SESSIONS ORALES
ORAL SESSIONS

Jeudi 4 décembre
Thursday December 4

RICAI

Jeudi 4 décembre
Thursday December 4

Heure	Réf	Session	Salle
09:00-10:30	1SEP	EVALUATION ET ENREGISTREMENT DES ANTI-INFECTIEUX : QUOI DE NEUF CETTE ANNÉE ?	HAVANE
09:00-10:30	2O	EPIDÉMIOLOGIE DE LA RÉSISTANCE BACTÉRIENNE	341
09:00-10:30	3O	RÉSISTANCE AUX FLUOROQUINOLONES : MÉCANISMES ET ÉPIDÉMIOLOGIE	343
09:00-10:30	4O	ACTUALITÉS DIAGNOSTIQUES ET THÉRAPEUTIQUES EN PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	351
09:00-10:30	5O	RISQUE INFECTIEUX ET PRÉVENTION EN PÉDIATRIE	352 A
09:00-10:30	6FMC	DIAGNOSTIC DES INFECTIONS SUR MATÉRIEL	352 B
09:00-10:30	7O	INFECTIONS NOSOCOMIALES ET LIÉES AUX SOINS (1)	353
11:00-12:30	8SEP	QUELS ANTIBIOTIQUES AUJOURD'HUI CONTRE LES BACTÉRIES À GRAM POSITIF ?	BORDEAUX
11:00-12:30	9S	CHALLENGES DANS LA PRISE EN CHARGE DES INFECTIONS EN RÉANIMATION EN 2009 : PLACE DES ANCIENNES MOLÉCULES	HAVANE
11:00-12:30	10O	BACTÉRIOLOGIE DU FUTUR : BIOLOGIE MOLÉCULAIRE OU SPECTOMÉTRIE DE MASSE ?	341
11:00-12:30	11S	LÉGIONELLOSE : LEÇONS DE L'ENQUÊTE NATIONALE PROSPECTIVE	342 A
11:00-12:30	12O	DES OUTILS DE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE À LA PRISE EN CHARGE	342 B
11:00-12:30	13O	ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE *IN VITRO* DES ANTIBIOTIQUES	343
11:00-12:30	14O	VIRUS, IMMUNODÉPRESSION ET CANCER	352 A
11:00-12:30	15FMC	DIAGNOSTIC ET SUIVI VIROLOGIQUES DES INFECTIONS À CYTOMÉGALOVIRUS (CMV) ET À VIRUS EPSTEIN-BARR (EBV)	352 B
11:00-12:30	16O	INFECTIONS NOSOCOMIALES ET LIÉES AUX SOINS (2)	353
14:00-15:30	17S	E. COLI DANS TOUS SES ÉTATS	HAVANE
14:00-15:30	18O	DES INFECTIONS COMMUNAUTAIRES VIRALES AUX INFECTIONS NOSOCOMIALES : VIRUS SANS FRONTIÈRES	341
14:00-15:30	19SEP	PROTHÈSES DE HANCHE INFECTÉES	342 A
14:00-15:30	20SEP	INFECTIONS NOSOCOMIALES VIRALES	342 B
14:00-15:30	21O	ACTIVITÉ DES ANTIBIOTIQUES	343
14:00-15:30	22S	DE L'OUTIL À LA DÉCISION MÉDICALE	351
14:00-15:30	23S	FLORILÈGE 2008 DE LA LITTÉRATURE	352 A
14:00-15:30	24FMC	ANTIBIOTHÉRAPIE COMPLIQUÉE CHEZ L'ENFANT	352 B
14:00-15:30	25O	EPIDÉMIOLOGIE BACTÉRIENNE : SURVEILLANCE, TRANSMISSION	353
16:00-17:30	26SEP	RÉSISTANCE BACTÉRIENNE EN FRANCE : 10 ANS DE SURVEILLANCE PAR LES RÉSEAUX DE L'ONERBA	BORDEAUX
16:00-17:30	27S	QUE SIGNIFIE LE PORTAGE NASAL DE S. AUREUS ?	HAVANE
16:00-17:30	28S	FLORE COMMENSALE INTESTINALE ET PATHOLOGIES	341
16:00-17:30	29S	NOS AMIES LES BÊTES : LE RISQUE INFECTIEUX DE L'ANIMAL À L'HOMME	342 A
16:00-17:30	30O	ENDOCARDITE ET AUTRES INFECTIONS BACTÉRIENNES EXPÉRIMENTALES	342 B
16:00-17:30	31O	BACTÉRIES INTRACELLULAIRES : QUOI DE NEUF ?	343
16:00-17:30	32SEP	VACCINS EN PANNE	352 A
16:00-17:30	33FMC	BON USAGE DES GLYCOPEPTIDES	352 B
16:00-17:30	34O	INFECTION À VIH ET DE L'IMMUNODÉPRIMÉ	353

jeudi *Thursday*	4	décembre *December*	09:00 10:30	SALLE *Room*	HAVANE	SESSIONS EN PARTENARIAT *Joint Session*	1SEP

EVALUATION ET ENREGISTREMENT DES ANTI-INFECTIEUX : QUOI DE NEUF CETTE ANNÉE ?
VALUATION AND RECORDING OF ANTI-INFECTIVE DRUGS: WHAT'S NEW THIS YEAR?

Présidents/Chairpersons : L. DUBREUIL, C. CHIDIAC

1 09:00 **En rétrovirologie**
D. Vittecoq
Unité des Maladies Infectieuses, Hôpital Paul Brousse, Créteil, France

2 09:20 **En vaccinologie**
R. Cohen
ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France

3 09:40 **En antibiothérapie**
R. Gauzit
Service de Réanimation, Hôtel Dieu, Paris, France

4 10:00 **Et dans le *pipeline* des antifongiques ?**
S. Bretagne
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, et CNR Mycoses et Antifongiques, Institut Pasteur, France

jeudi *Thursday*	4	décembre *December*	09:00 10:30	SALLE *Room*	341	SESSION LIBRE *Oral Papers*	2o

EPIDÉMIOLOGIE DE LA RÉSISTANCE BACTÉRIENNE
EPIDEMIOLOGY OF BACTERIAL RESISTANCE

Présidents/Chairpersons : C. SEGONDS, M.C. PLOY

5 09:00 **Forte prévalence des infections communautaires et nosocomiales à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et sécréteur de la Leucocidine de Panton-Valentine dans l'Algérois**
K. Antri[1], I. Boubekri[1], O. Dauwalder[2], N. Rouzic[2], M. Bes[2], J. Etienne[2], M. Tazir[1], N. Ramdani-Bouguessa[1]
[1]Service de Microbiologie, Centre Hospitalo-universitaire Mustapha Bacha, Alger, Algérie [2]Service de Bactériologie, Centre National de Référence des Staphylocoques, Lyon, France

6 09:15 **Introduction probable d'*Escherichia coli* producteurs de CTX-M de la communauté dans un service de maternité, et transmission des mères aux nouveau-nés**
V. Dubois[3-1], B. De Barbeyrac[1], A.M. Rogues[2], C. Arpin[3], P. Marianni[4], F. Mégraud[1], C. Quentin[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service d'Hygiène Hospitalière, Hôpital Pellegrin [3]UMR 5234, CNRS, Université de Bordeaux 2, Bordeaux [4]Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

7 09:30 **Targeted active surveillance cultures for detection of multidrug-resistant bacteria at admission in an internal medicine ward**
C. Rousseau[1], D. Vanjak[3], N. Claudel[3-2], C. Zincius[1], M.H. Nicolas-Chanoine[2], B. Fantin[1]
[1]Médecine interne [2]Microbiologie [3]Unité de lutte contre les infections nosocomiales, Hôpital Beaujon, AP-HP, Clichy, France

8 09:45 **Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates recovered from 13 different Belgian hospitals between 2004 and 2008**
C. Bauraing[2], P. Bogaerts[2], A. Deplano[1], C. Berhin[2], M. Struelens[1], Y. Glupczynski[2]
[1]Service de Bactériologie, Université libre de Bruxelles, Hôpital Erasme, Bruxelles [2]Service de Bactériologie, Université catholique de Louvain, Cliniques universitaires UCL Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

9 10:00 **Identification et sensibilité aux antibiotiques des bactéries et levures isolées d'hémoculture en France en 2007 : étude prospective annuelle multicentrique du ColBVH**

O. Gallon[2], B. Lamy[5], C. Bartizel[4], F. Doucet-Populaire[1-3], J. Pollet[2], J.W. Decousser[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Antoine Béclère, Clamart [2]Pôle de Biologie-Hygiène, CH de Dourdan, Dourdan [3]Faculté de Pharmacie Paris V - EA4065, Université Paris Descartes, Paris [4]Laboratoire de Biologie, CH de Rambouillet, Rambouillet [5]Laboratoire de Biologie, CH du Bassin de Thau, Sète, France

10 10:15 **Incidence des bactériémies/fongémies aux Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS) de 2005 à 2007**

O. Bourneton[5], T. Mutel[4], C. Hernandez[1], T. Lavigne[1], J. Waller[3], B. Jaulhac[2], J. Foegle[1]
[1]Laboratoire d'hygiène hospitalière [2]Laboratoire de bactériologie [3]Laboratoire de parasitologie [4]Médecine santé publique [5]Pharmacie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

3o	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	343	09:00 10:30	jeudi *Thursday*	4	décembre *December*

RÉSISTANCE AUX FLUOROQUINOLONES : MÉCANISMES ET ÉPIDÉMIOLOGIE
FLUOROQUINOLONE RESISTANCE: MECHANISMES AND EPIDEMIOLOGY

Présidents/Chairpersons : B. FANTIN, V. CATTOIR

11 09:00 **Présence du gène *qnrB4* dans un intégron complexe de type *sul1* chez *Enterobacter cloacae***

M. Bouchakour[5], C. Moubareck[2], J.D. Perrier-Gros-Claude[5], K. Zerouali[3], H. Amarouch[4], N. El Mdaghri[3], M.C. Ploy[1], M. Timinouni[5]
[1]Université de Limoges, Limoges [2]Institut Pasteur, Paris, France [3]CHU Ibn Rochd [4]Faculté des Sciences Ain Chock [5]Institut Pasteur, Casablanca, Maroc

12 09:15 **Influence du portage de plasmides ayant le gène *qnr* sur l'activité de la ciprofloxacine *in vitro* et dans un modèle murin de pyélonéphrite à *Escherichia coli***

N. Allou, F. Chau, L. Garry, L. Massias, E. Cambau, B. Fantin
Université Paris 7, EA3964, Paris, France

13 09:30 **Epidémiologie de la résistance plasmidique aux fluoroquinolones chez les entérobactéries productrices de BLSE isolées en 2006 au CHU de Nantes**

L. Crémet[1], N. Caroff[1-2], D. Lepelletier[1-2], S. Dauvergne[2], A. Reynaud[1-2], S. Corvec[1-2]
[1]Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière, CHU de Nantes [2]Université de Nantes, EA 3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Nantes, France

14 09:45 **Qnr plasmid-mediated quinolone resistance determinants among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Italy**

A. Cavallaro[2], S. Bolzonella[1], C. Bergo[2], G. Palù[1], S.N. Richter[1]
[1]Department of Histology, Microbiology and Medical Biotechnologies, University of Padova, via Gabelli 63, Padova [2]Hospital - University of Padova, Italie

15 10:00 ***E. coli* résistante aux quinolones - CHU Annaba, Algérie**

A. Djahoudi, L. Meradi, K. Amoura, N. Djahmi, S. Amiri
Département de Pharmacie, Faculté de médecine, Annaba, Algérie

16 10:15 **Résistance aux fluoroquinolones des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées au centre hospitalier de Versailles entre 2002 et 2007**

C. Plainvert, B. Couzon, B. Pangon
Microbiologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

ACTUALITÉS DIAGNOSTIQUES ET THÉRAPEUTIQUES EN PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
DIAGNOSIS AND THERAPEUTIC CURRENT EVENTS IN PARASITOLGY AND MYCOLOGY

Présidents/Chairpersons : A. BONNIN, O. LORTHOLARY

17 09:00 **Diagnostic et prise en charge des cas de trypanosomose humaine africaine en Guinée entre 2005 et 2007**

C. Vanhecke[4], M.C. Receveur[3], K. Ezzedine[3], T. Pistone[3], E. Guevard[1], J. Jamonneau[2], P. Vincendeau[3], D. Malvy[3]
[1]Coordination régionale pour les formations supérieures et la recherche en santé, Cotonou, Bénin [2]IRD, Bobo Dioulasso, Burkina Faso [3]Médecine interne et maladies tropicales, Hôpital St André, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France [4]Service médical, Ambassade de France, Conakry, Guinée

18 09:15 **Microsporidiosis in solid organ transplant recipients: two *Enterocytozoon bieneusi* cases and review**

F. Lanternier[3], D. Boutboul[3], J. Menotti[5], M.O. Chandesris[3], C. Sarfati[5], M.F. Mamzer Bruneel[4], Y. Calmus[1], F. Mechaï[3], J.P. Viard[3], M. Lecuit[3], M.E. Bougnoux[2], O. Lortholary[3]
[1]Université Paris Descartes, Service de Chirurgie Viscérale, Hôpital Cochin [2]Université Paris Descartes, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur, Service de Microbiologie [3]Université Paris Descartes, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales [4]Université Paris Descartes, Service de Transplantation rénale, Hôpital Necker-Enfants malades [5]Université Paris-7, Service de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

19 09:30 **Diagnostic de l'aspergillose pulmonaire invasive (API) probable : valeur du dosage du galactomannane (GM) dans le LBA des patients immunodéprimés**

A. Lebuisson, M.T. Baixench, J. Dupouy-Camet, A. Paugam
Parasitologie-Mycologie, Hôpital Cochin, Paris, France

20 09:45 **Prévalence des patients traités par antifongiques dans les établissements de santé, France, 2006**

A. Fischer, J.M. Thiolet, S. Maugat, B. Coignard, Groupe ENP Raisin
DMI, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

21 10:00 **Suivi thérapeutique du voriconazole et de son principal métabolite dans une cohorte de patients traités**

C. Eiden[2], D. Hillaire-Buys[2], M. Cociglio[2], P. Ceballos[1], N. Fegueux[1], H. Peyrière[2]
[1]Hématologie-Oncologie Adulte [2]Pharmacologie Médicale et Toxicologie, CHRU, Montpellier, France

22 10:15 **Therapeutic drug monitoring (TDM) of posaconazole (PSZ) in cystic fibrosis (CF) lung transplant (LTx) patients**

M. Berge[3], R. Guillemain[1], S. Lefeuvre[3], P. Chevalier[1], V. Boussaud[1], C. Amrein[1], E. Dannaoui[2], E. Billaud[3]
[1]Cardiovascular Surgery [2]Mycology [3]Pharmacology, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

5o	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	352 A	09:00 10:30	jeudi *Thursday* 4 décembre *December*

RISQUE INFECTIEUX ET PRÉVENTION EN PÉDIATRIE
INFECTIOUS HAZARD AND PREVENTION IN PAEDIATRICS

Présidents/Chairpersons : J. RAYMOND, H. HAAS

23 09:00 **Portage rhinopharyngé du pneumocoque chez les enfants souffrant d'une otite moyenne aiguë : effet du mode de garde sur le remplacement sérotypique induit par la vaccination**
R. Cohen[2], C. Levy[5], E. Bonnet[3], A. Lécuyer[5], J. Bougle[1], B. Fritzell[3], E. Varon[4]
[1]AFPA [2]CHI, Créteil [3]Wyeth, La Défense [4]HEGP AP-HP, CNRP, Paris [5]ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France

24 09:15 **Réponse immunitaire contre la souche de *Neisseria meningitidis* B:14:P1.7,16 chez les enfants dieppois vaccinés par MenBVac® : données 15 mois après la 3e dose**
F. Caron, V. Delbos, J.P.P. Leroy, G. Berthelot, V. Grassi, J.M. Alonso, M.K. Taha
CHU de Rouen, CHG de Dieppe, Institut Pasteur, France

25 09:30 **Comparaison de l'Intradermoréaction et du test Quantiferon-TB Gold® dans le dépistage de la tuberculose-infection en pédiatrie**
M. Grare[1], J. Derelle[2], M. Dailloux[1], A. Lozniewski[1], C. Laurain[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service de Médecine Infantile 3 Secteur 3, CHU de Nancy, Nancy, France

26 09:45 **Excrétion prolongée de souches de Poliovirus vaccinal chez les enfants vivant avec le VIH à Abidjan**
N. Zinzendorf, J. Lathro, B.T. Agbessi, T. Ouassa, L. Kouakou, Y.G. Loukou
UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Cocody, Abidjan, Côte d ivoire

27 10:00 **Ages effectifs de la vaccination ROR en France : conformité par rapport aux recommandations en vigueur depuis juillet 2005**
V. Gajdos[2-5-4], C. Sana[3], E. Caulin[3], et le Groupe D'investigateurs[1]
[1]Urgences Pédiatriques [2]Pédiatrie, Hôpital Antoine Béclère, Clamart [3]Département médical, Sanofi Pasteur MSD, Lyon [4]Inserm U822 [5]Université Paris Sud, Paris, France

28 10:15 **Evaluation de la charge de travail induite aux urgences pédiatriques par les gastro-entérites aigues en période épidémique**
H. Haas, E. Huguon, et le Groupe D'investigateurs
Urgences Pédiatriques, Hôpital L'Archet, Nice, France

6FMC	ATELIERS FMC *Cme Workshop*	SALLE *Room*	352 B	09:00 10:30	jeudi *Thursday* 4 décembre *December*

DIAGNOSTIC DES INFECTIONS SUR MATÉRIEL
DIAGNOSTIC OF DEVICES INFECTIONS

Animateurs/Moderators : E. SENNEVILLE, C. LOIEZ, A. LORTAT-JACOB

Objectifs :
1. Cas clinique N°1: prothèse de hanche infectée
2. Cas clinique N°2: prothèse aorto-bifémorale infectée

Niveau requis des participants :
Expérience de la prise en charge des patients avec infection sur matériel

Auditoire :
Microbiologistes, pharmaciens et médecins ayant en charge ce type de patients (infectiologues, internistes)

jeudi Thursday	4	décembre December	09:00 10:30	SALLE Room	353	SESSION LIBRE Oral Papers	7o

INFECTIONS NOSOCOMIALES ET LIÉES AUX SOINS (1)
NOSOCOMIAL INFECTIONS AND CONNECTED TO THE CARE (1)

Présidents/Chairpersons : M. WOLFF, G. LINA

29 09:00 **Antibiothérapies de 40 jours pour toutes les infections ostéo-articulaires (IOA) : évaluation à 3 ans**
R. Farhad[3], V. Mondain[3], C. Trojani[2], M. Vassallo[3], F. Gérard-Pipot[1], P. Dellamonica[3], P.M. Roger[3]
[1]Bactériologie [2]Orthopédie [3]Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

30 09:15 **Activité hospitalière liée aux infections ostéo-articulaires (IOA) en Rhône-Alpes Auvergne. Contribution du PMSI à la création d'un Centre inter-régional de coordination pour la prise en charge des IOA à Lyon**
S. Couray-Targe[1], C. Chidiac[2], D. Peyramond[2], I. Banterla-Dadon[3]
[1]Département de Conseil en Stratégie [2]Maladies Infectieuses et Tropicales [3]Pôle Information Médicale Recherche, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

31 09:30 **Cathéters à chambre implantable (CCI) : motif d'ablation et étude épidémiologique des complications**
N. Kassis[3], F. Dermoune[3], L. Mihaila[3], E. Goldschmidt[2], C. Boutelier[1], C. Sengelin[3], E. Dussaix[3]
[1]Coordination générale des soins [2]Département de cancérologie [3]Microbiologie, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

32 09:45 **Evaluation du risque infectieux lié aux cathéters sous-cutanés (CSC) en gériatrie**
A.M. Fontenoy[1], C. Leprince[1], S. Corvec[1-4], P. Cornu[1], C. Couturier[2], B. Léquippe[2], A.C. Guille Des Buttes[1], A. Lepelletier[3], V. Ould Aoudia[2], D. Lepelletier[1-4]
[1]Bactériologie-Hygiène [2]Gériatrie [3]Pharmacie, CHU de Nantes [4]Université de Nantes, Thérapeutiques Cliniques et Expérimentales des Infections, EA3826, UFR de Médecine, Nantes, France

33 10:00 **Relation entre prévalence des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et indicateurs de lutte contre les infections nosocomiales. Une analyse multiniveau**
L. Grammatico-Guillon[1-2], J.M. Thiolet[1], P. Bernillon[1], B. Coignard[1], B. Khosnood[3], J.C. Desenclos[1]
[1]Département des maladies infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice [2]Université François Rabelais, Tours [3]Unité Inserm 149, Villejuif, France

jeudi Thursday	4	décembre December	11:00 12:30	SALLE Room	BORDEAUX	SESSIONS EN PARTENARIAT Joint Session	8SEP

QUELS ANTIBIOTIQUES AUJOURD'HUI CONTRE LES BACTÉRIES À GRAM POSITIF ?
WHAT ANTIBIOTICS TODAY AGAINST GRAM POSITIVE BACTERIA?
En partenariat avec le CA SFM

Présidents/Chairpersons : E. VARON, C. BRUN-BUISSON

34 11:00 **Résistance acquise aux antibiotiques récemment disponibles : daptomycine, linézolide, tigécycline**
R. Leclercq
Service de Microbiologie, CHU de Caen, Caen, France

35 11:20 **Mode d'action et activité anti-bactérienne des molécules à venir : ceftobiprole, lipo-glycopeptides**
J.L. Mainardi
Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, AP-HP, Université Paris Descartes, Paris, France

36 11:40 **L'arsenal thérapeutique actuel est-il suffisant : les glycopeptides sont-ils obsolètes ?**
C. Brun-Buisson
CHU Henri Mondor, Créteil, France

37 12:00 **L'arsenal thérapeutique actuel est-il suffisant : quand peut-il être nécessaire d'élargir les choix ?**
B. Guéry
CHRU de Lille, Lille, France

9s	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	**HAVANE**	**11:00 12:30**	jeudi *Thursday* **4** décembre *December*

CHALLENGES DANS LA PRISE EN CHARGE DES INFECTIONS EN RÉANIMATION EN 2009 : PLACE DES ANCIENNES MOLÉCULES
CHALLENGES IN THE 2009 MANAGEMENT OF INFECTIONS IN INTENSIVE CARE: THE USE OF THE OLD DRUGS
Avec le soutien de SANOFI AVENTIS FRANCE

Président/Chairperson : R. GAUZIT

38 11:00 **Quels seront les antibiotiques actifs en réanimation en 2009 ?**
F. Jehl
Laboratoire de bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

39 11:20 **Vraies et fausses sensibilités à la colistine**
H.B. Drugeon
Laboratoire de Bactériologie, CHU HGRL, Nantes, France

40 11:40 **Pharmacocinétique et pharmacodynamie de la colistine en réanimation**
M. Boisson, O. Mimoz
Département d'Anesthésie-Réanimation, CHU de Poitiers et Inserm ERI-23, Université de Poitiers, Poitiers, France

41 12:00 **Place des anciennes molécules dans la prise en charge des infections en réanimation : à propos d'un cas clinique**
R. Gauzit
Service de Réanimation, Hôtel Dieu, Paris, France

10o	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	**341**	**11:00 12:30**	jeudi *Thursday* **4** décembre *December*

BACTÉRIOLOGIE DU FUTUR : BIOLOGIE MOLÉCULAIRE OU SPECTOMÉTRIE DE MASSE ?
BACTERIOLOGY OF THE FUTURE: MOLECULAR BIOLOGY OR MASS SPECTROMETRY?

Présidents/Chairpersons : F. LAURENT, R. RUIMY

42 11:00 **Apport de la PCR en temps réel (PCR-TR) au diagnostic des méningites bactériennes communautaires de l'adulte et de l'enfant**
G. Roth, P. Gautier, P.Y. Donnio
Service de Bactériologie-Virologie et Hygiène Hospitalière, CHU de Rennes, France

43 11:15 **Quantification par PCR en temps réel de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* dans les prélèvements respiratoires protégés**
C. Deloizy, N. Launay, J.M. Le Glaunec, P. Legrand, V. Cattoir
Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Henri Mondor, Créteil, France

44 11:30 **Intérêt et limites de l'identification moléculaire en pratique microbiologique courante**
A. Goubard, V. Cattoir, J.M. Le Glaunec, N. Launay, C.J. Soussy, P. Legrand
Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Henri Mondor, Créteil, France

45 **Identification des bactéries par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF**
11:45 N. Blondiaux, R.J. Courcol
Pôle de Microbiologie, CHU de Lille, France

46 **Peut-on utiliser la spectrométrie MALDI-TOF pour l'identification en bactériologie clinique ?**
12:00 W. Moussaoui[2], A. Birgy[2], G. Prévost[2], P. Riegel[2], J.M. Scheftel[2], M. Kostzreva[1], Y. Piémont[2]
[1]Brucker Daltonics, Allemagne [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

47 **Identification rapide de bactéries à partir d'hémocultures positives en utilisant la spectrométrie de masse MALDI-TOF**
12:15 P. Mogabure[5], T. Maier[1], G. Schwarz[1], M. Kostrzewa[1], A.M. Fahr[3], M. Holfelder, U. Eigner[3], G. Gatermann[3], F. Szabados[4], C. Boogen[4], U. Weller[2]
[1]Bruker Daltonik GmbH, Bremen [2]Laboratory Dr C. Boogen, Cologne [3]Laboratory Limbach, Heidelberg [4]Institute Hygiene and Microbiology, Ruhr-University Bochum, Allemagne [5]Bruker Daltonique, Wissembourg, France

jeudi *Thursday*	**4**	décembre *December*	**11:00 12:30**	SALLE *Room*	**342 A**	SYMPOSIUM *Symposium*	**11s**

LÉGIONELLOSE : LEÇONS DE L'ENQUÊTE NATIONALE PROSPECTIVE
LEGIONELLOSIS: LESSONS FROM THE PROSPECTIVE NATIONAL SURVEY

Présidents/Chairpersons : C. CAMPESE, J. ETIENNE

48 **Legionella et légionellose en France en 2008**
11:00 D. Ché
Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

49 **Facteurs pronostiques de mortalité et suivi : résultats de l'enquête prospective nationale**
11:20 P. Vanhems[3], S. Pires-Cronenberger[3], C. Campèse[8], D. Che[8], A. Bissery[4], R. Ecochard[4], S. Jarraud[6], J. Etienne[6], C. Brun-Buisson[7], R. Poirier[5], P. Weinbreck[1], C. Chidiac[2], le Groupe d'Etude et les Centres Participants
[1]Service des Maladies Infectieuses, CHU de Limoges [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon ; Université Lyon 1; Faculté Laennec, Inserm U851 [3]Service d'Hygiène, Epidémiologie et Prévention, Hôpital Edouard Herriot ; UMR CNRS 5558, Université Lyon 1 [4]Service de Biostatistiques, Hospices Civils de Lyon [5]Service des Maladies Respiratoires, Centre Hospitalier du Pays d'Aix, Aix-en-Provence [6]Centre National de Référence des Légionelles, Bron [7]Service de Réanimation Médicale, Hôpital Henri Mondor, Créteil [8]Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint Maurice, France

50 **L'antibiothérapie des recommandations officielles face aux pratiques quotidiennes**
11:40 C. Chidiac[6], S. Pires-Cronenberger[1], C. Brun-Buisson[5], S. Jarraud[4], D. Che[7], C. Campese[7], A. Bissery[2], R. Ecochard[2], J. Etienne[3], P. Vanhems[1], et Groupe d'étude
[1]Service d'Hygiène, Epidémiologie et Prévention, Hôpital Edouard Herriot ; UMR CNRS 5558, Université Lyon 1 [2]Service de Biostatiques, Hospices Civils de Lyon [3]Centre de Biologie et de Pathologie Est [4]Centre National de Référence des Légionelles, Bron [5]Service de réanimation médicale, CHU Henri Mondor, Créteil [6]Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon [7]Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

51 **Impact de la légionellose sur la qualité de vie**
12:00 T. Marcadal[3], S. Pires-Cronenberger[3], A. Bissery[4], D. Ché[8], C. Campese[8], S. Jarraud[6], J. Etienne[6], C. Brun-Buisson[7], R. Poirier[5], P. Weinbreck[1], P. Vanhems[3], C. Chidiac[2]
[1]Service des Maladies Infectieuses, CHU de Limoges [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital de la Croix-Rousse - Université Claude Bernard Lyon 1 ; Faculté Laennec Inserm U851 [3]Service d'Hygiène, Epidémiologie et Prévention, Hôpital Edouard Herriot ; UMR CNRS 5558, Université Lyon 1 [4]Service de Biostatistiques, Hospices Civils de Lyon [5]Service de Maladies Respiratoires, Centre Hospitalier du Pays d'Aix, Aix-en-Provence [6]Centre National de Référence des Légionelles, Bron [7]Service de Réanimation Médicale, Hôpital Henri Mondor, Créteil [8]Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint Maurice, France

DES OUTILS DE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE À LA PRISE EN CHARGE
FROM VIRAL DIAGNOSIS TO MANAGEMENT

Présidents/Chairpersons : A. GAUTHERET-DEJEAN, R. COHEN

52 11:00 **Sensibilité performante de Determine HIV1/2 AG/AB Combo® pour les patients à différents stades de l'infection à VIH**

A. Gautheret-Dejean[1-3-4], S. Mesmin-Poho[1-3], T. Guidasci[2], M. Wirden[1-3], J.M. Huraux[1-3], T. Keren[5], H. Agut[1-3]
[1]UPRES EA 2387, UPMC Université Paris 6 [2]Inverness Medical France, Courbevoie [3]Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP [4]Laboratoire de Microbiologie, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France [5]Inverness Medical Innovations, Yavne, Israël

53 11:15 **La charge virale HHV-6 dans le sang total exprimée par copies de génome viral par million de cellules constitue un outil adapté chez les patients immunodéprimés**

A. Gautheret-Dejean[5-4-6], F. Mousnier[4], C. Henquell[1], D. Boutolleau[5-4], P. Bonnafous[5-4], N. Dhédin[3], C. Settegrana[2], H. Agut[5-4]
[1]Laboratoire de Virologie médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand [2]Service d'Hématologie biologique [3]Service d'Hématologie clinique [4]Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP [5]UPMC Univ Paris 06, UPRES EA 2387 [6]Laboratoire de Microbiologie, UPRES EA 4065, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France

54 11:30 **Diagnostic de l'infection par le virus de l'hépatite E : intérêt de la détermination de l'index d'avidité des IgG anti-VHE**

C. Bigaillon[2-1], S. Tessé[2], G. Lagathu[2], E. Farfour[2], E. Nicand[2]
[1]Ecole du Val de Grâce [2]Service de biologie médicale, Centre National de Référence du virus de l'hépatite E (http//www.cnr.vha-vhe.aphp.fr), HIA Val de Grâce, Paris, France

55 11:45 **Détection moléculaire des viroses respiratoires : application en routine sur 522 prélèvements d'enfants de moins de 2 ans**

G. Lazarian[1], V. Escuret[1-3], E. Javouhey[2], Y. Gillet[2], B. Lina[1-3], D. Floret[2], F. Morfin[1-3]
[1]Laboratoire de Virologie Est, Centre de Biologie et Pathologie Est [2]Services de Pédiatrie, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon [3]Virologie et Pathologie Humaine, CNRS FRE 3011, Université Lyon 1, Lyon, France

56 12:00 **Tests de diagnostic rapide de la grippe en pédiatrie ambulatoire : influence sur la prise en charge**

R. Cohen[2], C. Levy[4], F.M. Caron[1], F. De La Rocque[4], J. Langue[1], A. Mosnier[3]
[1]AFPA [2]CHI, Créteil [3]GROG, Paris [4]ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France

57 12:15 **Emergence de virus A(H1N1) résistants à l'oseltamivir durant l'hiver 2007/2008**

V. Escuret[1-2], M. Sabatier[2], V. Caro[3], L. Diancourt[3], I. Grog[4], O. Ferraris[1-2], M. Valette[1-2], B. Lina[1-2]
[1]Centre National de Référence des virus Influenza région Sud, Hospices Civils de Lyon [2]Virologie et Pathologie Humaine, CNRS FRE 3011, Université Lyon 1, Lyon [3]Pf8, Plate-forme Génotypage des Pathogènes et Santé Publique, Institut Pasteur [4]Coordination nationale des groupes régionaux d'observation de la grippe, Open-Rome, Paris, France

ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE *IN VITRO* DES ANTIBIOTIQUES
IN VITRO *ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ANTIBIOTICS*

Présidents/Chairpersons : C. MULLER-SERIEYS, M. ROUSSEL-DELVALLEZ

58 11:00 **Comparative *in vitro* activity of meropenem, imipenem and piperacillin/tazobactam against 1071 clinical isolates using 2 different methods: a French multicentre study**

M.L. Joly-Guillou[1], M. Kempf[1], J.D. Cavallo[7], M. Chomarat[5], L. Dubreuil[4], J. Mangein[2], C. Muller-Serieys[6], M. Roussel-Delvallez[3]
[1]Bactériologie, CHU d'Angers, Angers [2]Microbiologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux [3]Bactériologie, CHU de Lille [4]Microbiologie, Faculté de Pharmacie, Lille [5]Bactériologie, CHU de Lyon, Lyon [6]Bactériologie, CHU Bichat-Claude Bernard, Paris [7]Microbiologie, Hôpital de Saint-Mandé, Saint-Mandé, France

59 11:15 ***In vitro* time kill studies of imipenem (IPM), meropenem (MPM), ertapenem (ERT) and doripenem (DOR) against genotypically characterized extended-spectrum Béta-lactamase (ESBL) producing *E. coli* (EC) isolates**

V. Vernet-Garnier[2], F. Toulat[2], O. Bajolet[2], C. De Champs[2], A. Andremont[1], C. Muller-Serieys[1]
[1]Bichat-Claude Bernard AP-HP, Paris [2]CHU Robert Debré, Reims, France

60 11:30 **Sensibilité a la daptomycine des souches de staphylocoques responsables de bactériemies : étude prospective nationale du ColBVH**

O. Gallon[2], B. Lamy[5], F. Geffroy[4], F. Doucet-Populaire[1-3], J. Pollet[2], J.W. Decousser[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Antoine Béclère, Clamart [2]Pôle Biologie-Hygiène, CH de Dourdan, Dourdan [3]Faculté de Pharmacie Paris V - EA4065, Université Paris Descartes, Paris [4]Laboratoire de Bactériologie, CH Laënnec, Quimper [5]Laboratoire de Biologie, CH du Bassin de Thau, Sète, France

61 11:45 **Sensibilité de *E. coli* aux quinolones et aux céphalosporines de troisième génération (C3G) dans les infections urinaires communautaires : étude AFORCOPI-BIO 2008**

D. De Mouy[1], A. Mérens[3-2], J.D. Cavallo[3-2], J.L. Galinier[1], D. Gontier[1], J. Pfeffer[1], R. Fabre[1], N. Grillet[1], G. Payro[1], J.P. Arzouni[1], J.P. Lepargneur[1], M. Baynat[1]
[1]Réseau, AFORCOPI-BIO [2]Ecole du Val-de-Grâce, Paris [3]Biologie médicale, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

62 12:00 **Place du mécillinam dans le traitement des infections urinaires**

A. Mérens[2-1], S. Coyne[2], F. Janvier[2-1], P. Mc Gill[2], J.D. Cavallo[2-1]
[1]Ecole du Val-de-Grâce, Paris [2]Biologie médicale, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

63 12:15 **Mucoviscidose et associations d'antibiotiques (AA) *in vitro :* activités comparées de la colistine (Cs) et de la tobramycine (Tob)**

V. Murbach[2], L. Weiss[1], V. Rosner[1], C. Renault[2], M. Soller[2], F. Jehl[2]
[1]Centre de Ressources et de Compétences sur la Mucoviscidose [2]Laboratoide de Bactériologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

VIRUS, IMMUNODÉPRESSION ET CANCER
VIRUSES, IMMUNODEPRESSION AND CANCER

Présidents/Chairpersons : S. ALAIN, J.M. SEIGNEURIN

Mini-Conférence

64 **Risques infectieux et dons d'organes**
11:00 H. Peigue-Lafeuille
Laboratoire de Virologie Médicale, Centre de Biologie, CHU de Clermont-Ferrand, Laboratoire de Virologie, Université d'Auvergne, EA3843, Faculté de Médecine, France

Communications libres

65 **Etude multicentrique pour la surveillance de la résistance du cytomégalovirus aux antiviraux chez les transplantés**
11:30 S. Hantz[2-1], M.C. Mazeron[3], N. Schnepf[3], F. Garnier[1], V. Lachaise[1], F. Denis[2-1], S. Alain[2-1], pour le groupe Observatoire de la résistance du CMV aux antiviraux
[1]CNR CMV, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU [2]JE Avenir Inserm, Faculté de Médecine, Limoges [3]CNR CMV, Laboratoire de Virologie associé, CHU Lariboisière, AP-HP, Paris, France

66 **Retrospective study of vGCV prophylaxis for CMV infection in thoracic transplant patients**
11:45 S. Lefeuvre[2], P. Chevalier[1], R. Zekkour[2], M. Berge[2], C. Amrein[1], V. Boussaud[1], C. Charpentier[3], R. Guillemain[1], E. Billaud[2]
[1]Cardiovascular Surgery [2]Pharmacology [3]Virology, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

67 **Comparison of the clinical performance of carcinogenic HPV typing of the linear array and Papillocheck® HPV-screening sssay**
12:00 B. Blanc[2], D. Benmoura[2], A. Agostini[2], H. Khiri[3], G. Pénaranda[1], P. Halfon[3]
[1]Biostatistiques, CDL Pharma [2]Hôpital Ambroise Paré [3]Laboratoire Alphabio, Marseille, France

68 **HPV et cancers des voies aéro-digestives supérieures : premières données bordelaises**
12:15 H. Fleury, L. Roncin, A. Touzalin, C. Deminière, E. De Mones Del Pujol, J.C. Fricain, F. Siberchicot
Virologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

jeudi *Thursday*	4	décembre *December*	11:00 12:30	SALLE *Room*	352 B	ATELIERS FMC *Cme Workshop*	15FMC

DIAGNOSTIC ET SUIVI VIROLOGIQUES DES INFECTIONS À CYTOMÉGALOVIRUS (CMV) ET À VIRUS EPSTEIN-BARR (EBV)

VIROLOGIC DIAGNOSIS AND FOLLOW-UP OF CYTOMEGALOVIRUS (MCV) AND EPSTEIN-BARR VIRUSES (EBV)

Présidents/Chairpersons : P. MORAND, M.C. MAZERON

Objectifs :

1. Mesurer les apports des examens virologiques dans les infections à CMV et EBV, aiguës ou chroniques, survenant chez l'adulte et l'enfant
2. Par l'abord des éléments suivants :

- Appréciation du contexte clinique et indications des examens
- Discussion des approches virologiques : indirecte (sérologie), directe (isolement viral, antigénémie, détection qualitative et quantitative des acides nucléiques), choix des échantillons biologiques
- Interprétation des résultats virologiques
- Impact sur la décision thérapeutique
- Questions en suspens

Niveau requis des participants :
- Notions sur la physiopathologie des infections humaines à herpèsvirus
- Notions sur les méthodes moléculaires de diagnostic virologique
- Notions sur l'approche thérapeutique des infections graves à herpèsvirus

Auditoire :
- Virologistes/microbiologistes médicaux
- Infectiologues
- Hématologistes et médecins spécialisés en transplantation
- Pédiatres
- Industriels du diagnostic

jeudi *Thursday*	4	décembre *December*	11:00 12:30	SALLE *Room*	353	SESSION LIBRE *Oral Papers*	16o

INFECTIONS NOSOCOMIALES ET LIÉES AUX SOINS (2)

NOSOCOMIAL INFECTIONS AND CONNECTED TO THE CARE (2)

Président/Chairperson : G. BEAUCAIRE

69 11:00 **Antibioprophylaxie chirurgicale : analyse des pratiques non conformes**

B. Tequi, C. Paille, N. Surer, C. Dely, P. Lombrail, L. Moret
Laboratoire de santé publique, CHU Nantes, Nantes, France

70 11:15 **Audit clinique ciblé sur l'antibioprophylaxie en chirurgie orthopédique et traumatologique, une démarche d'amélioration continue**

G. Rondelot[3], J. Sellies[1], M. Llorens[1], M.B. Irrazi[2], C. Cuny[2], B. Gustin[3]
[1]Service d'Hygiène Hospitalière [2]Service d'Orthopédie-Traumatologie [3]Service de Pharmacie, CHR de Metz-Thionville, Metz, France

71 11:30 **Face à la gestion d'une épidémie d'entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) : l'expérience du centre hospitalier universitaire d'Amiens, du 1er juin au 31 août 2008**

C.C. Adjidé[6], L. Trouillet[6-4], A.C. Devos[6], M.H. Fave[4], M. Gosset[6], M. Grésanleux[6], C. Hésèque[6], M.P. Hirsch[4], O. Obin[6], F. Lamory[6], C. Rambur[6], B. Tur[6], D. Wolny[4], J.P. Cheval[6], M. Belmekki[4], M. Biendo[1], F. Eb[1], J.L. Schmit[5], J.M. Dubaele[3], M. Slama[2], O. Ganry[6-4]
[1]Laboratoire de bactériologie [2]Néphrologie et médecine interne [3]Pharmacie centrale, Hôpital Nord [4]Réseau sanitaire n°2 de Picardie, service d'hygiène hospitalière, d'épidémiologie et santé publique [5]Service de pathologie infectieuse et médecine du voyage [6]Unité d'hygiène et d'épidémiologie hospitalière, Service d'hygiène, d'épidémiologie et de santé publique, CHU, Amiens, France

72 11:45 **Réussite d'un programme de surveillance des Legionelles dans un établissement de santé multi-sites. Leçons de 6 ans d'expérience**

D. Lecointe[4-2], C. Theodora[4], E. Fagundez[3], J.P. Musset[3], R. Beauvais[4-2], P. Pierron[3], P. Brisse[3], D. Breton[4], C. Fevre[1], C. Malbrunot[2]
[1]Direction des Travaux et du Biomédical [2]Service de Microbiologie-Hygiène [3]Services Techniques [4]Unité Fonctionnelle d'Hygiène Hospitalière et de Lutte contre les Infections Nosocomiales, Centre Hospitalier Sud-Francilien, Corbeil-Essonnes, France

73 12:00 **Etude épidémiologique et microbiologique de l'importation de SARM en service de médecine**

A. Audry-Blanchard[1], N. Breton[1], A. Therby[2], J.C. Hilaire[1], C. Mandart[2], M.R. Le Bihan[1], A. Greder-Belan[2], P.Y. Allouch[1]
[1]Hygiène Hospitalière [2]Medecine Interne et Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier de Versailles, Versailles, France

17s	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	**HAVANE**	**14:00 15:30**	jeudi *Thursday* **4** décembre *December*

E. COLI DANS TOUS SES ÉTATS
E. COLI *IN A DREADFUL STATE*

Présidents/Chairpersons : G. LINA, T. MAY

74 14:00 **Caractérisation génétique de *E. coli* responsable d'infections extra-intestinales en pédiatrie**

S. Bonacorsi, P. Bidet, E. Bingen
Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Laboratoire associé au CNR de Escherichia coli, Equipe d'accueil EA3105, UFR Paris-Diderot, France

75 14:20 **Génotoxicité des souches de *E. coli* responsables d'infections extra-intestinales**

E. Oswald
Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse, INRA UMR1225, France

76 14:40 ***E. coli* adhérents et invasifs isolés de patients atteints de maladie de Crohn**

N. Barnich, A. Darfeuille-Michaud
Pathologenie Bactérienne Intestinale, USC INRA 2018, Université d'Auvergne, Centre Biomédical de Recherche et Valorisation, Clermont-Ferrand, France

77 15:00 **Impact de l'antibiothérapie vétérinaire sur la virulence et la résistance d'*E. coli***

C. Maurer, C. Lazizzera, P. Châtre, D. Meunier, J.Y. Madec
Unité de Bactériologie, AFSSA, Lyon, France

18o	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	**341**	**14:00 15:30**	jeudi *Thursday* **4** décembre *December*

DES INFECTIONS COMMUNAUTAIRES VIRALES AUX INFECTIONS NOSOCOMIALES : VIRUS SANS FRONTIÈRES
FROM VIRAL COMMUNITY ACQUIRED INFECTIONS TO NOSOCOMIAL INFECTIONS: VIRUSES WITHOUT BORDERS

Présidents/Chairpersons : A.M. ROQUE-AFONSO, F. FREYMUTH

Mini-Conférence

78 14:00 **La dengue aux Antilles**

G. Beaucaire
CHU de Pointe à Pitre, Université des Antilles et de la Guyane, France

79 **Etude EPIZOD : évaluation de l'incidence du zona et des douleurs post-zostériennes dans la population générale française métropolitaine âgée de 50 ans et plus**
14:30
S. Pinchinat[3], J.L. Gallais[4], G. Mick[5], F. Simon[2-1], C. Baptiste[6], L. Serradell[7], T. Derrough[7]
[1]CIBER Epidemiologia y salud publica [2]Instituto de Salud Carlos III, Centro Nacional de Epidemiologia, Madrid, Espagne [3]BIOSTATEM, Castries [4]Société Française de Médecine Générale, Issy-les-Moulineaux [5]Hôpital Neurologique, Centre d'Etude et Traitement de la Douleur [6]Département Affaires Médicales [7]Département d'Epidémiologie, Sanofi Pasteur MSD, Lyon, France

80 **Etude des virus entériques circulant au Caire entre 2006 et 2007**
14:45
A.H. Kamel[3-2], M.A. Ali[2], H.G. El Nady[1], A. de Rougemont[3], P. Pothier[3], G. Belliot[3]
[1]Child Health Department, Medical Division [2]Laboratory of Virology, Department of Water Pollution Research, National Research Center, Cairo, Egypte [3]Centre National de Référence des virus entériques, Laboratoire de Virologie, CHU de Dijon, Dijon, France

81 **Infection néo-natale fatale à adénovirus et kératoconjonctivites secondaires chez les soignants dans un service de réanimation**
15:00
C. Henquell[4], B. Boeuf[3], A. Mirand[4], P. Dechelotte[1], O. Traore[2], A. Labbe[3], H. Peigue-Lafeuille[4]
[1]Service d'Anatomo-Pathologie [2]Service d'Hygiène Hospitalière [3]Service de Réanimation Pédiatrique [4]Service de Virologie, CHRU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

82 **Cas groupés d'hépatite A nosocomiales**
15:15
L. Guet[1], A.M. Roque-Afonso[5], V. Merle[4], M. Dubuisson[1], D. Thillard[3], J.M. Germain[3], A. Carbonne[2]
[1]Equipe Sectorielle d'Hygiène, CHI Eure Seine, Evreux [2]CCLIN, Paris [3]Antenne régionale, CCLIN Paris Nord [4]Santé Publique, CHU, Rouen [5]CNR-Virologie, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

jeudi *Thursday*	**4**	décembre *December*	**14:00 15:30**	SALLE *Room*	**342 A**	SESSIONS EN PARTENARIAT *Joint Session*	**19SEP**

PROTHÈSES DE HANCHE INFECTÉES
INFECTED HIP PROSTHESIS
En partenariat avec le Groupe TIRESIAS

Présidents/Chairpersons : A. LORTAT-JACOB, E. BONNET

83 **Mode de contamination**
14:00
A. Lortat-Jacob
Service d'Orthopédie, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne-Billancourt, France

84 **Epidémiologie**
14:10
J.Y. Jenny
Centre de Chirurgie Orthopédique et de la Main, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Illkirch-Graffenstaden, France

85 **Démarche diagnostique clinique et para-clinique**
14:20
J. Gaudias
Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

86 **Diagnostic microbiologique**
14:30
N. Desplaces
Laboratoire de Biologie Médicale, Groupe Hospitalier Diaconesses Croix saint Simon, Paris, France

87 **Principes du traitement médical**
14:40
J.M. Besnier
CHU Bretonneau, Tours, France

88 **Stratégie thérapeutique**
14:50 T. Bauer
Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France

20SEP	SESSIONS EN PARTENARIAT *Joint Session*	SALLE *Room*	**342 B**	**14:00 15:30**	jeudi *Thursday* **4** décembre *December*

INFECTIONS NOSOCOMIALES VIRALES
NOSOCOMIAL VIRAL INFECTIONS
En partenariat avec la SFHH

Président/Chairperson : P. BERTHELOT

89 **Infections nosocomiales virales en pédiatrie**
14:00 D. Floret
Université Claude Bernard Lyon1 - Hôpital Femme-Mère-Enfant, Bron, France

90 **Infections nosocomiales virales transmises par le sang**
14:25 B. Pozzetto
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU et Université de Saint-Etienne (EA 3064), France

91 **Infections nosocomiales virales et immunodéprimés**
14:50 J.R. Zahar
Service de Microbiologie, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France

21o	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	**343**	**14:00 15:30**	jeudi *Thursday* **4** décembre *December*

ACTIVITÉ DES ANTIBIOTIQUES
ANTIBIOTICS ACTIVITY

Présidents/Chairpersons : F. JEHL, W. COUET

92 **Les analogues de nucléosides : de nouveaux antibactériens ?**
14:00 A. Doléans-Jordheim[1], E. Malandain[1], E. Bergeron[1], C. Dumontet[2], J. Freney[1], L.P. Jordheim[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Unité RTI2B, Faculté de Pharmacie, ISPB, Université Lyon 1 [2]Unité 590, Inserm, Lyon, France

93 **Intérêt du monitorage des concentrations sériques de la ceftazidime et des associations amoxicilline-acide clavulanique et**
14:15 **pipéracilline-tazobactam administrées en perfusion continue chez le patient de réanimation**
N. Blondiaux[1], A. Durocher[2], R. Favory[2], T. Onimus[2], S. Nseir[2], D. Mathieu[2], F. Saulnier[2], F. Wallet[1], R.J. Courcol[1], M. Roussel-Delvallez[1]
[1]Centre de Biologie-Pathologie - Pôle de Microbiologie [2]Service de Réanimation Médicale, CHRU, Lille, France

94 **Activité *in vitro* des fluoroquinolones (FQ) sur des souches hospitalières récentes de *P. aeruginosa (Pa), S. maltophilia (Sm)* et**
14:30 **entérobactéries. Conséquences pharmacodynamiques (PK/PD)**
M. Lauer, M. Kleinberg, V. Murbach, F. Jehl
Bactériologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

95 **Pharmacocinétique de la colistine chez le rat**
14:45 F. Lemaitre[2], I. Lamarche[2-3], P. Gobin[2-1], W. Couet[2-3-1]
[1]Laboratoire Toxicologie-Pharmacocinétique, CHU de Poitiers [2]Inserm ERI-23 [3]UFR Médecine-Pharmacie, Université de Poitiers, Poitiers, France

96 15:00 **Création d'un modèle pharmacocinétique de population d'amikacine à modèles multiples pour le suivi thérapeutique en gériatrie**

P.B. Bouniot[2-1], S.G. Goutelle[2-1], L.B. Bourguignon[2-1], D.C. Carli[2], D.M. Matanza[2], P.M. Maire[2-1]
[1]Pharmacocinétique, ADCAPT [2]Pharmacie Antoine Charial, Francheville, France

97 15:15 **Modelisation de l'activite PK-PD *in vitro* de la ciprofloxacine sur *Pseudomonas aeruginosa***

C. Grignon[4-5-3], N. Grégoire[4-5-3], E. Comets[1-2], W. Couet[4-5-3]
[1]Inserm U738 [2]UFR Médecine, Université Paris 7, Paris [3]Laboratoire de Toxicologie-Pharmacocinétique, CHU de Poitiers [4]Inserm ERI 23 [5]UFR Médecine-Pharmacie, Université de Poitiers, Poitiers, France

jeudi *Thursday*	**4**	décembre *December*	**14:00 15:30**	SALLE *Room*	**351**	SYMPOSIUM *Symposium*	**22s**

DE L'OUTIL À LA DÉCISION MÉDICALE
FROM TOOL TO MEDICAL DECISION

Présidents/Chairpersons : H. PEIGUE-LAFEUILLE, P. WEINBRECK

98 14:00 **Les outils de diagnostic de la maladie de Lyme en 2008 en France : que prescrire, comment l'interpréter ?**

B. Jaulhac, S. De Martino
Laboratoire de Bactériologie, Laboratoire associé au CNR des Borrelia, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France

99 14:15 **Confirmation de la coqueluche aujourd'hui : Evolution des outils du diagnostic**

M.L. Rosso
Centre National de Référence de la Coqueluche et autres Bordetelloses, Institut Pasteur, Paris, France

100 14:30 **Confirmation de la coqueluche aujourd'hui : Evolution des pratiques**

I. Bonmarin
Insititut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

101 14:45 **Les sérologies pour le diagnostic des viroses respiratoires ont-elles encore de l'intérêt ?**

B. Lina
Groupement hospitalier Est, Centre de biologie et pathologie, Institut de microbiologie, Bron, France

102 15:00 **Quelle place en 2008 pour la recherche des anticorps anti-*Herpes simplex* de type 1 et 2 dans le diagnostic des infections herpétiques ?**

H. Agut
Service de Virologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

jeudi *Thursday*	**4**	décembre *December*	**14:00 15:30**	SALLE *Room*	**352 A**	SYMPOSIUM *Symposium*	**23s**

FLORILÈGE 2008 DE LA LITTÉRATURE
2008 LITERATURE ANTHOLOGY

Présidents/Chairpersons : B. REGNIER, M. ROUSSEL-DELVALLEZ

103 14:00 **Pathologies émergentes**

T. Debord
Service des Maladies Infectieuses Tropicales, Hôpital des Armées Bégin, Saint-Mandé, France

104 **Infections des voies respiratoires et grippe**
14:15 C. Chidiac
Service Maladies Infectieuses, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France

105 **Infections à *Mycobacterium***
14:30 V. Jarlier
Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

106 **Endocardites infectieuses**
14:45 C. Leport, P. Longuet, X. Duval
CHU Bichat-Claude Bernard, Paris, France

107 **Dernières nouvelles sur les résistances**
15:00 M.H. Nicolas-Chanoine
Service de Microbiologie, Hôpital Beaujon, Clichy, France

24FMC	ATELIERS FMC *Cme Workshop*	SALLE *Room*	**352 B**	**14:00 15:30**	jeudi *Thursday*	**4**	décembre *December*

ANTIBIOTHÉRAPIE COMPLIQUÉE CHEZ L'ENFANT
COMPLICATED ANTIBIOTHERAPY IN CHILDREN

Animateurs/Moderators : R. COHEN, J. RAYMOND, E. GRIMPREL

Objectifs :
- diarrhées bactériennes en incluant les recommandations de l'ESPGHAN
- que faire en cas d'allergie aux b-lactamines
- infections cervico-faciales sévères

Niveau requis des participants :
Moyen

Auditoire :
Pédiatres, bactériologistes s'intéressant à la pédiatrie

25o	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	**353**	**14:00 15:30**	jeudi *Thursday*	**4**	décembre *December*

EPIDÉMIOLOGIE BACTÉRIENNE : SURVEILLANCE, TRANSMISSION
BACTERIAL EPIDEMIOLOGY : SURVEILLANCE, TRANSMISSION

Présidents/Chairpersons : J.P. LAVIGNE, J.C. LUCET

108 **Diversité génétique des souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline et contenant les gènes de la leucocidine**
14:00 **de Panton Valentine**
J.P. Rasigade, H. Meugnier, M. Bes, G. Lina, F. Vandenesch, J. Etienne, A. Tristan
Centre National de Référence des Staphylocoques, Inserm U851 et Université Lyon 1, Lyon, France

109 **Gestion d'une épidémie à entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) dans la région Lorraine : mise en place d'un guide**
14:15 **pratique de prise en charge**
S. Hénard[1], N. Jouzeau[1], V. Bussy-Malgrange[2], L. Simon[1], K. Saby[1], I. Girardot[1], C. Rabaud[1]
[1]CCLIN-Est, Nancy [2]ARLIN de Champagne-Ardenne (RESCLIN), Reims, France

110 14:30 **Prévalence des gènes de résistance aux *Bê*ta-lactamines et aux macrolides chez *Capnocytophaga* selon les espèces et l'origine des souches**

E. Ehrmann[1], T. Handal[4], C. Giraud-Morin[1], I. Madinier[2], M.B. Bonnaure-Mallet[3], T. Fosse[1]
[1]Laboratoire de bactériologie et épidémiologie moléculaire, CHU de Nice [2]UFR Odontologie, Nice [3]UPRES EA 1254, Rennes, France [4]Dental Faculty, Olso, Norvège

111 14:45 **Prévalence des souches porteuses de gènes *qnr* parmi les entérobactéries productrices de BLSE : enquête d'un réseau d'hôpitaux du Sud-Est francilien en 2007**

M.N. Adam[10], A. Akpabie[8], C. Benoit[5], C. Boval-Gallet[5], J. Breuil[15], E. Cambau[1], E. Chachaty[14], P. Cormier[3], Y. Costa[7], H. Fiette[9], S. Galah[6], E. Hernandez[4], C. Malbrunot[3], A. Mérens[11], L. Mihaila[13], C. Serizer[2], C.J. Soussy[1], H. Vrillon[12]
[1]Bactériologie-Virologie-Hygiène, GH Albert Chenevier-Henri Mondor, Créteil [2]Microbiologie, CH Etampes, Etampes [3]Microbiologie, Hôpital Sud-Francilien, Evry-Corbeil Essonnes [4]Microbiologie, CM Forcilles, Ferolles-Attilly [5]CH Fontainebleau, CMC Bligny, Fontainebleau, Briis-Sous-Forges [6]Microbiologie, GH Charles Foix-Jean Rostand, Ivry-Sur-Seine [7]Microbiologie, CH Lagny, Lagny [8]Microbiologie, Hôpital Emile Roux, Limeil-Brévannes [9]Hôpital Marc Jacquet, Melun [10]Hôpital d'Orsay, Orsay [11]Microbiologie, HIA Begin, Saint-Mandé [12]Hôpital national, Saint-Maurice [13]Microbiologie, Hôpital Paul Brousse [14]Microbiologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif [15]Microbiologie, CH Intercommunal, Villeneuve-St-Georges, France

112 15:00 **Evolution de la proportion des entérobactéries productrices de Bêta-lactamases à spectre étendu (EBLSE) et impact sur les précautions complémentaires d'hygiène**

A.M. Fontenoy[1], C. Leprince[1], S. Corvec[1-2], M.E. Juvin[1], J. Caillon[1-2], A.C. Guille Des Buttes[1], A. Reynaud[1-2], D. Lepelletier[1-2]
[1]Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes [2]Université de Nantes, Thérapeutiques Cliniques et Expérimentales des Infections, EA3826, UFR de Médecine, Nantes, France

113 15:15 **Caractérisation des mécanismes de résistance impliqués dans l'émergence de souches de *Pseudomonas aeruginosa* toto-résistantes**

L. Vettoretti[1-3], N. Floret[2], D. Hocquet[1-3], P. Plésiat[1-3], D. Talon[1-2], X. Bertrand[1-2]
[1]CNR associé Résistance chez Pseudomonas [2]Service d'hygiène hospitalière [3]Service de Bactériologie, CHU, Besançon, France

jeudi *Thursday*	**4**	décembre *December*	**16:00 17:30**	SALLE *Room*	**BORDEAUX**	SESSIONS EN PARTENARIAT *Joint Session*	**26SEP**

RÉSISTANCE BACTÉRIENNE EN FRANCE : 10 ANS DE SURVEILLANCE PAR LES RÉSEAUX DE L'ONERBA

BACTERIAL RESISTANCE IN FRANCE: 10 YEARS SURVEILLANCE OF ONERBA NETWORK

En partenariat avec l'ONERBA

Présidents/Chairpersons : B. SCHLEMMER, M.H. NICOLAS-CHANOINE

114 16:00 **Evolution de la résistance chez *Staphylococcus aureus***

J.W. Decousser
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béclère (APHP), Clamart, France

115 16:15 **Enquêtes ONERBA, SARM producteur de toxines PVL ou TSST**

J. Robert
Bactériologie-Hygiène - UPMC Paris 6 - Site Pitié-Salpêtrière, Paris, France

116 16:30 **Evolution de la résistance chez les entérobactéries**

A. Mérens, J.Y. Madec, pour le conseil scientifique de l'ONERBA
Laboratoire de Microbiologie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

117 16:45 **Evolution de la résistance chez les bacilles à Gram négatif non fermentants**

X. Bertrand
Bactériologie-Hygiène-Parasitologie, CHU de Besançon, Besançon, France

118 17:00 **Consommation des antibiotiques et résistance bactérienne : actions européennes**

B. Schlemmer

Service de Réanimation médicale, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

27s	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	**HAVANE**	**16:00 17:30**	jeudi *Thursday* **4** décembre *December*

QUE SIGNIFIE LE PORTAGE NASAL DE *S. AUREUS* ?
WHAT MEANS THE NASAL CARRIAGE OF S. AUREUS*?*

Présidents/Chairpersons : F. LUCHT, J.C. LUCET

119 16:00 **Le portage nasal à *S. aureus* : épidémiologie et caractéristiques microbiologiques**

A. Tristan

Centre National de Référence des Staphylocoques, Inserm U851, IFR128, Université Claude Bernard Lyon 1, Hospices Civils de Lyon, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Institut de Microbiologie, Laboratoire de Bactériologie, Bron, France

120 16:25 **Pour ou contre la décontamination nasale pour prévenir les infections à *S. aureus***

J.C. Lucet

UHLIN GH Bichat-Claude Bernard, Paris, France

121 16:50 **Faut-il dépister le portage nasal de *Staphylococcus aureus* avant d'implanter une prothèse orthopédique ?**

P. Berthelot[2-1], F. Grattard[1], C. Cazorla[2], B. Pozzetto[1], F. Lucht[2]

[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Unité d'hygiène inter-hospitalière, Service des Maladies Infectieuses, CHU de Saint-Etienne, France

28s	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	**341**	**16:00 17:30**	jeudi *Thursday* **4** décembre *December*

FLORE COMMENSALE INTESTINALE ET PATHOLOGIES
INTESTINAL COMMENSAL FLORA AND PATHOLOGY

Présidents/Chairpersons : M. LECUIT, P. DESREUMAUX

122 16:00 **Composition de la flore commensale et adaptation des bactéries commensales à l'environnement intestinal**

J. Doré

Centre INRA de Jouy-en-Josas, France

123 16:25 **La genèse de tissus lymphoïdes induite par les bactéries commensales régule l'homéostasie intestinale**

G. Eberl

Institut Pasteur, Laboratoire du Développement des Tissus Lymphoïdes ; CNRS, URA1961, Paris, France

124 16:50 **Bactéries commensales, bactéries pathogènes et pathologies intestinales**

P. Desreumaux

CHRU et Inserm, Lille, France

jeudi Thursday	4	décembre December	16:00 17:30	SALLE Room	342 A	SYMPOSIUM Symposium	29s

NOS AMIES LES BÊTES : LE RISQUE INFECTIEUX DE L'ANIMAL À L'HOMME
OUR PET FRIENDS: THE INFECTIOUS RISK FROM ANIMAL TO MAN

Présidents/Chairpersons : H. PEIGUE-LAFEUILLE, E. OSWALD

125 16:00 **Mon chien peut-il me rendre malade ?**
S. Le Poder
UMR Virologie 1161 INRA-AFSSA-ENVA, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

126 16:20 **Risque zoonotique de l'hépatite E : est-ce le lard ou le cochon ?**
N. Pavio, C. Renou, M. Eloit
UMR Virologie 1161 AFSSA LERPAZ, ENVA, INRA, Maisons-Alfort, France

127 16:40 **Emergence d'une zoonose issue de la faune sauvage ? Evolution de la tularémie en France**
A. Mailles[3], N. Madani[2], M. Maurin[1], B. Garin-Bastuji[2]
[1]Centre national de référence de la tularémie, Service de bactériologie, CHU Michalon, Grenoble [2]Laboratoire national de référence de la tularémie animale, Unité Zoonoses Bactériennes, AFSSA, Maisons-Alfort [3]Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

128 17:00 **La rage, les médias et la communication : entre indifférence, panique et cacophonie…**
Z. Lardon[2-4], L. Watier[2-4-6], A. Brunet[2-4], C. Bernède[2-4], M. Goudal[3], L. Dacheux[5], Y. Rotivel[3], D. Guillemot[2-3-6-1], H. Bourhy[5]
[1]Service de Médecine Aiguë, AP-HP, Hôpital Raymond Poincaré, Garches [2]Inserm U657 [3]Institut Pasteur, Centre antirabique, Centre national de référence pour la rage, Centre médical de l'Institut Pasteur [4]Institut Pasteur, PhEMI [5]Institut Pasteur, UPRE, Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte, Centre national de réference pour la rage, Paris [6]Faculté de Médecine Paris Ile-de-France Ouest, Université de Versailles, Saint-Quentin, France

jeudi Thursday	4	décembre December	16:00 17:30	SALLE Room	342 B	SESSION LIBRE Oral Papers	30o

ENDOCARDITE ET AUTRES INFECTIONS BACTÉRIENNES EXPÉRIMENTALES
ENDOCARDITIS AND OTHER EXPERIMENTAL BACTERIAL INFECTIONS

Présidents/Chairpersons : A. ANDREMONT, J.M. DECAZES

129 16:00 **Evaluation of the efficacy of intramuscular (IM) administration of ceftaroline (CPT) against a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain in a rabbit endocarditis model (REM)**
C. Jacqueline[2], J. Caillon[2], V. Le Mabecque[2], E. Batard[2], A.F. Miègeville[2], D. Biek[1], Y. Ge[2], G. Potel[2]
[1]Cerexa Inc, Alameda, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

130 16:15 **Assessment of the *in vivo* activity of ceftaroline (CPT) against vancomycin-susceptible and -resistant *Enterococcus faecalis* (EF) strains in a rabbit endocarditis model (REM) : Comparison with linezolid (LZO) and vancomycin (VAN)**
C. Jacqueline[2], G. Amador[2], E. Batard[2], V. Le Mabecque[2], D. Biek[1], Y. Ge[1], G. Potel[2], J. Caillon[2]
[1]Cerexa Inc, Alameda, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

131 16:30 **Is Vancomycin infusion really inefficient in severe bone infections? : *In vivo* contribution of a filling biomaterial loaded with vancomycin in an acute MRSA osteomyelitis model**
G. Amador[1], C. Jacqueline[1], H. Gautier[2], E. Batard[1], V. Le Mabecque[1], A.F. Miègeville[1], G. Potel[1], J.M. Bouler[2], P. Weiss[2], J. Caillon[1]
[1]EA 3826 [2]Inserm UMRS 791, Nantes, France

132 16:45 **Dissémination d'*Acinetobacter baumannii* (Ab) dans différents organes à partir d'un modèle expérimental de pneumopathie chez la souris**

M. Kempf, M. Eveillard, P. Legras, M.L. Joly-Guillou
UFR Médecine, Université d'Angers, Angers, France

133 17:00 **Ceftaroline (CPT) *versus* ceftriaxone (CRO) in a highly penicillin-resistant pneumococcal pneumonia (PRPP) model**

D. Croisier-Bertin[2], L. Piroth[2], P.E. Charles[2], D. Biek[1], Y. Ge[1], P. Chavanet[2]
[1]Cerexa, Alameda, Etats-Unis [2]CHU de Dijon, Infectious Diseases Department, Dijon, France

31o	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	343	16:00 17:30	jeudi *Thursday*	4	décembre *December*

BACTÉRIES INTRACELLULAIRES : QUOI DE NEUF ?
INTRACELLULAR BACTERIA: WHAT'S NEW?

Présidents/Chairpersons : E. SENNEVILLE, C. BEBEAR

134 16:00 **Antibiorésistance des *Listeria monocytogenes* d'origine non humaine en France de 1996 à 2006**

S.A. Granier[1], C. Moubareck[2], C. Colaneri[1], A. Lemire[2], S. Roussel[1], T. Dao[1], P. Courvalin[2], A. Brisabois[1]
[1]Unité CEB, AFSSA - Lerqap, Maisons-Alfort [2]CRAB, Institut Pasteur, Paris, France

135 16:15 **Increasing incidence of listeriosis in France and its relations with host factors and food control**

A. Leclercq[1], A. Le Monnier[1], M. Lecuit[1], V. Goulet[2]
[1]CNR/CCOMS Listeria, Institut Pasteur, Paris [2]Département des maladies infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

136 16:30 **Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* human strains isolated since 1926 in France**

A. Morvan[3], C. Moubareck[2], A. Leclercq[3], M. Hervé-Bazin[3], S. Brémont[2], M. Lecuit[3-4-1], P. Courvalin[2], A. Le Monnier[3]
[1]Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes [2]CNR Résistance aux Antibiotiques [3]CNR/CCOMS Listeria [4]Groupe Microorganismes et Barrières de l'Hôte, Inserm avenir U604, Institut Pasteur, Paris, France

137 16:45 **Surveillance de la résistance de *Mycobacterium tuberculsis* à la rifampicine et à l'isoniazide par la méthode Genotype MTBDR**

E. Mehiri-Zghal, A. Ghariani, Z. Allegui, H. Draoui, L. Essalah, N. El Marzouk, H. Gharbi, N.L. Slim-Saidi
Laboratoire de microbiologie, Hôpital A. Mami de pneumologie Ariana, Tunis, Tunisie

138 17:00 **Infection pulmonaire à *Mycobacterium abscessus* : place des nouvelles molécules**

A. Prevotat[3], S. Bonne[3], F. Fortin[1], N. Veziris[2], E. Senneville[3], Y. Yazdanpanah[3], L. Legout[3]
[1]Service de Pneumologie, Polyclinique de la Louvière, Lille [2]Centre National de Référence des Mycobactéries, Centre Hospitalier Universitaire de la Pitié-Salpêtrière, Paris [3]Service Régional Universitaire de Maladies Infectieuses et du Voyageur, Centre Hospitalier Dron, Tourcoing, France

139 17:15 **Tobramycin-clarithromycin combination on *Mycobacterium tubercolosis* clinical isolates**

K. Stoffels[3], H. Traore[1], R. Vanhoof[2], M. Fauville-Dufaux[3]
[1]Laboratoires SMB [2]National Reference Laboratory of Resistance to Aminoglycosides [3]National Reference Laboratory of Tuberculosis and Mycobacteria, Scientific Institute of Public Health, Department of Institut Pasteur, Brussels, Belgique

jeudi *Thursday*	4	décembre *December*	16:00 17:30	SALLE *Room*	352 A	SESSIONS EN PARTENARIAT *Joint Session*	32SEP

VACCINS EN PANNE
VACCINES OUT OF ORDER
En partenariat avec le GPIP

Présidents/Chairpersons : J. BEYTOUT, N. GUERIN

140 16:00 **Vaccination contre l'hépatite A**
J. Beytout, M. Monghal, H. Laurichesse
Service des maladies infectieuses, CHU de Clermont-Ferrand, France

141 16:20 **Varicelle**
D. Floret
Université Claude Bernard Lyon1 - Hôpital Femme-Mère-Enfant, Bron, France

142 16:40 **Vaccin antirotavirus : en panne ou retardé ?**
D. Gendrel
Service de Pédiatrie, Hôpital St Vincent de Paul, Paris, France

143 17:00 **Méningocoque**
R. Cohen
ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France

jeudi *Thursday*	4	décembre *December*	16:00 17:30	SALLE *Room*	352 B	ATELIERS FMC *Cme Workshop*	33FMC

BON USAGE DES GLYCOPEPTIDES
RULES FOR GLYCOPEPTIDES PRESCRIPTION

Animateurs/Moderators : C. CHIDIAC, G. BEAUCAIRE

Objectifs :
Connaître l'épidémiologie de la résistance des cocci à Gram positif, d'origine communautaire et nosocomiale en France.
Savoir poser l'indication d'un traitement par glycopeptide, et savoir arrêter/ne pas prescrire un glycopeptide.
Connaître les différentes modalités d'administration des glycopeptides, et savoir assurer la surveillance clinique et biologique (dosages).

Auditoire :
Cette session est destinée aux médecins, biologistes, pharmaciens concernés par l'optimisation de la prescription des glycopeptides et du suivi des patients en particulier, les anesthésistes, cardiologues, infectiologues, internistes, neurologues, pédiatres, pharmacologues, réanimateurs, rhumatologues…

jeudi *Thursday*	4	décembre *December*	16:00 17:30	SALLE *Room*	353	SESSION LIBRE *Oral Papers*	34O

INFECTION À VIH ET DE L'IMMUNODÉPRIMÉ
HIV INFECTION IN IMMUNODEPRESSED PATIENTS

Présidents/Chairpersons : P. PUGLIESE, X. DUVAL

Mini-Conférence

144 16:00 **Déficit immunitaire commun variable (DICV)**
E. Oksenhendler
Service d'Immunologie Clinique, Hôpital Saint Louis, Paris, France

Communications libres

145 16:30 **Chez les patients traits par anti-TNF, le risque de tuberculose est plus élevé sous infliximab ou adalimumab que sous etanercept TNF. Résultats définitifs à 3 ans de l'observatoire RATIO**

D. Salmon[10], F. Tubach[9], P. Ravaud[9], P. Dellamonica[6], C. Michelet[11], D. Vittecoq[12], C. Leport[8], R.M. Chichemanian[5], S. Bretagne[3], D. Emilie[2], M. Lemann[7], X. Mariette[4], O. Lortholary[1], for the RATIO Group

[1]Université Paris V, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Service de maladies infectieuses et tropicales, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur, Université Paris [2]Laboratoire de microbiologie et d'immunologie, Université Paris-Sud 11, AP-HP, Hôpital Béclère, Inserm U764, Clamart [3]Service de parasitologie, Université Paris-Est, AP-HP, Hôpital Henri Mondor, Créteil [4]Service de rhumatologie, Université Paris-Sud 11, AP-HP, Hôpital de Bicêtre, Inserm U802, Le Kremlin-Bicêtre [5]Centre régional de pharmacovigilance [6]Université de Nice, Hôpital de L'Archet, Nice [7]Service de gastro-entérologie, Université Paris 7 Denis Diderot, AP-HP, Hôpital Saint Louis [8]Maladies Infectieuses et Tropicales, Université Paris 7 Denis Diderot, UFR de médecine ; AP-HP, Hôpital Bichat [9]Département d'Epidémiologie, Biostatistique et Recherche Clinique, Université Paris 7 Denis Diderot, UFR de médecine ; Inserm U738 ; Assistance Publique –Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Bichat [10]Service de médecine interne, Université Paris V, Paris Descartes, AP-HP, Hôpital Cochin, Paris [11]Université de Rennes, Hôpital Ponchaillou, Rennes [12]Université Paris-Sud 11, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

146 16:45 **Etude multicentrique des infections à *Mycobacterium genavense* en France : 1996-2007**

P. Charles[2], O. Lortholary[2], F. Doustdar[3], A. Dechartres[1], J.P. Viard[2], M. Lecuit[2], M.C. Gutierrez[3]

[1]Inserm U738, Hôpital Bichat [2]Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital Necker-Enfants Malades [3]Département Infection et Epidémiologie, Institut Pasteur, Paris, France

147 17:00 **Caractéristiques et devenir des patients vivant avec le VIH initialement perdus de vue puis reprenant contact avec le système de soins**

B. Ndiaye[4], K. Ould-Kaci[4], K. Cochonat[3], C. Fontier[6], P. Bataille[1], F. Bonnevie[2], H. Guerroumi[5], F. Ajana[5], P. Chaud[4], Y. Yazdanpanah[5]

[1]Hémodialyse, Boulogne [2]Hématologie, Dunkerque [3]Pneumologie, CH, Lens [4]Cire, Drass, Lille [5]Maladies Infectieuses, Tourcoing [6]Dermatologie, CH, Valenciennes, France

148 17:15 **Dosages pharmacologiques des antirétroviraux (ARV) : pratique clinique et impact immuno-virologique**

S. Pillet[3], P. Pugliese[3], R. Garraffo[1], I. Perbost[3], J. Cottalorda[2], P. Dellamonica[3], P.M. Roger[3]

[1]Pharmacologie [2]Virologie [3]Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

SALLE *Room*	**HAVANE**	**17:30 18:00**	jeudi *Thursday* **4** décembre *December*

PRESENTATION DE L'ACAI
par Monsieur Laurent Gutmann, Président

SESSIONS ORALES
ORAL SESSIONS

Vendredi 5 décembre
Friday December 5

RICAI

Vendredi 5 décembre
Friday December 5

Heure	Réf	Session	Salle
09:00-10:30	35S	PNEUMOPATHIE AIGUË COMMUNAUTAIRE (PAC) : QUE RETENIR À L'AUBE DE 2009 ?	HAVANE
09:00-10:30	36S	CANDIDOSES SYSTÉMIQUES EN RÉANIMATION	341
09:00-10:30	37S	COMMENT TRAITER AU MIEUX LES BACTÉRIES SAUVAGES ?	342 A
09:00-10:30	38S	DÉTECTER ET GÉRER LA RÉSISTANCE AUX ANTIVIRAUX	342 B
09:00-10:30	39O	BÊTA-LACTAMASES : NOUVELLES BÊTA-LACTAMASES, STRUCTURES	343
09:00-10:30	40S	LES TESTS DE DÉPISTAGE, DIAGNOSTICS RAPIDES	351
09:00-10:30	41O	HÉPATITES ET VIRUS	352 A
09:00-10:30	42FMC	OBSERVATIONS CLINICO-MICROBIOLOGIQUES, VENEZ TESTER VOS CONNAISSANCES	352 B
09:00-10:30	43O	EVALUATION ET MAÎTRISE DE L'ANTIBIOTHÉRAPIE	353
11:00-12:30	44S	TECHNIQUES ÉMERGENTES EN MICROBIOLOGIE CLINIQUE : IMPACT SUR LES STRATÉGIES DES SOINS	HAVANE
11:00-12:30	45SEP	FAIRE ACCEPTER UN PHRC : QUELQUES BONNES RECETTES	341
11:00-12:30	46S	NOUVEAUX ASPECTS DE L'ACCÈS SIMPLE À PLASMODIUM FALCIPARUM	342 A
11:00-12:30	47S	MICROBICIDES ET PRÉVENTION DE LA TRANSMISSION SEXUELLE DU VIH	342 B
11:00-12:30	48O	INTÉGRONS ET MODULATEUR DE LA RÉSISTANCE	343
11:00-12:30	49SEP	QUOI DE NEUF CHEZ *ESCHERICHIA COLI* ?	351
11:00-12:30	50O	INFECTIONS SÉVÈRES CHEZ L'ENFANT	352 A
11:00-12:30	51FMC	L'ANTIBIOGRAMME POUR "LES NULS"	352 B
11:00-12:30	52SEP	LES INFECTIONS EN EHPAD : ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉVITABILITÉ, PRATIQUES ACTUELLES DE PRÉVENTION ET RECOMMANDATIONS	353
13:00-14:30	53SS	PLACE DES CARBAPÉNÈMES DANS LA STRATÉGIE THÉRAPEUTIQUE	351
14:30-15:30	54C	POUR OU CONTRE LES ANTIBIOTIQUES AU COURS DES SINUSITES AIGUËS ?	HAVANE
15:30-15:45	55D	REMISE DE PRIX ACAI	HAVANE
14:30-16:00	56SEP	INFECTIONS MATERNO-FŒTALES : QUOI DE NEUF ?	341
14:30-16:00	57S	ACINETOBACTER ET ANTIBIOTIQUES	342 A
14:30-16:00	58S	FAUT-IL REDÉFINIR LES NOTIONS DE SUCCÈS ET D'ÉCHEC THÉRAPEUTIQUE DANS LE VIH ?	342 B
14:30-16:00	59O	PORTAGES COMMUNAUTAIRES	343
14:30-16:00	60O	IMPACT DU POLYMORPHISME DES FACTEURS DE VIRULENCE	352 A
14:30-16:00	61FMC	L'ANTIBIOGRAMME POUR " CEUX QUI CROIENT SAVOIR "	352 B

vendredi *Friday*	5	décembre *December*	09:00 10:30	SALLE *Room*	HAVANE	SYMPOSIUM *Symposium*	35s

PNEUMOPATHIE AIGUË COMMUNAUTAIRE (PAC) : QUE RETENIR À L'AUBE DE 2009 ?

ACUTE COMMUNITY-ACQUIRED PNEUMONIA (ACAP): WHAT TO REMEMBER AT THE 2009 DAWN?

Avec le soutien de BAYER HEALTHCARE

Président/Chairperson : J.P. STAHL

149 **Épidémiologie dans la PAC**
09:00 J. Gaillat
Service des Maladies Infectieuses, Hôpital d'Annecy, France

150 **Réponse thérapeutique dans la PAC : monothérapie ou bithérapie ?**
09:20 J.P. Sollet
Service de Réanimation Médicale, CH Argenteuil, Argenteuil, France

151 **Bénéfice/risque des antibiotiques dans la PAC : actualités**
09:40 J.P. Stahl
Infectiologie, CHU de Grenoble, France

10:10 **Discussion**

10:25 **Conclusion**

vendredi *Friday*	5	décembre *December*	09:00 10:30	SALLE *Room*	341	SYMPOSIUM *Symposium*	36s

CANDIDOSES SYSTÉMIQUES EN RÉANIMATION

SYSTEMIC CANDIDOSIS IN INTENSIVE CARE

Présidents/Chairpersons : O. LORTHOLARY, M. WOLFF

152 **Etude multicentrique française des candidoses invasives en réanimation "Amarcand"**
09:00 O. Leroy[11], J.P. Gangneux[10], P. Montravers[5], J.P. Mira[7], F. Gouin[2], J.P. Sollet[1], J. Carlet[6], J. Reynes[3], M. Rosenheim[8], B. Régnier[4], O. Lortholary[9], pour le groupe d'étude AmarCand
[1]Service de Réanimation Polyvalente, Centre Hospitalier Victor Dupuy, Argenteuil [2]Département d'Anesthésie-Réanimation, Hôpital La Timone, AP-HM, Marseille [3]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier [4]Clinique de Réanimation Médicale et des Maladies Infectieuses [5]Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Centre Hospitalier Universitaire Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Université Paris VII [6]Service de Réanimation Médico-Chirurgicale, Groupe Hospitalier Paris Saint Joseph [7]Service de Réanimation Médicale, Hôpital Cochin, AP-HP, Université Paris V, Inserm U567 [8]Service de Santé Publique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Université Paris V [9]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur; Centre National de Référence de Mycologie et Antifongiques, CNRS URA3012, Institut Pasteur, Paris [10]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes ; Inserm U522, Université Rennes 1, Rennes [11]Service de Réanimation Médicale et des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Gustave Dron, Tourcoing, France

153 **Programme de surveillance des fongémies à levures en Ile-de-France (ODL) : données 2002 à 2007**
09:15 O. Lortholary
Service de Maladies Infectieuses, Hôpital Necker-Enfants Malades et Institut Pasteur, Paris, France

154 **Quand et comment débuter un traitement anti-Candida en réanimation ?**
09:30 M. Wolff
Service de Réanimation, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

37s	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	342 A	09:00 10:30	vendredi *Friday*	5	décembre *December*

COMMENT TRAITER AU MIEUX LES BACTÉRIES SAUVAGES ?
WHAT IS THE BETTER TREATMENT FOR WILD BACTERIA?

