

RAPPORT D'ESSAI D'APTITUDE : n°212

EEQ : Bactériologie



Centre Toulousain pour le Contrôle de qualité en Biologie clinique
Association déclarée à la Préfecture de la Haute-Garonne le 30 Octobre 1973
et enregistrée sous le n° W313002633
CTCB - 33 route de Bayonne - 31300 TOULOUSE
☎ : 05 34 51 49 80 – Fax : 01 57 67 25 90
Email : secretariat@ctcb.com – site Internet : www.ctcb.com
Siret : 428 789 853 000 28 – APE : 8559A



ACCREDITATION N° 1-2178
PORTÉE DISPONIBLE
SUR WWW.COFRAC.FR

Ce rapport et son annexe ne peuvent pas être utilisés par leurs destinataires en vue de publication sans un accord écrit préalable du CTCB. Un adhérent peut cependant fournir un exemplaire du rapport à un fournisseur lors d'un problème pouvant relever de la réactovigilance mais en lui rappelant les règles de confidentialité.

Intervenant expert	Coordonnateur des programmes	Vérification du contenu scientifique et autorisation du rapport d'essai d'aptitude
Bactériologie - Hygiène Dr P. FLOCH/ Dr M. GRARE floch.p@chu-toulouse.fr grare.m@chu-toulouse.fr	Dr S. ALBAREDE Pharmacien Biologiste biologie@ctcb.com	

DOCUMENTATION

Le rapport d'essai d'aptitude comporte les éléments suivants :

- Une partie commune pour tous les laboratoires (rapport, annexe I) :
 - ✓ Commentaire éventuel sur les réponses des participants
 - ✓ Pages explicatives : présentation du programme, du traitement statistique et position du laboratoire
 - ✓ Exploitation statistique
- Une partie propre à chaque laboratoire « Résultats individuels » en annexe II (format PDF/EXCEL) :
 - ✓ Historique des participations (résultats, notations)
 - ✓ Résultats du laboratoire
 - ✓ Evaluation de la performance du laboratoire

SOMMAIRE

1. Commentaires de l'intervenant expert	page 2
2. Présentation du programme d'inter-comparaison	page 5
3. Déroulement du traitement statistique qualitatif	page 5
4. Détermination de la notation du laboratoire	page 6
5. Scenario	page 6
6. Fiche technique <i>Pasteurella multocida</i> .	page 7
7. Fiche technique <i>Staphylococcus aureus</i>	page 9

Annexe I : Traitements statistiques qualitatifs

Annexe II : Traitements statistiques quantitatifs conservés après analyse (non applicable pour cette enquête)

Annexe III : Traitements statistiques quantitatifs initiaux (non applicable pour cette enquête)

