

Compte-Rendu du Contrôle de Qualité « Bactéries Multirésistantes » organisé par les CClin Ouest, Est et Sud-Ouest - mai 2015

Hélène Sénéchal

Dans le cadre de la surveillance des bactéries multirésistantes (BMR), un contrôle-qualité de l'antibiogramme (CQBMR) au niveau des laboratoires de microbiologie a été mis en place en 2003 au CClin Ouest. En 2015, les CClin Est et Sud-Ouest ont aussi réalisé ce contrôle de qualité BMR.

Des microbiologistes des trois interrégions et les coordonnateurs des CClin constituent le comité d'organisation de ce contrôle qualité.

Résultats en interrégion Ouest et commentaires

Participation

- nombre de laboratoires inscrits en interrégion Ouest : 125
- nombre de laboratoires ayant répondu : 121

Région	Laboratoires inscrits	Laboratoires participants	% participation
Basse Normandie	24	21	87%
Bretagne	35	35	100%
Centre	28	28	100%
Pays de la Loire	38	37	97%
Total	125	121	80%

Cent vingt-cinq laboratoires ont reçu un lot de 3 souches pour lesquelles ont été réalisés des antibiogrammes et une recherche de mécanisme de résistance. Cent vingt et un laboratoires ont répondu à ce CQBMR.

Souche n°1 *Klebsiella pneumoniae*

Résultats attendus

Il s'agit d'une souche de *Klebsiella pneumoniae*, productrice, outre sa pénicillinase chromosomique, d'une BLSE de type CTX-M-15. Cette souche ne produit pas de carbapénémase, elle présente toutefois, une résistance à l'ertapénème due à une modification des porines. La sensibilité à l'imipénème est conservée.

Il est recommandé, pour ce genre de souche, de confirmer la diminution de la sensibilité à l'ertapénème par la réalisation d'une CMI (E-test par exemple) et de rechercher la production d'une carbapénémase à l'aide de méthodes complémentaires.

Sur l'antibiogramme par la méthode des disques, l'addition d'un disque de témocilline permet d'appliquer l'algorithme ci-dessous (Recommandations CASFM-EUCAST 2015 annexe 2). Pour cette souche, la CMI de l'ertapénème par E-test est de 16 mg/L. Le diamètre autour du disque de témocilline est légèrement en dessous du seuil (14 mm).

D'autres tests peuvent être utilisés comme un test chromogénique rapide, la méthode des disques avec inhibiteurs (acide boronique pour classe A ; EDTA ou acide picolinique pour classe B; pas d'inhibiteur pour classe D), une méthode PCR ou une détection de l'activité carbapénémase par MALDITOF MS.

Dans le cas présent, ces 4 méthodes étaient négatives. En cas de doute ou d'impossibilité d'effectuer ces analyses spécialisées, la souche doit être transmise à un laboratoire expert régional ou au CNR de la Résistance aux Antibiotiques. Cette souche présente également des co-résistances aux fluoroquinolones, aux aminosides (tout en restant sensible à l'amikacine) et au cotrimoxazole.

cilline/acide clavulanique en diffusion et imipénème en automate (différences observées sur les résultats par laboratoire).

Pour mettre en évidence la BLSE, il est conseillé de faire un test de synergie avec rapprochement des disques AMC-C3G ou d'utiliser les disques combinés.

Pour les carbapénèmes, il est conseillé sur cette souche de faire une CMI.

Souche n°2 *Escherichia coli*

Résultats attendus

Il s'agissait d'une souche d'*Escherichia coli* productrice d'une carbapénémase de type KPC-2 (B-lactamase de la classe A d'Amber) ainsi que d'une pénicillinase de type TEM-1.

L'enzyme KPC-2 conférait une résistance à toutes les B-lactamines tandis que la souche était également résistante aux fluoroquinolones et au cotrimoxazole mais restait sensible aux aminosides.