Présidents/Chairpersons : F. CARON, P. CHAVANET

155 **Infections à SAMS : quelle place aux pénicillines M IV et PO ?**
09:00 B. Fantin
EA3964, Université Paris Diderot, Paris ; Hôpîtal Beaujon, Service de Médecine Interne, Clichy, France

156 **Infections respiratoires à pneumocoque sauvage**
09:15 P. Chavanet
Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital du Bocage, Dijon, France

157 **Infections urinaires à *Escherichia coli* sauvage**
09:30 F. Caron
Service des Maladies infectueuses et tropicales, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France

158 **Spirochétoses : pénicilline G ou ceftriaxone (ou doxycycline) ?**
09:45 E. Caumes
Service de Maladies infectieuses et tropicales, Université Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Paris, France

38s	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	342 B	09:00 10:30	vendredi *Friday*	5	décembre *December*

DÉTECTER ET GÉRER LA RÉSISTANCE AUX ANTIVIRAUX
DETECTION AND MANAGEMENT OF ANTIVIRAL RESISTANCE

Présidents/Chairpersons : H. AGUT, M. DUPON

159 **Résistance du Cytomegalovirus aux antiviraux**
09:00 S. Alain, S. Hantz, S. Cotin
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Limoges, Centre National de Référence des Cytomégalovirus, EA3175, Faculté de Médecine de Limoges, France

160 **Résistance du virus grippal aux inhibiteurs de neuraminidase**
09:20 M. Rameix-Welti, S. Munier, V. Enouf, F. Cuvelier, P. Jeannin, S. Le Gal, N. Naffakh, S. van der Werf
Institut Pasteur, Unité de Génétique moléculaire des Virus à ARN, CNRS URA 3015, Paris, France

161 **Résistance du VIH aux antirétroviraux : détection des populations minoritaires**
09:40 A.G. Marcelin
Service de Virologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

162 **Résistance du VIH aux antirétroviraux : impact des populations minoritaires dans la décision thérapeutique**
10:00 J. Ghosn
Service des Maladies Infectieuses, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

vendredi Friday	5	décembre December	09:00 10:30	SALLE Room	343	SESSION LIBRE Oral Papers	39o

BÊTA-LACTAMASES : NOUVELLES BÊTA-LACTAMASES, STRUCTURES
BETA-LACTAMASES: NEW BETA-LACTAMASES, STRUCTURES

Présidents/Chairpersons : R. BONNET, W. SOUGAKOFF

163 09:00 **Etude de la première et de la dernière étape du processus catalytique des bêta-lactamases à spectre étendu de type CTX-M**
D. Leyssene, J. Delmas, D. Dubois, F. Robin, N. Pradel, R. Bonnet
Bactériologie, UFR médecine, Clermont-Ferrand, France

164 09:15 **Caractérisation moléculaire et biochimique de SHV-56, une nouvelle bêta-lactamase résistante aux inhibiteurs, isolée d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* d'origine clinique**
V. Dubois[2-1], L. Poirel[3], C. Arpin[2], L. Coulange[2], L.A.A. Minarini[3], M.C. Bezian[1], P. Nordmann[3], C. Quentin[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Saint-André [2]UMR 5234, CNRS, Université de Bordeaux 2, Bordeaux [3]Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Inserm U914, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

165 09:30 **RTG-4 : première carbénicillinase à spectre étendu isolée chez *Acinetobacter baumannii***
A. Potron[2], L. Poirel[2], J. Croizé[1], C. Recule[1], V. Chanteperdrix[1], P. Nordmann[2]
[1]Bactériologie, CHU de Grenoble, Grenoble [2]Bactériologie, CHU de Bicêtre, Inserm U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

166 09:45 **Molecular characterization of AmpC-producing *Escherichia coli* clinical isolates recovered at two Belgian hospitals**
P. Bogaerts[2], H. Rodriguez-Villalobos[1], C. Bauraing[2], C. Laurent[2], A. Deplano[1], C. Berhin[2], M. Struelens[1], Y. Glupczynski[2]
[1]Service de Bactériologie, Université libre de Bruxelles, Hôpital Erasme, Bruxelles [2]Service de Bactériologie, Université catholique de Louvain, Cliniques universitaires UCL Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

167 10:00 **Role of the Ser-287-Asn replacement in the hydrolysis spectrum extension of AmpC bêta-lactamases in *Escherichia coli***
H. Mammeri[2], M. Galleni[1], P. Nordmann[3]
[1]Center for Protein Engineering, Université de Liège, Liège, Belgique [2]Service de Bactériologie, CHU d'Amiens, Amiens [3]Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Inserm U914, CHU Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France

168 10:15 **Epidémiologie et caractérisation moléculaire d'isolats cliniques de *Escherichia coli* résistants aux céphalosporines de 3e génération sans production de BLSE**
S. Corvec[1-2], D. Lepelletier[1-2], C. Leprince[1], S. Dauvergne[2], A. Reynaud[1-2], N. Caroff[1-2]
[1]Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière, CHU de Nantes [2]Université de Nantes, EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Nantes, France

vendredi Friday	5	décembre December	09:00 10:30	SALLE Room	351	SYMPOSIUM Symposium	40s

LES TESTS DE DÉPISTAGE, DIAGNOSTICS RAPIDES
SCREENING TESTS, FAST DIAGNOSIS

Présidents/Chairpersons : J.D. CAVALLO, Y. YAZDANPANAH

169 09:00 **Tests de dépistage rapide du VIH : vont-ils changer la politique de dépistage ?**
A.C. Crémieux
Service des Maladies Infectieuses, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France

170 09:25 **Tests de diagnostic rapide du paludisme : faut-il étendre leur utilisation dans les pays du Nord ?**
M. Thellier, M. Danis
Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

171 09:50 **Tests de dépistage rapide de portage de SARM : faut-il les implanter ?**

F. Laurent

Laboratoire de Bactériologie, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence des Staphylocoques, Inserm U851, Université Lyon 1, Lyon, France

41o	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	352 A	09:00 10:30	vendredi *Friday*	5	décembre *December*

HÉPATITES ET VIRUS
HEPATITIS AND VIRUSES

Présidents/Chairpersons : V. THIBAULT, M.C. MAZERON

172 09:00 **Distribution des génotypes et résistance à la lamivudine du virus de l'hépatite B (VHB) chez des patients co-infectés par le VIH-1, originaires d'Europe et d'Afrique subsaharienne**

N. Schnepf[1], C. Lafuente-Lafuente[2], I. Jarrin[2], G. Simoneau[2], J.D. Magnier[2], A. Trylesinski[3], P. Sellier[2], M.J. Sanson Le Pors[1], M.C. Mazeron[1]

[1]Bactériologie-Viologie [2]Médecine Interne, Hôpital Lariboisière [3]Laboratoire Gilead, Paris, France

173 09:15 **Identification en Algérie d'un nouveau sous-type au sein du génotype D du virus de l'hépatite B**

V. Thibault[2], S. Sayon[2], F. Khelifa[1]

[1]Virologie, Institut Pasteur d'Algérie, annexe de Constantine, Constantine, Algérie [2]Virologie Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

174 09:30 **Impact de l'hépatite Delta sur la fibrose hépatique mesurée par élastométrie impulsionnelle**

F. Lunel Fabiani[1], W. Mansour[1], X. Causse[3], I. Fouchard Hubert[2], A. Ducancelle[1], F. Dubois[4], S.N. Si Ahmed[3]

[1]Laboratoire de Virologie [2]Service d'Hépato-Gastroentérologie, Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, Angers [3]Service d'Hépato-Gastroentérologie, Centre Hospitalier Régional d'Orléans, Orléans [4]Laboratoire de Virologie, Centre Hospitalo-Universitaire Bretonneau, Tours, France

175 09:45 **Tropisme leucocytaire du virus de l'hépatite C étudié par analyse bio-informatique des séquences des gènes des glycoprotéines d'enveloppe virales E1 et E2**

R. Moenne-Loccoz[3], S. Fafi-Kremer[3-4], J. Lupberger[3], B. Ellero[1], M.L. Woehl-Jaegle[1], P. Wolf[1], M. Doffoel[2], J.P. Gut[3-4], T. Baumert[3-2], F. Stoll-Keller[3-4], E. Schvoerer[3-4]

[1]CHRU, Centre de Transplantation [2]CHRU, Hépato-gastro-entérologie [3]Inserm U748 [4]CHRU, Laboratoire de Virologie, Strasbourg, France

176 10:00 **Impact of antiviral treatment on noninvasive predictors of liver fibrosis in HIV-HCV co-infected patients: the Fibrovic 2 Study-ANRS HC02**

P. Halfon[4], F. Carrat[7], P. Bédossa[1], J. Lambert[7], G. Pénaranda[3], C. Perronne[2], S. Pol[5], P. Cacoub[6]

[1]Anatomopathologie, Hôpital Beaujon, Clichy [2]Maladies Infectieuses, Hôpital Raymond Poincaré, Garches [3]Biostatistiques, CDL Pharma [4]Laboratoire Alphabio, Marseille [5]Hépatologie, Hôpital Cochin [6]Médecine Interne, Hôpital Pitié-Salpêtrière [7]UMR 7087, Université Paris 6, Paris, France

177 10:15 **Une augmentation des posologies de ribavirine entraîne une augmentation de concentrations sériques chez les coinfectés VIH/VHC**

F. Almasi[4], G. Spiridon[4], V. Jullien[1], J.M. Meritet[2], P.H. Pol[3], P.H. Sogni[3], D. Salmon[4]

[1]Laboratoire de Pharmacologie [2]Laboratoire de Virologie [3]Service d'Hépatologie [4]Service de Médecine interne, Hôpital Cochin, Paris, France

vendredi Friday	5	décembre December	09:00 10:30	SALLE Room	352 B	ATELIERS FMC Cme Workshop	42FMC

OBSERVATIONS CLINICO-MICROBIOLOGIQUES, VENEZ TESTER VOS CONNAISSANCES
CLINICAL AND MICROBIOLOGICAL OBSERVATIONS: COME TO TEST YOUR KNOWLEDGE

Animateurs/Moderators : J.R. ZAHAR, E. CAMBAU, K. FAURE, L. ANDREOLETTI

Objectifs :
Cette FMC comportera deux observations posant des problèmes de diagnostic clinique et microbiologique

Niveau requis des participants :
Tous niveaux: tester et améliorer ses connaissances en maladies infectieuses et en microbiologie

Auditoire :
Cliniciens, microbiologistes

vendredi Friday	5	décembre December	09:00 10:30	SALLE Room	353	SESSION LIBRE Oral Papers	43o

EVALUATION ET MAÎTRISE DE L'ANTIBIOTHÉRAPIE
EVALUATION AND CONTROL OF ANTIBIOTHERAPY

Présidents/Chairpersons : L. DUBREUIL, S. ALFANDARI

178 09:00 **Impact d'une équipe mobile d'antibiothérapie (EMA) sur la prise en charge des bactériémies**
S. Diamantis[4-2], C. Rioux[2], G. Defrance[2-1], L.L. Pham[2-1], E. Papy[3], A. Andremont[1], E. Bouvet[2], P. Yéni[2], J.C. Lucet[4]
[1]Laboratoire de microbiologie [2]Service de maladies infectieuses et tropicales [3]Service de pharmacie [4]Unité d'hygiène, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

179 09:15 **Que deviennent les antibiothérapies instaurées avant l'hospitalisation ou aux urgences ? : à propos de l'analyse d'une cohorte de 747 patients hospitalisés en médecine interne**
S. Robaday[1-2], M. Etienne[1], H. Levesque[2], F. Caron[1]
[1]Infectiologie [2]Médecine Interne, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

180 09:30 **Pertinence de la prescription des antibiotiques en soins de suite et réadaptation**
A. Akpabie[6-5], S. Al Rifai[4], T. Cepisul[2], A. Droulers[2], S. Etienne[1], R.J. Eyoka[2], K. Giraud[4], S. Lakroun[3], S. Lebesgue[3], B. Moussa[2], H. Naga[3], M. Ouwehand[2], M. Oudjhani[7], D. Schacre[1], N. Slimane[2], V. Veauclin[4], J. Verdavainne[1], C. Jeronimo[5]
[1]Gérontologie 1 [2]Gérontologie 2 [3]Gérontologie 3 [4]Gérontologie 4 [5]Hygiène hospitalière [6]Microbiologie [7]Pharmacie, Hôpital Emile Roux AP-HP, Limeil-Brévannes, France

181 09:45 **Evaluation de l'antibiothérapie des pneumopathies communautaires dans un CHU**
H. Gil[1], F. Grenier[1], J. Leroy[2], N. Meaux Ruault[1], C. Hafsaoui[1], N. Magy Bertrand[1]
[1]Médecine Interne, CHU Jean Minjoz [2]Maladies Infectieuses, CHU Saint Jacques, Besançon, France

182 10:00 **Maîtrise de la consommation des antibiotiques dans un hôpital de gériatrie : un bilan sur 7 ans**
C. Bonnal[7-2], B. Baune[3], S. Saad[5], R. Cotteret[4], N. Tuyindi[3], L. Armand-Lefèvre[1], Z. Boudiaf[6], Y. Wolmark[4], O. Drunat[5], J.C. Lucet[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie [2]UHLIN, Hôpital Bichat-Claude Bernard [3]Pharmacie [4]Service de Gériatrie [5]Service de Psychogériatrie [6]Service de Radiologie [7]Unité d'Hygiène, Hôpital Bretonneau, Paris, France

44s	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	HAVANE	11:00 12:30	vendredi *Friday*	5	décembre *December*

TECHNIQUES ÉMERGENTES EN MICROBIOLOGIE CLINIQUE : IMPACT SUR LES STRATÉGIES DES SOINS
EMERGING TECHNIQUES IN CLINICAL MICROBIOLOGY : IMPACT ON CARE STRATEGY

Présidents/Chairpersons : A. BONNIN, X. NASSIF

183 **Méthodes de diagnostic moléculaire (séquençage, puces, PCR multiplexe)**
11:00 J.M. Rolain
URMITE CNRS-IRD UMR 6236, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de la Méditerranée, Marseille, France

184 **Le diagnostic sérologique**
11:15 F. Gouriet
Faculté de Médecine, Marseille, France

185 **Spectrométrie de masse appliquée à l'identification en mycologie**
11:30 D. Mazier
Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

186 **Spectrométrie de masse appliquée à l'identification en bactériologie**
11:45 G. Prévost[2], W. Moussaoui[2], P. Riegel[2], A. Birgy[2], A. Gonzalez[3], F. Delalande[4], S. Sanglier[4], J.M. Scheftel[2], M. Kostzreva[1], Y. Piémont[2]
[1]Bruker Daltonics, Leipzig, Allemagne [2]Laboratoire de Bactériologie [3]Laboratoire de Médecine Légale, CHRU – Université Louis Pasteur [4]UMR-7178, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France

187 **Conclusion : conséquences sur les stratégies de prise en charge des patients et la structuration des plateaux techniques**
12:00 P. Brouqui
Unité des rickettsies, CNRS UPRESA 6020, Faculté de Médecine, Marseille, France

45SEP	SESSIONS EN PARTENARIAT *Joint Session*	SALLE *Room*	341	11:00 12:30	vendredi *Friday*	5	décembre *December*

FAIRE ACCEPTER UN PHRC : QUELQUES BONNES RECETTES
MAKE ACCEPT A HPCR: SOME GOOD RECIPES
En partenariat avec l'INVS

Présidents/Chairpersons : J.C. DESENCLOS, J. TIMSIT

188 **Les schémas d'études : points de repères pour la pratique**
11:00 J.C. Desenclos
Département des Maladies Infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

189 **Appariement : pourquoi et comment ?**
11:25 F. Carrat
Inserm UMR-S707, Paris, France

190 **Quel groupe témoin fallait-il pour étudier les facteurs de risque d'infections à *C. difficile* 027 ?**
11:50 Y. Yazdanpanah
Service Universitaire des Maladies infectieuses et du voyageur, Centre hospitalier de Tourcoing, Tourcoing, France

vendredi Friday	5	décembre December	11:00 12:30	SALLE Room	342 A	SYMPOSIUM Symposium	46s

NOUVEAUX ASPECTS DE L'ACCÈS SIMPLE À *PLASMODIUM FALCIPARUM*
NEW ASPECTS OF THE SIMPLE ACCESS TO PLASMODIUM FALCIPARUM

Président/Chairperson : F. BRICAIRE

191 **Epidémiologie actuelle du paludisme**
11:00 F. Bricaire[1], F. Legros[2]
[1]Service des Maladies Infectieuses Parasitaires et Tropicales, Hôpital Pitié-Salpêtrière [2]UPMC-Cordeliers, CNR Paludisme, Paris, France

192 **Prise en charge actuelle du traitement de l'accès palustre simple**
11:20 M. Danis[2], E. Caumes[1], M. Thellier[2], T. Debord[3]
[1]Service de Maladies Infectieuses et Tropicales [2]Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris [3]Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint-Mandé, France

193 **Prévention actuelle du paludisme**
11:40 G. Brousse
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

194 **Médicaments antipaludiques en développement**
12:00 M. Hommel
Insititut Pasteur, Paris, France

vendredi Friday	5	décembre December	11:00 12:30	SALLE Room	342 B	SYMPOSIUM Symposium	47s

MICROBICIDES ET PRÉVENTION DE LA TRANSMISSION SEXUELLE DU VIH
MICROBICIDES AND PREVENTION OF HIV SEXUAL TRANSMISSION

Présidents/Chairpersons : F. LUCHT, B. POZZETTO

195 **Physiopathology of the sexual transmission of HIV**
11:00 Y. Ganor[4-3], J.P. Wolf[1], A. Schmitt[4-3], J.M. Massé[4-3], M.C. Vacher-Lavenu[5], N. Thiounn[6], J. Tomasini[2], M. Bomsel[4-3]
[1]Biologie de la reproduction, GH Cochin-St Vincent de Paul [2]Clinique Geoffroy St Hillaire [3]Inserm U567 [4]Institut Cochin, Paris Descartes, CNRS (UMR 8104) [5]Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, GH Cochin-St Vincent de Paul [6]Urologie, Hôpital Necker, Paris, France

196 **Stratégies de prévention de la transmission sexuelle du VIH**
11:15 M. Leruez-Ville
Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

197 **Modèles animaux et cellulaires d'étude de l'efficacité et de la toxicité des microbicides**
11:30 T. Bourlet
Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes (GIMAP, EA3064), CHU de Saint-Etienne, France

198 **Microbicides: state of the art 2008**
11:45 G. Vanham
Head of Virology Unit, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgique

INTÉGRONS ET MODULATEUR DE LA RÉSISTANCE
INTEGRONS AND MODULATION OF RESISTANCE

Présidents/Chairpersons : P. PLÉSIAT, V. DUBOIS

199 11:00 **Un nouvel élément génétique, IMU, source de mobilité de gènes de résistance aux antibiotiques**
L. Poirel[2], A. Carrer[2], J. Pitout[1], P. Nordmann[2]
[1]Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Calgary, Calgary, Canada [2]Inserm U914, Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicetre, France

200 11:15 **Modulation de l'expression d'une Bêta-lactamase à spectre étendu sous traitement antibiotique**
D. Hocquet[2-1], M. Thouverez[2-4], F. Legrand[3], X. Bertrand[2-4], P. Plésiat[2-1]
[1]Bactériologie [2]CNR Résistance aux antibiotiques, Laboratoire associé P. aeruginosa [3]Hématologie [4]Hygiène hospitalière, CHU, Besançon, France

201 11:30 **Contributions des sites *attC* à l'expression du second gène cassette dans les intégrons de classe 1**
H. Jacquier[3], D. Mazel[2], C. Zaoui[3-1], M.J. Sanson Le Pors[3], B. Berçot[3]
[1]Chronic Pseudomonas Infection Research Group, Helmholtz Center for Infection Research, Inhoffenstrasse 7, D-38124, Braunschweig, Allemagne [2]Institut Pasteur, Unité Plasticité du Génome Bactérien, CNRS URA2171, Département Génomes et Génétique [3]Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris VII, Paris, France

202 11:45 **Structures génétiques associées aux gènes des carbapénèmases de type KPC**
G. Cuzon, T. Naas, P. Nordmann
Hôpital de Bicêtre, Faculté de Médecine Paris-Sud, Inserm U914: Emerging Resistance to Antibiotics, Le Kremlin-Bicêtre, France

203 12:00 ***Pseudomonas aeruginosa* produisant la métallo-Bêta-lactamase IMP-13 en France**
D. Tandé[3], G. Cuzon[4], T. Naas[4], R. Baron[2], C. Berthou[2], B. Lejeune[1], P. Nordmann[4]
[1]Département d'Hygiène [2]Département d'Oncologie-Hématologie [3]Laboratoire de Bactériologie, CHU de Brest, Brest [4]Hôpital de Bicêtre, Faculté de Médecine Paris-Sud, Inserm U914: Emerging Resistance to Antibiotics, Le Kremlin-Bicêtre, France

204 12:15 **Le pire n'est pas à venir, il est bien présent : association spectaculaire de bactéries multirésistantes chez un même patient**
F. Laurent[2], L. Poirel[1], T. Pierre[2], A. Boibieux[3], O. Raulin[2], H. Salord[2], C. Roure-Sobas[2], P. Nordmann[1], S. Tigaud[2]
[1]Inserm U914 Emerging resistance to antibiotics, Laboratoire de Microbiologie, Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine et Université Paris-Sud, le Kremlin-Bicêtre, [2]Centre de Biologie Nord - Laboratoire de Bactériologie, Service des Maladies Infectieuses, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix Rousse [3]Service des maladies infectieuses - Laboratoire de Bactériologie, Service des Maladies infectieuses, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France

vendredi Friday	5	décembre December	11:00 12:30	SALLE Room	351	SESSIONS EN PARTENARIAT Joint Session	49SEP

QUOI DE NEUF CHEZ *ESCHERICHIA COLI* ?
WHAT'S NEW ABOUT ESCHERICHIA COLI*?*
En partenariat avec le ColBVH

Présidents/Chairpersons : B. PANGON, C. CATTOEN

205 **Résultats du contrôle de qualité COLBVH 2008**
11:00 P. Pina
CH de Dourdan, France

206 ***Escherichia coli* uropathogène chez l'enfant : le génotypage bactérien est-il prédictif de la susceptibilité de l'hôte ?**
11:20 P. Bidet, S. Bonacorsi, V. Houdouin, P. Mariani-Kurkdjian, E. Bingen
Service de Bactériologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

207 **Méningite néonatale à *Escherichia coli* : épidémiologie et relation entre virulence et mortalité**
11:40 S. Bonacorsi, P. Bidet, E. Bingen
Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Laboratoire associé au CNR de Escherichia coli, Equipe d'accueil EA3105, UFR Paris-Doderot, Paris, France

208 **Résistances émergentes aux bêta-lactamines chez *Escherichia coli***
12:00 L. Poirel, P. Nordmann
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital de Bicêtre, Unité Inserm U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

vendredi Friday	5	décembre December	11:00 12:30	SALLE Room	352 A	SESSION LIBRE Oral Papers	50o

INFECTIONS SÉVÈRES CHEZ L'ENFANT
SEVERE CHILDREN INFECTIONS

Présidents/Chairpersons : B. QUINET, Y. GILLET

209 **Paludisme grave chez l'enfant en France de 1996 à 2005**
11:00 P. Mornand[6], F. Legros[1], C. Verret[3], P. Minodier[5], A. Faye[2], P. Imbert[4]
[1]Centre National de Référence du Paludisme [2]Pédiatrie Générale, Hôpital Robert Debré, Paris [3]Departement d'Epidémiologie et de Santé Publique (Région Nord) [4]Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint-Mandé, France [5]Pédiatrie, Hôpital Sainte Justine, Montréal, Québec [6]Pédiatrie, Hôpital Principal, Dakar, Sénégal

210 **Bactériologie des péritonites appendiculaires de l'enfant : conséquences sur l'antibiothérapie probabiliste**
11:15 C. Guillet-Caruba[1], A. Cheikhelard[2], M. Guillet[1], N. Khen-Dunlop[2], S. Sarnacki[2], Y. Révillon[2], P. Berche[1], A. Ferroni[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service de Chirurgie Viscérale Pédiatrique, CHU Necker-Enfants Malades-Université Paris Descartes, Paris, France

211 **Evaluation prospective de l'antibiothérapie en réanimation pédiatrique au CHU Necker-Enfants Malades**
11:30 M. Wolff[1-4], J.R. Zahar[6-3], A. Le Monnier[6], A. Ferroni[6], P. Durand[2], O. Lortholary[5-3], F. Lesage[4]
[1]Réanimation, Hôpital des Enfants Reine Fabiola, Bruxelles, Belgique [2]Réanimation pédiatrique, CHU Kremlin Bicêtre [3]Equipe Mobile d'Infectiologie [4]Réanimation pédiatrique [5]Service de Maladies infectieuses et tropicales [6]Microbiologie-Hygiène Hospitalière, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France

212 **Interêt du dosage des antibiotiques dans les infections graves de l'enfant drépanocytaire**
11:45 M. Benkerou[1], P. Mariani Kurkdjian[2], M.D. Kitzis[3], A. Carol[2], C. Doit[2], C. Vanceslas[1], E. Bingen[2]
[1]Centre de la Drépanocytose [2]Microbiologie, Hôpital Robert Debré [3]Microbiologie, Hôpital Saint Joseph, Paris, France

213 **Méningites à pneumocoque en France en 2007 : impact du vaccin antipneumococcique conjugué heptvalent (PCV7)**
12:00 C. Levy[2-3], E. Bingen[2], A. Lécuyer[2-3], Y. Aujard[2], R. Cohen[2-3], E. Varon[1], Groupe des Pédiatres et Microbiologistes de l'Observatoire[2]
[1]CNRP APHP-HEGP [2]GPIP, Paris [3]ACTIV, Saint-Maur, France

214 **Diagnostic rétrospectif de l'infection congénitale à CMV dans le sang séché sur carte de Guthrie : l'expérience en France**
12:15 C. Vauloup-Fellous[1-1], S. Couderc[9], J.F. Magny[8], S. Parat[3], S. Marlin[7], V. Couloigner[4], N. Loundon[6], M. François[5], F. Denoyelle[6], L. Grangeot-Keros[1], M. Leruez-Ville[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Antoine Bèclère [2]Laboratoire de Virologie [3]Maternité [4]Service d'ORL Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades [5]Service d'ORL, Hôpital Robert Debré [6]Service d'ORL [7]Service de génétique, Hôpital Trousseau [8]Pédiatrie, Institut de Puèriculture, Paris [9]Maternité, Hôpital de Poissy, Poissy, France

51FMC	ATELIERS FMC *Cme Workshop*	SALLE *Room*	**352 B**	**11:00 12:30**	vendredi *Friday* **5** décembre *December*

L'ANTIBIOGRAMME POUR "LES NULS"
THE "IDIOT" ANTIBIOGRAM

Animateurs/Moderators : L. DUBREUIL, C.J. SOUSSY

Objectifs :
Cette session s'adresse à tous ceux qui veulent consolider leurs connaissances à partir de cas simples rencontrés quotidiennement au laboratoire de bactériologie médicale

Niveau requis des participants :
Formation de base en bactériologie médicale

Auditoire :
Internes, jeunes assistants, jeunes techniciens de laboratoire, toute autre personne souhaitant connaître les bases de la lecture interprétative de l'antibiogramme

52SEP	SESSIONS EN PARTENARIAT *Joint Session*	SALLE *Room*	**353**	**11:00 12:30**	vendredi *Friday* **5** décembre *December*

LES INFECTIONS EN EHPAD : ÉPIDÉMIOLOGIE, ÉVITABILITÉ, PRATIQUES ACTUELLES DE PRÉVENTION ET RECOMMANDATIONS
EHPAD INFECTIONS: EPIDEMIOLOGY, ACTUAL PREVENTION PRACTICES AND RECOMMENDATIONS
En partenariat avec l'ORIG

Président/Chairperson : F. PIETTE

215 **Enquête nationale de prévalence des infections dans les établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes**
11:00 K. Chami
Observatoire du Risque Infectieux en Gériatrie, Hôpital Charles Foix, AP-HP, Ivry-sur-Seine, France

216 **Evitabilité des infections en EHPAD : revue de la littérature**
11:20 G. Gavazzi
Clinique Universitaire de Gériatrie, Pôle pluridisciplinaire de Médecine, CHU de Grenoble, et Université Joseph Fourrier, France

217 **Recommandations pour la prévention des infections en EHPAD : résultats du consensus formalisé d'experts**
11:40 J. Hajjar[2], et les membres du comité de pilotage[1]
[1]Observatoire du Risque Infectieux en Gériatrie, Hôpital Charles Foix, Ivry-sur-Seine [2]Service d'hygiène et d'épidémiologie, Centre hospitalier général, Valence, France

218 **Recommandations pour la prévention des infections en EHPAD : analyse critique**
12:00 G. Gavazzi
Clinique Universitaire de Gériatrie, Pôle pluridisciplinaire de Médecine, CHU de Grenoble, et Université Joseph Fourrier, France

vendredi *Friday*	**5**	décembre *December*	**13:00 14:30**	SALLE *Room*	**351**	SYMPOSIUM SATELLITE *Satellite Symposium*	**53ss**

PLACE DES CARBAPÉNÈMES DANS LA STRATÉGIE THÉRAPEUTIQUE
CARBAPENEMS AND THEARPEUTIC STRATEGY
Organisé par JANSSEN CILAG

Présidents/Chairpersons : J.P. STAHL, B. GUERY

219 **Activité des carbapénèmes sur les bactéries responsables d'infections en réanimation**
13:00 P. Plésiat
Laboratoire de Bactériologie, Faculté de Médecine, Hôpital de Besançon, France

220 **Carbapénèmes et infections intra-abdominales**
13:30 P. Montravers
Département d'Anesthésie et Réanimation chirurgicale, CHU Bichat-Claude Bernard, Paris, France

221 **Traitement des pneumonies nosocomiales**
14:00 J. Chastre
Service de Réanimation Médicale, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

vendredi *Friday*	**5**	décembre *December*	**14:30 15:30**	SALLE *Room*	**HAVANE**	CONTROVERSE *Controversy*	**54c**

POUR OU CONTRE LES ANTIBIOTIQUES AU COURS DES SINUSITES AIGUËS ?
FOR OR AGAINST ANTIBIOTICS DURING ACUTE SINUSITIS

222 **Pour**
14:30 J.M. Klossek
Service ORL et chirurgie cervicofaciale, CHU de Poitiers, France

223 **Contre**
15:00 M. Garre
Service de médecine interne et maladies infectieuses, CHU de la Cavale Blanche, Brest, France

55D	REMISE DE PRIX *Awards Reception*	SALLE *Room*	HAVANE	15:30 15:45	vendredi *Friday*	5	décembre *December*

REMISE DE PRIX ACAI
ACAI AWARDS RECEPTION

56SEP	SESSIONS EN PARTENARIAT *Joint Session*	SALLE *Room*	341	14:30 16:00	vendredi *Friday*	5	décembre *December*

INFECTIONS MATERNO-FŒTALES : QUOI DE NEUF ?
MATERNOFETAL INFECTIONS: WHAT'S NEW?
En partenariat avec le GPIP

Présidents/Chairpersons : J. RAYMOND, Y. AUJARD

224 **Epidémiologie des méningites néonatales à *E. coli* K1 : émergence d'un clone français**
14:30 E. Bingen, S. Bonacorsi, P. Bidet
Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Laboratoire associé au CNR de Escherichia coli, Equipe d'accueil EA3105, UFR Paris-Diderot, France

225 **Epidémiologie des infections néonatales à streptocoques du groupe B : le clone ST-17 est-il inféodé au nouveau-né ?**
14:55 C. Poyart
Groupe Hospitalier Cochin, Faculté de Médecine René Descartes, Université Paris 5, Paris, France

226 **Listeria : actualités**
15:20 M. Lecuit
Institut Pasteur, Paris, France

57S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	342 A	14:30 16:00	vendredi *Friday*	5	décembre *December*

ACINETOBACTER ET ANTIBIOTIQUES
ACINETOBACTER AND ANTIBIOTICS

Présidents/Chairpersons : P. COURVALIN, M.L. JOLY GUILLOU

227 **Identification of a Resistance island in *Acinetobacter baumannii***
14:30 P.E. Fournier
Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée, Unité des Rickettsies, CNRS-IRD UMR6236, Marseille, France

228 **La protéomique d'*Acinetobacter***
14:45 T. Jouenne
FRE 3101 CNRS, Université de Rouen, Mont-Saint-Aignan, France

229 ***Acinetobacter baumannii* et bêta-lactamases**
15:00 T. Naas, P. Nordmann
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital de Bicêtre et Unité Inserm U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

230 **Résistance par efflux chez *Acinetobacter baumannii***
15:15 T. Lambert
EA 4043, Faculté de Pharmacie, Paris XI et Institut Pasteur, Paris, France

231 **Epidémiologie moléculaire et diversité clonale**
15:30 S. Brisse
Institut Pasteur, Plate-forme de Génotypage des Pathogènes et santé publique (PF8), Paris, France

vendredi *Friday*	**5**	décembre *December*	**14:30 16:00**	SALLE *Room*	**342 B**	SYMPOSIUM *Symposium*	**58s**

FAUT-IL REDÉFINIR LES NOTIONS DE SUCCÈS ET D'ÉCHEC THÉRAPEUTIQUE DANS LE VIH ?
IS IT NECESSARY TO REDEFINE THE NOTIONS OF HIV THERAPY SUCCESS AND FAILURE ?
Avec le soutien de MSD Chibret

Présidents/Chairpersons : Y. YAZDANPANAH, D. DESCAMPS

232 **La cinétique de la charge virale après le début d'un traitement antirétroviral : l'apport des nouvelles molécules**
14:30 Y. Yazdanpanah
Service Universitaire des Maladies infectieuses et du voyageur, Centre hospitalier de Tourcoing, Tourcoing, France

233 **La cinétique de la charge virale après le début d'un traitement antirétroviral : une baisse plus rapide de la charge virale a-t-elle vraiment un intérêt ?**
14:50 C. Delaugerre
Laboratoire de virologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France

234 **Les situations d'échec "modéré" (charge virale entre 50 et 500 copies/ml) ? : quel est leur impact ?**
15:10 V. Calvez
Département de virologie et maladies infectieuses, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

235 **Les situations d'échec "modéré" (charge virale entre 50 et 500 copies/ml) ? : Que faut-il faire en pratique ?**
15:30 B. Hoen
Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Saint Jacques, Besançon, France

vendredi *Friday*	**5**	décembre *December*	**14:30 16:00**	SALLE *Room*	**343**	SESSION LIBRE *Oral Papers*	**59o**

PORTAGES COMMUNAUTAIRES
COMMUNITY-ACQUIRED INFECTIONS CARRIAGES

Présidents/Chairpersons : A. ANDREMONT, H. DABERNAT

236 **À propos des SARM de type communautaire (SARM-TC) isolés en Bretagne en 2008**
14:30 B. Vetter[7-8], D. Tandé[7], P.Y. Donnio[8], J. Vaucel[5], P. Gautier[8], P. Le Guen[9], D. Jan[2], M.J. Dufour[1], P. Pouedras[6], J.F. Ygout[3], P. Plessis[4], et le Bactériocercle Breton (BCB)
[1]CH Lannion [2]CH Laval [3]CH Lorient [4]CH Morlaix [5]CH St Brieuc [6]CH Vannes [7]CHU Brest [8]CHU Rennes [9]HIA Brest, France

237 **Diversité génétique du portage nasal de *Staphylococcus aureus* dans une population amérindienne vivant isolée en Sud-Guyane**
14:45 R. Ruimy[3-1], L. Armand-Lefèvre[3-1], H. Meugnier[2-1], M. Bes[2-1], M. Bertine[3], B.E. Lixandru[3], F. Barbier[3], C. Angebault[3], F. Djossou[4-1], F. Vandenesch[2-1], A. Andremont[3-1]
[1]Ecologie de la résistance aux antibiotiques de Escherichia coli et Staphylococcus aureus dans les flores commensales de l'homme et des animaux en milieu naturel, Consortium du projet ERAES [2]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Centre National de Référence des Staphylocoques, Inserm U851 et Hospices Civils, Lyon [3]Laboratoire de Microbiologie, EA3964, Université Denis Diderot, Paris 7 et Hôpital Bichat-Claude Bernard, APHP, Paris, France [4]Centre de Santé, Centre Hospitalier Andrée Rosemon, Cayenne, Guyana

238 **Prévalence du portage de SARM par les porcs à l'abattoir**
15:00 E. Jouy[3], A. Le Roux[3], V. Tocqueville[3], S.A. Granier[2], M.L. De Buyser[2], A. Brisabois[2], P. Sanders[1], I. Kempf[3], M. Kobisch[3], C. Chauvin[3]
[1]AFSSA - Lermvd, Fougères [2]Unité CEB, AFSSA - Lerqap, Maisons-Alfort [3]Unités MB et EBEP, AFSSA - Lerapp, Ploufragan, France

239 **Epidémiologie des souches de portage nasopharyngé de *Haemophilus influenzae* chez des enfants fréquentant les crèches**
15:15 **collectives du département des Alpes Maritimes de 1999 à 2008 (résultats préliminaires)**
H. Carsenti-Dellamonica[3], C. Delmas[1], B. Dunais[2], C.H. Pradier[2], P. Touboul[2], P. Bruno[2], M. Sabah[3], P. Dellamonica[3], H. Dabernat[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Purpan [2]Département de Santé Publique [3]Infectiologie, Université de Nice, Nice, France

240 **Etude du portage de *Neisseria meningitidis* dans la zone de Dieppe affectée par une hyperendémie d'infections invasives au**
15:30 **clone B:14:P1.7,16**
V. Delbos, L. Lemée, J.P.P. Leroy, G. Berthelot, J.M. Alonso, I. Parent Du Chatelet, M. Revillion, V. Grassi, M.K. Taha, F. Caron
CHU de Rouen, CHG de Dieppe, Institut Pasteur, Institut de veille sanitaire, Rouen, France

241 **Facteurs de risque de portage de bactéries résistantes aux fluoroquinolones dans les flores commensales**
15:45 V. de Lastours[1-2], F. Chau[2], F. Tubach[3], B. Pasquet[3], B. Fantin[1-2]
[1]Service de Médecine Interne, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Beaujon, Clichy [2]EA3964, Faculté de Médecine, Université Paris Diderot [3]Unité de recherche clinique Paris Nord, Hôpital Bichat, Paris, France

60o	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	**352 A**	**14:30 16:00**	vendredi *Friday* **5** décembre *December*

IMPACT DU POLYMORPHISME DES FACTEURS DE VIRULENCE
IMPACT OF VIRULENCE FACTORS POLYMORPHISM

Président/Chairperson : A. TRISTAN

242 **Staphylocoques infectants – staphylocoques colonisants : nouvelles données issues de souches isolées du pied diabétique**
14:30 A. Sotto[5], G. Lina[1], J.L. Richard[4], C. Combescure[2], J. Etienne[1], J.P. Lavigne[5-3]
[1]Inserm U851, CNR Staphylocoque, Lyon [2]Département de l'informatique médicale [3]Laboratoire de Bactériologie [4]Maladies Métaboliques et Endocriniennes, CHU Carémeau [5]Espri 26, Inserm, Nîmes, France

243 **Implications biologiques du polymorphisme de la leucocidine de Panton Valentine de *Staphylococcus aureus***
14:45 T. Besseyre Des Horts[2], O. Dumitrescu[2-1], C. Badiou[2], Y. Benito[2-1], F. Vandenesch[2-1], J. Etienne[2-1], G. Lina[2-1]
[1]Centre National de Référence des staphylocoques, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon [2]Inserm U851, Equipe "Pathogénie des Staphylocoques", Université de Lyon, Lyon, France

244 **Microarray analysis identifies extensive adaptive changes in the transcriptome of group B *Streptococcus* in response to**
15:00 **incubation with human blood**
L. Mereghetti[2-1], I. Sitkiewicz[1], N.M. Green[1], J.M. Musser[1]
[1]Center for Molecular and Translational Human Infectious Diseases Research, The Methodist Hospital Research Institute, Houston, Texas, Etats-Unis [2]EA3854, "Bactéries et risque materno-foetal", Université François-Rabelais et Centre Hospitalier Universitaire, Tours, France

245 **Etude du polymorphisme du gène *cdtR* régulant l'expression de la toxine binaire de *Clostridium difficile***
15:15 C. Eckert[2], S. Idris[2], D. Decré[2], B. Burghoffer[2], J. Audo[2], F. Barbut[2-1]
[1]UHLIN, Hôpital Saint Antoine, AP-HP [2]UPRES EA2392, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

246 **Lymphome gastrique de type MALT, expression gastrique de la famille NOX (NADPH-oxydases) et infection à *Helicobacter***
15:30 ***pylori***
E. Bessede[1], N. Salles[1], P. Lehours[1], F. Mégraud[1], C. Copie-Bergman[2], K. Leroy[2], J.C. Delchier[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Inserm U857, Bordeaux [2]Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

247 15:45 **Phénotype d'adhésion identique sur cellules endothéliales cérébrales humaines de souches *d'Escherichia coli* K1 responsables de méningites néonatales ou de bactériémies sans méningites**

C. Bernard[1-3], E. Mairey[1-3], G. Dumenil[1-3], P.O. Couraud[4], S. Bonacorsi[2], X. Nassif[1-3]

[1]Inserm U570 [2]EA3105, Service de Microbiologie, Université Paris 7 [3]Faculté de Médecine [4]Institut Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France

vendredi *Friday*	**5**	décembre *December*	**14:30 16:00**	SALLE *Room*	**352 B**	ATELIERS FMC *Cme Workshop*	**61FMC**

L'ANTIBIOGRAMME POUR " CEUX QUI CROIENT SAVOIR "

ANTIBIOGRAM FOR "THOSE WHO BELIEVE TO KNOW"

Animateurs/Moderators : L. DUBREUIL, C.J. SOUSSY

Objectifs :
Cette session s'adresse à tous ceux qui veulent approfondir leurs connaissances à partir de cas d'interprétation délicate régulièrement rencontrés au laboratoire de bactériologie médicale.

Niveau requis des participants :
Formation approfondie en bactériologie médicale

Auditoire :
Assistants, PH et techniciens de laboratoire expérimentés, toute autre personne ayant déjà une expérience de la lecture interprétative de l'antibiogramme

SESSIONS D'AFFICHES
POSTER SESSIONS

Jeudi 4 décembre
Thursday December 4

RICAI

Jeudi 4 décembre
Thursday December 4

Heure	Réf	Session	Salle
09:00-17:30	62A	RÉSISTANCE, IMPERMÉABILITÉ	HALL BORDEAUX
09:00-17:30	63A	EPIDÉMIOLOGIE BACTÉRIENNE : SURVEILLANCE, TRANSMISSION (I)	HALL BORDEAUX
09:00-17:30	64A	VIRULENCE	HALL BORDEAUX
09:00-17:30	65A	TECHNIQUE MICROBIOLOGIQUE	HALL BORDEAUX
09:00-17:30	66A	EPIDÉMIOLOGIE VIRALE	HALL BORDEAUX
09:00-17:30	67A	VIRUS, CANCER, THÉRAPEUTIQUE	HALL BORDEAUX
09:00-17:30	68A	VIRUS ET HÉPATITES	HALL BORDEAUX
09:00-17:30	69A	INFECTIONS PÉDIATRIQUES	HALL BORDEAUX

RÉSISTANCE, IMPERMÉABILITÉ
RESISTANCE, IMPERMEABILITY

248 Expression de CTX-M et sélection de résistance à l'ertapénème chez *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*
D. Girlich, L. Poirel, P. Nordmann
Bactériologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicetre, France

249 Souches d'*Enterobacter aerogenes* multirésistantes et modification des protéines de la membrane externe
J.P. Lavigne[1], A. Sotto[3], N. Bouziges[3-2], A. Davin-Regli[1], J.M. Pagès[1]
[1]UMR-MD1, Université de la Méditerranée, Marseille [2]Laboratoire de Bactériologie, CHU Carémeau [3]Espri 26, Inserm, Nîmes, France

250 Carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* associated to DHA-1, an AmpC Bêta-lactamase and loss of outer membrane protein OMP-36
D. Piérard[3], P. Bogaerts[4], C.H. Jones[5], O. Soetens[3], H. De Beenhouwer[1], F. Trullemans[2], Y. Glupczynski[4], S. Lauwers[3]
[1]Clinical microbiology, OLV Hospital, Aalst [2]Hematology [3]Microbiology and hospital infection control, Universitair Ziekenhuis Brussel (UZB), Brussels [4]Bacteriology-virology, Cliniques Universitaires UCL, Mont-Godinne, Belgique [5]Research, Wyeth, Pearl River, Ny, Etats-Unis

251 Mécanismes membranaires de résistance chez *Acinetobacter baumannii* : analyses fonctionnelles de la porine CarO *(carbapenem-associated resistance outer membrane protein)*
M. Catel-Ferreira[2], V. Molle[1], A. Siroy[2], M. Pestel-Caron[3], T. Jouenne[2], E. Dé[2]
[1]Laboratoire de Phosphorylation des protéines et pathogénies bactériennes, IBCP, CNRS-UMR, Lyon [2]Laboratoire PMS, FRE 3101 CNRS, IFRMP 23, Mont-Saint-Aignan [3]Groupe de Recherche sur les Antimicrobiens et les Micro-organismes EA 2656, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

252 La perte d'atlE, principale autolysine de *S. epidermidis* ne modifie pas l'activité des glycopeptides dans le modéle de sepsis/péritonite de souris
M. Hello, N. Caroff, C. Jacqueline, V. Le Mabecque, A.F. Miègeville, M. Lefebvre, J. Caillon, G. Potel, E. Batard
UPRES EA 3826, UFR de Médecine, Nantes, France

253 Analyse de la multirésistance de souches d'*Aeromonas hydrophila* d'origine environnementale et clinique
M. Hernould[1], V. Dubois[1], C. Harf-Monteil[2], C. Quentin[1], C. Arpin[1]
[1]CNRS-5234, Université de Bordeaux 2, Bordeaux [2]CHU de Strasbourg, UPRES EA 332, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France

254 Phénotypes et génotypes de résistance de *S. typhimurium* d'origine non humaine
S.A. Granier[1], L. Cosnuau[1], J. Grout[1], C. Piquet[1], C. Pires-Gomes[1], D. Mevius[2], A. Brisabois[1]
[1]Unité CEB, AFSSA-Lerqap, Maisons-Alfort, France [2]WUR, Lelystad, Pays-Bas

255 A propos d'une souche de *Eggerthella lenta* isolée dans une hémoculture, résistante à l'Imipénème
N. Hidri, O. Barraud, F. Garnier, C. Martin, M.C. Ploy, F. Denis
Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

256 Isolement d'une souche d'*Haemophilus influenzae* résistante à l'imipénème chez un patient présentant une pneumopathie acquise sous ventilation
O. Barraud[1-3], N. Pichon[2], N. Hidri[1], F. Denis[1-3], B. François[2], M.C. Ploy[1-3]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Service de Réanimation Polyvalente, CHU Dupuytren [3]Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire des Micro-organismes EA3175, Université de Limoges, Faculté de Médecine, Limoges, France

EPIDÉMIOLOGIE BACTÉRIENNE : SURVEILLANCE, TRANSMISSION (I)
BACTERIAL EPIDEMIOLOGY: SURVEILLANCE, TRANSMISSION (I)

257 Microbiological characteristics of invasive *Streptococcus pyogenes* strains in France in 2007

A. Doloy[3-5-2-1], P. Bidet[3-4-6], A. Lepoutre[7], G. Collobert[3], C. Poyart[3-5-1], E. Bingen[3-4-6], A. Bouvet[3-5-2]
[1]Cochin Hospital, APHP [2]Hôtel Dieu, APHP [3]National Center for Streptococci [4]Paris 7-Denis Diderot University [5]Paris Descartes University [6]Robert Debré Hospital, APHP, Paris [7]National Institute for Public Health Surveillance, Saint-Maurice, France

258 Molecular characterization of *Streptococcus pyogenes* strains responsible for meningitis in France

A. Doloy[3-5-2-1], P. Bidet[3-4-7], L. Tiamuna[3], C. Poyart[3-5-1], P. Trieu-Cuot[3-6], E. Bingen[3-4-7], A. Bouvet[3-5-2]
[1]Cochin Hospital, APHP [2]Hôtel Dieu, APHP [3]National Reference Centre for Streptococci [4]Paris 7-Denis Diderot University [5]Paris Descartes University [6]Pasteur Institute [7]Robert Debré Hospital, APHP, Paris, France

259 Prevalence of *emm* and T types and antibiotic resistance of group A Streptococci isolated at Charles Nicolle hospital of Tunisia

M. Hraoui[2-1], I. Boutiba-Ben Boubaker[2], A. Doloy[1], G. Collobert[1], S. Ben Redjeb[2], A. Bouvet[1]
[1]Service de Microbiologie, Hôtel Dieu, AP-HP, Université Paris Descartes, Centre National de Référence des Streptocoques Laboratoire associé pour les streptocoques du groupe A, Paris, France [2]Service de Microbiologie Hôpital Charles Nicolle, Laboratoire de recherche "Résistance aux Antimicrobiens", Tunis, Tunisie

260 Bilan bactériologique de 3 années de dépistage du streptocoque de groupe B (SGB) au cours du dernier trimestre de la grossesse

P. Honderlick, J. Gravisse, P. Cahen, D. Vignon
Microbiologie, Hôpital Foch, Suresnes, France

261 Antibiotic resistance and *emm*-types of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* strains isolated from invasive and non-invasive infections

A. Ergani[2-3], A. Doloy[2-1-3], G. Collobert[2], C. Poyart[1-3], A. Bouvet[2-3]
[1]Centre National de Référence des Streptocoques, CNR-Strep, Service de Bactériologie, Groupe Hospitalier Cochin-Saint-Vincent de Paul, AP-HP [2]Laboratoire Associé au Centre National de Référence des Streptocoques, CNR-Strep LA-SGA-A [3]Université Paris Descartes, Paris, France

262 Beta-lactams resistance mechanisms of invasive *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Children's Hospital of Tunis (2000-2007)

F. Charfi, H. Smaoui, N. Jelili, A. Kechrid
Laboratory of microbiology, Children's Hospital, Tunis, Tunisie

263 Antimicrobial resistance survey in Belgian clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* collected during winter 2007-2008

R. Vanhoof[1], E. Van Bossuyt[1], S. De Craeye[1], J. Van Eldere[2], J. Verhaegen[2], T.H.H. Belgian Sp Study Group[1]
[1]Bacteriology, WIV-Pasteur, Brussels [2]Microbiologie, UZ Gasthuisberg, Leuven, Belgique

264 Diminution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées d'infections invasives en France entre 2003 et 2007 : résultats des Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP)

M. Kempf[1], R. Baraduc[1], H. Bonnabau[2], M. Brun[1], H. Chardon[1], J. Croizé[1], M.C. Demachy[1], P.Y. Donnio[1], P. Dupont[1], T. Fosse[1], L. Gibel[2], A. Gravet[1], B. Grignon[1], T. Hadou[1], F. Hamdad[1], J.L. Koeck[1], G. Laurans[1], J. Maugein[1], A. Péchinot[1], M.C. Ploy[1], J. Raymond[1], A. Ros[1], M. Roussel-Delvallez[1], C. Segonds[1], M. Vergnaud[1], V. Vernet-Garnier[1], M. Weber[1], E. Varon[3], L. Gutmann, A. Lepoutre[4], P. Lanotte[1]
[1]CHU Dupuytren, Observatoires Régionaux des Pneumocoques (ORP) [2]CHU Dupuytren, UFRCB, Limoges [3]AP-HP HEGP, CNRP, Paris [4]InVS, Saint-Maurice, France

265 Evolution des sérotypes de souches de *Streptococcus pneumoniae* (SP) isolées au cours d'infections respiratoires (IR) chez l'adulte en France métropolitaine entre 2001/2002 et 2006/2007

H.B. Drugeon[3], E. Leput[2], et le Groupe d'étude[1]
[1]Services de bactériologie hospitaliers, Groupe d'étude [2]Laboratoire de bactériologie, Drug R&D, Angers Technopole, Beaucouzé [3]Service de bactériologie, Faculté de médecine, Nantes, France

266 Evolution de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* (Sp) dans le nord de la France entre 2001 et 2007

M. Roussel-Delvallez[1], A. Charlet[1], M. Caillaux[2], C. Cattoen[2], V. Chieux[2], A. Decoster[2], D. Descamps[2], B. Dumoulard[2], N. Gravelines[2], S. Hendricx[2], M. Ménouar[2], M.N. Noulard[2], J.M. Pannecouck[2], J.G. Paul[2], C. Rolland[2], S. Samaille[2], F. Templier[2], A. Vachée[2], M. Vasseur[2], A. Verhaeghe[2], F. Wallet[1], R.J. Courcol[1]
[1]Pôle de Microbiologie, CHU de Lille, Lille [2]Biologie, Hôpitaux Généraux, Nord-Pas-de-Calais, France

267 Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae (Sp)* en Ile-de-France-Est entre 2001 et 2007

M.C. Demachy[1], F. Faibis[1], E. Varon[3], Groupe des Microbiologistes de L'ORP Ile-de-France Est[2]
[1]Microbiologie, CH [2]Microbiologie, ORP IDF-EST, Meaux [3]CNR des Pneumocoques, HEGP, Paris, France

268 Prévalence en 2008 du portage de *Streptococcus pneumoniae.* Vaccination et antibiotiques chez les enfants gardés en crèche dans le département du Nord

S. Chevrier-Onillon[1], M. Lelieur-Pierard[1], H. Carsenti-Dellamonica[2], B. Dunais[2], P. Dellamonica[2], R.J. Courcol[1], M. Roussel-Delvallez[1]
[1]Centre de Biologie-Pathologie, CHRU, Lille [2]Centre d'Antibiologie, CHU, Nice, France

269 Evolution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus Pneumoniae* en Champagne-Ardennes de 2001 à 2007

V. Duval[8], J. Madoux[8], T. Guillard[8], L. Brasme[8], C. Alba[3], C. Auvray[2], I. Baudinat[1], P. Bineau[6], J.M. Garnier[9], C. Lafaurie[4], D. Simeon[5], M. Thouvenin[7], C. De Champs[8], V. Vernet-Garnier[8]
[1]CH Chalons-en-Champagne [2]CH Charleville-Mézières et Sedan [3]CH Chaumont [4]CH Epernay [5]CH Langres [6]CH Saint-Dizier [7]CH Troyes [8]CHU Reims [9]LABM Gillard, Reims, France

270 Evolution de la sensibilité aux Bêta-lactamines des souches invasives de *Streptococcus pneumoniae* (Sp) et de souches d'otite moyenne aiguë (OMA) de l'enfant isolées de 1995 à 2007 dans la région Picardie

F. Hamdad[12], G. Laurans[12], M.T. Albertini[8], Z. Benchikh[4], M. Bouquigny[10], A. Brocard[9], M. Demange[11], A.S. Goetgheluck[1], J. Heurte[2], P. Lemaitre[5], J.P. Thellier[3], C. Shanen[7], A. Sueur[6], D. Thomas[12], B. Canarelli[12], F. Rousseau[12], M. Biendo[12], E. Varon[13], F. Eb[12]
[1]CH Abbeville [2]CH Beauvais [3]CH Château-Thierry [4]CH Chauny [5]CH Creil [6]CH Doullens [7]CH Laon [8]CH Saint Quentin [9]CH Senlis [10]CH Soissons [11]CH Villiers Saint Denis [12]Bactériologie, CHU, Amiens [13]CNRP, Paris, France

271 Epidémiologie de la résistance aux Bêta-lactamines de *Streptococcus pneumoniae* (Sp) isolés d'hémocultures (HC), de liquide céphalorachidien (LCR) et d'otite moyenne aiguë (OMA) sur les années impaires de 2001 à 2007 dans 13 centres de l'Observatoire Régional du Pneumocoque (ORP) Arc Alpin-Val de Rhône

J. Croizé[13], C. Recule[13], D. Champelovier[13], S. Bland[3], P. Clergeau[10], M.C. Koné[7], D. Fasquelle[11], V. Gauduchon[5], F. Sifaoui[4], A. Mandjee[9], P. Marthelet[8], J. Sartre[2], J. Tous[6], P. Verger-Hirtz[14], I. Vray[12], L. Gibel[15], H. Bonnabau[15], E. Varon[1]
[1]APHP HEGP CNR Paris [2]CH Valence [3]CHG Annecy [4]CHG Annemasse [5]CHG Briançon [6]CHG Chambéry [7]CHG Gap [8]CHG Montélimar [9]CHG Romans [10]CHG Sallanches [11]CHG Thonon [12]CHG Voiron [13]CHU UJF Grenoble [14]LAM Meylan [15]UFRCB CHU Limoges, France

272 Diminution de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques en 2007 en Limousin. Résultats de l'Observatoire Régional du pneumocoque et évolution depuis 2001

C. Grélaud[12], X. Balavoine[6], O. Barraud[12], F. Célérier[10], D. Chagnaud[9], P. Chambon[5], F. Garnier[12], P.Y. Guillot[7], N. Hidri[12], C. Lemaire[7], I. Lenoir[5], S. Maach-Barbarie[5], C. Martin[12], G. Masson[12], T. Menard[6], L. Morelet[7], D. Pressac[4], C. Rebeyrotte[1], A. Sommabere[2], D. Sommier[8], M. Trazit[11], V. Vialette[3], F. Denis[12], M.C. Ploy[12]
[1]CH Bourganeuf [2]CH Brive [3]CH Guéret [4]CH Tulle [5]LABM Brive [6]LABM La Souterraine [7]LABM Limoges [8]LABM St-Feyre [9]LABM St-Junien [10]LABM St-Yrieix [11]LABM Ussel [12]CHU Dupuytren, Limoges, France

273 Observatoire Régional du Pneumocoque en région Centre : épidémiologie de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en 2007

A. Holstein[12], J. Brion[12], A. Grillon[12], P. Amirault[15], J.P. Arnould[5], M.N. Bachelier[3], Z. Benseddik[4], L. Bret[10], M. Cahiez[6], B. Cattier[1], C. Chandesris[9], V. Chieux[4], G. Courouble[2], J.L. Graveron[8], P. Harriau[11], P. Laudat[14], M.F. Lartigue[13], D.M. Poisson[10], A. Secher[7], A. Goudeau[12], P. Lanotte[12]

[1]Laboratoire, CHIC Amboise et Château-Renault, Amboise [2]Laboratoire, CH de Blois, Blois [3]Laboratoire, CH Jacques Coeur, Bourges [4]Laboratoire, CH Fontenoy, Chartres [5]Laboratoire, CH Chateaudun, Chateaudun [6]LABM Lescaroux, Chateauroux [7]Laboratoire, CH Jousselin, Dreux [8]LABM Graveron, Fleury-les-Aubrais [9]Laboratoire, CH Montargis, Montargis [10]Laboratoire de Microbiologie, CHR Orléans, Orléans [11]LABM Harriau, St Amand-Monrond [12]Service de Bactériologie-Virologie, Centre coordinateur de l'ORP Centre, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours [13]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours [14]LABM Arnaud, Tours [15]Laboratoire, CH Vierzon, Vierzon, France

274 1997-2007 : 10 ans de suivi de l'évolution de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en région Centre. Bilan de l'Observatoire Régional du Pneumocoque

A. Holstein[12], J. Brion[12], P. Amirault[15], J.P. Arnould[5], M.N. Bachelier[3], Z. Benseddik[4], L. Bret[10], M. Cahiez[6], B. Cattier[1], C. Chandesris[9], V. Chieux[4], G. Courouble[2], J.L. Graveron[8], P. Harriau[11], P. Laudat[14], M.F. Lartigue[13], D.M. Poisson[10], A. Secher[7], A. Goudeau[12], P. Lanotte[12]

[1]Laboratoire, CHIC Amboise et Château-Renault, Amboise [2]Laboratoire, CH de Blois, Blois [3]Laboratoire, CH Jacques Coeur, Bourges [4]Laboratoire, CH Fontenoy, Chartres [5]Laboratoire, CH Chateaudun, Chateaudun [6]LABM Lescaroux, Chateauroux [7]Laboratoire, CH Jousselin, Dreux [8]LABM Graveron, Fleury Les Aubrais [9]Laboratoire, CH Montargis, Montargis [10]Laboratoire de Microbiologie, CHR Orléans, Orléans [11]LABM Harriau, St Amand-Monrond [12]Service de Bactériologie-Virologie, Centre coordinateur de l'ORP Centre, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours [13]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours [14]LABM Arnaud, Tours [15]Laboratoire, CH Vierzon, Vierzon, France

275 Observatoire Régional du Pneumocoque en région Pays de la Loire : résistance de *Streptococcus pneumoniae* (Sp) aux antibiotiques en 2007

M. Kempf[2], F. Kowalczyk[2], P. Andorin[1], E. Bichier[1], G. Bonnaudet[1], G. Chambreuil[1], G. Cheviet[1], J.Y. Darreau[1], D. Jan[1], E. Jaouen[1], F. Jouble[1], M.E. Juvin[1], M. Langeard[1], C. Le Brun[1], J.Y. Le Reste[1], B. Lureau[1], M. Mozas[1], C. Varache[1], M. Eveillard[2], M.L. Joly-Guillou[2]

[1]ORP Pays de la Loire [2]Observatoire Régional du Pneumocoque (ORP) Pays de la Loire - Centre coordinateur, CHU Angers, Angers, France

276 Bactériémies à staphylocoques : étude nationale prospective de l'Observatoire des résistances du COLBVH

O. Gallon[2], B. Lamy[5], F. Geffroy[4], J. Pollet[2], F. Doucet-Populaire[1-3], J.W. Decousser[2-1]

[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Antoine Béclère, Clamart [2]Pôle de Biologie - Hygiène, CH de Dourdan, Dourdan [3]Faculté de Pharmacie - EA4065, Université Paris Descartes, Paris [4]Laboratoire de Bactériologie, CH Laënnec, Quimper [5]Laboratoire de Biologie, CH du Bassin de Thau, Sète, France

277 Evolution of phage and *spa* types in the MRSA population of a Belgian hospital: 2002 and 2007

C. Wildemauwe[1], D. De Brouwer[1], P. Bifani[1], C. Godard[1], P. Buyssens[1], J. Dewit[1], M. Dehem[3], R. Joseph[2], R. Vanhoof[1]

[1]Scientific Institute of Public Health, Pasteur Institute, Brussels [2]Jan Yperman Hospital, Leper, Belgique [3]Genoscreen, Lille, France

278 Aspects bactériologiques et épidémiologiques des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline dans un hôpital universitaire polyvalent

A. Ferjani, M. Marzouk, J. Boukadida

Laboratoire de microbiologie et d'immunologie - UR02SP13, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

279 Etude épidémiologique de la colonisation nasale de *Staphyloccocus aureus* (SA) dans un service de réanimation et de soins intensifs (Réa-Usi) néonatal

F. Tavani[2], B. Grandbastien[1], N. Kacet[3], L. Storm[3], R.J. Courcol[2], M.O. Husson[2]

[1]SGRIVi, CHRU de Lille [2]Laboratoire de microbiologie, CHRU de Lille, Centre de Biologie et Pathologie [3]Unités de Réanimation et de Soins Intensifs Néonatales, CHRU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France

280 Intérêt du profil de résistance aux antibiotiques dans la détection des souches de SARM productrices de PVL et/ou TSST-1

H. Gbaguidi-Haore[2], M. Thouverez[2], G. Couetdic[1], P. Cholley[2], D. Talon[2], X. Bertrand[2]
[1]Bactériologie [2]Hygiène hospitalière, CHU, Besançon, France

281 Caractérisation moléculaire de SARM isolés chez le porc

S.A. Granier[1], E. Pecorella[1], M.L. De Buyser[1], E. Jouy[3], C. Chauvin[2], A. Brisabois[1]
[1]Unité CEB, AFSSA - Lerqap, Maisons-Alfort [2]Unité EBEP [3]Unité MB, AFSSA - Lerapp, Ploufragan, France

282 Incidence des *Staphylococcus* résistants à la méticilline acquis et consommation de produit hydro-alcoolique

H. Sénéchal, M. Olivier, N. Garreau, M. Aupée, P. Jarno, B. Lejeune, et les Praticiens et Infirmier(e)s de L'inter-région Ouest
C.CLIN-Ouest Hôtel-Dieu, CS 26419, Rennes, France

283 Infections urinaires à *Staphylococcus saprophyticus* au CHU Mongi Slim de La Marsa

S. Mahfoudh, D. Cherif, L. Bakir
Laboratoire de Biologie Clinique, CHU Mongi Slim de La Marsa, Tunis, Tunisie

284 Le phénotype LSa chez les bactéries du genre *Staphylococcus*

F. Trueba[5], S. Tessé[5], O. Chesneau[6], V. Guigas[5], B. Soullie[1], C.P. Soler[3], P. Le Guen[2], J.M. Puyhardy[4], E. Nicand[5]
[1]HIA Robert Picqué, Bordeaux [2]HIA Clermont Tonnerre, Brest [3]HIA Percy, Clamart [4]HIA Legouest, Metz [5]Biologie, HIA du Val de Grâce [6]Institut Pasteur, Paris, France

285 Cinq ans de surveillance des SARM et entérobactéries BLSE au CHU de Limoges

N. Pestourie, O. Barraud, M. Mounier, F. Garnier, N. Hidri, M.C. Ploy, F. Denis, C. Martin
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

286 *vanA* chez *Enterococcus faecium*, *E. faecalis* et *E. casseliflavus* d'origine bovine

M. Haenni, E. Saras, P. Châtre, D. Meunier, J.Y. Madec
Unité de bactériologie, Afssa, Lyon, France

287 Aspects éthiques de la prise en charge d'une épidémie à ERG au CHU de Nancy

S. Hénard[3], G. Gabriel[4], T. May[2], P. Hartemann[1], X. Ducrocq[4], C. Rabaud[3]
[1]Service d'hygiène hospitalière [2]Service des maladies infectieuses et tropicales, CHU Nancy [3]CCLIN-Est [4]Comité de Réflexion Ethique Nancéien Hospitalo-Universitaire, CHU Nancy, Nancy, France

288 Epidémie à *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine de type Van B (EfRV) au CH de Béthune (Pas-de-Calais). Réalisation d'une enquête de prévalence en mai 2008

S. Dekeyser[2], F. Dufossez[1], S. Payen[2-2], E. Béclin[3], K. Blanckaert[4], D. Descamps[2-3]
[1]Département d'information médicale [2]Laboratoire de microbiologie [3]Unité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales, Centre Hospitalier Germon et Gauthier, Béthune [4]Antenne régionale du Nord-Pas-de-Calais, CCLIN Paris Nord, Lille, France

289 Epidémie à *Enterococcus faecium* résistant à la vancomyvine de type Van B (EfVR) au CH de Béthune (Pas-de-Calais): mise en place d'une démarche de gestion de l'épidémie à l'échelle de l'établissement

D. Descamps[2], E. Béclin[3], S. Dekeyser[2], K. Blanckaert[4], C. Lemaire[1]
[1]Commission médicale de l'établissement [2]Laboratoire de microbiologie [3]Unité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales, Centre Hospitalier Germon et Gauthier, Béthune [4]Antenne régionale Nord Pas de Calais, CCLIN Paris Nord, Lille, France

290 Isolement d'un *Enterococcus faecium* van A (ERG) au centre hospitalier de Grasse : mise en place des recommandations du CTINILS

N. Négrin, S. Léotard
Hygiène, Centre Hospitalier, Grasse, France

291 WEBISO : la surveillance des infections de site opératoire *via* Internet

P. Jarno, P. Angora, N. Garreau, M. Olivier, H. Sénéchal, M. Aupée
CCLIN Ouest, Rennes, France

292 Particularité de l'écologie bactérienne réunionnaise : actualité au centre hospitalier Félix Guyon (CHFG)

O. Belmonte[1], M.P. Moiton[4], D. Drouet[3], Y. Lefort[3], J. Alba[2], M.C. Jaffar-Bandjee[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie et d'Hématologie [2]Pharmacie [3]Service de Réanimation Polyvalente [4]Unité de Médecine Interne, CH Felix Guyon, Saint-Denis, France

293 Anti-infectieux empiriques dans les 24-48 premières heures des bactériémies des patients hospitalisés dans les hôpitaux du groupe des microbiologistes d'Ile-de-France en 2007

H. Porcheret[2], D. Barraud[3], M. Bingen[3], Y. Costa[4], V. Estève[6], F. Faibis[5], M.C. Demachy[5], A. Scanvic[1], E. Vallée[8], Y. Péan[7]
[1]Microbiologie, CH Argenteuil, Argenteuil [2]Microbiologie, CH Aulnay-sous-Bois, Aulnay-sous-Bois [3]Microbiologie, CH Gonesse, Gonesse [4]Microbiologie, CH Lagny, Lagny [5]Microbiologie, CH Meaux, Meaux [6]Microbiologie, CH Orsay, Orsay [7]Microbiologie, Institut Mutualiste Montsouris, Paris [8]Microbiologie, CH Poissy-St Germain en Laye, Poissy, France

294 Epidémiologie des bactériémies dans le service d'hématologie du CHU de Limoges entre 2003 et 2007

N. Hidri[1], P. Turlure[2], N. Dmytruk[2], S. Girault[2], O. Barraud[1], F. Garnier[1], C. Martin[1], G. Masson[1], M.C. Ploy[1], D. Bordessoule[2], F. Denis[1]
[1]Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Service d'Hématologie, CHU Dupuytren, Limoges, France

295 Surveillance des bactériémies en médecine dans un CHU d'Ile-de-France : étude prospective

C. Rousseau[1], A. Lefort[1], M.H. Nicolas-Chanoine[2], B. Fantin[1], D. Vanjak[3]
[1]Médecine intene [2]Microbiologie [3]Unité de lutte contre les infections nosocomiales, Hôpital Beaujon, AP-HP, Clichy, France

296 les bactériémies : fréquence des germes et sensibilité aux antibiotiques au CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie

H. Ziane, F. Ousser, F. Djennane, A. Beloufa, M. Neggazi, S. Gourari, N. Ramdani-Bouguessa, M. Tazir
Service de Microbiologie, Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha Bacha, Alger, Algérie

297 Sepsis à *acinetobacter baumannii* dans un service de réanimation des brûlés : étude sur 5 ans

K. Bousselmi, L. Thabet, I. Rahmani, H. Oueslati, J. Haddad, B. Touil, S. Oueslati, A.A. Messadi
Réanimation des Brulés, CTGB, Ben Arous, Tunisie

298 Observatoire d'incidence des infections dans les centres des brûlés en France

R. Le Floch[6], C. Vinsonneau[7], R. Ravat[4], P. Ainaud[5], M. Bertain-Maghit[3], H. Carsin[2], G. Perro[1]
[1]Hôpital Pellegrin, Bordeaux [2]HIA Percy, Clamart [3]Hôpital Edouard Herriot [4]Hôpital St Joseph-St Luc, Lyon [5]Hôpital de la Conception, Marseille [6]CHU Jean Monet, Nantes [7]Hôpital Cochin, Paris, France

299 Surveillance microbiologique des cornées conservées au sein de la banque de cornées des Hospices Civils de Lyon dans la période de janvier 2003 à juillet 2008

O. Dumitrescu[2], C. Auxenfans[1], N. Builles[1], P. Pascal[1], O. Damour[1], M.E. Reverdy[2]
[1]Banque de cornées, Hôpital E.Herriot [2]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

300 Etude microbiologique des liquides de conservation de rein (LTR) de 556 patients transplantés en 2007 dans 6 hôpitaux d'Ile-de-France

A. Felten[5], N. Fortineau[1], P. Honderlick[2], O. Join-Lambert[4], C. Lacroix[5], P. Legrand[3], S. Vimont[6], Groupe d'étude des liquides de conservation de rein d'Ile-de-France
[1]Hôpital de Bicêtre [2]Hôpital Foch [3]Hôpital Henri Mondor [4]Hôpital Necker [5]Hôpital Saint Louis [6]Hôpital Tenon, France

301 Résultats 2007 de l'Observatoire Régional du Pneumocoque Alsace

G. Camdessoucens-Miehe[12], V. Murbach[7], P. Barrand[8], A. Boulenc[8], D. De Briel[1], J.M. Delarbre[3], J.L. Flipo[6], C. Gherardi[9], I. Grawey[1], T. Gueudet[11], A. Heidt[2], V. Herzig[8], F. Jehl[7], V. Lantz[10], C. Lemble[5], I. Mahoudeau[11], P. Pierrot[9], C. Rieder Monsch[11], F. Tytgat[4], A. Gravet[12]
[1]CH de Colmar [2]CH de Haguenau [3]CH de Mulhouse [4]CH de Saverne [5]CH de Sélestat [6]CH de Wissembourg [7]CHRU de Strasbourg - Laboratoire de Bactériologie [8]LABM Colmar [9]LABM Mulhouse [10]LABM Soultz [11]LABM Strasbourg [12]Centre Coordinateur ORP Alsace - Laboratoire de Microbiologie, CH de Mulhouse, Mulhouse, France

jeudi *Thursday* **4** décembre *December* | **09:00 17:30** | **HALL BORDEAUX** | AFFICHE *Poster* | **64A**

VIRULENCE
VIRULENCE

302 Caractérisation moléculaire des souches de *S. aureus* isolées de surinfections de varicelle en France

O. Raulin, G. Durand, M. Croze, M. Bes, H. Meugnier, F. Vandenesch, G. Lina, F. Laurent, J. Etienne
Université de Lyon, Centre National de Référence des Staphylocoques, Inserm U851, Centre de Biologie Est et Centre de Biologie Nord des Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

303 Molecular and biological characterization of *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B dT$^+$, or *Salmonella* Java human isolates

L. Majtánová[2], T. Majtán[1], V. Majtán[2]
[1]Institute of Molecular Biology, SAS [2]Slovak Medical University, Bratislava, Slovaquie

304 Virulence factors in uropathogenic *Eschericha coli* producing CTX-M -1 group extended spectrum Bêta-lactamase at Charles Nicolle Hospital of Tunis,Tunisia

S. Ferjani, M. Saidani, K. Mamlouk, S. Ben Redjeb
Laboratoire de recherche "résistance aux antibiotiques", Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie

305 Evaluation du potentiel de virulence *in vitro* et *in vivo* de souches d'*Escherichia coli* uropathogènes isolées au cours de bactériuries asymptomatiques, cystites, pyélonéphrites chez des femmes enceintes : comparaison avec des souches isolées au cours du choc septique

J.P. Lavigne[3], D. Laouini[3], N. Bouziges[3-1], A. Gouby[1], P. Marès[2], A. Sotto[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU de Carémeau [3]Inserm, Espri 26, Nîmes, France

306 Phage types and virulence markers of *Salmonella typhimurium* human isolates from Slovakia

V. Majtán, J. Majtán, L. Majtánová, A. Ofukaná
Slovak Medical University, Bratislava, Slovaquie

307 A new genus of the order *Actinomycetales*, *Hoyosia* gen. nov., with description of *Hoyosia altamirensis* sp. nov., isolated from Altamira Cave, Cantabria, Spain

V. Jurado[2], R. Kroppenstedt[1], C. Saiz-Jimenez[2], H.P. Klenk[1], D. Mouniée[3], L. Laiz[2], A. Couble[3], P. Boiron[3], V. Rodriguez-Nava[3]
[1]Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Allemagne [2]CSIC, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiologia, Sevilla, Espagne [3]UMR CNRS 5557, Center for Microbial Ecology- French Observatory for Nocardiosis, Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard Lyon I, Lyon, France

308 Retrospective review of clinical strains of *Nocardia* isolated in the 1940-1970 period, and first report of infection by *Nocardia* wallacei in Mexico

K. Sanchez-Herrera[3-1], A. Couble[1], D. Mouniée[1], H. Sandoval[3], F. Laurent[1], N. Ramírez-Durán[1], M. Uzcategui[5], J.A. Serrano[5], R. Arenas[2], C. Collazo[4], P. Boiron[1], V. Rodriguez-Nava[1]
[1]Université Claude Bernard, Lyon 1, UMR CNRS 5557, Observatoire Français des Nocardioses, Faculté de Pharmacie, Lyon, France [2]Hospital General Dr. Manuel Gea González SSA, Departamento de Dermatología [3]Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Departamento de Sistemas Biológicos [4]Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (INDRE), Mexico, Mexique [5]Universidad de Los Andes, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Merida, Venezuela

TECHNIQUE MICROBIOLOGIQUE
MICROBIOLOGY TECHNIQUE

309 Identification des *Staphylococcus* par spectrométrie de masse avec le système MALDI BioTyper™
D. Dubois[1], D. Leyssene[1], J.P. Chacornac[2], R. Talon[2], R. Bonnet[1], J. Delmas[1]
[1]Bactériologie, UFR de Médecine, Clermont-Ferrand [2]Microbiologie, INRA, Clermont-Theix, France

310 Identification des staphylocoques par amplification : séquençage du gène *tuf*
M. Bergeron, M. Bes, C. Gardon, C. Courtier, H. Meugnier, Y. Benito, J. Etienne, G. Lina, F. Vandenesch, S. Boisset
Centre de Biologie et de Pathologie Est, Laboratoire de Bactériologie, Centre National de Référence des Staphylocoques (CNR), Inserm U851, Lyon, France

311 Molecular identification of clinical coagulase-negative staphylococci other than *S. epidermidis* isolated from neutropenic patients
O. Bouchami[2], M. Miragaia[1], D.C. Oliveira[1], W. Achour[2], H. De Lencastre[1], A. Ben Hassen[2]
[1]Molecular Genetics Laboratory, Instituto de Technologica Quimica e Biologica da Universidade Nova de Lisboa, Oeiras, Portugal [2]Service des laboratoires, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis, Tunisie

312 Evaluation of the new chromogenic medium StrepB select for screening of group B *Streptococcus* in pregnant women
A. Tazi, A. Doloy, M.E. Hemet, J. Raymond, C. Poyart
Bacteriologie, CNR des Streptocoques, Hôpital Cochin-Saint Vincent de Paul, Université Paris Descartes, Paris, France

313 Comparaison d'un milieu chromogène et de deux milieux Granada pour la détection des streptocoques du groupe B dans les prélèvements vaginaux
C. Roure-Sobas, Y. Gille, M.E. Reverdy, C. Andonian, J. Brault, O. Raulin, H. Salord, F. Laurent, S. Tigaud
Bactériologie, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France

314 Détection rapide par culture de *Streptococcus agalactiae* pour le dépistage périnatal
R. Lienhard, M.L. Tritten, A. Jacquet, H.H. Siegrist
Microbiologie, ADMED, La Chaux-de-Fonds, Suisse

315 Colonisation bactérienne des voies respiratoires des patients mucoviscidosiques au CHU de Nancy en 2007: intérêt d'un milieu chromogène pour la détection des *Small Colony Variants* de *Staphylococccus aureus*
A. Rivier, T. Hadou, N. Aïssa, A. Lozniewski
Laboratoire de Bactériologie, CHU de Nancy, Nancy, France

316 First performance verification of the automated streaking system PREVI™ isola
H. De Montclos[1], C. Fulchiron[2], D. Archeny[1], M.J. Bridon[1], G. Bossy[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Centre Hospitalier de Bourg-en-Bresse, Bourg-en-Bresse [2]RD Microbiology, Biomérieux, La-Balme-les-Grottes, France

317 Comparaison de deux dispositifs automatiques d'analyse d'urine : l'IQ200 (IRIS) et l'UF-1000i (Biomérieux)
A. Urano, D. Trystram, V. Jarlier, A. Aubry
Service de Bactériologie-Hygiène, CHU Pitié-Salpêtrière - APHP, Paris, France

318 Comparaison des résultats de l'automate IRIS IQ 200 avec les résultats de l'examen cytologique de l'urine et évaluation des performances de l'automate pour la prédiction de l'infection urinaire
S. Ledru, J.P. Canonne
Laboratoire de Microbiologie, CH Dr Schaffner, Lens, France

319 Evaluation de l'automate de cytologie urinaire IQ200® Elite (Iris)

F. Canis, A. Courbet, E. Mazars, H. Bisiau, C. Cattoen
Laboratoire de Biologie, CH, Valenciennes, France

320 Que faut-il attendre de l'automatisation du sédiment urinaire ? A propos du Sysmex UF 1000 Biomérieux®

T. Gueudet, C. Rieder Monsch, M. Saez, A. Pujol
Laboratoire Schuh BIO 67-Biosphere, Strasbourg, France

321 Automate d'analyse urinaire UF-1000i Sysmex® : évaluation de la fiabilité du comptage cytologique (leucocytes et hématies) et du seuil de leucocyturie significative proposée par le fabricant

A. Birgy, C. Ménard, J.M. Scheftel, Y. Piémont, B. Jaulhac, S.J. De Martino
Laboratoire de Bactériologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

322 Détection rapide de *Pseudomonas aeruginosa* par PCR en temps réel à partir de flacons d'hémocultures positifs

A. Gilibert, J.M. Le Glaunec, N. Launay, P. Legrand, V. Cattoir
Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Henri Mondor, Créteil, France

323 Evaluation préliminaire de l'hybridation *in situ* de sondes nucléiques peditiques (*PNA Fish*) pour le diagnostic de *Staphylococcus aureus* à partir des hémocultures

P. Roy, O. Raulin, H. Salord, C. Roure-Sobas, F. Laurent, S. Tigaud
Bactériologie, HCL Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France

324 Préanalytique des flacons d'hémoculture adulte FA et FAN Biomérieux

P. Guiet[1], M. Ruelle[1], J.J. Ragon[1], S. Vignot[2], C. Hervé[1]
[1]Biologie médicale [2]Direction qualité-gestion des risques, Centre Hospitalier, Sens, France

325 Apport du délai de positivité pour différencier la présence d'entérobactéries, de *Pseudomonas* et de bacilles à Gram négatif (BGN) anaérobies stricts dans les flacons d'hémocultures présentant un BGN à l'examen direct

G. Defrance[2], M. Billard[2], G. Baron[1], R. Ruimy[2], A. Andremont[2], L. Armand-Lefèvre[2]
[1]Département de Biostatistique [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

326 Microscan dried Pos ID (PID2) panel multicenter evaluation with clinical isolates of Gram-positive bacteria

S. Mirrett[2], L.B. Reller[2], P. Schreckenberger[1], J. Tjhio[1], J. Hindler[3], J. Skinner[4], L.M. Mann[4], L.M. Smoot[4], B. Zimmer[4]
[1]Loyola University Medical Center, Chicago [2]Duke University Medical Center, Durham [3]UCLA Medical Center, Los Angeles [4]Siemens Healthcare Diagnostics, Sacramento, Etats-Unis

327 Multicenter evaluation of the new microscan rapid Pos ID 2 (RPID2) panel with clinical isolates of Gram-positive bacteria

P. Schreckenberger[1], J. Tjhio[1], S. Mirrett[2], L.B. Reller[2], J. Hindler[3], J.D. Bobolis[4], L.M. Smoot[4], L.M. Mann[4], B. Zimmer[4]
[1]Loyola University Medical Center, Chicago [2]Duke University Medical Center, Durham [3]UCLA Medical Center, Los Angeles [4]Siemens Healthcare Diagnostics, Sacramento, Etats-Unis

328 Hémoculture : évaluation de la quantité de sang prélevée au centre hospitalier du pays d'Aix (CHPA)

O. Bellon, F. Uetwiller, L. Bailloud, E. Lagier, H. Chardon
Service de Diagnostic Biologique des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier du Pays d'Aix, Aix-en-Provence, France

329 Evaluation de l'intérêt de l'antigénurie pneumocoque par test immunochromatographique dans le diagnostic des pneumopathies communautaires acquises de l'adulte au CHU de Toulouse

A. Le Goff, C. Segonds, G. Chabanon
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Institut Fédératif de Biologie, Hôpital Purpan, Toulouse, France

330 Génotypage d'échantillons de *Pseudomonas aeruginosa* par biologie moléculaire : quelle place pour la rep-PCR semi-automatisée (système DiversiLab®) ?

A. Doléans-Jordheim[3], E. Bergeron[3], J. Croizé[1], H. Salord[4], B. Cournoyer[2], J. André[3], M.A. Mazoyer[3], F.N.N. Renaud[3], J. Freney[3]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital A. Michalon, Grenoble [2]Unité Ecologie Microbienne, UMR5557, CNRS, Université Lyon 1 [3]Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Pharmacie, ISPB, Université Lyon 1 [4]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

331 Typage moléculaire par le système Diversilab des souches d'*Achromobacter xylosoxidans* isolées chez les patients atteints de mucoviscidose : comparaison avec l'électrophorèse en champ pulsé

J. Caillon, V. Le Mabecque, C. Jacqueline, E. Batard
Laboratoire EA 3826, Faculté de Médecine, Nantes, France

332 Caractérisation d'une épidémie à *Acinetobacter baumannii* multi-résistant (ABBMR) survenue au CHU de Grenoble par deux techniques de typage moléculaire : Electrophorèse en champ pulsé (ECP) et *repetitive sequence based*-PCR (rep-PCR) semi-automatisée (Diversilab®)

L. Coussa-Rivière[2], A. Doléans-Jordheim[4], M.R. Mallaret[3], J. Freney[4], C. Jacquot[1], J. Croizé[2]
[1]Département d'Anesthésie-Réanimation I [2]Laboratoire de Microbiovigilance, Département des Agents Infectieux [3]Unité d'Hygiène Hospitalière, Université Joseph Fourier, CHU de Grenoble [4]Laboratoire de Microbiologie, Unité RTI2B, ISPB, Université Lyon 1, Lyon, France

333 Génotypie par *multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis* de *Pseudomonas aeruginosa* à l'hôpital F. Bourguiba de Monastir (Tunisie)

A. Ben Haj Khalifa[2-3], H. Vu-Thien[2], C. Pourcel[1], M. Khedher[3], M. Mastouri[3], D. Moissenet[2]
[1]Institut de génétique et Microbiologie, Orsay [2]Service de Microbiologie, Hôpital Armand-Trousseau (APHP), Paris, France [3]Service de Microbiologie, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie

334 Comparaison de deux tests immuno-enzymatiques pour la recherche des toxines A et B de *Clostridium difficile* dans les selles

D. Fournier, A.M. Freydière, O. Dauwalder, G. Lina, J. Etienne, F. Vandenesch
Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie et Pathologie Est, Lyon, France

335 Comparaison de trois milieux pour la culture de *Clostridium difficile* : intérêt des milieux favorisant la germination des spores ?

C. Rousseau, F. Diakité, L. Feghoul, P. Cruaud, A. Collignon, I. Poilane
Laboratoire de Microbiologie, CHU Jean Verdier, AP-HP, Bondy, France

336 Diagnostic des infections à *Clostridium difficile* au Centre Hospitalier de Versailles

S. Marque Juillet, G. Gesbert, B. Pangon, M. Harzic, A. Le Monnier
Microbiologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

337 Détermination du caractère toxinogène des souches de *Clostridium difficile* obtenues en primoculture de selles de patients par le test immuno-enzymatique ImmunoCard® Toxines A et B

A. Audion[1], V. Lalande[1-2], F. Barbut[1-2], J.C. Petit[1-2]
[1]Bactériologie-Virologie, Hôpital Saint Antoine [2]Laboratoire Clostridium difficile associée au CNR des Anaérobies et du botulisme, Paris, France

338 Validation du kit Fluo-RAL (RAL) pour la recherche de mycobactéries par coloration à l'auramine

P. Gérôme[2], M. Fabre[1], C.P. Soler[1]
[1]Biologie médicale, HIA Percy, Clamart [2]Biologie médicale, HIA Desgnettes, Lyon, France

339 Aspects cliniques, diagnostiques et thérapeutiques de la tularémie en France

M. Maurin[1], B. Gestin[1], N. Ravanel[1], I. Pelloux[1], A. Mailles[2]
[1]CNR Francisella, Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble, Grenoble [2]Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

340 Méningite à *Francisella tularensis*

O. Zamfir[1], V. Chieux[1], Z. Benseddik[1], J.L. Brault[2], A. Tehindrazanarivelo[2], A. Chartier[2], N. Ravanel[3], I. Pelloux[3], M. Maurin[3]
[1]Laboratoire de bilogie médicale [2]Service de neurologie, CH, Chartres [3]Laboratoire de bactériologie, CHU, Grenoble, France

341 Identification de *Brucella* spp. par PCR en temps réel : une étude comparative des gènes cibles *IS711*, *bcsp31* and *per* et étude de phylogénie avec le genre *Ochrobactrum*

L. Bounaadja[2-1], D. Albert[3], B. Chenais[2], S. Henault[3], M.S. Zygmunt[4], S. Poliak[1], A. Cloeckaert[4], B. Garin-Bastuji[3]
[1]Laboratoire Départemental de la Sarthe [2]Laboratoire de Biologie et Génétique Evolutive; EA2160 Mer Molécules Santé, Université du Maine, Le Mans [3]Laboratoire Communautaire de Référence de Brucellose, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (afssa), Maisons-Alfort [4]Equipe "Plasticité Génomique, Biodiversité, Antibiorésistance (PGBA)", UR1282 - Infectiologie Animale, Santé Publique (IASP-311) ; INRA, Nouzilly, France

342 Evaluation of the NucliSENS easyMAG extraction system associated with real-time nucleic acid sequenced-based amplification on NucliSENS EasyQ for the detection of *Mycoplasma pneumoniae* in respiratory specimens

E. Bessede, C.M. Bébéar, S. Pereyre
Laboratoire de Bactériologie EA3671, Infections humaines à mycoplasmes et Chlamydia, Université Victor Segalen Bordeaux 2 et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

343 Comparaison de trousses de PCR en temps réel commercialisées pour la détection de *Mycoplasma pneumoniae* dans des échantillons respiratoires

A. Touati[2], A. Racinne[1], A. Ben Hassen[2], C.M. Bébéar[1], S. Pereyre[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie EA3671, Infections humaines à mycoplasmes et Chlamydiae, Université Victor Segalen Bordeaux 2 et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France [2]Service des Laboratoires, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis, Tunisie

344 *Chlamydia trachomatis* serological discordances between enzyme immunoassay (EIA) and microimmunofluorescence (MIF)

B. Bergues, F. Eb, C. Cannau, H. Mammeri
Service de Bactériologie, CHU d'Amiens, Amiens, France

345 Apport de la PCR en temps réel *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (Abbott RealTime™ CT/NG) dans le diagnostic des infections bactériennes sexuellement transmissibles : expérience du CHRU de Tours

G. Baty, A. Holstein, V. Morange, L. De Visser, L. Mereghetti, A. Goudeau, P. Lanotte
Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, Tours, France

346 Détection de *Chlamydia trachomatis* et prise en charge au centre de dépistage anonyme et gratuit d'Amiens : bilan de l'année 2007

J. Merlin[2], A.S. Monge[2], F. Hamdad[3], F. Millat[2], F. Berger[2], C. Avlessi[2-1], O. Sannier[2], G. Chaby[2-4], F. Eb[3], J.L. Schmit[2]
[1]Centre de gynécologie obstétrique [2]Centre de prévention des maladies transmissibles [3]Laboratoire de bactériologie [4]Service de dermatologie-vénéréologie, CHU, Amiens, France

347 Rapid molecular genetic assay for direct identification of *Bordetella* from patients specimens

M.F. Prère, F. Bertin
Laboratoire de Bactériologie, CHU de Toulouse, Toulouse, France

348 Intérêt de la PCR en temps réel dans le diagnostic bactériologique des endocardites infectieuses

R. Boussier, F. Denis, F. Garnier
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

349 Mise au point d'une méthode de PCR en temps réel pour la détection de *Kingella kingae* dans les liquides articulaires

P. Lehours[3-1], O. Richer[2], F. Babre[2], P. Pillet[2], S. Boisset[4], A.M. Freydiere[4], A. Ferroni[5], C. Burucoa[6], F. Mégraud[3-1], A. Ménard[3-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie, CHU Pellegrin [2]Hôpital Des Enfants, CHU Pellegrin [3]Inserm U853, Bordeaux [4]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon [5]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris [6]Laboratoire de Microbiologie, CHU de Poitiers, EA 3807, Poitiers, France

350 Analyse des nouveaux cas de syphilis diagnostiqués de 2003 à 2006 au CHU de Nîmes

A. Minchella[2], A. Sotto[2], J.P. Lavigne[1]
[1]Service de Bactériologie [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Caremeau, Nîmes, France

351 Evaluation du test rapide Tetanos Fumouze (Sofibel) pour la détection des anticorps antitétaniques

C. Roure-Sobas, O. Raulin, L. Rego, H. Salord, F. Laurent, Y. Gille, S. Tigaud
Bactériologie, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France

352 *Helicobacter pylori* IgG: évaluation comparative de 29 dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* disponibles en France en 2008

N. Charlier-Bret[1], B. Boucher[1], T.D. Ly[5], C.J. Soussy[4], F. Zerbib[3], M. Duran Cordobes[1], M. Fromage[1], F. Poisson[1], A. Courillon Mallet[2], J.D. De Korwin[2], J.L. Fauchère[2], F. Mégraud[2], J. Raymond[2], J.C. Delchier[2]
[1]Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (Afssaps), DEDIM [2]Groupe d'étude français des Helicobacter [3]Hépatogastroentérologie, Hôpital St André, Bordeaux [4]Bactériologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil [5]Laboratoire Biomnis, Ivry-sur-Seine, France

353 Dépistage de la leptospirose : performance de la trousse Serion Elisa *classic* Leptospira IgM

S. Trombert-Paolantoni, P. Thomas, F. Hermet, V. Clairet, L. Maury
Microbiologie, Laboratoire Pasteur Cerba, Cergy Pontoise, France

354 Quantification de *Legionella pneumophila* par culture et par PCR-en temps réel sur des échantillons d'eaux de réseau

L. Cavalié[2], S. Pécastaings[4], J. Abrador[2], A. Baron[3], S. Hallier[1], C. Roques[2-4], N. Marty[2]
[1]Société GeneSystems, Bruz [2]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU [3]DDASS 31 [4]Laboratoire de Bactériologie, Faculté de pharmacie, Toulouse, France

355 Evaluation d'un milieu sélectif pour isolement de *Stenotrophomonas maltophilia*

C. De Gialluly, J. Rosin, V. Abraham, F. Lartigue, N. Van Der Mee, A.S. Domelier, R. Quentin
Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Trousseau, Tours, France

356 La mise au point d'un milieu sensible, spécifique et prédictif de recherche de *Stenotrophomonas maltophilia* dans l'environnement de soins

C.C. Adjidé[2], A. De Meyer[2], M. Weyer[2], O. Obin[2], F. Lamory[2], C. Lesueur[1], L. Trouillet[2], M. Biendo[2-1], O. Ganry[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Unité d'hygiène et d'épidémiologie hospitalière, Service d'hygiène d'épidémiologie et de santé publique, CHU, Amiens, France

66A	AFFICHE *Poster*	**HALL BORDEAUX**	**09:00 17:30**	jeudi *Thursday* **4** décembre *December*

EPIDÉMIOLOGIE VIRALE
VIRAL EPIDEMIOLOGY

357 Enquête sur la connaissance du statut immunitaire varicelle chez des étudiants du CHU de Poitiers

M. Méchain[2], M.P. Peltier[1], S. Ayraud-Thevenot[2], O. Castel[2]
[1]Santé au Travail, CHU La Milétrie [2]Équipe Opérationnelle d'Hygiène, CHU La Mitétrie, Poitiers, France

358 HHV6 en France. Evaluation du statut sérologique des patients hospitalisés

J.S. Casalegno, Y. Mekki, B. Lina
Laboratoire de Virologie, Centre de biologie et pathologie Est, Hôpital femme-mère-enfant, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

359 Surveillance de l'évolution des souches de rotavirus responsable de gastroentérites aiguës chez l'enfant de moins de 5 ans en France entre 2006 et 2008

A. de Rougemont[2], J. Kaplon[2], P. Lebon[10], M. Lorrot[9], E. Bingen[9], A. Gagneur[1], A. Tran[1], J.L. Stephan[12], S. Pillet[12], M. Rodière[7], V. Foulongne[7], L. Fourcade[5], S. Alain[5], N. Parez[8], C. N'Guyen Bourgain[8], D. Oriot[11], G. Agius[11], D. Floret[6], B. Lina[6], A. Martinot[4], D. Hober[4], F. Huet[3], D. Gendrel[10], P. Pothier[2]

[1]CHU de Brest, Brest [2]Centre National de Référence des virus entériques [3]Service de Pédiatrie, CHU de Dijon, Dijon [4]CHU de Lille, Lille [5]CHU de Limoges, Limoges [6]Hospices Civils de Lyon, Lyon [7]CHU de Montpellier, Montpellier [8]Hôpital Armand Trousseau, APHP [9]Hôpital Robert-Debré, APHP [10]Services de Pédiatrie et Laboratoires de Virologie, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, APHP, Paris [11]CHU de Poitiers, Poitiers [12]CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

360 Group A Rotavirus genomic diversity : Relationship between RNA electrophoretypes and VP7/VP4 genotypes detected between 2000 and 2007 in Tunisian children

A. Chouikha[5], M. Ben Hadj Fredj[10], I. Fodha[10], S. Ketata[10], I. Brini[11], F. Messaadi[7], M. Mastouri[4], T. Sfar[3], M. Hachicha[8], A. Bouaziz[6], F. Amri[2], A. Harbi[9], S. Bousnina[11], M. Zribi[7], N. Boujaafar[10], A. Trabelsi[10], A.D. Steele[1]

[1]MRC Diarrhoeal Pathogens Research Unit, Medical University of Southern Africa, Pretoria, Afrique du Sud [2]Pediatric Unit, University Hospital Ibn Al Jazzar, Kairouan [3]Pediatric Unit, University Hospital Tahar Sfar, Mahdia [4]Laboratory of Microbiology, University Hospital Fattouma Bourguiba [5]Laboratory of Transmitted Diseases (MDT-01), University of Pharmacy, Monastir [6]Pediatric Unit, University Hospital Tletli, Nabeul [7]Laboratory of Hygiene [8]Pediatric Unit, University Hospital Hedi Chaker, Sfax [9]Pediatric Unit [10]UR06SP20 Laboratory of Microbiology, Univerity Hospital Sahloul, Sousse [11]Pediatric Unit, Children's University Hospital, Tunis, Tunisie

361 Une épidémie de rage canine à Bangui (RCA)

E. Nakouné[1], M. Digol[1], S. Mangue[1], E. Bawa[1], S. Gosseye[2], A. Le Faou[1]

[1]Arboviroses, grippe, rage [2]Vaccinations, Institut Pasteur de Bangui, Bangui, République centrafricaine

362 Phylogenetic analysis of Echovirus 30 French isolates receals emergence of multiple new lineages and recombination events

N. Leveque[2], J. Jacques[2], F. Renois[2], D. Antona[3], B. Lina[1], L. Andreoletti[2]

[1]Virologie, Centre National de Référence des entérovirus, Lyon [2]Laboratoire de virologie médicale et moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Reims, (IFR 53/équipe EA infection et immunité de l'épithélium respiratoire), Faculté de Médecine, Reims [3]Département de Maladies Infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

363 Respiratory enteroviruses can induce a specific production of CC or CXC chemokines by human bronchial epithelial cells and eosinophils

J. Jacques[1-2], J. Roux[2], F. Renois[1-2], N. Leveque[1-2], L. Andreoletti[1-2]

[1]Laboratoire de Virologie médicale et moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire [2]IFR 53/équipe EA infection et immunité de l'épithélium respiratoire, Faculté de Médecine, Reims, France

364 A propos d'une épidémie de rougeole en Champagne-Ardennes

N. Leveque[4], F. Bureau-Chalot[6], V. Brodard[4], S. Alsibai[3], S. Touche[5], D. Waku-Kouomou[2], C. De Champs[7], F. Freymuth[1], L. Andreoletti[4]

[1]Virologie médicale et moléculaire, Centre national de référence associé au CNR de la rougeole, Caen [2]CNR, Centre National de Référence pour la Rougeole, Lyon [3]Cire Est, Cellule Interrégionale d'Epidémiologie Est (Cire Est), Nancy, Nancy [4]Laboratoire de Virologie médicale et moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Reims (IFR 53/équipe Avenir-EA), Faculté de Médecine de Reims [5]Médecine du Travail, CHU de Reims [6]Laboratoire d'Hygiène Hospitalière, Equipe opérationnelle d'hygiène hospitalière, Centre Hospitalier Universitaire de Reims [7]Bactériologie, Laboratoire de Bactériologie du CHU, Reims, France

365 Séroprévalence de trois agents de fièvre éruptive virale chez la femme enceinte du Centre Tunisien

N. Hannachi[1], M. Marzouk[1], S. Hidar[3], S. Elmhamdi[2], I. Harrabi[2], A. Ferjani[1], H. Khairi[3], H. Gannem[2], J. Boukadida[1]

[1]Laboratoire de Microbiologie et d'Immunologie, UR02SP13 [2]Service d'épidémiologie [3]Service de gynécologie obstétrique, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

67A	AFFICHE *Poster*	HALL BORDEAUX	09:00 17:30	jeudi *Thursday* 4 décembre *December*

VIRUS, CANCER, THÉRAPEUTIQUE
VIRUSES, CANCER, THERAPY

366 **Etude de la résistance du virus *Herpes simplex* de type 2 au cidofovir chez des patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine de type 1**

M. Guillet[2], C. Deback[2], D. Boutolleau[2], A. Foucher[1], V. Martinez[3], E. Caumes[1], H. Agut[2]
[1]Maladies Infectieuses et Tropicales [2]Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière AP-HP [3]Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris, France

367 **Involvement of tryptophan catabolism during HIV-1 infection in human macrophages: implications of kynurenine and serotonin pathways**

B. Maneglier[4-5], G.J. Guillemin[1], P. Clayette[3], P. Therond[4], P. Devillier[5], D. Dormont[2], O. Spreux-Varoquaux[4]
[1]Department of pharmacology, University of New South Wales, Sidney, Australie [2]Service de Neurovirologie, CEA [3]Laboratoire de Neurovirologie, SPI-BIO, Fontenay-aux-Roses [4]Pharmacologie, CHU de Versailles, Le Chesnay [5]UPRES EA 220, Hôpital Foch, Suresnes, France

368 **Les papillomavirus et le cancer du col, l'intérêt du génotypage au diagnostic et suivi des patientes infectées au CHU-Hospices Civils de Lyon**

Y. Mekki[3], J.S. Casalegno[3], M. Bouscambert-Duchamp[3], G. Lamblin[2], E. Piaton[1], P. Mathevet[2], B. Lina[3], F. Thivolet-Bejui[1]
[1]Centre de Pathologie Est [2]Gynécologie Obstétrique [3]Laboratoire de Virologie Est, CHU-HCL, Lyon, France

369 **Intégration clonale d'un nouveau Polyomavirus dans les carcinomes de Merkel**

H. Laude[2], M. Peter[4], M.F. Avril[3], A. Carlotti[1], B. Radenen-Bussière[1], X. Sastre-Garau[4], M.C. Vacher-Lavenu[1], P. Lebon[2], N. Dupin[3], F. Rozenberg[2]
[1]Laboratoire d'Anatomopathologie [2]Laboratoire de Virologie [3]Service de Dermatologie, Groupe hospitalier Cochin-Saint-Vincent de Paul [4]Laboratoire d'Anatomopathologie, Institut Curie, Paris, France

370 **Relevance of HPV mRNA detection in a population of ASCUS/LSIL/HSIL women using the NucliSENS EasyQ HPV assay**

A. Agostini[3], D. Benmoura[2], B. Blanc[4], H. Khiri[4], G. Pénaranda[1], P. Halfon[4]
[1]Biostatistiques, CDL Pharma [2]Hôpital Ambroise Paré [3]Hôpital La Conception [4]Laboratoire Alphabio, Marseille, France

68A	AFFICHE *Poster*	HALL BORDEAUX	09:00 17:30	jeudi *Thursday* 4 décembre *December*

VIRUS ET HÉPATITES
VIRUSES AND HEPATITIS

371 **Faut-il rechercher une hépatite B occulte chez les patients infectés par le virus VIH ?**

S. Marque Juillet[3], K. Benghalia[1], S. Monnier[2], C. Fernand-Laurent[3], M.C. Mazeron[4], M. Harzic[3]
[1]Hépato-Gastroentérologie [2]Médecine Interne [3]Microbiologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay [4]Microbiologie, CHU Lariboisière, Paris, France

372 **Génotypage du virus de l'hépatite B dans la région du Centre Tunisien**

N. Hannachi[1], N. Ben Fredj[1], O. Bahri[2], M. Marzouk[1], A. Ferjani[1], H. Triki[2], J. Boukadida[1]
[1]Laboratoire de microbiologie et d'immunologie, UR02SP13, CHU Farhat Hached, Sousse [2]Laboratoire de virologie clinique, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie

373 Réactivation d'une infection par le virus de l'hépatite C, 44 mois après l'arrêt du traitement

Y. Baazia[2], C. Alloui[2], S. Brichler[2], M. Bentata[1], E. Gordien[2]
[1]Service des maladies infectieuses, unité Sida, Hôpital Avicenne, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris [2]Laboratoire de bactériologie, virologie, hygiène, Hôpital Avicenne, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris ; Université Paris 13, Bobigny ; Laboratoire associé au centre national de référence des hépatites B, C et Delta, Bobigny, France

374 Séroprévalence des hépatites virales C chez les populations à risque dans l'Est Algérien

H. Mahdjoub[1-3], B. Larouzé[3], A. Segueni[2], D.E. Abdennour[2], S. Tebbal[1]
[1]Maladies Infectieuses, Batna [2]Maladies Infectieuses, Université-CHU, Constantine, Algérie [3]Unité 13, Inserm-IMEA, Paris, France

375 Génotypage du virus de l'hépatite C : comparaison du test Abbott RealTime HCV Genotype II au séquençage de la région NS5B

A.M. Roque-Afonso, E. Marchadier, P. Vaghefi, E. Dussaix
Virologie, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

376 Etiopathologie du carcinome hépatocellulaire en République Centrafricaine

C. Bekondi[3], T. Mobima[2], J.O. Ouavènè[1], B. Koffi[4], X. Konamna[3], A. Le Faou[3]
[1]Service de Gastroentérologie [2]Service de Radiologie et d'Imagerie Médicale, Hôpital de l'Amitié [3]Laboratoire des Hépatites virales, Institut Pasteur de Bangui [4]Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique, Laboratoire de Biologie Clinique et de Santé Publique, Bangui, République centrafricaine

377 Influence of insulin resistance on hepatic fibrosis and steatosis in HIV-HCV co-infected compared to HCV monoinfected patients

P. Halfon[7], G. Pénaranda[5], F. Carrat[9], P. Bédossa[2], M. Bourlière[6], D. Ouzan[11], C. Renou[4], A. Tran[8], E. Rosenthal[8], C. Wartelle[1], P. Delasalle[3], P. Cacoub[10]
[1]Hépato-Gastroentérologie, Hôpital du Pays d'Aix, Aix-en-Provence [2]Anatomopathologie, Hôpital Beaujon, Clichy [3]Cabinet d'Hepato-Gastro, Grasse [4]Hépato-Gastroentérologie, Hôpital d'Hyères, Hyères [5]Biostatistiques, CDL Pharma [6]Hépato-Gastroentérologie, Hôpital Saint-Joseph [7]Laboratoire Alphabio, Marseille [8]Hépato-Gastroentérologie, Hôpital de l'Archet, Nice [9]UMR-S707, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris [10]Médecine interne, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris [11]Hépato-Gastroentérologie, Institut Arnault Tzanck, Saint-Laurent-du-Var, France

378 Insulin resistance impairs sustained response rate to Peginterferon plus Ribavirin in HIV-HCV co-infected patients: HOMAVIC-ANRS HC-02 study

P. Cacoub[6], F. Carrat[7], P. Bédossa[1], J. Lambert[7], G. Pénaranda[3], C. Perronne[2], S. Pol[5], P. Halfon[4]
[1]Anatomopathologie, Hôpital Beaujon, Clichy [2]Maladies Infectieuses, Hôpital Raymond Poincaré, Garches [3]Biostatistiques, CDL Pharma [4]Laboratoire Alphabio, Marseille [5]Hépato-Gastroentérologie, Hôpital Cochin [6]UMR 7087, Hôpital Pitié-Salpêtrière AP-HP [7]UMR-S707, Université Paris 6 - AP-HP, Paris, France