Annexe IV : Résultats individuels

1. COMMENTAIRES DE L'INTERVENANT EXPERT

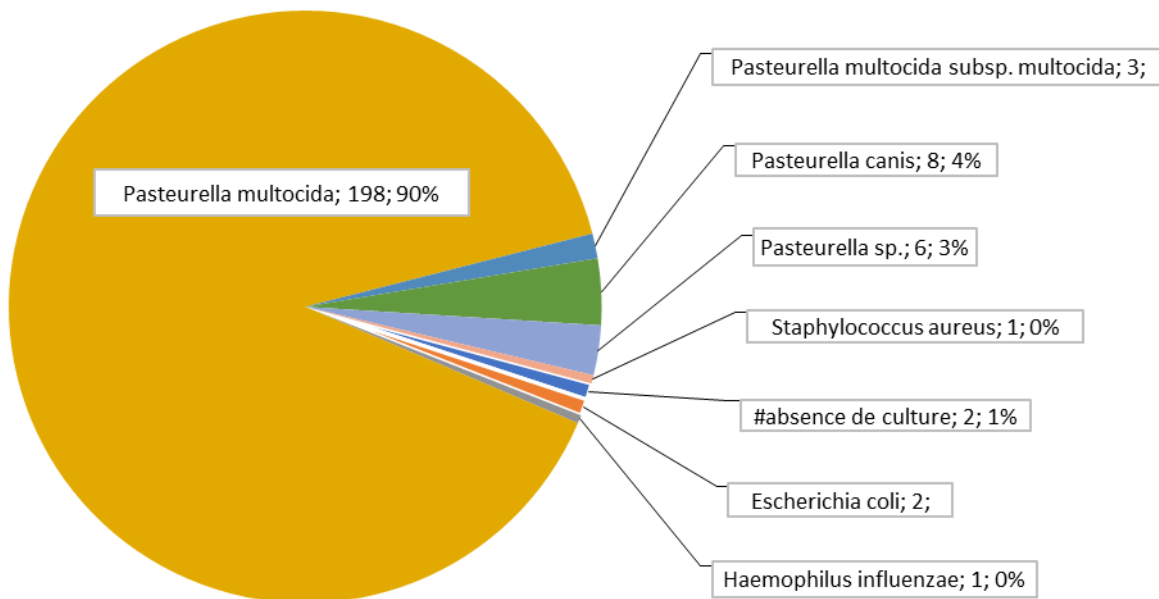
Souche 2121 : *Pasteurella multocida*

Sur les 221 participants, 201 soit 91,0% ont rendu une bonne identification à l'espèce (*Pasteurella multocida* (198 participants) ou *Pasteurella multocida* subsp. *multocida* (3 participants)). Cette dernière identification a d'ailleurs été rendue par spectrométrie de masse BRUKER Maldi Biotyper ce qui nous laisse dubitatives sur le rendu de l'identification à la sous-espèce, à moins que ces laboratoires n'aient utilisé des tests biochimiques complémentaires tels que le sorbitol et le dulcitol, respectivement positif et négatif pour *Pasteurella multocida* subsp. *multocida*. 14 autres participants ont rendu une bonne identification au genre (*Pasteurella* sp (6 participants) et *Pasteurella canis* (8 participants)) ce qui donne 97.3% de bonne identification au genre.

Parmi les 6 laboratoires qui n'ont pas reconnu la bactérie : nous avons

- Un *Haemophilus influenzae* qui est exigeant en facteurs X et V contrairement à *Pasteurella multocida* et a été identifié par « milieu chromogène », qui n'est pas une méthode adéquate d'identification ;
- Deux *Escherichia coli*, bactérie non exigeante en culture contrairement à *Pasteurella multocida* ;
- Un *Staphylococcus aureus* : encore une inversion de souche !
- 2 laboratoires n'ont pas obtenu de subculture.

Répartition des Identifications - Souche 2121

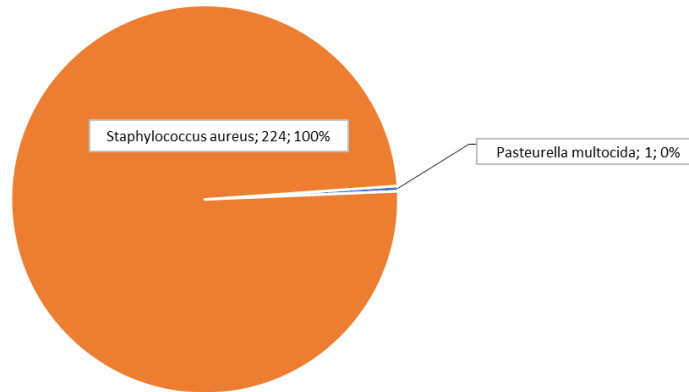


Souche 2122 : *Staphylococcus aureus*

Identification :

98% des laboratoires ayant réalisé la coloration de Gram ont bien rendu cocci à Gram positif en amas. L'ensemble des laboratoires a rendu l'identification attendue, à l'exception d'un laboratoire qui a rendu *Pasteurella multocida* (probable inversion d'échantillons).

Répartition des Identifications - Souche 2122



Antibiogramme :

La majorité des laboratoires a rendu l'interprétation attendue pour l'ensemble des antibiotiques testés.

Quelques remarques cependant :

- Oxacilline

2 laboratoires ont rendu résistant (réponse attendue sensible).

1 laboratoire utilisant la carte P631 Vitek (bioMérieux) avec une CMI $\leq 0,25$. La justification du rendu R est la réalisation d'une agglutination MRSA positive (technique à revoir ? faux positif ?).

1 laboratoire utilisant des disques bioRad avec un diamètre rendu à 6 et une interprétation rendue selon le CA-SFM 2019. A noter qu'il n'existe plus de diamètres critiques pour l'oxacilline dans le CA-SFM donc nous ne comprenons pas bien la réponse de ce laboratoire...