Résultats rendus par les participants

Bonnes réponses pour la BLSE (absence)

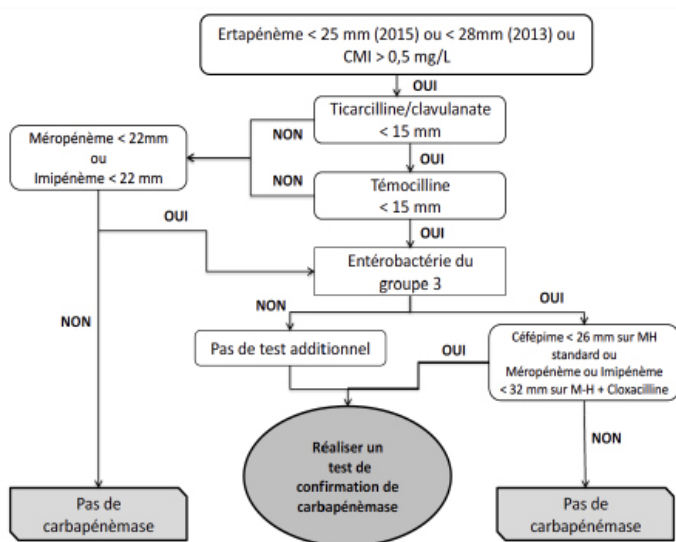
Basse Normandie	15/21 = 71 %
Bretagne	30/35 = 85 %
Centre	21/28 = 75 %
Pays de la Loire	22 /37 = 59 %
Total	88 /121 = 72 %

Carbapénémase

Région	Absence		Présence (bonne réponse)		Ne sait pas transmission au CNR	
Basse Normandie	0/21	0%	18/21	86%	3/21	14%
Bretagne	4/35	11%	29/35	82%	2/35	6%
Centre	4/28	14%	20/28	71%	4/28	14%
Pays de la Loire	5/37	13%	30/37	81%	2/37	5%
Total	13 /121	11%	97/121	80%	11 /121	9 %

Commentaires

Les souches d'*E.coli* résistantes aux carbapénèmes restent rares, avec une prévalence de 0,2 % parmi les 9565 souches isolées de bactériémies (chiffres EARS-Net 2013). Cependant, le pourcentage d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) parmi les souches d'*E.coli* reçues au CNR est en forte augmentation depuis 2012 (52,2 % en 2014 versus 35,5 % en 2013 et 28,2% en 2012). Devant la diminution de sensibilité à un des carbapénèmes, il est donc recommandé de rechercher la production d'une carbapénémase à l'aide de méthodes complémentaires, comme un test chromogé-



Il y a eu des variations de rendu de résultats entre le Vitek2 (carte ASTN234) et l'antibiogramme disque sur l'amoxicilline+ acide clavulanique (I par la méthode des disques, R en Vitek2) imipénème (S par la méthode des disques et I en Vitek2). Les CMI de ces antibiotiques pour cette souche par la méthode E-test étaient respectivement 48 mg/L et 1 mg/L. Ces valeurs n'étant pas très éloignées des concentrations critiques. Les variations dans les résultats obtenus peuvent être liées à des fluctuations techniques (inoculum, conservation des réactifs...). Le système expert du Vitek proposait plusieurs hypothèses, BLSE+carbapénémase (metallo-ou KPC), résistant aux carbapénèmes (imperméabilité).

Résultats rendus par les participants

Bonnes réponses pour la BLSE (présence) :

Basse Normandie	12/21 = 57 %
Bretagne	26/35 = 74 %
Centre	17/28 = 61 %
Pays de la Loire	22 /37 = 59 %
Total	77 /121 = 64 %

Carbapénémase

Région	Absence (bonne réponse)		Présence		Ne sait pas transmission au CNR	
Basse Normandie	4/21	19%	9/21	43%	8/21	38%
Bretagne	19/35	54%	10/35	28%	6/35	17%
Centre	14/28	64%	10 /28	35%	4 /28	14%
Pays de la Loire	18/37	49%	16/37	43%	3/37	8 %
Total	55/121	45%	45/121	37%	25/121	21%

Commentaires

Cette souche a présenté quelques difficultés sur la mise en évidence de la BLSE et certains antibiotiques : amoxi-

nique rapide (ex. Carba NP test), la méthode des disques avec inhibiteurs (acide clavulanique ou acide boronique pour classe A ; EDTA ou acide picolinique pour classe B; pas d'inhibiteur pour classe D) ou une méthode PCR. Dans le cas présent, ces 3 méthodes étaient positives. En cas de doute ou d'impossibilité d'effectuer ces analyses spécialisées, la souche doit être transmise à un laboratoire expert régional ou au CNR de la Résistance aux Antibiotiques - laboratoire associé « Carbapénèmases » au CHU de Bicêtre.

