentant à l'état frais une mobilité de type polaire. Ils sont oxydase positifs, ce qui permet de les différencier des Entérobactéries. L'identification biochimique des *Vibrio* d'intérêt médical est généralement satisfaisante à partir des systèmes commercialisés, prêts à l'emploi.

Concernant l'identification de l'espèce *V. cholerae*, il est important de souligner que l'identification n'est complète que si elle est suivie d'une agglutination avec les antisérums O1 ou O139, seule étape (outre le fait qu'il faut bien entendu tenir compte du contexte clinique et épidémiologique) permettant la distinction entre vibrion cholérique et non cholérique au sein de cette espèce.

Dans le but d'améliorer l'estimation de l'incidence des infections à VNC en France, **la recherche de *Vibrio* dans les selles ne doit pas se limiter à la seule investigation des cas de choléra chez des patients**

**de retour de zone d'endémie. Les médecins doivent soupçonner une infection à *Vibrio* chez des patients souffrant de gastro-entérites dès lors qu'ils ont la notion de consommation récente de produits de la mer crus ou d'exposition au milieu marin ; les biologistes sont encouragés à la recherche systématique de *Vibrio* à partir d'un échantillon de selles chez les personnes développant une gastro-entérite aiguë après consommation de produits de la mer, coquillages crus ou insuffisamment cuits en particulier.**

Nous encourageons les laboratoires à déclarer l'isolement de souches de *V. cholerae* ou *V. parahaemolyticus* et si possible à adresser leurs souches au CNR, accompagnées des renseignements cliniques (fiche téléchargeable à <http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-referance-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/centres-de-referance/recueil-des-fiches>).

Le report systématique au CNR des *Vibrions* et du Choléra des cas d'infections à VNC, accompagné du recueil des données cliniques et épidémiologiques, dont l'importance est à souligner, permettrait d'améliorer et de faire évoluer la connaissance des risques.

## Bibliographie

(1) Infections à *Vibrions* non cholériques. EMC (Elsevier Masson SAS, Paris), Maladies infectieuses, 8-026-F-15, 2011.

(2) Rapport d'activité annuel du CNR des *Vibrions* et du choléra. Téléchargeable à :

<http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-referance-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/cnr-et-coms/cnr-des-vibrions-et-du-cholera/actualites-rapports>

## Antibiogramme *Escherichia coli*

### Définition de l'échantillon

Une souche lyophilisée d'*E.coli* produisant une carbapénémase de type OXA-48 et une BLSE du groupe CTX-M-9 a été proposée.

Les deux types de renseignements cliniques suivants pouvaient accompagner la souche :

- la souche d'*Escherichia coli* a été isolée d'une biopsie d'un disque vertébral chez un patient présentant une ostéomyélite. Le patient a présenté 10 jours auparavant une infection urinaire à *E. coli* qui avait été traitée par Ceftriaxone.

- la souche d'*Escherichia coli* a été isolée d'une hémoculture chez une patiente diabétique. Elle avait présenté une infection urinaire 10 jours avant pour laquelle elle avait été traitée par Cotrimoxazole.

Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche isolée vis-à-vis de 20 antibiotiques (liste définie). Pour chaque antibiotique testé, le résultat « lu » ou « observé » 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. En complément de l'antibiogramme, les laboratoires devaient préciser le phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines détecté.

Les résultats des experts - Pr G. ARLET, Paris, Pr C. de CHAMPS, Reims - obtenus pour cette souche par la méthode de diffusion en milieu gélosé sont présentés dans le tableau III. La détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-test et par la méthode de dilution en gélose.