Pénicilline G <i>S. aureus</i>	0,125 ¹	0,125 ¹	1 unité	26 ^A	26 ^A	1/A. La méthode de diffusion en milieu gélosé 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 (voir image ci-dessous). Si le diamètre est <26 mm 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 manque de sensibilité pour détecter de façon fiable la production de pénicillinase par les staphylocoques. B. Si le diamètre est ≥ 18 mm, la souche est mecA-négative et sensible à l'ampicilline, l'amoxicilline et la piperacilline (avec ou sans inhibiteur de bêta-lactamase). Si le diamètre est < 18 mm, la souche est résistante à l'ampicilline, l'amoxicilline et la piperacilline et il faut réaliser un test cefoxitine pour déterminer la sensibilité à la méticilline.
Oxacilline <i>S. aureus, S. lugdunensis et S. saprophyticus</i>	2	2				
Oxacilline autres espèces	0,25	0,25				

- Céfoxitine

1 laboratoire a rendu résistant (réponse attendue sensible).

Ce laboratoire utilise le disque BioRad, avec un diamètre rendu à 28 mm. L'interprétation est donc erronée, un diamètre à 28 mm correspond à une catégorisation sensible.

	S ≤	R >	(µg)	S ≥	R <	
La sensibilité des staphylocoques aux céphalosporines est déduite de celle à la céfoxitine, à l'exception de la ceftazidime, de la ceftazidime-avibactam, du céfixime, du ceftibuten et du ceftolozane-tazobactam qui ne doivent pas être utilisés pour le traitement des infections staphylococciques. La plupart des <i>S. aureus</i> résistants à la méticilline sont sensibles à la céftaroline et au ceftobiprole, mais leur activité doit être testée séparément.						
Céfoxitine (dépiستage), <i>S. aureus</i> , et <i>S. non-aureus</i> autres que <i>S. epidermidis</i> .	Note ^{1,2}	Note ^{1,2}	30	22	22	1. <i>S. aureus</i> et <i>S. lugdunensis</i> caractérisés par des CMI de la céfoxitine >4 mg/L, et <i>S. saprophyticus</i> caractérisé par des CMI de la céfoxitine >8 mg/L sont résistants à la méticilline principalement du fait de la présence d'un gène <i>mec</i> additionnel.
Céfoxitine (dépiستage), <i>S. epidermidis</i>	Note ²	Note ²	30	25	25	2. Pour staphylococcus autres que <i>S. aureus</i> , <i>S. lugdunensis</i> et <i>S. saprophyticus</i> , la mesure de la CMI de la céfoxitine est moins performante que la méthode de diffusion.

- Vancomycine

1 laboratoire a répondu résistant (réponse attendue sensible). Ce laboratoire a rendu une CMI à 1 mg/L avec un commentaire « souche à envoyer au CNR pour confirmation hVISA ». Ceci est une interprétation erronée puisque les souches sont à considérer comme sensible jusqu'à une CMI de 1 mg/L INCLUS.

Glycopeptides	Concentrations critiques (mg/L)			Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)			Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >	ZIT		S ≥	R <	ZIT	
La méthode de référence pour la détermination des CMI des glycopeptides est la microdilution en milieu liquide (référence ISO 20776). La détermination de la sensibilité aux glycopeptides ne doit pas être réalisée par diffusion en milieu gélosé. Pour les utilisateurs d'automates, les souches pour lesquelles la CMI de la teicoplanine ET la CMI de la vancomycine sont ≤1mg/L peuvent être catégorisées sensibles aux glycopeptides. Il est recommandé de déterminer la CMI par microdilution en milieu liquide des souches pour lesquelles la CMI mesurée par un automate est > 1 mg/L pour la teicoplanine OU pour la vancomycine. Les souches de <i>S. aureus</i> ayant une CMI vancomycine et/ou teicoplanine > 1 mg/L par microdilution en milieu liquide peuvent être envoyées à un centre référent pour confirmation du caractère hétéroGISA/GISA (la méthode de référence permettant de confirmer ce phénotype étant l'analyse de population).								

PS : Ces documents doivent être archivés selon la réglementation en vigueur.

Pour tout renseignement :

COORDONNATEUR / BIOLOGISTE	Stéphanie ALBAREDE	Tél. : 05.34.51.49.84 biologie@ctcb.com
ADMINISTRATIF	Marie-Christine ONDERBEKE Luana SALVATI Aurélie ONDERBEKE	Tél. : 05.34.51.49.80 secretariat@ctcb.com
TECHNIQUE	Delphine GARIMBAY Fabrice ZENNAF	Tél. : 05.34.51.49.81 Tél. : 05.34.51.44.11 technique@ctcb.com
QUALITE	Erick SANCHEZ	Tél. : 05.34.51.49.82 qualite@ctcb.com
INFORMATIQUE	Nicolas BODEAU Philippe GONZALVO	Tél. : 05.34.51.44.10 Tél. : 06.84.79.34.89 informatique@ctcb.com

2. PRESENTATION DU PROGRAMME

Ce programme géré par le CTCB est mutualisé avec BIOLOGIE PROSPECTIVE.