En France, le CNR a reçu 2972 souches pour expertise en 2014 dont environ un tiers (n = 1075, 36,2 %) étaient des EPC : 614 *Klebsiella pneumoniae* (57,1 %), 256 *E. coli* (23,8 %), 106 *Enterobacter cloacae* (9,9 %), 38 *Citrobacter freundii* (3,5 %), 19 *Klebsiella oxytoca* (1,8 %), 13 *Enterobacter aerogenes* (1,2 %) et 29 autres espèces (2,7 %). Sur les 256 souches d'*E.coli*, 220 produisaient une OXA-48/OXA-48-like (85,9 %) et 28 une NDM (10,9 %). Comme toute autre entérobactérie, une souche d'*E. coli* productrice de carbapénémase doit être considérée comme une Bactérie Hautement Résistante émergente (BHRe) nécessitant l'application des mesures d'hygiène spécifiques.

Cette souche présente beaucoup de variabilité sur de nombreux antibiotiques, parfois selon la technique utilisée (amoxi- ac clavulanique, imipénème, ertapénème, céfoxitine, céfépime, tobramycine, gentamicine), et parfois selon le laboratoire avec la même technique (aminosides) (cf résultats par laboratoire).

Souche n°3 *Staphylococcus aureus*

Résultats attendus

Il s'agissait d'une souche de *Staphylococcus aureus* résistante aux aminosides de type KGT (kanamycine, tobramycine et gentamicine) mais sensible à l'oxacilline. Cette souche se caractérisait par une résistance à l'érythromycine (mécanisme de type MLSb inducible). Elle était sensible aux autres antibiotiques anti-staphylococciques.

Le pourcentage de *S.aureus* sensible à l'oxacilline (SASM) et résistante à la gentamicine est faible en France (1,4 % dans le réseau REUSSIR 2008, 0,7 % dans le réseau AZAY2009).

Devant un tel profil, un test rapide de détection de la PLP2a par immunochromatographie type Clear View (Alere) pouvait être envisagé et dans ce cas il était négatif confirmant l'absence de PLP2a et donc la sensibilité à l'oxacilline. Pour rappel, ce test est performant avec une VPP de 100 %, une VPN de 98,6 % et une spécificité de 100 %.

Vis à vis de la Pénicilline G, l'automate Vitek classait la souche de *S.aureus* sensible avec une CMI à 0.125 mg/L. la CMI par Etest est aussi à 0.125 mg/L. En milieu diffusion la bordure est floue dans la zone d'inhibition. Rappel dans l'EUCAST 1/A. La méthode de diffusion en milieu gélose est plus fiable que la détermination de la CMI pour la détection de souche productrice de pénicillinase, car elle visualise le diamètre d'inhibition et l'aspect de la bordure. Si le diamètre est <26mm la souche est résistante. Si le diamètre est ≥26 mm et la bordure nette, la souche est résistante. Si le diamètre est ≥26 mm et la bordure est floue, la souche est sensible. Le test chromogénique de détection de pénicillinase ne permet pas de détecter de façon fiable la production de pénicillinase par les staphylocoques.

Une souche de *S.aureus* intermédiaire à l'ofloxacine n'existe pas. Selon le CASFM-EUCAST *S.aureus* est sensible si la CMI est < à 1 mg/L et résistante si la CMI est > à 1 mg/L. Donc la souche de *S.aureus* est sensible à l'ofloxacine.

Résultats rendus par les participants

Bonnes réponses pour la méticillino résistance (absence)

Basse Normandie	21/22 = 95 %
Bretagne	33/35 = 94 %
Centre	27/28 = 96 %
Pays de la Loire	36/37 = 97 %
Total	117/121 = 97 %

Commentaires

Les staphylocoques sensibles à la Pénicilline G sont rares et le test céfinase est peu fiable. Le CASFM devrait statuer pour le test à mettre en œuvre pour la pénicilline G. Les résultats aux fluoroquinolones sont différents selon les automates utilisés.