**tableau III** - antibiogramme *E. coli* CTX-M-9 + OXA-48 : résultats des experts

Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis
Amoxicilline + ac. clavulanique	R	R
Ticarcilline	R	R
Ticarcilline + ac. clavulanique	R	R
Pipéracilline	R	R
Pipéracilline + tazobactam	I / R	I / R
Céfalotine	R	R
Céfoxitine	S / I	S / I
Céfotaxime	R	R

Ceftazidime	S	S / I
Céfépime	S / I	S / I
Aztréonam	S / I	S / I
Imipénème	S / I	-
Ertapénème	I / R	-
Gentamicine	R	R
Tobramycine	I / R	I / R
Amikacine	S	S
Acide nalidixique	R	R
Ciprofloxacine	S	S
Fosfomycine	S	S
Cotrimoxazole	R	R

## Résultats des participants

Les réactifs utilisés par les laboratoires participants pour la réalisation de l'antibiogramme de *E. coli* sont détaillés dans le tableau IV.

Certains laboratoires participants ont isolé, en plus du *E. coli* lactose positif, un variant lactose négatif (ces variants lactose négatifs représentaient moins de 1% des colonies, phénomène probablement lié à la lyophilisation). Néanmoins, les deux souches exprimaient les deux mécanismes de résistance, même si le variant lactose négatif paraissait plus sensible à certaines des bêta-lactamines testées.

Les résultats obtenus par les participants, tous réactifs confondus, sont rapportés dans le tableau V (la réponse attendue pour chaque antibiotique apparaît en gras).

En complément de l'antibiogramme, les laboratoires devaient préciser le phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines détecté. Les réponses obtenues sont rapportées dans le tableau VI (la réponse attendue pour chaque antibiotique apparaît en gras).

**tableau IV** - antibiogramme *E. coli* : réactifs utilisés (effectif > 10)

Techniques / Réactifs	Nombre d'utilisateurs
<b>Galleries (39,8%) :</b>	
ATB G - bioMérieux	430
ATB G - EU bioMérieux	282
ATB UR bioMérieux	93
Rapid ATB UR bioMérieux	31
Rapid ATB E bioMérieux	28
ATB UR EU bioMérieux	22
Autres divers	4
<b>Automates (39,2%) :</b>	
Vitek 2C bioMérieux	576
Vitek 2 bioMérieux	224
Microscan Siemens	39
Phoenix Becton Dickinson	37
<b>Disques (18,9%) :</b>	
Biorad	315
I2a	46
Oxoïd	22
BioMérieux	21
Autres divers	19

Réactif non précisé (2,1%) :	47
Total	2236

tableau V - antibiogramme de la souche *E.coli* CTX-M-9 + OXA-48 : résultats des participants

Antibiotiques	lus				transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
amoxicilline + ac clavulanique	2220	0	0	<b>100</b>	2184	0	0	<b>100</b>
Ticarcline	2203	0	0	<b>100</b>	2196	0	0	<b>100</b>
Ticarcline + ac clavulanique	1571	0,2	0,3	<b>99,5</b>	1572	0,1	0,1	<b>99,8</b>
Pipéracilline	1870	0,3	1	<b>98,7</b>	1855	0,1	0,5	<b>99,4</b>
Pipéracilline + tazobactam	1958	0,4	<b>17,9</b>	<b>81,7</b>	1917	0,4	<b>14,5</b>	<b>85,1</b>
Céfalotine	2196	0,1	0	<b>99,9</b>	2159	0,1	0,1	<b>99,8</b>
Céfoxitine	2114	<b>33,7</b>	<b>29,1</b>	37,2	2076	<b>26,8</b>	<b>13,9</b>	59,3
Céfotaxime	2109	1,1	7	<b>91,9</b>	2081	0,9	2,1	<b>97</b>
Ceftazidime	2175	<b>77</b>	9,6	13,4	2133	<b>14,3</b>	<b>25,6</b>	60,1
Céfépime	1820	<b>37,4</b>	<b>50,7</b>	11,9	1797	<b>12,6</b>	<b>40,2</b>	47,2
Aztréonam	1004	<b>12,3</b>	<b>58,8</b>	28,9	1005	<b>4,7</b>	<b>33,9</b>	61,4
Imipénème	2100	<b>59,7</b>	<b>24,8</b>	15,5	2066	48,8	17	34,2
Ertapénème	931	6,9	<b>4,7</b>	<b>88,4</b>	930	6,7	3	90,3
Gentamicine	2213	0,9	0,5	<b>98,6</b>	2177	1	0,2	<b>98,8</b>
Tobramycine	2131	15,3	<b>7,8</b>	<b>76,9</b>	2102	14,5	<b>3,4</b>	<b>82,1</b>
Amikacine	2146	<b>98</b>	0,5	1,5	2106	<b>96,5</b>	0,9	2,6
Acide nalidixique	2128	0,6	0,6	<b>98,8</b>	2088	0,7	0,3	<b>99</b>
Ciprofloxacine	2213	<b>99</b>	0,5	0,5	2176	<b>97,4</b>	1,8	0,8
Fosfomycine	1634	<b>99</b>	0	1	1600	<b>98,8</b>	0	1,2
Cotrimoxazole	2141	4,5	1,3	<b>94,2</b>	2109	4,5	0,7	<b>94,8</b>