379 Caractérisation de l'efficacité du Ténofovir disoproxyl fumarate sur l'hépatite B dans la co-infection VIH-VHB

H. Stitou[1], V. Thibault[2], M.A. Valantin[1], A. Canestri[1], S. Dominguez[1], R. Tubiana[1], C. Katlama[1]
[1]Maladies infectieuses et tropicales [2]Virologie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

INFECTIONS PÉDIATRIQUES
PAEDIATRIC INFECTIONS

380 Attitude des parents en cas de fièvre du nourrisson et de l'enfant : étude prospective nationale sur 6598 épisodes (étude FEBRIKID)

M. Chalumeau[3-4], E. Fournier Charrière[1], N. Mourdi[4], G. Pons[4-2]
[1]Pédiatrie Générale, Hôpital de Bicêtre, APHP, Le Kremlin Bicêtre [2]Pharmacologie Clinique, GH Cochin-Saint-Vincent-de-Paul, APHP [3]Laboratoire d'Epidémiologie Clinique, Pédiatrie Générale, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, APHP [4]Université Paris Descartes, Paris, France

381 Infections urinaires communautaires de l'enfant : étude AFORCOPI-BIO 2007

D. De Mouy[1], A. Mérens[3-2], J.D. Cavallo[3-2], J.L. Galinier[1], R. Fabre[1], M. Simon[1], I. Naepels[1], G. Payro[1], N. Courtiols[1], M. Baynat[1], D. Gontier[1], J. Pfeffer[1]
[1]Réseau, AFORCOPI-BIO [2]Ecole du Val-de-Grâce, Paris [3]Biologie médicale, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

382 L'incidence de l'otite moyenne aiguë en France chez les enfants de 0-6 ans

M. François[2], O. Romain[3], T. Lery[1], F. Nachit-Ouinekh[1]
[1]Laboratoire GSK, Marly-le-Roi [2]Service ORL, Hôpital Robert Debré [3]Pédiatre, Paris, France

383 Surveillance of *Haemophilus influenzae* isolated in Portuguese children (2000-2007)

M.P. Bajanca, M.D. Louro, M.M. Caniça, et Arsip (Antibiotic Resistance Surveillance Programme In Portugal)
Department of Infectious Diseases, National Institute of Health, Dr Ricardo Jorge, Lisbon, Portugal

384 Evaluation de l'impact des gastro-entérites à rotavirus en médecine de ville chez l'enfant de moins de 5 ans (étude SPRIK)

N. Parez[2], O. Mory[4], N. Texier[3], C. Philippe[3], B. Tehard[1]
[1]Laboratoire GlaxoSmithKline, Etudes en Economie de la Santé, Marly-le-Roi [2]Urgences pédiatriques, Hôpital d'enfants Armand Trousseau [3]Service d'épidémiologie, Kappa Santé, Paris [4]Service de Pédiatrie, Hôpital Nord-CHU, Saint-Etienne, France

385 Enquête sur la perception des gastro-entérites et la vaccination des gastro-entérites à rotavirus auprès des mères en France

H. Haas[2], B. Virey[1], J.P. Olives[4], P. Klein[3]
[1]Pédiatre, Dijon [2]Urgences Pédiatriques, CHU de Nice, Hôpital L'Archet 2, Nice [3]Ipsos, Paris [4]Service de Pédiatrie, CHU de Toulouse, Hôpital des Enfants, Toulouse, France

386 Evaluation de l'impact des gastro-entérites à rotavirus en médecine de ville chez l'enfant de moins de 5 ans (étude SPRIK). Focus chez les nourrissons de 0 à 6 mois

N. Parez[2], O. Mory[4], N. Texier[3], C. Philippe[3], B. Tehard[1]
[1]Laboratoire GlaxoSmithKline, Etudes en Economie de la Santé, Marly-le-Roi [2]Urgences pédiatriques, Hôpital d'enfants Armand Trousseau [3]Service d'épidémiologie, Kappa Santé, Paris [4]Service de Pédiatrie, Hôpital Nord-CHU, Saint-Etienne, France

387 Neonatal *Citrobacter koseri meningitis* with brain abscess

M.F. Prère[1], J.B. Rieu[1], O. Baron[1], E. Cheuret[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Unité de neurologie, infectiologie, CHU de Toulouse, Hôpital des Enfants, Toulouse, France

388 Quand les résistances bactériennes retardent la bonne prise en charge thérapeutique : à propos d'un cas de méningite néonatale à *E. coli* producteur de Bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE)

C. Hippy-Muller[4], B. Pigeon[3], S. Enchery[3], S. Caudrelier[3], M. Glowacki[3], S. Delahaye[2], C. Bonenfant[4], R. Parsy[1]
[1]Equipe Opérationnelle d'Hygiène [2]Laboratoire [3]Pédiatrie [4]Pharmacie, Centre Hospitalier d'Armentières, Armentières, France

389 Cas clinique : infection néonatale à *Herpes simplex* de type 1 suite à une contamination intra-utérine

G. Billaud[2], V. Escuret[2], M. Bouscambert-Duchamp[2], Y. Mekki[2], R. Bouvier[1], C. Clamadieu[3], O. Claris[3], B. Lina[2]
[1]Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CBPE [2]Laboratoire de Virologie, CBPE [3]Servie de Néonatologie, HFME, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

SESSIONS D'AFFICHES
POSTER SESSIONS

Vendredi 5 décembre
Friday December 5

RICAI

Vendredi 5 décembre
Friday December 5

Heure	Réf	Session	Salle
09:00-16:30	70A	INFECTIONS NOSOCOMIALES	HALL BORDEAUX
09:00-16:30	71A	INFECTION DU SITE OPÉRATOIRE	HALL BORDEAUX
09:00-16:30	72A	PRATIQUE ET ÉVALUATION DE L'ANTIBIOTHÉRAPIE	HALL BORDEAUX
09:00-16:30	73A	EPIDÉMIOLOGIE BACTÉRIENNE : SURVEILLANCE, TRANSMISSION (II)	HALL BORDEAUX
09:00-16:30	74A	TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE	HALL BORDEAUX
09:00-16:30	75A	ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE *IN VITRO* DES ANTIBIOTIQUES	HALL BORDEAUX
09:00-16:30	76A	ANTIBIOTIQUES : APPROCHES MÉTHODOLOGIQUES	HALL BORDEAUX
09:00-16:30	77A	RISQUES INFECTIEUX	HALL BORDEAUX
09:00-16:30	78A	INFECTION À VIH	HALL BORDEAUX
09:00-16:30	79A	INFECTIONS COMMUNAUTAIRES (EXOTIQUES, RARES...)	HALL BORDEAUX
09:00-16:30	80A	ACTUALITÉS DIAGNOSTIQUES ET THÉRAPEUTIQUES EN PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE	HALL BORDEAUX

INFECTIONS NOSOCOMIALES
NOSOCOMIAL INFECTIONS

390 HFME : un nouvel hôpital à Lyon
Prévenir le risque de légionelloses nosocomiales
M. Reyrolle[1], S. Jarraud[1], F. Vandenesch[1], J. Etienne[1], J. Grando[2], R. Beron[3], J. Droguet[3]
[1]Centre National de Référence des Légionelles [2]Equipe d'hygiène, Bron [3]Direction des services techniques, Lyon, France

391 Quelle alimentation choisir pour les patients greffés médullaires ?
L'expérience des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS)
T. Mutel, J. Foeglé, C. Hernandez, O. Bourneton, A. Freyd, T. Lavigne
Equipe Opérationnelle d'Hygiène, Hopitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

392 Prescription, consommation et coût de l'antibiothérapie au CHU Annaba en 2007
A. Trima[1], F. Boussaha[3], F. Belhani[2]
[1]Maladies Infectieuses [2]Pharmacie Centrale [3]Pharmacie Ibn Sina, CHU Annaba, Annaba, Algérie

393 Incidence des infections nosocomiales liées aux cathéters centraux dans un service de néonatologie
B. Salauze[2-1], A. Wallet[3], D. Mitanchez[3], F. Gold[3], H. Vu-Thien[2]
[1]Equipe Opérationnelle d'Hygiène [2]Service de Microbiologie [3]Service de Néonatologie, Hôpital Trousseau (APHP), Paris, France

394 Etude des facteurs prédictifs d'acquisition d'une souche épidémique d'*Escherichia coli* productrice de Bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE)
C. Barbe[2], A. Fusellier[2], F. Vitry[1], V. Vernet-Garnier[2], F. Bureau-Chalot[2], C. De Champs[2], O. Bajolet[2]
[1]Centre de Recherche, d'Investigation Clinique et d'Aide Méthodologique [2]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Reims, Reims, France

395 Contamination microbienne d'une salle de kinésithérapie respiratoire accueillant des patients atteints de mucoviscidose
C. Jansen, N. Breton, O. Roth, P.Y. Allouch
Hygiène Hospitalière, Centre Hospitalier de Versailles, Versailles, France

INFECTION DU SITE OPÉRATOIRE
SURGICAL SITE INFECTIONS

396 Impact de la méthode de surveillance sur le taux d'infection du site opératoire (ISO) après pontages coronariens (PC)
C. Leprince[2], C. Bourigault[2], S. Corvec[2-4], M. Picard[2], P. Despins[3], D. Duveau[3], Y. Blanloeil[1], A. Reynaud[2-4], D. Lepelletier[2-4]
[1]Anesthésie-Réanimation [2]Bactériologie-Hygiène [3]Institut du Thorax, CHU de Nantes [4]Université de Nantes -Thérapeutiques Cliniques et Expérimentales des Infections, EA3826, UFR de Médecine., Nantes, France

397 Optimisation de la détection des infections de site opératoire dans le service d'orthopédie traumatologie de l'hôpital BonSecours (CHR de Metz-Thionville)
M. Llorens[1], J. Sellies[1], M.B. Irrazi[2], C. Cuny[2]
[1]Service d'hygiène hospitalière [2]Service d'orthopédie traumatologie, CHR Metz Thionville, Metz, France

398 **Le dépistage en ambulatoire des patients porteurs de *Staphylococcus aureus* ou présentant une colonisation urinaire devant bénéficier d'une chirurgie orthopédique réglée en ambulatoire est-il réaliste ?**

O. Bajolet[1], E. Toussaint[1], S. Diallo[2], V. Vernet-Garnier[1], B. Cambresy[2], N. Oud[1], S. Rieger[2], E. Dehoux[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Service d'Orthopédie-Traumatologie, CHU de Reims, Reims, France

399 **Les infections du site opératoire en orthopédie et traumatologie au CHU d'Annaba: aspects épidémio-cliniques et thérapeutiques**

N. Messalhi, A. Mammeri, K. Amoura, R. Atia, M. Laouar
Maladies Infectieuses, CHU, Annaba, Algérie

400 **Incidence des complications infectieuses des gastrostomies percutanées endoscopiques au centre hospitalier de Pontoise**

P. Martres[2], A. Fleury[1], G. Blanchard[2], M. Thibault[2]
[1]Endoscopies Digestives [2]Microbiologie, Centre Hospitalier René Dubos, Pontoise, France

72A	AFFICHE *Poster*	**HALL BORDEAUX**	**09:00 16:30**	vendredi *Friday* **5** décembre *December*

PRATIQUE ET ÉVALUATION DE L'ANTIBIOTHÉRAPIE
PRACTICE AND EVALUATION OF ANTIBIOTHERAPY

401 **Du bon usage de l'intervention pharmaceutique en Infectiologie**

S. Diallo[3], C. Fournel[3], M. Chaumont[3], A. Therby[2], B. Pangon[1], B. Maneglier[4-5], C. Billon[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Médecine Interne et Maladies Infectieuses [3]Pharmacie [4]Unité de Pharmacologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay [5]UFR Médicale Paris Ile-de-France Ouest, Paris, France

402 **Le bon usage des aminosides : évaluation des pratiques professionnelles appliquée au champ pharmaceutique**

C. Fournier[4], H. Lanquetot[5], M. Paccalin[1], M. Renaud[3], F. Roblot[2], A. Veinstein[6], A. Dupuis[4]
[1]Service gériatrie [2]Service maladies infectieuses [3]Service oncologie-hématologie [4]Service pharmacie [5]Service réanimation cardio-thoracique [6]Service réanimation médicale, CHU la Milétrie, Poitiers, France

403 **Bon usage des antibiotiques : impact de l'évaluation des pratiques professionnelles dans la prise en charge des pneumopathies aiguës communautaires**

A. Minchella[3-2], C. Lechiche[3], H. Poujol[2], N. Molinari[1], A. Sotto[3]
[1]Département de Biostatistiques [2]Pharmacie [3]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Caremeau, Nîmes, France

404 **Intérêt de l'association des macrolides aux Bêta-lactamines pour le traitement des pneumonies communautaires de l'adulte à *Streptococcus pneumoniae* avec bactériémie**

F. Afarni[5], A. Rabbat[2], J.R. Zahar[4-3], J. Loubinoux[1], A. Ben Ali[5]
[1]Microbiologie [2]Pneumologie, CHU Hôtel Dieu [3]Equipe Mobile d'infectiologie [4]Microbiologie Hygiène Hospitalière, CHU Necker-Enfants Malades [5]Microbiologie, Hôpital Saint Joseph, Paris, France

405 **Antibiothérapie (ABT) des pneumopathies aiguës communautaires (PAC) en médecine au CHU de Caen : évaluation de la conformité au référentiel et du risque cardio-toxique**

M. Pakenham[1], G. Gras[1-5], E. Bergot[4], B. Le Chevalier[3], D. Cohen[2], R. Verdon[1]
[1]Maladies Infectieuses et Tropicales [2]Médecine Générale [3]Médecine Polyvalente [4]Pneumologie, CHU, Caen [5]Médecine Interne, CHG, Lisieux, France

406 **Les antibiothérapies prescrites pour bactériémie : évaluation des pratiques et de la désescalade thérapeutique**

M. Lelieur, S. Hendricx
Laboratoire, Centre Hospitalier, Douai, France

407 Utilité du conseil en antibiothérapie dans un hôpital général

L. El Hajj[4], P. Foliot[3], M. Ngouffi Penka[2], J.L. Saraux[2], et tout le Groupe de la Comai[1]
[1]Commission des Anti-Infectieux [2]Service de Médecine Interne [3]Service de Pharmacie [4]Unité de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Simone Veil, Eaubonne, France

408 Evaluation de l'utilisation de la lévofloxacine au CHU de Nîmes

A. Minchella[2], F. Lafaille[1], C. Lechiche[2], A. Sotto[2]
[1]Service de Pharmacie [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Caremeau, Nîmes, France

409 Mise en place d'outils d'aide à la prescription des antibiotiques dans les établissements de santé (ES) des Pays de la Loire : création d'un thésaurus régional de protocoles d'antibiothérapie

F. Ollivier[3-5], D. Feldman[2], M.L. Joly-Guillou[1], P. Abgueguen[1], G. Potel[3-2-5], F. Ballereau[3-5-4]
[1]CHU Angers, Angers [2]CRMDM, ARH Pays de la Loire [3]MedQual, CHU Nantes [4]Département de Phamacie clinique et Santé Publique [5]UPRES EA 3826, Université Nantes, Nantes, France

410 Concentrations de minocycline dans l'os infecté

V. Zeller[1], M.D. Kitzis[3], W. Graff[1], L. Lhotellier[1], P. Leclerc[1], F. Ducroquet[1], P. Mamoudy[1], N. Desplaces[2-1]
[1]Service d'Orthopédie et de Traumatologie, GH Diaconnesses Croix Saint Simon [2]Laboratoire de Biologie Médicale, GH Diaconnesses-Croix Saint Simon [3]Service de Microbiologie Médicale, GH Paris Saint Joseph, Paris, France

411 Pharmacocinétiques du linézolide (LZD) chez des patients avec brûlures sévères

R. Le Floch, C. Vinsonneau, A.M. Lovering, J. Stephanazi, L. Hovsepian, G. Birraux, P. Bret
Brûlés, CHU de Nantes, Nantes, France

412 Traitements récents par phagothérapie de trois infections en échec après antibiothérapie

J. Garnier[3], A. Khawaldeh[2], O. Patey[3], S. Morales[1], J. Iredell[2], A. Dublanchet[3]
[1]Special Phage Service, Brookval [2]Center of Infectious Diseases and Microbiology, Westmead Hospital, Sydney, Australie [3]Maladies Infectieuses et Tropicales, Centre Hospitalier, Villeneuve St Georges, France

413 Entérocoque résistant aux glycopeptides : peut-on gérer la sortie de crise ?

O. Bajolet[1], A. Wynckel[2], O. Remiet[1], V. Duval[1], T. Guillard[1], V. Vernet-Garnier[1], C. De Champs[1], P. Rieu[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Service de Néphrologie, CHU de Reims, Reims, France

vendredi *Friday*	**5**	décembre *December*	**09:00 16:30**	**HALL BORDEAUX**	AFFICHE *Poster*	**73A**

EPIDÉMIOLOGIE BACTÉRIENNE : SURVEILLANCE, TRANSMISSION (II)
BACTERIAL EPIDEMIOLOGY: SURVEILLANCE, TRANSMISSION (II)

414 Distribution among genetic clusters of the *Enterobacter cloacae* complex of strains isolated from infected orthopaedic implanted material

P.C. Morand[3], A. Billoet[3], V. Sivadon-Tardy[1], M. Rottman[2], A. Tazi[3], L. Eyrolle[5], L. Jeanne[5], P. Anract[4], J.P. Courpied[4], C. Poyart[3], V. Dumaine[4]
[1]Microbiologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt [2]Microbiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches [3]Bactériologie [4]Chirurgie Orthopédique [5]Département d'anesthésiologie, GH Cochin Saint Vincent de Paul, Paris, France

415 Sensibilité aux antibiotiques des *Eschericia coli* isolés d'infections urinaires communautaires à Elbeuf et son agglomération (Normandie)

R. Fabre, B. Maurer, G. Epifanoff, F. Cerutti, H. Pupin, D. Tardif, I. Ternois
Label Bio, Elbeuf, France

416 Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Senftenberg, Kentucky and Ohio isolates producing CTX-M-3 â-lactamases from Constantine, Algeria

T. Naas[2], C. Bentchouala[1], S. Lima[2], A. Lezzar[1], F. Smati[1], J.M. Scheftel[3], P. Nordmann[2]
[1]Service de Microbiologie, CHU Constantine, Constantine, Algérie [2]Hôpital de Bicêtre, Faculté de Médecine Paris-Sud, Inserm U914, Emerging Resistance to Antibiotics, Le Kremlin-Bicêtre [3]Laboratoire de Bactériologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

417 Prévalence des souches de *Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* productrices de β-lactamases à spectre étendu de type CTX-M à l'hôpital Bretonneau, CHRU de Tours

A. Grillon, L. Yzon, V. Morange, A. Holstein, G. Baty, M.F. Lartigue, L. Mereghetti, A. Goudeau, P. Lanotte
Service de Bactériologie-Virologie, CHRU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France

418 Prévalence des 16S rRNA méthylases parmi les entérobactéries productrices de Bêta-lactamase à spectre étendu

B. Berçot[1-2], L. Poirel[1], P. Nordmann[1]
[1]Service de Bactériologie-Virologie, Inserm U914 « Résistances émergentes aux antibiotiques », Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine et Université Paris XI, Le Kremlin-Bicêtre [2]Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris VII, Paris, France

419 Etude épidémiologique comparative de souches de *Escherichia coli* productrices de BLSE de type CTX-M et non CTX-M

P. Duboc, J.L. Pons, S. Boyer
Service de Bactériologie, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

420 L'hôpital participe-t-il à la diffusion des souches de *E. coli* BLSE ?

P. Grohs[2], G. Kac[1], I. Frazier[1], A. Castano[2], G. Meyer[3], I. Podglajen[2]
[1]Hygiène hospitalière [2]Microbiologie [3]Pneumologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

421 Evolution de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3e génération de 2000 à 2007 au Centre Hospitalier de Perpignan

M. Ferreyra, A. Eden, C. Miquel, P. Gueudet, E. Lecaillon
Pôle infectiologie, Hôpital Saint Jean, Perpignan, France

422 Facteurs de risques de portage d'entérobactéries sécrétrices de Bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE) chez les anciens porteurs

J.R. Zahar[3-1], F. Filley[4-3-1], D. Schnell[3-2], F. Mechaï[2-1], E. Lancien Mainot[3], F. Lanternier[2-1], P. Descamps[3], N. Degand[3], O. Corriol[4], X. Nassif[3-1], O. Lortholary[2-1]
[1]Equipe Mobile d'Infectiologie [2]Maladies Infectieuses et tropicales [3]Microbiologie Hygiène Hospitalière [4]Pharmacie Hospitalière, CHU Necker Enfants Malades, Paris, France

423 Epidémiologie des patients porteurs d'Entérobactéries sécrétrices de Bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE) isolée dans les 48 heures premières heures après l'admission

N. Lage-Ryk[3], E. Lancien Mainot[3], F. Taieb[3-1], F. Lanternier[2-1], A. Talbi[3], V. Masse[3-1], N. Degand[3], X. Nassif[3-1], O. Lortholary[2-1], J.R. Zahar[3-1]
[1]Equipe Mobile d'infectiologie [2]Maladies infectieuses et tropicales, CHU Necker Enfants Malades [3]Microbiologie-Hygiène Hospitalière, CHU Necker enfants Malades, Paris, France

424 Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries commensales des amérindiens du village isolé de Trois-Sauts (Sud-Guyane)

P.L. Woerther[2], F. Djossou[1], E. Ruppé[2], A. El Mniai[2], D. Skurnik[2], C. Angebault[2], M. Renard[7], R. Bettenger[7], M. Lescat[3], L. Epelboin[1], C. Dupont[4], D. Guillemot[4], E. Denamur[3], G. Arlet[5-6], A. Andremont[2]
[1]Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Général de Cayenne, Cayenne [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard [3]Inserm U722 et Université Paris 7 Denis Diderot, UFR de Médecine Site Xavier Bichat [4]Pharmacoépidémiologie et Maladies Infectieuses, Institut Pasteur [5]Service de Bactériologie et Inserm, U702, Hôpital Tenon [6]Université Paris 6–Pierre et Marie Curie, Site St-Antoine, Paris [7]Dispensaire de Trois-Sauts, Trois-Sauts, France

425 Présence concomitante des gènes *bla*$_{CTX-M-15}$, *bla*$_{OXA-1}$ et *aac(6')-Ib-cr* chez des entérobactéries fécales de deux enfants sains d'un village sénégalais isolé

E. Ruppé[2-3], P.L. Woerther[2-3], A. Diop[6-1], A.M. Sene[6-1], L.L. Pham[2], A. Da Costa[5], G. Arlet[5], A. Andremont[2-3], B. Rouveix[4-1]
[1]Association Kinkeliba [2]Centre National de Référence associé, Hôpital Bichat [3]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat, AP-HP [4]Pharmacologie Clinique, Hôpital Cochin [5]Faculté de Médecine St-Antoine, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France [6]Maison de Santé Pierre Fabre, Wassadou, Sénégal

426 Epidémiologie des entérobactéries productrices de Bêta-lactamase à spectre élargi à l'hôpital La Rabta de Tunis

S. Sammoud[2], H. Sakka[2], L. Ammari[1-1], N. Lassoued[2], M. Zribi[2], A. Masmoudi[2], C. Fendri[2]
[1]Maladies infectieuses [2]Microbiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

427 Caractérisation des souches de *Serratia marcescens* responsables d'infections nosocomiales dans un CHU tunisien

C. Harchay[2], H. Ben Abdallah[1], A. Ben Othman[3], R. Harrath[2], M. Aouni[2], M. Mastouri[2-1]
[1]Laboratoire de microbiologie, CHU Fattouma Bourguiba de Monastir [2]Laboratoire des substances biologiquement actives et des maladies transmissibles, Faculté de Pharmacie de Monastir, Monastir [3]Unité de recherche d'Helicobacter pylori, Hôpital la Rabta de Tunis, Tunis, Tunisie

428 Epidémie de *Klebsiella pneumoniae* productrices de la ß-lactamase CTX-M-15 dans un service de réanimation

A. Carrer[1], N. Fortineau[1], L. Lassel[1], M. Mansouri[1], N. Anguel[2], C. Richard[2], P. Nordmann[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie [2]Réanimation Médicale, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

429 Epidémiologie des entérobactéries sécrétrices de Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) au Centre Hospitalier de Grasse : évolution du 1er semestre 2005 au 1er semestre 2008

S. Léotard[2], N. Négrin[1]
[1]Hygiène [2]Laboratoire, Centre Hospitalier, Grasse, France

430 Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques à La Réunion : quelle évolution pour les entérobactéries multi-résistantes (EMR) en 10 ans au Centre Hospitalier Félix Guyon (CHFG) ?

O. Belmonte[1], D. Drouet[3], M.P. Moiton[4], Y. Lefort[3], J. Alba[2], M.C. Jaffar-Bandjee[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie et d'Hématologie [2]Pharmacie [3]Réanimation Polyvalente [4]Unité de Médecine Interne, CH Felix Guyon, Saint-Denis, France

431 Emergence des métallo-Bêta-lactamases chez *Pseudomonas aeruginosa* dans un hôpital tunisien (Sfax, 2007)

M. Rekik-Meziou, A. Znazen, M. Rekik, B. Mnif, S. Mezghani Maalej, F. Mahjoubi, A. Hammami
Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

432 Résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* en pratique de ville : enquête de 4 mois sur le territoire national

C. Quentin[2], V. Dubois[2], P. Coquet[2], C. André[2], les membres du Réseau Epiville-France[1]
[1]Les laboratoires d'Analyses Médicales du Réseau [2]UMR 5234, CNRS, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France

433 Evolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques : 2002-2006

A. Minchella[3], L. Molinari[1], S. Alonso[1], J.P. Lavigne[2], A. Sotto[3], N. Bouziges[2]
[1]Département de Biostatistiques [2]Service de Bactériologie [3]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Caremeau, Nîmes, France

434 Epidémiologie et sensibilité aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans les hôpitaux du Nord-Pas-de-Calais

C. Cattoen[4], D. Descamps[1], M. Roussel-Delvallez[2], A. Vachée[3]
[1]Biologie, Centre Hospitalier, Béthune [2]Bactériologie-Hygiène, CHRU, Lille [3]Biologie, Roubaix [4]Microbiologie, Centre Hospitalier, Valenciennes, France

435 Profil bactériologique de la colonisation infection des voies respiratoires en milieu de réanimation

H. Ben Abdallah[1], M.A. Essaadi[1], A. El Argoubi[1], Y. Kaadri[1], S. Noomen[1], M. Guahbiche[2], F. Abroug[3], M. Mastouri[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie [2]Service de réanimation anesthésie [3]Service de réanimation polyvalente, CHU Fattouma Bourguiba de Monastir, Monastir, Tunisie

436 Transmission de salmonelles productrices de Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) au sein de deux familles ayant adopté un enfant à l'étranger

D. Tandé[1-3], S. Boirasmé[2], S. Gouriou[3], T. Naas[4]
[1]Laboratoire de Microbiologie [2]Service d'Odontologie, CHU Brest [3]EA 3882, Université Bretagne Occidentale, Brest [4]Laboratoire de Microbiologie, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

437 Infections urinaires à *Salmonella* non *typhi* : rapport de 6 cas

L. Jaouadi[3], S. Ketata[3], M. Mastouri[1], R. Ben Nsir[2], N. Zouari[4], J. Chemli[4], N. Boujaafar[3]
[1]Service de Microbiologie, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir [2]Service d'Urologie [3]Service de Microbiologie [4]Service de Pédiatrie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie

438 Surveillance de la résistance aux céphalosporines de troisième génération chez les salmonelles d'origine non humaine en France : données 2007

S.A. Granier, J. Grout, S. Fremy, C. Oudart, C. Piquet, C. Pires-Gomes, C. Danan, A. Brisabois
Unité CEB, AFSSA-Lerqap, Maisons-Alfort, France

439 Characters, virulence and clonality of *Shigella* strains isolated in the centre of Tunisia

A. Ferjani, S. Mhalla, N. Ben Saida, M. Marzouk, J. Boukadida
Laboratoire de microbiologie et d'immunologie UR02SP13, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie

440 Dix ans de tuberculose XDR en France : incidence et facteurs de risque

E. Kanitz[2], N. Veziris[2], V. Jarlier[2], M.C. Gutierrez[1], J. Robert[2], pour le Réseau du CNR-Myrma[2]
[1]Département Infection et Epidémiologie, Institut Pasteur [2]Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux, Bactériologie-Hygiène, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, APHP, Pitié-Salpêtrière, Paris, France

441 Emergence d'infections à *Clostridium difficile* de PCR-ribotype 027 et consommation de certains antibiotiques : un lien dans les établissements de santé de l'interrégion Nord ?

G. Birgand[1], C. Carbonne[1], L. Lacave[1], B. Coignard[3], K. Blanckaert[1], F. L'heriteau[1], F. Barbut[2], P. Astagneau[1]
[1]CCLIN Paris-Nord [2]Laboratoire Clostridium difficile associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme, Hôpital Saint Antoine [3]Institut de veille sanitaire, Paris, France

442 Evolution des souches de *Clostridium difficile* en France, 2006-2008 : diminution du clone épidémique 027 et émergence des souches de toxinotype V

C. Eckert[5], D. Chassaing[5], P. Boquet[3], L. Lemée[6], P. Bouvet[4], H. Marchandin[1], F. Mory[2], N. Marty[8], B. Burghoffer[5], B. Coignard[7], F. Barbut[5]
[1]Hôpital A. De Villeneuve, Montpellier [2]Hôpital Central, Nancy [3]Hôpital de l'Archet, Nice [4]CNR des bactéries anaérobies et du botulisme [5]Laboratoire associé Clostridium difficile, Paris [6]CHU Charles Nicolle, Rouen [7]Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice [8]CHU de Toulouse, Toulouse, France

443 Recherche de toxines de *Clostridium difficile* : outil d'alerte et de surveillance au CHU de Limoges

N. Pestourie, H. Bachellerie, O. Barraud, F. Garnier, N. Hidri, C. Martin, M.C. Ploy, F. Denis, M. Mounier
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

444 Détection rapide au laboratoire des souches de *C.difficile* (CD) productrices de la toxine binaire

M. Thibault[2], A.S. Goetgheluck[1]
[1]Bactériologie, CH d'Abbeville, Abbeville [2]Bactériologie, CH René Dubos, Pontoise, France

445 Observatoire de la résistance des micro-organismes aux anti-infectieux en Côte d'Ivoire (ORMICI) : prévalence des bactéries multi-résistantes en 2007

V.C. Gbonon[2], N. Guessennd[2], A. Kacou-N'douba[3], C. Boni-Cissé[1], H. Faye-ketté[1], M. Dosso[4]
[1]Laboratoire central, CHU Yopougon [2]CNR Résistance aux antibiotiques [3]Unité de Biologie Clinique, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire [4]Président, ORMICI, Abidjan, Côte d ivoire

446 MedQual, centre régional d'information et de ressources pour le bon usage des produits de santé. Action « anti-infectieux »

S. Thibaut[1], M. Pajot[1], F. Ollivier[1], P. Lombrail[1-2], G. Potel[1-3-5], F. Ballereau[1-2-5-4]
[1]MedQual [2]PIMESP [3]Urgences, CHU [4]Département de Pharmacie Clinique et Santé Publique [5]UPRES EA 3826, Université, Nantes, France

vendredi *Friday*	**5**	décembre *December*	**09:00 16:30**	**HALL BORDEAUX**	AFFICHE *Poster*	**74A**

TECHNIQUES DE DIAGNOSTIC VIROLOGIQUE
VIRAL DIAGNOSTIC TECHNIQUES

447 Evaluation de 4 tests de diagnostic rapide du VIH chez les patients suivis en consultation à l'hôpital Robert Ballanger d'Aulnay-sous-Bois

C. Visseaux[1], J.L. Delassus[2], R. Sablé[2], D. Malbec[2], H. Porcheret[1], L. Maisonneuve[1]
[1]Service de Biologie Médicale [2]Service de Médecine Interne-Infectiologie-Endocrinologie, CH Robert Ballanger, Aulnay-Sous-Bois, France

448 Intérêt de la PCR dans le diagnostic de l'oesophagite herpétique

N. Leveque[4], E. Frobert[1], R. Guedec[2], A. Lukaszewiez[2], G. Thiéfin[3], L. Andreoletti[4], V. Brodard[4], M.D. Diebold[2]
[1]Laboratoire de Virologie, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon [2]Laboratoire d'anatomopathologie [3]Service de Gastro-entérologie, Centre Hospitalier Universitaire de Reims [4]Laboratoire de virologie médicale et moléculaire/EA infection et immunité de l'épithélium respiratoire, Centre Hospitalier Universitaire de Reims, IFR 53, Faculté de médecine de Reims, Reims, France

449 Evaluation de la quantification du cytomégalovirus dans le sang par le test de PCR en temps réel CMV R-gene® (Argene, France)

S. Marque Juillet[3], A. Touzart[3], C. Fernand-Laurent[3], A. Therby[2], S. Rigaudeau[1], M. Harzic[3]
[1]Hématologie-oncologie [2]Médecine Interne [3]Microbiologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

450 Evaluation de la plate-forme de PCR en temps réel LightCycler (LC) 480 pour la mesure des charges virales CMV, EBV, HHV-6 et BKV dans le sang total

C. Deback[1-2], J. Geli[1-2], Z. Ait Arkoub[1], F. Angleraud[1], A. Gautheret-Dejean[1-2-3], H. Agut[1-2], D. Boutolleau[1-2]
[1]Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP [2]UPRES EA 2387, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6 [3]Laboratoire de Microbiologie, UPRES EA 4065, Université René Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France

451 Comparaison de la trousse LightCycler® CMV Quant Kit (Roche Diagnostics) avec une PCR « maison » standardisée pour la quantification du CMV sur sang total

S. Alain[2-1], V. Lachaise[1], S. Hantz[2-1], F. Denis[2-1]
[1]CNR CMV, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU [2]JE Avenir Inserm, Faculté de Médecine, Limoges, France

452 Utilisation du papier buvard pour le diagnostic sérologique et moléculaire du virus de l'hépatite A

D. Desbois, A.M. Roque-Afonso, P. Lebraud, E. Dussaix
Laboratoire de Virologie, Centre National de Référence pour les Virus à Transmission Entérique, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

453 **Dépistage et typage des infections à HPV par technique INNO-LIPA sur milieu liquide Labonord après extraction QIAamp DNA Blood Mini Kit Qiagen et Nuclisens easyMAG Biomérieux**

S. Hantz[3], M. Goudard[3], J. Renaudie[4], C. Dussartre[2], D. Bakeland[1], F. Denis[3], S. Alain[3]
[1]Cabinet d'anatomie pathologique Bakeland, Guéret [2]Cabinet d'anatomie pathologique Dussartre Gilquin [3]Laboratoire de Bactériologie-Virologie, EA3175, CHU [4]Service de Gynécologie, Clinique du Colombier, Limoges, France

75A	AFFICHE *Poster*	**HALL BORDEAUX**	**09:00 16:30**	vendredi *Friday* **5** décembre *December*

ACTIVITÉ ANTIBACTÉRIENNE *IN VITRO* DES ANTIBIOTIQUES
IN VITRO *ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF ANTIBIOTICS*

454 **Variabilité de la sensibilité aux antibiotiques et intérêt d'une identification moléculaire rapide des *Nocardia* : à propos de 5 cas de nocardioses systémiques**

L. Merabet, P. Legrand, Y. Hicheri, V. Cattoir
Bactériologie et Hématologie Clinique, CHU Henri Mondor, AP-HP et Université Paris XII, Créteil, France

455 **Activité de la colistine et de la rifampicine sur des souches multirésistantes d'*Acinetobacter baumannii* isolées de bactériémies**

A. Ghariani, E. Mehiri-Zghal, L. Essalah, H. Gharbi, N.L. Slim-Saidi
Laboratoire de Microbiologie, Hôpital A.Mami de Pneumologie, Ariana, Tunisie

456 ***In vitro* antibacterial activity of ceftobiprole (BPR) against hospital isolates. Proposal for zone diameter breakpoints: a French multicenter study**

C. Lascols[2], H.B. Drugeon[6], M.D. Kitzis[9], R. Leclercq[1], A. Mérens[10], C. Muller-Serieys[7], M.E. Reverdy[5], M. Roussel-Delvallez[4], S. Brémont[8], M. Marmiesse[3], C.J. Soussy[2]
[1]Côte de Nacre Hospital, Caen [2]Henri Mondor Hospital, Créteil [3]Janssen-Cilag, Issy-les-Moulineaux [4]Calmette Hospital, Lille [5]Edouard Herriot Hospital, Lyon [6]Laennec Hospital, Nantes [7]Bichat Hospital [8]Pasteur [9]Saint Joseph Hospital, Paris [10]Bégin Hospital, Saint-Mandé, France

457 ***In vitro* antibacterial activity of a new Bêta-lactam: Ceftobiprole (BPR) against *Haemophilus influenzae***

C. Lascols[1], C.J. Soussy[1], H. Dabernat[2]
[1]Henri Mondor Hospital, Créteil [2]Purpan Hospital, Toulouse, France

458 ***In vitro* antibacterial activity of doripenem (DOR) against hospital isolates: Proposal for zone diameter breakpoints: a French multicenter study**

C. Lascols[2], L. Armand-Lefèvre[7], H.B. Drugeon[6], M.D. Kitzis[9], R. Leclercq[1], A. Mérens[10], M.E. Reverdy[5], M. Roussel-Delvallez[4], A. Lemire[8], A. Miara[3], C.J. Soussy[2]
[1]Côte de Nacre Hospital, Caen [2]Henri Mondor Hospital, Créteil [3]Janssen-Cilag, Issy-les-Moulineaux [4]Calmette Hospital, Lille [5]Edouard Herriot Hospital, Lyon [6]Laennec Hospital, Nantes [7]Bichat Hospital [8]Pasteur [9]Saint-Joseph Hospital, Paris [10]Bégin Hospital, Saint-Mandé, France

459 ***In vitro* antibacterial activity of a new Bêta-lactam: Doripenem (DOR) against *Haemophilus Influenzae***

C. Lascols[1], C.J. Soussy[1], H. Dabernat[2]
[1]Henri Mondor Hospital, Créteil [2]Purpan Hospital, Toulouse, France

460 **Sensibilité aux quinolones des entérobactéries isolées d'infections urinaires au CHU de Monastir**

H. Ben Abdallah, O. Sohnoun, A. El Argoubi, Y. Kadri, S. Noomen, M. Mastouri
Laboratoire de Microbiologie, CHU Fattouma Bourguiba de Monastir, Monastir, Tunisie

461 Activité *in vitro* des antibiotiques vis-à-vis de souches de *Streptococcus pneumoniae* (SP) isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine en 2007/2008. Analyses globale et régionale

H.B. Drugeon[3], E. Leput[2], et le Groupe d'étude[1]
[1]Services de bactériologie hospitaliers, Groupe d'étude [2]Laboratoire de bactériologie, Drug R&D, Angers Technopole, Angers [3]Service de Bactériologie, Faculté de médecine, Nantes, France

462 Activité *in vitro* de la tigécycline sur les entérobactéries multirésistantes, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Acinetobacter spp.* isolés à l'Hôpital de la Croix-Rousse à Lyon

O. Raulin, F. Laurent, D. Fournier, E. Chanard, T. Pierre, C. Roure-Sobas, H. Salord, S. Tigaud
Laboratoire de bactériologie, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

463 Activité *in vitro* de la daptomycine vis-à-vis de souches cliniques isolées de plaies du pied chez le diabétique

J.P. Lavigne[3-1], D. Laouini[3], N. Bouziges[3-1], J.L. Richard[2], A. Sotto[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Maladies Métaboliques et Endocriniennes, CHU Carémeau [3]ESPRI 26, Inserm, Nîmes, France

464 Comparative assessment of daptomycin and vancomycin efficacy with or without rifampin in experimental methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in rabbits

M. Lefebvre, C. Jacqueline, J. Caillon, G. Amador, V. Le Mabecque, A.F. Miègeville, G. Potel, N. Asseray
EA 3826, UPRES, Nantes, France

465 Efficacité et tolérance du linézolide *versus* vancomycine dans le traitement des infections compliquées de la peau et des tissus mous dues au SARM

K.M.M. Itani[2], J. Weigelt[3], D.L. Stevens[1], M.S. Dryden[5], H. Bhattacharyya[4], M. Kunkel[4], A. Baruch[4]
[1]Boise VA Medical Center, Boise [2]VA Boston Healthcare System, Boston [3]Medical College of Wisconsin, Milwaukee [4]Pfizer Inc, New York, Etats-Unis [5]Royal Hampshire County Hospital, Winchester, Royaume-Uni

466 Evolution de la résistance à la ciprofloxacine des souches d'*E. coli* isolées de prélèvements cliniques au laboratoire du CH de Dourdan

O. Gallon[3], C. Hajjar[2], S. Rouvière[2], X. Palette[1], A. Sarran[1], P. Pina[1]
[1]Biologie-Hygiène [2]Gériatrie [3]Pharmacie, CH de Dourdan, Dourdan, France

467 Evaluation de l'activité *in vitro* des antibiotiques vis-à-vis de différentes souches de *Francisella* sp (méthode CLSI)

B. Gestin, M. Maurin
CNR Francisella, Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble, Université Joseph Fourier, Grenoble, France

468 Activité *in vitro* de NXL104 sur CTX-M-15 et KPC-2 : un nouvel inhibiteur des Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)

M.C. Péchereau, M. Claudon, M. Black, P. Levasseur, A.M. Girard, J.M. Bruneau, C. Miossec, T. Stachyra
Biologie-Pharmacologie, Novexel SA, Romainville, France

469 Bénéfices de l'association *in vitro* du para-guanidinoéthylcalix[4]arène avec d'autres antibiotiques

M. Grare[2], S. Fontanay[2], J.B. Regnouf-de-Vains[1], H. Massimba Dibama[1], C. Finance[2], R.E. Duval[2]
[1]Chimie Thérapeutique [2]Microbiologie Moléculaire, SRSMC Nancy-Université, CNRS, Nancy, France

470 Cinétique d'action du para-guanidinoéthylcalix[4]arène, et évolution de la perméabilité membranaire

M. Grare[1], S. Fontanay[1], H. Massimba Dibama[2], J.B. Regnouf-de-Vains[2], C. Finance[1], R.E. Duval[1]
[1]Microbiologie Moléculaire, SRSMC Nancy-Université, CNRS [2]Chimie Thérapeutique, SRSMC Nancy-Université, CNRS, Nancy, Nancy, France

471 Longueur de la chaîne alkyl et activité antibactérienne/cytotoxicité chez une famille de composés bis-amidino-alkanes

M. Grare[2], A.S. Michel[2], A. Lesnard[1], J.C. Lancelot[1], S. Rault[1], C. Finance[2], R.E. Duval[2]
[1]UFR Sciences Pharmaceutiques, CERMN, Caen [2]Microbiologie moléculaire, SRSMC, Nancy Université, CNRS, Nancy, France

ANTIBIOTIQUES : APPROCHES MÉTHODOLOGIQUES
ANTIBIOTICS: METHODOLOGIC APPROACHES

472 Comparaison des E-test® et MICE® pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice de bêta-lactamines vi-à-vis de *Streptococcus pneumoniae* par les Observatoires Régionaux du Pneumocoque

A. Gravet[19], C. Grélaud[1], G. Camdessoucens-Miehe[19], R. Baraduc[4], H. Bonnabau[1], M. Brun[9], H. Chardon[17], J. Croizé[3], T. Fosse[8], B. Grignon[16], F. Hamdad[15], M. Kempf[14], J.L. Koeck[2], P. Lanotte[6], J. Maugein[2], A. Péchinot[5], J. Raymond[13], A. Ros[18], M. Roussel-Delvallez[11], C. Segonds[10], M. Vergnaud[12], V. Vernet-Garnier[7], M.C. Ploy[1], E. Varon[20]
[1]ORP Limousin, CHU de Limoges [2]ORP Aquitaine [3]ORP Arc Alpin [4]ORP Auvergne [5]ORP Bourgogne [6]ORP Centre [7]ORP Champagne Ardenne [8]ORP Côte d'Azur [9]ORP Languedoc Roussillon [10]ORP Midi-Pyrénées [11]ORP Nord-Pas-de-Calais [12]ORP Normandie [13]ORP Paris-Ouest [14]ORP Pays de Loire [15]ORP Picardie [16]ORP Poitou-Charentes [17]ORP Provence [18]ORP Rhône Forez [19]Laboratoire de Microbiologie, CH de Mulhouse - ORP Alsace, Mulhouse [20]CNR des Pneumocoques, Hôpital G. Pompidou, Paris, France

473 Etude des souc de *Staphylococcus aureus de* bas niveau de résistance à l'oxacilline (Borsa) isolées à Sfax, Tunisie

S. Mezghani Maalej[2], F. Mahjoubi[2], M. Fines[1], R. Leclercq[1], A. Hammami[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie, CHU Caen, Caen, France [2]Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

474 Portage des enterobactéries productrices de Bêta-lactamase à spectre étendu : évaluation d'une méthode de dépistage

T. Guillard, M. Dangin, A. Charlier, V. Duval, L. Brasme, V. Vernet-Garnier, J. Madoux, O. Bajolet, C. De Champs
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Reims, UFR de Médecine, Université de Reims, Champagne-Ardennes, Reims, France

475 Evaluation de la carte AST-P551 du système VITEK2 (VK2) pour la détection de la résistance à la méticilline chez *Staphylococcus aureus*

P. Bemer, M.E. Juvin, G. Le Gargasson, S. Corvec
Bactériologie-Hygiène, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France

476 Evaluation du Vitek2 pour la détection des différentes Bêta-lactamases à spectre élargi de type CTX-M

A. Carricajo[2], P. Farce[2], F. Latour[2], A.C. Vautrin[2], A. Ros[2], G. Aubert[1]
[1]Laboratoire d'Antibiologie [2]Laboratoire de Bactériologie, CHU Hôpital Nord, Saint-Etienne, France

477 Apport du test GeneOhm™ StaphSR (Becton Dickinson) pour la prise en charge des patients infectés par *Staphylococcus aureus*

A. Maulard, A. Le Monnier, T. Godard, I. Masson, A. Sornet Davoust, B. Pangon
Microbiologie, CH de Versailles, Le Chesnay, France

478 A comparison of broth microdilution and agar dilution methods for *In vitro* testing of ceftobiprole

C. Lascols[2], C. Moubareck[4], H.B. Drugeon[3], R. Leclercq[1], C.J. Soussy[2]
[1]Côte de Nacre Hospital, Caen [2]Henri Mondor Hospital, Créteil [3]Laennec Hospital, Nantes [4]Pasteur, CRAB, Paris, France

479 A comparison of broth microdilution and agar dilution methods for *In vitro* testing of doripenem

C. Lascols[2], C. Moubareck[4], H.B. Drugeon[3], R. Leclercq[1], C.J. Soussy[2]
[1]Côte de Nacre Hospital, Caen [2]Henri Mondor Hospital, Créteil [3]Laennec Hospital, Nantes [4]Pasteur, CRAB, Paris, France

480 *In Vitro* selection of strains with reduced susceptibility to daptomycin by the continuous antibiotic gradient method: A new method for studying the risk of resistant mutant selection

H.B. Drugeon[2], E. Bigeard[1]
[1]Drug R&D, Beaucouzé [2]Bactériologie, Faculté de Médecine, Nantes, France

481 Calcul et validation d'une charge discriminante pour le disque de daptomycine

H.B. Drugeon[2], E. Bigeard[1]
[1]Drug R&D, Beaucouzé [2]Bactériologie, Faculté de Médecine, Nantes, France

482 Typage par MLST de souches de *Escherichia coli* hyperproductrices de céphalosporinase chromosomique AmpC

A. Guillouzouic[2-3], N. Caroff[2-3], S. Dauvergne[3], D. Lepelletier[2-3], A. Perrin Guyomard[1], H. Hamidou[1], A. Reynaud[2-3], S. Corvec[2-3]
[1]Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Fougères [2]Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière, CHU de Nantes [3]Université de Nantes, EA 3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Nantes, France

483 Détection de la résistance à l'oxacilline chez *Staphylococcus* sp. : sensibilité des plaques microscan Positive Combo 27® (Siemens) et apport du nouveau test à la céfoxitine

O. Gallon[2], P. Pina[2], X. Palette[2], F. Doucet-Populaire[1-3], J.W. Decousser[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Antoine Béclère, Clamart [2]Pôle de Biologie-Hygiène, CH de Dourdan, Dourdan [3]Faculté de Pharmacie EA4065, Université René Descartes, Paris, France

484 Intérêts de l'utilisation des Etests® dans la détermination de la sensibilité aux antibiotiques de *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*

E. Valade[1], J. Vaissaire[2], A. Mérens[3], F.M. Thibault[1], D.R. Vidal[1], J.D. Cavallo[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Recherches du Service de Santé des Armées, La Tronche [2]Lerpaz, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Maisons-Alfort [3]Biologie médicale, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint-Mandé, France

485 Rapid detection of KPC-producing bacteria in clinical samples

T. Naas, G. Cuzon, L. Le Hong, S. Lima, P. Nordmann
Hôpital de Bicêtre, Faculté de Médecine Paris-Sud, Inserm U914, Emerging Resistance to Antibiotics, Le Kremlin-Bicêtre, France

486 Mise au point d'une PCR en temps réel multiplex pour la détection des 3 classes d'intégrons de résistance aux antibiotiques

O. Barraud[1-3-2], M.C. Baclet[2], F. Denis[1-3-2], M.C. Ploy[1-3-2]
[1]Avenir Inserm [2]CHU Dupuytren [3]Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire des Micro-organismes EA3175, Université de Limoges, Faculté de médecine, Limoges, France

487 Real-time allele specific PCR assay for detection of G2576T mutation conferring linezolid resistance in enterococci

N. Bourgeois Nicolaos[2-1], E. Salomon[2], C. Labatte[2], P. Kharrat[2], K. Ben Zekri[2], M.J. Butel[2], F. Doucet-Populaire[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Service de microbiologie-immunologie biologique, Hôpital Antoine Béclère, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris-Sud XI, Clamart [2]EA 4065, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes, Paris, France

488 Evaluation du kit EVIGENE® pour la mise en évidence des gènes *nuc*A, *mec*A, *luk*S-PV/*luk*F-PV, *tst*, *van*AB et *mup*A chez *Staphylococcus aureus*

H. Meugnier, O. Dauwalder, M. Mounier, M. Bes, M.E. Reverdy, G. Lina, F. Vandenesch, J. Etienne
Centre de Biologie Est, CNR staphylocoques, Bron, France

RISQUES INFECTIEUX
INFECTIOUS RISKS

489 Prévention et gestion des épisodes de cas groupés d'infections respiratoires aiguës basses dans les collectivités de personnes âgées de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur

S. Rasson[2], C. Six[2], J. Deniau[2], L. Calatayud[2], J.C. Delarozière[1], F. Charlet[3], J.L. Duponchel[3], A. Lory[1], S. Vaux[4], P. Malfait[2]
[1]Antenne Régionale du Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales (CCLIN) de la région Provence-Alpes-Côte-d'Azur [2]Cellule Inter-Régionale d'Epidémiologie (CIRE) Sud [3]Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales, Marseille [4]Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

490 Bilan à 18 mois d'une enquête autour d'un personnel hospitalier atteint de tuberculose bacillifère

S. Djebbour-Lévy[2], H. Vrolyk-Vergeron[2], M. Porcheron[2], C. Métais[2], M.L. Bruyère[2], C. Brunot[3], A.H. Ngo[3], S. Maignot[1], D. Baronnet[1]
[1]Direction [2]Equipe Opérationnelle d'Hygiène [3]Médecine Préventive, Centre Hospitalier, Nemours, France

491 Prévention des risques de transmission de la tuberculose lors de la conception d'un nouveau service de microbiologie

C. Berlie, Equipe De Microbiologie
Microbiologie, CHIC Alençon - Mamers, Alençon, France

492 Bon Usage des Antibiotiques : de l'état des lieux au développement d'un Plan Régional de Bon Usage des antibiotiques dans les établissements de santé MCO des Pays de la Loire

F. Ollivier[2-4], D. Feldman[1], S. Thibaut[2], M. Pajot[2], G. Potel[2-4-1], F. Ballereau[2-4-3]
[1]CRMDM [2]MedQual, CHU Nantes [3]Département de Pharmacie Clinique et Santé Publique [4]UPRES EA 3826, Université de Nantes, Nantes, France

493 Evaluation de la prescription des fluoroquinolones (FQ) dans les établissements hospitaliers de Lorraine par le Réseau Antibiolor

T. Doco-Lecompte, Réseau Antibiolor
Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU, Nancy, France

494 Évaluation des risques microbiologiques associés à *Stenotrophomonas maltophilia* et *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire français

C.C. Adjidé[2], A. De Meyer[2], M. Weyer[2], O. Obin[2], F. Lamory[2], C. Lesueur[1], L. Trouillet[2], M. Biendo[2-1], O. Ganry[2]
[1]Laboratoire de bactériologie [2]Unité d'hygiène et d'épidémiologie hospitalière, Service d'hygiène, d'épidémiologie et de santé publique, CHU, Amiens, France

495 Le rang de programmation des patients au bloc opératoire est-il facteur de risque d'une infection du site opératoire (ISO) ?

J.C. Séguier[4], F. Chrétien[4], S. Bourreau[4], C. Trinquier[1], T. Montariol[3], P. Sinda[2]
[1]Bloc opératoire [2]Service d'anesthésie [3]Service de chirurgie viscérale [4]Unité Hygiène Prévention du Risque Infectieux, CH de Poissy St Germain en Laye, St Germain En Laye, France

INFECTION À VIH
HIV INFECTION

496 Manifestations neurologiques au cours de l'infection à VIH

M. Aidaoui, A. Mammeri, Z. Boudiaf, N. Messalhi, Z. Boumaza, A. Trima, M. Laouar
Infectieux, CHU Annaba, Annaba, Algérie

497 Prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite B chez les patients infectés par le VIH : expérience nancéienne

B. Bloquel[1], H. Jeulin[1], C. Burty[2], C. Rabaud[2], V. Venard[1]
[1]Laboratoire Central de Virologie [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU de Nancy Brabois, Vandoeuvre-Les-Nancy, France

498 Safety and efficacy of raltegravir containing regimen in HIV infected transplanted patients cotreated with immunosuppressive drugs

L. Tricot[5], D. Zucman[4], G. Peytavin[1], Y. Calmus[3], F. Conti[3], G. Spiridon[2], C. Fontaine[2], D. Salmon-Céron[2]
[1]Pharmacologie, Hôpital Bichat- Claude Bernard [2]Maladies infectieuses [3]Transplantation hépatique, Hôpital Cochin, Paris [4]Maladies infectieuses [5]Néphrologie, Hôpital Foch, Suresnes, France

499 Efficacy and tolerance of combination of Maraviroc with MK-0518, boosted TMC-114 and TMC-125 in heavily pre-treated CCR5 positive HIV infected patients

F. Almasi[1], A. Krivine[2], A. Compangocci[1], B. Silbermann[1], L. Belarbi[1], D. Salmon[1]
[1]Internal Medicine Department [2]Virology Department, Cochin Hospital, Paris, France

500 Thrombose veineuse et infection par le virus de l'immunodéficience humaine : à propos de 3 observations

L. Ammari, S. Ben Aissa, B. Kilani, R. Abdelmalek, H. Tiouiri Benaissa, F. Kanoun, T. Ben Chaabane
Maladies infectieuses, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

501 Infection invasive à pneumocoque et déficit immunitaire commun variable (DICV)

M. Martinot[2], M. Mohseni Zadeh[2], L. Federici[2], B. Woehl-Kremer[2], D. De Briel[1], G. Blaison[2]
[1]Laboratoire de microbiologie [2]Médecine Interne et Rhumatologie, Centre Hospitalier de Colmar, Colmar, France

502 Posaconazole dans le traitement de la cryptococcose neuroméningée du patient VIH+ : intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique

A.S. Brunel[2], C. Eiden[3], Y. Sterkers[1], A. Makinson[2], H. Peyrière[3], S. Bertout[4], D. Hillaire-Buys[3], J. Reynes[2]
[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [2]Maladies Infectieuses et Tropicales [3]Pharmacologie Médicale et Toxicologie, CHU [4]UMR 145, Faculté de Pharmacie, Montpellier, France

503 Traitement de sauvetage chez des patients infectés par le VIH en impasse thérapeutique complète : intérêt de schémas avec les nouveaux antirétroviraux darunavir, étravirine, et/ou raltégravir

S. Boucherit[3-2], O. Mounoury[1], V. Guiyedi[3-2], P. Longuet[2], J.L. Ecobichon[3-2], T. Jovelin[1], F. Raffi[1], C. Leport[3-2]
[1]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Nantes, Hôtel Dieu, Nantes [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Xavier Bichat, APHP [3]Laboratoire de Recherche en Pathologie Infectieuse, Université Diderot-Paris 7, Site Xavier Bichat, Paris, France

504 Echec de la miltéfosine dans le traitement préventif des rechutes de leishmaniose viscérale : données cliniques et *in vitro* chez un patient co-infecté par le VIH

S. Houzé[4], P.M. Loiseau[2], D. Haouchine[4], S. Lariven[5], S. Cojean[2], F. Michard[5], C. Bories[2], A. Izri[1], F. Pratlong[3], J. Le Bras[4-1], S. Matheron[5]
[1]Laboratoire de Parasitologie, AP-HP Hôpital Avicenne, Bobigny [2]Groupe Chimiothérapie Antiparasitaire, UMR 8076 CNRS, Université Paris Sud 11, Chatenay Malabry [3]CNR des Leishmania, Université Montpellier 1, Montpellier [4]Laboratoire de Parasitologie [5]Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, AP-HP Hôpital Bichat, Paris, France

505 A propos d'un cas de résistance du VIH à une première ligne de traitement : apparition rapide d'une mutation k65r/k sur la transcriptase inverse virale sous Kivexa et Reyataz/R

M. Macé[1], M.F. Barrault[2], D. Demuez[1], C. Gaudy[4], J.M. Poirier[3], P. Arsac[2]
[1]Pôle de Biopathologie [2]Service de Médecine Interne, CHR, Orléans [3]Service de Pharmacologie, CHU Saint Antoine, Paris [4]Service de Bactériologie et Virologie et Centre National de Référence du VIH, CHRU, Tours, France

506 Pratiques et facteurs de risques liés à une pathologie du voyageur infecté par le VIH

C. Couzigou[1-2], P. Bourée[1], C. Voyer[2], D. Vittecoq[2]
[1]Maladies Parasitaires et Tropicales, AP-HP, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre [2]Maladies Infectieuses et Tropicales, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

507 Prévention des risques d'exposition aux infections des praticiens de santé au Burkina Faso : étude à propos de 200 agents de santé

I. Zabsonre, T. Tranh-Minh
Médecine Interne, CHU Yalgado Ouédraogo, Ouagadougou, Burkina Faso

508 Cost of management *versus* reimbursement cost of the management of patients with solid tumors presenting a febrile neutropenia

I. Borget[2], S. Baillot[2], O. Bogillot[1], S. Antoun[3], D. Vittecoq[4], M. Merad[3]
[1]Amgen France [2]Department of Health Economy [3]Emergency Department, Institut Gustave Roussy [4]Department of infectious Diseases, Paul Brousse Hospital, Villejuif, France

509 Acceptabilité du dépistage rapide du VIH dans un service d'urgence hospitalière d'île-de-France

H. Ichou, A.M. Simonpoli, F. Nikpay, E. Mortier
Hôpital Louis Mourier (APHP), Colombes, France

510 Pour une prise en charge ambulatoire des neutropénies fébriles : à partir de l'expérience du service des urgences dans un institut de cancérologie

M. Merad[3], G. Chenuc[1], B. Gachot[3], P. Pautier[3], M. Dipalma[3], S. Antoun[3], D. Vittecoq[2], P. Ruffié[3]
[1]3ES/CSD, Boulogne-Billancourt [2]Services de maladies infectieuses, Hôpital Paul Brousse [3]Institut de cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France

79A	AFFICHE *Poster*	**HALL BORDEAUX**	**09:00 16:30**	vendredi *Friday* **5** décembre *December*

INFECTIONS COMMUNAUTAIRES (EXOTIQUES, RARES...)
COMMUNITY ACQUIRED INFECTIONS (EXOTIC, RARE…)

511 Etat actuel de la brucellose dans une région de l'Ouest Algerien : 415 cas

N.F. Tabet-Derraz[2], N. Mouffok[1]
[1]Maladies Infectieuses, Oran [2]Maladies Infectieuses, CHU, Sidi-Bel-Abbés, Algérie

512 Meningite à *Pasteurella multocida* : à propos d'un cas et revue de la littérature

E. Piednoir, P. Busson, N. Godde, Y. Perier, P. Deprez, G.C. Borderan
Centre Hospitalier d'Avranches-Granville, Granville, France

513 Diagnostic de tularémie : de l'importance du dialogue clinico-biologique

J. Exinger[2], P. Hassler[3], B. Jaulhac[4], M. Maurin[1], A. Heidt[2]
[1]Centre National de Référence des Francisella, Centre Hospitalier Universitaire, Grenoble [2]Fédération de Biologie [3]Médecine Interne, Centre Hospitalier, Haguenau [4]Laboratoire de bactériologie, Centre Hospitalier Universitaire, Strasbourg, France

514 Infection sous-cutanée à *Aggregatibacter actinomycetemcomitens*

O. Simon[2], A.L. Blanc[2], X. Lemaire[2], L. Dubreuil[2], M. Caillaux[1], E. Senneville[2], Y. Yazdanpanah[2], L. Legout[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Maladies Infectieuses et du Voyageur, CH Dron, Tourcoing, France

515 Diagnostic de la tuberculose ganglionnaire en Tunisie

C.H. Marrakchi[1], I. Maâloul[1], D. Lahiani[1], B. Hammami[1], T. Boudawara[2], M. Ben Jemâa[1]
[1]Service des maladies infectieuses, CHU Hedi Chaker [2]Service d'anatomopathologie, CHU La Hbib Bourguiba, Sfax, Tunisie

516 Infection urinaire à *Actinobaculum schaalii* : à propos d'un cas

J.M. Garnier[2], P. Riegel[4], P. Villena[3], V. Duval[1], V. Vernet-Garnier[1]
[1]Bactériologie, CHU Robert Debré [2]Bactériologie, LABM Gillard [3]Urologie, Polyclinique de Courlancy, Reims [4]Bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

517 Infections à *Mycoplasma pneumoniae* : étude prospective à Tunis de 2005 à 2008

A. Touati[2], W. Achour[2], S. Pereyre[1], N. Ben Jaballah[3], C.M. Bébéar[1], A. Ben Hassen[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie EA3671, Infections humaines à mycoplasmes et Chlamydiae, Université Victor Segalen Bordeaux 2 et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France [2]Service des Laboratoires, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse [3]Service de Réanimation Polyvalente, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunis, Tunisie

518 Pandémie grippale : exercice au CHU de Nîmes

A. Minchella[4], O. Onde[2], E. Vernes[2], G. Perrat[3], J. De La Coussaye[2], A. Sotto[4-1]
[1]Comité de Lutte Contre les Infections Nosocomiales [2]Division Anesthésie-Réanimation-Douleur-Urgence. SAMU30 [3]Mission Qualité [4]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Caremeau, Nîmes, France

519 Intérêt de la C-réactive protéine dans le suivi thérapeutique des patients infectés

S. Hang[2], E. Cua[2], R. Farhad[2], A. Allieri-Rosenthal[1], P. Dellamonica[2], P.M. Roger[2]
[1]Immunologie [2]Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

vendredi *Friday*	**5**	décembre *December*	**09:00 16:30**	**HALL BORDEAUX**	AFFICHE *Poster*	**80A**

ACTUALITÉS DIAGNOSTIQUES ET THÉRAPEUTIQUES EN PARASITOLOGIE ET MYCOLOGIE
DIAGNOSIS AND THERAPEUTIC CURRENT EVENTS IN PARASITOLGY AND MYCOLOGY

520 Diagnostic et traitement des actinomycoses abdominales : revue de 7 cas

S. Ketata[2], M. Ben Mabrouk[1], I. Fodha[2], F. Derbel[1], N. Boujaafar[2], R. Ben Hadj Hamida[1]
[1]Service de Chirurgie Générale [2]Service de Microbiologie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie

521 Kérato-mycoses à *Bipolaris spicifera*, à propos d'un cas

C. Martinaud[1], T. Gaillard[1], C. Roux[2], J. Maslin[1], P. Verdalle[2], P. Brisou[1]
[1]Fédération des Laboratoires [2]Fédération Face et Cou, HIA Sainte Anne, Toulon, France

522 Prévalence de la colonisation fongique au cours de la mucoviscidose : étude rétrospective sur 30 mois au CHU de Nantes

J. L'hirondel[2], A. Espern[2], V. David[1], D. Horeau-Langlard[3], M. Besse[2], F. Morio[2]
[1]Centres de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) [2]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [3]Unité de Transplantation Thoracique, CHU Nantes, Nantes, France

523 Facteurs de risque (FR) des candidoses chroniques disséminées en hématologie

M.T. Baixench[2], M. Ben M'Rad[1], D. Bouscary[3], F. Dreyfus[3], P. Blanche[1], D. Salmon[1], J. Dupouy-Camet[2], A. Paugam[2]
[1]Médecine Interne [2]Parasitologie-Mycologie, GH Cochin Saint Vincent de Paul [3]Unité d'hématologie, GH Cochin-Saint Vincent de Paul, Paris, France

524 A prospective survey of air and surfaces fungal contamination in a medical mycology laboratory at a tertiary care university hospital

M. Sautour[3], D. Dalle[3-5], N. Sixt[1], C. Olivieri[3], C. Cachia[4], S. Aho[2], C. Calinon[3-1-2], E. Enderlin[3], E. Salomé[3], O. Vagner[3], B. Cuisenier[3], C. L'ollivier[3-5], A. Bonnin[3-5]

[1]Environmental Microbiology [2]Hospital Hygiene and Epidemiology unit [3]Parasitology and Mycology laboratory, Hôpital du Bocage, CHU de Dijon [4]Groupe d'Évaluation et de Recherche Epidémiologique en Pharmacologie et Thérapeutique [5]Interactions Mucosa - Transmissible Agents Laboratory, IFR Santé-STIC, Université de Bourgogne, Dijon, France

525 Prophylaxis use of posaconazole (P) in an hemato-oncology unit : a retrospective study

N. Selvy[2], M. Villiet[2], E. Guiller[2], Y. Marhuenda[2], N. Fegueux[1], S. Hansel-Esteller[2]

[1]Hemato-oncology unit [2]Pharmacy Lapeyronie-ADV unit, CHU Montpellier, Montpellier, France

526 Etude rétrospective de l'intérêt clinique de la combinaison voriconazole (VCZ)/caspofungine (CSP) dans la prise en charge de l'aspergillose chez des patients transplantés pulmonaires

A. Thomas[2], V. Korb[2], T. Caruba[2], R. Guillemain[1], V. Boussaud[1], E. Billaud[2], P. Prognon[2], D. Begue[2], B. Sabatier[2]

[1]Département de Chirurgie Cardio-Vasculaire [2]Pharmacie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

527 Risque épidémiologique lié à la prise en charge d'un cas d'anguillulose maligne

K.A. Phai Pang[1], C. Hernandez[1], V. Chamouard[5], S. Vinzio[4], D. Christmann[3], E. Candolfi[2], B. Goichot[4], T. Lavigne[1]

[1]Equipe opérationnelle d'hygiène [2]Laboratoire de parasitologie et mycologie médicale [3]Maladies infectieuses et tropicales [4]Médecine interne et nutrition [5]Pathologie professionnelle-médecine du travail, Hôpitaux universitaires de strasbourg, Strasbourg, France

528 Intérêt de la PCR dans le diagnostic des trichomonoses. Exemple de deux cas cliniques d'intérêt

A.P. Bellanger[2-3], O. Cabaret[3], J.M. Costa[3-1], F. Foulet[3], S. Bretagne[3], F. Botterel[3]

[1]Pasteur Cerba [2]Laboratoire Parasito-Mycologie, CHU Jean Minjoz, Besançon [3]Laboratoire Parasito-Mycologie, CHU Henri Mondor, Créteil, France

529 Développement d'une technique de PCR quantitative en temps réel sur RotorGene 6000™ dans le diagnostic de la toxoplasmose chez des patients greffés de moelle osseuse

S. Daval[1], J. Armenaud[1], J. Gagnant[1], M. Cambon[1-2], V. Livrelli[1-3]

[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Clermont-Ferrand [2]UFR Médecine [3]UFR Pharmacie, EA 2526 Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

RÉSUMÉS
SESSIONS INVITÉES

Cette section contient les résumés des mini-conférences, sessions en partenariat et symposiums qui nous sont parvenus à la date de mise sous presse.

ABSTRACTS
INVITED SPEAKERS SESSIONS

This section contains the abstract, received before publication, of the conferences, joint sessions, symposia.

Pour consulter les résumés des sessions libres reportez-vous à la section commençant à la page 129
For free session abstracts please refer to the section starting page 129

SESSIONS INVITÉES
Invited speakers sessions

4/1SEP — 4 décembre 2008 - 10:00 - HAVANE

Et dans le *pipeline* des antifongiques ?

S. Bretagne
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, et CNR Mycoses et Antifongiques, Institut Pasteur, France

Le développement de nouveaux antifongiques se poursuit avec plusieurs pistes. Une première piste constitue à développer de nouvelles molécules dans des classes connues d'antifongiques (1). Parmi les triazolés, l'isavuconazole est déjà en phase 3 d'évaluation, l'albuconazole est moins avancé. Parmi les échinocandines, actuellement au nombre de trois (caspofungin, micafungin, et anidulafungin), une nouvelle molécule est à l'étude, l'aminocandin. Parmi les polyènes, une formulation liposomale de la nystatine est en cours d'investigation. Ces travaux sur des classes d'antifongiques déjà reconnues ont pour but soit d'élargir les spectres, ce qui est souvent limité quand le mode d'action reste similaire, soit, et c'est l'ambition la plus fréquente, d'améliorer la pharmacocinétique, la biodisponibilité, et diminuer la toxicité. Le développement de produits à longue demi-vie permet ainsi d'envisager des améliorations pour la prescription au niveau des patients. En parallèle, de nouvelles voies d'administration sont évaluées, comme les aérosols de liposomes d'amphotéricine B (2).

Parallèlement une recherche plus en amont a pour but de valider des nouvelles classes d'antifongiques. Le FG3409 est une nouvelle petite molécule dont le développement est déjà assez avancé (3). On peut également citer l'association d'une molécule connue, l'amphotéricine B, avec un anticorps anti-HSP90, dont certaines publications soulignent l'intérêt pour le traitement des candidémies (4).

La disponibilité de nouveaux antifongiques de classes différentes a relancé la recherche clinique sur les associations dont la validation clinique est attendue.

(1) Pasqualotto AC and D. W. Denning DW, New and emerging treatments for fungal infections. Journal of Antimicrobial Chemotherapy (2008) 61, Suppl. 1, i19–i30

(2) Rijnders BJ, Cornelissen JJ, Slobbe L, Becker MJ, Doorduijn JK, Hop WC, Ruijgrok EJ, Löwenberg B, Vulto A, Lugtenburg PJ, de Marie S., Aerosolized liposomal amphotericin B for the prevention of invasive pulmonary aspergillosis during prolonged neutropenia: a randomized, placebo-controlled trial. Clin Infect Dis. 2008 May 1;46(9):1401-8

(3) Law D, Dobb K, Thain JL, Birch M, Howard SJ, Denning DW, Payne LJ, FG3409: A Novel Small Molecule Antifungal Agent with Activity against Aspergillus spp., Poster F1-1177, ICAAC-IDSA meeting, Washington DC, Oct 2008.

(4) Pachl J, Svoboda P, Jacobs F, Vandewoude K, van der Hoven B, Spronk P, Masterson G, Malbrain M, Aoun M, Garbino J, Takala J, Drgona L, Burnie J, Matthews R; Mycograb Invasive Candidiasis Study Group. A randomized, blinded, multicenter trial of lipid-associated amphotericin B alone versus in combination with an antibody-based inhibitor of heat shock protein 90 in patients with invasive candidiasis. Clin Infect Dis. 2006 May 15;42(10):1404-13.

34/8SEP — 4 décembre 2008 - 11:00 - BORDEAUX

Résistance acquise aux antibiotiques récemment disponibles : daptomycine, linézolide, tigécycline

R. Leclercq
Service de Microbiologie, CHU de Caen, Caen, France

Bien que la commercialisation de nouveaux antibiotiques soit récente, des résistances à ces produits sont déjà apparues. Il s'agit notamment de résistances au linézolide, à la daptomycine et à la tigécycline.

Le linézolide est une oxazolidinone active in vitro sur les bactéries à Gram-positif, y compris les staphylocoques et les entérocoques (1). Cet antibiotique bactériostatique est indiqué pour le traitement des pneumonies nosocomiales et communautaires et des infections compliquées de la peau et des tissus mous à germes sensibles. C'est un inhibiteur des synthèses protéiques qui interagit avec la sous-unité ribosomale 50S avec un mécanisme d'action original non encore complètement élucidé. Le linézolide cible l'étape précoce de la synthèse protéique, l'initiation. Divers mutants ribosomaux résistants au linézolide ont été sélectionnés au laboratoire notamment chez *E.coli*, *S.aureus* et *E. faecalis*. De la même manière, le développement de la résistance chez les souches cliniques repose sur des mutations ribosomales. Chez les entérocoques et les staphylocoques, essentiellement deux mutations indépendantes dans l'ARNr 23S, déjà observées in vitro, $G_{2447}U$ et $G_{2576}U$ sont rapportées (2). Récemment, une mutation $T_{2500}A$, située également dans le domaine V de l'ARNr 23S a été mise en cause chez S.aureus. La résistance est sélectionnée in vitro avec des fréquences basses (10^{-9} à 10^{-11}) chez les entérocoques et les staphylocoques et se développe lentement en clinique. Ceci est probablement lié au fait que ces bactéries comportent plusieurs copies du gène rrl codant pour l'ARNr 23S (4 chez *S. pneumoniae*, 7 chez *E. faecium*, 5 ou 6 chez *S.aureus*) et qu'il est nécessaire de muter plusieurs des copies pour obtenir la résistance. Ceci peut s'acquérir par mutations successives des copies ou plutôt par recombinaison homologue consécutive à la mutation d'une copie (2). Ces caractéristiques expliquent probablement pourquoi lorsque les mutations sont survenues au cours du traitement par le linézolide, il s'agissait de patients traités longtemps et souvent porteurs de matériel étranger.

Les souches mutées résistantes présentent des CMI allant de 16 (parfois 8) mg/L à 128 mg/L et la résistance est décelée par les tests de routine. Les concentrations critiques recommandées par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie sont de 2 et 4 mg/L (S≤2 mg/L, R>4 mg/L).

A côté de ces résistances par mutation, une résistance plasmidique au linézolide a été rapportée. Le gène plasmidique *cfr* code une méthylase ribosomale, qui méthyle l'A2503 de l'ARN23S. Cfr diminue la liaison au ribosome de 5 différentes classes d'antibiotiques, phénicolés, lincosamides, oxazolidinones, pleuromutilines, streptogramines A (3). Ce gène a été décrit chez des souches animales de staphylocoques en Europe, et chez des souches humaines aux USA et en Colombie (4).

La daptomycine agit sur la membrane cytoplasmique. Cet antibiotique bactéricide entraîne une dépolarisation calcium-dépendante de la membrane chez *S.aureus* et un relargage de potassium. Elle est active contre les staphylocoques (CMI 0,03-0,5 mg/L) et les entérocoques. Par contre elle se montre moins active contre les souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides. Il existe une corrélation entre les CMI de la vancomycine et les CMI de la daptomycine (5). Ceci est probablement lié une faible accessibilité à la cible membranaire de la daptomycine chez les souches GISA/VISA qui ont une paroi épaissie. Cependant, les niveaux de résistance restent bas.

La tigécycline est une glycylcycline structurellement apparentée aux tétracyclines et qui a un mécanisme d'action bactériostatique similaire. La tigécycline inhibe la synthèse protéique même chez les souches résistantes aux tétracyclines classiques par protection ribosomale ou efflux. C'est un antibiotique à large spectre actif in vitro sur la plupart des entérobactéries y compris les souches multirésistantes, les bactéries à Gram-positif et les anaérobies (6). Peu fréquemment, des souches de *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae, Morganella morganii, Proteus mirabilis, Enterobacter cloacae* et *Acinetobacter* ont été rapportées comme intermédiaires ou résistantes à la tigécycline à cause de l'hyperexpression de pompes d'efflux physiologiques comme AcrAB (7). Une souche de *E. cloacae* résistante a pu être sélectionnée par la tigécycline sous traitement.

En conclusion, du fait de l'existence de rares résistances aux nouveaux antibiotiques, il est nécessaire de les tester en cas d'utilisation chez un patient. Du fait de l'existence de souches déjà résistantes, même si elles restent rares, l'utilisation de ces antibiotiques doit s'accompagner d'une réflexion sur la prévention de la dissémination des résistances.

Références

1. Muller-Serieys C, Drugeon HB, Etienne J, Lascols C, Leclercq R, Nguyen J, Soussy CJ. Activity of linezolid against Gram-positive cocci isolated in French hospitals as determined by three in-vitro susceptibility testing methods. Clin Microbiol Infect. 2004;10:242-6.

2. Bourgeois-Nicolaos N, Massias L, Couson B, Butel MJ, Andremont A, Doucet-Populaire F. Dose dependence of emergence of resistance to linezolid in *Enterococcus faecalis* in vivo. J Infect Dis. 2007;195:1480-8.

3. Toh SM, Xiong L, Arias CA, Villegas MV, Lolans K, Quinn J, Mankin AS. Acquisition of a natural resistance gene renders a clinical strain of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to the synthetic antibiotic linezolid. Mol Microbiol. 2007;64:1506-14.

4. Mendes RE, Deshpande LM, Castanheira M, DiPersio J, Saubolle MA, Jones RN. First report of *cfr*-mediated resistance to linezolid in human staphylococcal clinical isolates recovered in the United States. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52:2244-6.

5. Cui L, Tominaga E, Neoh HM, Hiramatsu K. Correlation between Reduced Daptomycin Susceptibility and Vancomycin Resistance in Vancomycin-Intermediate *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother. 2006;50:1079-82.

6. Rodloff AC, Leclercq R, Debbia EA, Cantón R, Oppenheim BA, Dowzicky MJ. Comparative analysis of antimicrobial susceptibility among organisms from France, Germany, Italy, Spain and the UK as part of the tigecycline evaluation and surveillance trial. Clin Microbiol Infect. 2008;14:307-14.

7. Keeney D, Ruzin A, McAleese F, Murphy E,. Bradford PA. MarA-mediated overexpression of the AcrAB efflux pump results in decreased susceptibility to tigecycline in *Escherichia coli.* J Antimicrob Chemother 2008; 61:46-53.

35/8SEP — 4 décembre 2008 - 11:20 - BORDEAUX

Mode d'action et activité anti-bactérienne des molécules à venir : ceftobiprole, lipo-glycopeptides

J.L. Mainardi
Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, AP-HP, Université Paris Descartes, Paris, France

La prévalence de la résistance aux antibiotiques chez les bactéries à Gram négatif et à Gram positif est en augmentation constante à travers le monde. Chez les bactéries à Gram positif, les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) ont pris une place importante du fait (i) d'une prévalence qui reste élevée dans les hôpitaux (ii) de l'apparition et de la dissémination des SARM en pathologie communautaire (1) (iii) d'une diminution de sensibilité de certaines souches de SARM aux glycopeptides (GISA), antibiotiques de référence pour le traitement des infections dues aux SARM (2) et (iv) de l'existence de très rares souches de SARM hautement résistantes aux glycopeptides par un mécanisme similaire à celui de la résistance aux glycopeptides chez les entérocoques (3).

Pour faire face à ces différents défis, des alternatives thérapeutiques aux glycopeptides ont été récemment développées comme le linézolide (famille des oxazolidinones), la tigécycline (famille des glycylcyclines) ou la

daptomycine (lipopeptide). D'autres molécules sont en cours de développement dans des phases cliniques : le ceftobiprole et des nouveaux lipo-glycopeptides.

Le ceftopibrole est une nouvelle céphalosporine dont la pro-drogue le ceftobiprole-médocaril est transformée par des estérases sanguines en ceftobiprole, produit actif. Comme les autres -lactamines, le ceftobiprole inhibe la synthèse de la paroi bactérienneβ (peptidoglycane). Le spectre anti-bactérien du ceftobiprole est large incluant des bactéries à Gram positif et des bactéries à Gram négatif (4-8). Parmi les bactéries à Gram positif, le spectre d'activité inclut *S.aureus* et les staphylocoques à coagulase négative sensibles et résistants à la méticilline, *Streptococcus pneumoniae* sensible et résistant à la pénicilline, les streptocoques et *Enterococcus faecalis*. Parmi les bactéries à Gram négatif, le ceftobiprole est actif sur les entérobactéries, et *Pseudomonas aeruginosa*. A l'inverse, le ceftobiprole est soit inactif soit peu actif sur *Enteroccocus faecium*, les entérobactéries productrices de beta-lactamases à spectre étendu, *Acinetobacter baumanii* et les anaérobies, en particulier *Bacteroides fragilis*. Les CMI_{50} sont de 0.5 mg/l pour les *S.aureus* sensibles à la méticilline, 2 mg/L pour les SARM et de 0.25 mg/L pour les pneumocoques résistants à la pénicilline. La bactéricidie du ceftobiprole est plus rapide et plus importante que celle de la vancomycine (9). L'activité anti-bactérienne sur les souches de SARM est due à une bonne affinité du ceftobiprole pour la protéine de liaison de faible affinité à la méticilline, la PLP2a (10), rendant compte habituellement de la résistance à l'ensemble des -lactamines. Chez les souches de pneumocoques résistantes à la pénicilline,β l'activité supérieure du ceftobiprole est liée à une affinité supérieure de la molécule pour les PLP mutées de faible affinité pour la pénicilline, en particulier la PLP2x (11). Des souches de *S.aureus* résistantes au ceftobiprole semble difficile à obtenir *in vitro* (12). En clinique, un essai portant sur le traitement des infections de la peau et des tissus mous a montré que le ceftobiprole était efficace et n'était pas inférieur à la vancomycine avec 93% de guérison clinique (13).

Parmi les nouveaux glycopeptides et glyco-lipopeptides en cours de développement, l'oritavancine est actif sur les entérococoques résistants à la vancomycine et a des CMI plus basses que celles de la vancomycine sur les SARM (14). L'effet bactéricide, concentration dépendante, est également plus rapide que celui de la vancomycine. Des essais de phase 3 ont montré une équivalence entre l'oritavancine et la vancomycine pour le traitement des infections de la peau et des tissus mous. La dalbavancine est un lipo-glycopeptide qui posséde une activité supérieure à celle de la vancomycine sur les SARM en terme de CMI et de bactéricidie (15). La dalbavancine n'est pas active sur les entérocoques résistants aux glycopeptides. La particularité pharmacocinétique est l'existence d'un temps de demi-vie de 9 à 12 jours permettant une administration par semaine (16). Des essais cliniques dans le traitement des infections de la peau et des tissus mous et des bactériémies sur cathéter ont montré une équivalence par rapport aux comparateurs (17, 18). La télavancine est un glyco-lipopeptide agissant par inhibition de la synthèse du peptidoglycane et par une action directe sur la membrane cytoplasmique entraînant une modification de la perméabilité responsable d'une fuite ionique (19). La télavancine a une activité supérieure à celle de la vancomycine sur les SARM avec un effet bactéricide rapide ainsi qu'une activité sur les entérocoques résistants aux glycopeptides (20). Un temps de demi-vie de 7 à 9 h permet une administration quotidienne (21). La molécule a montré une efficacité identique aux comparateurs (vancomycine ou beta-lactamines anti-staphylococcique) pour le traitement des infections de la peau et des tissus mous (22).

En conclusion, l'arsenal thérapeutique dirigé contre les bactéries à Gram positif s'est enrichi au cours de ces dernières années. Si les nouveaux lipo-glycopeptides se montrent *in vitro* plus actifs que la vancomycine tant en terme d'activité inhibitrice ou de bactéricide, leur place par rapport à la vancomycine et les unes par rapport aux autres nécessitent d'autres études cliniques. Du fait de son spectre large d'activité, le ceftobiprole apparaît une molécule attractive sous réserve de validation par les études cliniques en cours et en particulier en terme de posologie à utiliser pour le traitement des infections à SARM.

Références

1) Moran *et al.,* N. Engl. J. Med. 2006 ; 355: 666-74
2) Mainardi *et al*., J. Infect. Dis. 1995; 171: 1646-50.
3) Chang *et a.l*, N. Engl. J. Med. 2003; 348 :1342-7.
4) Goldstein, FW. Clin. Microbiol. Infection. 2007 : S2:2-6.
5) Jones, ME. Clin. Microbiol. Infection 2007 : S2:17-24.
6) Bozdogan *et al*., J. Antimicrob. Chemother. 2003; 52: 864-8.
7) Bogdanovich *et al*., Antimicrob. Agents Chemother. 2005; 49: 4210-9.
8) Jones *et al.,* J. Antimicrob. Chemother. 2002; 50: 915-32.
9) Heibeisen *et al*., Antimicrob. Agents Chemother. 2001; 45: 825-826.
10) Davies *et al*., Antimicrob. Agents Chemother. 2007; 51: 2621-4.
11) Davies *et al*., Antimicrob. Agents Chemother. 2006; 50: 2530-2.
12) Bogdanovich *et al*., Antimicrob. Agents Chemother. 2005 49:4210-9.
13) Noel *et al*., Antimicrob. Agents Chemother. 2008; 52 :37-44.
14) Schwalbe *et al.,* Antimicrob. Agents Chemother. 1996 ; 40: 2416-9.
15) Lin *et al.,* Antimicrob. Agents Chemother. 2005; 49: 770-2.
16) Leighton *et al.,* Antimicrob. Agents Chemother. 2004; 48: 940-5.
17) Jauregui *et al*., Clin. Infect. Dis. 2005; 41: 1407-15.
18) Raad *et al*., Clin. Infect. Dis 2005; 40 :374-80.
19) Higgins *et al*., Antimicrob. Agents Chemother. 2005; 49: 1127-34.
20) King *et al*, J. Antimicrob. Chemother. 2004; 53: 797-803
21) Shaw *et al*., Antimicrob. Agents Chemother. 2005; 49: 195-201.
22) Stryjewski *et al*., Antimicrob. Agents Chemother. 2006; 50: 862-7.

40/9s 4 décembre 2008 - 11:40 - HAVANE

Pharmacocinétique et pharmacodynamie de la colistine en réanimation

M. Boisson, O. Mimoz

Département d'Anesthésie-Réanimation, CHU de Poitiers et Inserm ERI-23, Université de Poitiers, Poitiers, France

L'une des plus grandes avancées de la médecine fut le développement des antibiotiques initié par la découverte de la pénicilline en 1928. Cependant, aujourd'hui en raison de l'apparition de bactéries multi-résistantes d'une part, et de la difficulté à développer de nouvelles molécules d'autre part, nous devons faire face de plus en plus fréquemment à des impasses thérapeutiques. Le problème de la multi-résistance aux antibiotiques concerne principalement les bactéries à Gram négatif. Ainsi certaines souches d'*Acinetobacter* et de *Pseudomonas* sont devenues résistantes à pratiquement tous les antibiotiques.[i] Le recours à des molécules plus anciennes peut alors constituer la seule alternative. C'est le cas de la colistine, qui après avoir été délaissée à cause de sa toxicité, reste le seul rempart pour le traitement des infections liées à des bactéries à Gram négatif multi-résistantes.[ii]·[iii] Toutefois la colistine ayant obtenu son AMM en 1958, très peu de données fiables sont disponibles quant à ses caractéristiques pharmacocinétiques (PK) ou pharmacocinétiques-pharmacodynamiques (PK-PD), alors qu'une prise en compte de ces données est indispensable pour optimiser ses modalités d'administration afin d'une part d'en accroître le rapport bénéfice/risque mais aussi de ne pas favoriser la sélection des mutants résistants.

La colistine est un polypeptide de la famille des polymyxines du groupe E composée principalement par la colistine A et la colistine B.[iv] Elle est commercialisée sous deux formes galéniques distinctes : le sulfate de colistine pour un usage orale ou cutané et le colistiméthate sodique pour un usage parentéral et inhalé. Bien que souvent l'amalgame soit fait entre la colistine et le colistiméthate sodique, il s'agit bien de deux molécules distinctes. Ainsi, le colistiméthate sodique est préparé à partir de colistine par rajout de formaldehyde et de bisulfite de sodium.[v] Cet ensemble est instable et rapidement hydrolysé, après reconstitution, en plusieurs dizaines de dérivés méthane-sulfonés et en colistine.[vi] De plus, le colistiméthate sodique n'a pas d'effet antibactérien propre, du moins à l'encontre de *Pseudomonas*, et peut donc être considéré comme une prodrogue de la colistine.[vii]

Les premières études PK de la colistine ont été réalisées il y a plus de vingt ans et reposaient sur des méthodes de dosages microbiologiques ne permettant pas de séparer l'activité de la molécule mère (colistiméthate sodique) de celle de ces métabolites (colistine A et B principalement). Par conséquent, au vu de l'hydrolyse spontanée du colistiméthate sodique, les résultats obtenus sont d'interprétation délicate. Pourtant, aujourd'hui encore, les posologies recommandées s'appuient sur ces données. De plus, outre son hydrolyse en colistine, le colistiméthate est essentiellement éliminé de l'organisme par excrétion rénale sous forme inchangée. Ainsi son temps de séjour dans l'organisme devrait être augmenté chez le patient insuffisant rénal, et donc une fraction plus importante de la dose administrée pourrait être hydrolysée en colistine, d'où un risque de surdosage et donc une proposition d'ajustement posologique. Malheureusement, car raisonnement manque de support expérimental et pour ne pas risque un surdosage, il se pourrait que les concentrations obtenues soient insuffisantes pour être efficaces mais qu'en revanche, elles puissent favoriser le développement de mutants résistants. Enfin si le colistiméthate semble être essentiellement éliminée par excrétion sous forme inchangée dans les urines, la colistine, quant à elle, est essentiellement éliminée par voie extra-rénale (Fig. 1).[viii]

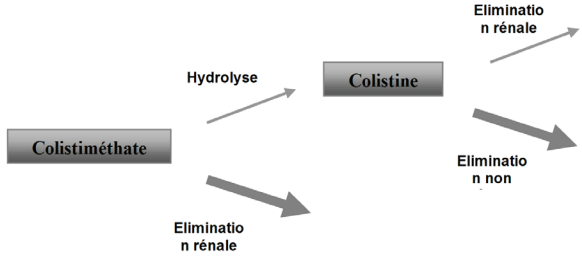


Figure 1 Voies d'élimination du colistiméthate sodique et de la colistine après administration parentérale de colistiméthate sodique chez l'homme

Avec le développement de nouvelles méthodes de dosage comme la chromatographie liquide haute performance couplée ou non à la spectrométrie de masse, la PK du colistiméthate et de la colistine a pu être revisitée. Chez le volontaire sain ayant reçu une dose unique d'un million (80 mg) de colistiméthate sodique (Colimycine®, Sanofi-Aventis, France) par voie intraveineuse sur 1h, la demi-vie moyenne d'élimination de la colistine est cinq fois plus importante que celle du colistiméthate (4.5±0.6 h contre 0.8±0.1 h) [données personnelles non publiées]. Les concentrations maximales (C_{max}) de colistine et de colistiméthate sont respectivement de 0.7±0.1 µg/mL et de 4.5±0.8 µg/mL. Le volume apparent de distribution (V/fraction métabolisé[fm]) et la clairance totale apparente (CL/fm) de la colistine sont respectivement de 61±11 L et 9.4±0.9 L/h.[i] Enfin, 43% du colistiméthate administré et 16% de la colistine formée sont retrouvés dans les urines. Chez les patients de réanimation ayant reçu une dose de 225 mg de colistiméthate toutes les 8 à 12h pendant au moins 48 h, le C_{max} de colistine est de 2.9±1.2 µg/mL, Le V/fm, la CL/fm et la demi-vie d'élimination sont respectivement de 140±60 L, 13.6±5.8 L/h et 7.4±1.7 h.[ii] Chez les patients insuffisants rénaux,

l'accumulation du colistiméthate sodique, alors dirigé vers la voie de l'hydrolyse, aboutit à une élévation des concentrations plasmatiques de colistine, justifiant une adaptation posologique selon les recommandations de l'AMM. Pour des patients de réanimation avec défaillance rénale traités par épuration extra-rénale, les données pharmacocinétiques font cruellement défaut. Deux cas cliniques, dont un publié[iii] évoquent une élimination conséquente de la colistine par l'hémofiltration continue à haut débit. Les paramètres pharmacocinétiques tissulaires, au site de l'infection, de la colistine après administration intraveineuse de colistiméthate sodique ont été très peu étudiés et les études disponibles, anciennes, ne permettent pas de conclure. Concernant l'administration de colistine par voie inhalée en complément d'une antibiothérapie par voie générale dans le traitement des pneumopathies, il semble que le passage systémique de la colistine soit minime. Dans une étude menée chez cinq patients atteints de mucoviscidose, les taux plasmatiques de colistine, après administration de 160 mg de colistiméthate sodique en nébulisation, sont très faibles (Cmax<0,064µg/mL).[iv] Des résultats similaires ont été rapportés par d'autres.[v]

Le spectre de la colistine est étroit, limité à certains bacilles à Gram négatif. Elle n'est pas active sur les cocci ni sur les bacilles à Gram positif ainsi que la majorité des anaérobies. La colistine a un pouvoir bactéricide rapide en rendant la membrane cytoplasmique des bactéries quiescentes ou en phase de croissance rapide perméable. L'augmentation de la perméabilité induit une fuite du contenu cellulaire et sa mort.[vi] La bactéricidie de la colistine est concentration-dépendante avec un effet post-antibiotique modeste.[8] Les concentrations critiques séparant les souches sensibles des souches de sensibilité intermédiaire et ces dernières des résistantes ont donc été déterminées par la société Française de Microbiologie (S<=2mg/L et R>2mg/L) en tenant compte exclusivement de la colistine. La British Society for Antimicrobial Chemotherapy a procédé de la même manière pour toutefois aboutir à des valeurs différentes (S<=4mg/L et R>=8mg/L).

En conclusion, l'utilisation de plus en plus fréquente de la colistine en réanimation dans le cadre d'impasses thérapeutiques a conduit à revisiter les données PK et PD de cette molécule. Même si les premières données disponibles permettent de mieux comprendre son devenir dans l'organisme et son mode d'action, de nombreux travaux restent à mener afin d'optimiser ses modalités d'administration, notamment chez les patients à risque comme le malade de réanimation.

Références

[1]. Livermore DM. The threat from the pink corner. Ann Med. 2003;35:226-34

[2]. Li J, Nation RL, Milne RW, Turnridge JD, Coulthard K. Evaluation of colistin as an agent against multi-resistant Gram negative bacteria. Int J Antimicrob Agents 2005;25:11-25.

[3]. Jain R, Danziger LH. Multidrug-resistant acinetobacter infections : an emerging challenge to clinicians. Ann Pharmacother 2004;38:1449-59.

[4]. Evans ME, Feola DJ, Rapp RP. Polymyxin B sulfate and colistin : old antibiotics for emerging multiresistant Gram-negative bacteria. Ann Pharmacother 1999;33:960-7.

[5]. Barnett M, Bushby SR, Wilkinson S. Sodium sulphonmethyl derivatives of polymyxins. Br J Pharmacol 1964;23:552-74.

