

I. REMARQUES GENERALES

Pour la troisième évaluation du cycle 2000 (enquête 03/2000) le matériel suivant a été expédié le 6 octobre 2000.

1.1. Quatre échantillons lyophilisés pour identification.

Il s'agissait de 2 cultures pures et 1 mélange. Pour 2 échantillons, les tests de sensibilité pour 3 et 9 antibiotiques ont été demandés.

Pour l'échantillon marqué d'un astérisque, l'identification était obligatoire pour les urologues agréés.

1.2. Deux suspensions formolées de selles pour la recherche de parasites.

1.3. Deux échantillons liquides pour la recherche des anticorps contre le VIH.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de :

1. Pour les identifications :	263
2. Pour la parasitologie :	245
3. Pour les anticorps du HIV :	252

II. IDENTIFICATIONS

2.1 La culture M/2591

Contenait un mélange de streptocoques viridans et de *Streptococcus pyogenes*. La signification clinique et la taxonomie de *S. pyogenes* ont été développées en détail dans le rapport 99/1.

2.1.1. Identification

L'identification de cette souche de *S. pyogenes* ne posa pas de problèmes comme il apparaît clairement par les très bons résultats (97%).

Les colonies (1 à 2 mm) montraient une zone de β -hémolyse. Il n'y avait pas de zone d'inhibition autour d'un disque de bacitracine à 0,04 UI. L'antigène du groupe A était présent et le test pour la pyrrolidonyl aminopeptidase était positif. D'autres streptocoques β -hémolytiques, qui forment en général des petites colonies, peuvent également exprimer l'antigène du groupe A. Ils appartiennent au groupe "Anginosus" et sont peu fréquents. Le diagnostic différentiel s'effectue à l'aide d'un test négatif pour la pyrrolidonyl aminopeptidase (positif pour *S. pyogenes*, négatif pour le groupe "Anginosus") (4).

2.1.3. Sensibilité aux antibiotiques

Le NCCLS et ROSCO (Tableau 1) ont établi des normes spécifiques pour la méthode de diffusion par disque pour les streptocoques autres que *Streptococcus pneumoniae* (2, 3).

S. pyogenes reste sensible à la pénicilline-G, les autres β -lactamines et la vancomycine. Des souches tolérantes à la pénicilline ont été décrites (6). Le NCCLS estime qu'il n'est pas nécessaire de tester *S. pyogenes* à la pénicilline-G en routine. Les critères préconisés peuvent être utilisés à des fins épidémiologiques. Le NCCLS préconise de référer les souches "non-sensible à la pénicilline-G" au laboratoire de référence (pour la Belgique : Prof. Dr H. Goossens, UIA, Microbiologie, Wilrijkstraat 10 à 2650 Edegem).

La résistance aux antibiotiques de *S. pyogenes* a connu une croissance importante ces dernières années. La résistance à la tétracycline n'est pas exceptionnelle. Les macrolides étant toujours considérés comme des alternatives valables pour les β -lactamines c'est essentiellement la résistance aux macrolides qui est actuellement la plus préoccupante. Le premier mécanisme de résistance connu vis à vis des macrolides chez *S. pyogenes* est la résistance, qui est due à une méthylase. Cette forme de résistance (phénotype MLS_B) inhibe la liaison entre le macrolide et le récepteur. Cette forme de résistance affecte aussi bien les macrolides avec un noyau à 14 atomes (clarithromycine, dirithromycine, érythromycine, roxithromycine), les macrolides avec un noyau à 15 atomes (azithromycine), les macrolides avec un noyau à 16 atomes (miocamycine et spiramycine), les lincosamides (clindamycine et lincomycine) et les streptogramines B. Cette forme de résistance est constitutionnelle (dans la plupart des cas) ou inducible (uniquement les molécules avec un noyau à 14 ou 15 atomes sont des inducteurs). Un

deuxième mécanisme de résistance (phénotype M) est dû à un efflux augmenté et confère uniquement la résistance aux macrolides avec un noyau à 14 ou 15 atomes. Les souches présentant un phénotype M possèdent généralement des CMI plus basses que celle avec le phénotype MLS_B.

Selon le NCCLS le résultat de l'érythromycine est prédictif pour l'azithromycine, la clarithromycine et la dirithromycine. Le mécanisme de résistance le plus probable peut être recherché en testant simultanément l'érythromycine et la clindamycine : phénotype M (érythromycine R et clindamycine S) et phénotype MLS_B constitutif (érythromycine R et clindamycine R). Une résistance inductible aux macrolides se représente sous forme d'un creux (blunting) dans la zone autour du disque de la clindamycine en présence d'un disque d'érythromycine (5). Dans notre pays le phénotype M est plus fréquent que le phénotype MLS_B mais la prévalence du phénotype MLS_B semble augmenter. Les ketolides (telithromycine et autres) sont actifs sur les souches présentant le phénotype M et sur la plupart des souches du phénotype MLS_B (1).