➤ **Fréquence de passage** : Ce programme s'effectue 4 fois dans l'année et comporte 2 souches à identifier : l'ensemble des souches est envoyé en **début d'année** (conditionnement individuel en flacon de verre et emballage sécurisé agréé individuel).

➤ **Présentation du programme et des produits de contrôle utilisés** : Un antibiogramme est à réaliser sur l'une des deux souches. Les souches lyophilisées, toutes d'origine humaine, sont choisies dans le but de :

- D'évaluer les compétences sur les souches rencontrées en routine de laboratoire,
- Faire connaître des espèces rares ou inhabituelles et le cas échéant informer des nouvelles classifications de bactéries,
- Permettre de connaître les mécanismes de résistance aux antibiotiques et les règles d'interprétation des antibiogrammes.

INFORMATION : La préparation et l'emballage des échantillons sont confiés à la société ELITECH (certification ISO 13485). Les souches lyophilisées sont testées par notre sous-traitant le laboratoire de Bactériologie du CHU de Toulouse (IFB Purpan) selon les modalités internes (procédures et modes opératoires). Suite à la validation des échantillons, les échantillons sont ensuite acheminés par ELITECH au CTCB pour l'expédition.

Tous les essais réalisés par le laboratoire sous-traitant permettent de :

- vérifier l'homogénéité des échantillons au sein d'un même lot,
- vérifier la stabilité des échantillons afin de garantir qu'ils ne subiront pas de modifications significatives tout au long de l'essai,
- déterminer les résultats attendus.

3. DEROULEMENT DU TRAITEMENT STATISTIQUE QUALITATIF

Le traitement statistique est réalisé selon le protocole suivant :

➤ Gram et Identification

Type de traitement statistique	Règles de sélection des données
« Toutes réponses confondues »	Aucune sélection particulière. ➔ Traitement statistique réalisé avec l'ensemble des données.
« Par technique d'identification »	➔ Traitement statistique réalisé avec les données des laboratoires utilisant la même technique d'identification.

➤ Antibiogramme : Lecture interprétative

Le traitement statistique est réalisé uniquement sur les identifications jugées cohérentes par l'expert. L'objectif étant d'obtenir une exploitation statistique non entachée de résultats obtenus sur une autre souche que celle envoyée (contamination lors de l'ensemencement, inversion d'échantillons...).

Type de traitement statistique	Règles de sélection des données
« Toutes techniques »	Aucune sélection particulière. ➔ Traitement statistique réalisé avec l'ensemble des données.
« Par technique »	➔ Traitement statistique réalisé avec les données des laboratoires utilisant la même technique d'antibiogramme.

4. DETERMINATION DE LA NOTATION DU LABORATOIRE

➤ Notation des résultats qualitatifs : Gram et Identification

Le système de notation qualitatif repose sur l'échelle d'évaluation suivante :

- A = Réponse attendue
- B = Réponse acceptable
- C = Réponse à analyser par le laboratoire
- D = Réponse non-conforme
- N.E. = Non évalué

Le résultat attendu est la valeur transmise par l'expert selon le protocole qu'il a défini. Cette valeur est confirmée après l'exploitation des résultats des adhérents : elle devient alors la valeur assignée.

L'évaluation est réalisée sur le rendu au clinicien

➤ Notation des résultats qualitatifs : Lecture interprétative de l'antibiogramme

Le système de notation qualitatif repose sur l'échelle d'évaluation suivante :

- A = Résultat concordant
- B = Erreur mineur (Em)
- C = Erreur majeur (EM)
- D = Erreur très majeure (ETM)
- N.E. = Non évalué
- N.D. = Non déterminé

La valeur assignée est le résultat attendu transmis par l'expert (par antibiotique).

Remarque : Les participants ayant rendu une identification erronée n'auront pas d'évaluation pour leur antibiogramme.

➤ Notation des résultats quantitatifs : Diamètre d'inhibition et CMI

Devant l'importante hétérogénéité des résultats liée à la grande diversité des méthodes, il n'est pas possible de définir les spécifications de performances (limites acceptables).

Afin de situer votre résultat de diamètre, nous vous fournissons l'ensemble des valeurs des participants sous format Excel ; Afin de de situer votre résultat de CMI, nous vous fournissons des histogrammes de répartition de l'ensemble des données dans l'annexe I.