[6]. Li J, Milne RW, Nation RL, Turnidge JD, Smeaton TC, Coulthard K. Pharmacokinetics of colistin methanesulphonate and colistin in rats following an intravenous dose of colistin methanesulphonate. J Antimicrob Chemother 2004;53:837-40.

[7]. Bergen PJ, Li J, Rayner CR, Nation RL. Colistin methanesulfonate is an inactive prodrug of colistin against Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother 2006;50:1953-8.

[8]. Li J, Nation RL, Turnidge JD, Milne RW, Coulthard K, Rayner CR, et al. Colistin : the re-emerging antibiotic for multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections. Lancet Infect Dis 2006;6:589-601.

[9]. Grégoire N, Gobin P, Grignon C, Frasca D, Saulnier PJ, Couet W, et al. Pharmacokinetics modelling of colistin methanesulfonate (CMS) and colistin in healthy volunteers after intravenous infusion of CMS. In press

[10]. Markou N, Markantonis SL, Dimitrakis E, Panidis D, Boutzouka E, Karatzas S, et al. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative bacilli infections : A prospective, open-label, uncontrolled study. Clin Ther 2008;30:143-51.

[11]. Li J, Rayner CR, Nation RL, Deans R, Boots R, Widdecombe N, et al. Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin in a critically ill patient receiving continuous venovenous hemodiafiltration. Antimicrob Agents Chemother 2005;49:4814-5.

[12]. Le Brun PPH, De Boer AH, Mannes GPM, De Fraîture DMI, Brimicombe RW, Touw DJ, et al. Dry powder inhalation of antibiotics in cystic fibrosis therapy : inhalation of a novel colistin dry powder formulation : a feasibility study in healthy volunteers and patients. Eur J Pharm Biopharm 2002:54:25-32.

[13]. Ratjen F, Rietschel E, Kasel D, Schwiertz R, Starke K, Beier H, et al. Pharmacokinetics of inhaled colistin in patients with cystic fibrosis. J Antimicrob Chemother 2006;57:306-11.

[14]. Martin C, Gouin F. Les polypeptides. In: L'antibiothérapie en réanimation, aux urgences et en chirurgie. Paris: Arnette;2000. p. 203-6.

48/11s 4 décembre 2008 - 11:00 - 342 A

Legionella et légionellose en France en 2008

D. Ché

Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Les bactéries du genre Legionella sont de description récente[1] et à ce titre continuent d'interroger sur leur écologie et sur les mécanismes physiopathologiques conduisant à l'infection, la légionellose.

Responsables selon les études jusqu'à plus de 10% des pneumonies communautaires de l'adulte nécessitant une hospitalisation[2], les légionelles sont des bactéries que l'on retrouve dans l'environnement hydrique naturel et artificiel. Lorsque l'eau qui les héberge est diffusée sous forme d'aérosols, les légionelles inhalées peuvent atteindre l'arbre bronchique et provoquer la maladie. Les expositions les plus fréquemment associées à la légionellose sont les eaux chaudes sanitaires (douches, bain à remous…) et l'eau émise par les tours aéro-réfrigérantes. Les premiers signes cliniques ne sont pas spécifiques (fièvre, toux, troubles digestifs…) et apparaissent généralement entre 2 et 10 jours après l'exposition. Des facteurs d'hôte tels que l'âge, le sexe, le tabagisme, l'immunodépression sont associés à un risque accru de développer la légionellose[3]. Le diagnostic repose sur des arguments cliniques de pneumopathie et microbiologiques (isolement de la souche ou détection des antigènes solubles urinaires ou séroconversion). L'espèce et le sérogroupe les plus fréquemment retrouvés en pathologie humaine sont *Legionella pneumophila 1.* Les légionelles sont des bactéries intracellulaires sensibles aux antibiotiques tels que les macrolides ou les fluoroquinolones, cependant, lorsque le diagnostic et la prise en charge sont tardifs, la létalité peut atteindre 30%.

En France, la surveillance de la légionellose au niveau national est assurée conjointement par l'Institut de Veille Sanitaire (InVS), via la déclaration obligatoire, et par le Centre National de Référence des légionelles[4]. Cette surveillance permet de décrire les tendances d'incidence et les caractéristiques des personnes atteintes (facteurs de risque, expositions), d'identifier les regroupements de cas et les épidémies afin de mettre en place les mesures de contrôle et de prévention. Elle permet également de caractériser les souches cliniques et environnementales.

En 2007, 1428 cas de légionellose ont été déclarés en France, soit une incidence de 2,3 nouveaux cas pour 100 000 habitants[4]. L'incidence de la légionellose a augmenté de manière très importante depuis le renforcement de la surveillance en 1997 et la facilitation du diagnostic par l'introduction de l'antigènurie urinaire et s'est stabilisée depuis 2005. En 2007, le taux d'incidence était plus élevé chez les hommes et les sujets âgés, comme habituellement observé. La létalité était de 10% et plus de 70% des cas présentaient au moins un facteur favorisant. Le tabagisme était rapporté pour 43% des cas et le diabète pour 16%. Une exposition à risque était mentionnée pour 36% des cas ; 17% des cas mentionnaient un voyage lors des 10 jours précédant l'apparition des symptômes. La notion de voyage est très fréquemment retrouvée et est à mettre en relation avec l'utilisation de l'eau dans les établissements de tourisme. L'eau peut en effet stagner pendant plusieurs jours en fonction de la fréquentation et favoriser le développement des bactéries. Une surveillance au niveau européen a été mise en place depuis 1987 pour identifier les cas groupés en lien avec ce type d'exposition. Enfin, pour 6,6% des cas de légionellose identifiés en 2007, une exposition hospitalière était mentionnée ; pour 45% d'entre eux, le caractère nosocomial était certain (hospitalisation durant la totalité de la période d'exposition).

Les connaissances sur les légionelles et la légionellose sont en constante évolution et nécessitent l'adaptation des systèmes de surveillance et la mise en œuvre d'études épidémiologiques adaptées pour que les réponses (mesures de contrôle environnementales, conception des installations, prise en charge des patients…) puissent être efficientes. Ainsi, la capacité des légionelles à être dispersées sur de longues distances est une observation nouvelle faite lors de plusieurs épidémies récentes[5, 6], ce qui nécessite un ajustement des périmètres d'investigation visant à déterminer l'origine d'une contamination. De même, la période d'incubation pourrait être plus longue que celle initialement décrite[7,8] ce qui pourrait conduire à allonger la période sur laquelle porte les investigations réalisées auprès des patients.

Malgré l'amélioration des connaissances, la recherche doit encore progresser dans de nombreux domaines incluant l'écologie microbienne et les facteurs favorisant le développement des légionelles (relation avec les amibes, caractéristiques de l'eau, impact des biocides…)[9], la physiopathologie[10], l'identification de marqueurs génomiques de virulence des souches et le lien avec la présentation clinique et le pronostic[11], les facteurs de risque liés à la mortalité, la diffusion atmosphérique des légionelles, le développement de nouveaux outils diagnostic, de nouveaux biocides (…). La France a fait un effort conséquent pour avancer dans cette voie, notamment grâce à la mise en place de l'appel à recherche ciblée lancé par l'Afsset pour soutenir des programmes de recherche sur les légionelles et la légionellose (http://www.afsse.fr/). Les résultats de ces recherches, tant fondamentales qu'appliquées, sont très importants pour mieux comprendre les mécanismes menant à la maladie et contribuer à terme à l'amélioration de la prévention.

Références

1. Fraser DW, Tsai TR, Orenstein W et al. Legionnaires' disease: description of an epidemic of pneumonia. N Engl J Med 1977; 297(22):1189-1197.

2. Yu VL, Stout JE. Community-acquired legionnaires disease: implications for underdiagnosis and laboratory testing. Clin Infect Dis 2008; 46(9):1365-1367.

3. Che D, Campese C, Santa-Olalla P et al. Sporadic community-acquired Legionnaires' disease in France: a 2-year national matched case-control study. Epidemiol Infect 2008;1-7.

4. van Cauteren D, Campèse C, Jarraud S, Maine C, Che D. Les légionelloses

survenues en France en 2007. Bull.Epidedemiol.Hebd. 2008;276-280.

5. Nguyen TM, Ilef D, Jarraud S et al. A community-wide outbreak of legionnaires disease linked to industrial cooling towers--how far can contaminated aerosols spread? J Infect Dis 2006; 193(1):102-111.

6. Nygard K, Werner-Johansen O, Ronsen S et al. An outbreak of legionnaires disease caused by long-distance spread from an industrial air scrubber in Sarpsborg, Norway. Clin Infect Dis 2008; 46(1):61-69.

7. Greig JE, Carnie JA, Tallis GF et al. An outbreak of Legionnaires' disease at the Melbourne Aquarium, April 2000: investigation and case-control studies. Med J Aust 2004; 180(11):566-572.

8. Lettinga KD, Verbon A, Weverling GJ et al. Legionnaires' disease at a Dutch flower show: prognostic factors and impact of therapy. Emerg Infect Dis 2002; 8(12):1448-1454.

9. Lasheras A, Boulestreau H, Rogues AM, Ohayon-Court, Labadie JC, Gachie JP. Influence of amoebae and physical and chemical characteristics of water on presence and proliferation of Legionella species in hospital water systems. Am J Infect Control 2006; 34(8):520-525.

10. Ader F, Le Berre R, Fackeure R et al. In vivo effect of adhesion inhibitor heparin on Legionella pneumophila pathogenesis in a murine pneumonia model. Intensive Care Med 2008; 34(8):1511-1519.

11. Cazalet C, Jarraud S, Ghavi-Helm Y et al. Multigenome analysis identifies a worldwide distributed epidemic Legionella pneumophila clone that emerged within a highly diverse species. Genome Res 2008; 18(3):431-441.

49/11s — 4 décembre 2008 - 11:20 - 342 A

Facteurs pronostiques de mortalité et suivi : résultats de l'enquête prospective nationale

P. Vanhems[3], S. Pires-Cronenberger[3], C. Campèse[8], D. Che[8], A. Bissery[4], R. Ecochard[4], S. Jarraud[6], J. Etienne[6], C. Brun-Buisson[7], R. Poirier[5], P. Weinbreck[1], C. Chidiac[2], le Groupe d'Etude et les Centres Participants
[1]Service des Maladies Infectieuses, CHU de Limoges [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon ; Université Lyon 1; Faculté Laennec, Inserm U851 [3]Service d'Hygiène, Epidémiologie et Prévention, Hôpital Edouard Herriot ; UMR CNRS 5558, Université Lyon 1 [4]Service de Biostatistiques, Hospices Civils de Lyon [5]Service des Maladies Respiratoires, Centre Hospitalier du Pays d'Aix, Aix-en-Provence [6]Centre National de Référence des Légionelles, Bron [7]Service de Réanimation Médicale, Hôpital Henri Mondor, Créteil [8]Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint Maurice, France

Introduction : La légionellose est une pneumonie dont le pronostic peut-être sévère selon l'état du patient. Depuis la description des 1ers cas il y a plus de 30 ans, le diagnostic de légionellose a été efficacement amélioré grâce au test de détection de l'antigène urinaire lors d'infection par *Legionella pneumophila* de serogroupe 1. De plus, de nouveaux antibiotiques sont largement utilisés aussi bien dans le cadre d'un traitement empirique qu'après la confirmation diagnostique de légionellose. Les objectifs de cette étude étaient de décrire chez des patients ayant une légionellose confirmée la présentation clinique, radiologique et biologique lors de leur prise en charge hospitalière en France et d'identifier les déterminants de la mortalité.

Méthode : Tous les patients ayant une légionellose dont la déclaration (DO) était parvenue entre le 1er avril 2006 et le 30 juin 2007 l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) étaient susceptibles d'être inclus dans cette étude. Lors de la réception de la DO, la personne ayant déclaré le cas était contactée afin de lui proposer d'inclure le patient correspondant dans cette étude. Seuls les patients hospitalisés pour une légionellose liée *à Legionella pneumophila* de type 1 ont été inclus. Un consentement écrit a été obtenu avant toute inclusion et cette étude avait fait l'objet d'un accord préalable de la CNIL. Les données étaient collectées prospectivement grâce à un questionnaire standardisé et préalablement validé. Des variables démographiques, cliniques, radiologiques, biologiques et thérapeutiques ont été collectées. Ces données ont été décrites au moyen de statistiques classiques. La survie durant le séjour hospitalier (censurée à 75j) a été estimée selon la méthode de Kaplan-Meier et les comparaisons effectuées au moyen du test du Log-rank. Les facteurs associés au décès (de toutes causes confondues) ont été identifiés au moyen d'un modèle de Cox.

Résultats : Durant la période considérée, 1595 DO ont été reçues à l'InVS et 595 patients ont été inclus dans l'étude (37%). La mortalité hospitalière était plus élevée chez les patients inclus que chez les non inclus (72/595 [12,1%] *vs* 78/922 [7,8%], p=0,004). Les autres caractéristiques étaient similaires entre les 2 groupes.

Un total de 593 patients a pu être évalué pour l'étude pronostique. Le décès durant le séjour hospitalier est survenu chez 57 malades pour lesquels le suivi était assez valide pour estimer la survie. L'âge médian des 593 malades était de 60,4 ans, 26,7% était des femmes et 86,4% des cas provenaient de leur domicile. Parmi les facteurs de risque de légionellose étudiés, on retrouvait le tabagisme (52,6% des cas), un diabète (15,8%), un cancer ou une hémopathie (8,4%) ; dans 25,4% des cas on ne retrouvait aucun facteur favorisant. Le délai médian entre la 1ère consultation et l'hospitalisation était de 2j pour les cas communautaires. Un diagnostic de légionellose nosocomiale a été retenu pour 21 cas (12 certains et 9 probables).

Les signes et symptômes présents à l'admission sont reportés ci-dessous.

Signes/symptômes généraux	Signes/symptômes respiratoires	Signes/symptômes digestifs	Signes/symptômes neurologiques
Fièvre>38,5°C 86,2%	Dyspnée 71,5%	Nausées 20,7%	Confusion 30,8%
Frissons 64,7%	Toux 67,9%	Diarrhées 20,2%	Céphalées 24,9%
Myalgies 29,9%	Expectorations 30,2%	Douleur abdominale 15,1%	Autre 10,4%
	Douleur thoracique 19,8%		
	Hémoptysie 6,2%		
	Douleur pleurale 4,7%		

La durée médiane du séjour a été de 10j (min 1j-max 146j) et l'hospitalisation en réanimation a été nécessaire pour 170 malades (28,6%)

La probabilité de survie était de 93% à 10j, 87% à 20j, 77,5% à 30j et 65% à 75j. Après analyse stratifiée, les facteurs suivants étaient associés à une survie plus courte : la présence de signes d'altération de l'état général (p=0,008), la présence de signes digestifs (p=0,04), le sexe féminin (p=0,01), un age>60 ans (p=0,02), une hospitalisation en réanimation (p<0,001), un score de Fine (PSI) de valeur 4-5 comparé à une valeur de 2-3 (p=0,0003). Le caractère nosocomial n'était pas associé à la mortalité (p=0,08). Après analyse multivariée les facteurs suivants ont été associés de manière indépendante au décès : l'âge par accroissement de classe de 10 ans (Risque relatif ajusté [RRa] 1,25 [IC 95% 1,02-1,53]), le sexe féminin (RRa 1,75, [IC 95% 1,01-3,04]), une hospitalisation en réanimation (RRa 4,22 [IC 95% 2,27-7,85]), un score PSI 4-5 *vs* 2-3 (RRa 1,93 [IC 95% 0,91-4,11]). Une antibiothérapie adaptée (macrolide ou quinolone) a été administrée chez 98% des patients dans un délai médian de 4 jours après le début des signes cliniques; le délai de cette prescription n'était pas associé au décès (RRa 0,98 [IC 95% 0,90-1,07]).

Discussion-Conclusion : Cette étude prospective réalisée sur un large échantillon de patients permet d'identifier des facteurs associés au décès chez les malades présentant une légionellose. Certaines limites seront discutées incluant les variables d'ajustement et les biais potentiels dont le biais de recrutement. En effet, la proportion de patients décédés était supérieure dans la population analysée par rapport à la population non analysée suggérant un biais de recrutement vers des patients plus sévèrement atteints. Les informations relatives aux traitements doivent être interprétées avec prudence compte tenu du caractère observationnel de cette étude.

Toutefois, les résultats obtenus permettent d'envisager une amélioration de la prise en charge des patients atteints de légionellose en France. Des analyses complémentaires notamment sur les caractéristiques des souches (facteurs de virulence) seront à engager afin de poursuivre l'amélioration des connaissances sur cette pathologie il est important de souligner l'importance de la participation et l'aide de multiples centres hospitaliers sans lesquels cette étude n'aurait pas pu être menée à bien.

50/11s — 4 décembre 2008 - 11:40 - 342 A

L'antibiothérapie des recommandations officielles face aux pratiques quotidiennes

C. Chidiac[6], S. Pires-Cronenberger[1], C. Brun-Buisson[5], S. Jarraud[4], D. Che[7], C. Campese[7], A. Bissery[2], R. Ecochard[2], J. Etienne[3], P. Vanhems[1], et Groupe d'étude
[1]Service d'Hygiène, Epidémiologie et Prévention, Hôpital Edouard Herriot ; UMR CNRS 5558, Université Lyon 1 [2]Service de Biostatiques, Hospices Civils de Lyon [3]Centre de Biologie et de Pathologie Est [4]Centre National de Référence des Légionelles, Bron [5]Service de réanimation médicale, CHU Henri Mondor, Créteil [6]Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon [7]Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Introduction : L'érythromycine, et par extension les macrolides, constituent le traitement historique de référence de la légionellose pulmonaire. Les nouveaux macrolides et apparentés (M), les quinolones de seconde génération(QII) et les quinolones respiratoires (QR) sont utilisés pour le traitement probabiliste et documenté des légionelloses, dont le traitement optimal reste à déterminer.

Le but de ce travail est de décrire l'antibiothérapie (ABT) dans une cohorte de patients hospitalisés en France en regard des recommandations françaises.

Méthodes : Etude observationnelle prospective conduite d'avril 2006 à juin 2007. Les patients (pts) hospitalisés avec diagnostic de légionellose (diagnostic clinique de pneumonie aigue + anomalies radiologiques + antigénurie positive pour Lp1) ont été inclus sur la base d'un questionnaire clinique rempli par les cliniciens participants à l'étude. Les prescriptions ont été enregistrée à l'admission (ABT probabiliste ambulatoire et ABT probabiliste à l'admission pour pneumonie aigue) et lors de la confirmation diagnostique et pendant l'hospitalisation. L' ABT était considérée comme adéquate lorsqu'elle comportait au minimum un antibiotique à diffusion intracellulaire actif sur *L. pneumophila* (M, QII, RQ) sans tenir compte d'autres molécules associées (bétalactamine ou autre). L'ABT a été considérée comme non adéquate lorsqu'elle ne comportait aucun ABT à diffusion intracellulaire actif sur *L. pneumophila*, ou une monothérapie par rifampicine.

Resultats: 595 pts (436 hommes, sexe ratio (2,7), âge moyen 61,4 ± 16,4 ans) ont été inclus. Le taux de décès en cours d'hospitalisation a été de 9.9%. Les pts ont séjourné aux urgences, en médecine et en réanimation dans 38%, 47% et 15% des cas respectivement. L'ABT est connue pour 183 pts avant l'admission, 451 pts à l'admission et 592 pts après documentation. Avant l'admission, les pts ont principalement été traités par bétalactamine (BL) (170). L'ABT lors du diagnostic de pneumonie à l'admission a comporté une BL (395), un M (102), une QII (150), une QR (89), R (7). Après documentation, l'ABT a reposé sur BL (123), M (308), QII (238), QR (380) R (127). Les associations les plus fréquemment utilisées à l'admission pour le traitement probabiliste de pneumonie étaient : BL + M (65), BL + QII (125), BL + QR (51),

M + QII (14), M+ QR (7), R + M -2), R + QII (2) et R + QR (3). Par contre après documentation, les associations les plus fréquemment utilisées étaient : BL + M (17), BL + QII (28), BL + QR (13), M + QII (111), M+ QR (81), R + M 4), R + QII (29) et R + QR (48). Pour les pts recevant une ABT adéquate la proportion de pts traités par M, QII et QR était de 30%, 44%, 26% pour le diagnostic de pneumonie à l'admission et de 33%, 26% et 41% pour le diagnostic de légionellose. Ainsi, l'ABT était adéquate pour 15,30%, 71,17% et 99,49% des pts avant l'admission, lors du diagnostic de pneumonie et après le diagnostic de légionellose. La proportion de pts recevant deux molécules adéquates est de 8,7% pour le diagnostic de pneumonie, et de 52% après diagnostic de légionellose. Chez les pts recevant un traitement adéquat, 57%, 83% reçoivent une molécule associée non active sur *L. pneumophila* avant l'admission et lors du diagnostic de pneumonie, et cette proportion se maintient à 21,6% après le diagnostic de légionellose.

Conclusion : Peux d'ABT sont adéquates avant l'admission. Les QII et QR sont maintenant largement utilisées en comparaison aux macrolides. L'ABT probabiliste prescrite après l'admission est adéquate pour la plupart des pts. Après documentation, il existe une augmentation importante du recours à l'association de deux ABT intracellulaires actifs sur *L. pneumophila.* Même après le diagnostic de légionellose, 21.6% des pts continuent à recevoir une molécule non active en association.

51/11s — 4 décembre 2008 - 12:00 - 342 A

Impact de la légionellose sur la qualité de vie

T. Marcadal[3], S. Pires-Cronenberger[3], A. Bissery[4], D. Ché[8], C. Campese[8], S. Jarraud[6], J. Etienne[6], C. Brun-Buisson[7], R. Poirier[5], P. Weinbreck[1], P. Vanhems[3], C. Chidiac[2]

[1]Service des Maladies Infectieuses, CHU de Limoges [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital de la Croix-Rousse - Université Claude Bernard Lyon 1 ; Faculté Laennec Inserm U851 [3]Service d'Hygiène, Epidémiologie et Prévention, Hôpital Edouard Herriot ; UMR CNRS 5558, Université Lyon 1 [4]Service de Biostatistiques, Hospices Civils de Lyon [5]Service de Maladies Respiratoires, Centre Hospitalier du Pays d'Aix, Aix-en-Provence [6]Centre National de Référence des Légionelles, Bron [7]Service de Réanimation Médicale, Hôpital Henri Mondor, Créteil [8]Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint Maurice, France

Introduction : La légionellose est une pneumopathie provoquée par des bactéries du genre *Legionella* présentes naturellement dans les milieux aquatiques naturels ou artificiels [1]. *Legionella pneumophila sérogroupe 1 (Lp1) est le principal pathogène, responsable de plus de 80%* des cas de légionellose [2]. En France, les données issues de la déclaration obligatoire en 2007 font état de 1428 cas avec une létalité de 10%, contre 25% en 2000.

La qualité de vie (QDV) chez des patients (pts) après un diagnostic confirmé de légionellose est très mal documentée [3]. L'objectif de cette étude est d'estimer l'impact de cette maladie sur la QDV 3 mois après le diagnostic confirmé de légionellose due à *Lp*1.

Méthode et patients : La QDV a été évaluée chez des pts hospitalisés pour légionellose due à *Lp*1, 3 mois après la confirmation du diagnostic. Les données sont issues d'une étude cohorte prospective multicentrique nationale visant à déterminer les facteurs pronostiques liés à la létalité réalisée d'avril 2006 à juin 2007.

Les pts ont été interrogés trois mois après le diagnostic de légionellose à l'aide de l'auto-questionnaire le « Medical Outcome Study Short Form-36 item health survey (SF-36 ou MOS-SF-36) » [4]. Celui-ci est composé de 11 questions et regroupe 36 items, évaluant 8 dimensions de la santé : l'activité physique (PF), la vie et les relations avec les autres (SF), les douleurs physiques (BP), la santé perçue (HT), la vitalité (VT), les limitations dues à l'état psychique (RE) et physique (RP), et la santé psychique (MH). Pour chaque échelle, et après calcul par un algorithme, on obtient un score normé variant de 0 à 100. Les scores tendant vers 100 indiquent une meilleure qualité de vie. A partir de ces 8 échelles, il est également possible de calculer 2 scores synthétiques qui ont été identifiés par analyse factorielle: un score agrégé de santé physique (PCS) et un score agrégé de santé mentale (MCS). Les scores obtenus ont été comparés aux données de référence publiées pour la population française.

Les facteurs favorisant (âge, sexe, alcoolisme, tabagisme, corticothérapie) la survenue de la légionellose, ainsi que l'influence du délai de la prise en charge thérapeutique sur les scores de la QDV ont été étudiés. La sévérité de la légionellose a été également étudiée grâce au calcul du score de Fine [5] ou Pneumonia Severity Index (PSI) et du score simplifié CRB-65 dérivé du CURB65 de la British Thoracic Society [6].

Les analyses statistiques ont été faites grâce aux tests du Chi 2 (données catégorielles) et de Student (données continues). L'analyse des facteurs influençant les scores de QDV a été construite sur un modèle multivarié utilisant un algorithme de régression linéaire « stepwise ».

Résultats : Entre avril 2006 et juin 2007, 566 dossiers de pts hospitalisés pour une légionellose ont été collectés et 272 questionnaires de QDV ont été retournés par les pts, à 3 mois après la date du diagnostic (soit 48% de répondants, 272/566). A l'exception des tabagiques, aucune différence significative n'a été observée entre les 2 populations en ce qui concerne l'âge, le sexe, l'alcool et la corticothérapie (tableau 1).

Trois mois après la légionellose, les 8 scores de QDV sont abaissés par rapport à la population française (figure 1). Ils le sont significativement ($p<0,01$) pour les limitations dues à l'état physique (RP), la vitalité, et celles liées à l'état psychique (PCS) et la santé générale (MCS).

L'altération des scores de QDV n'est pas significativement liée ($p>0,05$) au score de gravité (CRB65), au tabagisme actif, à la consommation d'alcool, à la prise de corticoïdes, à l'hospitalisation en réanimation, aux délais prolongés de prise en charge thérapeutique ni à la PaO_2 abaissée.

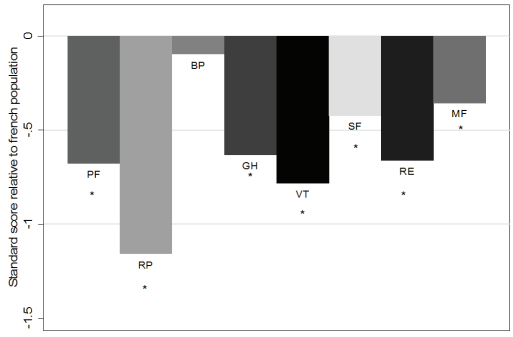
L'âge supérieur à 61 ans et le sexe féminin altèrent la composante physique de la QDV avec une faible amplitude. La sévérité de la légionellose, lorsqu'elle est classée Fine IV et V, est significativement associée à une altération de la QDV pour le score résumé de santé physique (PCS).

Tableau 1 : Analyse comparative des « répondants » et « non répondants » au SF-36.

	Répondants (n=272)	Non-Répondants (n=238)	p-value*
Age (moyenne ± SD)	61.0 ± 16.1	59.6 ± 17.1	0.4
Homme (n (%))	205 (75.4%)	176 (74%)	0.7
Tabagiques (n (%))	123 (45.2%)	126 (54.1%)	0.047
Corticothérapie (n (%))	14 (5.1%)	17 (7.2%)	0.3
Alcool (n (%))	43 (15.8%)	50 (21.2%)	0.1

*** : test de Student pour l'âge, et test du Chi2 pour les variables catégorielles.**

Figure 1 : Scores de qualité de vie liée à la santé des patients, 3 mois après une légionellose.



Conclusion : Les résultats de cette étude témoignent pour la première fois en France de l'impact de la légionellose sur la QDV des pts à court terme. La QDV 3 mois après la légionellose est altérée. Celle-ci atteignant majoritairement la composante physique et mentale de la santé. Ces résultats doivent cependant être considérés avec prudence en raison des biais de recrutement possible et de la méconnaissance de la QDV chez ces pts avant la légionellose. Une analyse de la QDV à 6 mois, puis une fois par an sur 5 ans est en cours. Celle-ci permettra de définir dans quels délais celle-ci s'améliore et pour quelles dimensions de la santé.

Références :

1- Stout JE, Yu VL. Legionellosis. N Engl J Med 1997; 337(10):682-687.

2 - Campese C, Maine C, Che D. Les légionelloses survenues en France en 2006. Bull Epidedemiol Hebd 2007; (43): 365-367.

3- Lettinga KD, Verbon A, Nieuwkerk PT et al. Health-related quality of life and posttraumatic stress disorder among survivors of an outbreak of Legionnaires disease. Clin Infect Dis 2002; 35(1):11-17.

4- Leplège A., Ecosse E, Coste J, *et al.* Le Questionnaire MOS SF-36 : Manuel de l'utilisateur et guide d'interprétation des scores ; Éditions ESTEM. Juin 2001.

5- Fine MJ, Auble TE, Yealy DM, *et al.* A prediction rule to identify low risk patients with community-acquired pneumonia. N Engl J Med 1997; 336: 243-250.

6- Bauer TT, Ewig S, Marre R, *et al.* CRB-65 predicts death from community-acquired pneumonia. J Intern Med. 2006; 260 (1): 93-101.

64/14o — 4 décembre 2008 - 11:00 - 352 A

Risques infectieux et dons d'organes

H. Peigue-Lafeuille

Laboratoire de Virologie Médicale, Centre de Biologie, CHU de Clermont-Ferrand, Laboratoire de Virologie, Université d'Auvergne, EA3843, Faculté de Médecine, France

Attentes, besoins et pénurie : Appréhender le risque infectieux associé aux dons d'organes et y faire face consiste d'abord à évaluer les besoins et les attentes des malades en matière de greffe d'organes. Il en ressort que la pénurie en organes est évidente.

En 2007 selon l'Agence de la Biomédecine (ABM) 13 081 patients attendaient un organe, 4 666 ont été greffés et 1 562 personnes ont été prélevées alors que 3067 personnes avaient été recensées comme donneurs potentiels (soit 47%). Les greffes les plus fréquentes étaient celles du rein (62%) du foie (23%), du cœur (8%) et du poumon (4%). Mais 227 malades inscrits sur la liste d'attente sont morts faute d'organe disponible [1].

Les donneurs d'organes potentiels constituent une population hétérogène. En 2007, 5,6% étaient des donneurs vivants, apparentés au receveur, pour le don d'un rein ou d'un lobe hépatique. Même si les critères ont été élargis par la loi de bioéthique du 6 août 2004, le nombre de dons (235 reins et 18 lobes hépatiques) est en baisse par rapport à l'année précédente.

Les donneurs sont dans près de 95% des cas des personnes décédées en état de mort encéphalique : la circulation sanguine est artificiellement maintenue et la situation clinique instable (prélèvement multi organes ou PMO). Un donneur PMO permet de greffer quatre patients en moyenne. L'état de « mort encéphalique » est un évènement rare, représentant moins de 1% des décès à l'hôpital. Les accidents vasculaires cérébraux en sont la première cause, suivis des causes traumatiques. La part liée aux accidents mortels de la route a diminué, passant de 25% en 1996 à 12,3% en 2007 – et c'est heureux. Mais l'âge moyen des donneurs a augmenté, de 37,5 ans en 1996 à 50 ans en 2007 et est supérieur à 60 ans une fois sur 4. La moitié des donneurs potentiels ne sont pas prélevés. Les causes de non prélèvement sont multiples, mais l'opposition de l'entourage (6 fois sur 10) ou l'opposition exprimée de son vivant par le défunt (4 fois sur 10) occupent encore la première place, soit 27,9% des donneurs recensés (889 donneurs non prélevés pour ce motif). Six pour cent ne sont pas prélevés à cause d'une pathologie tumorale – dont les chiffres augmentent en même temps que l'âge des donneurs et 3,4% à cause d'une maladie infectieuse. La positivité d'un marqueur infectieux est la 2ème cause excluant le don dans l'item « antécédents du donneur » (1,8% des personnes recensées, n=55), soit un nombre théorique de 165 organes…L'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) est la 1ère responsable [1]. *Il faut rappeler (marteler !) que, outre la vaccination en population générale, la vaccination contre le VHB pour tout candidat à une greffe est inscrite dans le calendrier vaccinal !*

Devant cette pénurie d'organes, le décret du 23/12/05 modifiant le décret du 9/10/97 autorise la greffe à partir de donneurs (vivants ou décédés) ayant été en contact avec le VHB, le VHC ou la syphilis à des receveurs de foie, rein, cœur, poumon, hors urgence, consentants, sélectionnés/suivis et traités selon des protocoles dérogatoires précis, prenant en compte les marqueurs présents chez le donneur et ceux présents (ou non) chez le receveur. Le nombre d'organes greffés à partir de donneurs ayant des marqueurs sérologiques positifs (donneurs en mort encéphalique) a doublé, passant de 158 à 301 entre 2005 et 2007. Ainsi donc, le rapport bénéfice/risque de la greffe d'organes a déjà pris en compte un certain nombre de risques infectieux connus avant de procéder à la greffe.

Depuis fin 2006, grâce au décret du 02/08/05, le prélèvement d'organes (limité au rein) sur donneur à cœur arrêté a été mis en place, l'ABM en encadrant les procédures très strictes (respect des contre indications, limites horaires fixées, contraintes logistiques). Dix centres se sont engagés et 42 greffes rénales ont été réalisées.

La sécurité virale, la sélection clinique et la qualification biologique [2,3] : Ainsi, la population des donneurs est hétérogène (vivants ou décédés), différente de la population générale, y compris en terme de prévalence des maladies infectieuses majeures qui pourraient être transmises par le don, en particulier VIH, VHB, VHC. Ces différences ont une incidence sur la qualité de la sélection clinique, la qualité du sérum (sérum du donneur vivant, sérum parfois hémodilué du donneur PMO, sérum d'un donneur décédé à cœur arrêté…) et le degré d'urgence de réalisation des examens biologiques, la qualité tissulaire des organes s'altérant très vite. En pratique, tous les degrés existent entre le « confort » d'une situation analogue à celle du don de sang (donneur vivant, greffe de rein programmée, interrogatoire et examen faciles, panel très large de marqueurs réalisables dans le cadre de l'activité quotidienne…) et l'inconfort du « mort inconnu », pour lequel les renseignements cliniques peuvent être pauvres et les antécédents difficiles à colliger, polytransfusé éventuel dont les organes prélevés et qualifiés sur le plan biologique dans l'urgence bénéficieront immédiatement à un patient en défaillance d'organe terminale. L'appréciation du risque infectieux repose d'abord sur la sélection clinique, essentielle, avec l'interrogatoire des proches, du dossier médical, du médecin traitant, difficile dans le contexte du décès. Elle repose ensuite sur la sélection biologique avec la recherche de marqueurs codifiée par les décrets de 1997 et arrêté de 2004. Sont listés en urgence les anticorps VIH1 et 2 et antigène p24 (ou ARN VIH), anticorps VHC (une technique), antigène HBs, anticorps HBs et HBc, anticorps HTLV, anticorps CMV et EBV, paludisme selon le risque de transmission. Sont faits en différé les anticorps toxoplasmose et syphilis (TPHA quantitative recommandée). Les microbiologistes sont donc un des 1ers maillons dans la chaîne du don d'organes. Cette activité de service public impliquant plusieurs dizaines de professionnels tous corps confondus doit être opérationnelle 24h/24 toute l'année. Ceci signifie une solide organisation, des techniciens et biologistes en nombre suffisant formés à la réalisation/validation de nombreux marqueurs 24h/24, des procédures dégradées permettant de pallier la défaillance éventuelle d'un réactif ou d'un appareil…

Malgré les recommandations, des virus que l'on attend pas : Rappelons que les patients qui bénéficient d'une greffe d'organe vont en général suivre un traitement immunosuppresseur toute leur vie et seront doublement exposés à la réactivation de leurs virus latents endogènes (surtout les *Herpesviridae*) et à l'infection gravissime d'agents infectieux qui n'auraient pas forcément de pouvoir pathogène marqué s'il n'y avait l'immunodépression (cas du virus de la chorioméningite lymphocytaire).

Resteront toujours la possibilité au moment du don d'une maladie infectieuse en incubation ou en phase aiguë encore paucisymptomatique, ou celle d'une maladie à incubation longue, sans marqueurs décelables, sans arme thérapeutique (rage, prions, ou d'autres à découvrir…)…et l'erreur humaine. En ne considérant que les années récentes, des observations bruyantes de transmission d'agents infectieux à partir du même donneur ayant entraîné le décès d'un ou plusieurs receveurs ont été rapportées. Quelques exemples sont présentés ci-dessous. Tous n'étaient pas évitables.

Les décès dans des tableaux de rage de 4 receveurs (reins, foie, artère iliaque) en mai 2004 à Dallas [4] et de 3 autres receveurs (rein, poumon, rein/pancréas) en février 2005 à Berlin [5] sont venus rappeler l'importance de la sélection clinique, de l'examen des causes du décès et des antécédents médicaux immédiats. Par ailleurs, entre 2003 et 2008, 4 donneurs infectés, soit asymptomatiques au moment du don, soit présentant une encéphalite, ont transmis le virus de la chorioméningite lymphocytaire à 11 receveurs *via* une greffe d'organes. Dix de ces 11 receveurs en sont morts, dans un tableau d'encéphalite ou de défaillance multiviscérale [6, 7, 8]. Là encore, ne pas prélever les patients décédés de cause inconnue ou dans un tableau d'*encéphalite de cause inconnue* est un impératif absolu. La transmission du virus West Nile, quant à elle, a entraîné le décès par encéphalite d'un receveur de rein de 38 ans en Géorgie aux USA en 2002 [9]. La donneuse avait elle-même été contaminée lors des polytransfusions par *un* donneur virémique avant de décéder…*Notons que deux cas d'encéphalite à virus West Nile dans la population générale viennent d'être signalés tout récemment en octobre 2008 en Italie* [10]. Enfin, l'erreur de transcription (résultats rendus « négatifs » au lieu de « positifs » dans un laboratoire d'analyse en Italie) a été à l'origine d'une transmission du VIH à partir d'une donneuse séropositive à 3 receveurs en 2007, qui sont tous infectés désormais [11]…

Le risque infectieux « zéro » n'existe évidemment pas. Certes les progrès technologiques accompagneront la diminution du risque, les marqueurs moléculaires en urgence vont être à notre portée, venant raccourcir la période silencieuse. Cependant la technologie seule, le respect des bonnes pratiques de laboratoire et les plus sophistiqués des tests à ce jour – à supposer que leur réalisation soit techniquement et biologiquement faisable en urgence 24h/24 sur tout le territoire national - ne remplaceront pas la sélection clinique, le respect absolu de certaines contre indications (maladies neurologiques ou décès de cause inconnue), et la prise en compte de la situation épidémiologique évolutive des différentes maladies transmissibles infectieuses. Et quand bien même, ce risque zéro ne serait pas atteint. Le donneur d'organe a son histoire singulière, sa part d'ombre et est d'abord une personne à respecter. Quand il s'agit d'un donneur décédé, c'est d'abord et aussi un patient pour lequel la médecine a échoué [12]. Le contexte et la dimension éthique du don d'organe ne sauraient être assimilés à ceux du don du sang. Même si tout est mis en œuvre pour minimiser les risques infectieux pour le receveur, tout ne se met pas en fiche ni ne se traduit en textes de lois. Donner, comme recevoir un organe est une activité humaine, avec sa part de risque. La médecine reste un art.

Références :

1 - http://www.agence-biomedecine.fr (informations professionnelles)

2 - Sécurité virale pour la qualification des organes, tissus, cellules. Révir, Référentiel en virologie médicale 2ème édition, 2007. Paris, chapitre 48, pp155-158.

3 - Peigue-Lafeuille H. La sécurité virale dans les prélèvements multi-organes : le point de vue du virologiste. Transfusion clinique et biologique 2003,10 ; 81-85.

4 - Srinivasan A et al. Transmission of rabies virus from an organ donor to four transplant recipients. N Engl J Med 2005; 352:1103-11.

5 - Hellenbrand W et al. Cases of rabies in Germany following organ transplantation. Euro Surveill 2005; 10:E050224.6.

6 - Fischer et al. N Engl J Med 2006 ; 354: 2235-2249.

7 - Palacios et al. N Engl J Med 2008; 358: 991-998.

8 - MMWR July 25, 2008/57(29); 799-801.

9 - Iwamoto et al. N Engl J Med 2003; 348: 2196-2203.

10 - Bulletin Hebdomadaire International N°159, 1 octobre 2008 – 7 octobre 2008

11 - Eurosurveillance Weekly, vol. 12, no 3, le 8 mars 2007

12 - Le Gall G, Le Gall F. Ethique et prélèvements d'organes. Annales françaises d'Anesthésie et de Réanimation, 2006, 25 ; 546-549.

Textes législatifs de référence: Décret du 09/10/97, Arrêté du 14/01/04, Décret du 21/12/05, Arrêté du 21/12/05, Avis du 11/03/06.

74/17s — 4 décembre 2008 - 14:00 - HAVANE

Caractérisation génétique de *E. coli* responsable d'infections extra-intestinales en pédiatrie

S. Bonacorsi, P. Bidet, E. Bingen

Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Laboratoire associé au CNR de Escherichia coli, Equipe d'accueil EA3105, UFR Paris-Diderot, France

Escherichia coli est le premier germe responsable d'infections extra-intestinales chez l'enfant (4). Les deux infections les plus sévères sont représentées par l'urosepsis, ou infection urinaire bactériémique, du jeune nourrisson et la méningite néonatale qui peut être soit liée à une infection urinaire (3), soit à une translocation digestive (2). Les relations génétiques entre les souches responsables de ces deux syndromes sévères ont été peu étudiées. Afin de déterminer si il existe des pathotypes spécifiques de type UPEC « uropathogenic *E. coli* » ou NMEC « neonatal meningitis *E. coli* », nous avons analysé sur le plan génétique et phénotypique 223 souches de *E. coli* responsables soit de méningite soit d'urosepsis sans méningite, chez des jeunes nourrissons de moins de 3 mois (1). Les souches ont été caractérisées par « multilocus sequence typing » (MLST), détermination du profil génétique de virulence (11 gènes de virulence » et sérotypage. L'ensemble des souches était réparti selon 29 séquence-types (ST), 26 sérogroupes O, et 39 profils de virulence différents. La combinaison du ST et du sérogroupe a permis d'identifier 49 sous-types dénommés Séquence-O-types. La répartition des Séquence-O-type selon le syndrome infectieux a révélé que certains sous-types était exclusivement associés à l'urosepsis ($ST27^{O2}$, $ST27^{O6}$, $ST29^{O2}$) ou à la méningite ($ST29^{O18}$ qui correspond au clone mondial O18:K1:H7). La multiplicité des profils génétiques de virulence au sein de chaque Séquence-O-

type indique qu'il est difficile d'identifier une empreinte de virulence caractéristique d'un pathotype. Le Séquence-O-type ST29^{O45}, qui correspond au clone émergent français O45:K1:H7 caractérisé par un seul profil génétique de virulence a été retrouvé à égale fréquence dans les urosepsis et les méningites. Ces résultats indiquent qu'il est possible d'identifier des sous types ou groupes clonaux ayant une spécialisation dans un syndrome invasif particulier. Mais il existe également des groupes clonaux comme le ST29^{O45} présentant une virulence duale incluant à la fois l'uropathogénicité et la méningovirulence. Sur le plan physiopathologique notre approche démontre que clone mondiale de méningite O18:K1:H7 ne peut être à l'origine de méningite que par translocation digestive et non infection urinaire, alors que le clone O45:K1:H7 peut emprunter les deux voies. Le séquençage récemment réalisée de la souche S88 représentative du ST29^{O45} permettra de mieux comprendre la virulence complexe de ce nouveau clone.

Références

1. **Bidet, P., F. Mahjoub-Messai, J. Blanco, J. Blanco, M. Dehem, Y. Aujard, E. Bingen, and S. Bonacorsi.** 2007. Combined Multilocus Sequence Typing and O Serogrouping Distinguishes *Escherichia coli* Subtypes Associated with Infant Urosepsis and/or Meningitis. J Infect Dis **196:**297-303.

2. **Bonacorsi, S., and E. Bingen.** 2005. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* causing neonatal meningitis. Int J Med Microbiol **295:**373-381.

3. **Bonacorsi, S., V. Houdouin, P. Mariani-Kurkdjian, F. Mahjoub-Messai, and E. Bingen.** 2006. Comparative prevalence of virulence factors in *Escherichia coli* causing urinary tract infection in male infants with and without bacteremia. J Clin Microbiol **44:**1156-1158.

4. **Johnson, J. R., and T. A. Russo.** 2002. Extraintestinal pathogenic *Escherichia coli*: "the other bad *E. coli*". J Lab Clin Med **139:**155-162.

75/17s — 4 décembre 2008 - 14:20 - HAVANE

Génotoxicité des souches de *E. coli* responsables d'infections extra-intestinales

E. Oswald

Ecole Nationale Veterinaire de Toulouse, INRA UMR1225, France

Escherichia coli est une bactérie commensale du tube digestif qui colonise majoritairement le côlon. C'est l'espèce majoritaire (10^6 à 10^8 UFC/g) de la flore digestive sous-dominante aéro-anaérobie facultative des homéothermes [1]. Cependant, certaines souches de *E. coli* regroupées en pathovars sont responsables d'infections intestinales et extra-intestinales tant chez l'homme que chez l'animal [2]. Seulement la moitié des gènes du génome des souches de *E. coli* sont communs à toute l'espèce [3]. La grande plasticité du génome explique comment les souches pathogènes de cette espèce bactérienne ont acquis un arsenal de fonctions qui leur permettent de coloniser de nouvelles niches écologiques en contournant les mécanismes de défense de l'hôte et en piratant les signaux de transduction des cellules eucaryotes [2, 4]. Parmi les différents pathovars, les *E. coli* à pathogénicité extraintestinale (ExPEC) sont responsables d'infections urinaires, de septicémies et de méningites néonatales [2, 5, 6]. Les analyses phylogénétiques montrent que l'espèce *E. coli* est composée de cinq groupes phylogénétiques majeurs (A, B1, E, D, et B2) [7]. Chez l'homme, les *E. coli* de la flore colique commensale était traditionnellement représentés par les groupes phylogénétiques A et B1. Cependant, le groupe B2 qui inclut la majorité des ExPEC de l'homme est en forte augmentation, notamment dans les populations urbaines des zones tempérées où ce groupe phylogénétique est dominant dans la flore commensale [8, 9].

Nous avons montré qu'une majorité de souches du groupe B2 (commensales ou ExPEC) peuvent produire une toxine qui induit des cassures double brin de l'ADN dans les cellules humaines. Un contact direct entre la bactérie et la cellule eucaryote est nécessaire pour induire l'effet génotoxique qui se traduit par un blocage du cycle cellulaire et une mort plus ou moins rapide en fonction du type cellulaire. Un îlot génomique de 54 kb, nommé *pks,* acquis par transfert horizontal, est nécessaire et suffisant pour produire cette nouvelle toxine que nous avons appelée « Colibactine » [10-11]. Les gènes portés par cet îlot codent pour plusieurs enzymes appartenant à la famille des polykétides synthases (PKS) et des peptides synthases non ribosomiques (NRPS). Ces mégaproteines modulaires permettent la synthèse de métabolites qui proviennent de la condensation itérative de molécules de malonyl-CoA et d'acétyl-CoA pour les PKS et d'acides aminés dans le cas des NRPS. Les enzymes de la famille des PKS et des NRPS sont à la base de la synthèse d'une famille très diverse de produits naturels possédant une très large gamme d'activité biologique et de propriétés pharmacologiques comme l'érythromycine, la cyclosporine, la bléomycine [12, 13].

Une étude épidémiologique comparant des souches isolées d'hémocultures à des souches isolées de selles de patients non-infectés montre que l'îlot *pks* est significativement associé aux souches isolées de bactériémie. Ces souches appartiennent toutes au groupe B2 et constituent une classe d'ExPEC hautement virulent possédant un grand nombre de facteurs de virulence [14]. Des travaux en cours ont établi que la Colibactine n'est pas seulement toxique pour les cellules épithéliales, et que les acteurs de la réponse immunitaire innée et adaptative sont très sensibles à l'action de cette génotoxine. Ces données suggèrent que la Colibactine pourrait jouer un rôle direct dans la virulence des ExPEC et constituer une cible thérapeutique potentielle.

La Colibactine est aussi produite par des souches commensales du groupe B2 [10, 14]. Ce groupe phylogénétique semble avoir une meilleure capacité à persister dans la microflore intestinale [15]. Le rôle de la Colibactine dans la colonisation intestinale n'est pas établi, mais nous avons montré que la Colibactine était produite dans le tractus digestif. Les cassures double brin de l'ADN sont des lésions dangereuses pour les cellules eucaryotes qui, en absence de réparation, produisent un taux élevé de mutations, qui sont les causes principales de l'initiation des cancers chez l'homme [16]. La présence de ces bactéries dans la flore commensale pourrait donc constituer un facteur prédisposant au développement de certains cancers. Les flores bactériennes participeraient ainsi au développement, à la différenciation et à l'homéostasie des muqueuses et au développement ou à la protection de l'hôte vis-à-vis de certains cancers [17].

1. *Rambaud, J.C., Buts, J.P. Corthier, G., B. Flourié*. 2004 Flore microbienne intestinale. Physiologie et pathologie digestives. Ed John Libbey Eurotext.

2. *Kaper, J. B., J. P. Nataro, and H. L. Mobley***.** 2004. Pathogenic *Escherichia coli*. **Nat Rev Microbiol 2:**123-40.

3. *Rasko, D. A., M. J. Rosovitz, G. S. Myers, E. F. Mongodin, W. F. Fricke, P. Gajer, J. Crabtree, M. Sebaihia, N. R. Thomson, R. Chaudhuri, I. R. Henderson, V. Sperandio, and J. Ravel***.** 2008. The pangenome structure of *Escherichia coli*: comparative genomic analysis of *E. coli* commensal and pathogenic isolates. **J Bacteriol** 190**:**6881-93

4. *Dobrindt, U., B. Hochhut, U. Hentschel, and J. Hacker***.** 2004. Genomic islands in pathogenic and environmental microorganisms. **Nat Rev Microbiol** 2**:**414-24.

5. *Bingen, E., B. Picard, N. Brahimi, S. Mathy, P. Desjardins, J. Elion, and E. Denamur***.** 1998. Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains causing neonatal meningitis suggests horizontal gene transfer from a predominant pool of highly virulent B2 group strains. **J Infect Dis** 177**:**642-50.

6. *Russo, T. A., and J. R. Johnson***.** 2000. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of *Escherichia* coli: ExPEC. **J Infect Dis** 181**:**1753-4.

7. *Gordon, D. M., O. Clermont, H. Tolley, and E. Denamur***.** 2008. Assigning *Escherichia coli* strains to phylogenetic groups: multi-locus sequence typing versus the PCR triplex method. **Environ Microbiol** 10**:**2484-96.

8. *Escobar-Paramo, P., K. Grenet, A. Le Menac'h, L. Rode, E. Salgado, C. Amorin, S. Gouriou, B. Picard, M. C. Rahimy, A. Andremont, E. Denamur, and R. Ruimy***.** 2004. Large-scale population structure of human commensal *Escherichia coli* isolates. **Appl Environ Microbiol** 70**:**5698-700.

9. *Gordon, D. M., S. E. Stern, and P. J. Collignon***.** 2005. Influence of the age and sex of human hosts on the distribution of *Escherichia coli* ECOR groups and virulence traits. **Microbiology** 151**:**15-23.

10. *Nougayrede, J. P., S. Homburg, F. Taieb, M. Boury, E. Brzuszkiewicz, G. Gottschalk, C. Buchrieser, J. Hacker, U. Dobrindt, and E. Oswald***.** 2006. Escherichia coli induces DNA double-strand breaks in eukaryotic cells. **Science** 313**:**848-51.

11. *Homburg, S., E. Oswald, J. Hacker, and U. Dobrindt***.** 2007. Expression analysis of the colibactin gene cluster coding for a novel polyketide in *Escherichia coli*. **FEMS Microbiol Lett** 275**:**255-62.

12. *Walsh, C. T.* 2004. Polyketide and nonribosomal peptide antibiotics: modularity and versatility. **Science** 303**:**1805-10.

13. *Fischbach, M. A., and C. T. Walsh***.** 2006. Assembly-line enzymology for polyketide and nonribosomal Peptide antibiotics: logic, machinery, and mechanisms. **Chem Rev** 106**:**3468-96.

14. *Johnson, J. R., B. Johnston, M. A. Kuskowski, J. P. Nougayrede, and E. Oswald***.** 2008. Molecular Epidemiology and Phylogenetic Distribution of the *Escherichia coli* pks Genomic Island. **J Clin Microbiol**.

15. *Nowrouzian, F. L., A. E. Wold, and I. Adlerberth***.** 2005. *Escherichia coli* strains belonging to phylogenetic group B2 have superior capacity to persist in the intestinal microflora of infants. **J Infect Dis** 191**:**1078-83.

16. *Khanna, K. K., and S. P. Jackson***.** 2001. DNA double-strand breaks: signaling, repair and the cancer connection. **Nat Genet** 27**:**247-54.

17. *Oswald, E., J. P. Nougayrede, F. Taieb, and M. Sugai***.** 2005. Bacterial toxins that modulate host cell-cycle progression. **Curr Opin Microbiol** 8**:**83-91.

76/17s — 4 décembre 2008 - 14:40 - HAVANE

***E. coli* adhérents et invasifs isolés de patients atteints de maladie de Crohn**

N. Barnich, A. Darfeuille-Michaud

Pathologenie Bactérienne Intestinale, USC INRA 2018, Université d'Auvergne, Centre Biomédical de Recherche et Valorisation, Clermont-Ferrand, France

La muqueuse iléale de patients atteints de MC est anormalement colonisée par des souches de *E.coli* ayant la capacité d'adhérer et d'envahir les cellules épithéliales intestinales en culture[1]. Aucun des déterminants génétiques d'invasion connus de *Salmonella*, *Shigella* ou *E.coli* responsables d'infections gastro-intestinales n'a été retrouvé chez les souches de *E.coli* isolées de lésions iléales de patients atteints de MC, indiquant que le processus d'invasion repose sur des déterminants génétiques d'invasion originaux[2]. Ces souches sont également capables de survivre et de se multiplier fortement en macrophages sans induire de mort cellulaire et les macrophages infectés sécrètent des taux élevés de TNF-a[3]. Un nouveau pathovar de *E.coli*, associé à la MC, a pu ainsi être défini et dénommé AIEC pour « Adherent-Invasive *E.coli* ». La prévalence des AIEC au niveau des lésions iléales s'élève à 36,4% chez les patients atteints de MC contre seulement 6,2% chez les contrôles[4]. Suite à une colonisation de l'épithélium intestinal, les souches AIEC pourraient être capables, de par leur propriété d'invasion des cellules épithéliales intestinales, de franchir la barrière intestinale et de disséminer dans la muqueuse et dans les tissus sous-jacents. Les souches AIEC pourraient ensuite survivre et se multiplier fortement dans les macrophages résidents, en

induisant une synthèse accrue de cytokines pro-inflammatoires conduisant à l'entretien de l'état inflammatoire.

L'ensemble des souches de *E.coli* isolées chez des patients atteints de MC, soit au niveau de lésions chroniques, soit au niveau de lésions aiguës ou chez des patients contrôles, a été comparé par ribotypage[5]. Le dendrogramme établi à partir de ces analyses montre clairement un large ensemble de souches possédant un lien génétique et isolées principalement chez des patients atteints de MC (lésions chroniques ou aiguës) par rapport aux contrôles. Néanmoins, certaines souches de *E.coli* isolées chez des patients atteints de MC apparaissent éloignées génétiquement. Ces résultats montre clairement qu'une souche unique n'est pas retrouvée chez les patients atteints de MC, mais que quelques génotypes particuliers sont plus fréquemment associés aux lésions iléales de MC[5,6].

Etant donnée l'absence de déterminants génétiques d'invasion connus ou génétiquement similaires à ceux de souches invasives de *E.coli*, une stratégie de recherche des déterminants génétiques impliqués dans le pouvoir d'invasion de la souche AIEC de référence LF82 a été réalisée par mutagenèse aléatoire par insertion du transposon Tn5*phoA*. Le criblage de la banque de mutants d'insertion a permis d'isoler plusieurs *loci* impliqués dans l'internalisation de la souche AIEC LF82 dans les cellules épithéliales intestinales :

- Les pili de type 1 jouent un rôle clé dans les pouvoirs d'adhésion et d'invasion des bactéries aux cellules épithéliales intestinales. Ils induisent la formation d'élongations membranaires par la cellule hôte infectée permettant l'internalisation des bactéries. Les gènes *fim*A et *fim*H de l'opéron *fim* de la souche AIEC LF82 présentent des variations de séquence comparativement aux pili de type 1 d'une souche de *E.coli* K-12 non-pathogène[7].

- Les flagelles sont impliqués dans la mobilité des bactéries dans le milieu leur permettant d'accéder aux cellules de l'hôte. Ils jouent un rôle direct dans l'adhésion aux cellules épithéliales grâce à la mobilité qu'ils confèrent aux bactéries mais également un rôle dans la régulation de l'expression des pili de type 1[8]. L'étude du mécanisme moléculaire de co-régulation pili de type 1/flagelles chez la souche AIEC LF82 a montré que le facteur sigma FliA est le composant régulateur clé contrôlant à la fois l'expression des gènes de classe III du régulon flagellaire, dont le gène *fliC*, mais également l'expression de gènes impliqués dans la voie dépendante du di-guanosine monophosphate cyclique (c-di-GMP). La concentration en c-di-GMP, un second messager bactérien, permet de moduler de l'expression des pili de type 1 chez la souche AIEC LF82[9].

- La lipoprotéine NlpI joue un rôle clé dans la régulation de la virulence. Un mutant inactivé dans le gène *nlpI* n'est plus capable d'adhérer et d'envahir les cellules épithéliales intestinales, et ne synthétise plus de pili de type 1 et de flagelles. Cette lipoprotéine représente donc une cible thérapeutique intéressante pour contrôler la virulence des souches AIEC[10].

- Le gène *yfgL* code pour une lipoprotéine impliquée dans la synthèse et/ou la dégradation du peptidoglycane. Ce gène intervient dans l'invasion des AIEC mais n'est pas impliqué dans l'adhésion aux cellules épithéliales intestinales. Par ailleurs, un mutant isogénique de la souche AIEC LF82 inactivé dans le gène *yfgL* n'est plus capable, contrairement à la souche sauvage, de produire de vésicules. Le produit de ce gène pourrait être impliqué dans l'adressage de facteurs de virulence dans la cellule hôte infectée[11].

- La protéine de membrane externe OmpC est impliquée dans l'adhésion et l'invasion des bactéries AIEC soit directement en tant qu'adhésine et/ou invasine, soit indirectement en régulant l'expression de nombreux gènes bactériens dont leur transcription est sous la dépendance du facteur de transcription s^E (RpoE)[12].

Le criblage de la banque de mutants d'insertion Tn5*phoA* en macrophages murins J774-A1 a permis d'identifier le rôle de la protéine de stress HtrA dans la réplication de la souche AIEC LF82 en macrophages[13] et de la thioredoxine périplasmique DsbA dans le processus de survie de la souche AIEC LF82 en macrophages[14].

Par ailleurs, nous avons récemment étudié la virulence des souches AIEC en modèle murin et montré que la souche AIEC LF82, contrairement à la souche de *E.coli* non pathogène MG1655, aggravent un état inflammatoire induit par le DSS dans un modèle murin Balb/cJ. Ce comportement *in vivo* des bactéries AIEC dépend de l'expression de facteurs de virulence, tels que les flagelles, qui sont sous la dépendance du régulateur transcriptionnel OmpR. De façon intéressante, les bactéries AIEC potentialisent la réponse immunitaire mucosale en augmentant l'expression de deux récepteurs du système immunitaire inné, TLR5 et IPAF, capables de détecter la présence de flagelline[15].

Enfin, la souche AIEC LF82 adhère préférentiellement à la bordure en brosse d'entérocytes iléaux isolés de patients atteints de MC mais pas à celle d'entérocytes provenant de sujets contrôles. Ces résultats ont été confirmés avec plusieurs souches AIEC isolées de différents patients atteints de MC. Cette adhésion implique les pili de type 1 variants exprimés par les souches AIEC. Une expression importante de résidus mannose libres (ligands de l'adhésine FimH des pili de type 1) a été observée uniquement au niveau de la bordure en brosse des entérocytes isolés de patients. Des études par immuno-histochimie ont révélé une expression de récepteurs de la famille CEACAM au niveau de la muqueuse iléale des patients atteints de MC. L'utilisation d'anticorps monoclonaux dirigés contre le récepteur CEACAM6 inhibe l'adhésion de la souche LF82 à la bordure en brosse d'entérocytes isolés de patients atteints de MC, confirmant le rôle de ce récepteur dans l'adhésion bactérienne. Le récepteur CEACAM6 est surexprimé au niveau iléal chez environ 35% de patients atteints de MC, pouvant expliquer la forte prévalence de souches AIEC associées à la muqueuse iléale chez les patients[4,16]. De plus, un état inflammatoire et/ou une infection par la souche AIEC LF82 induisent une augmentation de l'expression du récepteur CEACAM6 dans des cellules épithéliales intestinales Caco-2 en culture. Ces résultats suggèrent que chez des patients prédisposés exprimant anormalement le récepteur CEACAM6 au niveau iléal, les bactéries AIEC seraient capables de promouvoir et/ou de potentialiser leur propre colonisation de l'épithélium intestinal. Après avoir colonisé la muqueuse iléale, les bactéries AIEC pourraient franchir la barrière intestinale, être phagocytées puis se multiplier dans les macrophages résidents de la *lamina propria* en induisant une forte sécrétion de cytokine pro-inflammatoire TNF-a, pouvant conduire à l'augmentation de l'expression du récepteur CEACAM6. Chez les patients atteints de MC, il existerait donc une boucle de colonisation/inflammation car les bactéries AIEC, mais également les cytokines pro-inflammatoires TNF-a et IFN-g, induisent une surexpression du récepteur CEACAM6 au niveau de la muqueuse iléale[16].

Ainsi, la mise en évidence du gène *nod2* comme gène de susceptibilité à la MC et la surexpression du récepteur CEACAM6 au niveau iléal a permis de renforcer l'hypothèse qu'une sensibilité de l'hôte vis-à-vis d'une infection aux bactéries AIEC contribuerait au développement de la MC. De ce fait, les patients à haut risque de développer une MC seraient ceux qui exprimeraient un récepteur intracellulaire NOD2 variant et surexprimeraient le récepteur CEACAM6 au niveau iléal[17]. Le développement de souris combinant ces deux facteurs de susceptibilité, le récepteur CEACAM6 humain et une invalidation du gène *nod2*, devrait représenter un modèle pertinent d'étude de la piste infectieuse à AIEC dans la MC. Enfin, l'étude de la virulence *in vivo* des souches AIEC devrait permettre de définir les facteurs bactériens à cibler en vue du développement d'outils thérapeutiques permettant de contrôler les infections à AIEC.

1. Darfeuille-Michaud A, Neut C, Barnich N, Lederman E, Di Martino P, Desreumaux P, Gambiez L, Joly B, Cortot A, Colombel JF. Presence of adherent *Escherichia coli* strains in ileal mucosa of patients with Crohn's disease. Gastroenterology 1998;115:1405-13.

2. Boudeau J, Glasser AL, Masseret E, Joly B, Darfeuille-Michaud A. Invasive ability of an *Escherichia coli* strain isolated from the ileal mucosa of a patient with Crohn's disease. Infect Immun 1999;67:4499-509.

3. Glasser AL, Boudeau J, Barnich N, Perruchot MH, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A. Adherent invasive *Escherichia coli* strains from patients with Crohn's disease survive and replicate within macrophages without inducing host cell death. Infect Immun 2001;69:5529-37.

4. Darfeuille-Michaud A, Boudeau J, Bulois P, Neut C, Glasser AL, Barnich N, Bringer MA, Swidsinski A, Beaugerie L, Colombel JF. High prevalence of adherent-invasive *Escherichia coli* associated with ileal mucosa in Crohn's disease. Gastroenterology 2004;127:412-21.

5. Masseret E, Boudeau J, Colombel JF, Neut C, Desreumaux P, Joly B, Cortot A, Darfeuille-Michaud A. Genetically related *Escherichia coli* strains associated with Crohn's disease. Gut 2001;48:320-5.

6. Baumgart M, Dogan B, Rishniw M, Weitzman G, Bosworth B, Yantiss R, Orsi RH, Wiedmann M, McDonough P, Kim SG, Berg D, Schukken Y, Scherl E, Simpson KW. Culture independent analysis of ileal mucosa reveals a selective increase in invasive *Escherichia coli* of novel phylogeny relative to depletion of Clostridiales in Crohn's disease involving the ileum. Isme J 2007;1:403-18.

7. Boudeau J, Barnich N, Darfeuille-Michaud A. Type 1 pili-mediated adherence of *Escherichia coli* strain LF82 isolated from Crohn's disease is involved in bacterial invasion of intestinal epithelial cells. Mol Microbiol 2001;39:1272-84.

8. Barnich N, Boudeau J, Claret L, Darfeuille-Michaud A. Regulatory and functional co-operation of flagella and type 1 pili in adhesive and invasive abilities of AIEC strain LF82 isolated from a patient with Crohn's disease. Mol Microbiol 2003;48:781-94.

9. Claret L, Miquel S, Vieille N, Ryjenkov DA, Gomelsky M, Darfeuille-Michaud A. The flagellar sigma factor FliA regulates adhesion and invasion of Crohn disease-associated *Escherichia coli* via a cyclic dimeric GMP-dependent pathway. J Biol Chem 2007;282:33275-83.

10. Barnich N, Bringer MA, Claret L, Darfeuille-Michaud A. Involvement of lipoprotein NlpI in the virulence of adherent invasive *Escherichia coli* strain LF82 isolated from a patient with Crohn's disease. Infect Immun 2004;72:2484-93.

11. Rolhion N, Barnich N, Claret L, Darfeuille-Michaud A. Strong decrease in invasive ability and outer membrane vesicle release in Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli* strain LF82 with the yfgL gene deleted. J Bacteriol 2005;187:2286-96.

12. Rolhion N, Carvalho FA, Darfeuille-Michaud A. OmpC and the sigma(E) regulatory pathway are involved in adhesion and invasion of the Crohn's disease-associated *Escherichia coli* strain LF82. Mol Microbiol 2007;63:1684-700.

13. Bringer MA, Barnich N, Glasser AL, Bardot O, Darfeuille-Michaud A. HtrA stress protein is involved in intramacrophagic replication of adherent and invasive *Escherichia coli* strain LF82 isolated from a patient with Crohn's disease. Infect Immun 2005;73:712-21.

14. Bringer MA, Rolhion N, Glasser AL, Darfeuille-Michaud A. The oxidoreductase DsbA plays a key role in the ability of the Crohn's disease-associated adherent-invasive *Escherichia coli* strain LF82 to resist macrophage killing. J Bacteriol 2007;189:4860-71.

15. Carvalho FA, Barnich N, Sauvanet P, Darcha C, Gelot A, Darfeuille-Michaud A. Crohn's disease-associated *Escherichia coli* LF82 aggravates colitis in injured mouse colon via signaling by flagellin. Inflamm Bowel Dis 2008;14:1051-60.

16. Barnich N, Carvalho FA, Glasser AL, Darcha C, Jantscheff P, Allez M, Peeters H, Bommelaer G, Desreumaux P, Colombel JF, Darfeuille-Michaud A.

CEACAM6 acts as a receptor for adherent-invasive *E. coli*, supporting ileal mucosa colonization in Crohn disease. J Clin Invest 2007;117:1566-74.

17. Barnich N, Darfeuille-Michaud A. Role of bacteria in the etiopathogenesis of inflammatory bowel disease. World J Gastroenterol 2007;13:5571-6.

77/17s 4 décembre 2008 - 15:00 - HAVANE

Impact de l'antibiothérapie vétérinaire sur la virulence et la résistance d'*E. coli*

C. Maurer, C. Lazizzera, P. Châtre, D. Meunier, J.Y. Madec
Unité de Bactériologie, AFSSA, Lyon, France

En parallèle des dispositions nationales et européennes mises en œuvre en médecine humaine pour préserver l'usage des antibiotiques, le secteur vétérinaire devient de plus en plus sensibilisé à l'impact des traitements antibiotiques sur la microflore résidente ou pathogène de l'animal. Cette prise de conscience du monde vétérinaire vient notamment en écho de certains résultats d'études menées au sein du réseau RESAPATH (réseau de surveillance de la résistance bactérienne animale), qui montrent par exemple l'émergence dans les années 2000, puis l'augmentation constante depuis 2005, de souches d'*Escherichia coli* BLSE hébergeant des gènes CTX-M-1 et CTX-M-15, dont on connaît la large diffusion chez l'homme en France (1, 2). Cet exemple parmi d'autres ne peut que renforcer le bien-fondé d'un usage raisonné des antibiotiques chez l'animal.

Si l'impact de l'antibiothérapie vétérinaire sur la résistance d'*E. coli* semble intuitif, celui sur sa virulence chez l'animal, et par extension chez l'homme, reste complexe et moins documenté. Les données sont encore plus fragmentaires, voire contradictoires, lorsqu'on cherche à identifier cet impact sur l'émergence éventuelle de bactéries simultanément hautement résistantes et virulentes, à l'instar de certaines souches d'*E.coli* encore récemment décrites chez l'homme (13).

Alors que la plupart des souches d'*E. coli* sont commensales du tractus gastro-intestinal des mammifères, certaines peuvent être à l'origine d'infections sévères chez l'homme. A ce titre, les souches productrices de shiga toxines (Stx1 et Stx2), appelées STEC, peuvent être responsables de diarrhées sanglantes majeures ou de syndromes possiblement mortels (syndromes hémolytiques et urémiques ou SHU) (3). Les bovins constituent l'un des réservoirs majeurs de STEC (4), et plusieurs épidémies à STEC dans le monde ont pu être reliées à une source causale animale (5). Les analyses phylogénétiques réalisées chez *E. coli* montrent que la plupart des souches de cette espèce se répartissent en 4 groupes phylogénétiques principaux: A, B1, B2 et D (6), les souches STEC étant souvent associées au groupe B1, mais également aux groupes A, C et E (7, 8). L'acquisition, la persistance et l'expression de facteurs de pathogénicité résultent ainsi de l'interaction entre le fond génétique de la souche receveuse, la pression de sélection de son contexte écologique et la diversité des facteurs de virulence acquis par transfert horizontal (plasmides, ilôts de pathogénicité, bactériophages, …).

Notre travail a adressé en premier lieu la question de l'impact de l'antibiothérapie par fluoroquinolones chez les bovins sur le potentiel de virulence de souches STEC résidentes (9). Les entérites néo-natales du veau sont fréquemment rencontrées en élevage. Elles représentent à elles seules environ 60 à 80% de la pathologie du nouveau-né et ont des répercussions économiques importantes. Le traitement des diarrhées néo-natales passe par l'utilisation de ré-hydratants administrés par voie orale ou IV. Ce traitement s'accompagne généralement d'une antibiothérapie orale par fluoroquinolones. D'autres indications des fluoroquinolones comprennent aussi les mammites aigües à *E. coli* de l'adulte.

Quarante-six souches d'*E.coli* O157:H7 collectées à l'abattoir (bovins sains) ont fait l'objet d'une recherche des principaux gènes de virulence connus (*stx*, *eae*, …). Toutes sauf deux ont présenté le gène *stx2*, dont le rôle majeur dans la virulence des STEC est largement démontré. L'expression de la toxine Stx2 a été quantifiée par ELISA chez toutes les souches, permettant de classer les 46 souches en 3 groupes distincts, seules 7/46 démontrant une expression importante de toxine (groupe 1). En revanche, en présence de concentrations sub-inhibitrices d'enrofloxacine, fluoroquinolone d'usage strictement vétérinaire, toutes les souches sauf deux ont démontré une expression très largement augmentée de toxine Stx2, avec un taux d'induction variable entre souches, mais échelonné de 6 à près de 400. La présence d'enrofloxacine a donc conduit systématiquement à une augmentation de la production de Stx2 par des souches d'*E. coli* résidentes. Si l'on considère que les fluoroquinolones peuvent également contribuer à une augmentation de la transduction phagique d'une souche à l'autre, ces données illustrent le risque que des souches d'*E.coli* porteuses du gène *stx2* puissent devenir plus fréquemment pathogènes pour l'homme par effet collatéral de l'usage de fluoroquinolones chez les bovins.

Le deuxième objectif de l'étude consistait à sélectionner expérimentalement des mutants de souches d'*E.coli* STEC résistants à l'enrofloxacine, puis à quantifier la production de toxine Stx2 chez ces mutants, avec ou sans induction par l'enrofloxacine (10).

Deux lignées de mutants spontanés ont été générées à partir de 2 souches d'*E.coli* O157:H7 sensibles par sélections successives sur milieu gélosé en présence de concentrations croissantes d'acide nalidixique ou d'enrofloxacine. L'expression de la toxine Stx2 a été quantifiée par ELISA en conditions basales (absence d'induction) chez les mutants et les souches natives. Dans ces conditions, les mutants ont présenté des taux d'expression de Stx2 comparables à ceux des souches natives, suggérant que l'acquisition de la résistance aux fluoroquinolones par des souches STEC bovines ne constituerait pas un sur-risque pour l'homme.

En revanche, lorsque la production de Stx2 par les souches mutantes et les souches natives après induction par l'enrofloxacine a été comparée, le pic d'expression de Stx2 par les souches mutantes est apparu 3 fois supérieur à celui des souches natives. De surcroît, la production de Stx2 par les mutants a pu être induite par une concentration d'enrofloxacine 100 fois supérieure à la concentration usuelle sub-inhibitrice utilisée pour les souches sensibles, et donc largement compatible avec des doses thérapeutiques.

Ces dernières données prolongent donc nos premiers résultats d'induction du gène *stx2* par les fluoroquinolones vétérinaires chez des souches d'*E. coli* STEC d'origine bovine. Ils indiquent que des taux d'induction encore supérieurs peuvent être atteints sur des souches STEC résistantes aux fluoroquinolones, et renforcent le message que des souches STEC bovines puissent devenir plus pathogènes pour l'homme par usage mal maîtrisé de fluoroquinolones vétérinaires, en conduisant à leur persistance (sélection de mutants résistants) et en induisant la production de toxine Stx2.

De façon plus large, ces données sont à mettre en perspective avec l'ensemble des déterminants génétiques (y compris phylogénétiques) et écologiques de la virulence d'une souche d'*E. coli* pour l'homme ou l'animal. Ainsi, de récents travaux ont décrit les caractéristiques phylogénétiques de souches d'*E. coli* pathogènes humaines en relation avec la nature de gènes BLSE hébergés (11, 12, 13). Chez les bovins, nous avons récemment estimé la prévalence de souches d'*E. coli* productrices de BLSE à 4.1% en abattoir (animaux sains) et à 2.6% en élevage (toutes pathologies confondues) (2). Cette collection de souches d'*E.coli* BLSE provenant de différents contextes, pathologiques ou non pathologiques, permet désormais d'adresser, chez les bovins, les mêmes questions que celles adressées chez l'homme. La détermination des facteurs de virulence présents dans ces souches, de leurs sérotypes, de leurs groupes phylogénétiques et des types de gènes BLSE hébergés est actuellement en cours d'étude au laboratoire.

1. Meunier, D., Jouy, E., Lazizzera, C., Kobisch, M. and Madec, J.-Y. (2006) CTX-M-1- and CTX-M-15-type beta-lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *Int. J. Antimicrob. Agents*, **28**, 402-407

2. Madec, J.-Y., Lazizzera C., Châtre P., Martin S., Lepage G., Ménard M.-F., Lebreton P., Rambaud T. and Meunier D. (2008) Prevalence of faecal carriage of acquired third-generation cephalosporin resistance in *Enterobacteriacae* from cattle in France. *J. Clin. Microbiol.*, **46** (4):1566-1567.

3. Su, C. and Brandt L.J. (1995) *Escherichia coli* O157:H7 infection in humans. *Ann. Intern. Med.*, **123,** (698-714).

4. Hussein, H.S. and Sakuma, T. (2005) Invited review: Prevalence of shiga toxin-producing *Escherichia coli* in dairy cattle and their products. *J. Dairy. Sci.*, **88,** 450-465.

5. Caprioli, A., Morabito, S., Brugère, H. and Oswald, E. (2005) Enterohaemorrhagic *Escherichia coli* : emerging issues on virulence and modes of transmission. *Vet. Res.*, **36,** 289-311.

6. Clermont, O., Bonacorsi, S. and Bingen, E. (2000) Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. *Appl. Environ. Microbiol.*, **66,** 4555-4558.

7. Escobar-Paramo, P., Clermont, O., Blanc-Potard, A.-B., Bui, H., Le Bouguénec C. and Denamur, E. (2004) A specific genetic background is required for acquisition and expression of virulence factors in *Escherichia coli*. *Mol. Biol. Evol.*, **21** (6)**,** 1085-1094.

8. Turner, S.M., Chaudhuri, R.R., Jiang, Z.-D., Dupont, H., Gyles, C., Penn, C.W., Pallen M.J. and Henderson, I.R. (2006) Phylogenetic comparisons reveal multiple acquisitions of the toxin genes by enterotoxigenic *Escherichia coli* strains of different evolutionary lineages. *J. Clin. Microbiol.*, **44** (12)**,** 4528-4536.

9. Maurer, C., Lazizzera, C. and Madec, J.-Y. (2008) Characterization of inducible stx2-positive *Escherichia coli* O157:H7/H7- strains isolated from cattle in France. *J. Appl. Microbiol.*, **104**, 1569-1576.

10. Maurer, C., Meunier, D. and Madec, J.-Y. (2008) Shiga toxin Stx2 production is promoted by enrofloxacin in experimental *in vitro*-selected mutants of *Escherichia coli* O157:H7 resistant to fluoroquinolones. *Foodborne Pathog. Dis.*, (in press).

11. Branger, C., Zamfir, O., Geoffroy, S., Laurans, G., Arlet, G., Thien, H.V., Gouriou, S., Picard, B. and Denamur, E. (2005) Genetic background of *Escherichia coli* and extended-spectrum beta-lactamase type. *Emerg. Infect. Dis.*, **11** (1): 54-61.

12. Pitout, J.D.D., Laupland, K.B., Church, D.L., Menard, M.L. and Johnson, J.R. (2005) Virulence factors of *Escherichia coli* isolates that produce CTX-M-type extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicr. Agents. Chemoth.*, **49** (11): 4667-4670

13. Clermont, O., Lavollay, M., Deschamps, C., Forestier, C., Branger, C., Denamur, E. and Arlet G. (2005) The CTX-M-15-producing *Escherichia coli* diffusing clone belongs to a highly virulent B2 phylogenetic subgroup. *J. Antimicr. Chemoth.*, **61** (5): 1024-1028.

78/18o 4 décembre 2008 - 14:00 - 341

La dengue aux Antilles

G. Beaucaire
CHU de Pointe à Pitre, Université des Antilles et de la Guyane, France

La dengue en général : La dengue ou fièvre dengue (FD), longtemps considérée comme une maladie tropicale bénigne, est devenue en moins d'un demi-siècle la plus préoccupante maladie virale de l'homme transmise par le moustique : environ 2.5 milliards de personnes sont désormais exposées à

cette arbovirose, le nombre annuel de cas de dengue serait de l'ordre de 50 à 100 millions, avec de 250 000 à 500 000 cas de formes graves et au moins 20 à 30 000 décès par an, majoritairement chez les enfants.

Isolés et identifiés en 1944, les virus de la dengue sont des virus à ARN, appartenant au genre *Flavivirus.* Les différentes souches sont regroupées en quatre sérotypes : DEN-1, DEN-2, DEN-3, DEN-4. Il n'existe pas d'immunité croisée entre ces différents sérotypes. Des réinfections (infections secondaires) sont donc possibles et pourraient être plus graves.

Le principal vecteur de la dengue est *Aedes aegypti,* moustique anthropophile « domestique », se développant dans les collections d'eau crées par l'homme dans son environnement. Principal vecteur en Asie du Sud-est, il a été accidentellement introduit aux Etats-Unis en 1982 et continue depuis de manière fort inquiétante à accroître son implantation dans les zones périurbaines à travers le monde, y compris en Europe du Sud. Le virus de la dengue est inoculé à l'homme par la piqûre d'un moustique femelle infecté suite à un repas pris au préalable chez un sujet en phase virémique, essentiellement en début et fin de journée. Le moustique reste infecté durant toute sa vie et peut transmettre cette infection virale à sa descendance par voie transovarienne. Il constitue donc avec l'homme le principal réservoir, amplificateur et disséminateur de la maladie.

La dengue sévit dans toutes les régions tropicales et subtropicales du globe avec une prédilection pour les zones urbaines et périurbaines. Grâce à une expansion géographique spectaculaire et rapide elle est désormais endémique dans plus de 100 pays, essentiellement d'Asie du Sud-est et du Pacifique occidental, plus récemment d'Amérique centrale et australe, des Caraïbes, dans une moindre mesure, d'Afrique tropicale. Le continent européen reste pour l'instant épargné.

Le spectre clinique de la dengue est très large et peu spécifique. Les infections asymptomatiques ou se résumant à une fièvre isolée sont probablement très fréquentes et sous-estimées, notamment chez l'enfant. Deux principales formes cliniques sont décrites : des formes dites classiques en règle bénignes et des formes graves dites hémorragiques (DHF) avec ou sans syndrome de choc potentiellement létales (DSS), dont l'incidence est faible (1 à 10%), mais très variable d'une épidémie à l'autre. L'ordre de fréquence décroissant des 4 sérotypes pour ces manifestations graves est : DEN-2, DEN-3, DEN-4, DEN-1

La physiopathologie des phénomènes hémorragiques et d'hyperperméabilité capillaire, très discutée, repose sur l'hypothèse de la facilitation immunologique [1]. Elle se fonde sur la notion d'absence d'immunité croisée entre les 4 sérotypes viraux et suggère que les DHF/DSS correspondraient majoritairement à une réinfection par un sérotype différent. Les anticorps hétérologues circulants favoriseraient alors la phagocytose et la réplication du nouveau virus engendrant une activation intense des précurseurs des lymphocytes T CD4+ et CD8+ et du complément par les monocytes infectés, avec une production explosive de cytokines. D'autres facteurs explicatifs sont à considérer notamment des facteurs innés ou acquis conditionnant la réponse immunitaire de l'hôte et des facteurs viraux [2, 3].

Le diagnostic biologique de la dengue fait appel à l'isolement viral, la détection génomique, la sérologie virale qui ont toutes des inconvénients. L'isolement sur lignées continues de cellules de moustiques constitue la méthode de référence durant la phase virémique, mais est peu utile en pratique clinique en raison du délai des résultats. Les techniques sérologiques telles que la séroneutralisation ou l'inhibition de l'hémagglutination ont été supplantées par les méthodes immunoenzymatiques commerciales. Les techniques basées sur la capture d'IgM et d'IgG spécifiques des protéines virales E/M, sont les plus utilisées en routine. Cependant, le diagnostic sérologique demeure complexe. Au cours d'une infection primaire, les IgM apparaissent au bout de 5 à 6 jours et les IgG de 7 à 10 jours après les premiers signes cliniques. Lors d'une infection secondaire, les IgG apparaissent plus précocement et leur taux croît progressivement durant environ 2 semaines. Les IgM sont détectées à des taux plus faibles, voire sont absentes. Les méthodes moléculaires basées sur la RT-PCR fournissent un résultat en moins de 24 heures avec des sensibilités similaires à l'isolement viral [4]. De plus cette technique permet une approche quantitative. Cependant, l'investissement nécessaire à la biologie moléculaire restreint encore son utilisation à des laboratoires spécialisés. Depuis 2006, la détection sérique de la protéine virale non structurale NS1 à des temps très précoces de la maladie par un test ELISA par immunocapture a ouvert une nouvelle voie dans le développement du diagnostic précoce de la dengue [5, 6]. Ce test NS1 rend a priori accessible le diagnostic de la dengue dès les premiers jours de la maladie aux laboratoires non spécialisés hospitaliers ou privés. La disponibilité de tests de laboratoire spécifiques de la dengue (RT-PCR, Antigène NS1) est utile à la confirmation et au diagnostic différentiel. La surveillance biologique fournit également des indicateurs précoces d'épidémie, et oriente les investigations épidémiologiques et mesures de contrôle vectoriel.

En l'absence de thérapeutique spécifique, la prise en charge reste symptomatique : paracétamol à visée antalgique et antipyrétique, mais avec un risque accru d'hépatotoxicité, hospitalisation en urgence en cas de signes de gravité et/ou de terrain à risque; correction des troubles hydro-électrolytiques et remplissage vasculaire en soins intensifs en cas de DHF/DSS[].

La mise à disposition à large échelle d'un vaccin serait à prévoir dans un avenir relativement proche. Les moyens de prévention au plan individuel restent modestes. La protection offerte par les moustiquaires et l'usage de répulsifs reste aléatoire, le vecteur piquant le jour. A l'échelon collectif, l'objectif d'éradication du vecteur est illusoire. L'amélioration du contrôle de la dengue passe par l'éducation sanitaire des populations, la formation de tous les médecins, la mise en place d'un dispositif de surveillance et d'alerte performant, et une lutte antivectorielle intégrée et coordonnée.

La Dengue dans les Caraïbes et aux Antilles : La dengue sévit actuellement sur un mode endémo-épidémique dans la Caraïbe [7]. D'une situation épidémique par circulation d'un seul sérotype, les pays de la Caraïbe, et notamment les départements français d'Amérique (DFA), ont évolué progressivement vers une situation hyperendémique dans laquelle les quatre sérotypes circulent en permanence. Les recrudescences épidémiques de FD surviennent durant la saison des pluies et sont de façon cyclique de plus grande ampleur lorsqu'une nouvelle souche virale est introduite auprès d'une population non immunisée. Ces flambées épidémiques sont de plus en plus souvent explosives et de grande magnitude avec un taux d'attaque pouvant atteindre 50 voir 80% des sujets réceptifs. De plus, elles se caractérisent par une proportion croissante de formes hémorragiques (DHF/DSS) n'épargnant plus les adultes. Lors de l'épidémie de Cuba de 1981 qui a marqué l'émergence de la DHF/DSS dans les Amériques, un nombre important et inhabituel de DHF/DSS et de décès était noté chez des adultes alors que ces formes étaient considérées jusqu'alors comme l'apanage de l'enfant [8]. Dix ans plus tard, les premiers cas de DHF/DSS étaient rapportés dans les trois DFA - la Guyane (1991), la Guadeloupe (1994) et la Martinique (1995)-, avec depuis des bouffées épidémiques enregistrées tous les 3-4 ans.). Pour la seule année 2001, il y a eu plus de 609 000 cas de dengue notifiés dans les Amériques, dont 15 000 cas de DHF/DSS, soit plus du double des cas enregistrés en 1995 [7]. Cinq pour cent de la population antillaise a été touchée, à l'origine d'au moins quatre décès. La Guyane a connu une épidémie de dengue en 1996-97 (DEN-1 et DEN-2) et les 4 sérotypes du virus ont probablement circulé de façon endémo-épidémique les années suivantes jusqu'à l'épidémie liée au sérotype DEN-3 (mai 2004 et octobre 2005) puis DEN-2 (2005-2006). Le virus DEN-2 a été également isolé en Martinique durant les deux dernières épidémies (2005-2006 et 2007-2008) où il a été à l'origine de la majorité des formes sévères hospitalisées. Le sérotype DEN-4, qui n'avait pas circulé dans la région depuis plus de 10 ans, a été détecté en Guadeloupe en août 2005 et a provoqué l'épidémie de 2005-2006 (9 000 personnes environ), relayé ensuite par le sérotype DEN-2, responsable, en 2006, d'une situation de pré-alerte épidémique, puis de la dernière épidémie 2007-2008 (près de 20 000 cas).

Il existe dans les DFA un système de surveillance épidémiologique qui repose sur le suivi hebdomadaire des résultats de sérologies, transmis par les laboratoires, et du nombre de cas cliniques suspects, notifiés par un réseau de 55 médecins sentinelles. Un comité d'experts pluridisciplinaire valide les stratégies de surveillance, d'investigation et de réponse élaborées dans le Programme de Surveillance, d'Alerte et à la Gestion des Epidémies (Psage) de dengue, propose des études et/ou des stratégies complémentaires ou alternatives et émet des recommandations à partir des résultats de surveillance présentés par la Cire, la CVS et le service de lutte anti-vectorielle. Ce système de surveillance s'appuie dur le test précoce NS1 et le Centre National de Référence (CNR) pour les arbovirus (Institut Pasteur de Guyane) qui réalise les sérotypages.

L'OMS depuis 1974 distingue les formes hémorragiques simples (DHF) et les formes hémorragiques avec choc (DSS), originellement définies en présence de critères cliniques et biologiques issus d'études menées en Asie du Sud-Est dans les années 1960 [9].

Depuis 1998 l'expérience acquise par les urgentistes, infectiologues et pédiatres des DFA a montré que la classification de l'OMS en dengue classique, DHF et DSS était peu adaptée à la diversité des tableaux cliniques sévères [10-13], avec le risque d'atteinte ciblée d'un organe (encéphalite, hépatite, myocardite,…). La classification OMS est donc remise en cause car elle occulte un nombre non négligeable de dengues sévères tout en incluant des dengues en fait banales et il apparaît nécessaire de redéfinir les formes graves de dengue pour tenir compte de cette diversité des formes cliniques sévères [14-20]. Par ailleurs, le traitement anti-pyrétique et antalgique est réalisé quasi-exclusivement par paracétamol dont l'effet hépatotoxique est de plus en plus évoqué pour participer aux atteintes hépatiques au cours de la dengue, même aux doses thérapeutiques habituelles. La part relative du paracétamol dans l'atteinte hépatique au cours de la dengue doit être mieux étudiée.

Conclusion : La dengue est l'arbovirose émergente la plus préoccupante à l'échelon planétaire, d'abord par la fréquence croissante des formes graves hémorragiques qui posent un réel problème de santé publique dans les pays d'endémie, ensuite par l'extension progressive du nombre de cas et de régions touchées. Seule une stratégie mondiale de prévention et de lutte sous-tendue par un renforcement sérieux et durable des engagements politiques et des ressources allouées pourrait en permettre la maîtrise dans l'attente d'un vaccin. Il est très probable que dans les années à venir, les pays de la Caraïbe aient à faire face à de nouvelles épidémies qui pourraient entraîner un nombre plus important de formes graves.

Il est aujourd'hui admis que les critères OMS de classification de la dengue ne sont plus adaptés à la définition de l'ensemble des formes compliquées. Une révision de cette classification nécessite l'identification de critères pertinents et leur validation par une étude prospective. Pour prendre en compte la diversité des formes cliniques, parfois associée à l'environnement, des études doivent être conduites dans tous les endroits d'endémicité de la dengue, dont les DFA. La redéfinition des formes compliquées de dengue permettra de mieux adapter la prise en charge des patients, en orientant les indications d'une hospitalisation surtout en situation d'épidémie quand les ressources hospitalières sont réduites.

Références bibliographiques

1 Halstead S.B. (1988). Pathogenesis of dengue: challenges to molecular biology. Science, *239*, 476-81.

2 Rothman A.L. (2004). Dengue : defining protective versus pathologic immunity. J. Clin. Invest. *113*, 946-51.

3 White N.J. (1999). Variation in virulence of dengue virus. Lancet. *354*, 1401.

4 Lanciotti,R.S., Calisher,C.H., Gubler,D.J., Chang,G.J., and Vorndam,A.V. (1992). Rapid detection and typing of dengue viruses from clinical samples by using reverse transcriptase-polymerase chain reaction. J Clin. Microbiol. *30*,

545-51.

5 Young, P.R., Hilditch,P.A., Bletchly,C., and Halloran,W. (2000). An antigen capture enzyme-linked immunosorbent assay reveals high levels of the dengue virus protein NS1 in the sera of infected patients. J. Clin. Microbiol. *38*, 1053-57.

6 Alcon-LePoder, Drouet,M.T., Roux,P., Frenkiel,M.P., Arborio,M., Durand-Schneider,A.M., Maurice,M., Le,B., I, Gruenberg,J., and Flamand,M. (2005). The secreted form of dengue virus nonstructural protein NS1 is endocytosed by hepatocytes and accumulates in late endosomes: implications for viral infectivity. J Virol. *79*, 11403-11.

7 Guzman,M.G. and Kouri,G. (2003). Dengue and dengue hemorrhagic fever in the Americas: lessons and challenges. J Clin. Virol. *27*, 1-13.

8 Rigau-Pérez J.G., ClarK G.G., Gubler D.J., Reiter P., Sanders E.J., Vorndam A.V. (1998). Dengue and dengue hemorrhagic fever. Lancet. *352*, 971-77

9 World Health Organization (1974). Technical advisory committee on DHF for SE Asia and Western Pacific Regions. Guide for diagnosis, treatment and control of dengue fever. Geneva.

10 Strobel,M. and Cabie,A. (2000). Dengue fever. Rev. Med. Interne *21 Suppl 4*, 443s-5s.

11 Strobel,M. and Lamaury,I. (2001). Dengue fever: a review. Rev. Med. Interne *22*, 638-47.

12 Teles,F.R., Prazeres,D.M., and Lima-Filho,J.L. (2005). Trends in dengue diagnosis. Rev. Med. Virol. *15*, 287-302.

13 Thomas,L. and Cabie,A. (2005). Signes cliniques et symptômes observés chez l'adulte au service des Urgences du CHU de Fort-de-France. Bulletin d'Alerte et de Surveillance Antilles-Guyane *11*, 5-6.

14 Setiati T.E., Mairuhu A.T., Koraka P., Supriatna M., Mac Gillavry M.R., Brandjes D.P., Osterhaus A.D., van der Meer J.W., van Gorp E.C., Soemantri A. (2007). Dengue disease severity in Indonesian children: an evaluation of the World Health Organization classification system. Infect. Dis. *26*, 7-22.

15 Wichmann O., Gascon J., Schunk M., Puente S., Siikamaki H., Gjørup I., Lopez-Velez R., Clerinx J., Peyerl-Hoffmann G., Sundøy A., Genton B., Kern P., Calleri G., de Górgolas M., Mühlberger N., Jelinek T., European Network on Surveillance of Imported Infectious Diseases. (2007). Severe dengue virus infection in travelers: risk factors and laboratory indicators. J. Infect. Dis. *195*, 1081-3.

16 Bandyopadhyay S., Lum L.C., Kroeger A. (2006). Classifying dengue: a review of the difficulties in using the WHO case classification for dengue haemorrhagic fever. Trop Med Int Health. *11*, 1238-55.

17 Deen J.L., Harris E., Wills B., Balmaseda A., Hammond S.N., Rocha C., Dung N.M., Hung N.T., Hien T.T., Farrar J.J. (2006). The WHO dengue classification and case definitions: time for a reassessment. Lancet. *6*, 170-3.

18 Rigau-Perez J.G. (2006). Severe dengue: the need for new case definitions. Lancet Infect. Dis. *6*, 297-302.

19 Balmaseda A., Hammond S.N., Pérez M.A., Cuadra R., Solano S., Rocha J., Idiaquez W., Harris E. (2005). Short report: assessment of the World Health Organization scheme for classification of dengue severity in Nicaragua. Am. J. Trop. Med. Hyg. *73*, 1059-62.

20 Murgue B., Deparis X., Chungue E., Cassar O., Roche C. (1999). Dengue: an evaluation of dengue severity in French Polynesia based on an analysis of 403 laboratory-confirmed cases. Trop. Med. Int. Health. *4*, 765-73.