Vu la croissance de la résistance chez les *S. pyogenes*, le *Infectious Diseases Advisory Board* (5) Belge recommande de tester la sensibilité aux macrolides avec la méthode du double disque (érythromycine et clindamycine).

M. LONTIE (MCH-Leuven)

Tableau 1. Diamètres pour les streptocoques autres que *Streptococcus pneumoniae*

	NCCLS (2)(mm)			ROSCO (3)(mm)			Valeur CMI (mg/l)	
	R	I	S	R	I	S	R	S
ampicilline*	18	19-25	26	20	21-29	30	8	0,25
érythromycine	15	16-20	21	23	24-27	28	1	0,25
Clindamycine**	15	16-18	19	23	24-27	28	1	0,25
Tétracycline***	18	19-22	23	22	23-25	26	8	2
Vancomycine****	-	-	17	-	-	20	-	1

* Uniquement valable pour les streptocoques β -hémolytiques, pas pour les streptocoques viridans.

ROSCO disque d'ampicilline à 33 μ g.

** ROSCO disque de clindamycine à 25 μ g.

*** ROSCO disque de tétracycline à 80 μ g.

**** ROSCO disque de vancomycine à 70 μ g.

REFERENCES

1. Descheemaeker P, Chapelle S, Lammens C. *et al.* 2000. Macrolide resistance and erythromycin resistance determinants among Belgian *Streptococcus pyogenes* and *Streptococcus pneumoniae* isolates. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*. 45:167-173.
2. NCCLS. 2000. M2-A7. Performance Standards for Antimicrobial Disk Susceptibility Tests; Approved Standard-Seventh Edition.
3. ROSCO. 2000. User's Guide: Neo-Sensitabs, Susceptibility Testing.
4. Ruoff KL, Whiley RA & Beighton D. 1999. *Streptococcus*, p. 283-296. *In* Murray PR *et al.* (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*, American Society for Microbiology, Washington DC.
5. The IBAD Guide to Extended Susceptibility Testing : Indications, Methods, and Interpretation. 2000. The Infectious Diseases Advisory Board.
6. Van Asselt GJ, Mouton RP & van Boven CP. 1996. Penicillin tolerance and treatment failure in group A streptococcal pharyngotonsillitis. *European Journal of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 15:107-115.

2.2. Culture M/2423

Cette culture, isolée à partir d'un frottis cervical chez une femme ayant des plaintes modérées de sécrétion vaginale, de dysurie et d'une légère perte de sang intermenstruelle, est pour une partie des laboratoires *Neisseria gonorrhoeae* et pour une autre partie des laboratoires *Neisseria lactamica*.

2.2.1. Taxonomie

Le genre *Neisseria* est constitué de diplocoques gram négatif, strictement aérobies et en forme de grain de café, les côtés concaves placés les uns contre les autres, dont les faces opposées sont aplaties. Une exception : le *N. elongata* a la forme d'un bâtonnet. Les *Neisseria spp.* sont, à l'exception de *N. elongata*, tous positifs pour la catalase et l'oxydase.

Différentes espèces ont été décrites chez l'homme et chez l'animal. La plupart des espèces appartiennent à la flore normale. Les espèces pathogènes sont *N. gonorrhoeae* et *N. meningitidis*. Les deux sont génétiquement fortement apparentées.

2.2.2. Signification clinique

Toutes les souches de *N. gonorrhoeae* sont considérées comme pathogènes. Elles causent des infections au niveau des muqueuses du tractus génital, de l'anus, de l'oropharynx et des yeux. Les infections peuvent évoluer de façon asymptomatique. Un à trois pour cent des patients présentant une gonorrhée développent une infection à gonocoques généralisée allant typiquement de paire avec des lésions cutanées, ainsi qu'avec de l'arthrite. Exceptionnellement, *N. gonorrhoeae* est isolé chez des patients présentant une endocardite ou une méningite. Le nombre d'isolements effectués par les laboratoires est peu élevé (179 cas en Belgique en 1999). Depuis 1997, on observe une légère augmentation.

N. lactamica est un commensal fréquent du nasopharynx, surtout parmi les enfants. Exceptionnellement, il s'avère commensal du vagin. Dans de rares cas, il est isolé comme pathogène opportuniste chez des patients présentant une méningite et une septicémie. Il est important de faire la distinction entre *N. lactamica* et *N. meningitidis*, qui lui est apparenté.

2.2.3. Microbiologie

De toutes les espèces du genre, c'est *N. gonorrhoeae* qui est la plus difficile à cultiver. Il convient d'inoculer et d'incuber les échantillons immédiatement dans une atmosphère humide avec 5% de CO₂ à 35-37°C. Pour la survie du germe, il faut une atmosphère riche en CO₂. S'il faut envoyer les souches, les milieux doivent être préalablement incubés pendant 18 à 24 heures. Les souches ne peuvent être en route plus de 48 heures.

Pour l'isolement de *N. meningitidis* et de *N. gonorrhoeae* à partir d'échantillons avec une flore qui peut être normale, on utilise des milieux sélectifs et non-sélectifs. Comme milieu sélectif pour les *Neisseria spp.*

pathogènes, on utilise par exemple Thayer-Martin avec de la vancomycine, colistine et nystatine.