5. SCENARIO

Souche 2121

Souche courante.

Bactérie isolée dans un phlegmon de doigt chez un enfant de 10 ans pris en charge aux urgences après une morsure de chat.

Souche 2122

Souche courante.

Bactérie isolée sur une électrode de pace-maker chez un homme de 65 ans hospitalisé en cardiologie.

6. FICHE TECHNIQUE : *Pasteurella multocida*

CLASSIFICATION-NOMENCLATURE

Le genre *Pasteurella* comprend des bactéries colonisant les muqueuses des mammifères et produisant de l'indole. La principale espèce impliquée en pathologie humaine est *Pasteurella multocida* (3/4 des souches isolées chez l'homme) qui comprend 3 sous-espèces (*P. multocida subsp. multocida*, *P. multocida subsp. septica* et *P. multocida subsp. gallicida*). D'autres espèces sont également impliquées comme *Pasteurella canis*, *Pasteurella dagmatis*, ou encore *Pasteurella stomatis*.

HABITAT

Les pasteurelles sont des commensales des muqueuses du tractus respiratoire supérieur et plus rarement du tube digestif de nombreux mammifères et oiseaux (rarement de l'homme). Parasites obligatoires des animaux, leur transmission se fait par contact avec les sécrétions rhinopharyngées et la salive. La survie dans le milieu extérieur est possible mais limitée car elles sont sensibles à la dessiccation et au froid. La fréquence de portage dans l'oropharynx varie selon les espèces. 50 à 80 % des chats et 50 à 60 % des chiens sont porteurs.

POUVOIR PATHOGENE CHEZ L'HOMME

Les pasteurelloses d'inoculation sont fréquentes (100 à 500 cas par million d'habitant et par an en France) ; *P. multocida* se transmet à l'homme le plus souvent par morsures de chiens ou de chats ou plus rarement par griffures ou léchages. Les infections seront alors des plaies infectées, qui secondairement peuvent se compliquer par des atteintes ostéoarticulaires et par des formes bactériémiques en particulier après évidemment ganglionnaire en amont du point d'inoculation. L'infection peut également se développer sur des lésions préexistantes (ulcères...) par contact avec la salive d'un animal lécheur. Ces infections peuvent être polymicrobiennes.

Les infections locales sont caractérisées par la rapidité de l'apparition des signes inflammatoires (quelques heures) et par une douleur intense. La plaie est rapidement inflammatoire et œdématisée avant extension à type de lymphangite. La fièvre est inconstante.

P. multocida peut coloniser transitoirement les muqueuses de l'homme (commensalisme occasionnel) et être à l'origine d'infections le plus souvent respiratoires chez des patients atteints de bronchopneumopathies obstructives. D'autres formes telles que méningites, bactériémies, infections génitales survenant sur un terrain d'immunodépression ont été décrites.

PRELEVEMENTS

Les principaux prélèvements où ces bactéries pourront être isolées sont :

- les plaies infectées après morsures, griffures ou léchage par des animaux (prélèvement de la sérosité au niveau de la porte d'entrée en pressant si possible les berges)
- les hémocultures,
- les suppurations profondes plus rarement
- prélèvements en fonction de la localisation de l'infection

CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

- **Caractères morphologiques :**

Coccobacilles à Gram négatif, à coloration bipolaire, ayant une forme allant de coccobacilles (0,3 à 1 µm) à

des aspects plus longs (2- 5 µm), immobiles, parfois capsulés.

- Caractères cultureux :

Aéro-anaérobie, microaérophile préférentiel, température optimale de croissance 37°C, culture sur gélose au sang, gélose chocolat en donnant des colonies non hémolytiques, rondes, lisses, parfois muqueuses, pas de culture sur Mac Conkey.

- Caractères enzymatiques et biochimiques

Oxydase + et catalase +, nitrate-réductase +, fermentation du glucose et du mannitol, indole +, ornithine décarboxylase +, sensible au composé vibriostatique O129, LDC -, ADH -, gélatinase -, uréase-

Les sous espèces de *P. multocida* se différencient par la fermentation du sorbitol et du dulcitol :

	sorbitol	dulcitol
<i>P. multocida</i>	+	-
<i>P. septica</i>	-	-
<i>P. gallicida</i>	+	+

- Diagnostic différentiel

La performance de la spectrométrie de masse est très bonne pour identifier les pasteurelles et la question du diagnostic différentiel se pose peu pour les laboratoires utilisant ces techniques.