86/19SEP 4 décembre 2008 - 14:30 - 342 A

Diagnostic microbiologique

N. Desplaces
Laboratoire de Biologie Médicale, Groupe Hospitalier Diaconesses Croix saint Simon, Paris, France

Le diagnostic microbiologique d'une infection de prothèse de hanche est indispensable pour une prise en charge thérapeutique optimale. La fiabilité du diagnostic bactériologique de toutes les infections ostéo-articulaires dépend de la qualité des prélèvements, des modalités de leur transport jusqu'au laboratoire et des techniques utilisées au laboratoire. Pour chaque étape, des protocoles doivent être rédigés.

Le diagnostic bactériologique des infections sur prothèse est délicat car l'isolement d'une bactérie dans un prélèvement péri-prothétique ne signifie pas que le germe isolé est responsable de l'infection constatée ou suspectée. Seule, la positivité de plusieurs prélèvements profonds, effectués dans le site de l'infection permettent d'assurer que les bactéries isolées ont une valeur formelle. Les prélèvements superficiels comme l'écouvillonnage d'une fistule ou d'une cicatrice désunie ne devraient pas être effectués car ils induisent en erreur et n'ont aucune valeur décisionnelle raisonnable. De plus, ils restent dans les dossiers et sont source de conflits.

I - Les prélèvements : Les prélèvements doivent être effectués après arrêt (au moins 15 jours et parfois d'avantage) de toute antibiothérapie afin d'éviter les résultats faussement négatifs.

· Les prélèvements pré-opératoires :

o *ponction articulaire avec lavages articulaires* adressés séparément au laboratoire [1]. Le mieux est de laisser ces prélèvements dans leur seringue obturée par un bouchon hermétique stérile. Le transvasement dans un pot est source de contamination et d'exposition à l'air qui peut détruire des bactéries anaérobies. Il est possible d'inoculer le liquide de ponction articulaire dans deux facons d'hémoculture aérobie et anérobie [2]; mais, il est recommandé de garder quelques gouttes de liquide articulaire dans la seringue (ou dans un tube hépariné) pour l'examen cytologique et les colorations.

o *ponction d'abcès*.

Les résultats de ces prélèvements permettront de définir les modalités de la prise en charge chirurgicale et l'antibiothérapie initiale

· *En cas de fièvre*, il est important de prélever 3 hémocultures en aérobie et anaérobie et de prélever systématiquement avant antibiothérapie: urines, lésions cutanées, prélèvement vaginal, prélèvement nasal et gorge…) pour détecter la porte d'entrée ou le foyer infectieux responsable de la dissémination de la bactérie

· *Les prélèvements profonds peropératoires* confirmeront le diagnostic pré-opératoire ou permettront de l'établir. Ils doivent être effectués en dehors de toute antibiothérapie ou antibioprophylaxie. Il est recommandé de prélever 5 à 6 prélèvements au niveau de zones macroscopiquement pathologiques liquides (pus, liquide articulaire) ou solides (tissu d'interposition, granulome, tissu osseux pathologique...) [3].

Tous les prélèvements doivent être effectués dans des conditions stricte d'asepsie et parvenir rapidement au laboratoire. Le transport de ces prélèvements doit respecter les exigences des bonnes pratiques de transport des produits biologiques à risque infectieux.

II - Les techniques microbiologiques

Tous les prélèvements doivent être techniqués sous poste de sécurité microbiologique de type 2, avec casaque à usage unique, gants stériles, matériels et instruments à usage unique pour éviter au maximum les contaminants qui pourront prêter à confusion.

A/ le liquide articulaire

L'étude du liquide articulaire doit comporter un examen cytologique (numération et formule des éléments nucléés). Pour les prothèses de genou, plus de 1700 éléments/mm3 (sensibilité 94% et spécificité 88%) et plus de 65% de polynucléaires neutrophiles sont très évocateurs d'une infection sur prothèse [4]. Pour les prothèses de hanche, la numération et la formule des éléments nucléés n'a pas été encore évaluée. L'examen d'une pastille de cytocentrifugation après coloration de Gram peut permettre de voir les bactéries.

B/ les prélèvements tissulaires

Les fragments tissulaires doivent être broyés pour libérer les bactéries des cellules et du biofilm. L'examen de frottis de fragments de tissus doit rechercher la présence de polynucléaires neutrophiles (mieux identifiés par la coloration de May Grunwald Giemsa) et la présence de bactéries (coloration de Gram). La sensibilité de l'examen direct est faible (6%) mais sa spécificité proche de 100% [3].

C/ Les cultures

Les prélèvements doivent être ensemencés sur des géloses enrichies (gélose au sang en aérobie, columbia en anaérobie, chocolat et polyvitamines sous 5% de CO2) et dans des milieux liquides d'enrichissement qui permettent la mise en évidence de bactéries de croissance lente grâce à la richesse nutritive du milieu utilisé et de la plus grande quantité de prélèvement ensemencé [3,5].

Les milieux d'hémocultures contenant des résines adsorbant les antibiotioques et des agents lytiques permettant de libérer les bactéries des cellules peuvent être intéressants, mais certaines bactéries (ex: *Propionibacterium acnes* et *Peptostreptococcus spp*) peuvent ne pas y cultiver.

L'examen des cultures doit être quotidien pour les milieux gélosés en aérobie et sous C02 ainsi que pour les milieux liquides ; les géloses en anaérobie sont examinées toutes les 48heures. Dès qu'un trouble apparaît dans un bouillon, il doit être repiqué.

L'incubation doit être poursuivie au moins une dizaine de jours pour permettre la croissance de colonies parfois d'espèces différentes ou de micro-colonies qui apparaissent sur les géloses de façon décalée dans le temps.

Certaines bactéries peuvent ne pas troubler les milieux liquides, il est donc fortement recommandé au terme de l'incubation, de repiquer systématiquement les bouillons d'enrichissement sur les milieux gélosés précédemment décrits, et incubés 48heures avant d'être jetés.

La recherche des mycobactéries n'est effectuée que sur indication précise.

III – Le résultat bactériologique

Le résultat bactériologique peut être rapide (48h) en cas d'infection aiguë, due à une bactérie virulente, très souvent visible dès la coloration de Gram d'un frottis de pus.

Le plus souvent, le résultat est long à obtenir car :

· les colonies bactériennes apparaissent lentement et souvent de façon décalée dans le temps, conférant un aspect polymorphe aux cultures,

· présence de colonies d'aspects différents qui nécessitent des isolements de chaque aspect ; intérêt de la loupe binoculaire [6,7],

· apparition tardive (J+5 à J+7) de *Propionibacterium spp*, de *Peptostreptococcus* et de variants nutritionnels ou « *small colony variants* » qui ont perdu certains caractères rendant leur identification problématique [8, 9].

· Culture uniquement en bouillon d'enrichissement (*Propionibacterium sp* et *Peptostreptococcus* ne seront pas détectées dans les flacons d'hémocultures pour automate

· Antibiogrammes difficiles à obtenir et dentification fastidieuse des bactéries exigentes.

L'interprétation des résultats

Pour impliquer une bactérie responsable de l'infection d'une prothèse, il faut que :

· *Plusieurs prélèvements soient positifs* [3]:

· au moins 3 prélèvements (pré- ou per-opératoires) positifs avec des bactéries de la flore cutanée : SCN, *Propionibacterium*, corynébatérie, ou

· au moins 2 prélèvements positifs avec des bactéries n'appartenant pas à la flore cutanée et pour laquelle une éventuelle contamination ne se discute pas (ex : *Staphylococcus aureus*, entérobactéries: *E.coli, Klebsiella, Proteus spp...*) ou

· *Un seul prélèvement positif* (pré-opératoire (ponction articulaire ou hémoculture ou per-opératoire) avec une bactérie qui ne peut pas être un contaminant (ex: pneumocoque, *Salmonella, Listeria, Campylobacter, Pasteurella* …).

En général, l'isolement d'une bactérie appartenant à la flore cutanée dans un seul prélèvement n'est pas significatif surtout lorsqu'on utilise des milieux d'enrichissement. Il est alors nécessaire de confronter les informations bactériologiques, cliniques, radiologiques et histopathologiques pour décider si la bactérie isolée doit être prise en compte ou non.

Le délai d'obtention d'un résultat bactériologique ne peut pas être inférieur à 48 heures et il est souvent supérieur à 10 jours. C'est dire l'importance d'un diagnostic pré-opératoire pour ne pas perdre de temps en post-opératoire.

Les souches bactériennes responsables d'infections ostéo-articulaires et en particulier celles responsables d'infections sur prothèse doivent être conservées à -80°C

IV - Epidémiologie

Les bactéries les plus souvent isolées appartiennent au genre *Staphylococcus* (environ 60% des infections de prothèses) : *S.aureus* et les staphylocoques à coagulase négative en particulier *S. epidermidis* sont en égale proportion. Les streptocoques (streptocoques béta-hémolytiques des groupes B, C, G), les entérocoques, les bacilles à Gram négatif (entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*), les anaérobies (le plus souvent à Gram positif) sont également isolés. Environ 10% des infections sur prothèses de hanche sont plurimicrobiennes.

Les bactéries de la flore cutanée (staphylocoques à coagulase négative, *Propionibacterium acnes*) sont plus souvent retrouvées dans les formes chroniques [9].

De très nombreuses autres espèces ont été isolées : *Haemophilus* sp., *Campylobacter* sp., *Clostridium difficile, Brucella, Francisella, Pasteurella,* …

La présence de *Mycoplasma. Trophyrema whipplei* ne peut être détectée que par des techniques de biologie moléculaire.

Les mycobactéries ne sont peut être pas suffisamment recherchées [10].

Les séries publiées rapportent entre 5 à 15% de cultures stériles dans les infections sur prothèses articulaires expliquées car : l'antibiothérapie n'a pas été arrétée assez longtemps, prélèvements de mauvaise qualité (écouvillonnage d'une pièce prothétique ou prélèvement microscopique), transport trop long dans des conditions inadéquates (envoi par la poste…), milieux de culture inappropriés pour des micro-organismes exigents, durée d'incubation insuffisante, infection à mycobactérie qui ne cultive que dans des milieux spéciaux [11]. Enfin, dans ce rares cas, une réaction puriforme parfois même fistulisée peut s'associer à un granulome ou à une réaction à corps étranger.

V - L'activité des antibiotiques

Elle est déterminée par l'antibiogramme, mais peut poser des difficultés :

· chez un même patient, plusieurs prélèvements peuvent être positifs avec plusieurs aspects de colonies pour une même espèce bactérienne (ex: *Staphylococuus epidermidis*): les antibiogrammes doivent être réalisés sur les différents aspects car il est fréquent d'observer des variations de l'activité des antibiotiques [6]; certaines souches étant très lentes à pousser, la standardisation de l'antibiogramme n'est pas toujours facile à respecter.

· De nombreuses souches de staphylocoques sont résistantes à l'oxacilline : la détection du gène *mec*A sera assez souvent réalisée pour les staphylocoques à coagulase négative.

· les CMI des glycopeptides sont fréquemment nécessaires pour choisir le glycopeptide, adapter la posologie et repérer les GISA (glycopeptides intermediate *Staphylococcus aureus*) ou GISE (glycopeptides intermédiate *Staphylococcus epidermidis*).

· sur les streptocoques viridans, l'activité des béta-lactamines (amoxicilline, céfotaxime) doit être vérifiée (CMI) même si elles apparaissent actives sur l'antibiogramme classique.

Le diagnostic bactériologique d'une infection sur prothèse articulaire repose sur la présence de la même bactérie (ou des mêmes bactéries) et des mêmes phénotypes de résistance.

VI - Analyse bactériologique du matériel prothétique explanté

Des études ont mis en évidence les bactéries dans le biofilm présent à la surface du matériel explanté : une sonication permet de décrocher le biofilm et de visualiser de très nombreuses bactéries par des techniques d'immunofluorescence indirecte [12]. La culture du sonicat permettrait une culture nettement plus importante que celle des biopsies, notamment pour les patients qui ont reçu des antibiotiques [13].

Plusieurs techniques rapides sont aujourd'hui à l'essai dans des laboratoires de recherche: immunofluorescence directe, hybridation in situ, PCR en temps réel à partir du matériel explanté [14].

Conclusion : Il n'existe pas aujourd'hui de techniques de diagnostic microbiologique des infections sur prothèse articulaire présentant une sensibilité et une spécificité toutes les deux supérieures à 90%.

La qualité du diagnostic bactériologique dépend de la qualité des prélèvements, du transport, de la prise en charge technique au laboratoire, de la validation biologique et de l'interprétation multidisciplinaire des résultats. Le diagnostic microbiologique ne peut être fiable que si le laboratoire respecte la méthodologie nécessaire à la mise en évidence de bactéries ayant des exigences de culture, impliquant : la conservation des milieux de culture pendant au moins 10 jours, l'étude minutieuse des différentes colonies et la réalisation de multiples antibiogrammes qui coûtent chers et qui ne sont pas comptabilisés dans cet examen bactériologique codifié par la nomenclature de façon forfaitaire, que le prélèvement soit stérile ou positif avec une bactérie qui présente plusieurs antibiogrammes.

Il ne faut plus accepter de résultat bactériologique "*stérile en 48 heures*" car la majorité des infections chroniques sur prothèses articulaires sont dues à des bactéries qui cultivent lentement en 5 à 10 jours et qui sont dans la moitié des cas, isolées uniquement dans les bouillons d'enrichissement après une incubation prolongée de plus d'une semaine.

Références

1. SOMME D, ZIZA JM, DESPLACES N, CHICHEPORTICHE V, CHAZERAIN P, LEONARD P, LHOTELLIER L, JACQUENOD P, MAMOUDY P. Contribution of routine joint aspiration to the diagnosis of infection before hip revision surgery. Joint Bone Spine. 2003 Dec;70(6):489-95.

2. HUGHES JG, VETTER EA, PATEL R. Culture with BACTEC pedPlus/F bottle compared with conventional methods for detection of bacteria in synovial fluid. J.Clin. Microbial. 2001; 39 : 4468-4471.

3. ATKINS BL, ATHANASOU N, DEEKS JJ, CROOK DW, SIMPSON H, PETO TE, McLARDY-SMITH P, BERENDT AR, and the OSIRIS collaborative study group. Prospective evaluation of criteria for microbiological diagnosis of prosthetic-joint infection at revision arthroplasty. J. Clin Microbiol. 1998; 36: 2932-39.

4. TRAMPUZ A, HANSSEN AD, OSMON DR, MANDREKAR J, STECKELBERG JM, PATEL R. Synovial fluid leukocyte count and differential for the diagnosis of prosthetic knee infection. Am J. Med 2004; 117: 556-62.

5. SENNEVILLE E, SAVAGE C, NALLET I, YAZDANPANAH Y, GIRAUD F, MIGAUD H, DUBREUIL L. COUCOL R, MOUTON Y. Improved aero-anaerobe recovery from infected prosthetic joint samples taken from 72 patients and collected intraoperatively in Rosenow's broth. Acta Ortho. 2006; 77: 120-4.

6. GALDBART J-O, MORVAN A, DESPLACES N, EL SOLH N. Phenotypic and genomic variation among *Staphylococcus epidermidis* strains infecting joint prostheses. J Clin Microbiol, 1999. 37, 1306-1312.

7. NILSDOTTER-AUGUSTINSSON A., KOSKELA A, OHMAN L, SODERQUIST B. Characterization of coagulase-negative staphylococci isolated from patients with infected hip prostheses : use of phenotypic and genotypic analyses, including tests for the presence of the *ica* operon. Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. 2007; 26 : 255-65.

8. SENDI P., RORBACH M., GRABER P., FREI R., OCHSNER P.E. ZIMMERLI W. *Staphylococcus aureus* small colony variants in prosthetic joint infection. Clin. Infect. Dis. 2006 ; 43 : 961-67

9. ZELLER V, GHORBANI A, STRADY C, LEONARD P, MAMOUDY P, DESPLACES N. *Propionibacterium acnes* : an agent of prosthetic joint infection and colonization. J. Infect. 2007; 55: 119-24.

10. MARCULESCU C.E., BERBARI E.F., COCKERILL F.R., OSMON D.R. Fungi, Mycobacteria, Zoonetic and other organisms in prosthetic joint infection. Clin. Orthop. Relat. Res. 2006; 451: 64-72.

11. BERBARI EF, MARCULESCU C, SIA I, LAHR BD, HANSSEN AD, STECKELBERG JM, GULLERUD R, OSMON DR. Culture-negative prosthetic joint infection. Clin. Infect. Dis. 2007 ; 45 : 1113-18.

12. McDOWELL A, PATRICK S. Evaluation of nonculture methods for the detection of prosthetic hip biofilms. Clin. Orthop. Relat. Res 2005, 437: 74-82.

13. TRAMPUZ A, PIPER KE, JACOBSON MJ, HANSSEN AD, UNNI KK, OSMON DR, MANDREKAR JN, COCKERILL FR, STECKELBERG JM, GREENLEAF JF and PATEL R. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. N. Engl. J. Med. 2007;357(7): 705-6

14. PATEL R, OSMON D.R, HANSSEN A.D. The diagnosis of prosthetic joint infection. Current techniques and emerging technologies. Clin. Ortho. Relat. Res. 2005; 437: 55-58.

89/20SEP 4 décembre 2008 - 14:00 - 342 B

Infections nosocomiales virales en pédiatrie

D. Floret

Université Claude Bernard Lyon1 - Hôpital Femme-Mère-Enfant, Bron, France

Les infections nosocomiales virales sont souvent méconnues car échappent à la définition classique de l'infection nosocomiale (acquise après plus de 48 heures d'hospitalisation) en raison de la grande variabilité de la durée d'incubation des infections virales. Nombre d'entre elles surviennent d'ailleurs après le retour de l'enfant à domicile. Leur connaissance précise nécessite des études spécifiques comportant un prélèvement négatif à l'admission et un rappel téléphonique des familles après la sortie.

Ces infections ont en outre pour particularité d'être directement liées aux épidémies qui sévissent dans la communauté.

Deux virus rendent compte de l'essentiel des infections nosocomiales virales en pédiatrie : le rotavirus (RV) et le virus respiratoire syncytial (VRS). Ces virus qui circulent à peu près à la même période (hivernale) affectent approximativement les mêmes tranches d'âge (le nourrisson) représentent une lourde charge pour les services de pédiatrie en hiver.

Les infections nosocomiales à rotavirus ont fait l'objet d'études récentes, notamment dans la perspective de la mise en place de la vaccination.

Dans les pays industrialisés, les infections nosocomiales à RV représentent la principale cause d'infection nosocomiale en pédiatrie et la première cause de diarrhée nosocomiale chez les enfants de moins de 5 ans. Le virus se transmet préférentiellement par voie fécale-orale avec le rôle essentiel du manuportage.

Les infections nosocomiales à RV affectent préférentiellement les jeunes nourrissons (0-5 mois) alors que la prévalence des infections communautaires est maximale dans la tranche d'âge 6-23 mois. Le virus circule pendant la période hivernale, avec une coïncidence plus ou moins marquée avec la circulation du VRS, voire de la grippe. On admet que 20 à 40% des infections sont asymptomatiques, ce qui contribue à faciliter la dissémination du virus et limite considérablement l'efficacité des mesures préventives. D'une manière générale d'ailleurs, les mesures de prévention de l'infection nosocomiale à RV ont une efficacité limitée en raison de la haute contagiosité du virus et des difficultés structurelles des hôpitaux à faire face à de telles situations épidémiques. Bien qu'on manque de données évaluant à l'échelle nationale les conséquences des infections nosocomiales à RV en matière de prolongation de séjour et de coûts hospitaliers, cette problématique devrait être prise en compte dans l'évaluation du rapport coût/ bénéfice de la vaccination.

Les infections nosocomiales à VRS représentent l'étiologie principale des infections nosocomiales d'origine respiratoire, surtout chez l'enfant de moins de 2 ans. Elles sévissent également en hiver, la période de circulation du virus dans la communauté débutant habituellement en octobre pour se terminer en avril, avec un pic en décembre.

La haute contagiosité de ce virus (taux d'attaque de 45% autour d'un cas en l'absence de mesures de prévention) et le fait qu'il ne procure qu'une immunité transitoire expliquent la dissémination de ce virus dans les services de pédiatrie surchargés en période hivernale.

L'infection nosocomiale à VRS peut être lourde de conséquence lorsqu'elle affecte des nouveaux nés et surtout les prématurés ou les enfants présentant des maladies respiratoires type bronchodysplasie ou des cardiopathies congénitales. Chez les immunodéprimés, notamment dans des unités de transplantation médullaire, le VRS peut être à l'origine de décès. En outre, comparés aux infections communautaires, les enfants présentant une infection nosocomiale ont une durée de séjour supérieure et un excès de mortalité.

Le VRS est excrété dans les sécrétions respiratoires. La diffusion ne se fait pas par les gouttelettes de Pflüge mais par les grosses particules, ce qui nécessite un contact étroit. Le virus peut survivre de façon prolongée sur les surfaces, les gants, les blouses. La transmission se fait donc aussi par les mains contaminées par le contact avec des objets souillés. L'infection du personnel soignant (qui s'infecte dans plus de 60% des cas) représente également un mode de contamination important. Les infections de l'adulte peuvent être asymptomatiques ou se traduire par un simple mal de gorge ou une rhinite mais donnent lieu à une excrétion virale. Les muqueuses nasales et conjonctivales représentent pour eux la voie d'inoculation du virus.

Diverses mesures pour la prévention de ces infections ont été évaluées : lavage des mains, port de gants, de blouses, de masques, de lunettes, décontamination minutieuse des surfaces. D'autres mesures s'adressent à l'organisation des soins : le regroupement des malades infectés pris en charge par des équipe dédiées semble être efficace, surtout lorsque cette mesure est associée aux mesures barrière. Pour être efficaces, les mesures individuelles doivent s'insérer dans un programme de prévention précis, explicité avec information du personnel.

La transmission nosocomiale de la grippe est une éventualité plus rare, encore que certainement sous estimée en raison des manifestations non spécifiques de la grippe chez l'enfant. Des épidémies ont cependant été rapportées, notamment dans des unités de néonatologie. La grippe nosocomiale peut avoir des conséquences graves car affecte souvent des enfants atteints de pathologies sous jacentes sévères ou des immunodéprimés.

La prévention est difficile car le virus peut se transmettre à distance par aérosolisation. En outre, les enfants peuvent excréter du virus jusqu'à 5 jours avant les symptômes. Le diagnostic rapide de la grippe à l'admission chez les enfants fébriles en période épidémique semble un moyen de réduire le risque de transmission. La vaccination des enfants à risque et du personnel hospitalier représente un moyen essentiel de prévention.

De nombreux autres virus peuvent l'objet de transmission nosocomiale : la haute contagiosité du virus de la varicelle combinée à une excrétion virale précédant de 2 à 3 jours l'éruption caractéristique font courir un risque élevé de transmission intra hospitalière avec un risque potentiellement vital chez des enfants immunodéprimés. Cette situation nécessite le recours aux immunoglobulines spécifiques, disponibles en ATU.

La rougeole réapparaît en France, affectant préférentiellement les grands enfants et adolescents chez qui elle est plus grave, donnant volontiers lieu à hospitalisation. La méconnaissance fréquente du diagnostic explique les transmissions nosocomiales récemment observées dans des hôpitaux français et affectant les patients et le personnel médical et paramédical.

Une transmission nosocomiale a également été rapportée pour les adénovirus, les entérovirus (notamment dans des unités de néonatologie) le cytomégalovirus, le parvovirus.

En conclusion : L'infection nosocomiale virale est une éventualité fréquente en pédiatrie, notamment en période hivernale et concerne le rotavirus, le VRS et plus rarement la grippe. Les mesures de prévention sont particulièrement difficiles à mettre en place dans le contexte de surcharge hivernale des services. Les réflexions menées dans le cadre de la préparation du plan pandémique devraient aider à la mise en place de modes d'organisation propres à diminuer ce risque.

Conflit d'intérêt : l'auteur (sans rémunération personnelle) a coordonné une étude épidémiologique sur les infections à rotavirus en crèche financée par Sanofi- Pasteur et participé à une étude sur la transmission nosocomiale de le grippe partiellement financée par Sanofi- Pasteur.

90/20SEP 4 décembre 2008 - 14:25 - 342 B

Infections nosocomiales virales transmises par le sang

B. Pozzetto
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU et Université de Saint-Etienne (EA 3064), France

Dans la symbolique humaine, le sang est le fluide biologique vecteur de la vie, éminemment noble et précieux, et par conséquent « pur », « propre ». Le scandale dit « du sang contaminé » a profondément entaché cette image de marque en démontrant de façon tragique que ce tissu pouvait se transformer en vecteur de mort quand il était contaminé par un agent aussi redoutables que le virus de l'immunodéficience humaine (HIV). Depuis cette catastrophe sanitaire, les infections nosocomiales virales (INV) transmises par le sang constituent un risque particulièrement redouté vis-à-vis duquel des efforts de prévention considérables ont été déployés, à la hauteur des inquiétudes suscitées ; c'est ainsi par exemple qu'est apparu le concept de précautions universelles, bientôt rebaptisées précautions standard, ou que s'est refondée la sécurité transfusionnelle moderne.

Pour qu'un virus hématogène puisse être à l'origine d'une INV transmise par le sang, trois conditions doivent être réunies : (i) l'agent infectieux doit établir une virémie suffisamment prolongée ; (ii) il doit représenter un risque de transmission avéré ; (iii) il doit enfin entraîner une pathologie identifiée et de gravité reconnue. Pour illustrer le dernier point, on peut citer le torquetenovirus (TTV) ou le virus GBVc/HGV qui sont des contaminants fréquents des produits sanguins mais pour lesquels aucun pouvoir pathogène avéré n'a pour le moment été démontré dans l'espèce humaine. L'objet de cette présentation est de mettre l'accent sur quelques éléments d'actualité relatifs aux INV transmises par le sang. La première partie de l'exposé sera consacré au virus de l'hépatite C (HCV) dont le mode de transmission est essentiellement sanguin : pour cet agent, après la toxicomanie intraveineuse, la transmission nosocomiale constitue probablement, encore aujourd'hui, la modalité d'acquisition la plus fréquente. La deuxième partie de l'exposé dressera un rapide bilan de quatre autres situations de transmissions virales en situation de soins : (i) le risque de transmission de virus des soignants vers les soignés ; (ii) le risque de transmission d'arbovirus en relation avec les produits sanguins labiles ; (iii) le risque de transmission de virus à l'occasion des dons d'organes et de tissus ; (iv) enfin le risque de dissémination des agents des fièvres hémorragiques virales en situation nosocomiale. Toutes ces modalités d'infections sanguines associées aux soins illustrent par ailleurs une constante en matière d'INV : les soignants, au même titre que les patients, peuvent en être les victimes.

En ce qui concerne HCV, trois cas de figures sont à prendre en compte : (i) la transmission directe de patient à soignant par voie percutanée ou, plus exceptionnellement par voie muqueuse, (ii) la transmission indirecte de patient à patient par le biais de produits sanguins, d'organes ou de tissus, ou de pratiques de soins « invasives » (hémodialyse, réutilisation de flacons dans le cadre notamment de pratiques anesthésiques, sclérose de varices, endoscopie avec biopsie, fécondation in vitro …), et enfin (iii) la transmission directe de soignant à patient. Des exemples seront présentés pour illustrer ces différentes situations. Le respect strict des bonnes pratiques d'hygiène et des précautions standard est la meilleure (et la seule) manière de prévenir la transmission de HCV au cours de soins. Une étude récente conduite dans le service d'hémodialyse d'un hôpital parisien où deux cas de primo-infection par HCV avaient été observés a montré que l'environnement était la source de contamination très probable de ces infections : sur 740 prélèvements de surface effectués, 11% présentaient des traces d'hémoglobine et 7% étaient positifs pour l'ARN de HCV (Girou et al., Clin Infect Dis, 2008, 47, 627-33). En dehors du respect des précautions standard, l'autre règle essentielle de prévention de la transmission de HCV est l'utilisation de matériel et de flacons à usage strictement « mono-patient ».

En dehors de HCV, d'autres virus peuvent être transmis directement des soignants aux soignés, et notamment le virus de l'hépatite B (HBV) et même HIV. Différents supports bibliographiques sont disponibles sur ce thème : épidémiologie de la transmission soignant-soigné par F. Lot et J.C. Désenclos (HygieneS, 2003, XI, 96-100), transmission soignant-soigné : recommandations pour la prévention par P. Astagneau (HygieneS, 2003, XI, 182-5), de même que l'excellent guide « Information des patients exposés à un risque viral hématogène. Guide méthodologique » coordonné par A. Carbonne et G. Antoniotti. (HygieneS, numéro spécial, mars 2006) et différents avis du Conseil Supérieur d'Hygiène Publique de France (27 juin, 26 septembre et 7 novembre 2003, 17 juin 2005). Ces situations, heureusement rares, voire exceptionnelles, peuvent être prévenues par des dépistages volontaires et réguliers des soignants et par d'éventuels reclassements professionnels des personnes les plus à risque (notamment quand la charge virale ne peut pas être contrôlée).

Le risque de transmission d'arbovirus par les produits sanguins labiles a été illustré par deux situations épidémiques relativement récentes : l'émergence de virus West Nile (WNV) en Amérique du Nord à partir de 2000 et l'épidémie de virus Chikungunya (CHIKV) à la Réunion en 2005-2006. Dans les deux cas, les autorités sanitaires des pays concernés ont été amenées à prendre des mesures préventives incluant en particulier un dépistage systématique des donneurs par détection du génome viral (DGV) en tests unitaires ou en « minipools ». Pour l'épidémie de CHIKV à la Réunion, les instances

transfusionnelles ont par ailleurs préconisé un traitement systématique des dons de plaquettes par le système Intercept®, efficace sur de nombreux agents infectieux. Ces mesures préventives représentent un surcoût considérable pour les systèmes de santé. Ainsi, dans le cas de l'infection à WNV aux USA, si le DGV s'est avéré relativement coût-efficace au début de l'épidémie (incidence de dons dépistés positifs de 1,4 sur 10 000 en 2003 et de 0,44 sur 10 000 en 2004), cette stratégie est remise en question du fait du caractère désormais endémique de l'infection à WNV dans ce pays : le coût d'une année de vie gagnée, ajustée sur la qualité de vie (indicateur QALY), a été évalué à 1,5 million de dollars (Korves et al, PLoS Med, 2006, 3, 211 -21).

Les greffes d'organes et de tissus constituent une autre situation où des virus, non détectés par les tests virologiques réglementaires effectués classiquement sur le sérum du donneur en pré-greffe, peuvent être à l'origine d'infections dramatiques et souvent fatales chez le(s) receveur(s). Au cours des dernières années, de telles observations ont été rapportées avec les virus suivants : HCV en période d'incubation, HTLV (dans les pays où ce test n'est pas obligatoire), virus de la rage, WNV, virus de la chorioméningite lymphocytaire … En l'absence de possibilité de tester spécifiquement tous ces agents, la seule façon d'éviter la contamination des receveurs est d'établir une sélection clinique très rigoureuse des donneurs : tout patient décédé dans un tableau infectieux non documenté doit être impérativement exclu du don d'organes ou de tissus, sauf indication vitale de transplantation. De même, il convient de se montrer très circonspect vis-à-vis d'un individu en coma dépassé décédé sans explication médicale ou au retour d'un voyage lointain.

La dernière situation d'INV transmises par le sang qui sera évoquée est celle des virus des fièvres hémorragiques. La plupart des fièvres hémorragiques virales (Lassa, Ebola, Marburg, Crimée-Congo…) peuvent se transmettre en situation nosocomiale, notamment quand les conditions de travail rendent le respect des bonnes pratiques d'hygiène tout à fait illusoire (Fisher-Hoch, Br Med Bull, 2005, 73-74, 123-37). Les patients sont virémiques à la phase clinique et leurs excrétats sont infectieux. Ils présentent, dans 20 à 30% des cas, des hémorragies spontanées (méléna, hématémèse, épistaxis) et, dans plus de 80% des cas, des hémorragies provoquées aux points d'injection. C'est surtout le personnel soignant et l'entourage familial qui sont à risque lors de soins courants (injections, toilette, repas) ainsi que le personnel qui manipule et nettoie les instruments et le linge souillés. La transmission est également possible à d'autres patients du fait du non-respect des règles d'hygiène de base (matériel réutilisable non stérilisé, partage de seringues, contact avec du matériel ou de la literie souillée dans les salles communes…). Le rétablissement de ces règles d'hygiène est une étape essentielle pour le contrôle d'une épidémie nosocomiale, comme cela a été démontré à Kikwit, Zaïre, lors de la grande épidémie de fièvre Ebola en 1995.

En conclusion, les INV transmises par le sang ont considérablement reculées au cours des dernières années du fait de l'application plus rigoureuse des précautions standard et de mesures spécifiques en relation avec certaines pratiques de soins (hémodialyse, transfusions, transplantations …). Une meilleure connaissance de leurs modalités de transmission contribue à favoriser leur prévention. L'attitude des soignants, possibles vecteurs mais aussi victimes, joue un rôle essentiel dans la maîtrise du « risque sanguin » associé aux soins. Son éradication passe par la poursuite de la vigilance vis-à-vis des virus classiques et par une attention accrue vis-à-vis de virus émergents ou ré-émergents.

POUR EN SAVOIR PLUS :

- Henderson DK. Managing occupational risks for hepatitis C transmission in the health care setting. Clin Microbiol Rev, 2003, 16, 546-68.

- Pozzetto B, Berthelot P. Virus émergents et ré-émergents et nouveaux risques nosocomiaux. HygieneS, 2008, XVI, numéro spécial intitulé « Surveillance et investigation : nouveaux enjeux. »

98/22s — 4 décembre 2008 - 14:00 - 351

Les outils de diagnostic de la maladie de Lyme en 2008 en France : que prescrire, comment l'interpréter ?

B. Jaulhac, S. De Martino
Laboratoire de Bactériologie, Laboratoire associé au CNR des Borrelia, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, France

La borréliose de Lyme est la plus fréquente des maladies transmises par piqûre de tique en Europe. L'agent de la maladie est un spirochète du genre *Borrelia* dont les 12 espèces nommées à ce jour sont regroupées en un complexe nommé *Borrelia burgdorferi* sensu lato. En dehors de l'érythème migrant typique, le diagnostic clinique de la borréliose de Lyme est souvent difficile et s'appuie sur des arguments épidémiologiques et biologiques.

L'isolement des *Borrelia* par culture est long (de l'ordre de 10 à 20 jours et la négativité de la culture ne peut être conclue qu'après 8 semaines d'observation), fastidieux et de sensibilité faible hormis au stade d'erythème migrant. La détection directe de *B.b.* s.l. par biologie moléculaire est utile pour le diagnostic des formes cutanées et articulaires atypiques de la maladie, lorsque les arguments cliniques et sérologiques sont ambigus.

En routine, le diagnostic bactériologique de la borréliose de Lyme repose donc essentiellement sur la sérologie, à interpréter avec prudence en fonction du stade clinique de la maladie. Cette dernière nécessite l'utilisation de techniques correctement validées, satisfaisant les critères européens de l'EUCALB, pour la mise en évidence d'anticorps spécifiques. Le dosage des anticorps anti-*Borrelia* est réalisé en première intention par technique ELISA le plus souvent, puis confirmé en cas de résultat positif ou douteux par western-blot dont les critères d'interprétation méritent encore d'être harmonisés. Les principales limites de la sérologie résident dans son impossibilité à différencier une infection évolutive d'une cicatrice sérologique et sa mauvaise sensibilité au stade précoce de la maladie, l'érythème migrant, stade le plus fréquent de l'infection. A ce stade, le diagnostic est clinique et la sérologie est inutile. Dans les suspicions de neuroborréliose, la sérologie sanguine ne suffit pas à affirmer le diagnostic et recherche d'une synthèse intrathécale spécifique anti-*Borrelia* est un argument sensible et spécifique. Dans les cas d'arthrite de Lyme ou d'ACA, la postivité de la sérologie est indispensable au diagnostic

Bibliographie

1-16e Conférence de Consensus en Thérapeutique Anti-Infectieuse Borréliose de Lyme : démarches diagnostiques, thérapeutiques et préventives, SPILF, Décembre 2006.

2-Ruzić-Sabljić E, Zore A, Strle F. Characterization of Borrelia burgdorferi sensu lato isolates by pulsed-field gel electrophoresis after MluI restriction of genomic DNA. Res Microbiol. 2008;159:441-8.

3-Weber K, Wilske B. Mini erythema migrans--a sign of early Lyme borreliosis. Dermatology. 2006;212:113-6.

4- Marangoni A, Moroni A, Accardo S, Cevenini R.Borrelia burgdorferi VlsE antigen for the serological diagnosis of Lyme borreliosis.Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2008;27:349-54. Epub 2008 Jan 16.

5-Zajkowska J, Kondrusik M, Pancewicz S, Grygorczuk S, Swierzbińska R, Hermanowska-Szpakowicz T, Czeczuga A, Sienkiewicz I. [Western-blot with VLSE protein and "in vivo" antigens in Lyme borreliosis diagnosis] Przegl Epidemiol. 2006;60 Suppl 1:177-85.

6-Lencáková D, Fingerle V, Stefancíková A, Schulte-Spechtel U, Petko B, Schréter I, Wilske B. Evaluation of recombinant line immunoblot for detection of Lyme disease in Slovakia: comparison with two other immunoassays. Vector Borne Zoonotic Dis. 2008;8:381-90.

7-Glatz M, Fingerle V, Wilske B, Ambros-Rudolph C, Kerl H, Müllegger RR. Immunoblot analysis of the seroreactivity to recombinant Borrelia burgdorferi sensu lato antigens, including VlsE, in the long-term course of treated patients with erythema migrans. Dermatology. 2008;216:93-103.

8-Embers ME, Jacobs MB, Johnson BJ, Philipp MT. Dominant epitopes of the C6 diagnostic peptide of Borrelia burgdorferi are largely inaccessible to antibody on the parent VlsE molecule. Clin Vaccine Immunol. 2007;14:931-6.

9-Zajkowska JM, Kondrusik M, Pancewicz SA, Grygorczuk S, Jamiołkowski J, Stalewska J. [Comparison of test with antigen VlsE (C6) with tests with recombinant antigens in patients with Lyme borreliosis] Pol Merkur Lekarski. 2007;23:95-9..

10-Wormser GP, Nowakowski J, Nadelman RB, Visintainer P, Levin A, Aguero-Rosenfeld ME. Impact of selected clinical variables on seropositivity in acute phase sera of north american patients with culture-confirmed early Lyme disease. Clin Vaccine Immunol. 2008

11-Kannian P, McHugh G, Johnson BJ, Bacon RM, Glickstein LJ, Steere AC. Antibody responses to Borrelia burgdorferi in patients with antibiotic-refractory, antibiotic-responsive, or non-antibiotic-treated Lyme arthritis. Arthritis Rheum. 2007;56:4216-25

99/22s — 4 décembre 2008 - 14:15 - 351

Confirmation de la coqueluche aujourd'hui : Evolution des outils du diagnostic

M.L. Rosso
Centre National de Référence de la Coqueluche et autres Bordetelloses, Institut Pasteur, Paris, France

La coqueluche est une maladie infectieuse respiratoire spécifique de l'homme, du nouveau-né à l'adulte. Deux bactéries du genre *Bordetella* sont principalement responsables des syndromes coquelucheux chez l'homme : *Bordetella pertussis* et *B. parapertussis*. La transmission est aérienne et se fait au contact d'un sujet malade.

Sous l'effet de la vaccination des enfants pendant plus de cinquante ans, l'épidémiologie de la coqueluche s'est modifiée, mais la maladie n'a pas disparu et reste toujours d'actualité. Un changement de transmission est maintenant observé : les adolescents et adultes, dont l'immunité a diminué, représentent le réservoir essentiel de la maladie et contaminent de très jeunes nourrissons non vaccinés pour qui la maladie est dramatique voire mortelle (3, 9).

Le diagnostic clinique de la coqueluche reste facile dans ses formes les plus typiques observées chez les sujets non immuns. Par contre, dans les pays comme la France où les enfants et les adolescents sont vaccinés, le diagnostic clinique s'avère difficile chez l'adulte dont l'immunité a diminué et qui peut présenter des formes atypiques très variables (4). Ces formes cliniques passent souvent inaperçues et peuvent contribuer à la dissémination de l'infection parmi les sujets à risque (nourrissons, femmes enceintes, seniors). En pratique, le diagnostic de la coqueluche doit être évoqué devant une toux spasmodique voire quinteuse sans fièvre et à recrudescence nocturne évoluant depuis plus de 7 jours et la présence de contage dans l'entourage avec une durée d'incubation compatible (7 à 21 jours).

La confirmation biologique est souhaitable pour les cas isolés et devient indispensable quand de nombreux sujets à risque ont été exposés et que des mesures de contrôle conséquentes doivent être mises en place (6). Le choix des tests spécifiques à utiliser tels que la culture, la PCR et la détection des anticorps sériques anti-toxine pertussique se fait en fonction du stade de la maladie.

La culture : La culture est considérée comme quasiment spécifique à 100%. C'est un diagnostic délicat à réaliser mais extrêmement important pour continuer l'analyse de l'évolution de la population des isolats de *B. pertussis* et

B. parapertussis. L'isolement de la bactérie est réalisé en 5-7 jours sur des milieux spécifiques des bordetelles (Bordet-Gengou ou Regan Lowe). L'obtention du prélèvement biologique pour la culture est difficile et influence grandement la sensibilité de la technique. Le plus approprié est l'aspiration nasopharyngée (ANP) qui doit être réalisée le plus précocement possible. Obtenir des ANP chez les nourrissons et les jeunes enfants est un acte de routine pratiqué couramment dans les hôpitaux pédiatriques. Par contre, ce type de prélèvement n'est pas pratiqué fréquemment chez des adolescents et des adultes et n'est pas toujours réalisable (sécheresse des cavités nasales, refus du patient). Dans ce cas, l'utilisation d'écouvillon en dacron (8) ou d'expectorations peut être envisagée.

La culture doit être entreprise uniquement dans les deux premières semaines de la maladie. Sa sensibilité est de 50 à 60% au début de la maladie (première semaine de toux) et diminue très rapidement surtout sous antibiotiques (2, 10).

Ce diagnostic est remboursé par l'assurance maladie mais n'est pratiqué que par certains laboratoires hospitaliers et le Centre National de Référence de la Coqueluche et autres Bordetelloses.

La PCR (Polymerase Chain Reaction) en temps réel : La PCR en temps réel représente le diagnostic de choix pour la coqueluche en raison de sa forte sensibilité et de sa rapidité d'exécution. Elle est plus sensible que la culture et permet de déceler le germe jusqu'à trois semaines après le début de la toux même après une antibiothérapie (2). Elle peut être réalisée sur les mêmes prélèvements que ceux utilisés pour la culture. Cependant, une étude en cours dans notre unité montre que les prélèvements effectués chez les adultes en pratique de ville ne sont pas toujours réalisés correctement (N Guiso, communication personnelle).

La plupart des laboratoires utilisent comme cible les séquences d'insertion IS*481* pour *B. pertusssis* et IS*1001* pour *B. parapertussis*. Les PCR en temps réel utilisant des sondes fluorescentes spécifiques (technologies : hybridation de deux sondes, hydrolyse de sondes ou balises moléculaires) doivent être privilégiées afin de garantir une bonne spécificité. Une réunion internationale d'expert a permis d'établir des recommandations en 2005 concernant le traitement de l'échantillon biologique, l'extraction d'ADN et la réalisation des PCR en temps réel (8). Ces recommandations sont suivies en France par le Centre National de Référence de la Coqueluche et autres Bordetelloses et par des laboratoires d'analyse médicale, notamment les laboratoires hospitaliers du réseau Renacoq. La plupart de ces laboratoires réalisent régulièrement des contrôles de qualité.

La PCR en temps réel, bien que représentant actuellement le test de diagnostic de référence, n'est à ce jour pas remboursée par la sécurité sociale car il n'existait pas de kit commercial. Ceci limite son emploi en ambulatoire surtout chez l'adolescent et l'adulte. Des kits commerciaux disposant d'un marquage CE sont actuellement en cours d'évaluation par le Centre National de Référence de la Coqueluche et autres Bordetelloses et différents laboratoires français ou européens.

La sérologie : La sérologie n'a d'intérêt qu'après trois semaines de toux et n'est interprétable que chez les sujets n'ayant pas reçu de vaccin coquelucheux depuis au moins trois ans, les anticorps naturels ne pouvant être différenciés des anticorps acquis. Seule la mesure des anticorps anti-toxine pertussique doit être réalisée car ce sont les seuls spécifiques d'une infection à *B. pertussis*.

La technique de référence est la détection par la technique ELISA d'IgG anti-toxine pertussique dans le sérum d'un sujet toussant depuis au moins trois semaines. Cette technique validée n'est réalisée en France que par le Centre National de Référence de la Coqueluche et autres Bordetelloses. Aucun kit commercial ELISA n'est à ce jour standardisé et validé (7).

L'immunoempreinte, technique non quantitative, peut indiquer une infection chez un sujet toussant depuis plus de trois semaines à condition d'utiliser de la toxine pertussique hautement purifiée. Cette technique remboursée par la sécurité sociale reste le test le plus utilisé par les laboratoires de ville. Mais en pratique, beaucoup de sérologies sont ininterprétables car faites trop tôt ou sur des sujets récemment vaccinés. De plus, certains kits commerciaux utilisent, contrairement aux recommandations, outre la toxine pertussique, d'autres antigènes pouvant conduire à une fausse positivité (5).

En pratique, la confirmation biologique doit reposer en priorité sur la culture et la PCR en temps réel. Du fait des modifications des recommandations vaccinales préconisant l'addition de rappels vaccinaux chez l'adolescent et l'adulte (1) et de la mauvaise qualité des kits actuellement commercialisés, la sérologie est de moins en moins indiquée. Elle doit être limitée aux situations où une confirmation biologique est indispensable, idéalement après avis d'un expert et uniquement si un diagnostic indirect ne peut être réalisé par PCR et/ou culture sur un cas secondaire (5)

Références :

1. Calendrier vaccinal 2008 - Avis du Haut conseil de la santé publique. Bull. Epidemiol Heb **16-17:**1-20.

2. **Bidet, P., S. Ligori, A. De Lauzanne, V. Caro, M. Lorrot, A. Carol, A. Faye, N. Guiso, E. Bingen, and S. Bonacorsi.** 2008. Real-Time PCR Measurement Bordetella pertussis DNA in Nasopharyngeal Secretions During Antibiotic Treatment of Young Children with Pertussis. J Clin Microbiol.

3. **Bonmarin, I., D. Levy-Bruhl, S. Baron, N. Guiso, E. Njamkepo, and V. Caro.** 2007. Pertussis surveillance in French hospitals: results from a 10 year period. Euro Surveill **12:**http://www.eurosurveillance.org/em/v12n01/1201-226.asp.

4. **Grimprel, E., and L. Bassinet.** 2006. Formes cliniques de la coqueluche : du nourrison à l'adulte. mtPédiatrie **9:**138-146.

5. **Haut Conseil de la Santé Publique.** 2008. Avis relatif aux tests de diagnostic de la coqueluche. http://www.hcsp.fr/hcspi/docspdf/avisrapports/hcspa20080905_coqueluche.pdf

6. **Haut Conseil de la Santé Publique.** 2008. Rapport relatif à la conduite à tenir devant un ou plusieurs cas de coqueluche. http://www.sante.gouv.fr/htm/dossiers/cshpf/hcspr20080905_coqueluche.pdf.

7. **Kosters, K., M. Riffelmann, B. Dohrn, and C. H. W. von Konig.** 2000. Comparison of five commercial enzyme-linked immunosorbent assays for detection of antibodies to Bordetella pertussis. Clin Diag Lab Immun **7:**422-426.

8. **Riffelmann, M., C. H. Wirsing von Konig, V. Caro, and N. Guiso.** 2005. Nucleic Acid amplification tests for diagnosis of Bordetella infections. J Clin Microbiol **43:**4925-9.

9. **Wendelboe, A. M., E. Njamkepo, A. Bourillon, D. D. Floret, J. Gaudelus, M. Gerber, E. Grimprel, D. Greenberg, S. Halperin, J. Liese, F. Munoz-Rivas, R. Teyssou, N. Guiso, and A. Van Rie.** 2007. Transmission of Bordetella pertussis to young infants. Pediatr Infect Dis J. **26:**293-9.

10. **Wirsing von Konig, C. H., S. Halperin, M. Riffelmann, and N. Guiso.** 2002. Pertussis of adults and infants. Lancet Infect Dis **2:**744-750.

100/22s — 4 décembre 2008 - 14:30 - 351

Confirmation de la coqueluche aujourd'hui : Evolution des pratiques

I. Bonmarin
Insititut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

L'évolution des pratiques diagnostiques de la coqueluche peut être observée entre autre par les outils de surveillance en France. L'Institut de veille sanitaire coordonne plusieurs systèmes de surveillance concernant la coqueluche : le réseau Renacoq, le système de signalements des cas groupés dans la communauté et le système de signalements des infections nosocomiales. A partir de ces sources de données, nous avons regardé l'évolution des pratiques hospitalières concernant la confirmation biologique des cas de coqueluche.

Le réseau Renacoq permet de décrire les coqueluches pédiatriques vues à l'hôpital et de suivre l'impact des stratégies vaccinales depuis avril 1996 [1].

Les bactériologistes de 43 hôpitaux signalent les demandes de recherche de coqueluche chez les moins de 16 ans et leurs résultats tandis que les pédiatres de ces hôpitaux remplissent un formulaire comportant des données cliniques, épidémiologiques et bactériologiques sur les cas de moins de 6 mois répondant aux trois définitions établies : clinique, biologique et épidémiologique. Le réseau correspond à environ un tiers des admissions pédiatriques de la métropole. Les souches isolées sont envoyées au Centre national de référence qui valide également les résultats biologiques des cas identifiés. Les données de 1996 à 2007 ont été analysées.

Pendant cette période, 2 878 cas de moins de 16 ans ont été identifiés par le réseau. Parmi eux, 1 882 cas chez des nourrissons de moins de 6 mois ont été documentés par une fiche pédiatrique : 84% ont été confirmés au laboratoire alors que 14% répondaient à la définition clinique des cas et 2% à la définition épidémiologique. En 1996, 86% des nourrissons ont eu des prélèvements naso-phrayngés pour culture, 47% pour PCR et 27% des enfants ont eu une sérologie. Au fil des années, les proportions de cultures et de sérologies demandées ont baissé au profit de la PCR. En 2007, tous les cas ont eu une PCR, 69% une culture et aucun d'entre eux n'a eu de sérologie. En moyenne, la proportion de positivité pendant la période d'étude a été de 43% pour la culture, 59% pour la sérologie et 76% pour la PCR.

En parallèle, ont été revues les données sur les cas de coqueluche dans les établissements de soins entre 2000 et 2007[2]. Ces signalements proviennent soit du système de notification obligatoire des infections nosocomiales mis en place en 2001, soit du système volontaire de signalement de cas groupés en collectivité. Toutes les informations provenant de mails, rapports, fiches de signalement ont été regroupées dans un fichier excel.

Entre 2000 et 2007, 68 épisodes en établissements de soins ont été signalés : 7 pour la période 2000-2003 et 61 pour la période 2004-2007. On compte 15 cas sporadiques et 53 cas groupés, l'ensemble des épisodes représentant 413 cas dont 93% d'adultes. Le signalement se fait en moyenne 6 semaines après le début des signes du 1er cas. La taille des foyers va de 2 à 91 cas avec une moyenne à 8 cas par épisode et la durée entre le premier et dernier cas est en moyenne de 5 semaines. La majorité des épisodes touche le personnel, seul (56%) ou avec des patients (28%). Dans seulement 9% des épisodes de coqueluche, les patients ont été contaminés à partir du personnel. Seul un décès a été rapporté chez un nourrisson probablement contaminé par sa mère. Dans un tiers des épisodes, on sait que les établissements de soins ont dû rappeler des patients déjà sortis d'hospitalisation : un établissement signalait un courrier d'information et de recommandation dispensé à près de 700 personnes. Près de la moitié des cas (n=194) ont été confirmés au laboratoire. Sur les 64 cas pour lesquels l'information était disponible, la confirmation s'est faite très majoritairement par sérologie (91%) et peu par la PCR (9%).

Si le réseau Renacoq a abandonné la sérologie au profit de la PCR, ce changement de pratique ne semble pas s'observer pas dans les autres établissements de soins. L'analyse de la gestion des cas de coqueluche en établissements de soins doit rester très prudente car le recueil de données n'est pas exhaustif. Cependant, les différences de pratiques entre Renacoq et les autres établissements soins ont plusieurs explications :

- Renacoq identifie des cas chez les tout-petits où la sérologie est peu utilisée du fait de la possible présence d'anticorps maternels et de la montée tardive des anticorps du nourrisson.

- Le diagnostic de l'adulte est souvent tardif comme le montre la date de signalement des épisodes de coqueluche en milieu de soins. Ceci peut

expliquer l'utilisation majoritaire de la sérologie observée.

- La prise en charge des cas suspects de coqueluche identifiés par Renacoq, notamment le test diagnostic se fait à l'hôpital alors que dans les établissements de soins, le diagnostic du personnel, majoritairement à l'origine des infections nosocomiales, est confirmé en partie en médecine ambulatoire où l'usage de la PCR est limité du fait de son non-remboursement par la Sécurité sociale.

- Le réseau Renacoq est géré par des cliniciens et bactériologistes particulièrement intéressés par la maladie et plus au fait des bonnes pratiques.

La vaccination contre la coqueluche du personnel de santé et la nécessité d'un diagnostic rapide de certitude avant d'engager des mesures de contrôle longues et couteuses rendent de plus en plus caduque l'utilisation de la sérologie en établissement de soins. La dernière mise à jour de la conduite à tenir devant des cas de coqueluche [3] préconise une utilisation très parcimonieuse de la sérologie du fait de la présence de tests non validés sur le marché, de l'impossibilité d'interprétation lors d'une vaccination datant de moins de 3 ans et de la nécessité d'attendre 3 semaines après les premiers signes pour faire cette recherche. Devant un cas index toussant depuis plus de 3 semaines, les experts recommandent même l'utilisation préférentielle de la PCR sur les cas secondaires qu'il aurait générés.

Le nombre d'infections nosocomiales en établissement de soins est en augmentation, essentiellement car le signalement s'améliore ; leur gestion est longue. La vaccination du personnel contre la coqueluche comme recommandée [4] pourrait permettre de réduire le nombre d'épisodes et leur durée. De même, une meilleure réactivité de la surveillance et de l'identification des cas est cruciale pour réduire les conséquences économiques et humaines de cas groupés de coqueluche dans des établissements de soins et le changement des pratiques diagnostiques y participent.

Références

[1] Bonmarin I, Levy-Bruhl D, Baron S, Guiso N, Njamkepo E, Caro V, et al. Pertussis surveillance in hospitals: a 10 years experience. eurosurveillance 2007 Jan;12(1):1201-226.

[2] Poujol I, Bonmarin I, Coignard B. Coqueluche nosocomiale: la situation épidémiologique en France, 2000 – 2007. Hygiènes 2008;en cours de publication.

[3] Rapport relatif à la conduite à tenir devant un ou plusieurs cas de coqueluche. 2008 Sep 5.

[4] Calendrier vaccinal 2008. Avis du Haut conseil de la santé publique; Séance des 14 et 19 mars 2008. BEH 2008 Apr 22;16-17/2008:131-47.

102/22S — 4 décembre 2008 - 15:00 - 351

Quelle place en 2008 pour la recherche des anticorps anti-*Herpes simplex* de type 1 et 2 dans le diagnostic des infections herpétiques ?

H. Agut
Service de Virologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Les infections herpétiques sont dues à deux virus, les virus herpes simplex de types 1 et 2 (HSV1, HSV2). Elles se caractérisent par leur persistance à vie après la primo-infection, les virus restant en latence et étant ensuite susceptibles de se réactiver avec des fréquences variables selon les individus. Ces réactivations peuvent être asymptomatiques ou conduire à des manifestations cliniques, parfois gravissimes, notamment chez les sujets immunodéprimés. Ces réactivations sont aussi à l'origine de la présence de virus infectieux dans les fluides biologiques et de la transmission interhumaine de l'infection. La variabilité et la gravité potentielle des maladies associées ainsi que l'existence de traitements très efficaces mais très spécifiques par les médicaments antiherpétiques justifient le recours au diagnostic virologique pour l'identification des infections à HSV1 et HSV2, au moins une fois au cours de la vie de l'individu infecté.

Le diagnostic direct s'appuie sur l'isolement du virus en culture cellulaire, la mise en évidence des antigènes viraux, la détection (et éventuellement la quantification) de l'ADN viral par PCR. Ce diagnostic direct permet aussi le typage du virus. Le diagnostic indirect ou sérologique repose sur la détection des anticorps sériques des classes IgM et IgG dirigés non spécifiquement contre les deux types de HSV. Plus récemment, cette approche diagnostique s'est enrichie de la détection spécifique des anticorps anti-HSV1 et anti-HSV2. Il serait inconcevable d'utiliser tous ces outils en même temps du fait de leur coût et il faut donc essayer de définir les indications optimales pour chacun d'entre eux en gardant à l'esprit les objectifs prioritaires du diagnostic virologique : infections graves ou potentiellement graves pour l'individu ou pour ses proches, intérêt pour la collectivité en termes de prévention, de traitement ou de connaissances médico-scientifiques. Le débat s'est notamment focalisé sur la place de la sérologie dans l'herpès génital.

D'une façon générale, devant un syndrome infectieux aigu évoquant une atteinte herpétique, le diagnostic direct doit être impérativement privilégié et un résultat positif obtenu par cette approche est suffisant. Ce n'est qu'en cas d'échec du diagnostic direct ou à distance de manifestations cliniques aiguës que se pose la question du recours au sérodiagnostic. L'interprétation de la présence d'anticorps sériques anti-HSV n'est en fait pas toujours aisée. La spécificité des tests utilisés est en général très bonne. En revanche, l'apparition des anticorps au cours de la primo-infection peut être décalée, les variations de titre d'anticorps ou la présence d'IgM chez des sujets déjà séropositifs ne sont pas spécifiques des récurrences cliniques, les anticorps détectés actuellement par les tests spécifiques de type souvent se limitent aux IgG et sont d'apparition tardive.

Des indications incontestables de la sérologie spécifique de type sont les études épidémiologiques : alors que le HSV1 est largement prévalent (70-80% dans la population adulte), la fréquence de l'infection à HSV2, transmis essentiellement par voie génitale, est moindre (15-30%) et s'est notablement modifiée au cours des dernière décennies, d'où l'intérêt de la surveiller. La reconnaissance d'une infection chronique à HSV chez une personne immunodéprimée ou en passe de l'être est aussi une indication formelle de la sérologie pour organiser au mieux la prévention des infections graves à HSV mais un test non spécifique suffit. Au cours d'une primo-infection (première infection à HSV) ou d'une primo-manifestation (première expression clinique d'une infection par l'autre type de HSV chez un sujet déjà HSV-séropositif), si le diagnostic direct est en échec, la sérologie contemporaine des signes cliniques peut donner une réponse pertinente : elle montre une séroconversion (ou, à défaut, une ascension significative des anticorps) vis-à-vis des HSV en précisant secondairement le type en cause grâce à un test spécifique.

Les autres indications, hors une période de manifestations cliniques, sont plus discutées. La reconnaissance d'un herpès génital à distance d'un épisode aigu, notamment au cours d'une grossesse, est pourtant une question essentielle pour la femme (enceinte) et/ou pour son partenaire. La sérologie HSV non spécifique a une grande valeur seulement si elle est négative. Une sérologie HSV2 positive est aussi évocatrice car ce virus est essentiellement de transmission génitale. En revanche, le nombre d'infections génitales à HSV1 augmentant actuellement de façon très significative, la valeur prédictive négative de la sérologie HSV2 est remise en question sans que la sérologie HSV1 soit d'une aide quelconque dans cette situation. Les mêmes incertitudes concernent l'utilisation systématique de la sérologie HSV2 chez les sujets infectés par le HIV. La complexité des algorithmes d'interprétation à construire aussi bien que les incertitudes sur l'efficacité des mesures de préventions qui découleraient des résultats restent des obstacles majeurs pour proposer des indications claires. Toute étude qui visera à clarifier ces points devra inclure une évaluation médico-économique pour préciser le rapport coût-efficacité de la sérologie HSV spécifique de type. Un fois encore, il faut insister sur le fait qu'un diagnostic direct positif une fois est suffisant pour affirmer l'infection herpétique, sa localisation, le type viral en cause et donner une information adaptée au patient concerné.

Références

Legoff J, Aymard M, Braig S, Ramel F, Dreno Brigitte, Bélec L, Malkin JE. Quelle place pour la sérologie herpétique dans l'herpès génital ? Presse Med 2008 ; 37:1251-60.

Ratnam S, Severini A, Zahariadis G, Metric M, Romanowski B. The diagnosis of genital herpes – beyond culture : an evidence-based guide for the utilization of polymerase chain reaction and herpes simplex virus type-specific serology. Can J Infect Dis Med Microbiol 2007 ; 18:233-40.

114/26SEP — 4 décembre 2008 - 16:00 - BORDEAUX

Evolution de la résistance chez *Staphylococcus aureus*

J.W. Decousser
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béclère (APHP), Clamart, France

Introduction : *Staphylococcus aureus* est une des principales bactéries responsables d'infections chez l'homme, qu'elles soient communautaires ou nosocomiales, superficielles ou profondes, bénignes ou potentiellement mortelles. *S.aureus* est également l'archétype du microorganisme acquérant des mécanismes de résistance aux antibiotiques au fur et à mesure de leur utilisation : béta-lactamines, aminosides, macrolides et apparentés, tétracyclines, fluoroquinolones et depuis peu glycopeptides. L'épidémiologie des infections à *S.aureus* est associée principalement à la transmission croisée et à la diffusion de clones, dont certains à l'échelle internationale. L'évolution de la sensibilité aux antimicrobiens chez cette bactérie est donc elle aussi associée à ce phénomène. La diffusion de certains de ces clones est exacerbée au sein de populations particulières, comme par exemple celle des patients hospitalisés. La juste appréciation de l'évolution des résistances nécessite d'en décliner les caractéristiques en fonction de l'origine de la population étudiée. De même, l'accumulation des résistances acquises est étroitement liée à l'évolution dans le temps et dans l'espace de clones présentant un marqueur de résistance particulièrement pertinent, comme par exemple la résistance à l'oxacilline. Là encore, il conviendra de décliner l'évolution des résistances acquises en fonction de l'existence initiale de ce marqueur de résistance. **Objectifs :** Devant la complexité de l'épidémiologie des infections à *S.aureus*, la diversité des réseaux de surveillance fédérés au sein de l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) permet de répondre aux 3 questions suivantes :

1 - Quelle est l'évolution de la sensibilité à l'oxacilline chez *S.aureus* en fonction de l'origine des souches étudiées ?

2 - En fonction de cette sensibilité aux béta-lactamines, comment a évolué la sensibilité aux autres classes d'antibiotiques, et plus particulièrement aux aminosides et fluoroquinolones ?

3 - Quelles grandes évolutions l'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques a-t-elle connue ces 10 dernières années, évolutions liées à la diffusion de certains clones dans des contextes cliniques particuliers ?

Matériels et méthodes. Les données évolutives des réseaux de l'ONERBA ont été étudiées (1). Une analyse statistique des tendances identifiées a été réalisée en utilisant le test du Chi 2.

Résultats : 1 - L'évolution de la sensibilité à l'oxacilline varie en fonction

de l'origine des patients sources et des prélèvements cliniques sources. Néanmoins une augmentation significative de la sensibilité à l'oxacilline tous prélèvements confondus a été notée, par exemple + 7,6% entre 2002 et 2007 pour le réseau du CCLIN Paris Nord et + 9,8% pour celui du CCLIN Sud Ouest entre 1997 et 2007. Cette augmentation de sensibilité est encore plus importante au sein des services de courts séjours : + 17,8% au sein des hôpitaux de court séjour de la Collégiale de Bactériologie Virologie Hygiène de l'APHP entre1993 et 2007 (60,6% vs 78,4%), alors que pour la même période et le même réseau le pourcentage au sein des hôpitaux de soins de suite et de réadaptation et de long séjour diminue (46,3% vs 31,1%). Au sein des services de court séjour, ce sont les services de réanimation (réseaux APHP et CCLIN Paris Nord) ou de chirurgie (CCLIN Sud Ouest) qui bénéficient le plus de cette tendance à l'amélioration de la sensibilité. Par ailleurs, l'analyse de l'évolution de la sensibilité à l'oxacilline en fonction de l'origine des souches montre des différences importantes, qui peuvent également varier entre les réseaux. Néanmoins, les souches provenant d'urines présentent un taux stable de sensibilité (APHP, CCLIN Sud Ouest, Réseau RF CLIN Franche Comté) alors que ce pourcentage augmente au sein des souches provenant de prélèvements respiratoires (APHP, CCLIN Sud Ouest). Concernant les souches isolées d'hémocultures et pour la même période 1997 – 2007, l'évolution vers la sensibilité à l'oxacilline est moins marquée (APHP, CCLIN Sud Ouest) voir non significative pour le réseau du Collège de Bactériologie – virologie Hygiène des Hôpitaux de France, mais avec un nombre de souche plus faible pour ce dernier réseau.

2 – L'évolution de la sensibilité aux autres classes d'antibiotiques n'est significative qu'au sein de la population des souches résistantes à l'oxacilline. Au sein des souches de *S.aureus* sensibles à l'oxacilline, la sensibilité aux autres familles d'antibiotiques reste stable au cours des années et supérieure à 90% (gentamicine, acide fusidique, rifampicine, fluoroquinolones, cotrimoxazole) (réseaux REUSSIR). Au sein des souches de *S.aureus* résistantes à l'oxacilline, une tendance à l'augmentation de la sensibilité aux autres familles d'antibiotiques est relevée au sein de différents réseaux. Cette augmentation de la proportion de souches de SARM sensibles aux autres antibiotiques est particulièrement importante pour les aminosides et plus particulièrement la gentamicine et la tobramycine (Réseaux CCLIN Paris Nord, ColBVH, Franche Comté, APHP). Globalement la sensibilité à la gentamicine dépasse, dans ces réseaux, les 80 à 90% des souches de SARM à partir de 2001 – 2002 alors qu'elle ne concernait que 60% des souches de SARM 5 ans plus tôt. Concernant la tobramycine, la proportion de souches de SARM sensible a doublé, passant de moins de 10% avant 2000 à plus de 20% en 2004. Une tendance similaire, bien que moins marquée, est notée pour la famille des fluoroquinolones : la proportion de SARM sensibles aux fluoroquinolones atteint voir dépasse dans certains réseaux les 10%. Cette tendance particulièrement importante d'un point de vue épidémiologique est à suivre dans les années à venir. Parmi les SARM, la sensibilité aux glycopeptides est constante hormis au début des années 2000, période pendant laquelle plusieurs réseaux ont noté une bouffée épidémique de souches de SARM de moindre sensibilité aux glycopeptides (GISA et hétéro-GISA).

3- L'épidémiologie de certaines infections à SARM est liée à la diffusion de clones particuliers. Comme rappelé précédemment, la prévalence des souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides a atteint en 2000 8% des souches de SARM responsables de bactériémies (ColBVH). Ces souches étaient toutes résistantes à la gentamicine et présentaient un phénotype de résistance bien particulier aux autres antibiotiques. En 2007, le même réseau a effectué la même étude avec la même méthodologie : ces souches avaient complètement disparu. Des études ciblant les infections de la peau et des tissus mous ont quant à elles cherché à évaluer la prévalence de certains clones, plus particulièrement ceux sécréteurs de la Leucodine de Panton Valentine. Ainsi le ColBVH a évalué en 2006 la prévalence du clone Européen de SARM communautaire ST80 à moins de 1% des souches de *S.aureus* responsables d'infections communautaires de la peau et des tissus mous. Deux enquêtes trans réseaux ont précisé la prévalence de ce clone en France (Cf. communication de J. Robert dans la même session). A côté de ces données plutôt rassurantes l'émergence d'un clone de SARM présentant un phénotype de résistance particulier et sécrétant la toxine du Choc Toxique Staphylococcique (TSST-1), à la fois au sein des souches isolées d'infections de la peau et des tissus mous (COLBVH 2006) et de bactériémies (COLBVH2007), est un phénomène potentiellement inquiétant. Là encore, l'enquête trans réseaux 2008 permettra d'approfondir nos connaissances sur ce phénomène.

Conclusions : L'épidémiologie de la résistance aux antibiotiques chez *S.aureus* est particulièrement complexe et variable selon les contextes. Les données récoltées par l'ensemble des réseaux de l'ONERBA permettent néanmoins d'établir certaines tendances: une augmentation significative de la sensibilité à l'oxacilline et de la sensibilité aux autres familles d'antibiotiques au sein des souches résistantes à l'oxacilline, une disparition des souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides et l'émergence possible d'un clone de SARM sensible aux fluoroquinolones et sécréteur de TSST-1.

(1) www.onerba.org

116/26SEP 4 décembre 2008 - 16:30 - BORDEAUX

Evolution de la résistance chez les entérobactéries

A. Mérens, J.Y. Madec, pour le conseil scientifique de l'ONERBA
Laboratoire de Microbiologie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

Les bacilles à Gram négatif de la famille des *Enterobacteriaceae* sont fréquemment responsables d'infections communautaires, principalement d'infections urinaires mais également d'infections intra-abdominales. Ils sont également largement impliqués dans les infections associées aux soins, qu'il s'agisse d'infections urinaires, de bactériémies, de pneumopathies nosocomiales ou d'infections du site opératoire. Lors de l'enquête nationale de prévalence 2006, ils représentaient près de 40% des microorganismes isolés dans les infections nosocomiales (IN) et *E. coli* était isolé dans un quart des IN, faisant de cette espèce la bactérie la plus fréquemment impliquée dans les IN. Ainsi, l'émergence de la résistance aux antibiotiques au sein de cette famille complique la prise en charge thérapeutique de nombreuses infections. Les deux phénomènes majeurs au niveau mondial en termes de santé publique sont l'émergence chez les entérobactéries de la résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) et aux fluoroquinolones, ainsi que l'apparition de souches multirésistantes, parfois même aux carbapénèmes. Chez les entérobactéries, la résistance aux bêta-lactamines est majoritairement liée à la production de bêta-lactamases, comme l'hyperexpression d'une céphalosporinase naturelle ou l'acquisition d'une bêtalactamase à spectre étendu (BLSE) ou plus récemment de céphalosporinase plasmidique. Cependant, à ce jour, le risque épidémiologique est représenté par les entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) en raison de leur potentiel de diffusion épidémique liée au transfert horizontal de ces gènes de support plasmidique. Les fluoroquinolones sont des antibiotiques largement prescrits pour le traitement des infections à bacilles à Gram négatif et l'émergence de la résistance aux quinolones, que ce soit par mutation des gènes codant les topoisomérases de type II, cibles des quinolones, par efflux ou par acquisition de gènes plasmidiques est également un problème d'actualité.

En France, les données de surveillance de l'épidémiologie de la résistance chez les entérobactéries obtenues au sein des réseaux de l'ONERBA sont robustes et variées (données en diamètres, classification SIR, souches de villes, souches hospitalières…) et contribuent à la surveillance de la résistance des entérobactéries en Europe au sein de l'EARSS. Ces données évolutives permettent de dégager depuis 10 ans les tendances majeures de la résistance des entérobactéries en France.

Les données du réseau REUSSIR, concernant plus de 30 000 souches de *E.coli* par an, isolées de tous types de prélèvements cliniques et regroupant des infections communautaires et nosocomiales, permettent de déterminer que l'évolution de la sensibilité de *E.coli* aux antibiotiques en France depuis 2000 est caractérisée par :

- une stabilité de la sensibilité à l'amoxicilline (53-55%), à l'amoxicilline-clavulanate (65-68%), à la gentamicine (96-98%) et au cotrimoxazole (78-79%).

- une diminution progressive de la sensibilité aux fluoroquinolones, qui passe de 95% en 2000 à 90% en 2005.

- une sensibilité au céfotaxime supérieure à 98% en 2005 mais en diminution depuis 2000 (100%).

Les mêmes éléments sont disponibles pour toutes les espèces d'entérobactéries, et les phénomènes majeurs à souligner depuis 2000 sont :

- le rétablissement progressif de la sensibilité aux antibiotiques de *E.aerogenes*, notamment lié à la diminution du pourcentage de BLSE isolées au sein de cette espèce. A titre d'exemple, en 1999, un tiers des *E.aerogenes* isolés au sein du C-CLIN Sud-Ouest étaient porteurs d'une BLSE, ils ne sont plus que 16% actuellement.

- La progression de la résistance chez *E.cloacae*, avec un taux de sensibilité au céfotaxime passant de 78% à 72% entre 2000 et 2005, à la ciprofloxacine de 87% à 80% et au cotrimoxazole 96% à 89%.

Cependant, pour être pertinentes en termes d'aide à la prescription, ces données globales doivent être complétées de données plus ciblées sur un site infectieux ou en fonction de l'origine d'acquisition de l'infection (communautaire ou nosocomiale). Un des éléments de référence dans la surveillance européenne est par exemple la sensibilité des souches de *E.coli* isolées au cours de bactériémies, qu'elles soient nosocomiales ou communautaires. Pour la France, ces données sont issues des réseaux AZAY, Ile-de-France et REUSSIR. Elles confirment pour *E.coli* la stabilité de la sensibilité à la gentamicine (94,6% en 2007), une tendance à la diminution de la sensibilité aux C3G (96,2% en 2007 versus 98,2% en 2001) et une baisse franche de la sensibilité à la ciprofloxacine (85,6% en 2007 versus 91% en 2001). Les données du réseau COL-BVH, disponibles depuis 1996 illustrent de manière encore plus nette cette chute de sensibilité aux fluoroquinolones pour les *E. coli* isolés de bactériémies (98% en 1996 versus 85% en 2007). Pour *Klebsiella pneumoniae*, dont les taux de sensibilité aux antibiotiques semblaient stables entre 2000 et 2005 (REUSSIR), on observe, au niveau des données françaises EARSS, une diminution de la sensibilité aux C3G et aux quinolones entre 2005 et 2007 (95,1% à 88,7% pour les C3G, 93% à 86,5% pour la ciprofloxacine). Ceci reflète probablement la nouvelle progression du pourcentage de BLSE au sein de cette espèce (C-CLIN Sud-Ouest).

Le deuxième site infectieux d'intérêt pour les entérobactéries est le tractus urinaire, avec comme problématique pratique le choix d'une antibiothérapie probabiliste pour le traitement des infections urinaires communautaires (IUC). Le réseau AFORCOPI-BIO conduit depuis plusieurs années des études multicentriques prospectives au sein de laboratoires de ville, ciblées sur la résistance de *E.coli* dans les IUC. Là encore, les mêmes tendances évolutives se dégagent depuis 2000. On observe tout d'abord une progression significative de la résistance à la ciprofloxacine, qui dépasse pour la première fois le seuil des 10% en 2007, tendance confirmée en 2008. Ces résistances concernent particulièrement les femmes de plus de 65 ans et les hommes. Chez la femme de 15 à 65 ans, le taux de la résistance à la ciprofloxacine reste bas (5% en 2007, 6,3% en 2008). Parmi les souches résistantes à l'acide nalidixique, les co-résistances sont plus fréquentes et seules les C3G et la fosfomycine conservent des taux de sensibilité supérieurs à 95%. Par ailleurs, on note l'émergence de souches de *E.coli* productrices de BLSE dans les IUC,

mais restant pour l'instant stable aux alentours de 1% des souches.

L'émergence des EBLSE en ville, rapportée dans plusieurs pays dans le monde est un point d'inquiétude majeur. Ces EBLSE semblent regrouper des souches de transmission communautaire suite à une acquisition nosocomiale, mais également des souches spécifiquement communautaires. Ceci a conduit l'ONERBA à mener en 2006 une enquête prospective trans-réseaux afin d'évaluer l'importance des EBLSE en ville. Sur un total de 6771 souches d'entérobactéries isolées de prélèvements cliniques variés dans des LABM, 72 étaient des EBLSE (1,1%), dont 67% appartenaient à l'espèce *E. coli*. Les enzymes de type CTX-M étaient les plus fréquemment retrouvées, loin devant les BLSE dérivées de TEM ou SHV, décrites initialement en 1983. Ces données reflètent le phénomène épidémiologique récent de diffusion pandémique des BLSE de type CTX-M, au sein des entérobactéries, particulièrement chez *E.coli*.

Les données de surveillance des bactéries multirésistantes (BMR) issues des C-CLIN ou du réseau REUSSIR illustrent également ce phénomène. La modification de la répartition des espèces au sein des EBLSE depuis 2000 est frappante. Alors que *E. coli* représentait 0,1% des BLSE en 1998, il représente à lui seul 52% des BLSE identifiées en 2007 au sein du C-CLIN Paris Nord. A l'inverse, *E.aerogenes* qui représentait 54,2% des BLSE isolées en 1998 (C-CLIN Paris Nord) et jusqu'à 69% en 2000 (REUSSIR) n'est plus retrouvé que dans 15% des EBLSE en 2007. Pour *Klebsiella pneumoniae*, après une nette diminution au début des années 2000, on observe une réascension progressive de sa représentation au sein des EBLSE.

Ces résistances aux antibiotiques semblent liées à la pression de sélection antibiotique s'exerçant sur les bactéries des flores humaines, mais aussi animales et environnementales. La diffusion de ces résistances est majorée par la remarquable efficacité des éléments génétiques mobiles et par la multiplicité des voyages internationaux. Les données récentes de la littérature mettent également en avant l'émergence concomittante de la résistance aux antibiotiques chez les animaux.

En France, des données sur la résistance aux antibiotiques des souches cliniques isolées chez les animaux sont également disponibles grâce au réseau RESAPATH. Ce réseau est membre de l'ONERBA depuis 1997 pour sa partie bovine, et depuis 2003 pour sa partie porcs et volailles. Depuis peu, il étend aussi sa surveillance aux animaux de compagnie. En 2008, le RESAPATH fédère 59 laboratoires dans 52 départements et collecte les données de résistance sur plus de 10 000 souches bactériennes par an. Les antibiotiques les plus employés en médecine vétérinaire (en tonnes/an) sont les tétracyclines et les sulfamides/triméthoprime. Chez les *E.coli* isolés d'animaux de rente, le pourcentage de souches sensibles à ces deux familles d'antibiotiques est de 15-20% et 35 à 60%, respectivement. La sensibilité de *E.coli* aux fluoroquinolones reste supérieure à 90% chez les porcs et volailles, mais peut descendre à 60-80% chez les bovins. Enfin, l'évolution de la résistance aux bêta-lactamines chez *E.coli* se caractérise par une proportion faible et constante de souches sensibles à l'amoxicilline (porc et volailles : 45%, bovins : 20%), mais surtout par l'émergence de souches possédant une BLSE (Girlich *et al*, Meunier *et al*, Madec *et al*), probablement en partie en lien avec l'usage de céphalosporines à large spectre. La prévalence d'animaux porteurs de *E.coli* BLSE en élevage (recherche sur milieux sélectifs) est estimée à 2-3% chez les bovins et à 10% chez les poulets (gènes CTX-M-1 essentiellement, également CTX-M-15). Les populations d'*E.coli* étaient non clonales. En 2006, plus de 98% des *E.coli* isolés au cours d'infections chez le porc et la volaille étaient sensibles au ceftiofur (céphalosporine de 3ème génération).

La résistance chez les entérobactéries animales montre ainsi souvent des évolutions parallèles de certains phénotypes entre médecine humaine et animale (BLSE et céphalosporinases, par exemple), soulignant fortement l'intérêt d'une surveillance conjointe des résistances chez l'homme et l'animal au sein de l'ONERBA.

Pitout JDD, Laupland KB (2008). Extended-spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae* : an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis*, **8 :** 159-166.
Girlich, D., Poirel, L., Carattoli, A., Kempf, I., Lartigue, M.-F., Bertini, A. and Nordmann, P. (2007) Extended-Spectrum beta-Lactamase CTX-M-1 in *Escherichia coli* Isolates from Healthy Poultry in France *Appl. Environ. Microbiol.*, **73**, 4681-4685

Madec, J.-Y., Lazizzera C., Châtre P., Martin S., Lepage G., Ménard M.-F., Lebreton P., Rambaud T. and Meunier D. (2008) Prevalence of Faecal Carriage of Acquired Third-Generation Cephalosporin Resistance in *Enterobacteriacae* from Cattle in France. *J. Clin. Microbiol.*, **46**, 4, (1566-1567).

Meunier, D., Jouy, E., Lazizzera, C., Kobisch, M. and Madec, J.-Y. (2006) CTX-M-1- and CTX-M-15-type beta-lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *International J. Antimicrobial Agents*, **28**, 402-407

117/26SEP 4 décembre 2008 - 16:45 - BORDEAUX

Evolution de la résistance chez les bacilles à Gram négatif non fermentants

X. Bertrand
Bactériologie-Hygiène-Parasitologie, CHU de Besançon, Besançon, France

Pseudomonas aeruginosa est responsable de 10% des infections nosocomiales dans les hôpitaux français (ENP 2006) et de 5 à 8% des bactériémies nosocomiales. Les services de soins intensifs sont des unités de forte endémicité pour cette bactérie qui tient une place prédominante dans les infections broncho-pulmonaires et, à un degré moindre, les infections urinaires, les infections du site opératoire et les bactériémies. Les données recueillies par les réseaux affiliés à l'ONERBA montrent que le niveau de sensibilité de *P.aeruginosa* aux anti-pyocyaniques est stable entre 1998 et 2006, et qu'une amélioration de la sensibilité a même été observé pour certains antibiotiques. Le pourcentage de sensibilité "moyen" était de 60% pour la ticarcilline, 70% pour la ciprofloxacine, 80% pour l'association pipéracilline- tazobactam, et pour l'imipénème, 85% pour l'amikacine et la ceftazidime. Toutefois les données sont variables en fonction des établissements et du type d'activité. En 2007, le conseil scientifique de l'ONERBA a donc décidé de faire le point sur les données de résistance chez *P.aeruginosa* et de réaliser une enquête nationale pour évaluer la diffusion des BLSE et des carbapénèmases. L'enquête trans-réseau 2007 avait pour objectif principal d'évaluer, sur un échantillon représentatif des hôpitaux français, la fréquence des souches de *P.aeruginosa* productrices de BLSE et de carbapénémases. Les objectifs secondaires était d'identifier les enzymes impliquées, de déterminer leur fréquence relative et d'identifier d'éventuelles sous-populations de patients à risque. L'étude s'est déroulée au cours du mois de Juin 2007, tous les établissements faisant partie d'un réseau affilié à l'ONERBA ont été sollicités pour participer à l'étude. La détection des BLSE et des carbapénémases par des techniques bactériologiques de routine est difficile. Nos critères ont été basés sur des critères d'efficacité clinique des antibiotiques. Nous ne mesurons donc pas la prévalence globale des BLSE et carbapénémases dans l'espèce, mais la prévalence au sein des souches dont la prise en charge thérapeutique est compliquée. Ont été inclues toutes les souches isolées de prélèvement à visée diagnostique (prélèvement de dépistage ou d'environnement exclus) de patient en hospitalisation complète (une seule souche par patient) résistantes à la ceftazidime selon les critères du CA-SFM (diamètre d'inhibition de la ceftazidime est inférieur ou égal à 8 mm ou CMI > 32 mg/L). Quatre vingt cinq établissements (dont 21 CHU) ont participé à l'enquête pour un total de 58 000 lits d'hospitalisation complète. Deux mille deux cent cinq souches de *P.aeruginosa* ont été isolées de prélèvements à visée diagnostique dans les hôpitaux participants au cours du mois de Juin 2007. Cent soixante dix-huit souches (8%) ont été identifiées comme résistantes à la ceftazidime et envoyées au centre coordonnateur parmi lesquelles 143 (6,5% de l'ensemble des souches de *P.aeruginosa* isolés) ont été confirmées comme résistantes à la ceftazidime selon les critères du CA-SFM. La réalisation de l'antibiogramme en milieu liquide était associée à une sur-estimation de la résistance à la ceftazidime : le taux de faux positif était de 20% dans cette technique et de 3% pour la détermination de la sensibilité aux antibiotiques en milieu solide. L'incidence moyenne des patients colonisés/infectés par une souche de *P.aeruginosa* résistante à la ceftazidime était de 0,1 pour 1000 journées d'hospitalisation. Elle variait de 0 à 0,73 en fonction des établissements (de 0 à 0,43 pour les CHU). La fréquence de la résistance à la ceftazidime au sein de l'espèce variait de 0 à 66% (de 0 à 15% pour les CHU). Cent quarante deux des 143 souches étudiées étaient productrices d'une céphalosporinase déréprimée de type AmpC.

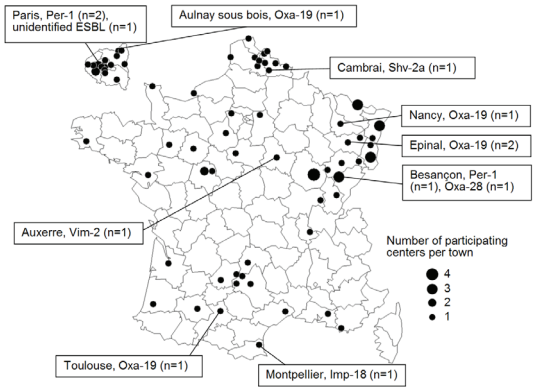
Au total, 11 souches produisaient une BLSE, soit 7,7% de l'ensemble des souches résistantes à la ceftazidime et 0,5% de l'ensemble des souches de *P.aeruginosa* isolées au cours de l'étude (Figure 1). La distribution des BLSE était la suivante : 6 oxacillinases (1 OXA- 28, 5 OXA-19), 2 PER-1, 1 SHV2a et 1 non identifiée. Seulement 2 carbapénémases ont été identifiée (1 VIM-2 et 1 IMP-18) et représentait 0,1% de l'ensemble des souches de *P.aeruginosa* isolées au cours de l'étude. Le site pulmonaire représentait le premier site d'isolement (40%) et le site urinaire, le second (24%). Le génotypage des souches démontre une grande diversité clonale à l'exception de quelques souches pour lesquelles une transmission croisée entre patients est évidente. A titre d'exemple, une même souche produisant une BLSE de type OXA-19 a été isolée chez 3 patients dans deux établissements différents d'une même région. Les données de cette étude suggèrent que l'incidence de la résistance à la ceftazidime est faible et qu'elle varie de façon importante en fonction des hôpitaux. Les incidences les plus élevées étant observées dans des établissements de l'est de la France. Cette résistance est principalement liée à la production de céplalosporinase déréprimée. La production de BLSE ou de carbapénémase chez *P.aeruginosa* demeure peu fréquente dans les hôpitaux français, moins de 1% de l'ensemble des souches.

Acinetobacter baumannii est principalement impliquée dans des épidémies en réanimation ou chez des patients immunodéprimés et soumis à une forte pression de sélection par les antibiotiques. Cette espèce est le premier pathogène responsable d'infections nosocomiales en réanimation dans certains pays du pourtour méditerranéen, mais de seulement 1,7% des infections nosocomiales dans les services de réanimation français (Réa-RAISIN).

Les données recueillies par les réseaux affiliés à l'ONERBA suggèrent que le niveau de sensibilité de *A. baumannii* est globalement stable et préoccupant entre 2000 et 2007. Le pourcentage de sensibilité "moyen" était de 40% pour la ceftazidime et la ciprofloxacine, 60% pour la gentamicine, 75% pour l'association pipéracilline- tazobactam, 80% pour l'amikacine, 90 à 100% pour l'imipénème. Toutefois les données sont variables en fonction des établissements, de la région et du type d'activité. La description récente d'épidémies de souches productrices de b-lactamases à spectre étendu (BLSE) ou de souches résistantes à l'ensemble des b-lactamines, y compris l'imipénème est inquiétante. Ainsi, entre 2003 et 2005, une épidémie d'*A.baumannii* productrice de BLSE de type VEB-1 principalement localisée dans le nord de la France a entraîné une alerte qui a permis de maîtriser la diffusion de la souche épidémique. Les données 2004-2007 du réseau CCLIN Sud-Ouest démontrent que 40% des souches sont multi-résistantes et que la sensibilité à l'imipénème est inférieure à 90%. Cette dernière observation est liée à la diffusion de souches productrices d'oxacillinases à activité carbapénémase (principalement OXA-23 et OXA-58).

La description de souches épidémiques pan-résistantes de *P.aeruginosa* et *A. baumannii*, par production de b-lactamases acquises, justifie une surveillance attentive de ces micro-organismes.

Figure : Carte rapportant les 85 hôpitaux participants et la localisation des souches de *P.aeruginosa* productrices de BLSE ou de **MBL (Juin 2007).**



119/27s — 4 décembre 2008 - 16:00 - HAVANE

Le portage nasal à *S.aureus* : épidémiologie et caractéristiques microbiologiques

A. Tristan
Centre National de Référence des Staphylocoques, Inserm U851, IFR128, Université Claude Bernard Lyon 1, Hospices Civils de Lyon, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Institut de Microbiologie, Laboratoire de Bactériologie, Bron, France

Les infections à *S.aureus* posent un problème de santé publique du fait de leur fréquence et de leur gravité, tant par la virulence de la bactérie que par l'émergence de souches multirésistantes aux antibiotiques, notamment à la méticilline, voire aux glycopeptides. Ces infections entraînent, de plus, un accroissement de la durée et du coût de l'hospitalisation. En raison du nombre d'infections, une stratégie de prévention des infections à *S.aureus* devient primordiale. Le portage nasal joue un rôle essentiel dans l'épidémiologie et la pathogénie de ces infections. Les patients porteurs de *S.aureus* ont un risque accru d'acquisition d'une infection par ce pathogène. Le nez est la principale niche écologique de *S aureus*, mais les déterminants intervenant dans la colonisation nasale sont incomplètement compris. Si l'éradication du portage nasal permet de prévenir l'infection chez certaines catégories de patients comme, par exemple, les patients en hémodialyse ou de chirurgie générale, de récents essais cliniques randomisés n'ont pas permis de démontrer l'efficacité de cette éradication dans la survenue d'une infection notamment chez des patients d'orthopédie. Il convient d'élucider les mécanismes de ce portage nasal afin de développer de nouvelles stratégies de prévention. Nous allons présenter un aperçu de l'état actuel des connaissances des déterminants à la fois humains et bactériens et des risques du portage nasal à *S.aureus*.

Épidémiologie : La colonisation par *S.aureus*, chez l'homme se fait rapidement - dès les premières semaines de la vie, plus de 70% des nouveau-nés sont porteurs de *S.aureus* - puis qu'elle fluctue au cours de la vie (environ 45% au cours de 8 premières semaines, 21% à 6 mois). La transition entre ce portage permanent de l'enfance et le portage adulte (porteur, non porteur ou porteur-intermittent), s'effectue à l'adolescence (1). Chez l'adulte, les fosses antérieures du nez constituent la niche écologique principale de *S.aureus* ; il peut également être isolé au niveau de la peau et du périnée.

La plupart des auteurs donnent 20-30% comme valeur de référence du portage nasal de *S.aureus* dans la population générale. Cette valeur est, le plus souvent, calculée à partir d'un seul prélèvement effectué chez des sujets sains : elle mesure simplement une prévalence. Des prélèvements répétés chez les mêmes malades pendant plusieurs mois, permettent de distinguer trois types de portages différents. Trente pourcent (16-70%) de la population est porteuse de différentes souches de *S.aureus* avec une fréquence variable. Il s'agit des porteurs dits occasionnels ou intermittents. Cinquante pourcent (16-69%) de la population ne sont jamais porteurs. Enfin, approximativement 20% des individus sont dits "porteurs permanents". Le terme de "porteur permanent" doit être réservé à une fraction de la population, toujours colonisée par la même souche sur une période de plusieurs mois, voire plusieurs années. Le portage permanent est retrouvé aussi bien chez les enfants que chez les adultes avec une modification des souches retrouvées au niveau du nez à l'adolescence (2). Les raisons de ces différences de portage ne sont pas connues. Le portage permanent constituerait une barrière à la colonisation par d'autres souches (3). Ainsi, l'acquisition et la transmission de nouvelles souches de *S.aureus* ne concerneraient que les porteurs intermittents.

Les bases moléculaires du portage : L'acquisition et le portage de *S.aureus* par l'adulte sont des phénomènes complexes liés à l'hôte et à la bactérie. Les prérequis pour le portage nasal sont : un contact entre le nez et *S.aureus*, l'adhésion de *S.aureus* à sa niche nasale, l'échappement aux défenses de l'hôte et enfin la capacité de prolifération de *S.aureus*.

Les facteurs liés à la bactérie : Pour adhérer, les cellules bactériennes interagissent avec des cellules épithéliales nasales pour éviter leur élimination rapide par des mécanismes physico-chimiques. Deux mécanismes d'adhésion ont été proposés : un spécifique, avec la synthèse par la bactérie de molécules d'adhésion (adhésines), et un non spécifique, médié par des forces physico-chimiques incluant des liaisons hydrophobes ; il est plus probable qu'ils soient tous les deux associés. L'adhésion de *S.aureus* est liée à l'hydrophobicité de la surface bactérienne et aux protéines de surface faisant partie du groupe des *microbial surface component recognizing adhesive matrix molecules* (M.S.C.R.A.M.M.) permettant la fixation de *S.aureus* sur les cellules de l'hôte et sur la matrice extra-cellulaire. Ainsi, le rôle du clumping factor B a été clairement établi récemment dans un modèle humain de colonisation nasale (4).

Les facteurs liés à l'hôte : Si les cellules de l'épithélium nasal semblent avoir une affinité particulière pour le *S.aureus,* il y aurait de nombreux facteurs prédisposants dépendants de l'hôte : des facteurs génétiques tels que la race, le type HLA (notamment DR3 mais ceci est controversé), le sexe et l'âge, le statut hormonal de la femme, le statut immunitaire, l'hospitalisation et l'état général du patient (2).

De plus, un fort portage a été rapporté au sein de certaines populations comme les hémodialysés, les patients sous dialyse péritonéale continue en ambulatoire, les diabétiques (surtout insulinodépendants), les malades atteints de déficits immunitaires (notamment les sujets VIH positifs), les patients atteints d'arthrite rhumatoïde, les patients allergiques en désensibilisation. De même, la prise de drogue par voie intraveineuse, l'hospitalisation et les conditions de travail sont des facteurs environnementaux associés au portage nasal (2).

Par ailleurs, les glycoprotéines et les protéoglycanes de surface des cellules eucaryotes contribuent à l'adhésion bactérienne. Il y a une importante hétérogénéité au sein des cellules nasales dans la participation à l'adhérence des bactéries. Les staphylocoques adhèrent beaucoup mieux aux cellules recouvertes de mucine qu'à celles qui ne sont pas recouvertes de tels hydrates de carbone (5). D'autres substances ont été retrouvées au niveau du tractus respiratoire : immunoglobulines A sécrétoires, glycolipides qui pourraient constituer des récepteurs pour les staphylocoques (6). Enfin, il a été montré récemment que l'adhésion de *S.aureus* était facilitée au niveau des cellules bronchiques de malades atteints de mucoviscidose (7).

Risques

Dans la communauté : Il y a encore quelques années, dans la communauté, 80% (42-100%) des patients présentant des infections cutanées (furoncles, sycosis) étaient porteurs de *S.aureus* au niveau nasal et chez 65% (29-88%), la même souche était retrouvée au niveau du nez et de la lésion cutanée. Malgré l'émergence dans le monde des SARM communautaires, le portage nasal à SARM-C semble demeurer relativement faible malgré la diffusion mondiale des clones de SARM-C (2).