Sur ces milieux sélectifs poussent également certaines espèces non-pathogènes, telles que *N. lactamica* et *Kingella dinitrificans* et certaines souches de *N. subflava*, *N. cinerea*, *N. polysaccharea* et *B. catarrhalis*.

Certains gonocoques ne poussent pas sur les milieux sélectifs, d'où l'importance d'utiliser également des milieux non-sélectifs.

Comme milieu de culture non-sélectif on donne priorité à l'agar au chocolat étant donné que tous les gonocoques ne poussent pas sur l'agar au sang.

A la suite d'une incubation pendant 24 heures, on aperçoit chez les *N. gonorrhoeae* différents types de colonies mesurant 0,5 à 1 mm. Après une incubation prolongée, les colonies deviennent un peu plus grandes et se ressemblent davantage. *N. lactamica* constitue, tout comme *N. meningitidis*, des colonies un peu plus grandes avec un millimètre de diamètre. *N. lactamica* peut former un pigment jaune clair. Sur base du type de colonie, on ne peut pas distinguer *N. lactamica*, *N. cinerea*, *N. polysaccharea*, *N. kochii* et *K. dinitrificans* de *N. meningitidis* et *N. gonorrhoeae*. Les autres *Neisseria spp.* forment bien d'autres colonies.

L'identification se fait en premier lieu sur base de coloration de gram (différence avec *K. dinitrificans*), de catalase et d'oxidase positives. L'identification de l'espèce est basée sur la croissance sur des milieux sélectifs pour des *Neisseria spp.* pathogènes et sur des tests biochimiques. Pour la réalisation des tests biochimiques on fait généralement usage de systèmes commerciaux, tels que API NH, Crystal, ROSCO Diagnostic Tablets, ... Les systèmes commerciaux sont fiables. Il faut néanmoins tenir compte du fait que les réactions sont parfois difficilement lisibles et qu'il faut éventuellement refaire le test. Parfois, il est nécessaire de faire des tests supplémentaires.

N. lactamica se distingue des autres espèces par un test ONPG positif.

N. gonorrhoeae doit être envoyé à un laboratoire de référence. Le diagnostic a d'importantes implications pour le patient et son partenaire. Il faut absolument éviter les faux diagnostics.

2.2.4. Sensibilité

N. gonorrhoeae est la seule espèce dans le genre pour lequel le NCCLS a élaboré des critères pour la diffusion par disques et la détermination de la CMI. On réalise toujours une β -lactamase par un test à la nitrocéfine.

K. MAGERMAN (Virga Jesseziekenhuis-Hasselt)

REFERENCES

1. Neisseria et Branhamella in: MurrayPR, Braon EJ, Pfaller MA, Tenover FC, Yolken RH (eds.). Manual of Clinical Microbiology 7th edition, American Society for Microbiology, Washington DC, 1999, pp 586 – 603.
2. Centers for Disease Control and Prevention. 1998. *Identification of Neisseria and Related Species*. Electronic publication (<http://www.cdc.gov/ncidod/dastlr/gcdir/Nelident/Index.html>). Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Ga.
3. Surveillance des Maladies Infectieuses par un réseau de laboratoires de Microbiologie 1999, Ministère des Affaires Sociales, de la Santé publique et de l'Environnement Institut Scientifique de Santé publique – Louis Pasteur, G. Ducoffre.

2.3. Culture M/2387

Est un *K.pneumoniae* qui ne pose aucun problème d'identification, mais dont l'antibiogramme mène à des complications. L'origine du problème est la présence d'un plasmide résistant possédant plusieurs gènes de résistance dont une β -lactamase à spectre étendu ou ESBL. Il y a énormément d'informations sur les ESBL et il n'est pas facile d'en donner un bref aperçu.

Les ESBL sont des β -lactamases évoluées :

- à l'origine, il s'agissait de β -lactamases codées par chromosome (les β -lactamases SHV proviennent de *K.pneumoniae*, l'origine des β -lactamases TEM n'est pas connue)
- les gènes concernés se sont libérés du chromosome et sont présents sur des éléments héréditaires mobiles (transposons et unités plus grandes des plasmides) : les gènes peuvent donc être transmis à d'autres souches et espèces, ce qui s'observe fréquemment dans le matériel des patients
- sous la pression de sélection de l'antibiothérapie, des mutants causant des CMI plus élevées pour les antibiotiques à β -lactame sont sélectionnés : par conséquent, le spectre des β -lactamases s'élargit

Suite aux CMI plus élevées, nous observons que le producteur d'ESBL est lu résistant ou intermédiaire pour une partie des antibiotiques à β -lactame lors de la réalisation et l'interprétation d'un antibiogramme. Pour certains β -lactames, la CMI plus élevée reste néanmoins en dessous des *breakpoints* classiques. Ce qui est important, c'est que l'idée que de telles souches ne réagissent pas facilement à une thérapie avec un antibiotique particulier, ait petit à petit gagné du terrain. Ceci signifie également que des directives et des techniques ont été décrites afin de découvrir ces souches (les systèmes experts), et d'adapter, en cas de présence d'une ESBL, le résultat de l'antibiogramme original 'brut' (rapporter résistant ou ajouter une remarque).