Conclusion

La participation des laboratoires est toujours importante (121 participants sur 125 inscrits). Le nombre de laboratoire diminue au fil des années mais ceci est lié à la fusion de laboratoires.

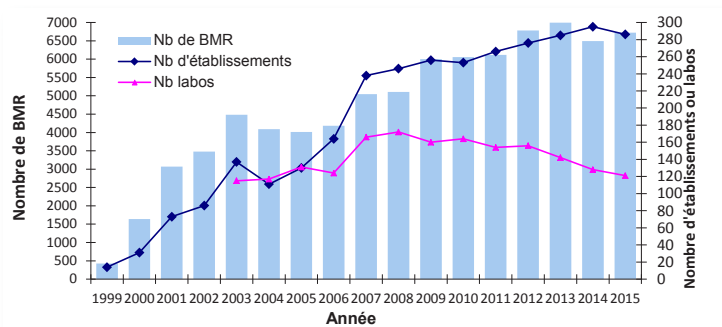


Figure 1: Evolution des BMR et de la participation des ES et des laboratoires, depuis 1999 - BMR 2015 CCLin Ouest

Pour *Klebsiella pneumoniae*, 64 % des laboratoires ont mis en évidence la BLSE et 45 % ont bien noté l'absence de carbapénèmase.

Pour *E.coli*, 72 % des laboratoires ont bien noté l'absence de BLSE et 80 % ont mis en évidence la carbapénèmase.

Pour *Staphylococcus aureus*, 97 % ont bien noté l'absence de méticillino résistance.

Les trois souches présentaient des difficultés et le changement des référentiels a compliqué l'analyse des résultats en 2015.

Suite à ce contrôle de qualité des formations des biologistes sont réalisées régulièrement dans les régions et notamment en 2015-2016, 3 journées ont eu lieu en Bretagne, 2 en Pays de la Loire à l'attention des biologistes du privé sur la thématique BHRé (alerte, diagnostic, dépistage, mesure de prévention de la transmission croisée).

Remerciements à tous les laboratoires participants :

Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Inter-Communal ALENCON-MAMERS
Laboratoire de microbiologie CHIC Amboise & Château-Renault
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Amily
Laboratoire d'Analyses Médicales Isosel
Laboratoire de microbiologie CHU Angers
Laboratoires Analyses de Biologie Médicale Druel - Gerbaud
Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale du Val de l'Orne
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier AVRANCHES-GRANVILLE
Laboratoire AMBIO
Laboratoire analyses de Biologie Médicale Dézier
Laboratoire de microbiologie Centre hospitalier Bayeux
Laboratoire d'analyses médicales du CH Blois
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Jacques Coeur
Laboratoire de microbiologie CHRU Brest
Laboratoire de microbiologie H.I.A. Clermont Tonnerre
Laboratoire de microbiologie Polyclinique Keraudren
Biolabo
Laboratoire Analyses de Biologie Médicale de Vaucelles
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Privé St Martin
Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale du Parc
Laboratoire de microbiologie CHU Caen
Laboratoire biologie médicale LOGIC BIO
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Loire Vendée Océan
Laboratoire L'ABO+