Les galeries d'identification automatiques (Vitek, Phoenix...) ou manuelles (API 20E) conviennent également à l'identification.

Les principaux caractères conduisant au diagnostic d'espèce et permettant le diagnostic différentiel avec les principaux bacilles à Gram négatif isolés des morsures sont recensés dans le tableau ci-dessous :

	catalase	oxydase	indole	nitrate	urée	ODC	ADH	Mannitol	O129
<i>P. multocida</i>	+	+	+	+	-	+	-	+	S
<i>P. dagmatis</i>	+	+	+	+	+	-	-	-	S
<i>P. canis</i>	+	+	V	+	-	+	-	-	S
<i>P. stomatis</i>	+	+	-	+	-	-	-	-	S
<i>Capnocytophaga canimorsus cynodegmi</i>	+	+	-	-	-	-	+	-	R
<i>Streptobacillus moniliformis</i>	-	-	-	-	-			-	
<i>Bergeyella zoohelcum</i>	+	+	+	-	+	+	-	-	S

SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

Les *Pasteurella* sont naturellement sensibles aux β-lactamines (à l'exception de quelques céphalosporines de 1^{ère} génération), aux cyclines, fluoroquinolones, triméthoprime-sulfaméthoxazole.

La sensibilité aux aminosides est variable, sensibilité intermédiaire aux macrolides et résistance aux lincosamines.

La résistance acquise est rare et peut concerner les β-lactamines, des β-lactamases (type TEM-1 et ROB-1) ont été décrites; les tétracyclines (gènes *tet*: efflux, protection du ribosome); les quinolones (mutations).

CLASSIFICATION-NOMENCLATURE

Le genre *Staphylococcus* apparaît dans la littérature à la fin du XIXème siècle (Ogston 1883, Rosenbach).

Le genre *Staphylococcus* regroupe près de 40 espèces. Il est habituel de les classer en 2 groupes :

- *S. aureus* (« staphylocoque doré ») : se distinguant par la présence d'une coagulase, des colonies jaunes et bêta-hémolytiques, mannitol +
- des autres staphylocoques dit « à coagulase négative » ou « blancs » : se distinguant par l'absence de coagulase, des colonies blanches, non bêta-hémolytiques, mannitol -

HABITAT

Les staphylocoques sont des bactéries commensales de la flore cutanée et muqueuse des mammifères et des oiseaux. L'habitat préférentiel de *S. aureus* chez l'être humain est la muqueuse nasale (présent chez 10-40% des individus selon les études et le vécu hospitalier) ; et on estime à 60% le portage intermittent.

La transmission est essentiellement manuportée.

POUVOIR PATHOGENE CHEZ L'HOMME

La diversité des tableaux cliniques provoqués par *S. aureus* est liée à la diversité des facteurs de virulence qui peuvent être hébergés par cette espèce. On distingue habituellement les toxi-infections ou toxémies staphylococciques, et les infections suppuratives.

Dans la première catégorie, la symptomatologie s'explique plus par la présence d'une toxine que par la multiplication de la bactérie elle-même :

- *syndrome du choc toxique staphylococcique (SCTS)* : le SCTS a été décrit pour la première fois par Todd en 1978. Ce syndrome associant fièvre, érythrodermie, hypotension et au moins 3 atteintes viscérales (digestive, pulmonaire, cardiaque, hépatique...) est lié à la production d'une toxine, la TSST, toxine du choc toxique staphylococcique. Environ 30 cas par an sont déclarés en France.
- *syndrome d'exfoliation généralisé* : tableau d'érythrodermie douloureuse initialement péri-orbitaire et péri-buccale. Ce syndrome est lié à la production d'exfoliatines A et B. Comme pour le précédent, une trentaine de cas par an sont rapportés.
- *toxi-infections alimentaires* : les toxines sont ingérées avec les aliments contaminés par *S. aureus*. L'incubation est de 2 à 6 h. L'entérotoxine A est la plus fréquemment en cause.

Dans les infections suppuratives, les phénomènes multiplication bactérienne/sécrétion de facteurs de virulence sont plus intriqués :

- *infections de la peau et des tissus mous* : folliculite, furoncle, anthrax, sycosis, orgelet, panaris, érysipèle, dermo-hypodermite non nécrosante ou nécrosante. Dans ces tableaux cliniques, des toxines peuvent être impliquées : exfoliatines, leucocidine de Panton Valentine (LPV). La LPV doit être recherchée lors d'abcès récidivants (furonculose en particulier).