Variation

- De nombreuses ESBL ont été décrites : on connaît déjà au moins 87 dérivés de TEM, une vingtaine de dérivés de SHV et un petit nombre d'autres ESBL : aujourd'hui, on dispose d'une bonne taxonomie basée sur l'origine phylogénétique : TEM-3, TEM-4, ... et SHV-3, SHV-4, ...
- Vu la grande variété des types d'ESBL et de leurs expressions, on observe une grande variation parmi les antibiogrammes des souches d'ESBL. Dans une partie des souches, les CMI de la ceftazidime, de la céfotaxime, ... sont très proches l'une de l'autre : les modèles des antibiogrammes de telles souches ressemblent à ceux des entérobactériaceae 'induits' (*Enterobacter sp.*, *Citrobacter sp.*, ...) (la souche M2387 a ce phénotype) et dans une autre partie des souches, il y a une CMI très élevée pour la ceftazidime (64 ou plus), tandis que la CMI pour la céfotaxime reste peu élevée (CMI 1-2 ou même plus bas) : d'une part, ces souches sont relativement faciles à détecter (phénotype CAZ-R / CTX-S).
- En fait, il n'y a pas de définitions strictes des ESBL.

Sensibilité aux inhibiteurs de β -lactamases

- Une caractéristique importante de la plupart des ESBL est qu'elles sont bloquées par les inhibiteurs de β -lactamases et que l'acide clavulanique, ou le tazobactam ... rétablit leur sensibilité à l'ampicilline, la pipéracilline ... Une partie des techniques de détection des ESBL repose partiellement sur cette synergie.
- Malgré cette synergie, certaines souches avec ESBL ne sont pas sensibles à l'Augmentin® e.a.

Autres caractéristiques

Les ESBL se trouvent sur les plasmides : ceci a pour conséquences que les souches infectées possèdent également d'autres gènes R et elles sont fréquemment résistantes à la tétracycline, au chloramphénicol, aux sulfonamides et/ou au triméthoprime et à un ou plusieurs aminosides.

Une autre conséquence est que le paquet de résistance peut être transmis à d'autres souches de la même espèce et à d'autres espèces.

Pour une raison inconnue, les plasmides et les gènes d'ESBL concernés se présentent principalement dans les souches de *K. pneumoniae* et de nombreuses épidémies ont été décrites. Un *E. coli* ou *K. oxytoca* peut être parfois infecté par ces souches épidémiques.

Dépistage et détection :

Il y a plusieurs approches

- a. tests s'appuyant sur la synergie entre le produit à β -lactame et l'acide clavulanique
 - le test à double-disque (disk approximation): un disque d'acide clavulanique ou d'amoxicilline + acide clavulanique sur l'antibiogramme de diffusion en face d'un disque céfotaxime, aztréonam, et ou ceftazidime : entre les 2 disques, on observe une transformation de la zone inhibitrice (modèles de synergie) et/ou des zones fantômes. Certains ESBL sont détectés seulement en variant la distance entre les disques. Pour la souche M/2387, la synergie n'est visible que par une certaine combinaison des disques utilisés, par leur diffusion en gélose et par la distance (rarement en cas des 2,5 cm conseillés !!!) (voir illustration 1)
 - détermination comparative des CMI entre la ceftazidime avec et sans acide clavulanique, et la céfotaxime avec et sans acide clavulanique : ceci peut se faire en utilisant par exemple une bandelette spéciale E-test. Quand la différence entre les deux résultats est au moins égale à un facteur 4, ceci indique la présence d'une ESBL. (Pour la souche M/2387, le rapport n'est que de 3 - 4, le rapport est beaucoup plus élevé pour de nombreuses souches)
 - des disques-combi peuvent également être utilisés : comparer la zone inhibitrice du disque ceftazidime et le disque ceftazidime + acide clavulanique (idem pour céfotaxim et céfotaxim + acide clavulanique) : une différence de 5 mm indique la présence d'une ESBL (pour la souche M/2387 le test est négatif).
 - autres

- b. s'appuyant sur la résistance de la population : les souches normales d'*E.coli* et de *K.pneumoniae* ont une CMI peu élevée et une zone inhibitrice large pour la troisième génération de céphalosporines et pour l'aztreonam : les producteurs d'ESBL ont une CMI clairement plus élevée et une zone inhibitrice moins grande.

Diffusion par disques Zones d'alerte	Zone Souche 2387	CMI alarme	Valeur souche 2387
cefpodoxime < 22 mm	<u>19</u>	cefpodoxime > 2 g/ml	2
ceftazidime < 22 mm	<u>18</u>	ceftazidime > 2 g/ml	<u>4</u>
aztreonam < 27 mm	<u>23</u>	aztreonam > 2 g/ml	NT
céfotaxime < 27 mm	<u>26</u>	céfotaxime > 2 g/ml	<1
céftriaxone < 25 mm	<u>23</u>	céftriaxone > 2 g/ml	NT

Plus l'on teste de produits, plus l'on détecte des ESBL. La cefpodoxime et la ceftazidime sont toutefois les substances, quand elles sont utilisés seuls, avec lesquelles on observe le plus de souches.