tableau VI - phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines ?

	Effectif (%)
Absence de réponse	88 (3,9)
<b>BLSE + carbapénèmase (ou oxacillinase) +/- imperméabilité</b>	<b>740 (33,0)</b>
BLSE +/- imperméabilité	659 (29,4)
carbapénèmase (ou oxacillinase) +/- imperméabilité	166 (7,4)
Céphalosporinase haut niveau +/- imperméabilité	175 (7,8)
Case haut niveau + BLSE +/- imperméabilité	125 (5,6)
Case haut niveau + carbapénèmase +/- imperméabilité	56 (2,5)
Case haut niveau + BLSE + carbapénèmase +/- imperméabilité	16 (0,7)
Pénicillinase haut niveau	51 (2,3)
Pase haut niveau + Case haut niveau	51 (2,3)
TRI +/- Case haut niveau +/- BLSE	63 (2,8)
Autres (divers)	51 (2,3)
Total	2241

## Commentaires

### Bêta-lactamines :

La souche produisait une bêta-lactamase à spectre étendu du groupe CTX-M-9 qui présente la particularité de ne pas hydrolyser la ceftazidime, comme les premières CTX-M décrites dans les années 80-90 (2). Ce qui fait que l'on n'observe pas de synergie entre la ceftazidime et l'acide clavulanique. En revanche, cette synergie est bien visible avec le céfotaxime.

Selon la version (2010 ou 2011) des recommandations du CA-SFM utilisée, soit ce résultat « ceftazidime S » est interprété « I » (version 2010), soit il n'est pas interprété et reste « S » (version 2011).

De même, le céfépime et l'aztréonam qui sont lus « S » ou « I », doivent être rendus tels quels (version 2011) ou interprétés « I » si lus « S » (version 2010). En aucun cas, la ceftazidime, le céfépime et l'aztréonam ne doivent être rendus « R », car quelle que soit la version des recommandations, il n'y a aucune règle de lecture interprétative indiquant de rendre « R » un résultat lu « S » ou « I » dans le cas d'une BLSE.

Les nouvelles recommandations, définies par le CA-SFM en 2011, à savoir rechercher la production d'une BLSE, mais ne plus faire d'interprétation des résultats bruts obtenus vis-à-vis des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G) et de l'aztréonam (AZT) pour les souches productrices de BLSE, ont soulevé de nombreuses questions chez les biologistes.

Deux arguments sont à l'origine de ces nouvelles règles :

- il est demandé d'abandonner « le principe de précaution » qui consiste à interpréter « I » une souche « S », afin de réduire l'usage quasi systématique des carbapénèmes. Ceci constitue un enjeu écologique (émergence d'entérobactéries résistantes sous la pression antibiotique).
- Les données pharmacocinétiques et pharmacodynamiques obtenues sur les souches sensibles (CMI  $\leq$  1 mg/l) montrent que même les infections dues à des souches avec des mécanismes de résistance acquise (BLSE) mais pour lesquelles la CMI des C3G et de l'AZT est  $\leq$  1 mg/l peuvent être traitées avec une C3G ou l'AZT. Il est donc préconisé, devant toute souche productrice de BLSE et catégorisée « S » à une C3G ou à l'AZT, de déterminer la CMI de l'antibiotique de ce groupe s'il est utilisé en thérapeutique.