Le rapport 2019 du CNR Staphylocoques rapporte 78% de souches PVL+ et 65,3% de SASM.

Ainsi en 2019, nous avons expertisé 406 souches de suppurations (folliculites, furoncles, abcès, surinfections, érysipèle...) hors épidémies. La proportion de souches PVL+ est de 78% au total mais de 95,3% lorsque l'on ne considère que les infections primitives (Figure 7).

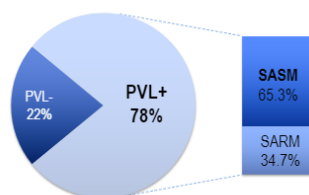


Figure 7- Caractéristiques des souches responsables d'infections suppuratives en 2019 (n=406).

- *pneumopathies* (penser à la recherche de la LPV dans les contextes de pneumonie nécrosante)
- *bactériémies et endocardites* : toute bactériémie à *S. aureus* doit faire rechercher un abcès profond. C'est un agent d'endocardite infectieuse sur valve native et prothétique, aortique ou mitrale, avec une fréquence élevée d'embolies périphériques.
- *infections ostéo-articulaires* : *S. aureus* est, avec les SCN, un des principaux agents d'infections ostéo-articulaires, avec ou sans matériel (ostéosynthèse, prothèse...). L'infection survient par voie hématogène ou par extension contiguë d'une infection. La spondylodiscite est une des principales complications des endocardites à *S. aureus*.

PRELEVEMENTS

Dans la plupart des infections de la peau et des tissus mous les prélèvements sont inutiles.

Dans les autres types d'infection, les prélèvements sont guidés par la clinique. Toujours bien penser à réaliser des hémocultures, la plupart des infections à *S. aureus* étant bactériémiantes. Attention à l'isolement de *S. aureus* dans les urines ; il s'agit dans la majorité des cas d'une filtration de la bactérie par les reins lors de bactériémies (pas d'infection urinaire à *S. aureus*, en dehors du contexte de sonde à demeure).

Les recherches de toxines ne doivent être faites qu'après isolement de la souche et dans des contextes bien particuliers, après discussion clinico-biologique.

CARACTERES BACTERIOLOGIQUES

- Caractères morphologiques

Cocci à Gram positif en amas ou grappe, immobiles

- Caractères cultureux

Pas d'exigence nutritive particulière ; pousse facilement sur tous les milieux de culture.

Métabolisme aéro-anaérobie facultatif. Les colonies apparaissent lisses, rondes, bombées, pouvant être pigmentées en jaune. Une hémolyse de type β est généralement présente sur gélose au sang de mouton. Sur Chapman, les colonies sont mannitol +.

- Caractères enzymatiques et biochimiques

Catalase +, bêta-hémolyse, mannitol +

Les Staphylocoques peuvent être distingués facilement des Microcoques par leur sensibilité aux furanes.

- Diagnostic différentiel

La performance des principales méthodes d'identification (galerie biochimique automatisée ou spectrométrie de masse) est excellente et la question du diagnostic différentiel se pose peu.

SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

S. aureus ne présente pas de résistance naturelle particulière : cette espèce est sensible aux β -lactamines, aminosides, MLS, fluoroquinolones, glycopeptides, linézolide, daptomycine, rifampicine, acide fusidique, fosfomycine, cotrimoxazole. Les résistances acquises sont fréquentes.

- Bêta-lactamines

Plus de 90% des souches de *S. aureus* produisent une pénicillinase qui les rend résistant à la pénicilline G, aux aminopénicillines, uréidopénicillines et carboxypénicillines (tout en restant sensible aux associations avec inhibiteurs de bêta-lactamases). La méthode de diffusion en milieu gélosé 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 <26 mm 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 doit plus être utilisé.

Actuellement, entre 15-20% des souches de *S. aureus* possèdent une PLP modifiée appelée PLP2a (gène *mecA*) ou PLP2c (gène *mecC*). Cette résistance dite à la méticilline est en réalité une résistance à l'ensemble des bêta-lactamines (carbapénèmes compris). Cette résistance peut être détectée par réalisation de la CMI oxacilline ou par diffusion en milieu gélosé avec un disque de céfoxitine. En cas de doute ou de discordance céfoxitine/oxacilline, un test complémentaire doit être réalisé (détection du gène *mecA/mecC* ou recherche de la PLP2a/2c).