En cas de résultat de dépistage positif, il faut démontrer la présence d'une ESBL de façon plus approfondie avec les techniques mentionnées au point a.

Aucune de ces techniques ne peut détecter toutes les ESBL, il faut combiner plusieurs tests.

Nous décrivons ci-dessus les recommandations très concrètes du NCCLS qui ont toutefois été élaborées relativement tard. Selon le NCCLS, l'adaptation de l'antibiogramme ne doit pas se faire si, malgré le fait que les zones d'alerte ont été dépassées, l'on ne peut démontrer d'ESBL.

Quand on utilise les critères des autres comités et/ou quand on utilise des 'automates' récents, on obtient éventuellement d'autres résultats.

Autres breakpoints :

- des breakpoints Anglais, Scandinaves, Hollandais : pour la ceftazidime, le breakpoint de la sensibilité varie entre 1 et 8 (de nombreuses souches avec une ESBL seront donc automatiquement lu comme R)

Autres règles expertes :

- En France par exemple, il existe une importante tradition en ce qui concerne la recherche des phénotypes R et des règles expertes ont été développées depuis longtemps déjà.
- Dans les nouveaux automates et systèmes d'antibiogramme (SIRSCAN, Phœnix, Vitek 2...), il y a une présence de plus en plus claire de règles expertes : contrairement au NCCLS, celles-ci ne sont toutefois pas limitées aux ESBL ou même à la catégorie des β -lactames. Par exemple les systèmes experts déterminent aussi que la souche M/2387 d'amikacine ne doit pas être lue S ni X, mais qu'elle est R vu la présence d'enzyme AAC (6')

Profil de résistance :

- à l'origine et traditionnellement, les producteurs d'ESBL sont encore sensibles aux ralentisseurs d'inhibiteurs (amoxicilline/acide clavulanique et piperacilline/tazobactam), ainsi qu'à la céfoxitine et au céfotétan, mais

- certaines ESBL décomposent cependant cet antibiotique et pour d'autres raisons certaines souches ne sont éventuellement pas très sensibles
- la témocilline et les carbapénèmes ne sont presque pas décomposés par les ESBL, mais le premier n'est peut être plus un bon choix pour les infections graves
 - aussi, une résistance se produit facilement suite à une diminution de la perméabilité)

Les ESBL dans d'autres espèces et les lactamases à spectre large n'étant pas des ESBL

Les ESBL dans d'autres espèces : les ESBL peuvent également être présentes dans d'autres espèces (*Proteus mirabilis*, *P.aeruginosa*, *Enterobacter*, *Citrobacter* et *Serratia spp.* et dans les pays exotiques aussi dans *Salmonella*, *B. pseudomallei* etc.) : dans de nombreux hôpitaux, l'*E.aerogenes* est devenu le principal 'porteur' d'ESBL : bon nombre de ces producteurs d'ESBL ne causent pas de problèmes en ce qui concerne l'antibiogramme parce que l'hyper production d'amp-C β -lactamase par exemple, fait qu'ils sont déjà lus résistant à l'antibiogramme.

Les autres β -lactamases : de nombreuses autres β -lactamases ont été récemment décrites : il ne s'agit pas de dérivés de TEM ou SHV et souvent, elles ne sont pas neutralisées par l'acide clavulanique.

Les souches d'*E.coli* et de *K.oxytoca*, hyper produisant leur propre β -lactamase chromosomale, deviennent elles aussi plus nombreuses (les premières montrent alors un résultat d'antibiogramme pour la ceftazidime qui dépasse le seuil d'alerte (CMI > 2, diamètre < 22), mais le test à double-disque est négatif; pour les dernières, le seuil d'alerte pour la céfotaxime est dépassé, mais pas celui de la ceftazidime et le test à double-disque est positif).

Pour ce type de souches, le NCCLS ne recommande pas de modifier l'antibiogramme 'brut', les systèmes experts le feront. Nous nous situons encore au niveau du débat (qui accepte ? quelle règle experte ? dans quelles circonstances ?), mais il est clair que dans le futur les systèmes experts constitueront une partie essentielle de la recherche bactériologique.