Labo de bactériologie CHU Trousseau Tours
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Chartres
Laboratoire Analyses Médicales Biomédilam
Laboratoire Analyses Médicales et Biologiques Vigier - Sengmany
Labazur Bretagne
Laboratoire LESCAROUX-CAMENEN-JAMET
BMPR Biologie Médicale
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Public du Cotentin
XLABS
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Cholet
Laboratoires BIOMELIS
SELARL Sèvre Biologie
Laboratoire SELCOBIO
Laboratoire d'Analyses de Biologie Médicale Roblin - Laforest
Laboratoire de microbiologie CH René Pleven
Laboratoire Alvarez
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Victor Jousselin
Laboratoire Dynabio
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Falaise
Laboratoires d'Analyses de Biologie Médicale Flers
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Flers
LBM BIOSYNTHESE
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Fontenay Le Vicomte
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Fougères
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Pierre Dezarnaulds
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Guingamp
Laboratoire B. Jeanne
Laboratoire Analyses Médicales Sud Loire Biologie
LABORATOIRE DU VAL DE LOIRE
Laboratoires Analyses Médicales C+BIO
Laboratoire Normabio
Laboratoire de microbiologie Pôle Santé Sarthe et Loir
LAM Biorylis
Laboratoire de microbiologie C.H.D. - Vendée
Laboratoire d'Analyse Médicale BIONORMA
Laboratoire de microbiologie CH Pierre Le Damany
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Laval
Laboratoire Biolaris
Laboratoire Bioalliance
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Le Mans
Laboratoire de microbiologie CMCM - Pôle Santé Sud
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Robert Bisson
Laboratoire LEXOBIO
Laboratoire de microbiologie CH Bretagne Sud
Laboratoire BIOLOR-BIOCEAN
Laboratoire Analyses Médicales GIRARD
Laboratoire Verdun de Loré
Laboratoire Alliance Anabio
Laboratoire LEDEAUT RIVAIN
Laboratoire Thermys
Laboratoire de microbiologie CH des Pays de Morlaix
Laboratoire Bioliance
Laboratoire de microbiologie CHU Nantes
Laboratoire de microbiologie CH du Centre Bretagne
LBM du Pôle des Olonnes
Laboratoire BIOALLIANCE
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Régional Orléans
Laboratoire d'Analyses de Biologie Médicale Bioriv
Laboratoire de microbiologie CH Max Querrien
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Pithiviers
Laboratoire d'Analyses de Biologie Médicale Biolog
Laboratoire Analyses de Biologie Médicale Laudrin - Jan
Laboratoire BIODIN
Laboratoire de la Presqu'île Quiberon
Laboratoire de microbiologie CH de Cornouaille
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Quimperlé
Laboratoire Analyses Médicales Le Grin Lefray Guéhenneux
Laboratoire de microbiologie CH Guillaume Régnier
Laboratoire de microbiologie CHU Rennes
Laboratoire Analyses Médicales Bioloire
Laboratoire GOUSSE - PERON
Laboratoire MEDIBIOLAB
Laboratoire Analyses Médicales Girard Liebaud Pavillon
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Saumur
Laboratoire Harriau-Lardy-Ruffel
VALBIOLAB
Laboratoire de microbiologie CH Yves Le Foll
SBL-BIO Laboratoire Le Piver-Bancetel
Laboratoire des VERDINS. BIOEXCEL
Laboratoire Analyses Médicales MEDICABIO
CVF BIOLAB Laboratoire

Laboratoire de microbiologie CH Privé St Grégoire
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Mémorial St Lo
Laboratoire de microbiologie CH Broussais
LAM Lemonnier
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier St Nazaire
Laboratoire de microbiologie Polyclinique de l'Europe
Laboratoire Analyses Médicales Sud Loire Biologie
Laboratoire de bactériologie-virologie CHU TOURS site Bretonneau
Laboratoire ANDEBIO
Laboratoire BIOLAM
Laboratoire de microbiologie CH Bretagne Atlantique
Laboratoire Ocealab
Laboratoire de microbiologie Centre Hospitalier Vierson
Laboratoire BioMédiQual Centre
Laboratoire Analyses Médicales Bouali
Laboratoire Analyses Médicales de La Juhel
Laboratoire Biolab

Merci aux membres du comité d'organisation du contrôle qualité pour leur participation :

Xavier Bertrand, CHU de Besancon
 Jocelyne Caillon, CHU de Nantes
 Vincent Cattoir, CHU de Caen
 Laurent Cavalié, CHU de Toulouse
 Christophe de Champs, CHU de Reims
 Danielle Clavé, CHU de Toulouse
 Pierre-Yves Donnio, CHU de Rennes, Cclin Ouest
 Catherine Dumartin, Cclin Sud-Ouest
 Mathieu Eveillard, CHU d'Angers
 Marie-Laure Joly-Guillou, CHU d'Angers
 Nathalie van der Mee-Marquet, CHU Tours, Arlin Centre
 Hélène Sénéchal, Cclin Ouest
 Loïc Simon, Cclin est