En ce qui concerne les résultats obtenus par les laboratoires participants, on note que :

- les résultats lus pour le céfotaxime (CMI = 32 - 64 mg/l) sont très bons avec 92% de réponses « R ». Les 7% de réponses « I » proviennent de la galerie ATB G- qui teste deux concentrations (4 et 32 mg/l) qui ne sont plus pertinentes. Avec cette galerie, la souche peut apparaître « I » ou « R ». Ce problème n'est pas retrouvé avec la nouvelle galerie ATB G- EU qui ne teste qu'une concentration (1 mg/l).

- la souche était vraiment sensible à la ceftazidime (CMI = 0,5 mg/l). Par conséquent, il n'y avait pas lieu de rendre un résultat « R » (qui sous-entend que la CMI est  $>$  4 mg/l) car la ceftazidime constitue une alternative thérapeutique crédible, d'autant plus que la souche produisait également une carbapénémase (OXA-48), ce qui écartait la possibilité d'utiliser les carbapénèmes.

En aucun cas cette souche de *E. coli* ne sur-exprimait une céphalosporinase chromosomique : absence de restauration de la sensibilité au céfotaxime sur une gélose additionnée de 250 mg/l de cloxacilline (inhibiteur de céphalosporinase).

- concernant les associations aux inhibiteurs (amoxicilline + acide clavulanique, ticarcilline + acide clavulanique, pipéracilline + tazobactam) qui peuvent constituer une alternative thérapeutique en cas de présence d'une BLSE, on n'observait pas de récupération d'activité par les inhibiteurs (résultats des participants conformes à la réponse attendue « R ») du fait de la présence d'une bêta-lactamase de type oxacillinase dont l'activité est habituellement mal inhibée par l'acide clavulanique et le tazobactam.

Cette bêta-lactamase présente la particularité d'hydrolyser les carbapénèmes (carbapénémase). La détection phénotypique est d'autant plus facile que la souche est imperméable. En effet, selon le degré d'imperméabilité, les CMI de l'imipénème peuvent varier de 0,25 à 8 mg/l.

La souche testée présentait une sensibilité diminuée aux carbapénèmes. Les résultats rendus par les experts sont les suivants :

- ertapénème « I » ou « R » car la souche est « R » en diffusion (diamètre entre 19 et 22 mm) mais la CMI étant égale à 2 mg/l par la technique du Etest, la réponse « I » qui peut être obtenue à une dilution près est acceptable. La majorité des laboratoires (93,1%) a rendu « I » ou « R ».

- imipénème « S » ou « I » car la souche est « I » en diffusion (diamètre 22 mm), résultat confirmé par les laboratoires participants ayant utilisé cette technique (2/3 « I » et 1/3 « S »). La CMI (Etest) étant égale à 0,5 - 1 mg/l, la réponse « S » est acceptable.

Il faut noter qu'il n'existe pas de règle d'interprétation dans le communiqué 2011 du CA-SFM. Néanmoins, on peut dire que l'utilisation des carbapénèmes est déconseillée pour cette souche.

Ce phénotype pouvait également faire évoquer une BLSE ou une céphalosporinase plasmidique associée à une imperméabilité conduisant à une diminution de sensibilité à l'ertapénème essentiellement.

D'autres carbapénémases (de type KPC ou de type métallo-enzymes) sont capables de donner des résistances aux carbapénèmes mais aussi à toutes les bêta-lactamines (à l'exception de l'AZT pour les

métallo-bêta-lactamases) (3, 4). Dans ce cas, le niveau de résistance observé aux carbapénèmes est en général plus élevé.