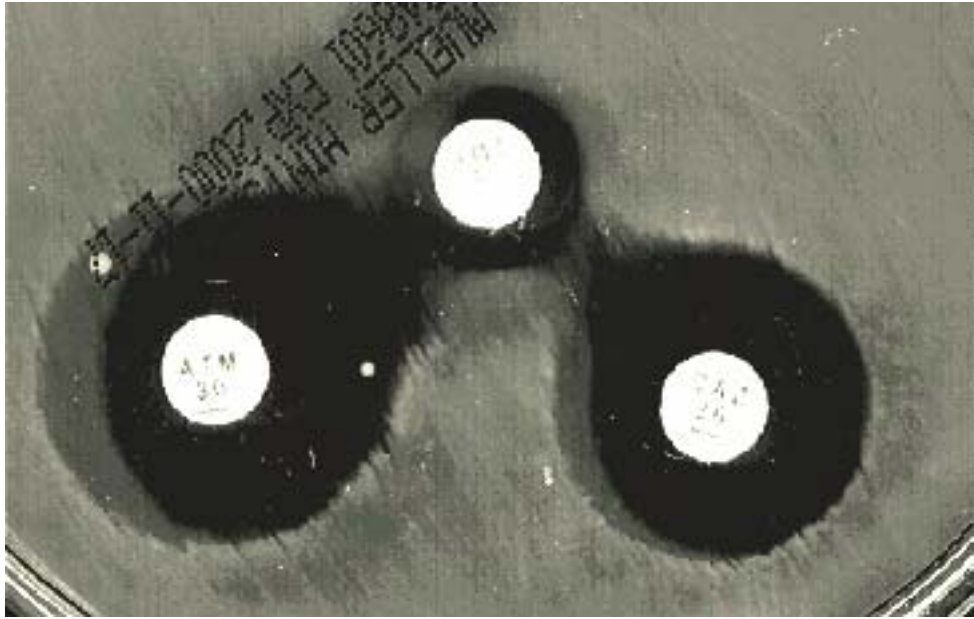
Approche des infections avec des producteurs d'ESBL

- antibiothérapie : utilisation de β -lactames restant actives (après avoir testé la sensibilité : l'amoxicilline/l'acide clavulanique ou d'autres combinaisons d'inhibiteurs, la témocilline, la cefoxitine/le céfotétan, mais attention au développement plus approfondi de la résistance) – ou un carbapénème – ou les antibiotiques d'une autre catégorie.
- cette résistance borderline n'a probablement qu'une importance clinique pour les infections graves (source de discussion).
- mesures hygiéniques dans les hôpitaux : attention à la transmission (hygiène, isolation ...).

Conclusion : la souche M/2387 est un *K.pneumoniae* produisant une ESBL qui n'est pas facilement détectable, mais nous l'avons dépistée grâce aux systèmes experts et les zones d'alerte. Certains aspects de la microbiologie clinique deviennent de plus en plus compliqués et il y a plus que jamais une diversité quant aux techniques et points de vue dans la microbiologie.

G. CLAEYS (UZ-GENT)

A



B



C

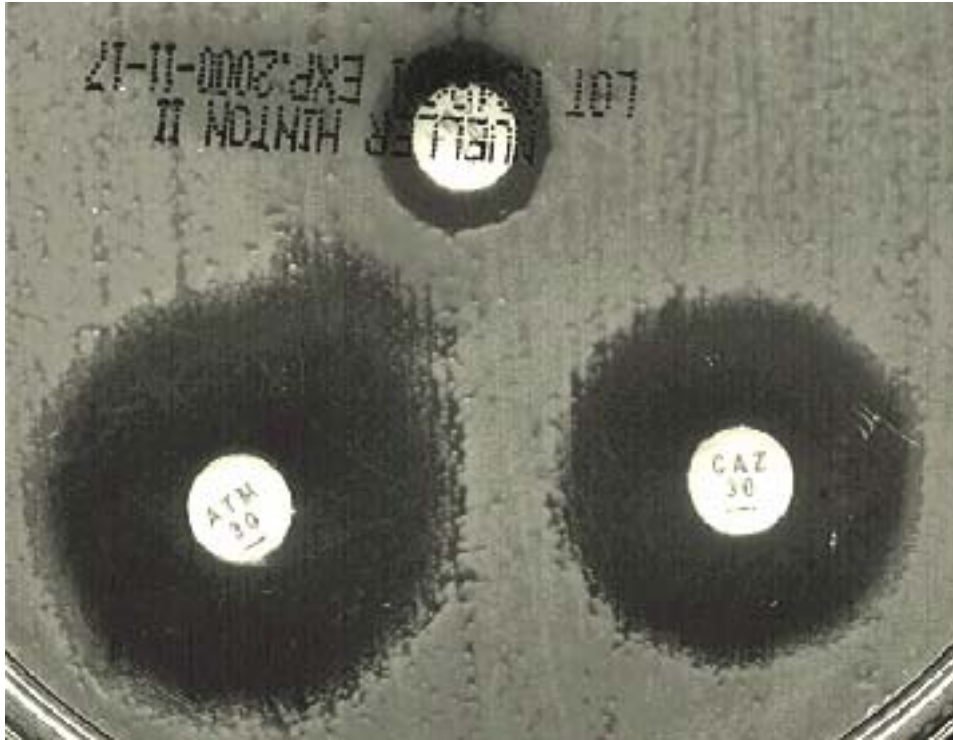


Illustration 1

L'antibiogramme de diffusion avec la ceftazidime (CAZ30), l'aztreonam (ATM30) et l'augmentine (AMC30). On observe entre autres un effet inoculum très fort (pour A/ grand inoculum et petits diamètres) et des zones synergiques avec des différences en clarté selon l'inoculum, la distance entre les disques et l'antibiotique en question (avec la ceftazidime son n'observe aucun effet pour C/)