- Macrolides, lincosamides, synergistines

L'adénine en position 2058 de l'ARN ribosomal 23S joue un rôle clé dans la fixation des MLSb. Sa méthylation par une méthylase codée par le gène *erm* empêche cette fixation. L'expression de cette résistance est soit inductible soit constitutive. La résistance inductible à la clindamycine ne peut être détectée qu'en présence d'un macrolide. Elle est mise en évidence sur l'antibiogramme en diffusion par une image d'antagonisme entre la clindamycine et l'érythromycine (D-test) ou en milieu liquide, en comparant les CMI d'un lincosamide en présence ou non d'érythromycine. En l'absence d'induction, répondre sensible à la clindamycine, spiramycine et lincomycine. En présence d'induction, répondre sensible à spiramycine, lincomycine et clindamycine avec le message suivant : « de rares échecs cliniques ont été rapportés par sélection de mutants constitutifs résistants. En cas de résistance à la clindamycine, l'activité de la pristinamycine est diminuée. »

- Glycopeptides

Depuis le CA-SFM-EUCAST 2016, l'évaluation de la sensibilité aux glycopeptides pour les staphylocoques a beaucoup évoluée. La méthode de référence pour la détermination des CMI des glycopeptides est la microdilution en milieu liquide (référence ISO 20776). La détermination de la sensibilité aux glycopeptides ne doit pas être réalisée par diffusion en milieu gélosé (ni disques ni eTest). Pour les utilisateurs d'automates (Vitek, Phoenix, Microscan), les souches pour lesquelles la CMI de la teicoplanine **ET** la CMI de la vancomycine sont ≤ 1 mg/L peuvent être catégorisées sensibles aux glycopeptides. Il est recommandé de déterminer la CMI par microdilution en milieu liquide des souches pour lesquelles la CMI mesurée par un automate est > 1 mg/L pour la teicoplanine OU pour la vancomycine.

Ces recommandations visent à mieux détecter les souches de type hGISA (ou hVISA) qui restent rares cependant. Le rapport 2019 du CNR Staphylocoques fait état de 4 souches hGISA uniquement :

Sur les **61 souches de staphylocoques à coagulase positive** reçues dans ce contexte (*S. aureus*, n=60 ; *S. argenteus*, n=1), 4 souches (6,6% ; 3 SARM et 1 SASM) ont été confirmées comme présentant une sensibilité diminuée aux glycopeptides de type hGISA selon la méthode de référence recommandée par le CA-SFM/EUCAST qui est l'analyse de population (APOP, avec un ratio d'AUC par rapport à la souche Mu3 $>0,9$). Deux de ces 4 souches hGISA étaient également résistantes à la daptomycine avec une CMI à 1,5 mg/L. Pour 4 autres souches, le test de dépistage des hGISA (test en gradient de diffusion sur milieu BHI avec un inoculum lourd de 2 McF) et l'analyse de population étaient négatifs ; cependant elles ne pouvaient être rendues sensibles aux glycopeptides car elles présentaient des CMI >2 pour la teicoplanine et/ou la vancomycine, ce qui conduit à les catégoriser résistantes aux glycopeptides en dépit du fait qu'elles ne répondent pas aux critères retenus par le CA-SFM pour définir une sensibilité diminuée aux glycopeptides de type GISA.

- Nouveaux anti-Gram + (linézolide, daptomycine)

La résistance à ces deux molécules reste rare chez *S. aureus* (données CNR 2019).

Linézolide

Les **24 souches** de *S. aureus* résistantes au linézolide étaient résistantes à la méticilline pour 9 d'entre elles et provenaient de 20 villes différentes. 13 souches étaient issues de prélèvements respiratoires, 4 d'hémocultures et une d'un prélèvement ostéo-articulaire. 3 souches possédaient le gène plasmidique *cfr* (associé à la mutation G2576T de l'ARNr 23S pour une d'elles), en provenance de Lyon, Amiens et Suresnes. Sur les souches négatives pour *cfr*, 7 souches présentaient la mutation G2576T au niveau de l'ARN ribosomal 23S. Sur les 14 souches sans *cfr* ni mutation de l'ARNr 23S, nous avons recherché des mutations des protéines ribosomales L3 et L4 : 11 des souches présentaient la mutation V118A au niveau de L4, +/- associée à d'autres mutations de ce même gène ; les 3 autres ne présentaient pas de mutation connue au niveau des protéines ribosomales.

Daptomycine

Sur les 27 souches de *S. aureus* reçues pour cette demande, 14 souches étaient bien résistantes à la daptomycine avec des CMI comprises entre 1,5 et 4 mg/L. Dix de ces souches étaient des SARM et onze de ces souches provenaient d'hémocultures.