La détection des mécanismes de résistance impliqués dans cette diminution de sensibilité aux carbapénèmes fait appel à différentes techniques dont le « Hodge test » (photo 1) (1) ou encore la sensibilité à certains inhibiteurs comme la cloxacilline pour la résistance associant céphalosporinase et imperméabilité, l'acide boronique pour les enzymes de type KPC ou l'EDTA pour les métallo-bêta-lactamases.

La confirmation et l'identification précise relevant des méthodes moléculaires (PCR avec couples d'amorces spécifiques des différents groupes de gènes de carbapénémases) ne sont pratiquées que dans des laboratoires spécialisés.



**Photo 1** : 11BAC1 - échantillon n°366  
Hodge Test « POSITIF »

T+ : témoin positif  
T- : témoin négatif

Crédit photographique : BioMérieux

En conclusion, à la question « Pour cette souche, quel phénotype de résistance aux  $\beta$ -lactamines envisagez-vous ? », la réponse attendue était : « BLSE + carbapénémase +/- imperméabilité » ou « BLSE + oxacillinase +/- imperméabilité ».

Un tiers des laboratoires est arrivé à ce diagnostic (tableau VI). En revanche, 29% ont détecté la BLSE mais pas la carbapénémase, ce qui rend compte de l'extrême difficulté de détection de ce type d'enzyme. Pour rappel, la carbapénémase la plus fréquente actuellement en France est OXA-48. Cette enzyme est endémique tout autour du bassin méditerranéen et circule actuellement en Ile-de-France (5).

Enfin, près de 20% ont évoqué, à tort (cf plus haut), une céphalosporinase seule ou associée à un autre mécanisme de résistance.

#### Autres antibiotiques :

- aminoglycosides : les réponses attendues pour cette famille d'antibiotiques étaient gentamicine « R », tobramycine « R » et amikacine « S ». Seule la tobramycine a conduit à des résultats discordants : 15,3% « S », 7,8% « I » et 76,9% « R ». La CMI étant égale à 8-16 mg/l, les réponses « I » qui correspondent à une CMI égale à 4 mg/l ont été acceptés. Les fausses réponses « S » sont toutes obtenues avec les galeries ATB G-, ATB UR et rapid ATB E qui testent une seule concentration (4 mg/l). Les nouvelles versions « EU » testent une concentration plus pertinente : 2 mg/l.

- l'acide nalidixique « R » et la ciprofloxacine « S » n'ont pas posé de problème avec respectivement 98,8% et 99% de bonnes réponses lues. On notera toutefois qu'un petit nombre de laboratoires ont interprété, à tort, le résultat « S » de la ciprofloxacine en « R » (10 laboratoires) ou « I » (28 laboratoires).

- la sensibilité à la fosfomycine a été mise en évidence par 99% des participants.

- le cotrimoxazole (« R » contact en diffusion) a été rendu « S » par 4,5% des participants. L'ensemble de ces réponses proviennent des galeries bioMérieux (ATB UR et ATB G-) pour lesquelles on observe de 6% (ATB G- EU) à 26% (rapid ATB UR) de fausses réponses « S ».

## Bibliographie

(1) Anderson KF et al., Evaluation of methods to identify the *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase in *Enterobacteriaceae*, J Clin Microbiol. 2007; 45 : 2723-5

(2) Bonnet R., Growing group of extended-spectrum  $\beta$  lactamases : the CTX-M enzymes, Antimicrob Agents Chemother. 2004; 48 : 1-14.

(3) Nordmann P., Résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatif, Med Sci., 2010; 26 : 950-9.

- (4) Nordmann P., Carrer A., Les carbapénèmases des entérobactéries, Archives de Pédiatrie, 2010; 17 : S154-S162.
- (5) Seringe E., Point sur la situation épidémiologique des entérobactéries productrices de carbapénémase en Ile-de-France, Le bulletin du CCLIN Paris-Nord n°39, décembre 2011.