REFERENCES

1. K. Bush and G. Jacoby. Nomenclature of TEM β -lactamases. 1997. J. Antimicrob. Chemother. 39 : 1-3.
2. K. Bush, G.A. Jacoby, and A.A. Medeiros. 1995. A functional classification scheme for β -lactamases and its correlation with molecular structure. Antimicrob. Agents Chemother. 39 : 1211-33.
3. Livermore, D. M. 1995. β -Lactamases in laboratory and clinical relevance. Clin. Microbiol. Rev. 8 : 557-84.
4. Ambler, R.P., A.F.W. Coulson, J.-M. Frère, J.-M. Ghuyssen, B. Joris, M. Forsman, R.C. Levesque, G. Tiraby, and S.G. Walley. 1991. A standard numbering scheme for the class A β -lactamases. Biochem. J. 276 : 269-72.
5. Jacoby GA, Medeiros AA More extended-spectrum β -lactamases. 1991. Antimicrob Agents Chemother35(9): 1697-704
6. Sirot D Extended-spectrum plasmid-mediated β -lactamases. 1995 J Antimicrob Chemother36 Suppl A: 19-34
7. Philippon A, Arlet G, Lagrange PH 1994Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases. Eur J Clin Microbiol Infect Dis.; 13 Suppl 1: S17-29
8. G.Claeys β lactamasen een overzicht. 2000. Tijdschrift voor geneeskunde, 56 :773-82
9. G.Claeys. Resistentiemechanismen tegen β -lactam antibiotica. 1995. Tijdschrift voor geneeskunde 51:1560-70
10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. 1999. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing. NCCLS approved standard M100-S9. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA

Laboratory Detection of Extended-Spectrum β -Lactamases (ESBLs)
<http://www.cdc.gov/ncidod/hip/Lab/FactSheet/esbl.htm>

III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N=263)

Les identifications correctes sont soulignées

3.1 Culture M/2591 *Streptococcus pyogenes* (frottis de gorge) N=263

<u>Streptococcus pyogenes</u>	225 (85,6%)
<u>Streptococcus groupe A</u>	30 (11,4%)
*Streptococcus pyogenes + S. mitis	1
*Streptococcus pyogenes + S. viridans	1
Streptococcus agalactiae	1
Streptococcus sanguis	1
Arcanobacterium haemolyticum	1
Sans réponse	3

* La réponse ne devrait contenir que le germe pathogène

3.2 Culture M/2423

GROUPE 1 *Neisseria lactamica* (échantillon cervical)
N=135

<u>Neisseria lactamica</u>	111 (82,2%)
N. gonorrhoeae + N.lactamica	2
Neisseria Beta-lactamase négatif	1
Neisseria gonorrhoeae	19
Pas de croissance	1
Sans réponse	1

GROUPE 2 *Neisseria gonorrhoeae* (échantillon cervical)
N=128

<u>Neisseria gonorrhoeae</u>	109 (85,2%)
N. gonorrhoeae + N.lactamica	1
Neisseria lactamica	8
Neisseria cinera	3
Neisseria sp	3
Neisseria sicca	2
dysbiose	1
Sans réponse	1

3.3. Culture M/2387 *Klebsiella pneumoniae* (urine) N=263

<u>Klebsiella pneumoniae</u>	205 (78%)
<u>Klebsiella pneumoniae (BLSE)</u>	58 (22%)

IV. ANTIBIOGRAMME

L'antibiogramme-type a été réalisé par plusieurs experts selon les deux méthodes les plus couramment utilisées et pouvant servir de référence : Méthode par diffusion de disque selon NCCLS et ROSCO (NEO-SENSITABS).

Culture M/2591

	Résultat attendu	S	I	R	Total
érythromycine	R	6	3	249	258
clindamycine	R	12	3	236	251
tétracycline	S	228	3	1	232

*Quelques participants mentionnent l'utilisation du Vitek pour le test de sensibilité du streptococcus *S. pyogenes*. Le "Vitek" (I et II) ne possède pas de carte adéquate pour la réalisation de ce test de sensibilité. Les participants ont répondu sensible aux 3 antibiotiques ou sensibilité intermédiaire à l'érythromycine.

Culture M/2387

	Diffusion			Dilution		
	S	I	R	S	I	R
ofloxacine	1	38	71	0	19	58
ciprofloxacine	22	78	54	4	41	50
norfloxacine	8	57	93	2	29	52
amoxicilline + clavulanique	9	35	141	4	13	74
céfuroxime	0	33	146	24	20	54
céfotaxime	112	5	25	49	12	16
céftriaxone	76	6	17	15	5	18
céftazidime	90	32	47	40	12	23
céfépime	88	9	11	42	10	15

Les méthodes Vitek et ATB sont reprises sous la colonne « dilution ».