A l'hôpital : Il semble acquis que 80% des infections staphylococciques à l'hôpital sont dues à la contamination endogène des patients donc une infection due à leur propre souche. Le portage nasal a été défini comme facteur de risque d'infection nosocomiale chez les patients de chirurgie thoracique, orthopédique mais aussi d'hémodialyse, en dialyse péritonéale, les patients cirrhotiques ou greffés hépatiques, les patients VIH+ ou hospitalisés en soins intensifs. Le risque d'avoir une bactériémie nosocomiale est multiplié par trois si le patient est porteur. En revanche, il a été montré que la mortalité d'une bactériémie à *S.aureus* était multiplié par un facteur 4 entre un patient non porteur et un patient porteur. La transmission croisée (par le personnel notamment) joue également un rôle important dans le cadre de l'acquisition des infections nosocomiales à *S.aureus* (2).

Au total, le portage étant multifactoriel, beaucoup de mécanismes restent à élucider avant de pouvoir éradiquer le portage des porteurs et de prévenir le portage des non-porteurs afin de limiter les risques d'infections.

1. Lebon A, Labout J, Verbrugh H, Jaddoe V, Hofman A, Van Wamel W, et al. Dynamics and Determinants of *Staphylococcus aureus* Carriage in Infancy. The Generation R Study. J Clin Microbiol. 2008 Jul 30:17.

2. Wertheim H, Melles D, Vos M, Vanleeuwen W, Vanbelkum A, Verbrugh H, et al. The role of nasal carriage in infections. The Lancet Infectious Diseases. 2005 Dec 1;5(12):751-62.

3. Nouwen JL, Ott A, Kluytmans-Vandenbergh MF, Boelens HA, Hofman A, Van Belkum A, et al. Predicting the *Staphylococcus aureus* nasal carrier state: derivation and validation of a "culture rule". Clin Infect Dis. 2004 Sep 15;39(6):806-11.

4. Wertheim H, Walsh E, Choudhurry R, Melles D, Boelens H, Miajlovic H, et al. Key Role for Clumping Factor B in *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization of Humans. PLoS Med. 2008 Jan 1;5(1):e17.

5. Shuter J, Hatcher VB, Lowy FD. *Staphylococcus aureus* binding to human nasal mucin. Infect Immun. 1996 Jan;64(1):310-8.

6. Biesbrock AR, Reddy MS, Levine MJ. Interaction of a salivary mucin-secretory immunoglobulin A complex with mucosal pathogens. Infect Immun. 1991 Oct;59(10):3492-7.

7. Mongodin E, Bajolet O, Cutrona J, Bonnet N, Dupuit F, Puchelle E, et al. Fibronectin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* are involved in adherence to human airway epithelium. Infect Immun. 2002 Feb;70(2):620-30.

121/27s — 4 décembre 2008 - 16:50 - HAVANE

Faut-il dépister le portage nasal de *Staphylococcus aureus* avant d'implanter une prothèse orthopédique ?

P. Berthelot[2-1], F. Grattard[1], C. Cazorla[2], B. Pozzetto[1], F. Lucht[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Unité d'hygiène inter-hospitalière, Service des Maladies Infectieuses, CHU de Saint-Etienne, France

La prévalence de l'infection nosocomiale chez le malade implanté de prothèse totale de hanche (PTH), ou de prothèse totale de genou (PTG) est de 1 à 4% (1). Ces infections sont dues dans 60% des cas, au moins, à des

staphylocoques, dont 50% de *Staphylococcus aureus*, surtout lorsqu'il s'agit d'infection précoce (2). En France, sont implantées environ 150 000 prothèses, 2/3 au niveau de la hanche et 1/3 au niveau du genou. L'infection nosocomiale concernerait entre 2 et 5000 personnes/an. Le coût d'une prothèse totale de hanche est estimé en Europe à 8500 €, et lorsque la prothèse est infectée, son coût serait multiplié par 10 (2). En outre, la mortalité est estimée entre 2.7 et 18% (3).

Le portage nasal de *S.aureus,* observé chez 15 à 40% de la population générale (4), constitue un facteur de risque d'infection nosocomiale à ce germe, mais deux hypothèses restent possibles :

- soit le portage nasal est le point de départ de la bactérie vers la peau de l'opéré puis le site opératoire,

- soit le patient a une susceptibilité particulière à ce germe, dont le point de départ serait exogène, et les souches de *S.aureus* isolées au niveau nasal seraient alors vraisemblablement différentes de celles isolées dans le site opératoire.

Parmi les autres facteurs de risques retrouvés, il faut citer les autres infections nosocomiales n'impliquant pas la prothèse, un score de NNIS de 1 ou 2, la présence d'une tumeur maligne, ainsi qu'un antécédent de prothèse articulaire (3).

Chez les patients qui vont développer une Infection de Site Opératoire (ISO) à ce germe, toute chirurgie confondue, la probabilité de retrouver *S.aureus* au niveau nasal est estimée entre 40 et 100% (4-6). Il a été montré dans le domaine de la chirurgie cardio-thoracique que ce portage était un facteur de risque d'ISO à ce germe (7). Des faits similaires ont été retrouvés, lors d'infections sur cathéters de dialyse, chez les patients en dialyse péritonéale continue, et sur cathéters veineux chez les patients en hémodialyse (8,9). Ce portage est traité par l'application nasale de mupirocine (antibiotique local), ce qui réduit la fréquence des infections nosocomiales à *S.aureus* sur cathéters.

Dans le domaine de la chirurgie orthopédique, Lidwell et coll. (10), dans un travail déjà ancien (1983), faisant appel à la technique de lysotypie, technique beaucoup moins discriminante que l'électrophorèse en champ pulsé (11), montraient que les souches de *S.aureus* isolées lors de prélèvements nasaux, avant pose de prothèse articulaire, avaient dans 50% des cas, le même antibiotype et le même lysotype que les souches isolées lors d'ISO. Une étude prospective récente, analysant une cohorte de 272 patients a montré, en analyse multivariée, que le portage nasal de S.au*reus* était le seul facteur de risque indépendant associé avec les ISO à ce germe en chirurgie orthopédique (12), mais il s'agit d'une étude comportant un très petit effectif, monocentrique et ne faisant pas non plus appel à l'électrophorèse en champ pulsé.

La seule preuve formelle actuellement que le portage nasal de *S.aureus* est bien la source d'infections à ce germe, est l'étude de Von Eiff (13) sur les bactériémies, grâce à l'utilisation du génotypage des souches.

Certaines études, utilisant notamment des témoins historiques, suggèrent que l'application nasale de mupirocine, avant chirurgie prothétique orthopédique, pourrait diminuer le risque d'ISO à ce germe (14-16).

De juin 2003 à décembre 2006 a été conduite dans 17 centres en France, dans le cadre du Projet national de Recherche Hospitalier Clinique, une étude observationnelle multicentrique (DEPISTAPH) ayant pour objectif d'évaluer le portage nasal à *S.aureus* comme facteur de risque de survenue d'ISO à ce germe en chirurgie orthopédique sur matériel orthopédique. Le nez de chaque patient consécutif a été prélevé à l'entrée, un mois après la chirurgie et un suivi post-opératoire a été réalisé pendant 1 an à la recherche d'ISO. Les paires de souches de *S.aureus* isolées d'ISO et du nez ont été comparées par électrophorèse en champ pulsé. Des analyses uni et multivariées ont été conduites pour identifier les facteurs de risque d'ISO en investiguant tout particulièrement le rôle du portage nasal de *S.aureus*. Parmi 3949 patients, 79 ont développé une ISO (2%) dont 24 dues à *S.aureus* (0,6%). Cette bactérie a été isolé dans le nez de 988 patients (25,0%): 10,9% avaient 2 prélèvements nasaux positifs, 10,2% avaient un prélèvement positif et un négatif et 3.6% avaient un prélèvement positif (mais un seul prélèvement obtenu). Avec l'hypothèse du biais maximum, parmi les 24 infections dues à *S.aureus*, 2/3 des souches isolées d'ISO n'étaient pas reliées aux prélèvements nasaux. Les 2 analyses multivariées réalisées ne retrouvaient pas le portage nasal de *S.aureus* comme facteur de risque indépendant d'ISO (globalement et spécifiquement dues à cette bactérie) : article soumis. Ces résultats ne sont pas en accord avec d'autres études en milieu chirurgical (thoracique, général) ou concernant les bactériémies et l'hémodialyse mais il est possible que le risque lié à *S.aureus* ne soit pas le même en chirurgie selon la présence ou non de matériel étranger. De plus, la colonisation nasale est dynamique dans le temps et pour le cas de matériel implanté le risque n'est pas limité uniquement à la période péri-opératoire. Dans l'étude DEPISTAPH, un patient colonisé à *S.aureus* sensible à la méticilline au moment de la chirurgie a fait une infection post-opératoire quelques mois après avec une souche de *S.aureus* résistante à la méticilline retrouvée au niveau des selles. Cet exemple illustre que la colonisation du patient peut varier dans le temps probablement par pression de colonisation ou par sélection antibiotique et montre également que d'autres sites peuvent être colonisés par *S.aureus*.

A notre connaissance, aucune étude randomisée (17) n'a montré en chirurgie orthopédique le bénéfice d'un traitement local de la colonisation nasale par *S.aureus*. Une étude récente dans un hôpital suisse évaluant une stratégie de screening par test rapide à la recherche de *S.aureus* résistant à la méticilline n'a pas montré de bénéfice en termes de réduction d'infections nosocomiales dues à cette bactérie (18).

Une part des ISO en chirurgie orthopédique est liée au portage nasal de *S.aureus*. Mais les modes de contamination du matériel étranger par *S.aureus* restent mal connus ce qui peut expliquer l'échec des stratégies visant à éradiquer le portage nasal du patient par *S.aureus* en chirurgie orthopédique. Actuellement les recommandations de dépistage nasal de *S.aureus* sont celles de la conférence de consensus sur la gestion pré-opératoire du risque infectieux (19) : « Le dépistage nasal du SARM est recommandé chez les patients devant bénéficier d'une chirurgie cardiaque ou orthopédique programmée, et venant de réanimation, de structure de long et moyen séjour ou en cas de lésions cutanées chroniques (B-2). »

Références :

(1) Brause BD. Prosthetic joint infections. Curr Opin Rheumatol. 1989 ;1 :194-8.

(2) Ziza JM, Desplaces N, Léonard P, Mamoudy P. Infections sur prothèse articulaire. *Rev Med Interne* 1997 ; 18 (suppl 5) : 431s-434s.

(3) Berbari EF, Hanssen AD, Duffy MC, Steckellberg JM, Illstrup DM, Harmsen WS, and Osmon DR. Risk factors for prosthetic joint infection : case-control study. *Clin Infect Dis* 1998; 27: 1247-54.

(4) Kluytmans J, Van Belkum A, Verbrugh H. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* : epidemiology, underlying mechanisms, and associated risks. *Clin Microbiol Rev* 1997 ; 10 : 505-520.

(5) Weinstein HJ. The relation between the nasal staphylococcal-carrier state and the incidence of post-operative complications. *N Engl J Med* 1959 ; 260 : 1303-10.

(6) Calia FM, Wolinsky E, Mortimer JR, Abrams JS, Rammelkamp CH. Importance of the carrier state as a source of *Staphylococcus aureus* in wound sepsis. J Hyg Camb 1969 ; 67 : 49-57.

(7) Kluytmans J, Mouton JW, Ijzerman EPF et al. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* as a major risk factor for wound infections after cardiac surgery. *J Infect Dis* 1995 ;171 :216-217.

(8) Yu VL, Goetz A, Wagenre M *et al. Staphylococcus aureus* nasal carriage and infection in patients on hemodialysis. *N Engl J Med* 1986 ;315 :91-96.

(9) Kirmani N, Tuazon CU, Murray HW, Parrish AE, Sheagren JN. *Staphylococcus aureus* carriage rate of patients receiving long-term hemodialysis. Arch Intern Med. 1978 ;138 : 1657-59.

(10) Lidwell OM, Lowbury EJ, Whyte W, Blowers R, Stanley SJ, Lowe D. Bacteria isolated from deep joint sepsis after operation for total hip or knee replacement and the sources of the infections with *Staphylococcus aureus*. *J Hosp Infect* 1983 ; 4(1) : 19-29

(11) F. Grattard. Electrophorèse en champ pulsé. In : Bactériologie médicale - Freney et col. ESKA, 2000, Paris.

(12) Kalmeijer MD, Van Nieuwland-Bollen E, Bogaers-Hofman D, de Baere GA. Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is a major risk factor for surgical-site infections in orthopedic surgery. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2000 ; 21 (5) : 319-23

(13) Von Eiff C, Becker K, Machka K, Stammer H, Peters G and the study group. Nasal carriage as a source of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *N Engl J Med* 2001 ; 344 : 11-6.

(14) Gernaat-van der Sluis AJ, Hoogenboom-Verdegaal AM, Edixhoven PJ, Spies-van Rooijen. Prophylactic mupirocin could reduce orthopedic wound infections. 1,044 patients treated with mupirocin compared with 1,260 historical controls. Acta Orthop Scand 1998;69:412-14

(15) Rao N, Cannella B, Crossett LS, et al. A preoperative decolonization protocol for *Staphylococcus aureus* prevents orthopedic infections. Clin Orthop Relat Res. 2008;466:1343-48

(16) Hacek DM, Robb WJ, Paule SM,*et al. Staphylococcus aureus* nasal decolonization in joint replacement surgery reduces infection. Clin Orhtop Relat Res. 2008;466:1349-55

(17) Kalmeijer MD, Coertjens H, Kamp-Hopmans TE, et al. Surgical site infections in orthopaedic surgery: the effect of mupirocin nasal ointment in a double-blind, randomized, placebo-controlled study. Clin Infect Dis 2002;35:353-58.

(18) Harbath S, Fankhauser C, Schrenzel J, et al. Universal screening for Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* at hospital admission and nosocomial infection in surgical patients. JAMA 2008;299:1149-57.

(19) http://www.sfhh.net/telechargement/cc_risqueinfectieux_court.pdf

123/28s — 4 décembre 2008 - 16:25 - 341

La genèse de tissus lymphoïdes induite par les bactéries commensales régule l'homéostasie intestinale

G. Eberl

Institut Pasteur, Laboratoire du Développement des Tissus Lymphoïdes ; CNRS, URA1961, Paris, France

L'homéostasie intestinale est nécesssaire à la digestion ainsi qu'à la protection contre les pathogènes. Sa rupture peut mener à une série de maladie grave dont le coût social est très elevé, telle que les maladies inflammatoires chroniques de l'intestin qui se caractérisent par une immunité intestinale auto-destructive. Néanmoins, les mécanismes qui régulent l'équilibre entre l'énorme flore intestinale et le système immunitaire restent mal compris. Les tissus lymphoïdes intestinaux génèrent des lymphocytes B produisant les immunoglobulines A spécifiques à la flore, des tissus qui incluent les plaques de Peyer, les ganglions mésentériques, ainsi que de nombreux follicules lymphoïdes isolés (ILFs) (1, 2). Nous avons montré que des peptidoglycanes dérivés de la paroi de bactéries Gram-négative sont nécessaires et suffisants à la genèse des ILFs grâce à leur reconnaissance par le récepteur inné NOD-1 présent dans les cellules épithéliales, et à la signalisation induite par la b-défensine 3 et la chémokine CCL20 via le récepteur CCR6 (3). La maturation

des ILFs en follicules constitués de lymphocytes B requiert en outre la détection des bactéries par une série de récepteurs innés du type toll-like. En l'absence des ILFs, la composition de la flore intestinale est profondément altérée, un changement qui pourrait prédisposer l'individu à une mauvaise régulation de l'inflammation. En termes plus généraux, nos expériences démontrent que les bactéries commensales de l'intestin et le système immunitaire communiquent par un système de détection inné afin de générer des tissus lymphoïdes adaptatifs et de maintenir l'homéostasie intestinale.

Les tissus lymphoïdes secondaires, tels ques les ganglions lymphatiques et les plaques de Peyer, se développent au sein de l'environnement stérile du fœtus et sont induits par les cellules inductrices de tissus lymphoïdes (LTi) (4). Après la naissance, des centaines de petits amas de cellules similaires aux cellules LTi, appelés cryptoplaques, se forment entre les cryptes dans la lamina propria intestinales (5). Durant la colonisation bactérienne, plusieurs expériences indiquent que les cryptoplaques recrutent des lymphocytes B et se développent en ILFs (6, 7), récapitulant ainsi le développement fœtal des ganglions lymphatiques et des plaques de Peyer (8). Néanmoins, contrairement au développement programmé des ganglions et des plaques de Peyer, la formation des ILFs est induite par la flore intestinale (1, 9). De plus, dans des souris portant une flore bactérienne étendue du fait qu'elles ne sont pas capables de produire des immunoglobulines A, les ILFs sont anormalement gros et nombreux (10). Comme les ILFs sont de nature inductible et réversible, nous avons suggéré que ces tissus lymphoïdes jouent un rôle essentiel dans l'équilibre entre la flore intestinale et le système immunitaire (8). Notre découverte que des peptidoglycanes relargués par les bactéries commensales Gram-négatives induisent la genèse des ILFs nous permet d'envisager des traitements contre les maladies inflammatoires et infectieuses de l'intestin basés sur le rétablissement de l'homéostasie intestinale rompue dans ces conditions, à l'aide de probiotiques ou de leurs dérivés commes les peptidoglycanes.

Références

1. Hamada, H., T. Hiroi, Y. Nishiyama, H. Takahashi, Y. Masunaga, S. Hachimura, S. Kaminogawa, H. Takahashi-Iwanaga, T. Iwanaga, H. Kiyono, H. Yamamoto, and H. Ishikawa. 2002. Identification of multiple isolated lymphoid follicles on the antimesenteric wall of the mouse small intestine. *J Immunol* 168:57-64.

2. Tsuji, M., K. Suzuki, H. Kitamura, M. Maruya, K. Kinoshita, Ivanov, II, K. Itoh, D.R. Littman, and S. Fagarasan. 2008. Requirement for lymphoid tissue-inducer cells in isolated follicle formation and T cell-independent immunoglobulin a generation in the gut. *Immunity* 29:261-271.

3. Bouskra, D., C. Brezillon, M. Berard, C. Werts, R. Varona, I. Gomperts Boneca, and G. Eberl. 2008. Lymphoid tissue genesis induced by bacterial commensals regulates intestinal homeostasis. *Nature, in press.* 10.1038/nature07450.

4. Mebius, R.E. 2003. Organogenesis of lymphoid tissues. *Nat Rev Immunol* 3:292-303.

5. Kanamori, Y., K. Ishimaru, M. Nanno, K. Maki, K. Ikuta, H. Nariuchi, and H. Ishikawa. 1996. Identification of novel lymphoid tissues in murine intestinal mucosa where clusters of c-kit$^+$ IL-7R$^+$ Thy1$^+$ lympho-hemopoietic progenitors develop. *J Exp Med* 184:1449-1459.

6. Pabst, O., H. Herbrand, T. Worbs, M. Friedrichsen, S. Yan, M.W. Hoffmann, H. Korner, G. Bernhardt, R. Pabst, and R. Forster. 2005. Cryptopatches and isolated lymphoid follicles: dynamic lymphoid tissues dispensable for the generation of intraepithelial lymphocytes. *Eur J Immunol* 35:98-107.

7. Eberl, G., and D.R. Littman. 2004. Thymic origin of intestinal ab T cells revealed by fate mapping of RORgt$^+$ cells. *Science* 305:248-251.

8. Eberl, G. 2005. Inducible lymphoid tissues in the adult gut: recapitulation of a fetal developmental pathway? *Nat Rev Immunol* 5:413-420.

9. Pabst, O., H. Herbrand, M. Friedrichsen, S. Velaga, M. Dorsch, G. Berhardt, T. Worbs, A.J. Macpherson, and R. Forster. 2006. Adaptation of solitary intestinal lymphoid tissue in response to microbiota and chemokine receptor CCR7 signaling. *J Immunol* 177:6824-6832.

10. Fagarasan, S., M. Muramatsu, K. Suzuki, H. Nagaoka, H. Hiai, and T. Honjo. 2002. Critical roles of activation-induced cytidine deaminase in the homeostasis of gut flora. *Science* 298:1424-1427.

125/29s 4 décembre 2008 - 16:00 - 342 A

Mon chien peut-il me rendre malade ?

S. Le Poder

UMR Virologie 1161 INRA-AFSSA-ENVA, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons-Alfort, France

Avec environ 8,1 millions de chiens, la France est au 5ème rang des pays d'Europe en terme de population canine. 25% des foyers en abritent au moins un. Une population stable depuis quelques années, alors que le nombre de chats est en augmentation (25,9%). Si de nombreux bienfaits sont associés à leur présence au sein de la cellule familiale, l'une des contreparties est l'éventuelle possibilité de transmissions de maladies. Le risque zoonotique favorisé par la promiscuité, peut être important, en particulier pour les personnes à risque telles que les enfants, les femmes enceintes, les personnes âgées ou immunodéprimées. Nous présenterons ici les principales zoonoses (bactériennes, virales ou parasitaires) transmises par le chien en les classant selon leur mode de contamination et aborderons les mesures sanitaires qui peuvent être envisagées pour éviter la transmission de ces maladies.

Infections consécutives à une morsure : Les chiens sont responsables de près de 80% des plaies de morsures occasionnées à l'homme par des animaux et, dans plus de 70% des cas, ces personnes sont mordues par leur propre animal ou celui d'un proche. Nous limiterons ici notre exposé à 2 principales maladies : la pasteurellose, et la rage.

La pasteurellose est l'infection la plus couramment observée suite à une morsure par un chien.

Elle est due à des bactéries du genre *Pasteurella* naturellement présente dans la cavité buccale du chien avec une fréquence d'isolement pouvant atteindre 14% pour *P. multocida* et 68% pour *P. stomatis*, cette dernière espèce n'étant en fait que faiblement pathogène. Chez le chien, ces infections peuvent être responsables de troubles respiratoires mais restent le plus souvent asymptomatiques. Deux formes cliniques sont décrites chez l'homme, la pasteurellose d'inoculation qui est de loin la plus fréquente et la pasteurellose systémique. La mise en place précocement d'un traitement antibiotique permet généralement chez un sujet non-immunodéprimé une rapide régression des symptômes.

La rage est une encéphalomyélite mortelle due à un virus de la famille des *Rhabdoviridae* qui peut être transmise par morsure de chiens infectés entre autres. La France est indemne de rage mais la vigilance reste de mise face aux possibilités de cas d'importation (importation d'un cas de rage canine en provenance du Maroc au cours de l'année 2007). La prévention de cette zoonose fait l'objet d'une réglementation particulière et passe notamment par la mise sous surveillance chez un vétérinaire des animaux mordeurs.

Infections zoonotiques transmises par des agents entéropathogènes : De nombreux agents éliminés dans les matières fécales des chiens peuvent être responsables d'infections zoonotiques. Certains pathogènes tels que les bactéries du genre salmonelle ou campylobacter se transmettent par contact direct entre le chien et l'homme. D'autres agents pathogènes nécessitent une maturation en dehors de l'hôte avant d'être infectieux. C'est le cas des parasites responsables de la toxocarose. La transmission humaine est alors surtout due à une contamination de l'environnement plutôt qu'un contact direct avec un chien infecté.

Ces infections sont le plus souvent inapparentes chez le chien ou parfois responsables de troubles digestifs. Quant à la toxocarose humaine elle est souvent asymptomatique et diagnostiquée lors du bilan d'une hyperéosinophilie.

Infections zoonotiques transmises par des urines infectées : cas de la Leptospirose : La leptospirose est une maladie due à des spirochètes du genre *Leptospira*. L'agent zoonotique*, Leptospira interrogans*, est divisé en plus de 23 sérogroupes, eux-mêmes subdivisés en plus de 220 sérovars. La leptospirose canine revêt des aspects cliniques polymorphes avec des formes classiques d'évolution aiguë (ictère hémorragique, gastroentérite hémorragique) ou des formes subaiguës. La vaccination du chien se fait actuellement avec des vaccins bivalents associant *Icterohaemorrhagiae* et *Canicola*. L'animal peut éliminer la bactérie dans toutes ses sécrétions et excrétions au cours de la phase septicémique et dans ses urines en phase tardive, mais le risque de transmission est limité par l'impossibilité de survie des leptospires en milieu acide. La contamination nécessite donc un contact direct d'une plaie avec les urines par exemple.

Infections zoonotiques transmises par des agents ayant un tropisme cutané : La teigne est une maladie cutanée essentiellement due au champignon *Microsporum canis*.

Elle se révèle surtout chez le chiot par des plaques rondes à bord net, dépilées par cassures des poils et peut s'accompagner de lésions croûteuses et suppurantes. Chez l'homme les symptômes sont les mêmes, souvent accompagnés de ganglions et de douleurs. La transmission peut se faire par simple contact d'un animal infecté.

Infections zoonotiques transmises par des arthropodes : Nous évoquerons ici deux zoonoses présentes en France pour lesquelles le chien peut jouer le rôle de réservoir. Il s'agit de la borréliose de Lyme et de la leishmaniose.

En Europe, au moins trois espèces de Borrelia sont associées à la maladie de Lyme chez l'homme et le chien *: Borrelia burgdoferi* sensu stricto, *Borrelia garinii* et *Borrelia afzelii*.

L'agent pathogène, quelle que soit l'espèce, est transmis par une tique du genre *Ixodes*. Bien qu'il n'y ait pas de transmission directe de l'infection du chien à l'homme, l'animal peut être porteur de tiques infectées non fixées pouvant ensuite passer sur l'homme. Le tableau clinique chez le chien se caractérise, après une phase d'incubation de 2 à 5 mois, par un épisode fébrile avec anorexie, apathie et plus tardivement des signes d'arthrite. En France, 10 à 30% des chiens, selon les régions seraient séropositifs. Du fait du mode de transmission, la prophylaxie sanitaire chez le chien repose sur l'utilisation de produits antitiques. Il est possible aussi de vacciner les chiens mais l'efficacité de ces vaccins est controversée car non clairement établie.

La leishmaniose est une maladie parasitaire due à Leishmania infantum. Elle est transmise par des phlébotomes et sévit surtout dans le Sud-Est de la France. Dans cette région, 12% des chiens sont séropositifs et environ la moitié des animaux infectés développent de symptômes cliniques avec troubles cutanés, troubles articulaires et plus rarement des lésions rénales et oculaires. Comme pour la maladie de Lyme, il n'y a pas de transmission directe entre l'animal et l'homme mais le chien est un réservoir de ce parasite.

Mesures sanitaires préventives : Parmi les mesures prophylactiques, il est important de rappeler les règles d'hygiène fondamentales que sont le lavage des mains par exemple, mais aussi quelques règles d'éducation canine afin d'éviter des comportements à risque. Enfin, la vermifugation des animaux, en particulier des jeunes et le contrôle des ectoparasites sont un complément indispensable à la prévention des zoonoses précédemment citées.

Principales références bibliographiques :

G. Baneth, et al. Canine leishmaniosis-new concepts and insights on an expanding zoonosis : part one. 2008. Trends Parasitol. 324-330.

H.J. Boulouis et al. Comment diagnostiquer et prévenir la maladie de Lyme chez le chien et le chat. 2006. Nouv. Prat. Vét. 65-68.

J.P. Ganière et al. Zoonoses infectieuses d'origine canine et féline. 2001. Méd. Mal. Infect. 109-125.

Westgarth et al. Dog-human and dog-dog interactions of 260 dog-owning jouseholds in a community in Cheshire. 2008. Vet. Rec. 436-442.

126/29s — 4 décembre 2008 - 16:20 - 342 A

Risque zoonotique de l'hépatite E : est-ce le lard ou le cochon ?

N. Pavio, C. Renou, M. Eloit
UMR Virologie 1161 AFSSA LERPAZ, ENVA, INRA, Maisons-Alfort, France

Introduction : Le virus de l'hépatite E (VHE) est responsable d'épidémies d'hépatites virales entéro-transmissibles dans de nombreux pays d'Asie et d'Afrique. Dans la plupart des cas, une hépatite aiguë cliniquement comparable à l'hépatite A est observée, mais dans 1 à 2% des cas, l'infection conduit à une hépatite fulminante fatale. Ce taux de mortalité pourrait atteindre 25% chez la femme enceinte dans les régions d'endémie. Au cours des épidémies, le VHE est essentiellement transmis par la consommation d'eau contaminée ou d'aliments souillés (1).

Le VHE est également responsable d'hépatites sporadiques dans des régions non endémiques comme les USA, l'Europe et le Japon. Dans la majorité des cas les voies de contamination restent à ce jour inconnues. Contrairement aux autres virus des hépatites, l'homme n'est pas le seul hôte naturel de ce virus et sa multiplication chez de nombreuses espèces animales, et plus particulièrement chez le porc, suggère qu'il s'agit d'un agent zoonotique. Plusieurs cas de transmission directe du VHE de l'animal à l'homme ont été recensés au Japon, après la consommation de denrées peu ou insuffisamment cuites, contaminées par le VHE (viande de cerf sous forme de sushi, barbecue de sanglier ou de foie de porc grillé ou cru) (2-3).

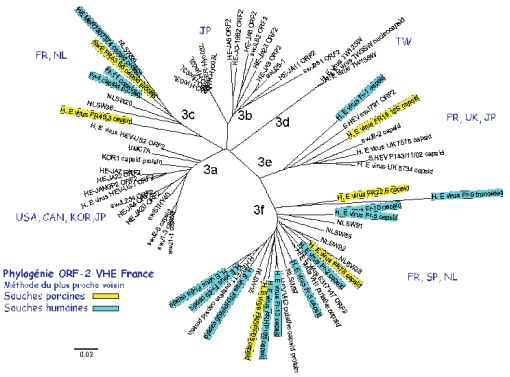
Il existe quatre génotypes de VHE (de 1 à 4) divisés en 24 sous-types (4). Les quatre génotypes de VHE ont des répartitions géographiques distinctes en fonction de l'endémicité de la maladie. Dans les régions endémiques, les génotypes 1 et 2 sont présents chez l'homme et les génotypes 3 et 4 dans le réservoir animal. Dans les régions de cas sporadiques autochtones, les génotypes 3 ou 4 sont à la fois responsables de cas d'hépatite aiguë chez l'homme et présents dans le réservoir animal.

En France, deux études montrent que la prévalence sérologique du VHE chez les donneurs de sang est variable, allant de 3,2% à 16% selon les régions de France étudiées. Un Centre National de Référence (CNR) VHE a été créé en 2002 à l'hôpital du Val de Grâce sous la direction du Dr E. Nicand. Le CNR recense chaque année, en plus des cas importés, entre 40 et 50 cas d'hépatite E autochtones, non liés à un voyage en région d'endémie. Le génotype impliqué est le type 3 qui correspond aux souches dites « européennes » et plus particulièrement les sous-types 3c, 3e et 3f. En 2007, le CNR a rapporté une forte augmentation du nombre de cas avec 97 hépatites E aiguës dont une hépatite fulminante (http://www.cnr.vha-vhe.aphp.fr). D'autre part, l'InVS s'intéresse à cette maladie et a constitué un groupe de travail hépatite E dont le but principal est de proposer la déclaration obligatoire de cette hépatite qui est actuellement en cours d'instruction par le HCSP.

Objectifs des travaux réalisés dans l'UMR de virologie : Dans ce contexte, le groupe Hépatite E a pour objectif de caractériser le réservoir animal du VHE en France et de déterminer s'il pourrait être à l'origine des cas humains. Cet objectif se décline selon 4 axes : 1) épidémiologie du VHE chez le porc domestique. 2) développement d'outils de diagnostic sérologique adapté au génotype 3. 3) développement de modèle d'infection in vitro par le VHE. 4) enquêtes environnementale et animale associées aux cas humains.

Résultats : *Epidémiologie du VHE chez le porc* :

En collaboration avec plusieurs partenaires dont l'AFSSA et le Cemagref, une enquête sérologique sur plus 1500 sérums issus de 51 élevages différents a été conduite afin d'estimer les niveaux de séroprévalence à l'échelle des troupeaux et des individus. Les résultats obtenus montrent que 73% (37/51) des élevages présentaient au moins 1 animal positif. La prévalence moyenne intra élevage est estimée à 25% mais avec une grande variabilité puisque de 2-3% à 80% d'animaux avaient une sérologie positive. Des campagnes de prélèvement de lisier ont également été organisées dans 7 élevages afin d'isoler les séquences de VHE circulant dans le réservoir porcin. Les sous-types 3c, 3e et 3f ont été trouvés comme dans les cas humains. Le niveau de contamination a été estimé par RT-PCR en temps réel et de 1 10^5 à 5 10^6 copies d'ARN viral sont trouvées par gramme de lisier brut. Pour un des échantillons la présence de l'ARN viral a été corrélée à la présence de virus infectieux par inoculation chez le porc. La proximité génétique des souches humaines et porcines (appartenant aux mêmes sous-types 3c, 3e et 3f, figure ci-dessous) suggère que des contaminations croisées puissent avoir lieu entre ces deux hôtes et/ou qu'ils puissent se contaminer à partir d'un réservoir commun. Enfin, la présence de VHE dans le lisier souligne le caractère à risque de l'épandage de ce dernier dans l'environnement.



Enquêtes environnementale et animale associées aux cas humains.

En étroite collaboration avec le CNR Hépatite E et le réseau de l'ANGH (Association Nationale des Hôpitaux Généraux) des investigations environnementales et animales liées aux cas d'hépatite aiguë confirmés (IgM anti-VHE positif, enzymes hépatiques > 10 fois les valeurs normales, augmentation du titre IgG et/ou ARN positif) on été menées. Différents types de prélèvements (eau, coquillages, sanglier, ovin, caprin) en relation avec ces cas avérés d'hépatite E ont été traités. L'analyse de ces matrices variées nous a amenés à développer et valider différentes techniques de concentration, purification et amplification de l'ARN du VHE [RT-PCR conventionnelle et quantitative (en collaboration avec Sandra Blaise, VAE AFSSA LERQAP)]. C'est dans le cadre de ces investigations de terrain que la contamination probable d'un patient par contact direct avec son animal de compagnie, un cochon nain domestique chez qui des séquences de VHE ont été isolées, a pu être mise en évidence (Renou et al 2007). D'autre part, nous avons contribué, toujours par la recherche de l'ARN du VHE dans différentes matrices, à une enquête réalisée par l'ANGH sur les cas d'hépatite E survenus en France entre 2004 et 2007 (Renou et al 2008). Les résultats ont montrés qu'une proportion importante de 90% (47/52) des cas étaient autochtones et donc non liés à un voyage en région d'endémie. Un gradient croissant du nombre de cas est observé du nord (15% des cas) vers le sud (85% des cas). Paradoxalement, ce gradient est inversement proportionnel à celui de la densité des élevages de porcs français. Plusieurs cas groupés ont été observés dans les régions de Toulouse et de Hyères. Pour chaque cas, un questionnaire permettant d'identifier des facteurs de risques associés à la survenue d'une hépatite E a été complété. Ce questionnaire était axé sur les habitudes alimentaires (porc, coquillages, …), le contact avec les animaux domestiques ou sauvages ou la consommation d'eau de puits privés. Ces travaux ont permis de montré que peu de facteurs de risque sont communs aux différents cas observés qu'ils soient isolés ou regroupé, avec toute fois pour plusieurs cas la consommation direct ou indirect (arrosage) d'eau provenant d'un puits privé.

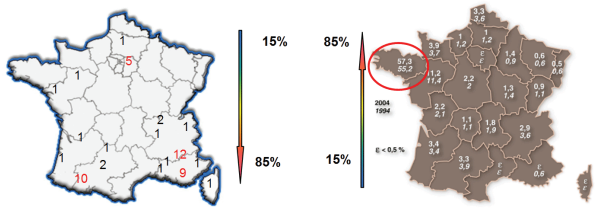


Figure 2 : (Gauche) : répartition géographique des cas d'hépatite E recensés par l'ANGH de 2004 à 2007. (Droite) : Répartition (%) de la Production de porcs par Région, d'après l'IFIP.

Par conséquent cela suggère que les voies de contamination par le VHE sont très certainement multiples et restent encore à identifier.

Au vu de l'augmentation récente du nombre de cas sur le territoire français, il est possible que l'hépatite E autochtone puisse être une maladie émergente. Toutefois, ce constat est à modéré par une recherche plus fréquente de la maladie depuis 2007 et donc une meilleure identification des cas.

Le réservoir porcin largement contaminé (près de 80% des troupeaux), associé à la proximité génétique des souches humaines et animales, permet de suggérer que le VHE franchit la barrière d'espèce. La présence de virus infectieux dans les effluents d'élevages suggère que ceux-ci représentent un mode potentiel de contamination pour l'homme, mais à ce jour, cette voie n'a pas été confirmée. Le contact direct avec des animaux est un facteur de risque avéré avec une séroprévalence élevée chez les personnels vétérinaires et d'abattoir (26% contre 3 à 5% dans la population générale). Parmi les cas recensés en France, il n'y a pas eu de lien direct démontré avec l'alimentation comme au Japon, mais cette voie potentielle de contamination reste possible. En effet, deux équipes ont montré la présence de virus infectieux dans des foies de porc commercialisés (5). Il est donc envisageable que certaines préparations à base de viande de porc ne faisant pas intervenir d'étape de cuisson, comme les salaisons (fumage), puissent représenter un risque de contamination pour le consommateur.

1. Purcell RH, Emerson SU. Hepatitis E: an emerging awareness of an old disease. J Hepatol. 2008 Mar; 48 (3):494-503.

2. Tei, S., N. Kitajima, K. Takahashi & S. Mishiro: Zoonotic transmission of hepatitis E virus from deer to human beings. Lancet, 362, 371-3(2003)

3. Masuda, J., K. Yano, Y. Tamada, Y. Takii, M. Ito, K. Omagari & S. Kohno: Acute hepatitis E of a man who consumed wild boar meat prior to the onset of

illness in Nagasaki, Japan. Hepatol Res, 31, 178-83 (2005)

4- Lu, L., C. Li, and C.H. Hagedorn, Phylogenetic analysis of global hepatitis E virus sequences: genetic diversity, subtypes and zoonosis. Rev Med Virol, 2006. 16(1): p. 5-36.

5- Feagins AR, Opriessnig T, Guenette DK, Halbur PG, Meng XJ. Detection and characterization of infectious Hepatitis E virus from commercial pig livers sold in local grocery stores in the USA. J Gen Virol. 2007 Mar;88:912-7.

127/29s — 4 décembre 2008 - 16:40 - 342 A

Emergence d'une zoonose issue de la faune sauvage ? Evolution de la tularémie en France

A. Mailles[3], N. Madani[2], M. Maurin[1], B. Garin-Bastuji[2]
[1]*Centre national de référence de la tularémie, Service de bactériologie, CHU Michalon, Grenoble* [2]*Laboratoire national de référence de la tularémie animale, Unité Zoonoses Bactériennes, AFSSA, Maisons-Alfort* [3]*Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France*

La tularémie est une zoonose bactérienne cosmopolite de gravité en général modérée en Europe. En effet, les infections dues au biovar rencontré en Europe, *Francisella tularensis holartica* ou biovar B, sont réputées s'accompagner d'une mortalité inférieure à 1% en l'absence de traitement.

Malgré des recherches nombreuses, la ou les espèces animales réservoirs de la maladie n'ont pas été clairement identifiées. En revanche, il est établi que plusieurs centaines d'espèces sont réceptives ou sensibles à l'infection, dans des familles et ordres zoologiques très divers, avec des variations régionales importantes.

La susceptibilité des espèces à l'infection est également très variable, de l'infection quasi inapparente chez les carnivores (chien, chat), à la mort quasi systématique chez les lagomorphes (lièvres, lapins de garenne). Cette variabilité se retrouve chez les vecteurs arthropodes de la maladie : l'infection est durable chez les tiques et s'accompagne d'une multiplication et d'une transmission ovarienne, alors qu'elle est de courte durée et ne donne pas lieu à un cycle de transmission chez les tabanidés (taons).

De cette multiplicité d'espèces sensibles découlent des facteurs de risque d'infection humaine également variables selon les régions considérées : piqûres de moustiques en Suède, de taons en Russie, contacts directs avec des mammifères sauvages dans l'Ouest américain mais morsures de tiques dans le centre du continent, activités de jardinage dans plusieurs foyers européens et étasuniens, etc.

Plusieurs hypothèses ont été évoquées pour expliquer le cycle de *F. tularensis* dans l'environnement et de la maladie à la lumière de ces données : cycle aquatiques et cycle terrestre de la maladie, variation cyclique des populations de rongeurs et lagomorphes à l'origine des contaminations humaines, partitions des rongeurs entre espèces peu sensibles, véritables réservoir, et espèces plus sensibles qui ne constitueraient qu'un relai pour l'homme, déplacement par l'homme de lagomorphes infectés d'un pays à l'autre pour la chasse, etc. Aucune ne peut expliquer à elle seule de manière satisfaisante l'évolution de l'infection et de la maladie dans les populations animales ou humaines.

A l'échelle européenne, des épidémies de tularémie humaine survenues depuis plusieurs années ont conduit à envisager une recrudescence récente de la maladie humaine à l'échelle du continent (Kosovo et Suède en 2000, Allemagne en 2004 et Espagne en 2007).

En France, la tularémie a été ré-inscrite sur la liste des maladies à déclaration obligatoire fin 2002 dans le cadre du plan Biotox. De 2003 à 2006, une moyenne de 22 cas étaient notifiés par an, tous infectés *via* la manipulation de gibier (dépeçage ou éviscération de lièvres, plus rarement de chevreuils) ou une morsure de tique. L'année 2007 a vu une augmentation du nombre de cas déclarés (47 cas notifiés) qui s'est poursuivie au cours de l'année 2008. Au total, si on s'intéresse à la date de début des signes cliniques des patients, 138 cas de tularémie ont été recensés entre le 1er janvier 2007 et le 1er novembre 2008. Parmi eux, 12 patients appartenaient à 2 clusters, contaminés pour l'un en Espagne lors de l'épidémie de l'été 2007, et pour l'autre en Aveyron lors d'un repas familial.

Les 126 autres patients étaient des cas sporadiques pour lesquels aucune source commune ou lien n'ont pu être retrouvés. Le pic d'incidence a été enregistré entre novembre 2007 et mars 2008. Ces patients étaient âgés de 2 à 94 ans (moyenne 50 ans) et 44 (35%) étaient des femmes. Ils résidaient dans 42 départements, principalement en zone rurale, dans l'Ouest de la France, le Sud Ouest, la région Rhône Alpes et le quart Nord Est. Dix patients (8%) ont présenté une forme pleuro-pulmonaire au cours de cette période (contre 2 patients de 2002 à 2006). Un patient est décédé.

Parmi les facteurs de risque classiques, 52 (41%) patients rapportaient la manipulation de lièvres, 17 (13%) des contacts avec d'autres animaux sensibles à la tularémie, 19 (15%) une morsure de tique et 14 (11%) de possibles expositions professionnelles. Pour 24 patients (19%), aucune exposition à risque classique n'était retrouvée par l'interrogatoire et tous avaient des activités exercées en zone rurale (jardinage, loisirs en forêts, etc).

La tularémie animale fait l'objet d'une surveillance non spécifique *via* la surveillance de la mortalité globale de la faune sauvage, et d'une surveillance volontaire et non exhaustive *via* la recherche de la bactérie sur des rates de lièvres trouvés morts ou mourants dans leur milieu naturel. Cette surveillance, bien que non exhaustive, permet de dégager des tendances de la maladie dans cette espèce. La recrudescence observée chez l'homme a été observée également chez le lièvre à la même période : ainsi, après la mise en évidence d'environ 20 cas annuels pendant plusieurs années, 47 cas de tularémie ont été enregistrés chez des lièvres en 2007 et 48 cas en 2008 (données disponibles au 30/08/08). Cette augmentation est d'autant plus significative qu'une diminution globale de la taille de la population des lièvres est évoquée en France actuellement.

A l'approche de l'hiver 2008/2009, l'épisode humain semble en voie de diminution voire terminé. Le maintien de la surveillance pourra confirmer cette tendance dans les mois à venir et indiquer si cette augmentation était ponctuelle ou correspond à une tendance durable ou à l'amorce d'un cycle naturel évoqué dans la littérature mais jamais démontré.

En parallèle, des projets de surveillance plus spécifique sont en cours de développement afin de mieux appréhender la situation dans la faune sauvage.

Références

Allue M, Sopeña CR, Gallardo MT, Mateos L, Vian E, Garcia MJ, Ramos J, Berjon AC, Viña MC, Garcia MP, Yanez J, Gonzalez LC, Munoz T, Andres C, Tamames S, Ruiz C, Iglesias LA, Castrodeza J.Tularaemia outbreak in Castilla y León, Spain, 2007: an update.Euro Surveill. 2008 Aug 7;13(32). pii: 18948

Bell JF, Stewart SJ. Chronic shedding tularemia nephritis in rodents: possible relation to occurrence of Francisella tularensis in lotic waters.

J Wildl Dis. 1975 Jul;11(3):421-30.

Eliasson H, Bäck E.Tularaemia in an emergent area in Sweden: an analysis of 234 cases in five years. Scand J Infect Dis. 2007;39(10):880-9.

Hornfeld B. Synchronous population fluctuations in voles, small game, owls, and tularemia in northern Sweden. Oecologia 1978;32:141-52.

Mailles A, Lebourg A, Alazard N, Pelloux I, Maurin M, Chauveau P. Épisodes de cas groupés de tularémie, Aveyron 2008 et Castille 2007. Médecine et maladies infectieuses 2008;38,suppl.2 :S179

Mörner T, Sandström G, Mattsson R, Nilsson PO. Infections with Francisella tularensis biovar palaearctica in hares (Lepus timidus, Lepus europaeus) from Sweden. J Wildl Dis. 1988 Jul;24(3):422-33.

Mörner T. The ecology of tularaemia.Rev Sci Tech. 1992 Dec;11(4):1123-30. Review.

Palo TR, Ahlm C, Tarnvik A. Climate variability reveals complex events for tularaemia dynamics in man and mammals. Ecology and Society 2005;10(1):22-30

Splettstoesser WD, Piechotowski I, Buckendahl A, Frangoulidis D, Kaysser P, Kratzer W, Kimmig P, Seibold E, Brockmann SO. Tularemia in Germany: the tip of the iceberg? Epidemiol Infect. 2008 Sep 23:1-8.

Tärnvik A, Priebe HS, Grunow R. Tularaemia in Europe: an epidemiological overview. Scand J Infect Dis. 2004;36(5):350-5.

128/29s — 4 décembre 2008 - 17:00 - 342 A

La rage, les médias et la communication : entre indifférence, panique et cacophonie…

Z. Lardon[2-4], L. Watier[2-4-6], A. Brunet[2-4], C. Bernède[2-4], M. Goudal[3], L. Dacheux[5], Y. Rotivel[3], D. Guillemot[2-3-6-1], H. Bourhy[5]
P[1]*Service de Médecine Aiguë, AP-HP, Hôpital Raymond Poincaré, Garches* [2]*Inserm U657* [3]*Institut Pasteur, Centre antirabique, Centre national de référence pour la rage, Centre médical de l'Institut Pasteur* [4]*Institut Pasteur, PhEMI* [5]*Institut Pasteur, UPRE, Dynamique des Lyssavirus et Adaptation à l'Hôte, Centre national de réference pour la rage, Paris* [6]*Faculté de Médecine Paris Ile-de-France Ouest, Université de Versailles, Saint-Quentin, France*

Contexte : En France, la rage est considérée comme une maladie du passé depuis l'éradication de cette maladie chez le renard en 2001. Toutefois, le risque lié à cette maladie existe toujours, en raison notamment d'introductions illégales d'animaux infectés sur le territoire à partir de zones d'enzootie. Entre 2000 et 2005, 5 cas d'importations de rage animale ont ainsi été observés, tous en provenance du Maroc.

L'épisode le plus marquant est celui d'un chien enragé en Aquitaine en 2004, nommé Tikki. Cet animal avait beaucoup circulé en Aquitaine dans les festivals de la région au cours de sa période d'excrétion virale, et une alerte européenne avait dû être lancée. Cet évènement a eu une résonance particulière du fait de son importante couverture médiatique, à l'initiative des tutelles sanitaires afin de retrouver tous les contacts potentiels de l'animal. 54 articles ont été ainsi été publiés sur le sujet dans 3 quotidiens nationaux (Le Figaro, Le Monde, Libération) dans les 4 mois qui ont suivi le diagnostic de rage.

Objectif : Il est reconnu qu'au cours d'une épidémie, les medias jouent un rôle important comme lien entre les autorités et le public, mais qu'ils peuvent conduire à une sur-fréquentation de population considérable vers les services de soin, et perturber leur fonctionnement.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'impact des différents épisodes rabiques sur les services de prise en charge médicale entre 2000 et 2005, afin de comparer les crises qui ont été médiatisées et celles qui ne l'ont pas été.

Méthode : Une analyse en séries temporelles hebdomadaires a été réalisée à partir des données centralisées par le Centre National de Référence de la Rage à l'Institut Pasteur concernant les consultants des centres de traitement anti-rabique (CAR).

Les variables considérées sont le nombre de consultants, le nombre de traitements post- exposition initiés, le taux de vaccinations post-exposition initiées, et le taux de sérothérapies initiées. Les séries temporelles ont été indexées sur la date d'exposition et sur la date de consultation du patient.

Des modèles de prévision ARMA (Auto Regressive Moving Average) nous ont permis d'estimer pour chaque épisode la sur-fréquentation des CAR

attribuable à l'alerte, ainsi que le nombre de traitements anti-rabiques supplémentaires. Les effets potentiels à plus long terme des alertes ont été recherchés en explorant des modifications de niveau moyen des séries grâce à des modèles d'intervention.

Résultats / discussion : L'étude des séries chronologiques du nombre de consultants dans les centres anti-rabiques (CAR) de 2000 à 2005 permet d'observer une augmentation particulièrement importante et durable au cours de l'alerte Tikki de l'été 2004. Les cas de rage canine précédents, non médiatisés, n'ont en revanche pas particulièrement affecté l'activité des centres anti-rabiques à l'échelle nationale.

La sur-fréquentation des CAR attribuable à la crise Tikki en 2004 a été estimée à 3053 individus. Il s'est accompagné logiquement d'une augmentation du nombre de traitements post-exposition estimée à 2532 vaccinations. En outre, les pratiques de traitements semblent avoir été modifiées avec cette crise, puisque les proportions de vaccinations post-exposition et de sérothérapies ont augmenté pendant l'alerte. Ce phénomène s'est maintenu en 2005.

Un examen spécifique du cas d'importation de l'été 2004 a mis en évidence que cet épisode a eu un impact différent sur la population selon l'éloignement par rapport au cas. Nous avons comparé les périodes de survenue des pics de consultation en CAR, les pics d'expositions notifiées et les pics de médiatisation au cours de l'alerte Tikki dans 3 régions de France. La première zone, à l'est, a connu la rage vulpine, la seconde ne l'a pas connu, et la troisième correspond à la région Aquitaine, où a circulé l'animal pendant sa période d'excrétion virale.

Les pics de consultation ont eu lieu au même moment sur l'ensemble du territoire, et parallèlement au pic de médiatisation. Pour la troisième zone, les expositions qui ont motivé ces consultations datent de la période à laquelle Tikki était excréteur. En revanche, sur le reste du territoire, les expositions ayant donné lieu au pic de consultation se sont produites après la mort de l'animal, et ne présentent donc pas de lien épidémiologique avec le cas. Il semblerait que la médiatisation de cet événement ait sensibilisé la population au risque rabique que pouvait constituer une morsure, bien que le virus soit absent de leur région.

La décision de médiatisation intense de l'alerte de 2004 avait pour but de retrouver tous les contacts de l'animal. Aucun cas secondaire n'a été détecté, et l'objectif des gestionnaires a donc été atteint. Toutefois, l'emballement médiatique consécutif qui a eu lieu a pu majorer les déclarations d'expositions et le nombre de traitements administrés. En conséquence, cette crise a présenté un risque de saturation des services de prise en charge en termes de ressources humaines, mais également de rupture des stocks de produits pharmaceutiques, et ce au niveau des CAR comme au niveau industriel. Une autorisation de mise sur le marché temporaire a d'ailleurs dû être demandée pour assurer les approvisionnements en vaccin. Ces éléments devraient être envisagés à l'avenir par les gestionnaires de risque lors de la définition de leur stratégie de communication, ceci afin de préparer les services de soins.

Quelques références

Blendon R.J., Benson J.M., DesRoches C.M., Raleigh E., Taylor-Clark K. The Public's Response to Severe Acute Respiratory Syndrome in Toronto and the United States. Clinical Infectious Diseases 2004;38:925–931

Del Beccaro M.A., Brownstein D.R, Cummings P., Goldoft J. and Quan L. Outbreak of Escherichia coli 0157:H7 Hemorrhagic Colitis and Hemolytic Uremic Syndrome: Effect on Use of a Pediatric Emergency Department. Annals of Emergency Medicine Volume 26, Issue 5, November 1995, Pages 598-603

French and Belgian multidisciplinary investigation teams. Identification of a rabid dog illegally introduced from the Republic of the Gambia to Belgium and France. Euro Surveill. 2008 Apr 30;13(18).

French multidisciplinary investigation team. Identification of a rabid dog in France illegally introduced from Morocco. Euro Surveill. 2008 Mar 13;13(11).

Mohle-Boetani, J., Werner, S., Waterman, S., Vugia, D. (2000). The impact of health communication and enhanced laboratory-based surveillance on cyclosporiasis outbreaks in California. Emerging Infectious Disease, 6(2), 200–203

Nicol AM, Hurrell C, McDowall W, Bartlett K, Elmieh N. (2008). Communicating the risks of a new, emerging pathogen: the case of Cryptococcus gattii. Risk Anal. 2008 Apr;28(2):373-86.

Servas V, Mailles A, Neau D, Castor C, Manetti A, Fouquet E, Ragnaud JM, Bourhy H, Paty MC, Melik N, Astoul J, Cliquet F, Moiton MP, François C, Coustillas M, Minet JC, Parriaud P, Capek I, Filleul L. An imported case of canine rabies in Aquitaine: investigation and management of the contacts at risk, August 2004-March 2005. Euro Surveill. 2005 Nov;10(11):222-5.

140/32SEP 4 décembre 2008 - 16:00 - 352 A

Vaccination contre l'hépatite A

J. Beytout, M. Monghal, H. Laurichesse

Service des maladies infectieuses, CHU de Clermont-Ferrand, France

1- L'hépatite A

11- L'infection : L'hépatite virale A [1] a une réputation de bénignité ; mais, même si la majorité des infections sont inapparentes (surtout chez l'enfant), la morbidité n'est pas négligeable (surtout chez l'adulte). La létalité, faible dans les pays développés (<0,5%) est surtout liée à des hépatites fulminantes souvent en rapport avec une pathologie hépatique sous-jacente. L'infection confère une immunité définitive associée à la présence d'anticorps spécifiques décelables dans le sang ou dans la salive. Le diagnostic d'un cas récent est confirmé par la mise en évidence d'immunoglobulines M spécifiques.

12- L'épidémiologie : Le virus, strictement humain, est excrété par les selles. Le risque de contamination (féco-orale) est lié à l'hygiène (sécurité de l'eau et de l'alimentation, conditions sanitaires…) : dans les pays à haut niveau d'endémicité, les enfants sont contaminés tôt ; inversement, dans les pays développés le risque de contamination est faible : la plupart des jeunes ne subissent pas d'immunisation naturelle. L'introduction du virus détermine des épidémies lorsque les contacts entre individus le permettent : la transmissibilité est élevée autour des enfants qui n'ont pas atteint l'âge de la propreté dans les familles (20 à 50% des cas de la littérature sont liés à une transmission intra familiale) et dans les communautés ou l'hygiène est difficile à assurer.

Depuis 2005, l'hépatite A est une maladie à déclaration obligatoire en France [2] : 1313 cas (confirmés par la biologie) ont été déclarés en 2006 (soit une incidence de 2,15/100 000 correspondant à une endémicité « faible »). Plus de la moitié d'entre eux avaient moins de 15 ans. Les adultes ont été plus souvent et plus longtemps hospitalisés. La majorité des déclarations correspondaient à des personnes contaminées le plus souvent par transmission intra-familiale mais parfois aussi lors d'épidémies dans des collectivités ou des communautés comme celle des gens du voyage : elles concernent alors souvent des enfants de moins de 5 ans. Sur les cas déclarés, 48% avaient séjournés dans les semaines précédentes dans un pays d'endémie (61% pour les enfants entre 5 et 15 ans).

Le centre de référence a identifié les souches des prélèvements (sérum, salive) qui lui ont été envoyés : il circule en France les 3 génotypes identifiés dans le monde ; une souche de type 3 arrivée en France chez un voyageur venant de Madagascar s'est répandue dans la communauté du voyage et est maintenant endémique.

13- Les vaccins : Face à cette infection virale, nous disposons de vaccins à virus entier inactivé particulièrement efficaces et bien tolérés. Une seule injection procure une protection efficace dans plus de 90% des cas ; le programme vaccinal complet (2 ou 3 injections suivant le vaccin utilisé et le schéma vaccinal) procure, si les intervalles minimaux sont bien respectés, une protection complète (100% des cas) et de très longue durée (>15 ans). Ce vaccin est très bien toléré. Son coût est cependant élevé.

2- Quelles sont les recommandations actuelles de la vaccination ?

L'incidence faible de l'hépatite A sur le territoire métropolitain a fait récuser la vaccination en population générale pour la réserver à des indications limitées correspondant à des risques bien identifiés. Ces indications figurent dans le récapitulatif annuel des vaccinations recommandées par le Haut Conseil de la Santé Publique [1, 3].

21- Recommandations particulières

- Sujets non immunisés (adultes et enfants de plus de 1 an d'âge) susceptibles d'aller dans des pays où l'endémie est élevée;
- Enfants et jeunes handicapés psycho-moteurs,
- Patients infectés chroniques par le virus de l'hépatite B ou porteurs d'une maladie chronique du foie (notamment dues à une hépatite C ou à une consommation excessive d'alcool),
- Homosexuels masculins

22- Recommandations professionnelles

- Personnel impliqué dans la préparation des aliments et de la restauration collective,
- Personnel des crèches et établissements et services pour l'enfance et la jeunesse handicapée,
- Personnel s'occupant du traitement des eaux usées,
- Militaires (susceptibles d'intervenir sur des théâtres d'opération extérieurs).

Ce sont là des indications que l'on retrouve dans le programme vaccinal de nombreux pays développés [4, 5, 6].

1- Quelles nouvelles indications sont discutées aujourd'hui

11- Extension des indications catégorielles actuelles

- Le personnel s'occupant de la petite enfance dans son ensemble devrait être vacciné y compris les assistantes maternelles : même si le nombre de celles atteintes au cours des années 2006 et 2007 est faible (7 cas déclarés) et si ce mode de garde est relativement faible (18%), il est nécessaire de les assimiler au personnel des crèches.
- La vaccination des hémophiles et patients ayant souvent recours à des produits sanguins labiles (facteurs de coagulation, transfusions itératives…) est recommandée aux USA [4] et en Grande Bretagne [5] : elle fait partie de la pratique interne des Etablissements Français du Sang.
- Les réfugiés sont très exposés du fait du brassage des populations, de la promiscuité (surtout si la logistique sanitaire est débordée) : nous l'avons observé en France chez des Kurdes. L'Italie propose la vaccination systématique.
- La vaccination des prisonniers est recommandée dans différents pays (Espagne, USA) mais l'application de cette recommandation est douteuse.
- La vaccination des toxicomanes est recommandée dans de nombreux pays [5, 6]. En France, on a estimé que, hormis pour les patients affectés d'une hépatite B ou d'une hépatite C, les mesures préventives universelles (hygiène et utilisation d'antiseptiques comme les solutions hydro-alcooliques) devraient contribuer à en réduire le risque… Cependant, si une vaccination hépatite B est envisagée, le vaccin combiné HA-HB est

conseillé…

12- Vaccination en population générale ?

- Israël vaccine systématiquement les enfants depuis 2001: la réduction de la fréquence des cas ou des épidémies a été particulièrement notable.
- La pratique systématique de la vaccination des pré-adolescents par les vaccins HA et HB en Catalogne a pratiquement fait disparaître les hépatites dans cette province.
- Depuis 2006 les USA recommandent la vaccination de tous les enfants à partir de l'âge de 1 an [4].

En France, aujourd'hui, une vaccination généralisée serait disproportionnée.

13- Vaccination après exposition

Depuis l'étude effectuée dans le Sud de l'Italie par Sagliocca [7] (dont la méthodologie et les résultats sont contestables) et avec les bons résultats de cette pratique dans de nombreuses épidémies, on était tenté de recourir systématiquement à la vaccination des sujets contacts : le vaccin assurerait non seulement une protection des sujets non encore atteints mais également de sujets récemment contaminés. L'étude de Victor [8] a montré une efficacité comparable à celle des immunoglobulines et une applicabilité meilleure.

Devant une situation où l'on peut craindre une propagation de personne à personne (déjà plusieurs cas et/ou difficultés à assurer le respect strict des mesures d'hygiène), il faut envisager la vaccination des sujets exposés la plus précoce possible [9]. Le médecin de famille devra s'attacher à protéger notamment les adultes nés après 1945 sans antécédents d'ictère ou de vaccination. Pour les collectivités la décision est le fait des autorités sanitaires : elle sera prise après une enquête épidémiologique ; la vaccination systématique peut concerner un nombre limité de sujets contacts, une collectivité fermée toute entière ou une communauté si le risque de transmission paraît élevé et la possibilité d'améliorer les conditions sanitaires limitée.

14- Prévention de la contamination à l'étranger.

Le risque de contamination lors d'un séjour dans un pays de haute endémicité a justifié les recommandations pour les voyageurs que nous avons citées. Le coût élevé de la vaccination constitue un frein à sa réalisation surtout pour les plus démunis notamment les enfants de familles issues de l'immigration. Particulièrement exposés lorsqu'ils vont dans leur pays d'origine, ils sont à l'origine d'épidémies notamment en milieu scolaire [2]. Pour prévenir ce risque les Hollandais proposent des séances de vaccination gratuites ou à tarif réduit avec des résultats appréciables [10].

Deux propositions sont à l'étude en France :

- offrir la consultation et la vaccination à ces jeunes dans les Centres de Vaccinations internationales (ils y recevront aussi des informations sur le paludisme et sa prévention) : le pouvoir d'attraction de cette offre est incertain,
- offrir la vaccination à tous les enfants issus de familles immigrées en anticipant sur la perspective qu'ils auront un jour la possibilité de revenir « au pays ».

Ainsi, s'il ne paraît pas opportun aujourd'hui, en France, de recommander la vaccination généralisée, il est légitime de la pratiquer aux personnes à risque de formes graves ou exposées à un contact proche avec des sujets atteints d'hépatite A tout particulièrement lorsque les conditions sociales et/ou sanitaires sont susceptibles de favoriser une épidémie [11].

Références :

[1] La vaccination contre l'hépatite A in Direction Générale de la Santé / Comité Technique des vaccinations : Guide des vaccinations Edition 2008. Editions INPES (Saint-Denis) pp 218-25

[2] Couturier E, Letort MJ, Roque AM, Dussaix E, Delarocque-Astagneau E. Hépatite aiguë A en France en 2006. Première année de surveillance par la déclaration obligatoire. Bull Epidemiol Hebd 2007 ; 29-30 : 253-6

[3] Haut Conseil de la Santé Publique. Calendrier vaccinal 2008. Avis du HCSP. BEH 2008 ; 16-17 : 129 – 47

[4] Prevention of hepatitis A through active or passive immunization : Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. MMWR 2006; 55:1-23

[5] Crowcroft NS, Walsh B, Davison KL, Gungabissoon A on behalf of PHLS Advisory Committee on vaccination and immunisation. Guidelines for the control of hepatitis A virus infection. Commun Dis Public Health 2001; 4: 213-27

[6] Franco E, Vitiello G. Vaccination strategies against hepatitis A in Southern Europe. Vaccine 2003; 21: 696-7.

[7] Sagliocca L. Efficacy of hepatitis A vaccine in prevention of secondary hepatitis A infection: a randomised trial. Lancet 1999; 353: 1136-39

[8] Victor JC, Monto AS, Surdina TY et al. Hepatitis A vaccine versus immune globulin for post-exposure prophylaxis. N Engl J Med 2007; 357: 1685-94.

[9] Gendrel D, Launay O, Moulin F, Larnaudie S et al. Prophylaxie autour d'un cas index d'hépatite A. Immunoglobulines ou vaccination ? Presse med. 2007 ; 36 : 1072-7

Sonder JGB, Bovée LPMG, Baayen TD, Coutinho RA, Van Den Hoek JAR.

[10] Effectiveness of a hepatitis A vaccination program for migrant children in Amsterdam (The Netherlands 1992-2004). Vaccine 2006; 24: 4962-68.

[11] Buisson Y. La vaccination hépatite A en France. Bull Acad Ntle Med 2006 ; 190 : 1069-75.

141/32SEP 4 décembre 2008 - 16:20 - 352 A

Varicelle

D. Floret

Université Claude Bernard Lyon1 - Hôpital Femme-Mère-Enfant, Bron, France

Le Conseil Supérieur d'hygiène publique de France n'a pas, en 2004, recommandé de vacciner les nourrissons et les jeunes enfants contre la varicelle. Les indications de la vaccination ont été limitées aux adultes non immuns en post exposition (dans les 48 heures suivant le contage), ainsi que, après sérologie, au personnel de santé notamment ceux travaillant auprès de patients à risque et au personnel de la petite enfance. Elle a également été recommandée aux personnes (adultes et enfants) non immunes vivant dans l'entourage d'un immunodéprimé. La seule indication strictement pédiatrique concernait les enfants en attente de greffe d'organe solide.

Ces recommandations ont été confirmées en 2007 par le Haut Conseil de la santé publique.

Parmi les raisons ayant motivé ces recommandations, l'essentiel est que les études de modélisation de la maladie montrent qu'une couverture vaccinale d'au moins 90% est nécessaire pour éviter le déplacement de l'âge de la maladie qui aurait pour conséquence une augmentation du nombre de cas observés chez les adultes, chez qui la varicelle est plus grave. La perspective d'obtenir une telle couverture vaccinale, non observée pour la rougeole, en dépit d'incitations anciennes et répétées n'apparaît pas réaliste. La vaccination universelle contre la varicelle, en réduisant fortement la circulation du virus et les rappels naturels pourrait en outre augmenter l'incidence du zona.

La vaccination universelle contre la varicelle a été mise en place aux Etats-Unis en 1996. Des mesures incitatives fortes ont permis d'obtenir en quelques années une couverture vaccinale proche de 90% avec des effets initiaux spectaculaires sur l'incidence de la maladie réduite en moyenne de 85%, bénéficiant à toutes les tranches d'âge et principalement aux enfants de 1- 4 ans. De même ont été observées une réduction des hospitalisations pour varicelle et une chute de la mortalité, passant d'une centaine à quelques cas annuels. A partir de 2004 par contre, l'incidence de la varicelle a cessé de diminuer, voire a augmenté dans certaines zones. L'explication de ce fait réside au moins en partie par l'augmentation brutale des cas de varicelle chez les enfants vaccinés huit ans auparavant. Ce fait était quelque peu attendu car il était clairement démontré que le schéma vaccinal à une dose, adopté pour les enfants de 12 mois à 13 ans ne procurait pas une immunogénicité optimale. Depuis 2007, les Etats-Unis ont adopté un schéma vaccinal unique à 2 doses. En outre, un déplacement de l'âge de la maladie a également été observé, démontrant que le résultat spectaculaire enregistré durant les premières années de l'expérience américaine était bien le fait d'une « lune de miel » durant laquelle, en dépit d'une couverture vaccinale appréciable, des sujets réceptifs ayant échappé à la maladie et à la vaccination ont été accumulés. En outre, et pour la première fois, une augmentation de l'incidence du zona, prévue par les modèles mathématiques, a été mise en évidence dans une enquête réalisée dans le Massachusetts.

En dehors des Etats-Unis et du Canada, peu de pays ont recommandé cette vaccination. En Europe, seules l'Allemagne et quelques régions d'Italie (Sicile) et d'Espagne vaccinent les enfants contre la varicelle.

Dans la perspective d'une mise à disposition de vaccins tétravalents ROR-V (qui, en fait, à ce jour ne sont pas commercialisés en France) susceptibles de favoriser l'utilisation du vaccin varicelle chez l'enfant, les recommandations relatives à la vaccination contre la varicelle ont été réexaminées en 2007. Le Haut Conseil de la santé publique a confirmé les recommandations de 2004, et notamment a déconseillé le remplacement du vaccin ROR par un vaccin tétravalent ROR-V. Par contre, anticipant une augmentation –hors recommandation- de l'utilisation du vaccin varicelle chez l'enfant, les autorités de santé ont souhaité protéger les sujets susceptibles d'être mis en danger par un déplacement de l'âge de la varicelle. Ainsi, la vaccination est-elle désormais recommandée, avec un schéma à 2 doses, chez les adolescents de 12 à 18 ans sans antécédent de varicelle. Une sérologie peut être pratiquée au préalable, mais n'est pas obligatoirement requise. La vaccination est également recommandée chez les femmes en âge de procréer, notamment celles ayant un projet parental et sans antécédent de varicelle. Une sérologie peut également être pratiquée mais n'est pas obligatoire. Enfin, une jeune femme non immunisée qui devient mère est à risque élevé de contracter ultérieurement la varicelle. Pour ces femmes, une vaccination est recommandée dans les suites proches de l'accouchement. A part la Suisse qui vaccine les adolescents réceptifs, aucun autre pays ne possède de recommandations de ce type.

On ne dispose pas actuellement de données qui permettent d'évaluer l'application de ces recommandations. Tout porte à croire qu'elle est très limitée. A ce jour, le vaccin n'est pas remboursé dans ces indications. L'échec constaté de la stratégie du cocooning pour la prévention de la coqueluche n'incite pas à l'optimisme quant à l'application de la vaccination chez les futures ou jeunes mères. La lourdeur de la procédure (2 doses avec, selon l'AMM nécessité d'une contraception efficace de 3 mois après chaque dose), sérologie préalable (difficilement évitable du fait des éléments précédents) ne favoriseront pas la vaccination. Quant aux adolescents, on connaît la difficulté à les vacciner. La mise en place prévue d'une consultation systématique de l'adolescent pour faire le point et mettre à jour les vaccinations pourrait y contribuer efficacement.

Reste le problème de fond : le bien-fondé d'une vaccination universelle des enfants contre la varicelle. Bien que cette maladie soit le plus souvent bénigne elle représente du fait de sa fréquence (plus de 500 000 cas annuels) un poids réel et un coût pour la société. Une couverture vaccinale non optimale et malheureusement prévisible aurait des conséquences fâcheuses. L'expérience de la rougeole est à ce titre instructive et il ne semble pas raisonnable de

promouvoir cette vaccination avant d'avoir fait la preuve qu'on était capable, à travers la vaccination rougeole, d'obtenir une couverture vaccinale acceptable pour ce type de vaccination

En conclusion : La vaccination contre la varicelle en France est plus au point mort qu'en panne. Les recommandations restrictives actuelles pourront être revues en fonction de l'évolution des mentalités et à la lumière de celle de la couverture vaccinale par le ROR. D'ici là, des efforts devraient être faits pour appliquer la vaccination dans ses indications reconnues, notamment chez l'adolescent non immun.

Conflits d'intérêt : l'auteur a participé (sans rémunération personnelle) à des études épidémiologiques sur la varicelle financées par les firmes (GSK, Sanofi Pasteur MSD). Il a également bénéficié d'invitations par ces firmes à des congrès médicaux.

142/32SEP — 4 décembre 2008 - 16:40 - 352 A

Vaccin antirotavirus : en panne ou retardé ?

D. Gendrel
Service de Pédiatrie, Hôpital St Vincent de Paul, Paris, France

Le rotavirus est connu depuis plus de 35 ans comme cause majeure de diarrhée du jeune enfant, mais l'épidémiologie moléculaire précise n'a été étudiée que récemment avec la mise au point des premiers vaccins et même les données cliniques n'ont été complètement précisées que depuis une dizaine d'années, avec la généralisation des tests ELISA.

Le rotavirus est la cause directe de 500 000 décès par an, uniquement des enfants de moins de 3 ans dans le Tiers Monde. En 1995, l'OMS estimait le chiffre à 800 000 par an : la baisse est due à la généralisation de techniques correctes de réhydratation orale. Mais pour obtenir une baisse plus importante, il faudra recourir à la vaccination.

Les deux vaccins actuellement sur le marché, donnés par voie orale avant l'âge de 6 mois, sont remarquablement efficaces et parfaitement supportés. Des essais d'une ampleur exceptionnelle l'ont très bien démontré, en particulier avec l'absence de risque d'invagination intestinale que comportait la première génération de vaccins antirotavirus.

Dans les pays occidentaux, la mortalité est très faible, mais le rotavirus reste à l'origine de 60% des hospitalisations pour gastro-entérite aiguë et déshydratation du jeune enfant. Cette morbidité importante entraîne une gêne évidente pour les familles. En France, le rotavirus n'entraine que 10 à 15 décès par an, mais est la cause de 18 000 hospitalisations et de 130 000 consultations par an, entraînant des gastroentérites plus sévères que celles dues aux autres virus, en particulier les calicivirus.

La diarrhée à rotavirus est une maladie du très jeune enfant. Dans tous les pays du monde, 90% des enfants de 2 ans ont des anticorps antirotavirus par immunisation naturelle, sans que l'infection communautaire n'entraîne toujours de diarrhée importante. L'immunité croisée entre différents génotypes existe, ce qui explique la remarquable efficacité du vaccin sous toutes les latitudes.

Le vaccin est actuellement recommandé dans de nombreux pays : USA, Canada, Belgique, Autriche, Mexique, Brésil, etc… Les Sociétés Européennes de Pathologie Infectieuse Pediatrique et de Gastroentérologie Pédiatrique (JPGHAN 2008), ainsi que leurs homologues nationaux européens ou français, ont recommandé la vaccination universelle des nourrissons. Cependant, en 2006, les autorités françaises décidaient de différer la recommandation de vaccination systématique, en conseillant une meilleure prise en charge des gastroentérites, et en attendant les résultats des pays pratiquant une vaccination de masse.

Les premiers résultats américains sont maintenant connus (MMWR, 2008 ; 57 :697). Le premier vaccin a été introduit en 2006. Dès l'hiver 2007-2008, la chute de la morbidité par diarrhée à rotavirus dans les régions à couverture vaccinale conséquente, a été spectaculaire : les hospitalisations sont divisées par 20 et les consultations par 40, entraînant une réduction de moitié de toutes les gastroentérites infantiles vues à l'hôpital. Le nombre des invaginations intestinales chez les vaccinés est même inférieur au chiffre attendu.

En France les vaccins sont commercialisés mais ne sont pas remboursés et la couverture vaccinale est très inférieure à 10%. Par contre, un programme de surveillance des souches a été lancé par le CNR des virus entériques (P Pothier, Dijon). Les résultats sont importants car ils montrent une grande variabilité des souches d'une année sur l'autre en l'absence de pression vaccinale. Le génotype G9 a fait une brutale apparition : il représentait 5% des souches en France pendant l'hiver 2003-2004 et 60% en 2004-2005, passant à 25 à 30% les années suivantes, avec de grandes disparités régionales. Ces souches G9 (antigène non contenu dans les vaccins) n'échappent pas aux vaccins car elles sont combinées à un sérotype P8 qui est inclus. Mais cela montre bien la nécessité d'une surveillance permanente des génotypes, qui doit être effectuée à l'échelle européenne en raison des importantes variations régionales.

La généralisation du vaccin en France ne viendra qu'avec le remboursement qui lui-même sera le résultat de négociations entre les laboratoires et les pouvoirs publics. Même si la mortalité est très faible, les diarrhées à rotavirus frappent un grand nombre de jeunes enfants. Et ce sont les familles les plus modestes qui tardent le plus aux accès aux soins, conduisant à des formes plus graves et des hospitalisations plus fréquentes : ce sont elles qui tireraient le plus rapidement bénéfice d'une vaccination généralisée. Celle-ci est largement recommandée dans tous les pays européens.

144/34O — 4 décembre 2008 - 16:00 - 353

Déficit immunitaire commun variable (DICV)

E. Oksenhendler
Service d'Immunologie Clinique, Hôpital Saint Louis, Paris, France

Le Déficit Immunitaire Commun Variable (DICV).est le plus fréquent des Déficits Immunitaires Primitifs de l'adulte. Il se caractérise par une hypogammaglobulinémie, le plus souvent globale et profonde. Les deux sexes sont touchés avec la même fréquence. La prévalence du DICV en France se situe probablement autour de 1 : 25000. mais il est rare chez les asiatiques et exceptionnel chez les noirs. Ce déficit est familial dans 20 à 25% des cas. Les symptômes cliniques débutent le plus souvent à l'âge adulte.. Le délai diagnostique est encore le plus souvent de plusieurs années. Les infections des voies aériennes supérieures (sinusites, bronchites, pneumopathies) constituent le principal mode de révélation du DICV (>85%) et peuvent se compliquer de. dystrophies bronchiques sévères. Les autres complications sont digestives, hépatiques, auto-immunes ou lymphoprolifératives.

Le traitement repose essentiellement sur la substitution par des immunoglobulines polyvalentes administrées par voie IV ou SC avec pour objectif le contrôle des manifestations infectieuses et l'obtention d'un taux résiduel d'IgG sériques satisfaisant. Toutefois, le risque de développer une DDB semble plus lié au déficit en lymphocytes B mémoires switchés qu'au taux d'IgG sériques.

La physiopathologie de ce DIP n'est pas connue. L'analyse des lymphocytes B circulants a permis de dégager deux grands types d'anomalies : (1) phénotypiquement, la majorité des patients ont un déficit profond en lymphocytes B matures, mémoires, switchés (CD19+ sIgD- CD27+). Cette population qui représente environ 20% des lymphocytes B chez le sujet normal, est ici souvent < 2%. (2) un défaut d'acquisition des mutations somatiques qui interviennent dans la différenciation terminale du lymphocyte B et qui confèrent aux immunoglobulines une forte affinité pour l'antigène.

L'entité « DICV » recouvre probablement des maladies d'origines génétiques différentes. A l'heure actuelle, seule une minorité de DICV ont une origine génétique identifiable et le plus souvent dans le cadre d'une transmission autosomique récessive..Le déficit en ICOS a été décrit dans quatre famille du sud de l'Allemagne. Il s'agit d'une délétion homozygote dans le gène *ICOS* aboutissant à la perte de l'expression de cette protéine. La délétion est identique dans les quatre familles suggérant un très probable effet fondateur. Le déficit en CD19, molécule exprimée sur l'ensemble des lymphocytes B matures, a été décrit dans plusieurs familles consanguines avec des mutations différentes mais aboutissant toujours à un défaut d'expression de la molécule. Des mutations homozygotes dans les gènes codant pour CD20, CD27 et CD81 semblent également incriminables. Les mutations portant sur le de TACI sont d'interprétation plus difficile. La molécule TACI fonctionne comme un récepteur impliqué dans la survie du lymphocyte B et dans les mécanismes de commutation isotypique (switch de la production d'IgM vers la production d'IgG, IgA et IgE). Les mutations retrouvées à l'état homozygote ou hétérozygote composite sont probablement impliquées dans l'origine de certains DICV. La signification de ces mutations à l'état hétérozygote est encore débattue.

152/36s — 5 décembre 2008 - 09:00 - 341

Etude multicentrique française des candidoses invasives en réanimation "Amarcand"

O. Leroy[11], J.P. Gangneux[10], P. Montravers[5], J.P. Mira[7], F. Gouin[2], J.P. Sollet[1], J. Carlet[6], J. Reynes[3], M. Rosenheim[8], B. Régnier[4], O. Lortholary[9], pour le groupe d'étude AmarCand
[1]Service de Réanimation Polyvalente, Centre Hospitalier Victor Dupuy, Argenteuil [2]Département d'Anesthésie-Réanimation, Hôpital La Timone, AP-HM, Marseille [3]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Gui de Chauliac, Montpellier [4]Clinique de Réanimation Médicale et des Maladies Infectieuses [5]Département d'Anesthésie-Réanimation Chirurgicale, Centre Hospitalier Universitaire Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Université Paris VII [6]Service de Réanimation Médico-Chirurgicale, Groupe Hospitalier Paris Saint Joseph [7]Service de Réanimation Médicale, Hôpital Cochin, AP-HP, Université Paris V, Inserm U567 [8]Service de Santé Publique, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Université Paris V [9]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur; Centre National de Référence de Mycologie et Antifongiques, CNRS URA3012, Institut Pasteur, Paris [10]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Centre Hospitalier Universitaire de Rennes ; Inserm U522, Université Rennes 1, Rennes [11]Service de Réanimation Médicale et des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Gustave Dron, Tourcoing, France

Afin de décrire l'épidémiologie, la prise en charge thérapeutique et les facteurs de risque de mortalité des candidoses invasives dans les services de réanimation français, une étude dénommée "AmarCand" (Analyse du Management en Anesthésie et Réanimation des Candidoses invasives) a été mise en place. Il s'agissait d'une étude prospective, multicentrique, observationnelle et nationale.

Trois cents patients présentant une infection invasive prouvée à *Candida* sp. nécessitant un traitement antifongique systémique ont été inclus entre Octobre 2005 et Mai 2006 dans 101 services de réanimation.

Après exclusion de 29 patients, 271 patients présentant respectivement une candidémie isolée (n=107 ;39,5%), une candidose invasive sans candidémie documentée (n=87 ;32,1%) ou une candidose invasive associée à une

candidémie (n=77 ;28,4%) ont été étudiés.

C. albicans représentait 57,0% des isolats. Viennent ensuite *C. glabrata* (16,7%), *C. parapsilosis* (7,5%), *C. krusei* (5.2%) et *C. tropicalis* (4,9%). Dans 17,1% des cas, la souche de *Candida* sp. causale était résistante ou de sensibilité diminuée au fluconazole.

Le traitement antifongique empirique fut le plus souvent le fluconazole (65,7%). Viennent ensuite la caspofungine (18,1%), le voriconazole (5,5%), et l'amphotéricine B (3,7%). Après identification de la souche causale et détermination de sa sensibilité, le traitement antifongique fut modifié pour 86 (31,7%) patients.

Le taux de mortalité en réanimation fut de 45,9%. Il n'y avait pas de variation significative selon le type d'épisode de candidose invasive. Les facteurs indépendants du pronostic identifiés ont été les suivants : diabète de type 1 (odds ratio [OR] 4,51, 95% intervalle de confiance [IC] 1,72-11,79, *p*=0,002), immunodépression (OR 2,63, 95% IC 1,35-5,11, *p*=0,0045), ventilation mécanique (OR 2,54, 95% IC 1,33-4,82, *p*=0,0045) et température corporelle >38,2°C (référence: 36.5-38.2°C, OR 0.36, 95% IC 0,17-0,77, *p*=0,008).

En conclusion, plus de deux tiers des patients présentant une candidose invasive en réanimation avaient une candidémie. Les *Candida* non albicans représentaient presque la moitié des isolats. Une sensibilité réduite au fluconazole a été observée pour 17,1% des isolats. La mortalité de ces candidoses invasives demeure élevée.

Groupe Amarcand : Drs. Allaouchiche (Lyon), Amigues (Montpellier), Ausseur (Saint Herblain), Azoulay (Paris), Badet (Lyon), Baldesi (Aix-en-Provence), Bastien (Bron), Baudin (Paris), Bayle (Lyon), Bazin (Clermont-Ferrand), Benayoun (Clichy), Blondeau (Roubaix), Bodin (Paris), Bollaert (Nancy), Bonadona (La Tronche), Bonnaire (Aulnay Sous Bois), Bonnivard (Montauban), Borne (Paris), Brabet (Montpellier), Branche (Lyon), Braud (Rouen), Bret (Lyon), Bretonnière (Nantes), Brocas (Evry), Brun (Bron), Bruneel (Versailles), Canevet (Armentières), Cantais (Toulon Armées), Carlet (Paris), Charbonneau (Caen), Charles (Dijon), Chastagner (Chamberry), Corne (Montpellier), Courte (Saint-Brieuc), Cousson (Reims), Cren (Morlaix), Diconne (Saint Etienne), Drouet (Saint-Denis), Dube (Angers), Duguet (Paris), Dulbecco (Antibes), Dumenil (Clamart), Dupont (Amiens), Durand (Grenoble), Durand-Gasselin (Toulon), Durocher (Lille), Fangio (Poissy), Fattouh (Mulhouse), Favier (Metz Armées), Fieux (Paris), Fleureau (Pessac), Freys (Strasbourg), Fulgencio (Paris), Gally (Mulhouse), Garnaud (Orléans), Garot (Tours), Gilhodes (Créteil), Girault (Rouen), Gouin (Marseille), Gouin (Rouen), Guidon (Marseille), Hérault (Grenoble), Hyvernat (Nice), Jobard (Monaco), Jospe (Saint Etienne), Kaidomar (Fréjus), Karoubi (Bobigny), Kherchache (Agen), Lacherade (Poissy), Lakermi (Paris), Lambiotte (Maubeuge), Lamia (Le Kremlin-Bicêtre), Lasocki (Paris), Launoy (Strasbourg), Le Guillou (Paris), Lefort (Saint-Denis), Lefrant (Nîmes), Lemaire (Roubaix), Lepape (Pierre-Bénite), Lepoutre (Lomme), Leroy (Lille), Leroy (Tourcoing), Loriferne (Bry-sur-Marne), Mahe (Nantes), Mandin (Gap), Marighy (Saint-Denis), Mathieu (Lille), Mathonnet (Paris), Megarbane (Paris), Mercat (Angers), Michel (Saint Herblain), Michelet (Marseille), Mimoz (Poitiers), Mohammedi (Lyon), Mouquet (Paris), Mourvillier (Paris), Navellou (Besançon), Novara (Paris), Obadia (Montreuil), Perrigault (Montpellier), Perrin (Marseille), Petit (Valence), Poussel (Metz), Rahmani (Strasbourg), Renard (La Roche sur Yon), Robert (Poitiers), Robert (Lyon), Saliba (Villejuif), Sannini (Marseille), Santré (Annecy), Seguin (Rennes), Souweine (Clermont-Ferrand), Trouillet (Paris), Valentin (Besançon), Volatron (Rennes), Voltz (Vandoeuvre les Nancy), Winer (Saint Pierre) et Winnock (Bordeaux).

Références bibliographiques :

Leroy O., Gangneux J-P., Montravers P., Mira J-P., Gouin F., Sollet J-P., Carlet J., Reynes J., Rosenheim M., Regnier B. and Lortholary O., for the AmarCand study group. Epidemiology, management and risk factors for death of invasive *Candida* infections in critical care: A multicenter, prospective, observational study in France (2005-2006). Crit Care Med sous presse.

155/37s — 5 décembre 2008 - 09:00 - 342 A

Infections à SAMS : quelle place aux pénicillines M IV et PO ?

B. Fantin
EA3964, Université Paris Diderot, Paris ; Hôpital Beaujon, Service de Médecine Interne, Clichy, France

Deux isoxazolylpénicillines ou pénicillines du goupe M (peni M) sont disponibles en France par voie injectable et orale : l'oxacilline et la cloxacilline.

Ces pénicillines antistaphylococciques ont des caractéristiques pharmacocinétiques qui conditionnent considérablement leur usage thérapeutique : forte fixation protéique (# 90%), très courte demi-vie d'élimination (30 à 60 minutes) (1). Ces données expliquent que, pour atteindre des concentrations libres plasmatiques pendant au moins 50% du temps afin d'obtenir un effet bactéricide, les posologies et le mode d'administration journaliers sont des éléments déterminants : plus les administrations sont fréquentes et plus la perfusion prolongée, plus l'antibiotique est bactéricide et actif sur des souches dont la CMI est croissante (2). Ainsi, pour une souche sensible de SDMS ayant une CMI à 0.5 µg/ml, correspondant à la CMI_{90} de ces molécules et bien en deçà de la concentration critique de 2 µg/ml, la probabilité d'atteindre la cible pharmacodynamique associée à la bactéricidie est proche de 100% en cas d'administration de 2 grammes en 3 perfusions quotidiennes de 4 heures chacune, mais seulement de 46% en cas de courte perfusion de 30 minutes. Le maintien d'une administration en 30 minutes nécessite de doubler la dose totale quotidienne (2 grammes x 6, soit 12 grammes) pour retrouver une probabilité d'atteindre la cible de près de 100% (2).

L'autre caractéristique pharmacocinétique déterminante pour le thérapeute est la biodisponibilité des formes orales : elle n'est que de 41% pour l'oxacilline et de 71% pour la cloxacilline (1). Ces biodisponibilités modérées expliquent l'usage exclusif de ces molécules par voie intraveineuse dans les infections systémiques sévères ou avec localisation profonde et la nécessité de privilégier la cloxacilline lors de l'usage oral.

L'activité bactéricide in vitro des peni M se manifeste in vivo chez des patients bactériémiques et/ou avec une endocardite du cœur droit par plusieurs études prospectives comparatives, de deux façons : i) en démontrant un avantage des peni M par rapport aux différents glycopeptides testés ; ii) en mettant en évidence l'absence de bénéfice clinique d'une association prolongée avec la gentamicine.

Chez 394 patients ayant une bactériémie à SDMS, la moindre mortalité des patients traités par peni M versus vancomycine apparaît lors d'une analyse cas-contrôle (18% versus 37%) ou par analyse multivariée de cohorte (risque relatif de décès 3.3 fois plus élevé avec la vancomycine) (3). Des échecs plus fréquents sont observés chez des patients ayant une endocardite du cœur droit traités par teicoplanine malgré une dose de charge de 10 mg/kg x 2/j pendant 3 jours (4). Enfin, dans l'étude de Fowler, le taux de succès à J42 était au moins égal pour la peni M que pour la daptomycine : 43.8% vs 40.8% dans l'endocardite du cœur droit, et 64.7% vs 57.1% dans les bactériémies non compliquées à SDMS (5), sans sélection de souche de sensibilité diminuée.

Expérimentalement, l'association de peni M et de gentamicine accélère la stérilisation des valves cardiaques de lapins ayant une endocardite expérimentale à SDMS (6). Chez l'homme cependant, ce phénomène n'a jamais été clairement démontré, probablement en raison de la bactéricidie importante des peni M en monothérapie. En effet, dans une étude prospective randomisée contrôlée chez 74 patients ayant une endocardite du coeur droit à SDMS, le taux de guérison était de 92% chez les patients traités pendant 14 jours de peni M versus 94% chez les patients ayant reçu en plus de la gentamicine pendant 7 jours, sans accélération de la clairance de la bactériémie (7). Les études cliniques ont montré des résultats discordants sur l'impact de l'association sur la vitesse d'obtention de l'apyrexie et de stérilisation des hémocultures et l'absence d'impact sur la morbi-mortalité (7-9). Cependant, il est consensuel de considérer que l'adjonction de gentamicine pendant les premiers jours de traitement d'une bactériémie compliquée ou d'une endocardite est bénéfique en terme de clairance de la bactériémie, sans dépasser 3-5 jours d'association pour optimiser le rapport bénéfice/risque.

Le recours à l'addition de rifampicine à une peni M pour augmenter l'activité de la peni M dans l'endocardite infectieuse repose sur le bénéfice de la rifampicine dans les modèles expérimentaux d'infection sur prothèse et les recommandations dans l'endocardite sur prothèse. Cependant, une étude récente vient rappeler que, d'une part, cette association n'est pas recommandée dans les infections sur valve native, mais qu'elle peut être délétère (10). Ainsi, l'adjonction de rifampicine au traitement standard (vancomycine ou peni M) dans une cohorte de 82 endocardites confirmées à *S.aureus* est associée à plus d'effets secondaires, à la sélection de souches résistantes à la rifampicine chez 21% des patients et à l'absence total de bénéfice bactériologique ou clinique. Ces résultats rappellent au clinicien le fréquent antagonisme observé in vitro entre peni M et rifampicine et le bénéfice de l'association uniquement dans certaines situations (infections sur prothèse notamment) et condition d'utilisation (introduction de la rifampicine une fois la bactériémie contrôlée (10).

Les alternatives possibles à l'utilisation d'une peni M dans les infections sévères à *S.aureus* sont représentées essentiellement par l'association d'une fluoroquinolone et de la rifampicine. L'intérêt majeur de cette alternative est son utilisation orale et la bonne diffusion tissulaire de ces molécules. Cependant, il faut noter que la documentation de cette association repose avant tout sur des études ouvertes non comparatives. Dans l'endocardite du cœur droit chez des toxicomanes, une étude prospective randomisée non aveuglée, a comparé l'activité d'une peni M ou de la vancomycine associées pendant 5 jours à de la gentamicine versus une association orale de ciprofloxacine et de rifampicine chez 85 patients. La durée totale de traitement était de 28 jours dans les 2 bras. Il n'y avait pas de différence en terme d'efficacité dans les 2 (11). Cependant seuls 44 (52%) des patients inclus étaient évaluables, rendant l'interprétation difficile dans cette population.

Une étude plus récente a comparé de façon prospective randomisée non aveuglée une peni M ou la vancomycine (n=59) à l'association fleroxacine-rifampicine (n=68) chez 127 patients ayant des diverses infections à staphylocoque bactériémiques et/ou avec foyer profond, en excluant les endocardites du coeur gauche. Le taux de guérison clinique était comparable entre les 2 groupes : 80% et 82% respectivement pour le traitement standard et l'association orale. Les effets secondaires étaient plus fréquents avec l'association orale (12).

Au total, l'ensemble des études comparatives disponibles dans les infections systémiques à *S.aureus* montrent que le traitement par peni M administré de façon optimale par voie intraveineuse reste le traitement de référence en première intention, en raison de sa grande efficacité clinique, de sa très bonne tolérance et de son très faible impact écologique par rapport aux comparateurs. Les limites du traitement par peni M apparaissent secondairement quand un relai per os est nécessaire, en raison de la faible biodisponibilité orale et de sa fixation protéique élevée, limitant les concentrations tissulaires. Dans ces indications (foyers infectieux profonds, infections osseuses chroniques et/ou sur matériel prothétique) une association fluroquinolone-rifampicine est largement validée par la pratique (13).

Références.

1. Vidal 2008 : le dictionnaire. pp 307-8 et 1685-6.
2. Landersdorfer CB, Kirkpatrick CMJ, Kinzig-Schippers M, et al. Population pharmacokinetic at two dose levels and phramacodynamic profiling of

flucloxacillin. Antimicrob Agents Chemother 2007; 51: 3290-7.

3. Kim S-H, Kim K-H, Kim H-B, et al. Outcome of vancomycin treatment in patients with methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* bacteremia. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 192-7.
4. Fortun J, Pérez-Molina JA, Añon MT, et al. Right-sided endocarditis caused by *Staphylococcus aureus* in drug abusers. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 525-8.
5. Fowler VG, HW Boucher, GR Corey, et al. Daptomycin versus standard therapy for bacteremia and endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. N Engl J Med 2006; 355: 653-65.
6. Sande MA, Courtney KB. Naficillin-gentamicin synergism in experimental staphylococcal endocarditis. J Lab Clin Med 1976; 88: 118-24.
7. Ribera E, Gomez-Jimenez J, Cortes E, et al. Effectiveness of cloxacillin with and without gentamicin in short-term therapy for right-sided *Staphylococcus aureus*. Ann Int Med 1996; 125: 969-74.
8. Abrams B, Sklaver A, Hoffamn T, et al. Single or combination therapy of staphylococcal endocarditis in intravenous drug abusers. Ann Intern Med 1979; 90: 789-91.
9. Korzeniowski O, Sande MA. Combination antimicrobial therapy for Staphylococcus aureus endocaditis in patients addicted to parenteral drugs and in nonaddicts: a prospective study. Ann Intern Med 1982; 97: 496-503.
10. Riedel DJ, Weekes E, Forrest GN. Addition of rifampin to standard therapy for treatment of native valve infective endocarditis caused by *Staphylococcus aureus*. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 2463-7.
11. Heldman AW, Hartert TV, Ray SC, et al. Oral antibiotic treatment of right-sided staphylococcal endocarditis in injection drug users: prospective randomized comparison with parenteral therapy. Am J Med 1996; 101: 68-76.
12. Schrenzel J, Harbarth S, Schockmel G, et al. A randomized clinical trial to compare fleroxacin-rifapicin with flucloxacillin or vancomycin for the treatment of staphylococcal infection. Clin Infect Dis 2004; 39: 1285-92.
13. Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic-joint infection. N Engl J Med 2004; 351: 1645-54.