62 laboratoires mentionnent la présence d'une BLSE. Ces laboratoires ont adapté leurs résultats. Ils ont répondu R pour les céphalosporines ou ont complété leurs résultats avec un commentaire.

Au total 106 laboratoires ont répondu sensible pour le test de sensibilité à la ceftazidime, sans commentaire complémentaire ou mention de la présence d'une BLSE.

V. PARASITOLOGIE

5.1. Les échantillons

Chaque participant a reçu 2 suspensions de selles formolées P/1575 et P/2590.

Pour chaque échantillon un renseignement clinique a été fourni :
P/1575 “ Selles d’un garçon âgé de 8 ans originaire du Paraguay avec les plaintes suivantes : légère diarrhée et faibles crampes abdominales.

P/2590 “Selles d’une fille âgée de 14 ans originaire de Haïti avec les plaintes suivantes : diarrhée, amaigrissement et crampes abdominales.

P/1575 contenait des œufs de *Hymenolepis nana*. Dans l’échantillon P/2590 des oocystes de *Cyclospora cayetanensis* étaient présent ainsi que le *Blastocystis hominis*.

5.2. Les résultats

Les résultats de l’évaluation externe sont repris dans les tableaux ci-dessous. Les codes entre parenthèses se réfèrent aux tableaux de parasitologie de l’ISP-LP et sont également à consulter sur le site web : <http://www.iph.fgov.be>

Tableau 1. Pour l’échantillon P/1575, les parasites suivants ont été retrouvés (nombre de participants = 245)

Nom	Nombre de réponses
(0) Absence de parasites	1
(6) <i>Cryptosporidium sp</i>	1
(7) <i>Cyclospora sp</i>	1
(9) <i>Endolimax nana</i>	2
(66) <i>Onchocerca volvulus</i>	1
(67) <i>Strongyloides fulleborni</i>	1
(79) <i>Hymenolepis diminuta</i>	13
(80) <i>Hymenolepis nana</i>	230
(81) <i>Taenia saginata</i>	1
Total	252

Tableau 2. Pour l'échantillon P/2590, les parasites suivants ont été retrouvés (nombre de participants = 239)

Nom	Nombre de réponses
(0) Absence de parasites	18
(6) <i>Cryptosporidium sp</i>	3
(7) <i>Cyclospora sp</i>	192
(9) <i>Endolimax nana</i>	7
(10) <i>Entamoeba coli</i>	3
(12) <i>Entamoeba hartmanni</i>	14
(13) <i>Entamoeba histolytica</i>	2
(22) <i>Microsporidia</i>	2
(55) <i>Ascaris lumbricoides</i>	5
(68) <i>Strongyloïdes stercoralis</i>	1
(84) <i>Dicrocoelium stercoralis</i>	2
<i>Blastocystis hominis</i>	13
Total	262

Tableau 3. Parasites ou mélanges de parasites retrouvés dans l'échantillon P/1575

Parasites	Nombre de labo
0	1
6/9	1
66	1
67	1
7/80	1
79	11
79/80	2
80	225
80/81/82	1
9	1
Total	245

Tableau 4. Parasites ou mélanges de parasites retrouvés dans l'échantillon P/2590

Parasites	Nombre de labo
0	18
10	2
10/13	1
12	11
55	2
6	2
6/7/22	1
68	1
7	76
7/13	1
7/22	1
7/55	3
7/9/98	1
7/98	8
84	1
9	2
9/12	3
9/84	1
98	4
Total	239

5.3. Discussion des résultats

5.3.1. Echantillon P/1575

Un résultat a été envoyé par 245 laboratoires. *Hymenolepis nana* (seul ou en combinaison avec d'autres parasites) a été retrouvé par 230 (93,9 %) laboratoires. Les stades suivants ont été mentionnés pour ce parasite; kyste (6 participants), forme adulte (1 participant), oeufs (222 participants) et pas de stade mentionné (1 participant).

Tableau 3 montre en détail les parasites, seul ou dans un mélange, retrouvés dans cet échantillon.

5.3.2. Echantillon P/2590

Un résultat a été envoyé par 239 laboratoires. *Cyclospora sp* a été retrouvé par 192 (80,3%) participants avec les stades d'évolution suivants; oeufs (4), kyste (39), sporocyste (2), oocyste (146) pas de stade mentionné (1). *Blastocystis hominis* a été trouvé par 13 (5,4%) laboratoires.

Tableau 4 montre en détail les parasites, seul ou dans un mélange, retrouvés dans cet échantillon.

5.4. Discussion sur les parasites

5.4.1. Hymenolepis nana

Ce parasite est décrit en détail dans le rapport global 3/1999.

5.4.2. Cyclospora cayetanensis

Le *Cyclospora cayetanensis* a été introduit pour la première fois lors de la première enquête 1997. Le parasite a été décrit en détail dans le rapport 97/1. Pendant ces dernières années, le parasite a été étudié et quelques questions, comme le cycle, sont élucidées.

5.4.2.1 Cycle (1)