157/37s — 5 décembre 2008 - 09:30 - 342 A

Infections urinaires à *Escherichia coli* sauvage

F. Caron
Service des Maladies infectueuses et tropicales, Hôpital Charles Nicolle, Rouen, France

Au fil des décennies, l'antibio-résistance des souches communautaires d'*E. coli* a atteint un niveau élevé pour l'amoxicilline (» 40%) le cotrimoxazole (20-40%), les quinolones de 1ère génération (» 14%), condamnant l'usage de ces molécules pour le traitement probabiliste des infections urinaires (IU).

Pour autant, une majorité des souches communautaires d'*E. coli* demeure "sauvage".

A l'heure du développement durable, la question se pose de la meilleure adaptation thérapeutique, une fois la sensibilité de la souche documentée : Faut-il maintenir le choix initial au spectre plus large (céphalosporine de 3ème génération, fluoroquinolone) au motif d'une activité intrinsèque potentiellement supérieure y compris vis-à-vis des souches sauvages ? Ou est-il possible de simplifier pour un schéma plus étroit faisant appel -selon la forme anatomique de l'IU- à l'amoxicilline, au cotrimoxazole, ou encore à une quinolone de 1ère génération?

La littérature apporte des éléments de réponse à ces questions :

- L'essentiel des données est d'ordre théorique, à la fois en terme d'activité (paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques) et de tolérance (incluant la pression de sélection individuelle et collective).
- Quelques séries cliniques de bonne méthodologie ont été réalisées avant l'ère de l'antibio-résistance, permettant d'apprécier l'impact des molécules "historiques" sur les souches sauvages.
- Par contre, aucune étude clinique de qualité ne semble avoir étudié la meilleure antibiothérapie de relais des IU à *E. coli* sauvage après un traitement empirique à beaucoup plus large spectre tel qu'actuellement pratiqué.

De ces données, il se dégage les orientations suivantes :

- Les aminopénicillines connaissent de nombreuses limites vis à vis des *E. coli* sauvages. Pour les cystites simples, un taux inacceptable d'échec a été observé lors de traitements courts, ces échecs étant rapportés à une élimination urinaire très rapide et à une absence d'activité sur le "réservoir recto-vaginal" (incriminé dans les rechutes précoces). Pour le traitement d'attaque des pyélonéphrites aigües (PNA), l'usage était jadis d'utiliser une association ampicilline-gentamicine, même vis-à-vis de souches *d'E. coli* pleinement sensibles, les modèles animaux étant très en faveur de la bi-thérapie ; plus récemment, de bons résultats cliniques ont été observés dans des séries de PNA traitées par une amino-pénicilline combinée à un inhibiteur de ß-lactamases (IV puis PO) ; or, vis-à-vis d'une souche d'*E. coli* sauvage, l'inhibiteur de ß-lactamases ne semble apporter aucun ajout comparativement à l'amoxicilline utilisée seule. Pour l'antibiothérapie de relais des PNA documentées à *E. coli* ampicilline-sensible, les avis des experts divergent ainsi qu'en témoignent les dernières recommandations de bonnes pratiques françaises en ce domaine : pour les enfants, il a été proposé de privilégier le céfixime, au motif d'un meilleur ratio concentration / activité ; pour les adultes, le choix a été laissé ouvert entre l'amoxicilline (intérêt d'un spectre relativement étroit), le céfixime (quotient inhibiteur meilleur mais risque non négligeable de diarrhée à *Clostridium difficile*) ou une fluoro-quinolone (possibilité de limiter la durée totale de traitement à 7 jours mais nécessité de préserver cette classe). Les recommandations américaines en vigueur ne listent pas les amino-penicillines (seules ou associées aux inhibiteurs de ß-lactamases) parmi les antibiothérapies de relais des PNA des bactéries à Gram négatif (alors qu'elles sont préconisées pour les bactéries à Gram positif) ; les recommandations européennes les plus récentes évoquent par contre les associations amino-pénicillines - inhibiteurs de ß-lactamases comme choix possible.
- Le cotrimoxazole a fait la preuve d'une grande efficacité dans les différentes formes d'IU à germe sensible : cystite simple (avec une pharmacocinétique autorisant les schémas courts, de 3 jours ou à dose unique), cystite compliquée, prophylaxie des cystites récidivantes, PNA et prostatite (avec une bonne diffusion au sein de la glande) ; la limite de la molécule tient à sa toxicité, avec un risque d'incidents très sévères, cependant très rares ; essentiellement liée à la composante sulfamidée, ces incidents soulignent l'intérêt potentiel du triméthoprime (molécule actuellement indisponible en France) vis-à-vis des souches sensibles (dans leur seule localisation vésicale).
- Les quinolones de 1ère génération n'ont pas fait preuve d'efficacité dans le traitement des IU parenchymateuses (PNA, prostatites) ; même pour les germes très sensibles, leur place dans le traitement des cystites se trouve limitée du fait d'une pharmacocinétique n'autorisant pas les traitements courts et d'un risque tout particulier d'émergence de résistance (mutants de premier niveau faisant eux-mêmes le lit de la résistance aux fluoroquinolones qui implique un second niveau).

Enfin, une très grande majorité des souches d'*E. coli* sont restées "sauvages" vis-à-vis des furanes, des polypeptides et des aminoglycosides, familles antibiotiques peu utilisées durant des décennies en ville du fait de leur spectre clinique, de leur galénique ou de leur toxicité. Aussi, ces molécules connaissent aujourd'hui un regain d'intérêt, en particulier vis-à-vis des souches qui se sont si bien "apprivoisées" aux ß-lactamines, aux quinolones et aux sulfamides.

Références :

[1] Recommandations de Bonnes Pratiques – diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires et bactériennes communautaires du nourrisson et de l'enfant – AFSSAPS 2007. www.afssaps.fr

[2] Recommandations de Bonnes Pratiques – diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires chez l'adulte – AFSSAPS 2008. www.afssaps.fr

[3] Warren *et al.* Guidelines for antimicrobial treatment of uncomplicated acute bacterial cystitis and acute pyelonephritis in women. Clinical Infectious Diseases, 1999;29:745-58

[4] Naber *et al.* EAU guidelines for the management of urinary and male genital tract infections. European Association of Urology 2006. www.uroweb.org

[5] Management of suspected bacterial urinary tract infection in adults. Scottish Intercollegiate
Guidelines Network, 2006. www.sign.ac.uk

158/37s — 5 décembre 2008 - 09:45 - 342 A

Spirochétoses : pénicilline G ou ceftriaxone (ou doxycycline) ?

E. Caumes
Service de Maladies infectieuses et tropicales, Université Pierre et Marie Curie, Faculté de Médecine Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Les spirochétoses regroupent l'ensemble des infections bactériennes dues aux spirochètes : les tréponématoses, vénérienne (syphilis) et non vénériennes (pian, bejel, pinta), les borrélioses (borrélioses de Lyme, fièvres récurrentes à tiques) et les leptospiroses. Ces maladies et les bactéries responsables partagent un certain nombre de points communs avec des conséquences thérapeutiques identiques.

1. Caractères communs.

Les spirochètes sont les bactéries de l'ordre des *Spirochaetalae* et comprennent les genres *Treponema, Borrelia* et *Leptospira*. Ce sont des bactéries mobiles, spiralées, qu'il n'est pas possible de cultiver sur milieux usuels et en pratique courante. L'évaluation de la résistance phénotypique, par l'établissement d'un antibiogramme, n'est donc pas possible. Par contre, la plupart des spirochètes sont maintenant identifiables par PCR. La résistance génotypique peut donc être évaluée par la mise en évidence de la mutation génétique correspondante par PCR mais c'est l'apanage de très rares laboratoires. En pratique, ce sont les modèles animaux qui ont permis l'évaluation des concentrations sériques bactéricides des antibiotiques. Des concentrations faibles sont en général efficaces à condition d'être maintenues pendant de longues périodes.

Le temps de division est long, en général supérieur à 24 heures et tend à s'allonger dans les formes tardives. Les traitements courts ne sont donc pas recommandés et, dans le cas de traitement court, ce sont des formes retard qui sont utilisées. Le traitement des formes tardives est toujours plus difficile (petit nombre de germes, division plus lente, modestie de la réaction inflammatoire, caractère plus immunitaire qu'infectieux des lésions).

Le traitement fait principalement appel à trois familles d'antibiotiques :

pénicillines (G et A), céphalosporines et cyclines. Dans la plupart des spirochétoses, lors de l'initiation de l'antibiothérapie, une réaction de Jarisch-Herxeimer peut survenir. Elle peut associer une hypotension, une aggravation des symptômes initialement présents, voire l'apparition de nouvelles atteintes d'organe.

Les spirochètes ont, pour la plupart d'entre eux, un tropisme neurologique, méningé et/ou encéphalitique en plus de leur tropisme osseux ou articulaire. La diffusion méningée des antibiotiques est donc souvent considérée comme un pré requis nécessaires. Les bétalactamines sont donc le traitement de 1ere intention dans la plupart des cas.

2. Bétalactamines : pénicilline ou ceftriaxone ?

2.1. Syphilis

Dans la syphilis récente, une injection intramusculaire unique de 2,4 millions d'unités de benzathine-pénicilline (Extencilline®) est recommandée (1). En cas de syphilis latente tardive ou tertiaire (en dehors de la neurosyphilis), 3 injections de 2,4 millions d'unités de benzathine-pénicilline G à une semaine d'intervalle sont recomandées (1). Le traitement de la neurosyphilis est la pénicilline G aqueuse IV, 18 à 24 millions d'unités par jour, pendant 14 jours. L'utilisation systématique de la pénicilline est limitée par ses contre-indications d'ordre allergique (urticaire chez 5 patients pour mille; accidents mortels chez 1/100 000).

La ceftriaxone est une alternative possible dans le traitement de la syphilis chez les patients allergiques à la pénicilline (2) mais elle est mal évaluée et ses modalités d'utilisation (dose, durée) restent discutées. Le CDC l'a recommandé un temps à la posologie de 250 mg par voie intramusculaire pendant 10 jours dans la syphilis précoce sous réserve d'un suivi régulier. Des cas ponctuels de neurosyphilis ont été guéris avec des doses de 1 gr par jour pendant 14 jours (3). Mais la ceftriaxone, à la dose de 1 à 2 g/jour, pendant 10 à 14 jours, a été mise en échec chez 23% de 53 patients infectés par le VIH avec syphilis latente ou neurosyphilis asymptomatique (4). De plus, aucune étude d'un grand nombre de patients traités n'est disponible. Ainsi, la ceftriaxone n'est pas le traitement recommandé de la syphilis même neurologique (1).

2.2. Borréliose de Lyme

Le traitement de 1ere intention est en général, la aussi, une bétalactamine (5). L'amoxicilline (1 gr 3 fois par jour pendant 14 à 21 jours, selon le caractère limité ou disséminé de l'infection) est en 1ere ligne dans l'erythema migrans et la paralysie faciale périphérique isolée et en 2eme ligne dans les arthrites aigues. La ceftriaxone (2 gr par jour IV ou IM pendant 21 à 28 jours est le traitement de 1er ligne des neuroborrélioses et des arthrites chroniques ou récidivantes (5). Le cefuroxime axetil (250 mg 2 fois par jour pendant 14 à 21 jours) est en 2eme ligne dans l'erythema migrans (5).

2.**3. Leptospiroses**

Les penicillines restent préconisées en 1ere intention : pénicilline G (6 à 10 Millions UI/j) et ampicilline (50 à 100 mg/kg/j), par voie parentérale, pour les formes sévères ; amoxicilline (4 g/j) pour les formes modérées (6).

Le céfotaxime et la ceftriaxone sont au moins aussi efficaces que la pénicilline G (6). La durée moyenne de traitement est de 7 jours.

3. Bétalactamines ou cyclines ?

La doxycycline est plus qu'une alternative aux bétalactamines. Elle est considérée comme le traitement de 2eme intention voire de 1ere intention dans quelques cas.

Dans la **syphilis**, l'efficacité des cyclines est considérée comme égale à celles des pénicillines. La doxycycline, 200 mg/j, en 2 prises quotidiennes, est prescrite pendant 14 jours dans la syphilis précoce, et pendant 28 jours dans la syphilis tardive (1). Un autre avantage de la doxycycline, à côté de ses propriétés pharmacocinétiques classiques, est de pénétrer, en très petite quantité, dans le LCR. Certains auteurs proposent donc d'utiliser la doxycycline à fortes doses (400 mg/j) dans le traitement de la neurosyphilis en cas d'allergie à la pénicilline (7).

Dans la **borréliose de Lyme**, la doxycycline (200 mg par jour, pendant 14 à 28 jours selon la forme clinique) est en 1ere ligne dans l'erythema migrans, la paralysie faciale périphérique isolée, les arthrites aigues, chroniques ou récidivantes et en 2eme ligne dans les neuroborrélioses (5). La doxycycline, 200 mg par jour, est considérée, dans une récente revue de la littérature, comme aussi efficace que la ceftriaxone dans certaines formes de neuroborrélioses (méningite, paralysie faciale périphérique, radiculites) (8). Elle pourrait être recommandée dans les formes neurologiques sans encéphalites.

Dans les formes modérées de **leptospiroses**, la doxycycline apporte probablement un bénéfice identique à l'amoxicilline (6).

En **conclusion**, la question actuelle est celle de l'utilisation de la doxycycline en 1ere intention dans le traitement des spirochétoses, en dehors des formes graves et de ses contre indications classiques. Pour des raisons de bonne tolérance et de bonne biodisponibilité par voie orale, la doxycycline est déjà préférée dans beaucoup de cas. Elle mériterait d'être plus précisément évaluée dans les formes ou une atteinte neurologique, en dehors des encéphalites, est présente.

Références

1. Caumes E, Janier M. Syphilis. Editions techniques Encycl Med Chir (Paris, France). Collection Maladies Infectieuses ; 2004, 8-039-A-10, 17 p.

2. Centers for Disease control and prevention. Sexually transmitted diseases treatment guidelines 2002. MMWR 2002; 51 (RR-6): 18-26.

3. Shann S, Wilson J. Treatment of neurosyphilis with ceftriaxone. Sex Transm Infect 2003; 79 : 415-416.

4. Dowell ME, Ross PG, Musher DM, Cate TR, Baughn RE. Response of latent syphilis or neurosyphilis to ceftriaxone therapy in persons infected with human immunodeficiency virus. Am J Med 1992; *93* : 481-487.

5. SPILF. Borréliose de Lyme : diagnostic, traitement et prévention. Texte court. Med Mal Inf 2007; 37: 187-93.

6. Bharti AR, Nally JE, Ricaldi JN, et al. Leptospirosis : a zoonotic disease of global importance. Lancet Infect Dis 2003; 3: 757-71.

7. Yim CW, Flynn NM, Fitzgerald FT. Penetration of oral doxycycline into the cerebrospinal fluid of patients with latent or neurosyphilis. Antimicrob Agents Chemother 1985; 28: 347-8

8. Halperin JJ, Shapiro ED, Logigian E, et al. Practice parameter: treatment of nervous system Lyme disease (an evidence-based review): report of the Quality Standards Subcommittee of the American Academy of Neurology. Neurology 2007; 69: 91-102.

159/38s 5 décembre 2008 - 09:00 - 342 B

Résistance du Cytomegalovirus aux antiviraux

S. Alain, S. Hantz, S. Cotin

Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Limoges, Centre National de Référence des Cytomégalovirus, EA3175, Faculté de Médecine de Limoges, France

Le cytomégalovirus est un beta herpèsvirus ubiquitaire, qui infecte 40 à 60% de la population, et persiste sous forme latente après la primo-infection. La gravité des infections à CMV au cours du sida, après transplantation d'organe ou de cellules souches hématopoiétiques, et au cours de toute pathologie nécessitant ou entraînant une immunodépression cellulaire importante (lymphome, corticothérapie prolongée) justifie l'utilisation de traitements antiviraux, curatifs et préventifs. Chez ces patients immunodéprimés, l'émergence de souches résistantes est une préoccupation, du fait de l'exposition prolongée ou répétée aux antiviraux, de charges virales parfois élevées ou persistant à faible taux de manière prolongée sous traitement, et de la difficulté de maintenir des doses efficaces d'antiviraux, en raison de leur toxicité hématologique ou néphrologique.

Les antiviraux actuellement disponibles en pratique clinique sont peu nombreux. Le ganciclovir (GCV) et sa prodrogue orale le valganciclovir (VGCV), le cidofovir (CDV), et le foscarnet (PFA) inhibent l'ADN polymérase virale pUL54. Seul le GCV dépend pour son activation d'une phosphorylation par la kinase virale, pUL97. Le cidofovir nucléotide monophosphate et le PFA analogue du pyrophosphate, inhibent directement la polymérase virale. L'aciclovir (ACV), molécule voisine du GCV, très efficace sur l'herpès simplex, est 40 fois moins actif que le GCV sur le CMV. La prodrogue de l'ACV, le valaciclovir (VCV) est de ce fait réservée à la prophylaxie de la maladie à CMV. Le maribavir (MBV) est un nouvel anti-CMV, actif sur les étapes tardives du cycle viral et sur la réplication virale par inhibition de la kinase virale pUL97[1]. Outre son rôle d'effecteur fortuit du GCV, cette kinase ubiquitaire interagit avec la lamina propria pour permettre la sortie des nucléocapsides hors du noyau, phosphoryle la protéine accessoire (pUL44) de la polymérase virale, et pourrait favoriser l'acquisition cytoplasmique du tégument [2-4]. Le MBV réduit la réplication virale chez le VIH [5] diminue la survenue d'infections à CMV après greffe de cellules souches hématopoiétiques, sans toxicité notable [6, 7]. Il est actuellement en essai de phase III en prophylaxie de la maladie à CMV en transplantation hépatique et de cellules souches hématopoiétiques. Mais n'est pas disponible en traitement curatif à ce jour.

Mécanismes de résistance : Les résistances au GCV résultent de mutations de pUL97 ou pUL54. Ces mutations ont été décrites à la fois dans des souches de laboratoire et dans des isolats cliniques. Les mutations de pUL97 sont les premières à apparaître. Elles confèrent une résistance au GCV, croisée avec l'ACV (VCV). Le niveau de résistance est variable selon les mutations. Si le traitement se prolonge, des mutations dans la polymérase peuvent apparaître conférant un niveau de résistance plus élevé, et le plus souvent une résistance croisée avec le CDV, parfois avec le PFA. Près de 80% des mutations de pUL97 portent sur les acides aminés 460 ou 520 ou sur la région 590 à 607, qui correspond à la région d'interaction avec le GCV. La position 460 est située dans le site catalytique de pUL97 à proximité du site de fixation de l'ATP [8]. Les mutations de la polymérase sont très nombreuses, réparties sur tout le gène, et situées dans les domaines conservés de la protéine [9, 10]. Les mutants de pUL97 conservent une capacité réplicative comparable à celle des souches sauvages, et ne présentent pas de pouvoir pathogène particulier, en dehors de leur avantage sélectif. Les mutations de la polymérase sont au contraire souvent défavorables à la réplication virale [11]. Si de nombreuses mutations de résistance ont été identifiées à ce jour, l'étude des échantillons cliniques issus de patients résistant au traitement montre l'émergence continue, bien que peu fréquente, de nouvelles mutations. Une approche structurale, basée sur un modèle tridimensionnel théorique de pUL97 ou de pUL54 (qui n'ont pas été cristallisées à ce jour) permet de suspecter le rôle de certaines mutations [11]. Celui-ci doit toutefois être démontré par l'obtention de virus recombinants résistants après transfert de la mutation à étudier.

Aucune mutation de résistance au MBV n'a été identifiée à ce jour au cours des essais cliniques de phase II et III. Des mutants possédant des niveaux de résistance variés ont été obtenus in vitro à partir de virus recombinants. Les mutations de résistance sont situées dans la partie N terminale de pUL97, au voisinage du site de fixation de l'ATP[8]. Ces résistances ne sont pas croisées avec les résistances au GCV. Toutefois l'inhibition de pUL97 par le maribavir interdit son association au GCV. Une deuxième protéine virale, pUL27, porte

des mutations conférant un bas niveau de résistance au MBV [13, 14] et pourrait intervenir dans le mécanisme d'action de pUL97.

Méthodes de recherche des résistances : Génotype /phénotype

Le phénotype de résistance permet de mesurer, à partir du virus en culture, les concentrations inhibant 50% et 90% (CI50 et CI90) de la croissance des souches. C'est la méthode de référence, indispensable pour mesurer l'efficacité de nouveaux antiviraux, apprécier le retentissement de mutations nouvelles sur la réplication virale et la sensibilité aux antiviraux, ou étudier les synergies et antagonismes entre les molécules. La méthode la plus utilisée est la mesure du nombre de foyers d'effet cytopathogènes en cinq jours [15]. La mesure de la réplication de l'ADN viral par PCR en temps réel standardise la lecture. En pratique, les concentrations inhibitrices des isolats cliniques vis-à-vis de ces molécules sont respectivement <6μM, <2μM et <400μM pour GCV, CDV et PFA [15, 16]. Toutefois, les difficultés rencontrées pour standardiser l'inoculum et la lecture des essais antiviraux conduisent à utiliser un index de sensibilité (CI50 de la souche à tester/CI50 d'une souche de référence testée dans la même manipulation), considérant une souche comme résistante si son index est supérieur à 3 [15].

Le génotype permet de rechercher directement les mutations de résistance à partir de l'ADN viral extrait d'échantillons cliniques. L'amplification de la totalité des gènes *UL97* et *UL54* est possible, avec un seuil de détection de 1000 copies/ml lorsqu'elle est appliquée au sang total (Alain S., données du CNR CMV). Elle permet d'identifier mutations connues et mutations nouvelles, directement au site de l'infection et de détecter des co-infections. Elle est utilisable à partir d'échantillons de faible charge virale, ne permettant pas l'isolement viral indispensable à la réalisation du phénotype. En dehors du RFLP, peu sensible, une méthode rapide basée sur l'amplification sélective par PCR en temps réel des souches sauvages ou mutées est en développement. Son application est cependant limitée aux mutations connues les plus fréquentes de pUL97.

Incidence et impact clinique des résistances :

Les facteurs favorisant l'émergence de résistance sont classiquement : un traitement de longue durée, une charge virale élevée dans le sang et une immunodépression intense. Ces facteurs sont idéalement réunis chez les patients VIH ayant moins de 100 CD4/mm3 et, en tranplantaion, dans les mois qui suivent la greffe. [17]. Au cours du SIDA, l'incidence de la résistance atteignait 27 à 37% après un an de traitement, avant l'ère des traitements antirétroviraux hautement actifs. Dans ces études, la probabilité d'émergence sous traitement de la résistance au PFA ou au CDV n'apparaît pas différente de celle de la résistance au ganciclovir[21-23].

En transplantation, la seule étude de cohorte concerne les greffes d'organes. Rétrospective et prospective [24] elle montre que la fréquence des résistances se situe entre 2,2% et 15% selon l'organe parmi les patients présentant une infection active à CMV après greffe, soit 0,45 à 2,2% des patients greffés. Au décours des traitements prophylactiques peu d'études sont disponibles. Au cours des études randomisées accompagnant le développement du valganciclovir dans des populations de patients ciblés et étroitement surveillées, la fréquence globale des résistances varie de 0% à 2,5% selon l'organe greffé [25]. Les autres travaux font état de taux de résistance variable, souvent dans de faibles populations, étudiées de manière rétrospective ou comparées à une population historique [26]. Pris ensemble, ces travaux montrent que le taux de résistance dépend de l'organe greffé, avec un risque maximal après transplantation pulmonaire, du statut sérologique du receveur, les résistances survenant essentiellement au décours de primo-infections, et du protocole d'immunosuppression utilisé [21]. Les données chez les receveurs de greffe de cellules souches hématopoïétiques sont parcellaires. Une étude de cohorte portant sur la population des greffés français a été récemment mise en place par le Centre National de Référence des Cytomégalovirus, afin de déterminer la fréquence des résistances en fonction des différentes options thérapeutiques, en greffe d'organe et en greffe de cellules souches hématopoiétiques. Les premiers résultats seront présentés.

Les souches résistantes, initialement minoritaires, peuvent être sélectionnées et devenir majoritaires à la faveur d'un nouvel épisode justifiant un traitement antiviral [18, 19]. Les conséquences de telles infections varient selon l'atteinte (maladie à CMV ou syndrome CMV, l'organe greffé et le degré d'immunodépression). Le risque pour le greffon et pour la survie du patient est celui d'une infection persistante à CMV mal contrôlée par le traitement, parfois fatale [20].

Quand suspecter une résistance/attitude pratique ? La réponse au traitement permet en général d'obtenir une charge virale indétectable en 3 semaines. Lorsque celle ci persiste au delà, il s'agit d'une non réponse au traitement. A l'origine, des facteurs virologiques (résistance), pharmacologiques (sous-dosage de l'antiviral ou mauvaise pénétration au site de l'infection), ou liés au terrain (immunosuppression…). Dans ce cas, la recherche de mutations de résistance permet de distinguer les patients non répondeurs ou les répondeurs lents (à fort risque de rechute) des véritables résistances, et d'adapter le traitement antiviral. Un dosage résiduel de l'antiviral, disponible au CNR-CMV pour le ganciclovir, peut être utile en l'absence de mutation de résistance. En cas de résistance, la diminution de l'immunosuppression permet parfois de juguler la réplication virale [27].

Conclusion : La résistance du CMV aux antiviraux peut être un problème préoccupant, notamment après transplantation. L'évolution peut être dramatique en cas de sélection d'une souche multirésistante, contre laquelle aucun antiviral n'est plus actif. Une utilisation rationnelle préservant l'efficacité des traitements antiviraux actuels, aidée des dosages et des recherches de résistances, l'avènement de nouvelles molécules ouvrant les possibilités thérapeutiques, devraient concourir à une amélioration de la prise en charge des infections à CMV chez l'immunodéprimé.

Références bibliographiques

[1] Lu H, Thomas S. Maribavir (ViroPharma). Curr Opin Investig Drugs. 2004 Aug;5(8):898-906.

[2] Prichard MN, Britt WJ, Daily SL, Hartline CB, Kern ER. Human cytomegalovirus UL97 Kinase is required for the normal intranuclear distribution of pp65 and virion morphogenesis. J Virol. 2005 Dec;79(24):15494-502.

[3] Krosky PM, Baek MC, Jahng WJ, Barrera I, Harvey RJ, Biron KK, et al. The human cytomegalovirus UL44 protein is a substrate for the UL97 protein kinase. J Virol. 2003 Jul;77(14):7720-7.

[4] Krosky PM, Baek MC, Coen DM. The human cytomegalovirus UL97 protein kinase, an antiviral drug target, is required at the stage of nuclear egress. J Virol. 2003 Jan;77(2):905-14.

[5] Wang LH, Peck RW, Yin Y, Allanson J, Wiggs R, Wire MB. Phase I safety and pharmacokinetic trials of 1263W94, a novel oral anti-human cytomegalovirus agent, in healthy and human immunodeficiency virus-infected subjects. Antimicrob Agents Chemother. 2003 Apr;47(4):1334-42.

[6] Winston DJ, Young JA, Pullarkat V, Papanicolaou GA, Vij R, Vance E, et al. Maribavir prophylaxis for prevention of cytomegalovirus infection in allogeneic stem cell transplant recipients: a multicenter, randomized, double-blind, placebo-controlled, dose-ranging study. Blood. 2008 Jun 1;111(11):5403-10.

[7] Lalezari JP, Aberg JA, Wang LH, Wire MB, Miner R, Snowden W, et al. Phase I dose escalation trial evaluating the pharmacokinetics, anti-human cytomegalovirus (HCMV) activity, and safety of 1263W94 in human immunodeficiency virus-infected men with asymptomatic HCMV shedding. Antimicrob Agents Chemother. 2002 Sep;46(9):2969-76.

[8] Chou S. Cytomegalovirus UL97 mutations in the era of ganciclovir and maribavir. Rev Med Virol. 2008 Jul-Aug;18(4):233-46.

[9] Fillet AM, Auray L, Alain S, C. A, Gourlain K, Imbert BM, et al. Natural polymorphism of cytomegalovirus DNA polymerase lies in two nonconserved regions located between domains delta-C and II and between domains III and I. Antimicrob Agents Chemother. 2004;48(5):1865-8.

[10] Chou S, Lurain NS, Thompson KD, Miner RC, Drew WL. Viral DNA polymerase mutations associated with drug resistance in human cytomegalovirus. J Infect Dis. 2003 Jul 1;188(1):32-9.

[11] Ducancelle A, Champier G, Alain S, Petit F, Le Pors MJ, Mazeron MC. A novel mutation in the UL54 gene of human cytomegalovirus isolates that confers resistance to foscarnet. Antivir Ther. 2006;11(4):537-40.

[12] Ducancelle A, Alain S, Petit F, Sanson Le Pors MJ, Mazeron MC. Development and validation of a non-radioactive DNA polymerase assay for studying cytomegalovirus resistance to foscarnet. J Virol Methods. 2006 Dec 29.

[13] Chou S. Diverse cytomegalovirus UL27 mutations adapt to loss of viral UL97 kinase activity under maribavir. Antimicrob Agents Chemother. 2008 Nov 3.

[14] Komazin G, Ptak RG, Emmer BT, Townsend LB, Drach JC. Resistance of human cytomegalovirus to the benzimidazole L-ribonucleoside maribavir maps to UL27. J Virol. 2003 Nov;77(21):11499-506.

[15] Houhou-Fidouh N, Mazeron MC, Dewilde A, Thouvenot D, Scieux C, Aissa N, et al. [Comparison of the in vitro sensitivity to cidofovir and ganciclovir of clinical cytomegalovirus isolates. Coordinated Action Group 11.]. Pathol Biol (Paris). 1998 Jun;46(6):420-2.

[16] Chou SW. Cytomegalovirus drug resistance and clinical implications. Transpl Infect Dis. 2001;3 Suppl 2:20-4.

[17] Emery VC, Griffiths PD. Prediction of cytomegalovirus load and resistance patterns after antiviral chemotherapy. Proc Natl Acad Sci USA. 2000;97:8039.

[18] Ducancelle A, Belloc S, Alain S, Scieux C, Malphettes M, Petit F, et al. Comparison of sequential cytomegalovirus isolates in a patient with lymphoma and failing antiviral therapy. J Clin Virol. 2004 Apr;29(4):241-7.

[19] Alain S, Honderlick P, Grenet D, Stern M, Vadam C, Sanson-Le Pors MJ, et al. Failure of ganciclovir treatment associated with selection of a ganciclovir-resistant cytomegalovirus strain in a lung transplant recipient. Transplantation. 1997 May 27;63(10):1533-6.

[20] Kruger RM, Shannon WD, Arens MQ, Lynch JP, Storch GA, Trulock EP. The impact of ganciclovir-resistant cytomegalovirus infection after lung transplantation. Transplantation. 1999;68:1272-9.

[21] Gilbert C, Boivin G. Human cytomegalovirus resistance to antiviral drugs. Antimicrob Agents Chemother. 2005 Mar;49(3):873-83.

[22] Weinberg A, Jabs DA, Chou S, Martin BK, Lurain NS, Forman MS, et al. Mutations conferring foscarnet resistance in a cohort of patients with acquired immunodeficiency syndrome and cytomegalovirus retinitis. J Infect Dis. 2003 Mar 1;187(5):777-84.

[23] Drew WL, Stempien MJ, Andrews J, Shadman A, Tan SJ, Miner R, et al. Cytomegalovirus (CMV) resistance in patients with CMV retinitis and AIDS treated with oral or intravenous ganciclovir. J Infect Dis. 1999 Jun;179(6):1352-5.

[24] Lurain NS, Bhorade SM, Pursell KJ, Avery RK, Yeldandi VV, Isada CM, et al. Analysis and characterization of antiviral drug-resistant cytomegalovirus isolates from solid organ transplant recipients. J Infect Dis. 2002;186:760-8.

[25] Boivin G, Goyette N, Gilbert C, Humar A, Covington E. Clinical impact of

ganciclovir-resistant cytomegalovirus infections in solid organ transplant patients. Transpl Infect Dis. 2005 Sep-Dec;7(3-4):166-70.

[26] Humar A, Kumar D, Preiksaitis J, Boivin G, Siegal D, Fenton J, et al. A trial of valganciclovir prophylaxis for cytomegalovirus prevention in lung transplant recipients. Am J Transplant. 2005 Jun;5(6):1462-8.

[27] Anglicheau D, Lautrette A, Scieux C, Flamant M, Morinet F, Legendre C. Efficacy and safety of lowering immunosuppression to treat CMV infection in renal transplant recipients on valaciclovir prophylaxis: a pilot study. Nephrol Dial Transplant. 2003 Aug;18(8):1654-6.

160/38s — 5 décembre 2008 - 09:20 - 342 B

Résistance du virus grippal aux inhibiteurs de neuraminidase

M. Rameix-Welti, S. Munier, V. Enouf, F. Cuvelier, P. Jeannin, S. Le Gal, N. Naffakh, S. van der Werf

Institut Pasteur, Unité de Génétique moléculaire des Virus à ARN, CNRS URA 3015, Paris, France

Les virus influenza A sont responsables d'infections respiratoires aiguës hautement contagieuses. Ils possèdent deux glycoprotéines de surface majeures, l'hémagglutinine (HA) et la neuraminidase (NA) dont les fonctions sont étroitement liées. La HA lie les acides sialiques présents à la surface des cellules et permet ainsi l'attachement du virus à la cellule, alors que la NA possède une activité sialidase qui détruit les récepteurs viraux et favorise le relarguage des virions néo-formés. Un bon équilibre entre les activités antagonistes de la HA et de la NA est nécessaire pour une multiplication virale optimale. Le zanamivir et l'oseltamivir ont été développés dans les années 90 par des procédures de modélisation moléculaire ayant pour cible spécifique la protéine NA. Ces molécules sont de puissants inhibiteurs compétitifs de la NA grippale. Plusieurs études cliniques ont mis en évidence le bénéfice d'un traitement précoce par le zanamivir (Relenza[â], traitement par inhalation de 10mg/j) ou par l'oseltamivir (Tamiflu[â], administration orale de 75-150mg/j) lors de l'infection naturelle par les virus grippaux de type A ou B chez l'homme.

La grande variabilité du génome des virus grippaux, liée au taux d'erreur élevé de l'ARN polymérase virale au cours de la réplication, favorise la sélection rapide de virus résistants à une molécule inhibitrice. Deux mécanismes de résistance aux inhibiteurs de la NA ont été mis en évidence lors d'expériences de sélection en culture sur cellules MDCK. Des mutations de la HA, réduisant l'affinité de la protéine pour son récepteur cellulaire, rendent le virus moins dépendant de son activité sialidase, et se traduisent par une résistance croisée vis-à-vis de tous les inhibiteurs de la NA. Les principales mutations de résistance aux anti-NA portent sur des résidus du site catalytique ou des résidus proches de ce site, et confèrent une résistance qui peut être soit spécifique du zanamivir ou de l'oseltamivir, soit croisée. La fréquence d'émergence de virus résistants chez des patients traités par les anti-NA est relativement faible (1-3% chez les adultes) (1) comparée à celle observée chez les patients traités avec les amantadanes (environ 30%). L'isolement de virus H5N1 porteurs de la mutation de résistance H274Y a été décrit chez 3 patients traités par l'oseltamivir (2, 3). Jusqu'en 2007, l'isolement de virus résistants aux anti-NA en l'absence de traitement demeurait exceptionnelle (4), alors que près de 80% des virus H3N2 circulants présentaient une mutation de résistance aux adamantanes. L'émergence et la circulation de virus porteurs d'une mutation de résistance aux anti-NA paraissaient limitées par le fait que les virus de ce type présentaient généralement des capacités réplicatives altérées, aussi bien in vitro que dans des modèles animaux (5, 6).

Pourtant au cours de la saison 2007-08 différents pays ont rapporté l'isolement, dans le cadre de la surveillance des virus grippaux circulants, de virus influenza A(H1N1) naturellement résistants à l'oseltamivir et présentant la mutation H275Y (H274Y suivant la numérotation N2) (7). Pour l'ensemble de la saison 2007-08 la prévalence de ces virus résistants a été maximale en Europe (25%) alors qu'elle est apparue plus faible en Amérique (17%) et en Asie (5%) ; en Europe, la prévalence des virus résistants était très variable selon les pays, les plus fortes étant retrouvées en Norvège (67%), en Belgique (53%) et en France (47%) (données OMS du 05/11/08).

La sensibilité aux anti-NA de la N1 des virus H1N1 isolés en France du Nord au cours de la saison 2007-2008 a été déterminée en utilisant la méthode fluorimétrique de dosage de l'activité neuraminidase. Sur 138 virus testés, 70 présentaient une sensibilité normale à l'OC avec des IC_{50} de 2,05nM en moyenne (0,54 à 6,6nM) alors que 68 virus présentaient des IC_{50} 100 à 5000 fois supérieures (798nM en moyenne ; 510 à 2500nM). Les résultats étaient en accord avec les données de séquence portant sur 132 N1, les virus phénotypiquement sensibles et résistants présentant respectivement une His et une Tyr en position 275. Aucune mutation clairement susceptible de compenser un effet négatif de la mutation H275Y n'a été mise en évidence, ni sur la N1 ni sur la H1 des virus résistants.

En revanche, l'étude des propriétés enzymatiques de la N1 des virus récents permet de proposer une hypothèse quant au mécanisme ayant abouti à la diffusion des virus H1N1 résistants. Pour une sélection de virus H1N1, les paramètres enzymatiques Km et Ki des N1 ont été déterminés par la méthode fluorimétrique de dosage de l'activité neuraminidase. Les résultats sont présentés dans le Tableau 1. Les N1 des virus de la saison 2007-08 portant la mutation H275Y présentent un Ki vis-à-vis de l'oseltamivir fortement augmenté par rapport aux virus sensibles (56±10 et 0.086±0.010 nM, respectivement ; $p<0.001$), ce qui indique une résistance à cet inhibiteur. Le Km des N1 des virus résistants est significativement plus élevé que celui des virus sensibles (9.9±1.2 et 19.4±2.9 µM, respectivement, $p<0.001$), traduisant une diminution de l'affinité de la N1-H274Y pour son substrat, en accord avec les données de la littérature (8, 9). Mais de manière remarquable, les N1 des virus sensibles de la saison 2007-08 présentent un Km pour le substrat significativement plus faible que celui des N1 des virus circulants antérieurement (9.0±1.2 et 28.0±2.7µM, respectivement ; $p<0.001$). Cette évolution de la N1 des virus de la saison 2007-08 ne semble pas s'accompagner de modifications de l'affinité de la HA pour son récepteur, d'après les données de séquences. Dans ces conditions l'altération de l'affinité des N1-H275Y pour leur substrat pourrait ne pas être défavorable au virus, et peut-être même aboutir à un meilleur équilibre HA/NA.

D'après la structure tridimensionnelle de la NA, trois des huit résidus qui distinguent les N1 des virus 2007-08 des virus antérieurs (les résidus 222, 249, 344) sont proches du site catalytique (10). D'après les données de séquence disponibles dans la base de Los Alamos, la combinaison Q222-K249-N344 typique des virus récents n'a jamais été observée avant 2007. Des études par mutagenèse dirigée pourraient permettre d'impliquer plus précisément tel ou tel résidu ou combinaison de résidus dans les variations d'affinité de la N1 pour son substrat. D'après nos résultats, la dérive génétique de la NA pourrait avoir conduit à la co-sélection de mutations augmentant l'affinité de la NA pour son substrat, et favorisant ainsi l'émergence et la diffusion de virus résistants. De tels événements sont susceptibles de se produire pour les virus H3N2 ou les virus H5N1, ce qui impose une surveillance étroite de l'affinité de la NA pour son substrat et ses inhibiteurs. En outre, on ne peut exclure l'existence de mutations sur d'autres gènes, en particulier sur les segments codant les protéines internes, qui pourraient accroître la vitalité virale, avoir été co-sélectionnées avec la mutation N1-H275Y et avoir favorisé la diffusion des virus résistants.

Références.

1. Aoki, F. Y., Boivin, G., & Roberts, N. (2007) *Antiviral therapy* **12,** 603-616.

2. de Jong, M. D., Tran, T. T., Truong, H. K., Vo, M. H., Smith, G. J., Nguyen, V. C., Bach, V. C., Phan, T. Q., Do, Q. H., Guan, Y*., et al.* (2005) *N Engl J Med* **353,** 2667-2672.

3. Le, Q. M., Kiso, M., Someya, K., Sakai, Y. T., Nguyen, T. H., Nguyen, K. H., Pham, N. D., Ngyen, H. H., Yamada, S., Muramoto, Y*., et al.* (2005) *Nature* **437,** 1108.

4. Monto, A. S., Comanor, L., Shay, D. K., & Thompson, W. W. (2006) *J Infect Dis* **194 Suppl 2,** S92-97.

5. Herlocher, M. L., Truscon, R., Elias, S., Yen, H. L., Roberts, N. A., Ohmit, S. E., & Monto, A. S. (2004) *J Infect Dis* **190,** 1627-1630.

6. Ives, J. A., Carr, J. A., Mendel, D. B., Tai, C. Y., Lambkin, R., Kelly, L., Oxford, J. S., Hayden, F. G., & Roberts, N. A. (2002) *Antiviral Res* **55,** 307-317.

7. Lackenby, A., Thompson, C. I., & Democratis, J. (2008) *Current opinion in infectious diseases* **21,** 626-638.

8. Rameix-Welti, M. A., Agou, F., Buchy, P., Mardy, S., Aubin, J. T., Veron, M., van der Werf, S., & Naffakh, N. (2006) *Antimicrob Agents Chemother*.

9. Wang, M. Z., Tai, C. Y., & Mendel, D. B. (2002) *Antimicrob Agents Chemother* **46,** 3809-3816.

10. Russell, R. J., Haire, L. F., Stevens, D. J., Collins, P. J., Lin, Y. P., Blackburn, G. M., Hay, A. J., Gamblin, S. J., & Skehel, J. J. (2006) *Nature*.

170/40s — 5 décembre 2008 - 09:25 - 351

Tests de diagnostic rapide du paludisme : faut-il étendre leur utilisation dans les pays du Nord ?

M. Thellier, M. Danis

Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Première endémie parasitaire mondiale, le paludisme reste un problème majeur de santé publique. Il est responsable, en zone d'endémie, de 250 millions d'accès cliniques aigus (190 à 330) et tue environ 1 million de personnes tous les ans (Collectif, WHO, 2008).

En Europe, dans la même période, le paludisme importé touche environ 10 000 personnes et cause une centaine de décès (Muentener *et al*., 1999). Un diagnostic rapide et fiable est donc une nécessité absolue pour tous les laboratoires d'analyse médicale. Les techniques de microscopie conventionnelles, le frottis sanguin mince (FSM), pour l'identification de l'espèce parasitaire et la mesure de la parasitémie et la goutte épaisse (GE), pour la sensibilité, sont les techniques de référence pour le diagnostic. Cependant, parce que la technique de GE n'est réalisée que dans cette seule indication et du fait de la faible fréquence de la maladie, -65% des laboratoires d'analyses médicales en France métropolitaine ne déclarent aucun cas de paludisme par an-, cette technique est mal maîtrisée par de nombreux biologistes (enquêtes AFSSAPS/CNR du paludisme année 1997, 1999 et 2004). De nouvelles techniques sont développées, de microscopie utilisant des fluorochromes (acridine orange) tel le QBC malaria testÒ, de détection antigénique sur bandelettes (HRP2, pLDH), de biologie moléculaire (PCR, PCR nichées, PCR quantitatives), ou encore de détection automatique de pigments dans des automates de formule sanguine. Les automates se formule sanguine ne sont pas encore suffisamment sensibles (Se=62%) pour la détection des trophozoïtes jeunes de *Plasmodium falciparum* (Wever *et al.,* 2002). La PCR et le QBC malaria test nécessitent un équipement spécifique et leur coût unitaire reste élevé. Actuellement, seule la détection d'antigène spécifique à l'aide de bandelettes immunoréactives individuelles présente un réel intérêt pour ce diagnostic. Ces tests dits de diagnostic rapide (TDR), peuvent être réalisés en moins de 30 minutes et avec un équipement minimum puisqu'un prélèvement capillaire au bout du doigt est suffisant. Plusieurs tests, sous forme de kits individuels prêts à l'emploi, sont disponibles et enregistrés auprès de l'AFSSAPS ou de l'union européenne. Tous permettent la détection spécifique de *P. falciparum*. La plupart détectent par immunochromatographie

grâce à un anticorps monoclonal l'antigène histidine-rich protein 2 (HRP2), un seul détecte une iso enzyme de la lactate déshydrogénase parasitaire de *P. falciparum* (pLDH-*Pf*). La plupart permettent également la détection d'un antigène commun dit « pan malaria » (APM). Il s'agit le plus souvent d'une iso enzyme de la LDH parasitaire (pLDH-com) et dans un cas d'une aldolase d'origine parasitaire. Enfin, quelques tests permettent également la détection spécifique de *P. vivax* (pLDH-*Pv*). L'HRP2 est secrété par les stades asexués ou les gamétocytes jeunes, mais non les gamétocytes âgés de l'espèce *P. falciparum* (Howard *et al*., 1986). Cet antigène persiste dans le sang de 5-7 jours à plus de 3 semaines après la disparition des parasites. La pLDH-*Pf* est produite par tous les stades parasitaires, y compris les gamétocytes à différents stades de développement (Oduola *et al*., 1997). Elle disparaît rapidement, 3 à 5 jours, après instauration du traitement curatif de l'accès. L'activité de l'enzyme est corrélée à la parasitémie. La pLDH-com est produite par tous les *Plasmodiums* humains. Elle a les mêmes caractéristiques que la pLDH-*Pf.* Les caractéristiques de l'aldolase sont peu décrites dans la littérature. En cas d'infection à *P. vivax*, cet antigène peut persister dans le sang jusqu'à 14 jours après un traitement bien conduit et cette persistance est statistiquement liée à la présence de gamétocytes de cette espèce (Tjitra *et al.*, 2001). Dans les pays tropicaux d'endémie palustre, l'utilisation de ces tests de diagnostic rapide constitue un progrès notable pour la prise en charge des fièvres dans les centres de santé périphériques ne disposant pas de microscope, pour peu que le programme national de lutte finance leur achat (Rakotonirina *et al.* 2008).

Concernant la performance des tests hors zone d'endémie, une méta analyse réalisée par A. Marx et al. en 2005 pour déterminer les performances des TDR chez les voyageurs non immuns de retour de zone d'endémie est la plus informative. Elle analyse 21 études et 5747 cas et rapporte pour le diagnostic de *P. falciparum*, une sensibilité de 88 à 99% vs 79 à 95% et une spécificité de 95 à 100% vs 98 à 100% pour respectivement l'antigène HRP-2 et l'antigène pLDH-*Pf.* Pour les autres espèces, la spécificité reste excellente mais la sensibilité est décevante, quelque soit l'antigène utilisé. On obtient ainsi pour *P. vivax* des valeurs comprises entre 46 et 93% vs 62 et 93% pour respectivement l'aldolase et pLDH-com et pour *P. ovale* entre 7 et 80% vs 36 et 95% pour toujours l'aldolase et la pLDH-com. La performance des tests en fonction de la parasitémie n'est interprétable que pour l'Ag HRP2. Elle est jugée peu satisfaisante pour les parasitémies inférieures à 100 parasites par µl, (rapport de vraisemblance négative 0,33 [0,22-0,50]), bonne pour les parasitémies comprises entre 101 et 1000 parasites par µl, (rapport de vraisemblance négative 0,07 [0,03-0,17]), et excellente pour les parasitémies supérieures à 1000, (rapport de vraisemblance négative 0,03 [0,01-0,09]). Toujours pour l'antigène HRP2, les faux négatifs pour *P. falciparum* représentent 6,8% des cas. La moitié (53%) correspond à des parasitémie très faibles, inférieure à 100 par µl. Seuls des gamétocytes sont retrouvés dans 21% des cas. Dans 15% des cas cependant la parasitémie est comprise entre 101 et 1000 parasites par microlitres et dans 12% des cas elle est supérieure à 1000. Les caractéristiques de ces cas sont rarement décrites mais on évoque des isolats mutants pour la protéine HRP2 (Lee *et al.,* 2006). Pour les tests de première génération, des réactions croisées à l'origine de faux positifs sont décrites pour 26% des patients avec un facteur rhumatoïde circulant pour l'antigène HRP2, contre 3% seulement pour l'Ag pLDH-com (Iqbal *et al.*, 2000). Les tests de nouvelle génération sont plus performants et les faux positifs concernent essentiellement des patients en fin d'accès, sous chimioprophylaxie ou traités de façon empirique pour le paludisme avant la réalisation d'un test diagnostic.

Au total, les TDR pour le diagnostic de paludisme représentent un progrès indéniable dans le diagnostic de paludisme. Ces tests sont généralement sensibles et spécifiques pour l'espèce *P. falciparum*, de réalisation rapide, (15-30 minutes) et ne nécessitent pas un personnel spécialisé. En revanche, ils ne sont pas quantitatifs et, pour la majorité, ne permettent pas le diagnostic d'espèce des plasmodiums autres que *P. falciparum*. Certains défauts sont encore plus gênants : la possibilité de parasites mutants pour l'antigène HRP-2 et des variations parfois importantes des performances des tests en fonction des lots de fabrication. Ces techniques ne peuvent donc pas se substituer à la microscopie optique. En France métropolitaine et en support de la microscopie, l'antigène HRP2, du fait de sa meilleure sensibilité, doit être préféré au pLDH-Pf pour le diagnostic de *P. falciparum.* On peut ainsi proposer le schéma suivant en fonction de l'expertise du laboratoire pour ce diagnostic : i/ pour les laboratoires avec moins de 100 demandes par an (moins de 10 cas diagnostiqués de paludisme par an), réalisation systématique d'une GE et d'un FSM (inscrits à la nomenclature des actes) associés à une bandelette détectant HRP2 pour écarter un diagnostic de *P. falciparum* en cas de doute sur le FSM (*P.falciparum* âgé avec du pigment que l'on peut confondre avec *P.* malariæ ou suspicion de co-infection). Pour les cas négatifs en microscopie et positifs ou douteux à la bandelette, congeler systématiquement 1 ml de sang prélevé sur anticoagulant (EDTA) et adresser la lame et le sang congelé à un laboratoire de référence pour complément d'analyse ii/ pour les laboratoires plus fréquemment confrontés au diagnostic, CHU, CHG et grosses structures privées, la stratégie doit être plus élaborée : une GE doit être réalisée en première intention, le FSM étant coloré et lu uniquement en cas de GE positive. Les bandelettes immunoréactives pour la détection d'antigènes et les techniques de PCR venant compléter l'arsenal pour résoudre, sur décision du biologiste, certains problèmes particuliers.

Collectif. WHO Expert committee on malaria. World Malaria Report 2008. *World Health Organization*, Sept 2008.

Howard RJ, Uni S, Aikawa M, Aley SB, Leech JH, Lew AM, Wellems TE, Rener J, Taylor DW. Secretion of a malarial histidine-rich protein (Pf HRP II) from *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes. *J. Cell. Biol.,* 1986 ; 103 : 1269-1277.

Iqbal J, Sher A, Rab A. *Plasmodium falciparum* histidine-rich protein 2-based immunocapture diagnostic assay for malaria: cross-reactivity with rheumatoid factors. *J. Clin. Microbiol.,* 2000 ; 38 : 1184-1186.

Lee N, Baker J, Andrews KT, Gatton ML, Bell D, Cheng Q, McCarthy J. Effect of sequence variation in *Plasmodium falciparum* histidine- rich protein 2 on binding of specific monoclonal antibodies: Implications for rapid diagnostic tests for malaria. J Clin Microbiol. 2006 ;44 :2773-8.

Marx A, Pewsner D, Egger M, Nüesch R, Bucher HC, Genton B, Hatz C, Jüni P. Meta-analysis: accuracy of rapid tests for malaria in travelers returning from endemic areas. Ann Intern Med. 2005 May 17;142 :836-46.

Muentener P, Schlagenhauf P, Steffen R. Imported malaria (1985-95): trends and perspectives. Bull World Health Organ. 1999;77 :560-6.

Oduola AM, Omitowoju GO, Sowunmi A, Makler MT, Falade CO, Kyle DE, Fehintola FA, Ogundahunsi OA, Piper RC, Schuster BG, Milhous WK. *Plasmodium falciparum*: evaluation of lactate dehydrogenase in monitoring therapeutic responses to standard antimalarial drugs in Nigeria. *Exp. Parasitol.,* 1997 ; 87 : 283-289.

Rakotonirina H, Barnadas C, Raherijafy R, Andrianantenaina H, Ratsimbasoa A, Randrianasolo L, Jahevitra M, Andriantsoanirina V, Ménard D. Accuracy and reliability of malaria diagnostic techniques for guiding febrile outpatient treatment in malaria-endemic countries. Am J Trop Med Hyg. 2008 ;78 :217-21.

Tjitra E, Suprianto S, Mc Broom J, Currie BJ, Anstey NM. Persistent ICT malaria P.f/P.v panmalarial and HRP2 antigen reactivity after treatment of *Plasmodium falciparum* malaria is associated with gametocytemia and results in false-positive diagnoses of *Plasmodium vivax* in convalescence. *J. Clin. Microbiol.,* 2001 ; 39 : 1025-1031.

Wever PC, Henskens YM, Kager PA, Dankert J, van Gool T. Detection of imported malaria with the Cell-Dyn 4000 hematology analyzer. J Clin Microbiol. 2002 Dec;40 :4729-31.

171/40s 5 décembre 2008 - 09:50 - 351

Tests de dépistage rapide de portage de SARM : faut-il les implanter ?

F. Laurent

Laboratoire de Bactériologie, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence des Staphylocoques, Inserm U851, Université Lyon 1, Lyon, France

La lutte contre les infections nosocomiales constitue un enjeu de santé publique. En France, la proportion importante de staphylocoques dorés résistants à la méticilline (SARM) en milieu hospitalier en fait l'adversaire principal. Ces SARM représentent une menace notamment dans les services de soins intensifs et de réanimation qui concentrent des patients à haut risque infectieux nécessitant des hospitalisations prolongées, de nombreuses procédures invasives, et soumis à une forte pression antibiotique. Après une phase d'acquisition par transmission croisée manuportée, la seconde phase est celle de la colonisation (ou portage) qui, à la faveur de circonstances particulières le plus souvent liées à l'hôte sert de point de départ à une infection. Ces infections à SARM entraîne un allongement de la durée d'hospitalisation (> une semaine), un surcoût financier de l'ordre de 14 000 à 28 000 euros et un surcroît de morbidité voire de mortalité, un surcroît de pression de sélection pare l'emploi des antibiotiques utilisés, un risque de diffusion hospitalière et extra-hospitalière secondaires.

Dans ce contexte, le dépistage du SARM peut avoir plusieurs objectifs :

. mesures de prévention collectives avec identification des porteurs et mise en place de précautions spécifiques d'isolement ou levée de ces précautions en cas de mise en œuvre systématique de cet isolement au moment de l'admission,

. mesures individuelles avec éradication du portage ou adaptation de l'antibioprophyllaxie chirurgicale.

Ce dépistage, à partir d'écouvillonnage au niveau du nez et/ou de la peau et/ou de la gorge et/ou du rectum est classiquement réalisé par des techniques de culture sur milieux spécifiques sélectifs qui permettent d'obtenir un résultat seulement après 24 à 48 heures d'incubation. Le développement de nouvelles technologies rapides notamment basées sur la détection de séquences génétiques spécifiques des SARM offrent de nouvelles perspectives.

L'objectif de cette présentation est de faire un bilan des éléments techniques, économiques et scientifiques permettant d'évaluer l'opportunité de la mise en place des tests de dépistage rapide de portage des SARM.

183/44s 5 décembre 2008 - 11:00 - HAVANE

Méthodes de diagnostic moléculaire (séquençage, puces, PCR multiplexe)

J.M. Rolain

URMITE CNRS-IRD UMR 6236, Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université de la Méditerranée, Marseille, France

Au cours de la dernière décennie, l'activité des laboratoires de microbiologie clinique a été bouleversée par l'introduction des techniques de biologie moléculaire et l'automatisation des laboratoires. Dans l'avenir, il sera nécessaire de développer des techniques de diagnostic plus rapides, d'augmenter l'automatisation des tests et d'avoir une plus grande adaptabilité pour pouvoir faire face aux nouvelles menaces infectieuses, en particulier les agents de bioterrorisme et les pathogènes émergents. L'association de nouveaux outils qui sont actuellement en cours de développement dans les

laboratoires de recherche, la réorganisation générale des laboratoires d'analyse de biologie médicale et l'amélioration des systèmes de communications entre les cliniciens et les microbiologistes cliniques conduiront à de profonds changements dans la façon de travailler des microbiologistes. La biologie moléculaire est omniprésente en biologie médicale et plus particulièrement en microbiologie. De nombreux articles démontrent son importance tant dans le domaine du diagnostic que du pronostic, de l'évaluation thérapeutique, de l'épidémiologie ou des risques biologiques naturels ou non. La quantité considérable d'articles sur ce sujet, n'apporte pas toujours une réponse évidente sur le rôle de la biologie moléculaire dans un laboratoire de microbiologie qu'il soit hospitalier ou non. Les techniques de biologie moléculaire pour la détection et la caractérisation des microorganismes ont révolutionné le diagnostic en microbiologie et font maintenant partie intégrante de l'activité de routine de nombreux laboratoires hospitaliers. En particulier la PCR, le séquençage et la PCR en temps réel ont permis d'ouvrir la voie d'une nouvelle ère qui permet une détection rapide de microorganismes dits fastidieux ou émergents qui n'étaient pas habituellement détectés par les techniques traditionnelles. De la même manière, l'utilisation de ces techniques, en particulier le séquençage, permettent dorénavant de détecter et d'identifier les gènes de résistance aux agents anti-infectieux et donnent des informations épidémiologiques sur les épidémies à l'aide des techniques de génotypage. Les traitements de certains microorganismes ont été améliorés par la détection de la résistance aux antiviraux et à l'utilisation de la PCR quantitative qui permet de calculer la charge virale et ainsi de surveiller le suivi thérapeutique des patients au cours de leurs traitements. Enfin, l'utilisation de PCR dites multiplex, en temps réel, ainsi que l'amélioration des performances des automates conduisent à une diminution considérable du coût des techniques moléculaires. Cette présentation vise à évaluer l'utilité des méthodes moléculaires utilisées dans les laboratoires de microbiologie clinique. Nous donnerons quelques exemples de cette nouvelle activité de routine pour le diagnostic de pathologies liées à des pathogènes fastidieux et également des exemples d'utilisation de ces techniques pour le diagnostic rapide des méningites bactériennes et virales ou pour la détection du portage de streptocoque B chez la femme enceinte qui ont des conséquences immédiates sur la prise en charge des patients.

Références

(1) Raoult D, Fournier PE, Drancourt M. Clinical microbiology in the future. Nature Microbiol Rev 2004 Feb;2(2):151-9

(3) Margulies M, Egholm M, Altman WE, et al. Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. Nature **2005 Sep 15**; 437(7057):376-80.

184/44s 5 décembre 2008 - 11:15 - HAVANE

Le diagnostic sérologique

F. Gouriet

Faculté de Médecine, Marseille, France

Le diagnostic microbiologique repose sur plusieurs méthodes de détection directes des pathogènes telles que la culture (axénique ou cellulaire), la microcopie électronique, la cytométrie en flux, l'immunofluorescence directe [1], la PCR ou Polymerase Chain Reaction, mais aussi sur des méthodes de diagnostic indirects : la sérologie. Les sérologies sont utiles dans le cadre du diagnostic étiologique des agents infectieux de cultures difficiles, les bactéries intracellulaires strictes et/ou facultatives ou non cultivable ou encore les agents viraux.

L'immunofluorescence indirecte (IFI) et l'ELISA sont les techniques sérologique les plus utilisées pour détecter la présence des anticorps spécifiques. L'IFI est utilisée pour détecter un large panel d'agent infectieux incluant : *Legionella pneumophila*, *Coxiella burnetii*, *Chlamydophila pneumoniae* et *Chlamydiae psitacci*, et *Francisella tularensis*. Cette technique est facile à réaliser avec une bonne sensibilité et une bonne spécificité, elle permet la quantification des anticorps. De plus, l'utilisation de plusieurs fluorochromes permet la détection des différentes classes telles que les IgG et les IgM. Cependant la lecture de la fluorescence reste opérateur dépendant et sa lecture est subjective. Son interprétation est parfois difficile liée aux réactions non spécifiques. Les endocardites à hémocultures négatives sont dues à des bactéries fastidieuses [2], incluant *Coxiella burnetii* et *Bartonella* spp., et plus rarement *Brucella melitensis* et *L. pneumophila*. Le diagnostic microbiologique de telles infections repose essentiellement sur la sérologie. L'immunofluorescence indirecte (IFI) est la méthode sérologique la plus utilisée et elle est la méthode de référence pour *C. burnetii* et *Bartonella* spp. L'IFI permet d'obtenir un permet un diagnostic rapide ces infections selon des critères précis. L'ELISA combine simplicité et spécificité, elle est très utilisée pour le diagnostic des maladies infectieuses. L'ELISA est utilisée pour les études épidémiologiques notamment dans le cadre de screening d'un grand nombre nombreux agents infectieux *C. pneumoniae* [3] et *Mycoplasma pneumoniae* [4]. Cette technique est adaptable et très sensible. Son principal inconvénient est la présence de faux positifs. D'autres techniques sérologiques sont utilisées comme la réaction de fixation du complément utilisée pour le sérodiagnostic de *M. pneumoniae* [5]. Les techniques d'agglutination sont utilisées pour la détection des anticorps contre divers agents infectieux tels que *Treponema pallidum* (TPPA et VRDL), *F. tularensis*.

En microbiologie, jusqu'à présent la prescription des examens ciblait un diagnostic étiologique précis, actuellement l'évolution se fait vers la prescription d'un panel de tests regroupant les étiologies responsables d'un syndrome donné y compris les pathogènes émergents. Le nombre d'agents étiologiques pouvant être testés simultanément est illimité. Ainsi, une stratégie de diagnostic par syndrome peut être développée au sein du laboratoire de microbiologie [6]. Cette stratégie de diagnostic exhaustive par syndrome sous forme de « Kits » a déjà été utilisée dans notre laboratoire. Ces kits regroupent la recherche d'agents étiologiques dans des thématiques diverses telles que les pneumopathies nosocomiales [7], les fièvres au retour d'un pays tropical [8], les arthrites et les ostéites [9], les endocardites [10], les péricardites [11,12] les uvéites[13], les méningo-encéphalites, les infections chez les patients sans domicile fixe [14]. Ce balayage systématique et exhaustif des différents agents pathogènes au travers des ces différents « kits » optimise et standardise le diagnostic microbiologique. Dans ce cadre, le développement de micropuces «anti-infectieuses » est tout à fait indiqué. Une des premières micropuces «anti-infectieuses» réalisée dans le cadre des infections acquises au cours de la grossesse a été constituée à l'aide d'antigènes du cytomégalovirus, du virus de la rubéole, du virus herpès simplex HSV1 et HSV2 et de *Toxoplasma gondii*, en déposant 49 spots représentant 6 répliques du même antigène [15] permettant un dépistage simultané et précoce de ces infections, indispensable pour leur prise en charge. Le bioterrorisme a fait également [16] l'objet de puce antigénique. En effet ces agents infectieux sont caractérisés par leur facilitée de dissémination dans l'environnement et leur taux de morbidité et de mortalité dans les plus brefs délais autorisant une prise en charge rapide et optimale de la population cible. Au sein de notre laboratoire, nous avons développé en partenariat avec la Startup InoDiag, une puce antigénique dédiée au sérodiagnostic des endocardites à hémocultures négatives [6,17] et des pneumopathies atypiques [18].

Les stratégies de diagnostic exhaustif par les microarray antigéniques constituent les développements technologiques les plus récents en matière de diagnostic microbiologique adapté au diagnostic par syndrome. Cette technologie est en pleine essor et possède l'avantage de pouvoir comparer et caractériser simultanément un grand nombre d'antigène tout en remplaçant de nombreux tests individuels par un seul et évaluer plusieurs paramètres en parallèle dans des échantillons biologiques variés.

Références

1. Rolain JM, Gouriet F, Enea M, Aboud M, Raoult D: **Detection by immunofluorescence assay of *Bartonella henselae* in lymph nodes from patients with cat scratch disease.** *Clin Diagn Lab Immunol* 2003, **10:** 686-691.
2. Brouqui P, Raoult D: **Endocarditis due to rare and fastidious bacteria.** *Clin Microbiol Rev* 2001, **14:** 177-207.
3. Hermann C, Gueinzius K, Oehme A, Von Aulock S, Straube E, Hartung T: **Comparison of quantitative and semiquantitative enzyme-linked immunosorbent assays for immunoglobulin G against *Chlamydophila pneumoniae* to a microimmunofluorescence test for use with patients with respiratory tract infections.** *J Clin Microbiol* 2004, **42:** 2476-2479.
4. Waites KB, Talkington DF: ***Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen.** *Clin Microbiol Rev* 2004, **17:** 697-728, table.
5. Waites KB, Talkington DF: ***Mycoplasma pneumoniae* and its role as a human pathogen.** *Clin Microbiol Rev* 2004, **17:** 697-728, table.
6. Gouriet F, Raoult D: **Diagnostic microbiologique: du diagnostic par étiologie au diagnostic par syndrome.** *Antibiotiques* 2008, **In press**.
7. Berger P, Papazian L, Drancourt M, La SB, Auffray JP, Raoult D: **Ameba-associated microorganisms and diagnosis of nosocomial pneumonia.** *Emerg Infect Dis* 2006, **12:** 248-255.
8. Brouqui P, Rolain JM, Foucault C, Raoult D: **Q fever and *Plasmodium falciparum* malaria co-infection in patient returning from a patient returning from the comores archipelago.** *Am J Trop Med Hyg* 2005, **73:** 1028-1030.
9. Fenollar F, Roux V, Stein A, Drancourt M, Raoult D: **Analysis of 525 samples to determine the usefulness of PCR amplification and sequencing of the 16S rRNA gene for diagnosis of bone and joint infections.** *J Clin Microbiol* 2006, **44:** 1018-1028.
10. Raoult D, Casalta JP, Richet H, Khan M, Bernit E, Rovery C *et al.*: **Contribution of systematic serological testing in diagnosis of infective endocarditis.** *J Clin Microbiol* 2005, **43:** 5238-5242.
11. Levy PY, Corey R, Berger P, Habib G, Bonnet JL, Levy S *et al.*: **Etiologic diagnosis of 204 pericardial effusions.** *Medicine (Baltimore)* 2003, **82:** 385-391.
12. Levy PY, Khan M, Raoult D: **Acute pericarditis.** *N Engl J Med* 2005, **352:** 1154-1155.
13. Drancourt M, Berger P, Terrada C, Bodaghi B, Conrath J, Raoult D *et al.*: **High prevalence of fastidious bacteria in 1,520 cases of uveitis of unknown etiologies.** *Medicine (Baltimore)* 2008, **In press**.
14. Raoult D, Foucault C, Brouqui P: **Infections in the homeless.** *Lancet Infect Dis* 2001, **1:** 77-84.
15. Mezzasoma L, Bacarese-Hamilton T, Di CM, Rossi R, Bistoni F, Crisanti A: **Antigen microarrays for serodiagnosis of infectious diseases.** *Clin Chem* 2002, **48:** 121-130.
16. Biagini RE, Sammons DL, Smith JP, MacKenzie BA, Striley CA, Robertson SA *et al.*: **Simultaneous measurement of specific serum IgG responses to five select agents.** *Anal Bioanal Chem* 2005, **382:** 1027-1034.
17. Samson L, Drancourt M, Casalta JP, Raoult D: **Corpuscular antigenic microarray for the serodiagnosis of blood culture-negative endocarditis.** *Ann N Y Acad Sci* 2006, **1078:** 595-596.
18. Gouriet F, Drancourt M, Raoult D: **Multiplexed serology in atypical bacterial pneumonia.** *Ann N Y Acad Sci* 2006, **1078:** 530-540.

186/44s — 5 décembre 2008 - 11:45 - HAVANE

Spectrométrie de masse appliquée à l'identification en bactériologie

G. Prévost[2], W. Moussaoui[2], P. Riegel[2], A. Birgy[2], A. Gonzalez[3], F. Delalande[4], S. Sanglier[4], J.M. Scheftel[2], M. Kostzreva[1], Y. Piémont[2]
[1]Bruker Daltonics, Leipzig, Allemagne [2]Laboratoire de Bactériologie [3]Laboratoire de Médecine Légale, CHRU – Université Louis Pasteur [4]UMR-7178, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France

Introduction : L'évolution des exigences de qualité et d'économie de la Santé recommande de meilleurs délais et un coût révisé des analyses biologiques, et bactériologiques en particulier. Parmi les pistes explorées, l'identification grâce à la spectrométrie de masse (Matrix-Assisted Laser Desorption Ionization-Time Of Flight mass spectrometry, MALDI-TOF)est une technique émergente. Basée sur une extraction et l'identification des protéines abondantes de la bactérie, soit les protéines ribosomales et des protéines de membranes, la MALDI-TOF/MS permet d'accéder à un niveau important de différentiation des bactéries. Certaines sociétés proposent désormais une banque de données et un logiciel de comparaison de spectres de masses, permettant d'assigner une identification pour des souches bactériennes inconnues, mais aussi d'établir des niveaux de distance entre des spectres obtenus pour des bactéries d'une même espèce. Un nombre croissant de publications atteste des possibilités d'application de la technologie à des genres bactériens très variés. Nous avons eu l'occasion de tester un système proposé par la société Bruker Daltonics en le positionnant en parallèle des identifications phénotypiques bactériennes (hors mycobactéries).

Matériels et Méthodes : Le spectromètre de masse mis à disposition durant une période de quatre semaines est de type MicroFlex II™ (Bruker Daltonics). Une étude sur la qualité d'identification a été réalisée en fonction du temps après culture, de l'influence de milieux de culture. Afin de ne pas désorganiser l'ensemble de l'activité du Laboratoire d'analyses, plusieurs seulement des secteurs d'activité (hémocultures, coprocultures, pus, urocultures, anérobies, prélèvements respiratoires et de vénéréologie) participait à la collecte de souches cultivables réisolées sur gélose. Enfin, si l'extraction protéique utilisant des solvants tels que l'acétonitrile et l'acide formique a été effectuée pour chaque souche inclue dans l'étude, un certain nombre d'identification a été comparé à une technique de dépôt direct sur les plaques support du spectromètre MALDI-TOF. Les identifications étaient réalisées en double.

La banque de données : Elle est fixée en assignant un spectre de masse caractéristique pour chaque souche bactérienne dont la séquence de l'ARN 16S a été préalablement déterminée. Les spectres enregistrés sont des spectres moyens après plusieurs analyses. Ils fixent également une pondération sur la présence de certains peptides pouvant être considérés comme caractéristiques d'espèce. A ce jour, cette banque compte plus de 3100 entrées pour plus de 1800 espèces différentes de microorganismes.

Le logiciel BioTyper 1.2™ : D'une approche intuitive, l'algorithme utilisée permet de visualiser la correspondance entre le spectre échantillon et le spectre des souches de microorganismes fixé dans la banque de données. Entre autres paramètres, il fournit trois identifications les plus probables et un score de fiabilité/homologie de l'identification par rapport à la référence de la banque de données. Lorsque la représentation de l'espèce est suffisamment représentée, l'identification peut comporter trois réponses identiques. L'ensemble proposé permet, dans les conditions d'acquisition de résultats recommandées, l'obtention de 96 spectres classés dans un délai de 80 min. Ce logiciel permet également une approche plus individualisée de la comparaison des souches bactériennes entre elles, laissant ainsi un ouverture à l'épidémiologie et le classement des souches dans un délai continu à l'identification et pour un coût égal.

Résultats : Nous avons pu constater que pourvu que les boîtes de culture soient conservées, une identification reste possible et efficace à partir de boîtes conservées jusqu'à 54 heures à température ambiante ou à +4°C après culture, quelque soit les milieux considérés (géloses sang, chocolat, Drigalski, Mueller-Hinton, Columbia, BCYE,...). En incluant l'extraction des protéines des souches bactériennes, l'identification de 48 souches à partir de boîtes de réisolement peut être obtenue par une seule personne dans un délai de 150 min. Il doit être noté que l'étape d'identification par le logiciel BioTyper 1.2™ dont nous disposions prend plus de temps que la réalisation d'un spectre de masse lui-même (15 s/spectre), ce qui peut permettre un placement « à la file » des identifications à effectuer.

Au total, ce sont 531 identifications qui ont été réalisées. Les entérobactéries représentent 38%, le groupe staphylocoque + streptocoque + entérocoque représente 23%, les anaérobies 12%, les aérobies strictes 14% ; les autres sont des bactéries diverses ou fastidieuses. L'identification en double a uniquement permis de corriger quelques erreurs humaines ; il n'y a jamais eu de discordance de réponse imputable à l'équipement.

Les résultats d'identification montrent une concordance avec les approches classiques pour 87% des souches. Dans le cas où les bactéries anaérobies (64 souches) sont exclus, la concordance s'élève à 93%. Les entérobactéries, les entérocoques et les staphylocoques ont plus de 95% de concordance alors que les streptocoques et *Pseudomonas* et apparentés ont une concordance de 82% et 86%, respectivement. Seulement 57% des souches de *S. maltophilia* sont correctement identifiées. Les anaérobies présentent une concordance insuffisante (43%) notamment pour le genre *Clostridium* et met en reflet quelques lacunes de la banque de données où certaines espèces ne sont pas encore représentées ou encore à un seul exemplaire. En ne retenant que les identifications ayant un score de fiabilité de l'identification atteignant un niveau de garantie, soit supérieur à 2 (87% des 531 souches), la concordance est de 95% et de 97% pour les souches aérobies et anaérobies aéro-tolérantes (90% de 467 souches). Il a également été constaté quelques discordances concernant des espèces proches d'un point de vue taxonomique (*Pseudomonas geniculata* vs *Stenotrophomonas maltophila*). Ceci pourrait provenir de la date exacte d'étiquetage de certaines souches dans une banque académique de souches bactériennes.

Par ailleurs, le dépôt direct de bactéries sur les plaques cibles du spectromètre de masse ne procure qu'une satisfaction à l'identification que dans 80% des cas précédents, et ne devrait être réservée que dans le cas de cultures suffisamment abondantes d'entérobactéries, par exemple.

Conclusion : L'identification bactérienne grâce à une caractérisation des protéines abondantes par la spectrométrie de masse peut révolutionner avec intérêt ce travail. En effet, et malgré plusieurs évolutions encore nécessaires tels que des compléments de la banque de données, une acquisition de références échantillons automatisée, une connectique assurée avec la saisie de résultats d'analyse et une interface avec la détermination des antibiogrammes, cette approche permet certainement la plus large gamme d'identifications bactériennes par rapport aux automates disponibles, des délais de réponse tout à fait compétitifs ; et les coûts (coût équipement / maintenance / consommables / personnels intégré 2,8 €/identification ; 140 id./jour, 280j/an) semblent répondre aux attentes des coûts de la santé. L'intégration de ce type d'approche permet un redéploiement du personnel et une nouvelle organisation des tâches. La prise en compte de la comparaison épidémiologique des souches pourrait, à court terme, constituer un apport considérable à l'épidémio-vigilance des laboratoires d'analyses.

Références

1. Lay Jr., J.O. 2000. MALDI-TOF mass spectrometry and bacterial taxonomy. Trends Anal. Chem. 19:507-16.

2. Lay Jr., J.O. 2001. MALDI–TOF mass spectrometry of bacteria. Mass Spectrom. Rev. 20:172–94.

3. Sauer S., Freiwald A., Maier T., Kube M., Reinhardt R., Kostrzewa M., Geider K. (2008) Classification and Identification of Bacteria by Mass Spectrometry and Computational, Analysis. PLoS ONE 3(7): e2843.

4. Stîngu C.S., Rodloff A.C., Jentsch H., Schaumann R., Eschrich K. 2008. Rapid identification of oral anaerobic bacteria cultivated from subgingival biofilm by MALDI-TOF-MS. Oral Microbiol. Immunol. 23: 372–376.

192/46s — 5 décembre 2008 - 11:20 - 342 A

Prise en charge actuelle du traitement de l'accès palustre simple

M. Danis[2], E. Caumes[1], M. Thellier[2], T. Debord[3]
[1]Service de Maladies Infectieuses et Tropicales [2]Service de Parasitologie Mycologie, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris [3]Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint-Mandé, France

L'accès palustre simple ou forme non compliquée de paludisme est un épisode aigu, sans signe de gravité neurologique, respiratoire, hématologique, rénale, ni vomissements incoercibles. Les accès dus à *Plasmodium falciparum* constitueront l'essentiel de cette communication qui s'appuie en grande partie sur les « Recommandations pour la pratique clinique 2007, révision de la Conférence de Consensus 1999 » (Méd Mal Infect. Fév. 2008).

Il est essentiel d'avoir obtenu le résultat du diagnostic biologique de paludisme (téléphoné en urgence et faxé, moins de 2 heures après réception du prélèvement au laboratoire) sur un prélèvement sanguin par frottis mince et goutte épaisse (± un test de diagnostic rapide sur bandelette si nécessaire), indiquant l'espèce plasmodiale, surtout pour *P. falciparum*, avec la présence de formes asexuées et l'évaluation de la parasitémie.

Quatre antipaludiques sont recommandés chez l'adulte :

- en première ligne : l'atovaquone-proguanil (Malarone®, disponible à l'hôpital et en officine [non remboursée par la CPAM]) ou l'artéméther-luméfantrine (Riamet® disponible à l'hôpital depuis novembre 2007. L'AMM imposait une « Réserve hospitalière » qui a été modifiée en « prescription hospitalière » permettant la disponibilité pour les traitements ambulatoires depuis juin 2008).

Critères de choix entre atovaquone-proguanil et artéméther-luméfantrine pour un traitement ambulatoire

- Etat du patient et/ou antécédents :

- Nausées importantes, risque de vomissement ➔ Riamet® (l'atovaquone peut provoquer des vomissements)

- Antécédent de troubles du rythme ventriculaire ou présence à l'examen d'arythmie ou de bradycardie ➔ Malarone® (la luméfantrine peut allonger modérément le QT)

- Patient sous traitement par un médicament allongeant le QT ➔ Malarone®

- Paludisme

- Parasitémie élevée (≥ 1% et < 2%) ➔ Riamet® (l'artéméther fait baisser plus vite la parasitémie)

- Suspicion de multirésistance (Asie du Sud Est, Amazonie, Afrique de l'Est) et/ou échec d'un antifolique/folinique ou de la Malarone® ➔ Riamet® (pas de résistance aux artémisinines identifiée en Afrique, très rare diminution de sensibilité en Asie en 2007)

- En dehors de ces situations, choix libre entre Malarone® et Riamet®.

Surveiller la bonne absorption de la 1ère prise pendant 1h30-2h.

Pour un patient en accès simple mais qui est hospitalisé

Les recommandations pour l'usage de l'un ou l'autre de ces antipaludiques sont à adapter dans la mesure où la surveillance d'éventuels vomissements, de la tolérance cardiaque (ECG) et de la biologie est plus aisée. Si l'hospitalisation a été décidée en raison de vomissements empêchant le

traitement oral initial et qu'une perfusion de quinine a été administrée, le relais sera plutôt pris par la Malarone® (pour éviter l'aggravation de l'allongement de QT par la luméfantrine ?)

L'association pendant 3 jours de la quinine en perfusion à la posologie habituelle et de la clindamycine (10 mg/kg/8 heures en 3 perfusions IV d'1 heure) est une alternative thérapeutique validée chez l'adulte dans le paludisme d'importation. Elle a l'avantage d'un traitement complet en 3 jours et de pouvoir être prescrite chez la femme enceinte.

- en 2ème ligne la quinine (Quinimax® comprimés, Quinine Lafran® ou la méfloquine (Lariam®);

L'halofantrine (Halfan®) ne doit être utilisée que dans des situations particulières et en hospitalisation uniquement.

Les très rares paludismes à *P. falciparum* sensibles à la chloroquine (zone Caraïbes) peuvent être éventuellement traités par cette molécule (Nivaquine®) selon le schéma OMS (10 mg/kg à H0 et H24, 5 mg/kg à H48, soit 25 mg/kg de dose totale en 3 jours). La chloroquine est également toujours efficace pour les accès à *P. malariae, P. ovale* et *P. vivax*

Critères de la prise en charge en ambulatoire

Chez un adulte, les situations où, le diagnostic biologique ayant été établi, un traitement ambulatoire peut être prescrit par un médecin généraliste ou un praticien hospitalier sont les suivantes :

- absence de situation d'échec d'un premier traitement, paludisme simple, sans aucun signe de gravité clinique ou biologique, absence de trouble digestif (vomissements, et/ou diarrhée importants) qui pourrait compromettre le succès d'un traitement par voie orale,

- parasitémie inférieure à 2%, plaquettes > 50 000/mm^3, hémoglobine > 10 g/dl, créatininémie < 150 µmol/L,

- absence de facteur de risque : sujet physiologiquement âgé, sujet fragilisé par une affection sous-jacente, notamment cardiopathie, patient splénectomisé, absence de grossesse, patient entouré (caractère anxiogène de la crise fébrile palustre et pas de possibilité d'alerte en cas d'évolution défavorable si le patient est isolé),

- garantie d'une bonne observance et d'une bonne compréhension des modalités du traitement (déficit intellectuel, difficultés linguistiques…), garantie d'une délivrance immédiate du traitement à la pharmacie, résidence à proximité d'un établissement hospitalier (référence possible en cas d'évolution défavorable après information du patient et de son entourage),

- possibilité d'une consultation de suivi à H72 (J3), J7 et J28 (à défaut, possibilité d'appel téléphonique pour s'enquérir d'une évolution favorable).

Dans certaines situations, l'hospitalisation peut être évitée en débutant le traitement à l'hôpital, dans les services d'urgences ou les consultations de médecine tropicale sans rendez-vous, avec une période d'observation minimale de 2 heures après la première prise d'antipaludiques, en fournissant aux patients la totalité du traitement. Cette pratique doit s'accompagner d'explications détaillées sur les modalités du traitement, en s'assurant de leur bonne compréhension, et d'un rendez-vous ferme de consultation à H72 (J3).

Chez l'enfant, particulièrement chez le jeune enfant, la fréquence plus élevée des troubles digestifs ne permet pas de prendre le risque d'une prise en charge ambulatoire intégrale. Une hospitalisation durant toute la durée du traitement est le plus souvent recommandée. Toutefois, chez le grand enfant et pour des traitements d'une durée supérieure à 24 h, après une prise en charge initiale dans une unité d'hospitalisation de courte durée, la suite du traitement peut être effectuée à domicile. Cette procédure est possible sous réserve du bon déroulement des premières prises de traitement, de la fiabilité du milieu familial, de la possibilité de revoir l'enfant en consultation à 72 heures (J3), à J7 (en cas de parasitémie encore faiblement positive à 72 heures) et à J28 et sous réserve que tous les critères précités de prise en charge ambulatoire de l'adulte soient respectés.

Cas particuliers :

- **femme enceinte :** seule la quinine a fait la preuve d'une parfaite innocuité. L'association atovaquone-proguanil n'est pas contre-indiquée et peut être envisagée si nécessaire, en l'absence d'alternative. L'utilisation de la méfloquine est réservée aux situations de contre-indication à la quinine, ou en cas de résistance du plasmodium à la quinine. L'halofantrine est contre-indiquée. L'association artéméther-luméfantrine est contre-indiquée au 1er trimestre et n'est pas recommandée dans cette situation. Une surveillance obstétricale est nécessaire.

- **voyageur revenant d'Amazonie (dont la Guyane), ou des zones frontalières entre la Thaïlande, le Myanmar, le Laos et le Cambodge :** dans ces zones où le niveau de résistance à la méfloquine et à l'halofantrine est élevé, les alternatives thérapeutiques sont l'atovaquone-proguanil, l'artéméther-luméfantrine, ou la quinine associée à la doxycycline, 200 mg une fois par jour pendant 7 jours, ou à la clindamycine, 10 mg/kg toutes les 8 h pendant 7 jours. L'artéméther IM (Paluther®) serait également utilisable, bien que se prêtant peu au traitement d'urgence du fait de la nécessité d'une autorisation temporaire d'utilisation (ATU) nominative.

Modalités de la surveillance

Une surveillance clinique et biologique incluant un frottis-goutte épaisse est nécessaire à H72 (J3) (la parasitémie doit être inférieure à 25% de la valeur initiale : elle parfois encore faiblement positive après atovaquone-proguanil qui agit moins vite) et J7 (la parasitémie doit être négative). Le contrôle quotidien de la parasitémie n'a pas d'intérêt. Un contrôle à J28 est également recommandé, surtout pour les médicaments à longue demi-vie d'élimination (méfloquine, atovaquone).

Schémas thérapeutiques chez l'enfant

Les médicaments de première ligne sont :

- la méfloquine, souvent précédée d'un antiémétique de type dompéridone,

- ou l'atovaquone-proguanil, utilisable dès 5kg de poids,

- ou l'artéméther-luméfantrine, également utilisable dès 5kg de poids.

L'halofantrine, compte tenu de sa cardiotoxicité et du risque de rechute après une cure unique, est un traitement de seconde ligne, en dépit de sa présentation en suspension, commode chez l'enfant. Elle n'est indiquée qu'en cas de nécessité et sous le contrôle d'une équipe expérimentée. Si la 2e cure n'est pas administrée, il faut s'assurer d'un suivi très fiable de l'enfant. En cas de rechute après une cure unique, un autre antipaludique doit être choisi. Si une 2e cure est réalisée, elle impose, comme pour la première cure, l'hospitalisation, le respect strict des contre-indications, des précautions d'emploi et une surveillance électrocardiographique étroite.

La quinine orale, qui requiert une adhésion parfaite à un traitement long, reste également un médicament de seconde ligne. Chez le nouveau-né symptomatique, le traitement est débuté par la quinine IV, puis un relais est pris par un antipaludique oral (Malarone®, voir Halfan®).

La prise en charge thérapeutique de l'accès palustre simple à *P. falciparum* est maintenant bien codifié, avec un choix thérapeutique permettant de répondre aux diverses situations cliniques et de chimiorésistances, selon des bases rationnelles.

Références :

DANIS M, président, DEBORD T, coordinateur, Groupe de Travail. Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française; Collège des Universitaires de Maladies Infectieuses et Tropicales; Société Française de Médecine des Armées; Société Française de Parasitologie; Société Française de Pédiatrie; Société de Médecine des Voyages; Société de Pathologie Exotique; Société de Réanimation de Langue Française.

Recommandations pour la pratique clinique 2007 : Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum*. (Révision de la Conférence de Consensus 1999).

Med Mal Infect. 2008 ; 38 : 68-117.

Gürkov R, Eshetu T, Miranda IB et al. Ototoxicity of artemether/lumefantrine in the treatment of falciparum malaria: a randomized trial. Malar J. 2008 Sep 16;7:179.

Savini H, Bogreau H, Bertaux L et al. First case of emergence of atovaquone-proguanil resistance in *Plasmodium falciparum* during treatment in a traveller in Comoros. Antimicrob Agents Chemother 2008; 52: 2283-4.

Omari AA, Gamble C, Garner P. Artemether-lumefantrine (six-dose regimen) for treating uncomplicated falciparum malaria. Cochrane Database Syst Rev 2005; 4: CD005564.

Abdulla S, Sagara I, Borrmann S, D'Alessandro U et al. Efficacy and safety of artemether-lumefantrine dispersible tablets compared with crushed commercial tablets in African infants and children with uncomplicated malaria: a randomised, single-blind, multicentre trial. Lancet 2008; 14 oct.

193/46s — 5 décembre 2008 - 11:40 - 342 A

Prévention actuelle du paludisme

G. Brousse

Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital de la Salpêtrière, Paris, France

La prévention du paludisme repose actuellement sur deux types de mesures complémentaires :

1) les mesures antivectorielles

2) la chimioprophylaxie

1- Les mesures antivectorielles visent à éviter la contamination par la piqûre de l'anophèle femelle qui se produit entre le coucher et le lever du soleil.

La protection repose sur des mesures intradomiciliaires d'une part et des mesures vestimentaires et cutanées d'autre part.

1-2 à l'intérieur

· L'utilisation d'une moustiquaire de lit imprégnée de pyréthrinoïdes (deltaméthrine ou perméthrine) permet une protection maximale.

· Si le logement le permet, elle peut être remplacée par la climatisation en continu associée à des insecticides diffusibles dans les pièces fermées.

1-3 à l'extérieur

· A partir du coucher du soleil, le port de vêtements couvrants est indispensable, de préférence pré-imprégnés par spray ou trempage (perméthrine).

· Sur les parties de peau découvertes, on complète la protection par l'application de produit répulsif dont le choix dépend en partie de l'âge et des cas particuliers (grossesse).

[voir recommandations de l'AFSSAPS dans le BEH n° 25-26 du 24.06.2008]

2- La chimioprophylaxie

Elle n'évite pas la contamination mais prévient l'apparition des signes cliniques dus à *P. falciparum*.

Le choix de la molécule repose sur un certain nombre de critères : lieux de séjour, durée de séjour, âge, poids, cas particuliers de la grossesse, de l'allaitement, des associations avec des traitements préexistants..., coût.

2-1 Les produits

Actuellement, six produits sont utilisables :

chloroquine : **Nivaquine**® sirop et c à 100 mg		
chloroquine (0,100 g) + proguanil (0,200 g) **Savarine**® c		
atovaquone (0,250 g) + proguanil (0,100 g) **Malarone**® c		
atovaquone (0,0625 g) + proguanil (0,025 g) **Malarone enfant**® c		
méfloquine (0,250 g) + **Lariam**® c		
doxycycline	**Doxypalu**®	c à 50 mg
	{	c à 100 mg
	Granudoxy®	Ge c à 100 mg

2-2 Les lieux de destination vont orienter le choix du produit en fonction du degré de résistance des souches locales de *P. falciparum* (BEH n° 25-26 du 24.06.2008).

Les différents pays sont répartis en 3 groupes :

· groupe **1** sans chloroquino-résistance :

à chloroquine

· groupe **2** avec souches chloroquino-résistantes minoritaires :

à soit chloroquine + proguanil

æ soit atovaquone + proguanil

· groupe **3** avec souches chloroquinorésistantes majoritaires

à soit atovaquone + proguanil

æ soit méfloquine

æ soit doxycycline

2-3 La durée de séjour

· Pour les séjours de plus de 3 mois, on conseille de ne pas dépasser une durée de prise – de 3 mois pour l'association atovaquone + proguanil

– de 6 mois avec les autres antipaludiques

Au-delà, il est conseillé :

- de réserver la chimioprophylaxie à de courtes périodes en fonction des saisons ou des déplacements,

- de consulter systématiquement dans les 12 h suivant l'apparition d'une fièvre

· Pour les séjours itératifs, on déconseille une chimioprophylaxie prolongée et on recommande une consultation immédiate en cas de fièvre ou, en cas d'isolement, un traitement de réserve.

2-4 Les cas particuliers

2-4-1 Enfants

2-4-2 Femmes enceintes

2-4-3 Allaitement

*Centre de vaccination et de conseil aux voyageurs

Service de Parasitologie, Maladies Infectieuses et Tropicales

Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière

Université Pierre et Marie Curie

Références

1. Recommandations sanitaires pour les voyageurs.

Bulletin Epidémiologique Hebdomadaire n° 25-26 – 24 juin 2008.

www.invs.sante.fr/BEH.

2. Prise en charge et prévention du paludisme d'importation à *Plasmodium falciparum*.

Révision de la conférence de consensus 1999.

Recommandations pour la pratique clinique 2007.

3. Centre de Référence sur les agents tératogènes.

C.R.A.T www.lecrat.org/

4. International Travel and Health – OMS

www.who.int/ith/

5. CDC yellow book

www.cdc.gov/travel/yellow book

195/47s 5 décembre 2008 - 11:00 - 342 B

Physiopathology of the sexual transmission of HIV

Y. Ganor[4-3], J.P. Wolf[1], A. Schmitt[4-3], J.M. Massé[4-3], M.C. Vacher-Lavenu[5], N. Thiounn[6], J. Tomasini[2], M. Bomsel[4-3]

[1]Biologie de la reproduction, GH Cochin-St Vincent de Paul [2]Clinique Geoffroy St Hillaire [3]Inserm U567 [4]Institut Cochin, Paris Descartes, CNRS (UMR 8104) [5]Service d'Anatomie et Cytologie Pathologiques, GH Cochin-St Vincent de Paul [6]Urologie, Hôpital Necker, Paris, France

The structure and the role of the mucosal epithelium in the initial steps of HIV infection: mono versus pluristratified epithelium

Although the first steps of mucosal HIV transmission are not well understood, it is becoming increasingly clear that the type of epithelium of the mucosa is an important determinant in the first steps of mucosal HIV transmission and infection.

The surfaces of the rectum, endocervix and gastrointestinal tract are covered by a simple monolayer of epithelial cells, forming a selective barrier between the mucosal environment and the internal milieu. Such epithelial cells have a polarized plasma membrane, separated by tight junctions into two domains, the apical and the basal, with differential protein and lipid composition (i.e. simple epithelium) (1). In such simple epithelia, we have previously shown that HIV can cross the epithelial barrier *in-vitro* by the vesicular transcellular pathway of transcytosis (2) (29). During this translocation mechanism, HIV binds to its mucosal receptor (37-38), the glyco-lipid galactosyl ceramide, and is internalized by the epithelial cell and travels from the mucosal to the serosal pole of the epithelium enclosed in vesicular structure, precluding infection. HIV exits the epithelial cell still infectious and ready to infect most likely CCR5 CD4+ lymphocyte or dendritic cells in the sub-mucosa (40).

In contrast to simple epithelia, the vagina, exocervix, anus and foreskin show a multilayered pluristratified organization (i.e. stratified epithelium) (1). These epithelia consist of layers of epithelial cells (reflecting distinctive stages of cell differentiation) that do not have a polarized plasma membrane and have looser tight junction complexes. In such epithelia the mechanisms responsible for HIV transmission are not clear, but most probably involve Langerhans cells (LCs) and dendritic cells (DCs), which are specific immune sentinel cells present in the pluristratified epithelium (1). In the female genital tract, LCs and DCs have been suggested to be the first cells targeted by HIV upon mucosal infection, as the virus can bind to specific C-type lectins (i.e. either langerin and/or DC-SIGN, expressed by LCs and DCs, respectively (3)), and then presumably be further transported by these cells to the lymph nodes, where it may infect T-cells and disseminate the infection (reviewed in (4)).

Natural sources of HIV: cell-free HIV versus HIV infected cells forming virological synapses

HIV exists in infectious secretions, such as semen and vaginal fluids, in both cell-free form and within infected leukocytes. Importantly, both cell-free HIV and HIV-infected cells may take part in HIV transmission, which occurs most commonly via sexual intercourse (5, 6), but each source may have different contributions to this process. Hence it is well known since decades that HIV infected cells are more infectious than cell free viruses but the molecular basis of these differences are poorly studied. Unfortunately, probably due to technical issues, HIV infected cells are widely neglected as vector of the infection either *in vitro* or *in vivo* in animal models.

However, we have shown that a direct contact between the mucosal (apical) surface of epithelial cells and HIV-infected cells was required for HIV transcytosis via monostratified epithelial cells (7). Such contact referred to as virological synapse (39), resembles the immune and neurological synapses, not only by morphological criteria with a tight apposition of both cell membrane, but also at the molecular level. Hence, synapse formation rely on integrin /disintegrin receptors from each epithelial and HIV infected cell, the reorganization of the target epithelial cell membrane to form rafts and the involvement of the scaffolding heparan sulfate molecule agrin that acts as adhesion receptor for the virus. In contrast, internalization and transcytosis of cell-free virus were negligible (7) (39).

Such virological synapses have also been shown to be efficient for for infection of CD4+ T cells especially in a mucosal context (27). Other studies show that cell-free HIV can transcytose via a monolayer of primary genital epithelial cells as infectious particles, although with an extremely low efficiency, suggesting the existence of limited passage of cell-free HIV through an intact genital epithelium *in-vivo*. The exact contribution of cell-free and/or cell-associated HIV to infection of pluristratified epithelia with HIV is unknown.

The foreskin epithelium: circumcision reduces the susceptibility of HIV infection in men

In adult men, most HIV infections are acquired through vaginal intercourse, and a smaller number through anal sex (13), thus the route of infection for most HIV-infected men is via the penis. In recent years, more than 40 observational epidemiological studies (13, 14), comforted by three recent randomized controlled trials (15-17), have concluded that circumcision could offer 60% protection from HIV infection. However, there is currently hardly any experimental data concerning the mechanism by which HIV penetrates the foreskin epithelium. To date, only two principal findings have been reported regarding foreskin HIV infection: 1) Histological studies have shown that the keratin layer (i.e. the relatively impermeable layer of hardened / dead keratin-producing epithelial cells (keratinocytes) at the most apical surface of the epithelium, found in any skin epithelium) is thicker at the outer aspect of the foreskin compared to the inner aspect (18, 19). A single study suggested that this thicker keratin layer may provide a protective barrier against HIV infection via the outer, but not inner, foreskin (19); 2) Some studies have identified HIV target cells (LCs, DCs, macrophages and $CD4^+$ T-cells) in the human foreskin (18-22), and suggested that the differential density of these immune cells between the inner and outer aspect of the foreskin may correlate with susceptibility to infection (18, 19). However, no direct investigation of the initial events taking place after polarized infection of the inner/outer foreskin mucosa with HIV has been reported; there is currently no data regarding the identity of the cells that HIV targets at the foreskin; and the exact factors (e.g. cytokines, chemokines, endogenous factors in semen and vaginal secretions) that contribute to foreskin HIV transmission are unknown.

Study of mucosal entry of HIV: question of model.

The complex nature of mucosal surfaces presents a major challenge for comprehensive cellular/molecular studies of microbial and viral infections, including HIV. One chief problem in studying HIV transmission at mucosal site is the lack of proper *in-vitro* viral transmission model systems that reflect the *in-vivo* situation in the human, as non-primate animals (models/tissues) are not susceptible to HIV. As a solution, two methodologies have been developed:

Ex-vivo tissue explants - Several organ culture systems with human mucosal tissues were developed (6, 19, 23-29). These systems have provided some insight as to the identity of HIV target cells in the epithelium and in the submucosa that are susceptible to HIV infection. However, such explants models are not optimal, as the function and integrity of the mucosal barrier are not maintained for more than few hours. Moreover, the surgical procedure itself (that allows for the tissue sampling) activates LCs/DCs, leading to their migration out of the tissue explant, which may in turn affect the interaction with HIV. Finally, in most cases reported, the exposure to HIV has been performed using only cell-free HIV and in a non-polarized manner (i.e. by submerging the tissue explants in virus-containing medium), thus preventing the investigation of polarized transmission of HIV (i.e. from the apical to the basal compartment), from either cell-free or cell-associated sources, as takes place *in-vivo*.

In-vitro mucosal reconstruction - Alternatively, to investigate non-activated mucosa exhibiting a preserved and prolonged barrier function, we have previously developed an *in-vitro* model of a tight polarized simple epithelial barrier (mentioned above), by cultivating monolayers of cells (derived of intestine and endometrial carcinoma) onto a permeable support in a two-chamber system (7). For infection of genital tissues, some models based on similar cell monolayers have been developed (30-33). However, such models differ remarkably from the *in-situ* situation: neither the pluristratified architecture is reconstituted nor the presence of LCs/DCs. In addition, the transformed cell lines that have been routinely used in these studies differ from primary cells (e.g. by an altered expression of HIV co-receptors and protein-lipid composition), which could influence viral entry (34). Recently, we have reconstructed *in-vitro* of a pluristratified immuno-competent vaginal epithelium, containing primary vaginal fibroblasts and keratinocytes, as well as LCs (35).

HIV entry at the foreskin

We have recently investigated the mechanisms of foreskin HIV infection, in order to elucidate the initial events taking place following exposure of the foreskin epithelium to HIV. We have *established* two novel and complementary models of the foreskin epithelium. The first, an adult foreskin tissue explant system enables short-time (i.e. within the time frame of hours, in which the tissue still presents with its normal architecture) and polarized exposure to HIV; the second, an *in-vitro* 3-Dimensional reconstruction of the inner and outer pluristratified foreskin epithelia from isolated primary cells allows quantitative analysis.

E*x-vivo* exposure of foreskin explants to cell-associated HIV resulted in entrapment of viral particles within the thick keratin layer present in the outer aspect of the foreskin, while no virus was observed on the surface of the inner aspect. In addition, exposure to HIV also resulted in attraction of LCs to the upper part of the epidermis sending dendrites to the lumen, suggesting an active sampling of the luminal virus by LCs. Upon apical exposure of foreskin reconstructions to cell-associated HIV, virus particles were translocated rapidly across the reconstructed foreskin, while translocation of cell-free HIV was much less efficient. Furthermore, the origin of the keratinocytes (i.e. either from the outer or inner aspects of the foreskin) was critical for translocation efficiency, as HIV translocated more efficiently across inner foreskin, suggesting that the lower degree of keratinization of this aspect of the foreskin favors transmission of HIV.

Taken together, these results suggest that cell-associated HIV translocates more efficiently across the foreskin, compared with cell-free HIV. In addition, the thick keratin layer in the outer foreskin may serve as a barrier that could slow HIV entry. Finally, LCs may have an active role in HIV entry via the foreskin.

Natural sources of HIV and their interaction with the mucosal epithelium: genital fluids

Semen itself is able to induce a variety of changes at HIV-1 entry sites in the female genital tract that might favor HIV transmission in women. Human seminal plasma is capable of interacting with human cervical and vaginal tissues to induce pro-inflammatory cytokine production (e.g. IL-8, IL-6, GM-CSF, MCP-1) (8), which induce a transient infiltration of the cervix epithelium by various leukocytes, such as neutrophils, macrophages and DCs (reviewed in (9)). Seminal plasma also induces secretion of the chemokine CCL20 by vaginal epithelial cells, which promotes the recruitment and chemotaxis of LCs (10). However, the relevance of these effects of seminal plasma on HIV transmission *in-vivo* remains unclear. The situation may be further complicated by the presence of endogenous factors in semen that may either enhance (11) or inhibit (12) HIV infection.

We have now started to investigate the effect of genital fluids on HIV entry at the foreskin. Seminal plasma from uninfected individuals does not modify significantly HIV entry. Cervico vaginal secretion have more variable effects. However, seminal plasma from HIV-negative men mixed with cervico-vaginal secretions from HIV-positive women but also sero negative, which mimics the *in-vivo* mixture of these genital secretions during woman-to-man HIV sexual transmission, decreases always HIV infection at the foreskin as compared to single secretion alone. It suggests that interaction between factors of each fluid takes place. Analysis of the innate immune factors responsible of these effects is underway.

Thus, as the challenge of developing an efficacious HIV vaccine is not only an area of AIDS research that has yet to be resolved, but also an urgent need for developing countries. It will request a better molecular and cellular understanding of the initial event of HIV transmission during the various situations of sexual intercourses with the evaluation of the various sexual mucosa and specific fluids alone or in combination. Developing novel mucosal model closer to the *in-vivo* situation will also help to test the neutralizing potential of anti-HIV agents that may later be included in an efficient anti-HIV agent (antibodies raised by a vaccine or microbicide). Indeed, a future anti-HIV prophylactic strategy may ultimately be a multicomponent, aimed at blocking multiple steps of viral infection, including a component that should engage the mucosal immune system to interfere with early steps of mucosal viral transmission. Finally, as most HIV-infected men acquire HIV via the foreskin, investigating the initial steps of HIV infection at the foreskin is crucial for developing potential antiviral drugs/vaccines for mucosal protection.

References

1. H. M. Ross, L. J. Romrell, G. I. Kaye, *Histology, a text an atlas*. P. A. Coryell, Ed. (Williams & Wilkins, Baltimore, ed. Third ed, 1995), pp. 58-93. **2.** A. Alfsen, P. Iniguez, E. Bouguyon, M. Bomsel, *J Immunol* 166, 6257 (2001). **3.** S. G. Turville *et al.*, *Nat Immunol* 3, 975 (2002). **4.** L. Wu, V. N. KewalRamani, *Nat Rev Immunol* 6, 859 (2006). **5.** R. C. Bailey, F. A. Plummer, S. Moses, *Lancet Infect Dis* 1, 223 (2001). **6.** K. B. Collins, B. K. Patterson, G. J. Naus, D. V. Landers, P. Gupta, *Nat Med* 6, 475 (2000). **7.** M. Bomsel, *Nat Med* 3, 42 (1997). **8.** D. J. Sharkey, A. M. Macpherson, K. P. Tremellen, S. A. Robertson, *Mol Hum Reprod* 13, 491 (2007). **9.** S. A. Robertson, *Cell Tissue Res* 322, 43 (2005). **10.** W. Berlier *et al.*, *Hum Reprod* 21, 1135 (2006). **11.** J. Munch *et al.*, *Cell* 131, 1059 (2007). **12.** J. Sabatte *et al.*, *J Virol* 81, 13723 (2007). **13.** R. Szabo, R. V. Short, *Bmj* 320, 1592 (2000). **14.** J. Atashili, *Int J Infect Dis* 10, 202 (2006). **15.** B. Auvert *et al.*, *PLoS Med* 2, e298 (2005). **16.** R. C. Bailey *et al.*, *Lancet* 369, 643 (2007). **17.** R. H. Gray *et al.*, *Lancet* 369, 657 (2007)s. **18.** L. A. Hussain, T. Lehner, *Immunology* 85, 475 (1995). **19.** B. K. Patterson *et al.*, *Am J Pathol* 161, 867 (2002). **20.** B. A. Donoval *et al.*, *Am J Clin Pathol* 125, 386 (2006). **21.** S. G. McCoombe, R. V. Short, *Aids* 20, 1491 (2006). **22.** E. J. Soilleux, N. Coleman, *J Clin Pathol* 57, 77 (2004). **23.** Q. Hu *et al.*, *J Exp Med* 199, 1065 (2004). **24.** A. Zussman, L. Lara, H. H. Lara, Z. Bentwich, G. Borkow, *Aids* 17, 653 (2003). **25.** D. Maher, X. Wu, T. Schacker, J. Horbul, P. Southern, *Proc Natl Acad Sci U S A* 102, 11504 (2005). **26.** J. C. Grivel *et al.*, *Aids* 21, 1263 (2007). **27.** F. Hladik *et al.*, *Immunity* 26, 257 (2007). **28.** P. Greenhead *et al.*, *J Virol* 74, 5577 (2000). **29.** M. Bomsel *et al.*, *Immunity* 9, 277 (1998). **30.** E. J. Gosselin *et al.*, *Adv Exp Med Biol* 371B, 1003 (1995). **31.** A. L. Howell *et al.*, *J Virol* 71, 3498 (1997). **32.** X. Tan, R. Pearce-Pratt, D. M. Phillips, *J Virol* 67, 6447 (1993). **33.** M. D. Bobardt *et al.*, *J Virol* 81, 395 (2007). **34.** M. Bomsel, A. Alfsen, *Nat Rev Mol Cell Biol* 4, 57 (2003). **35.** M. Bouschbacher *et al.*, *Aids* In Press (2008). **36.** D. Y. Lee *et al.*, *J Dermatol Sci* 43, 95 (2006). **37.** A. Magerus-Chatinet *et al.*, *Virology* 362, 67 (2007). **38**. Alfsen, A. and M. Bomsel *J Biol Chem*, 277, 25649 (2002). **39**. Alfsen, A., *et al. Mol Biol Cell* 16, 4267 (2005). **40**. Meng *et al. Nat. Med*. 8, 150 (2002).

197/47s 5 décembre 2008 - 11:30 - 342 B

Modèles animaux et cellulaires d'étude de l'efficacité et de la toxicité des microbicides

T. Bourlet
Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes (GIMAP, EA3064), CHU de Saint-Etienne, France

La voie hétérosexuelle est le mode de transmission le plus répandu du Virus de l'Immunodéficience Humaine (HIV). Depuis 2002, la majorité des personnes découvertes séropositives sont de sexe féminin et en Afrique subsaharienne plus de 57% des personnes infectées sont des femmes. Entre 15 et 24 ans, le risque d'être contaminé par HIV est 3 fois plus élevé pour les femmes que pour les hommes. La cause principale de l'augmentation de la prévalence chez les femmes est la plus grande vulnérabilité de la muqueuse génitale féminine au virus HIV et aux autre agents d'infections sexuellement transmissibles. De ce fait, et en l'absence de perspective à court-terme d'un vaccin prophylactique anti-HIV, la mise au point de substances à visée microbicide au niveau vaginal efficaces et non toxiques, dont l'usage peut être contrôlé par la femme, est actuellement une voie prioritaire dans le domaine de la prévention contre le virus HIV.

Les substances à visée microbicides anti-HIV peuvent être classées en fonction de leur mode d'action : on distingue les inhibiteurs non spécifiques (surfactants, acidifiants comme le BufferGel® et l'Acidform®), les bloqueurs d'entrée du virus dans la cellule cible (enfuvirtide, cyanovirine-N, PRO542, molécules polyanioniques [PRO2000, cellulose sulfate, Carraguard®, VivaGel®], anti-CCR5), et les inhibiteurs enzymatiques du cycle viral (inhibiteurs non nucléosidiques de la transcriptase inverse [UC-781, TMC 120, MIV-150, DABO], analogue nucléotidique [ténofovir ou PMPA]). Ces composés sont formulés en crèmes, gels, mousses ou anneaux vaginaux permettant une libération prolongée du produit.

Il existe actuellement plus de 50 composés candidats microbicides en phase pré-clinique et 11 qui sont en phase clinique. Récemment, les essais cliniques de phase III du nonoxynol-9, du cellulose sulfate et du SAVVY (C31G) ont échoués ou ont été arrêtés prématurément du fait d'une absence d'efficacité ou d'une augmentation du nombre de contaminations par HIV dans le bras « microbicide ». Ces échecs ainsi que les résultats discordants entre tests *in vitro* et *in vivo* obtenus pour le Carraguard®, soulignent l'importance mais aussi les difficultés d'établir des protocoles de criblage pré-clinique de ces produits, utilisant des systèmes de lignées cellulaires, des explants muqueux et des modèles animaux adaptés.

En 2004, l'International Working Group on Microbicides (IWGM) a émis les recommandations suivantes sur les études d'efficacité pré-cliniques *in vitro* (Lard-Whiteford et al., 2004) : (1) utilisation de souches virales libres et associées aux cellules, de tropisme CCR5 et CXCR4, incluant des isolats cliniques d'origine séminale, (2) utilisation de différentes lignées cellulaires et modèle in vitro, (3) tester en présence de sperme, sécrétions vaginales et variations de pH, (4) tester l'activité sur les autres agents d'IST et sur la flore vaginale normale (modèle macaque). Le « challenge » est ici de définir un panel de tests d'efficacité standardisables et reproductibles permettant de tester l'efficacité de produits déjà connus pour leur activité contre HIV (et tenant compte de leur mode d'action) mais aussi de candidats microbicides

dont l'efficacité anti-HIV n'est pas encore démontrée. Ce panel doit donc être large et inclure des tests d'inhibition (1) d'entrée cellulaire CD4-dépendante, (2) de transmission de cellules infectées à cellules réceptrices CD4-dépendant ou indépendant et (3) de fusion (Lackman-Smith et al., 2008 ; van Herrewege et al., 2004). Des explants de muqueuse cervico-vaginale ou colique ont également été proposés (Greenhead et al., 2000 ; Lackman-Smith et al., 2008 ; Cummins et al., 2008). Concernant les essais sur l'animal, les deux principaux modèles utilisés pour tester l'efficacité des candidats-microbicides sont le modèle murin (souris BALB-C et SCID humanisée) (Galen et al., 2007 ; Difabio et al., 2001; Patel et al., 2007) et le modèle macaque/SIV_{mac} (Ambrose et al., 2008 ; Cranage et al., 2008). Dans ces modèles, le rôle du plasma séminal, des sécrétions cervico-vaginales ainsi que de la répétition des expositions sur l'activité des composés sont également étudiés.

La toxicité potentielle de ces composés doit également être évaluée car elle peut conduire à un risque accru de transmission. Cette évaluation repose sur des tests de cytotoxicité directe sur des lignées de cellules épithéliales, des explants cervicaux, et sur la flore vaginale normale (Cummins et al., 2007 ; Fichorova et al., 2004, Lackman-Smith et al., 2008). Ces tests concernent les principes actifs et les excipients, et consiste à étudier la viabilité cellulaire, mais aussi à rechercher des biomarqueurs de la réponse inflammatoire (sécrétion de chimiokines/cytokines par les cellules épithéliales pouvant conduire au recrutement de cellules immunitaires) et vérifier l'intégrité de l'étanchéité de la muqueuse (par mesure de la résistance transépithéliale ou du passage de billes fluorescentes). Concernant les essais de toxicité chez l'animal, des tests de tolérance sont effectués chez la lapine (test d'irritation vaginale d'une durée de 10j selon les recommandations de l'IWGM), mais aussi chez la truie et la limace (Dhondt et al., 2004 ; D'Cruz et al., 2005). Actuellement, des modèles murins et macaques sont développés pour étudier l'action des candidats-microbicides sur l'intégrité de la barrière épithéliale et la réponse innée.

Ces tests d'efficacité et de toxicité doivent également être répétés dans un environnement physiologique, en présence de plasma séminal (qui a un rôle sur le processus de transmission de HIV, la toxicité cellulaire et l'inhibition de l'activité de certains microbicides comme les composés polyanioniques), de sécrétions cervico-vaginales et dans différentes conditions de pH. Un paramètre important à prendre également en compte est le mode d'application du microbicide (gel ou diffuseur) et donc la répétition et la durée d'exposition à ces substances.

Des algorithmes de criblage ont été récemment proposés, reposant sur une réalisation séquentielle de tests d'efficacité et de toxicité, permettant d'établir pour chaque condition testée une concentration inhibitrice 50% (Ci_{50}) et une concentration toxique 50% (Ct_{50}) ainsi qu' un index thérapeutique (Ct_{50}/Ci_{50}) ; ces algorithmes se proposent d'évaluer les nouveaux candidats microbicides provenant des divers organismes nationaux et internationaux développant ces composés, et en fonction des résultats de stopper leur développement ou d'autoriser la poursuite de leur évaluation dans des modèles animaux et/ou des essais cliniques. Deux produits (PRO2000 et SPL7013) ont récemment été évalués de cette façon et montrés leur innocuité et leur efficacité (Algorithme développé par le National Institute of Allergy and Infectious Diseases, Lackman-Smith et al., 2008). Un projet similaire visant à établir une stratégie d'évaluation du rapport bénéfices/risques des effets des microbicides a récemment reçu un soutien financier de l'ANRS. Il s'agit d'un travail collaboratif entre l'Institut de Médecine Tropicale d'Anvers et le GIMAP (CHU de Saint-Etienne), dont l'objectif est de mettre à la disposition de la communauté scientifique des outils simples et standardisés ainsi que des paramètres pertinents d'évaluation de l'efficacité et de la toxicité. Ces algorithmes doivent être validés avec des produits en phase avancée d'expertise et confrontés aux résultats des essais cliniques de phase I, II et III de ces microbicides en cours afin de définir les marqueurs les plus pertinents.

Parallèlement à ces protocoles d'évaluation pré-clinique des microbicides à visée protectrice au niveau vaginal, une démarche similaire est en train de se mettre en place pour les composés dédiés à la muqueuse rectale. Enfin, il est également fondamental de poursuivre les études sur les mécanismes de transmission de HIV par voie hétérosexuelle, encore imparfaitement connus, et sur la définition et le rôle des biomarqueurs dans la transmission HIV.

Références.

Ambrose et al. Incomplete protection against Simian Immunodeficiency Virus vaginal transmission in Rhesus Macaques by a topical antiviral agent revealed by repeat challenges. J Virol, 2008, 82: 6591-9.

Cranage et al. Preventing of SIV rectal transmission and priming of T cell responses in Macaques after local pre-exposure application of tenofovir gel. PLOS Medicine, 2008, 5: 1238-50.

Cummins et al. Preclinical testing of candidate topical microbicides for anti-Human Immunodeficiency Virus type 1 activity and tissue toxicity in a human cervical explant culture. Antimicrob Agents Chemother, 2007, 51: 1770-9.

Fichorova et al. Interleukin (IL)-1, IL-6, and IL-8 predict mucosal toxicity of vaginal microbicidal contraceptives. Biol Reprod, 2004, 71: 761-9.

Galen et al. A Comprehensive Murine Model to Evaluate Topical Vaginal Microbicides: Mucosal Inflammation and Susceptibility to Genital Herpes as Surrogate Markers of Safety. J Infect Dis 2007, 195:1332–9.

Lackman-Smith et al. Development of a comprehensive Human Immunodeficiency Virus type 1 screening algorithm for discovery and preclinical testing of topical microbicides. Antimicrob Agents Chemother, 2008, 52: 1768-81.

Lard-Whiteford et al. Recommendations for the nonclinical development of topical microbicides for prevention of HIV transmission: an update. J Acquir Immune Defic Syndr, 2004, 36:541-52.

Patel et al. Seminal plasma reduces the effectiveness of topical polyanionic microbicides. J Infect Dis, 2007, 196:1394-402

Van Herrewege et al. A series of diaryltriazines and diarylpyrimidines are highly potent nonnucleoside reverse transcriptase inhibitors with possible applications as microbicides. Antimicrob Agents Chemother, 2004, 48:3684-9.

198/47s 5 décembre 2008 - 11:45 - 342 B

Microbicides: state of the art 2008

G. Vanham

Head of Virology Unit, Institute of Tropical Medicine, Antwerp, Belgique

In the aftermath of failed clinical trials, everybody agrees that the development of an HIV vaccine, based on induction of neutralizing antibodies and/or on cell-mediated immunity, will take at least another decade. Therefore, today's prevention of HIV transmission is still based on a "classical" approach: risk reduction by limiting sexual partners, treating other sexually transmitted diseases, condom use and male circumcision. Although this strategy has met with remarkable successes in some settings (e.g. reduction of heterosexual transmission in Uganda and Thailand), results are often not sustained. Moreover the most effective of these measures, systematic use of condoms, is male-controlled. Unfortunately, it is well known that the epidemic is "feminizing", especially in those developing countries, where women's sexual rights are not respected and where culture and religion are opposed to male condoms. Moreover, female condoms remain unpractical and a diaphragm has been shown to be ineffective in protecting against HIV transmission.

The idea to develop women-controlled chemical barriers to transmission was first proposed in the nineties. At the time, agents, which were on the market as vaginal spermicides and broad spectrum microbicides, such as Nonoxynol-9 and Savvy, entered immediately in small efficacy trials for prevention of HIV transmission, because they were "generally recognized as safe" (GRAS). Unfortunately, around the turn of the century, these "microbicides" were finally shown to enhance rather than block HIV transmission in large-scale phase III trials. Careful post factum analysis showed that, upon frequent use, they induced mucosal inflammation and epithelial damage in the vagina.

A second generation of "candidate microbicides" was proposed, based on poly-anions such as Cellulose-Sulphate, Carraguard and PRO-2000. They act by electrostatic interference with the first non-specific phase of HIV-target cell interaction. *In vitro* testing showed anti-HIV activity, when used in microgram per ml concentrations; animal testing showed more variable activity without apparent toxicity and phase I human trials seemed to confirm safety. Unfortunately again, phase III trials indicated lack of effectiveness or even tendency to harm for Carraguard, CS and high dose PRO-2000. The low dose PRO-2000 trial is still ongoing at this moment.

Besides these direct ant-viral agents, there are some attempts to protect against HIV transmission by modifying the vaginal environment. Products in clinical trial include Buffergel and Acidform, both meant to keep the pH low, even when semen is present. A very experimental approach aims to develop recombinant Lactobacilli, which secrete anti-viral proteins, such as Cyanovirin, a lectin that prevents the interaction between HIV Envelope and the cellular receptors. It is questionable, however, whether any of these technologies will be ultimately be developed into a useful and acceptable clinical product.

The next generations of candidate microbicides are genuine HIV specific antivirals. A first class consists of peptide or small organic inhibitors of HIV-CD4 interaction (e.g. CD4 miniproteins and BMS compounds) or HIV-coreceptor blockers (e.g. RANTES analogues and Maraviroc). A second class interferes with reverse transcription, the first intracellular step of the viral cycle. In fact, both nucleoside or nucleotide RT inhibitors, such as Emtricitabine (FTC) and Tenofovir (PMPA) as well as non-nucleoside RT inhibitors (NNRTI), such as Dapivirin (TMC-120), UC-781 and MIV-150 have entered the clinical trial phase. Although the NNRTI are clearly more potent *in vitro*, it is Tenofovir alone or in combination with Emtricitabine (together called Truvada), which already progressed to phase III trials. One reason is that especially these drugs have an excellent safety profile during extensive therapeutic use. Moreover, Tenofovir has been shown to be active in pre- and post-exposure prophylaxis in several macaque trials. Why the NNRTI do not move faster in the clinical trial process is not entirely clear. Problems to formulate these highly hydrophobic products are mentioned in this regard.

More upstream in development are other classes of antivirals, including integrase inhibitors and protease inhibitors. Obviously, whereas the former can prevent the ultimate irreversible step of cellular infection (i.e. integration of the provirus into cellular DNA), protease inhibitors can only reduce cell-to-cell spreading. In fact, many investigators believe that prevention of HIV infection will only be possible by a "combination microbicide", which includes very active antivirals, targeting at least two distinct steps in the viral cycle. In this context, integrase or protease inhibitors could be part of a combination with either entry- or RT inhibitors.

With regard to formulation, the original concept was to develop a vaginal gel/cream or tablet, because these formats are well known and acceptable. The problem, however, is that they are "coital-dependent": they need to be applied shortly before intercourse: pharmacokinetic studies showed that the vaginal concentration of the active compound drops rapidly. Macaque trials indicated that a candidate microbicide can block vaginal infection only if the concentration is 1,000 - 10,000 times higher than the *in vitro* active dose. Taking into account these facts, one can ask whether microbicides in a traditional gel formulation will be really useful for the most vulnerable group of women, who are not in full control of their sexual activity (e.g. sex workers).

In this context, two alternatives have emerged: the vaginal ring and oral prophylaxis. Vaginal rings (e.g. Nuvaring) are already used for contraception,

their nature (e.g. silicone) is ideal to contain large amounts of small hydrophobic compounds (sex hormones for contraception or NNRTI for microbicdes). They can be designed to release these compounds in a gradual fashion over prolonged periods of time. Moreover, they can be adapted to contain and release several compounds, including more hydrophilic compounds (e.g. antibodies or CD4 miniproteins). Phase 1 trials, using rings with NNRTI are presently ongoing. Oral prophylaxis obviously has the advantage of providing systemic drug concentration, which would protect against various routes of sexual and non-sexual transmission. On the downside, oral administration increases the risk on side-effects and therefore long-term systemic prophylaxis is only acceptable, if compounds are used with a track record of no or very minimal chances on side-effects. Presently, therefore, only Tenofovir alone and the Truvada combination are tested in this oral format.

Originally, the microbicide field was clearly distinct from the therapeutic arena: microbicides were envisioned to prevent infection by killing the virus or blocking its entry, whereas therapeutic agents specifically inhibited the viral enzymes reverse transciptase or protease. Nowadays both fields get confused, since fusion- and coreceptor blockers are already used in therapy and RTI (as well as integrase and protease inhibitors) are being proposed as candidate microbicides. The distinction between prevention and therapy becomes even less clear with oral Tenofovir and Truvada prophylaxis. The obvious risk of this situation is that drugs used in prevention could jeopardize future therapeutic options, if (cross) resistance is being induced. In a purely preventive setting, i.e. in non-infected women, who occasionally are exposed to HIV, the chances are minimal that resistance in the incoming virus is induced, even if it actually establishes infection, despite the presence of the microbiocide. However, microbicides are meant to be freely available, without a requirement for preliminary HIV testing. Therefore, it is highly likely that, in high prevalence settings, they will be used by already infected women. Moreover, oral prophylaxis and microbicidal rings, especially if used intermittently, may create ideal conditions for induction of resistance, by providing sustained suboptimal drug concentrations.

Although many compounds have shown the capacity to completely block HIV infection *in vitro*, even at nanomolar concentrations, *in vivo* evidence of prevention has only been obtained in well-controlled animal models, using simian or recombinant human-simian viruses in a cell-free format. It remains uncertain whether HIV, especially in its cell-associated format, can be blocked with whatever microbicide during sexual transmission in humans. Even if this could be demonstrated, the fear remains that side effects, including subclinical mucosal damage/inflammation or induction of cross-resistance, will undermine the benefit from potential preventive activity. Nevertheless, in view of the non-controlled heterosexual spread of HIV, we have no option but to continue our efforts to develop new effective, affordable and acceptable women-controlled prevention methods, including microbicides.

Références

Adamson CS, Freed EO: Recent progress in antiretrovirals--lessons from resistance.

Drug Discov Today. 2008 May;13(9-10):424-32.

Cohen MS, Hellmann N, Levy JA, DeCock K, Lange J.: The spread, treatment, and prevention of HIV-1: evolution of a global pandemic. J Clin Invest. 2008 Apr;118(4):1244-54. Review.

D'Cruz OJ, Uckun FM.: Microbicides for multidrug-resistant and multitropic HIV-1.

Curr Opin Investig Drugs. 2008 Feb;9(2):152-69

Lederman MM, Offord RE, Hartley O.: Microbicides and other topical strategies to prevent vaginal transmission of HIV. Nat Rev Immunol. 2006 May;6(5):371-82.

MacArthur RD, Novak RM: Reviews of anti-infective agents: maraviroc: the first of a new class of antiretroviral agents. Clin Infect Dis. 2008 Jul 15;47(2):236-41

Malcolm RK, Woolfson AD, Toner CF, Morrow RJ, McCullagh SD.: Long-term, controlled release of the HIV microbicide TMC120 from silicone elastomer vaginal rings. J Antimicrob Chemother. 2005 Nov;56(5):954-6

Martins S, Ramos MJ, Fernandes PA: The current status of the NNRTI family of antiretrovirals used in the HAART regime against HIV infection. Curr Med Chem. 2008;15(11):1083-95.

Minnis AM, Padian NS.: Effectiveness of female controlled barrier methods in preventing sexually transmitted infections and HIV: current evidence and future research directions.

Sex Transm Infect. 2005 Jun;81(3):193-200. Review.

Ndesendo VM, Pillay V, Choonara YE, Buchmann E, Bayever DN, Meyer LC.: A review of current intravaginal drug delivery approaches employed for the prophylaxis of HIV/AIDS and prevention of sexually transmitted infections. AAPS PharmSciTech. 2008;9(2):505-20.

Pozniak A.: Tenofovir: what have over 1 million years of patient experience taught us?

Int J Clin Pract. 2008 Aug;62(8):1285-93.

Terrazas-Aranda K, Van Herrewege Y, Lewi P, Van Roey J and Vanham G: *In vitro* Pre- and Post- Exposure Prophylaxis using HIV-inhibitors as Microbicides against Cell-free or Cell-associated HIV-1 Infection. Antiviral Chemistry and Chemotherapy 2007 18(3):141-51.

Terrazas-Aranda K, Van Herrewege Y, Hazuda D, Lewi P, Costi R, Di Santo R, Cara A, Vanham G.: HIV-1 Integration: A Potential Target for Microbicides to Prevent Cell-free or Cell-associated Human Immunodeficiency Virus type-1 Infection. Antimicrob Agents Chemother. 2008 Jul;52(7):2544-54.

Van Herrewege Y, Vanham G, Michiels J, Fransen K, Kestens L, Andries K, I Janssen P and Lewi P. A Series of Diarylpyrimidines and Diaryltriazines Are Highly Potent Nonnucleoside Reverse Transcriptase Inhibitors with Possible Applications as Microbicides. Antimicrob. Agents Ch. 2004; 48(10):3684-3689.

Van Herrewege Y, Morellato L, Descours A, Aerts L, Michiels J, Heyndrickx L, Martin L, Vanham G.: CD4 mimetic miniproteins: potent anti-HIV compounds with promising activity as microbicides. J Antimicrob Chemother. 2008;61(4):818-26.

206/49SEP 5 décembre 2008 - 11:20 - 351

Escherichia coli uropathogène chez l'enfant : le génotypage bactérien est-il prédictif de la susceptibilité de l'hôte ?

P. Bidet, S. Bonacorsi, V. Houdouin, P. Mariani-Kurkdjian, E. Bingen
Service de Bactériologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

E.coli est responsable d'environ 90% des infections urinaires (IU) communautaires. Les souches de *E.coli* uropathogènes (UPEC) se différencient des souches retrouvées dans la flore commensale chez l'hôte normal, par la présence de facteurs de virulence, l'association à certains sérotypes (O1, O2, O4, O6, O7, O16, O18 et O75) et l'appartenance aux groupes phylogénétiques B2 et D (7, 9, 31).

L'histoire naturelle de l'IU débute par la colonisation du tube digestif avec une souche uropathogène qui, grâce à la présence de facteurs de virulence, va coloniser l'aire péri-urétrale et migrer le long de l'urètre vers la vessie puis le long de l'uretère vers le rein. La migration de *E. coli* le long des voies urinaires, en dépit du flux urinaire, requiert l'attachement de structures spécifiques bactériennes sur des récepteurs à la surface des cellules épithéliales. L'adhésion spécifique s'effectue par l'intermédiaire de fimbriae. Les fimbriae ou " pili " sont des polypeptides spécifiques de récepteurs saccharidiques, généralement des glycolipides, présents à la surface des cellules eucaryotes dont l'urothélium. Ils sont composés de sous-unités protéiques répétées organisées en structures hélicoïdales formant des appendices à la surface bactérienne et porteuses d'épitopes.

Facteurs de virulence :

E. coli peut exprimer plusieurs types de pili dont 2 jouent un rôle majeur dans l'IU : les pili de type 1 et les pili de type P.

Les pili de type 1, sont codés par l'opéron *fim* porté par le chromosome bactérien ; cet opéron est composé de 9 gènes (*fim*A à *fim* I). Le gène *fim*H code pour l'adhésine FimH qui se lie spécifiquement aux résidus D mannose qui tapissent les cellules vaginales, les cellules périnéales et les cellules vésicales (20). Cette adhésion prévient l'élimination de la bactérie par le flux urinaire et déclenche l'apoptose, l'exfoliation et l'internalisation de la bactérie dans l'épithélium de la vessie ce qui pourra être potentiellement responsable de rechute d'IU (19, 20). L'adhésion est également à l'origine de la réponse inflammatoire, notamment de la synthèse de cytokines (4). L'expression continue de fimbriae de type 1 confine l'infection à la vessie. Les souches d'UPEC responsables de pyélonéphrites aiguës (PNA) vont exprimer leurs fimbriae de type 1 en position "off", et vont pouvoir migrer le long des uretères en dépit du flux urinaire, la migration étant favorisée par l'expression des fimbriae de type P.

Les pili de type P sont codés par l'opéron *pap* (" Pyelonephritis Associated Pili "). L'opéron *pap* comporte 11 gènes (papA à papK). La protéine PapG (35 kDa), localisée à l'extrémité du pili de type P, est responsable de la spécificité de l'adhésion des bactéries à leurs récepteurs glycolipidiques. Ces récepteurs sont des résidus αGal (1-4) βGal, présents au niveau des cellules eucaryotes. Elle reconnaît aussi des épitopes des groupes sanguins comme le groupe P (d'où le nom de P fimbriae) (21, 23). L'analyse génétique permet de différencier trois allèles I, II et II du gène *pap* G codant pour trois classes d'adhésines G reconnaissant trois types de récepteurs différents (23). Les allèles de type III sont plus souvent retrouvés chez les souches responsables de cystites en raison des récepteurs spécifiques présents au niveau des cellules épithéliales de la vessie alors que les allèles de type II sont associés plus souvent aux PNA en raison des récepteurs spécifiques uroépithéliaux (18, 19, 22).

L'adhésion des bactéries aux cellules uroépithéliales apporte deux avantages sélectifs pour le développement de l'infection urinaire. L'adhésion permet aux bactéries, d'une part de résister au flux urinaire, d'autre part d'assurer un contact étroit avec les nutriments présents à la surface cellulaire. De plus, l'adhésion joue un rôle dans l'intensité de la réaction inflammatoire et dans la sévérité de l'infection chez l'enfant (25). Les enfants atteints de PNA sont plus fréquemment porteurs dans leur flore fécale de souches de *E. coli* ayant des P fimbriae que les enfants sains (20), ceci en l'absence d'anomalies anatomiques.

D'autres facteurs d'uropathogénicité ne sont pas liés à l'adhésion. Il s'agit de toxines et des systèmes de captation du fer : *hly, cnf1*, aerobactine, yersiniabactine (*fuyA*), *iro*N. Une rupture de la barrière de l'épithélium rénal, associée à l'hémolysine, favorise la pénétration de la bactérie dans l'endothélium des capillaires et va ainsi entraîner une bactériémie (20). Celle-ci est retrouvée chez 10 à 30% des enfants atteints de PNA avant l'âge de 3 mois et environ 5% des enfants plus âgés (12, 28).

Les gènes de virulence ne sont pas repartis au hasard sur le chromosome bactérien. Ils sont regroupés en blocs de virulence dénommés « îlots de pathogénicité » (PAI). Ces derniers ont les caractéristiques suivantes : taille supérieure à 30 kb, G+C différent du reste du chromosome, insertion à l'intérieur des gènes codant pour l'ARNt, situés entre des séquences répétées, pouvant ainsi s'exciser spontanément (20). La perte ou l'acquisition d'un PAI par transfert horizontal, transforme une bactérie pathogène en une bactérie non pathogène et inversement. Les UPEC possèdent de nombreux facteurs de

virulence codés par les PAI. Plusieurs PAI ont été décrits dont le PAI II_{J96} (110 kb) contenant les gènes *hly, pap*GIII*, cnf1 et hra* (5, 6, 15).

Il existe une oligoclonalité des souches d'*E. coli* responsables d'infection urinaire comparée à l'hétérogénéité des *E. coli* de la flore commensale digestive de sujets sains (31). En effet, le fait qu'il existe chez les *E. coli* uropathogènes une relation entre certains sérotypes (O4, O6, O18, O75) ou marqueurs moléculaires et certains facteurs de virulence connus montre que ceux-ci ne sont pas distribués au hasard, mais qu'ils dépendent des autres marqueurs génotypiques et sont donc caractéristiques de certains clones qui prédominent chez les patients atteints de PNA (20). Il existerait donc une spécialisation des souches virulentes au sein de l'espèce. Ainsi, les souches de *E. coli* présentant des facteurs de virulence se caractérisent par un fond génétique particulier, ce qui suggère que seuls certains génotypes possèdent le fond génétique pour acquérir ou conserver des facteurs de virulence et pour diffuser dans le temps et l'espace.

Prévalence des facteurs de virulence :

Les P fimbriae sont trouvés avec une plus grande fréquence chez les *E. coli* responsables de PNA chez l'enfant (plus de 70% des souches), alors que leur fréquence est de l'ordre de 30% dans les cystites et de 20% dans les bactériuries asymptomatiques (20). Une corrélation a été établie entre le type d'allèle et le tableau clinique. L'allèle II est plus fréquent dans les urosepsis de l'adulte (6) et dans les PNA de l'enfant (18) alors que l'allèle de type III est plus fréquemment associé aux cystites et aux prostatites (20). Après l'age de 3 mois, l'incidence des infections urinaires est plus élevée chez les filles alors qu'avant 3 mois elle est plus élevée chez les garçons. Une étude récente a montré que la prévalence des gènes de virulence chez les souches de *E. coli* responsable d'infection chez les garçons de moins de 3 mois est comparable à celle retrouvée dans les urosepsis de l'adulte avec notamment une forte prévalence de l'allèle *papGII* (76%) et une proportion moindre de souches appartenant au groupe phylogénétique A (4%) comparativement aux souches isolées chez les filles (38% et 31% respectivement, p=0,01). Cette différence en terme de souches pouvant refléter une capacité particulière à coloniser le prépuce (8).

Facteurs de virulence bactérien et anomalies des voies urinaires :

Le reflux vésico-urétéral (RVU) est une entité retrouvée chez 20 à 40% des enfants ayant eu une pyélonéphrite aiguë (30) et c'est un facteur de risque de survenue de bactériémie chez le nourrisson de moins de trois mois (3, 14) ainsi que de cicatrices rénales : 15-35% en l'absence de RVU à 35-60% en cas de RVU (17, 29, 33). La découverte d'un reflux de haut grade aboutit à une antibioprophylaxie (1, 2). Cette malformation est donc systématiquement recherchée lors du premier épisode d'infection chez le jeune enfant à l'aide d'une cystographie (2). La cystographie rétrograde ou sus-pubienne présente cependant de nombreux inconvénients : l'examen est désagréable voire douloureux (34), et irradiant. Enfin, il s'agit d'un examen peu rentable puisqu'il s'avère normal dans 60 à 80% des cas (13). Plusieurs études ont cherché à prédire la présence de RVU au cours des infections urinaires sans avoir recours à la cystographie. Oostenbrink et coll. ont proposé un score reposant sur des données cliniques biologiques et échographiques (26) facilement réalisable en pratique courante mais peu reproductible (24). Des marqueurs biologiques en faveur d'un RVU ont été recherchés. Ainsi l'interleukine 8 est élevé dans les urines des enfants porteurs de RVU (11), mais ce marqueur est également élevé dans les infections urinaires (32). La procalcitonine est un autre marqueur biologique de sévérité de l'infection urinaire (27) mais également un marqueur de RVU. Une valeur de PCT supérieur à 0.5 ng/ml est significativement plus fréquemment retrouvée chez les enfants présentant une première infection urinaire avec un RVU. La sensibilité de cette valeur seuil est de 85% et sa spécificité de 44% (24).

D'autres études ont comparé les souches de *E. coli* responsable de pyélopnéphrites chez les enfants présentant un RVU avec celles isolées en l'absence d'anomalie des voies urinaires. Ainsi, De Man et coll. ont montré que l'incidence des P fimbriae est plus faible chez les souches de *E. coli* isolées chez les garçons ayant un premier épisode de pyélonéphrite avec RVU que chez des patients comparables sans RVU (10). Jantunen et coll., étudiant 214 pyélonéphrites d'enfants de 1-24 mois, retrouvent une nette prédominance de l'allèle *papGII* chez les enfants sans uropathie majeure comparé aux enfants présentant des anomalies anatomiques ou un RVU de grade III ou superieur (76% contre 41%, p<0.001) (18). Une étude réalisée en 2006 à l'hôpital Robert-Debré portant sur 93 enfants de 3 mois à 15 ans ayant présenté une pyélonéphrite (69% de filles) a analysé la répartition des groupes phylogénétiques et des facteurs de virulence en fonction de la présence ou non d'anomalies significatives des voies urinaires (RVU grade > II et/ou anomalies anatomiques). 81 enfants avaient une cystographie normale ou un RVU de bas grade et 12 présentaient une anomalie urinaire significative nécessitant une prise en charge médicale. Le groupe phylogénétique A non virulent était retrouvé plus fréquemment chez les enfants présentant des anomalies urinaires notables (25% versus 5%, p=0.04) avec une valeur prédictive positive de 43% et négative de 90%. Concernant les gènes de virulence, seul *papGII* présentait une répartition différente selon la présence ou non d'anomalies urinaires (90% versus 42%, p=0.003). L'absence de *papGII* avait une sensibilité de 58%, une spécificité de 90%, une valeur prédictive positive de 47%, et une valeur prédictive négative de 94% pour détecter une anomalie urinaire notable (16).

Ces observations suggèrent que le RVU favorise l'accès des *E. coli* dépourvus de P. fimbriae au parenchyme rénal. L'infection urinaire haute avec un *E. coli* dépourvu de P fimbriae et plus particulièrement de P fimbriae d'allèle *papGII* serait donc un facteur prédictif de la présence d'un RVU ou d'anomalies anatomiques des voies urinaires et donc, une indication potentielle d'une exploration anatomique et fonctionnelle.

En conclusion, la mise en évidence des groupes phylogénétiques et des gènes de virulence en pratique usuelle par PCR chez les souches responsables d'infections urinaires pourrait permettre de sélectionner les patients avant la réalisation de la cystographie. Néanmoins, d'autres études complémentaires prospectives en association avec la recherche combinée d'autres marqueurs biologiques telle que la procalcitonine doivent être réalisées pour valider ces premiers résultats.

Bibliographie

1. AFSSAPS. 2007. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires du nourisson et de l'enfant.

2. American Academy of Pediatrics. 1999. Practice parameter: the diagnosis, treatment, and evaluation of the initial urinary tract infection in febrile infants and young children. American Academy of Pediatrics. Committee on Quality Improvement. Subcommittee on Urinary Tract Infection. Pediatrics 103:843-52.

3. Bachur, R., and G. L. Caputo. 1995. Bacteremia and meningitis among infants with urinary tract infections. Pediatr Emerg Care 11:280-4.

4. Benson, M., U. Jodal, A. Andreasson, A. Karlsson, J. Rydberg, and C. Svanborg. 1994. Interleukin 6 response to urinary tract infection in childhood. Pediatr Infect Dis J 13:612-6.

5. Bidet, P., S. Bonacorsi, O. Clermont, C. De Montille, N. Brahimi, and E. Bingen. 2005. Multiple Insertional Events, Restricted by the Genetic Background, Have Led to Acquisition of Pathogenicity Island IIJ96-Like Domains among *Escherichia coli* Strains of Different Clinical Origins. Infect Immun 73:4081-7.

6. Bingen-Bidois, M., O. Clermont, S. Bonacorsi, M. Terki, N. Brahimi, C. Loukil, D. Barraud, and E. Bingen. 2002. Phylogenetic analysis and prevalence of urosepsis strains of *Escherichia coli* bearing pathogenicity island-like domains. Infect Immun 70:3216-26.

7. Bingen, E., B. Picard, N. Brahimi, S. Mathy, P. Desjardins, J. Elion, and E. Denamur. 1998. Phylogenetic analysis of *Escherichia coli* strains causing neonatal meningitis suggests horizontal gene transfer from a predominant pool of highly virulent B2 group strains. J Infect Dis 177:642-50.

8. Bonacorsi, S., S. Lefevre, O. Clermont, V. Houdouin, A. Bourrillon, C. Loirat, Y. Aujard, and E. Bingen. 2005. *Escherichia coli* strains causing urinary tract infection in uncircumcised infants resemble urosepsis-like adult strains. J Urol 173:195-7.

9. Clermont, O., S. Bonacorsi, and E. Bingen. 2000. Rapid and simple determination of the *Escherichia coli* phylogenetic group. Appl Environ Microbiol 66:4555-8.

10. de Man, P., I. Claeson, I. M. Johanson, U. Jodal, and C. Svanborg Eden. 1989. Bacterial attachment as a predictor of renal abnormalities in boys with urinary tract infection. J Pediatr 115:915-22.

11. Galanakis, E., M. Bitsori, H. Dimitriou, C. Giannakopoulou, N. S. Karkavitsas, and M. Kalmanti. 2006. Urine interleukin-8 as a marker of vesicoureteral reflux in infants. Pediatrics. 117:e863-7.

12. Ginsburg, C. M., and G. H. McCracken, Jr. 1982. Urinary tract infections in young infants. Pediatrics 69:409-12.

13. Hoberman, A., M. Charron, R. W. Hickey, M. Baskin, D. H. Kearney, and E. R. Wald. 2003. Imaging studies after a first febrile urinary tract infection in young children. N Engl J Med. 348:195-202.

14. Honkinen, O., T. Jahnukainen, J. Mertsola, J. Eskola, and O. Ruuskanen. 2000. Bacteremic urinary tract infection in children. Pediatr Infect Dis J 19:630-4.

15. Houdouin, V., S. Bonacorsi, N. Brahimi, O. Clermont, X. Nassif, and E. Bingen. 2002. A uropathogenicity island contributes to the pathogenicity of *Escherichia coli* strains that cause neonatal meningitis. Infect Immun 70:5865-9.

16. Houdouin, V., S. Bonacorsi, F. Mahjoub-Messai, P. Mariani-Kurkdjian, P. Bidet, G. Sebag, C. Loirat, A. Bourrillon, and E. Bingen. 2007. Phylogenetic groups and virulence factors of *Escherichia coli* strains causing pyelonephritis in children with and without urinary tract abnormalities. Clin Microbiol Infect. 13:740-2.

17. Jacobson, S. H., S. Hansson, and B. Jakobsson. 1999. Vesico-ureteric reflux: occurrence and long-term risks. Acta Paediatr Suppl. 88:22-30.

18. Jantunen, M. E., A. Siitonen, O. Koskimies, S. Wikstrom, U. Karkkainen, E. Salo, and H. Saxen. 2000. Predominance of class II *papG* allele of *Escherichia coli* in pyelonephritis in infants with normal urinary tract anatomy. J Infect Dis 181:1822-4.

19. Johnson, J. R. 2003. Microbial virulence determinants and the pathogenesis of urinary tract infection. Infect Dis Clin North Am 17:261-78, viii.

20. Johnson, J. R. 1991. Virulence factors in *Escherichia coli* urinary tract infection. Clin Microbiol Rev 4:80-128.

21. Johnson, J. R., P. Goullet, B. Picard, S. L. Moseley, P. L. Roberts, and W. E. Stamm. 1991. Association of carboxylesterase B electrophoretic pattern with presence and expression of urovirulence factor determinants and antimicrobial resistance among strains of *Escherichia coli* that cause urosepsis. Infect Immun 59:2311-5.

22. Johnson, J. R., C. E. Johnson, and J. N. Maslow. 1999. Clinical and bacteriologic correlates of the papG alleles among Escherichia coli strains from children with acute cystitis. Pediatr Infect Dis J 18:446-51.

23. Le Bouguenec, C., M. Archambaud, and A. Labigne. 2000. Infections urinaires : aspects fondamentaux, facteurs de virulence et physiopathologie, p. 44-55. *In* P. Choutet and F. W. Goldstein (ed.), *Escherichia coli :* aspects fondamentaux et cliniques. Editions Médicales Phase 5, Paris.

24. Leroy, S., E. Marc, C. Adamsbaum, D. Gendrel, G. Breart, and M. Chalumeau. 2006. Prediction of vesicoureteral reflux after a first febrile urinary tract infection in children: validation of a clinical decision rule. Arch Dis Child.

91:241-4.

25. Marild, S., B. Wettergren, M. Hellstrom, U. Jodal, K. Lincoln, I. Orskov, F. Orskov, and C. Svanborg Eden. 1988. Bacterial virulence and inflammatory response in infants with febrile urinary tract infection or screening bacteriuria. J Pediatr 112:348-54.

26. Oostenbrink, R., A. J. van der Heijden, K. G. Moons, and H. A. Moll. 2000. Prediction of vesico-ureteric reflux in childhood urinary tract infection: a multivariate approach. Acta Paediatr. 89:806-10.

27. Pecile, P., and C. Romanello. 2007. Procalcitonin and pyelonephritis in children. Curr Opin Infect Dis. 20:83-7.

28. Pitetti, R. D., and S. Choi. 2002. Utility of blood cultures in febrile children with UTI. Am J Emerg Med 20:271-4.

29. Polito, C., P. F. Rambaldi, G. Signoriello, L. Mansi, and A. La Manna. 2006. Permanent renal parenchymal defects after febrile UTI are closely associated with vesicoureteric reflux. Pediatr Nephrol. 21:521-6.

30. Sargent, M. A. 2000. What is the normal prevalence of vesicoureteral reflux? Pediatr Radiol. 30:587-93.

31. Selander, R. K., D. A. Caugant, and T. S. Whittam. 1987. Genetic structure and variation in natural populations of *Escherichia coli*, p. 1625-1648. *In* F. C. Neidhardt, J. L. Ingraham, K. B. Low, B. Magasanik, M. Schaechter, and H. E. Umbarger (ed.), *Escherichia coli* and *Salmonella typhimurium*: cellular and molecular biology. American Society for Microbiology, Washington D. C.

32. Sheu, J. N., M. C. Chen, K. H. Lue, S. L. Cheng, I. C. Lee, S. M. Chen, and G. J. Tsay. 2006. Serum and urine levels of interleukin-6 and interleukin-8 in children with acute pyelonephritis. Cytokine. 36:276-82.

33. Stokland, E., M. Hellstrom, B. Jacobsson, U. Jodal, and R. Sixt. 1996. Renal damage one year after first urinary tract infection: role of dimercaptosuccinic acid scintigraphy. J Pediatr. 129:815-20.

34. Zier, J. L., K. A. Kvam, S. C. Kurachek, and M. Finkelstein. 2007. Sedation with nitrous oxide compared with no sedation during catheterization for urologic imaging in children. Pediatr Radiol. 37:678-684.

207/49SEP 5 décembre 2008 - 11:40 - 351

Méningite néonatale à *Escherichia coli* : épidémiologie et relation entre virulence et mortalité

S. Bonacorsi, P. Bidet, E. Bingen
Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Laboratoire associé au CNR de Escherichia coli, Equipe d'accueil EA3105, UFR Paris-Doderot, Paris, France

Chez le nouveau-né, *Escherichia coli* est le deuxième germe responsable de méningites néonatales. Malgré les progrès réalisés dans la prise en charge des nouveau-nés, le taux de mortalité de ces méningites (25 à 40%) ainsi que le taux de séquelles neurologiques (33 à 50%) (3-5, 7) restent élevés. Depuis les 15 dernières années aucune étude associant le devenir clinique des enfants et la caractérisation moléculaire des souches responsables de méningite à *E. coli* n'a été publiée. Hors les progrès réalisés dans la prise en charge des nouveau-nés, en particulier des prématurés, l'apport thérapeutique des céphalosporines de troisième génération à partir des années 80 et l'introduction de la ciprofloxacine dans le traitement des méningites à bacille gram négatif (8) ont changé le pronostic des méningites à *E. coli*. De même les progrès réalisés dans la caractérisation des facteurs de virulence spécifiques et le génotypage des souches de *E. coli* responsables de méningites ont contribué à une meilleure connaissance de la pathogénèse (1, 2, 6). Une étude rétrospective clinique de 99 enfants atteints de méningite a été réalisée à partir du registre des souches du laboratoire associé au CNR de *E. coli* collectées entre 1988 et 2004. Les données clinico-biologiques ont été confrontées aux caractéristiques génétiques et phénotypiques des souches. Pour ce faire, l'analyse des groupes phylogénétiques (A, B1, B2 et D), la détermination des séquence-O-types (combinaison du séquence-type déterminé par MLST et du sérogroupe) (1), l'analyse des facteurs de virulence, et la sensibilité des souches aux antibiotiques ont été étudiées. De plus la virulence des souches responsables de décès chez l'enfant a été étudiée dans un modèle animal de méningite néonatale de rat nouveau-né.

L'âge médian de survenue de la méningite était de 10 jours, 83 enfants étaient des nouveau-nés dont 16 avaient moins de 72 heures de vie. Trente trois enfants étaient prématurés, dix d'entre eux étaient des grands prématurés (≤ 32 semaines d'aménorrhée). La durée des symptômes avant l'hospitalisation était brève : 70% des enfants étaient symptomatiques depuis moins de 24 heures avant l'admission. La fièvre ou l'hypothermie était le symptôme le plus souvent retrouvé (74%) à l'examen clinique initial. Parmi les paramètres biologiques au bilan initial, aucun n'avait une valeur prédictive négative de 100%. La cytologie du LCR apparaît comme le paramètre le plus sensible en effet seuls trois enfants avaient une cytologie normale (6, 8, 10 cellules/mm^3). Vingt-neuf pour cent des enfants avaient une CRP initiale normale. Dix neuf pour cent avaient une hémoculture négative. Une infection urinaire à *E. coli* était associée chez 14 (28%) enfants parmi les cinquante de plus de 6 jours qui ont eu un examen cytobactériologique des urines. Quatre vingt trois enfants ont eu une échographie trans-fontanellaire initiale dont un tiers était anormale.

A l'exception de deux enfants traités par amoxicilline et aminoside, tous les enfants ont eu un traitement associant une céphalosporine de troisième génération (C3G) injectable et un aminoside. La durée de l'administration de la C3G était inférieure à 21 jours chez 26 enfants sur 83 (31%). La ciprofloxacine a été administrée les cinq premiers jours de traitement chez 44% des enfants. Toutes les souches étaient sensibles aux C3G, aux aminosides et à la ciprofloxacine. La PL de contrôle 48 à 96h après le début de l'antibiothérapie était positive chez 15% (13/84) des enfants. L'adjonction de la ciprofloxacine au traitement habituel (C3G, aminosides) était associée à une meilleure stérilisation du LCR à 48 heures (34/36-94% vs 37/48- 77% ; p=0.03). La présence d'une ventriculite à l'échographie transfontanellaire était associée au retard à la stérilisation du LCR (66% vs 8,5%, p=0.008).

Soixante dix sept souches appartenaient aux séquence-O-types les plus fréquents des méningites néonatales : STc29^{O1}, STc29^{O18}, STc29^{O45}, STc301^{O7}, STc304^{O16}, STc697^{O83}, STc700^{O1} [6]. Les autres souches appartenaient à des séquence-O-types plus rares. Les enfants prématurés étaient plus souvent infectés par des souches de séquence-O-types inhabituels (39% *versus* 15%, p=0,007).

La mortalité globale était de 14% et de 18% chez les prématurés versus 12% chez les enfants à terme (p=0,5). Aucun critère démographique, ni la durée des symptômes avant la prise en charge, n'étaient significativement différents entre les enfants décédés et les survivants. La mortalité était associée aux signes de choc septique et de défaillance neurologique : hypotension à l'arrivée aux urgences et à 12 heures de la prise en charge, convulsions à 12 heures de la prise en charge, nécessité d'une prise en charge en réanimation. Au niveau radiologique la présence d'une anomalie échographique était associée au risque de mortalité. Nous n'avons pas pu mettre en évidence une différence significative pour un critère radiologique précis. Aucune différence significative n'était observée pour la mortalité selon l'adjonction ou non de ciprofloxacine lors du traitement initial. La prévalence des séquence-O-types les plus fréquents était plus élevée chez les enfants survivants que chez les enfants décédés (82% versus 50%, p=0,013). Aucune différence significative n'était retrouvée entre les enfants survivants et décédés pour la répartition des facteurs de virulence, en dehors de l'aérobactine (gène *iucC)* retrouvée moins fréquemment chez les souches léthales (71% versus 94%, p=0,02).

Parmi les 85 enfants survivants, 10 ont été perdus de vue. Parmi les 75 enfants ayant eu un suivi neurologique supérieur à 3 mois, 9 (12%) avaient un retard de développement psychomoteur et une épilepsie séquellaire, 4 (5%) avaient un déficit auditif isolé et trois (4%) une hydrocéphalie nécessitant une dérivation externe. Au total pour les enfants ayant bénéficié d'un suivi moyen de 8 mois (3-48 mois), nous avons observé un taux de séquelles de 21%. L'âge gestationnel moyen était significativement plus bas chez les enfants de pronostic défavorable (35,6 versus 37,6 SA, p=0,01). Aucune différence significative n'était retrouvée entre les enfants ayant un pronostic favorable ou défavorable pour la répartition des facteurs de virulence et des séquence-O-Types.

Les souches caractérisées par des séquence-O-types inhabituels c'est-à-dire les moins fréquents, et ayant entraînés un décès ont été testées dans le modèle animal de méningite du rat nouveau-né. Le taux de bactériémie obtenu était significativement plus bas avec ces souches, comparativement aux souches virulentes de référence C5 (STc29^{O18}) et S88 (STc29^{O45}), démontrant leur moindre virulence.

Dans notre étude, 6 enfants ont présenté une récidive de méningite à *E. coli* entre 1 et 16 jours après l'arrêt du traitement. Parmi ces enfants, trois ont été traités au cours de leur première méningite de façon inadaptée CIIIG pendant moins de 15 jours (n=2), amoxicilline au lieu de CIIIG pendant trois semaines (n=1).

Au total cette étude permet de souligner plusieurs points importants concernant les méningites néonatales à *Escherichia coli*.

-La très grande majorité des méningites à *E. coli* sont des infections néonatales tardives, seuls 16% correspondant à une infection materno-fœtales.

-Un tiers des méningites à *E. coli* survient secondairement à une infection urinaire chez le nouveau-né de plus de 6 jours. L'épidémiologie moléculaire des souches responsables d'urosepsis comparée à celle des souches de méningites devrait permettre d'identifier des facteurs prédictifs de méningites au cours des infections urinaires du jeune nourrisson.

-Bien que la bactériémie de haut niveau soit une étape préalable indispensable pour la survenue d'une méningite, près de 1 nouveau-né sur 5 a une hémoculture négative au moment du diagnostic. L'hémoculture n'est donc pas un bon facteur prédictif négatif de méningite.

-L'antibiothérapie est adaptée en terme de molécule dans la majorité des cas (utilisation d'une CIIIG et non d'Amoxicilline même sur une souche sensible) avec cependant une durée trop courte (<21 jours) dans près d'un tiers des cas. Ces traitements inadaptés peuvent être responsable de récidive.

- Contrairement aux séquelles neurologiques, la mortalité n'apparaît pas liée à la prématurité. Paradoxalement se sont les souches appartenant à des groupes clonaux rares et peu ou pas virulents qui apparaissent significativement liées à la mortalité. Ces résultats suggèrent que la léthalité pourrait être liée d'avantage à une susceptibilité génétique particulière encore inconnue de l'hôte plutôt qu'à la virulence des souches.

1. **Bidet, P., F. Mahjoub-Messai, J. Blanco, J. Blanco, M. Dehem, Y. Aujard, E. Bingen, and S. Bonacorsi.** 2007. Combined Multilocus Sequence Typing and O Serogrouping Distinguishes *Escherichia coli* Subtypes Associated with Infant Urosepsis and/or Meningitis. J Infect Dis **196:**297-303.

2. **Bonacorsi, S., and E. Bingen.** 2005. Molecular epidemiology of *Escherichia coli* causing neonatal meningitis. Int J Med Microbiol **295:**373-381.

3. **de Louvois, J., J. Blackbourn, R. Hurley, and D. Harvey.** 1991. Infantile meningitis in England and Wales: a two year study. Arch Dis Child **66:**603-607.

4. **Franco, S. M., V. E. Cornelius, and B. F. Andrews.** 1992. Long-term outcome of neonatal meningitis. Am J Dis Child **146:**567-571.

5. **Harvey, D., D. E. Holt, and H. Bedford.** 1999. Bacterial meningitis in the newborn: a prospective study of mortality and morbidity. Semin Perinatol.

23:218-225.

6. **Johnson, J. R., E. Oswald, T. T. O'Bryan, M. A. Kuskowski, and L. Spanjaard.** 2002. Phylogenetic distribution of virulence-associated genes among *Escherichia coli* isolates associated with neonatal bacterial meningitis in The Netherlands. J Infect Dis **185:**774-784.

7. **Unhanand, M., M. M. Mustafa, G. H. McCracken, Jr., and J. D. Nelson.** 1993. Gram-negative enteric bacillary meningitis: a twenty-one-year experience. J Pediatr **122:**15-21.

8. **van den Oever, H. L., F. G. Versteegh, E. A. Thewessen, J. N. van den Anker, J. W. Mouton, and H. J. Neijens.** 1998. Ciprofloxacin in preterm neonates: case report and review of the literature. Eur J Pediatr. **157:**843-845.

208/49SEP — 5 décembre 2008 - 12:00 - 351

Résistances émergentes aux bêta-lactamines chez *Escherichia coli*

L. Poirel, P. Nordmann
Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital de Bicêtre, Unité Inserm U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Les résistances émergentes aux β-lactamines chez *Escherichia coli* sont, en France, dominées par les β-lactamases à spectre étendu (BLSE). Ces enzymes dont l'activité est inhibée in vitro par les inhibiteurs de β-lactamases (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam) hydrolysent toutes les β-lactamases à l'exception des cephamycines et des carbapénèmes. Ces β-lactamases ont une structure différente des BLSE très largement décrites dans les années 1990-2000 chez *Klebsiella pneumoniae*, puisqu'il s'agit d'enzymes de type CTX-M dont il existe plus de 40 variants. Ces BLSE sont identifiées actuellement dans 2-3% des souches de *E. coli* mais représentent actuellement, en milieu hospitalier, entre 60 et 70% des souches productrices de BLSE. Ces souches de *E. coli* sont essentiellement d'origine communautaire. Actuellement, la BLSE CTX-M-15 est la plus largement décrite chez *E. coli* quel que soit le lieu géographique de son identification. Elle a la particularité d'hydrolyser à haut niveau la ceftazidime.

Dans la mesure où ces souches productrices de CTX-M sont habituellement co-résistantes à de nombreuses autres familles d'antibiotiques (fluoroquinolones, aminosides), les molécules qui restent actives sont peu nombreuses (carbapénèmes, tigécycline, fosfomycine, colistine). Ces BLSE seraient à l'origine de l'augmentation rapide des niveaux de résistance aux céphalosporines de 3ème génération chez *E. coli* notamment en Europe.

Ces souches de *E. coli,* si elles n'entraînent pas habituellement d'épidémie en milieu hospitalier, pourraient être une source (réservoir) importante de gènes plasmidiques de CTX-M transmissibles à *K. pneumoniae* ce qui pourrait être à l'origine d'une nouvelle flambée de BLSE nosocomiales.

Les céphalosporinases plasmidiques ont été décrites dans plusieurs espèces d'entérobactéries dont *E. coli.* Si elles confèrent une résistance à la plupart des β-lactamines à l'exception des carbapénèmes et des céphalosporines dites de 4ème génération (céfépime, cefpirome), elles n'ont pas, actuellement chez *E. coli*, une très forte prévalence. Cependant, associées à des mécanismes d'imperméabilité, ces souches sont, comme c'est le cas pour les souches productrices de BLSE, un terrain favorable à l'émergence de souches résistantes au carbapénèmes.

La résistance aux carbapénèmes liée à des carbapénèmases reste rare chez *E. coli*. Elle a été observée dans quelques souches américaines produisant une carbapénèmase de type KPC, enzyme décrite essentiellement dans des souches hospitalières de *K. pneumoniae* aux Etats-Unis et en Israël. Les carbapénèmes de type KPC hydrolysent, à des degrés variables, toutes les β-lactamines et sont d'identification phénotypique difficile. Enfin, certaines souches de *E. coli* produisent un autre type de carbapénèmase, VIM, qui hydrolyse toutes les β-lactamines sauf l'aztréonam. Ces enzymes ont été identifiées dans de rares souches de *E. coli* hospitalières dans le Sud de l'Europe. Les résistances émergentes aux β-lactamines sont donc actuellement dominées par les BLSE de type CTX-M dont la dissémination en milieu communautaire peut poser, à terme, un réel problème thérapeutique.

215/52SEP — 5 décembre 2008 - 11:00 - 353

Enquête nationale de prévalence des infections dans les établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes

K. Chami
Observatoire du Risque Infectieux en Gériatrie, Hôpital Charles Foix, AP-HP, Ivry-sur-Seine, France

Privés ou publics, rattachés ou non à un hôpital, les Etablissements d'Hébergement pour Personnes Agées Dépendantes (EHPAD, anciennement maisons de retraite) sont des structures où les personnes âgées souvent dépendantes vivent en collectivité pour de longues périodes, souvent jusqu'à leur décès [1]. Le taux d'infections endémiques est élevé et le risque épidémique est permanent [2]. Les maladies infectieuses présentent donc un problème majeur dans ces institutions gériatriques [3]. En effet, la vie en collectivité dans ce type de structures, l'immunosénescence, la dénutrition, le vieillissement physiologique et les altérations fonctionnelles [4] en sont les causes.

Le taux de prévalence des infections en Nursing Homes (le descripteur américain qui se rapproche le plus du terme EHPAD), se situe dans une fourchette allant de 1.6 à 32.7% [5] d'après la littérature (anglo-saxonne principalement). En France, très peu d'études ont exploré le risque infectieux en EHPAD bien que 443 765 personnes âgées soient institutionnalisées. Dans le but d'estimer le taux de prévalence sur 1 mois des infections (communautaires et acquises en maison de retraite) chez les résidents institutionnalisés et de mettre en évidence les facteurs de risque qui leur sont associés, une enquête transversale a été réalisée.

Matériels et Méthodes : Il s'agissait d'une enquête transversale, périodique (5 périodes saisonnières différentes), réalisée entre 2006 et 2007, en France, à l'échelon national. Tout EHPAD volontaire a été inclus dans l'étude. Le recueil des données prospectif était réalisé en ligne ou sur papier par l'investigateur principal qui était le médecin coordonnateur ou une infirmière. Les données suivantes ont été recueillies : infections (les infections survenant au cours du mois ou en cours de traitement au premier jour d'enquête étaient comptabilisées pour analyse, 2 cas d'infections étant distingués : les cas confirmés – répondant strictement aux définitions de McGeer et les cas probables - répondant aux définitions de l'ORIG), l'état clinique (statut nutritionnel, présence d'escarres, présence de sondage urinaire), les vaccinations anti-grippale et antipneumococcique et le score d'autonomie GIR.

Résultats : Pour un total de 44 870 personnes âgées dans 577 EHPAD, les résidents étaient en moyenne âgés de 86 ± 8 ans, le sex ratio (Femmes/Hommes) était de 3, 49% des résidents sont très dépendants, en GIR 1 ou 2. Le taux de prévalence total toutes infections confondues était de 11.23 pour 100 résidents (IC 95% 10.93-11.55). L'analyse multivariée a mis en évidence les facteurs de risque suivants : le sexe féminin, l'âge, le degré de dépendance, le statut nutritionnel, l'exposition au sondage urinaire, la présence d'escarres, la période saisonnière. Les infections respiratoires hautes et basses confondues représentent le premier site infectieux (41% de toutes les infections), suivies des infections urinaires symptomatiques (24%).

Conclusion : Compte tenu de la littérature, l'étude a mis en évidence un taux de prévalence élevé. Un consensus a été mis en place dans le but de rédiger des recommandations pour la prévention des infections dans les EHPAD. De plus, une étude type essai randomisé en clusters est en cours, dans le but d'évaluer l'efficacité d'un programme interventionnel.

1. J.Carlet, B. de Wazières, *Prévention du risque infectieux dans les structures hébergeant des personnes âgées (EHPA)- Rapport de mission* 2004.

2. Nicolle, L.E., L.J. Strausbaugh, and R.A. Garibaldi, *Infections and antibiotic resistance in nursing homes.* Clin Microbiol Rev, 1996. **9**(1): p. 1-17.

3. Makris, A.T., et al., *Effect of a comprehensive infection control program on the incidence of infections in long-term care facilities.* Am J Infect Control, 2000. **28**(1): p. 3-7.

4. Gavazzi, G. and K.H. Krause, *Ageing and infection.* Lancet Infect Dis, 2002. **2**(11): p. 659-66.

5. Nicolle, L.E., *Infection control in long-term care facilities.* Clin Infect Dis, 2000. **31**(3): p. 752-6.

216/52SEP — 5 décembre 2008 - 11:20 - 353

Evitabilité des infections en EHPAD : revue de la littérature

G. Gavazzi
Clinique Universitaire de Gériatrie, Pôle pluridisciplinaire de Médecine, CHU de Grenoble, et Université Joseph Fourrier, France

L'étude PRIAM coordonnée par l'Observatoire du risque infectieux en Gériatrie a récemment démontré l'étendue de la morbidité liée aux pathologies infectieuses dans les institutions de soins hébergeant des personnes âgées dépendantes (EHPAD). Ces lieux de vie allient en effet tout à la fois des risques de transmissions élevés (densité de soins, antibiothérapie multiples, ratio soignant/soignés faibles) et présence de résidents plus susceptibles aux infections. Certaines données plaident aussi en faveur d'une épidémiologie microbienne particulière témoin de risques (types et niveaux) probablement différents de ceux qui existent dans la même population mais vivant toujours dans la communauté : i) Les facteurs de risque individuels associent, classiquement, les pathologies chroniques (pathologies neurodegénératives, diabète de type II, néoplasies actives, rhumatisme inflammatoire chronique, pathologie pulmonaire chronique obstructive, accident vasculaire cérébral immunosuppression) mais aussi des risques plus spécifiquement gériatriques tels que la dénutrition, la polymédication, les modifications fonctionnelles des barrières anatomiques ; enfin quelques facteurs de risque potentiels encore mal étudiés tel que le niveau de dépendance sont particulièrement importants à évaluer dans cette population. ii) Les facteurs de risque liés aux soins sont concentrés autour des mesures d'hygiène de base, de la gestion des cathéters et des déchets ; ii)aussi les risques liés à la vie en collectivité dont l'importance peut être liée à des modes d'organisations propre aux structures.

Il existe donc un nombre conséquent de risque d'infection chez les résidents en EHPAD. En général, cependant, Il faut savoir que l'existence d'un risque même indépendant d'autres cofacteurs ne signifie pas que sa correction amène une diminution du risque, ceci en raison de certains cofacteurs non connus ou non répertoriés et donc non pris en compte dans l'intervention.

Déterminer quels sont les risques sur lesquels une prévention peut être efficace est un enjeu majeur ; plusieurs arguments plaident en faveur d'efficacité de mesures liées à l'activité des professionnels de soins mais aussi de certaines mesures organisationnelles. Des mesures de prévention concernant les individus ont une efficacité certaine (vaccinations) mais certaines ne sont pas encore validées et ne font l'objet que d'avis d'expert (nutrition, dépendance, polymédication etc….

Au total il est probable qu'il soit nécessaire d'implanter des programmes multidimensionnels de prévention pour permettre qu'une culture du risque infectieux se transmette efficacement.

217/52SEP — 5 décembre 2008 - 11:40 - 353

Recommandations pour la prévention des infections en EHPAD : résultats du consensus formalisé d'experts

J. Hajjar[2], et les membres du comité de pilotage[1]
[1]Observatoire du Risque Infectieux en Gériatrie, Hôpital Charles Foix, Ivry-sur-Seine [2]Service d'hygiène et d'épidémiologie, Centre hospitalier général, Valence, France

L'élaboration de ces recommandations s'inscrit dans le programme de surveillance et de prévention des infections en établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD initié en 2003 par l'Observatoire du risque infectieux en gériatrie (ORIG). La justification de ce programme réside dans l'augmentation constante de la population des personnes âgées institutionnalisées et le risque d'acquisition d'infections 3 à 5 fois plus important et plus grave que chez les adultes jeunes. L'ORIG est le promoteur de cette conférence formalisée d'experts (CFE) dont l'objectif final est de fournir aux acteurs concernés des recommandations adaptées et validées.

La méthodologie utilisée est celle préconisée par la Haute Autorité de santé (HAS). Un comité de pilotage, associant les sociétés savantes impliquées et les centres de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales (CCLIN), a eu pour rôle : a) de délimiter le champ à traiter ; b) définir la stratégie de recherche bibliographique (confiée à 4 chargés d'études) ; c) de désigner les 31 membres du groupe de rédaction et les 80 chargés de la cotation.

La cotation des recommandations s'est faite en ligne sur le site de l'ORIG, avec le logiciel DSW-CFE, selon une méthode DELPHI garantissant le caractère individuel de la cotation. Chaque cotateur a reçu un argumentaire scientifique et l'ensemble des recommandations auxquelles il devait attribuer une note de 1 à 9 (signant un désaccord complet = 1 ou un accord très fort = 9).

Deux tours de cotation ont permis de dégager 248 recommandations consensuelles avec un accord fort (médiane à 9), 24 recommandations avec un accord (médiane à 7 ou 8) et de rejeter 39 des recommandations proposées par les experts rédacteurs.

Les recommandations concernent un des champs (et sous champs) suivants : a) précautions standard (hygiène des mains, port des masques, blouses, gants, isolement, traitement des déchets médicaux) ; b) mesures générales non spécifiques (BPCO, incontinence, dépendance, dénutrition, hygiène corporelle et dentaire, troubles de déglutition, déshydratation) ; c) mesures spécifiques liées aux soins (sondage urinaire, aérosolthérapie, cathétérisme vasculaire et sous-cutané, gastrotomie) ; d) mesures organisationnelles (politique d'antibiothérapie, surveillance des infections, formation du personnel, ratio personnel/ résidents, recommandations aux visiteurs et à la famille, gestion d'épidémies).

Le texte complet (argumentaire et recommandations) sera disponible prochainement sur le site de l'ORIG (www.orig.fr).

218/52SEP — 5 décembre 2008 - 12:00 - 353

Recommandations pour la prévention des infections en EHPAD : analyse critique

G. Gavazzi
Clinique Universitaire de Gériatrie, Pôle pluridisciplinaire de Médecine, CHU de Grenoble, et Université Joseph Fourrier, France

Les infections dans les institutions d'hébergement pour personnes âgées dépendantes font l'objet d'études spécifiques depuis plusieurs années en Amérique du Nord et certains pays d'Europe. Des recommandations spécifiques pour certaines pathologies infectieuses y ont été développées. En France, alors que plus de 600 000 individus y vivent jusqu'à présent très peu de données étaient disponibles. Depuis le Programme PRIAM développé et coordonnée par l'Obseervatoire du Risque Infectieux en Gériatrie, l'ampleur de la pathologie infectieuse y a été démontrée avec des prévalences de plus de 10%, chez les sujets âgés vivant dans les EHPAD. Les risques associés aux infections sont multiples et analysés ailleurs. En raison de ces risques et de la forte prévalence des infections dans ces institutions, il était nécessaire d'émettre des recommandations ; compte tenu des niveaux de preuves scientifiques de la majorité des problématique la méthode choisie a été une conférence formalisée d'Expert ; elle a été organisée par l'ORIG selon la méthode Delphi.

La méthodologie aboutissant à ces recommandations sera déclinée dans une autre présentation (J Hajar) et nous ferons ici une lecture critique des recommandations à la lumière de la méthodologie choisie. Deux constatations sont à noter : i) les recommandations semblent unanimes pour mettre en exergue l'importance de mesures concernant les professionnels (l'hygiène de base, des mesures individuelles) et la gestions des risques liés aux aspects organisationnels (gestion des épidémies, politique antibiotique), ii) la gestions des risques associés au sujet lui même récolte aussi un certain nombre de recommandation qui semblent moins évidente

Bien que les niveaux de preuves scientifiques puissent être faibles ou manquantes dans certains cas, les accords des experts sont dans l'immense majorité (>90%) des accords dits forts. Toutefois, au delà des limites scientifiques des données sur lesquels se basent ces recommandations, l'analyse de cotation apparemment en accord fort montre dans une certaine mesure des éléments de réticence des experts cotateurs. Les recommandations sont normalement émises sur leur valeur scientifiques mais les experts cotateurs peuvent aussi limiter le niveau de leur cotation non sur les aspects théoriques mais sur l'applicabilité de la recommandation. Cette limitation d'applicabilité a probablement des raisons de plusieurs ordres (organisationnel, financiers, éthique) ; qui seront abordés. La signification principale de ces limites est probablement la possibilité de difficultés d'implantation des recommandations sur certains sites. Les recommandations mériteront donc une analyse site par site avant leur implantation.

En conclusion, si la prévention des infections en EHPAD est nécessairement guidée par des recommandations et bien qu'elles paraissent le plus souvent unanimes, l'analyse de l'avis des experts met en évidence des difficultés potentielles dans la phase d'implantation.

222/54C — 5 décembre 2008 - 14:30 - HAVANE

Pour

J.M. Klossek
Service ORL et chirurgie cervicofaciale, CHU de Poitiers, France

L'antibiothérapie dans les sinusites aigues après avoir été perçue comme un réel progrès dans leur prise en charge dans les années 50-60, fait à présent l'objet de discussions sur son intérêt. Pour analyser ce phénomène, les localisations maxillaires doivent être différenciées des autres sinusites frontales, ethmoïdales et sphénoïdales beaucoup plus rares.

Pour ces dernières localisations, bien qu'aucune étude comparative ne soit disponible, l'antibiothérapie est systématiquement instituée pour réduire le risque de complications et favoriser le retour à la normale. Néanmoins l'antibiotique même adapté aux germes en cause ne prévient pas pour autant toute complications(1).

Pour la localisation maxillaire, l'antibiothérapie est la plus discutée(2). Une récente méta analyse conduit à réduire son utilisation aux formes sévères(2, 3). Toutefois la plupart des études sélectionnées comparant l'antibiothérapie à un traitement placebo ne sont pas documentées bactériologiquement(4). Il est de ce fait prématuré de conclure à l'inutilité de l'antibiothérapie et à se rallier aux choix thérapeutiques proposés par les auteurs à partir de tels études. La recommandation de l'ECCAI modifie également la place de l'antibiothérapie dans la sinusite aigue maxillaire qualifiée de légère ou modérées, en retardant sa mise en route au 10ème jour de l'évolution de l'infection(5, 6), période pendant laquelle une corticothérapie locale est proposée(7). Néanmoins dans les formes dites sévères, l'antibiothérapie reste recommandée.

En France plusieurs publications et recommandations ont tenté d'évaluer en cas d'infection sinusienne maxillaire, les situations où l'antibiothérapie paraissait pertinente et supérieure à un traitement symptomatique (8). Finalement la présence d'une douleur unilatérale infraorbitaire accompagnée d'une rhinorrhée purulente et d'une obstruction nasale homolatérale ont été les critères retenus avant de déclencher une antibiothérapie. De plus une évolution d'au moins 72 heures en dehors de toute complication, doit être observée pour démarrer ce traitement.

L'analyse des essais randomisés réalisés en France comparant deux antibiotiques dans cette situation confirme le rôle de l'antibiothérapie même si aucun bras comparatif avec un traitement placebo n'est présent dans ces études (8). Néanmoins dans ces études, les patients présentent outre les caractéristiques cliniques proposées par l'AFSSAPS, soit une écoulement purulent confirmé au méat moyen et/ou une radiographie avec une opacité complète ou un niveau hydroaérique du sinus maxillaire atteint. Quelle que soit la molécule étudiée les succès s'élèvent entre 85 et 92%. La comparaison avec les études étrangères incluant des patients présentant une symptomatologie légère ou modérée est impossible car les populations sont objectivement différentes (3). Le rapprochement peut être tenté mais il ne correspond pas à une évaluation scientifique. Cette situation ne fait que souligner la surévaluation du nombre de sinusite maxillaire dont l'infection est réellement bactérienne. Un nombre important d'infection virale sont traitées abusivement par une antibiothérapie de crainte de voir apparaitre une infection bactérienne ultérieurement. Aucune étude n'est disponible pour évaluer ce risque mais de nombreux consensus l'estime à 2%(9). Finalement l'antibiothérapie demeure nécessaire pour les affections bactériennes mais lorsque celle-ci sont précisément analysées et diagnostiquées afin d'augmenter le bénéfice de cette stratégie thérapeutique par rapport à un traitement purement symptomatique.

Références :

1. Stoll D, Klossek JM, Barbaza MO. Prospective study of 43 severe complications of acute rhinosinusitis. Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord). 2006;127:195-201.

2. Burton MJ, Kuppersmith RB, Rosenfeld RM. Extracts from The Cochrane Library: Antibiotics for acute maxillary sinusitis. Otolaryngol Head Neck Surg. 2008 ;139:486-9.

3. Falagas ME, Giannopoulou KP, Vardakas KZ, Dimopoulos G, Karageorgopoulos DE. Comparison of antibiotics with placebo for treatment of acute sinusitis: a meta-analysis of randomised controlled trials. Lancet Infect Dis. 2008 Sep;8:543-52.

4. Young J, De Sutter A, Merenstein D, van Essen GA, Kaiser L, Varonen H, et al. Antibiotics for adults with clinically diagnosed acute rhinosinusitis: a meta-analysis of individual patient data. Lancet. 2008 Mar 15;371:908-14.

5. Fokkens W, Lund V, Mullol J. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. Rhinol Suppl. 2007:1-136.

6. Thomas M, Yawn BP, Price D, Lund V, Mullol J, Fokkens W. EPOS Primary Care Guidelines: European Position Paper on the Primary Care Diagnosis and Management of Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2007 - a summary. Prim Care Respir J. 2008 ;17:79-89.

7. Meltzer EO, Teper A, Danzig M. Intranasal corticosteroids in the treatment of acute rhinosinusitis. Curr Allergy Asthma Rep. 2008 ;8:133-8.

8. Klossek JM, Chidiac C, Serrano E. Current position of the management of community-acquired acute maxillary sinusitis or rhinosinusitis in France and literature review. Rhinol Suppl. 2005:4-33.

9. Pearlman AN, Conley DB. Review of current guidelines related to the diagnosis and treatment of rhinosinusitis. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2008 ;16:226-30.

223/54C — 5 décembre 2008 - 15:00 - HAVANE

Contre

M. Garre
Service de médecine interne et maladies infectieuses, CHU de la Cavale Blanche, Brest, France

La majorité des recommandations thérapeutiques publiées concerne les sinusites maxillaires aiguës de l'adulte. Un traitement antibiotique est préconisé si les symptômes sont unilatéraux et durables, ce cas de figure laissant supposer une infection bactérienne et non virale. Des données récentes amènent à s'interroger quant à la pertinence de ces propositions.

1) La valeur prédictive des signes cliniques a été analysée à partir des données individuelles provenant des essais antibiotique *versus* placebo ([1]). Il n'y a aucune valeur ajoutée de l'antibiotique ni quand les symptômes durent plus de 6 jours, ni en cas de douleur faciale unilatérale, d'écoulement nasal purulent ou de température supérieure à 37°5C.

2) Une méta-analyse des comparaisons antibiotiques/placebo ([2]) démontre un bénéfice très modeste du traitement (Odd Ratio 1,8 ; IC 95% : 1,34-2,46) au prix d'un surcroît d'effets secondaires (OR 1,87 ; IC : 1,21-2,30).

3) Une étude très récente factorielle randomisée en double aveugle amoxicilline/placebo ne démontre aucun bénéfice de la bêtalactamine ([3]).

4) Il est surprenant qu'il n'y ait pas de lien entre spectre *in vitro* des antibiotiques et activité *in vivo* : tous les produits récents ne sont que non inférieurs aux comparateurs plus anciens ; l'azithromycine ne fait pas plus mal que les bêtalactamines ([4]) ; les quinolones dites antipneumococciques ne font pas mieux que les bêtalactamines ([5]).

L'effet des antibiotiques est donc loin d'être évident. Ceci explique que pour l'évaluation des nouveaux produits la FDA exige ou bien des essais de supériorité ou bien des essais *versus* placebo ([6]).

([1]) – Young J, De Sutter A, Merenstrin D et al. Antibiotic for adults with clinically diagnosed acute rhinosinusitis : a meta-analysis of individual patient data. Lancet 2008; 371: 908-914.

([2]) – Falagas ME, Giannopolou KP, Vardakas KZ, Dinopoulos G, Karageorgopoulos DE. Comparison of antibiotics with placebo : a meta-analysis of randomised controlled trials. Lancet 2008; 8: 543-552.

([3]) – Williamson IG, Rumiby K, Benge S et al. Antibiotics and topical nasal steroid for the treatment of acute maxillary sinusitis. JAMA 2007; 298: 2487-2490.

([4]) – Jonnidis JPA, Contosoulos DG, Chew P, Lau J. Meta-analysis of randomized controlled trials on the comparative efficacy and safety of azithromycin against other antibiotics for upper respiratory tract infections. J. Antimicrob. Chemother. 2001; 48: 677-689.

([5]) Karageorgopoulos DE, Giannopoulou KP, Grammatikas AS, Dimopoulos F, Falagas ME. Fluoroquinolons compared with B-lactam antibiotics for the treatment of acute bacterial sinusitis. CMAJ 2008; 178: 845-851.

(6) http://www.fda.gov/cder/guidance/indexation. Guidance for industry. Acute bacterial sinusitis: developping drugs for treatment. October 2007.

224/56SEP — 5 décembre 2008 - 14:30 - 341

Epidémiologie des méningites néonatales à *E. coli* K1 : émergence d'un clone français

E. Bingen, S. Bonacorsi, P. Bidet
Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Laboratoire associé au CNR de Escherichia coli, Equipe d'accueil EA3105, UFR Paris-Diderot, France

Les méningites représentent dans le monde la cinquième cause d'infection du nouveau-né. *Escherichia coli* est, après le Streptocoque du groupe B, le deuxième germe responsable de méningite néonatale. L'incidence des méningites néonatales à *E. coli* (MNEC), dans les pays industrialisés, est estimée à 0.1/1000 naissances. Malgré les progrès médicaux de la prise en charge des nouveau-nés et en particulier des prématurés, et la sensibilité des souches de *E. coli* aux céphalosporines de 3ème génération, les MNEC se caractérisent par une forte mortalité estimée entre 15 et 30%, et un taux élevé de séquelles neurologiques. Une meilleure connaissance de la physiopathologie de cette infection est donc nécessaire pour développer de nouvelles stratégies préventives et thérapeutiques. Dans ce but la caractérisation sur le plan moléculaire des souches de *E. coli* responsables de méningites néonatales ECMN notamment en France apparaît indispensable.

Les analyses des sérotypes des ECMN, il y a plus de 20 ans, ont d'emblée suggéré une très forte oligoclonalité de ces souches puisque plus de 80% étaient de sérotype capsulaire K1 et seuls quelques antigènes O étaient représentés avec une forte prédominance de l'Ag O18. La forte hégémonie mondiale des souches de sérotypes O18:K1:H7 a incité la communauté scientifique à caractériser les déterminants génétiques spécifiques des ECMN à partir de quelques souches représentatives de ce sérotype. C'est à partir de ces souches qu'on été identifiés les facteurs de virulence impliqués dans les différentes étapes de la physiopathologie des méningites à *E. coli :* la translocation digestive, la bactériémie avec multiplication intra-vasculaire puis la traversée de la barrière hémato-méningée (BHM) (3, 6). Ainsi les facteurs clés spécifiques (n'appartenant pas au core génome) connus à ce jour pour l'étape de la bactériémie sont représentés par l'antigène capsulaire K1, l'Ag O18, l'îlot de pathogénicité type PAI II_{536} avec son système de capture du fer salmochéline (locus *iro*) (7) et l'ilôt de pathogénicité PAI I_{C5} (4). Les facteurs impliqués dans la traversée de la BHM sont l'adhésine SfaS permettant d'adhérer aux cellules endothéliales des capillaires cérébraux et codée par le locus *sfa* présent sur l'îlot de pathogénicité type PAI $II_{536,}$ l'invasine IbeA responsable de l'internalisation de la bactérie dans les cellules endothéliales et l'antigène capsulaire K1 qui permet sa survie intra-cellulaire (6).

Les premières études épidémiologiques réalisées à partir de ces déterminants génétiques sur une collection internationale de souches de ECMN ont révélé que ces facteurs ne pouvaient à eux seuls expliquer la virulence de ces souches. Ainsi seulement 1/3 des souches présentaient l'adhésine SfaS et l'invasine IbeA (1). La caractérisation récente d'une collection de 140 souches de méningites françaises, sur le plan phylogénétique, moléculaire, et de la virulence expérimentale a permis de montrer que le clone O18:K1:H7 de répartition mondiale, n'est pas majoritaire en France. Il est associé à part égale avec un clone émergeant de sérotype O45:K1:H7 qui présente le même séquence type, ST29 (www.shigatox.net) que le clone mondial mais ne possède aucun de ces facteurs de virulence spécifiques, exceptés le sérotype capsulaire K1 et le sidérophore salmochéline. Ce clone, testé dans un modèle expérimental de méningite de rat nouveau-né présente une virulence similaire voire supérieure au clone O18:K1 (2). L'émergence de ce nouveau clone hypervirulent suggère que de nouveaux déterminants génétiques restent à découvrir pour comprendre la physiopathologie des méningites néonatales à *E. coli.* Dans ce but, le séquençage de la souche S88, représentative de ce clone, a récemment été entrepris (www.genoscope.cns.fr). Les analyses du séquençage et les premières investigations fonctionnelles ont permis de mettre en évidence que l'Ag O45 exprimé par ce clone était en fait différent de celui de la souche de référence « O45 » et qu'il s'agit d'un nouvel antigène somatique dénommé « $O45_{S88}$ » probablement dérivé d'un ancêtre commun. La délétion par mutagénèse de la région codant l'antigène somatique a permis de montrer que cet Ag joue un rôle clé dans la virulence du clone français (8). Le séquençage a révélé de plus la présence d'un plasmide de 130 kb. Celui-ci code de très nombreux facteurs de virulence, incluant des sidérophores, des protectines et des toxines. Un variant de S88 curé du plasmide est incapable d'induire une bactériémie chez le rat nouveau-né démontrant ainsi le rôle clé du plasmide dans la virulence du clone O45. De façon surprenante l'analyse de la séquence du plasmide suggère qu'il aurait une origine commune avec les plasmides de virulence des souches aviaires (5). Enfin la réalisation d'une épidémiologie moléculaire de ce plasmide afin de connaître sa distribution au sein des différents clones de méningites montre que celui-ci n'est pas restreint au souches O45, mais peut-être retrouvé notamment chez certaines souches du clone O18:K1:H7.

L'analyse détaillée des différents déterminants génétiques présents chez la souche S88 est en cours et permettra de progresser dans la compréhension des mécanismes physiopathologique des méningites néonatales à *E. coli.*

Références

1. **Bingen, E., S. Bonacorsi, N. Brahimi, E. Denamur, and J. Elion.** 1997. Virulence patterns of *Escherichia coli* K1 strains associated with neonatal meningitis. J Clin Microbiol **35:**2981-2982.

2. **Bonacorsi, S., O. Clermont, V. Houdouin, C. Cordevant, N. Brahimi, A. Marecat, C. Tinsley, X. Nassif, M. Lange, and E. Bingen.** 2003. Molecular analysis and experimental virulence of french and north american *Escherichia coli* neonatal meningitis isolates; Identification of new virulent clone. J Infect Dis **187:**1895-1906.

3. **Bortolussi, R., P. Ferrieri, and L. W. Wannamaker.** 1978. Dynamics of *Escherichia coli* infection and meningitis in infant rats. Infect Immun **22:**480-485.

4. **Houdouin, V., S. Bonacorsi, N. Brahimi, O. Clermont, X. Nassif, and E. Bingen.** 2002. A uropathogenicity island contributes to the pathogenicity of *Escherichia coli* strains that cause neonatal meningitis. Infect Immun **70:**5865-5869.

5. **Johnson, T. J., K. E. Siek, S. J. Johnson, and L. K. Nolan.** 2006. DNA sequence of a ColV plasmid and prevalence of selected plasmid-encoded virulence genes among avian *Escherichia coli* strains. J Bacteriol. **188:**745-758.

6. **Kim, K. S.** 2001. *Escherichia coli* Translocation at the Blood-Brain Barrier. Infect Immun **69:**5217-5222.

7. **Negre, V. L., S. Bonacorsi, S. Schubert, P. Bidet, X. Nassif, and E. Bingen.** 2004. The siderophore receptor IroN, but not the high-pathogenicity island or the hemin receptor ChuA, contributes to the bacteremic step of *Escherichia coli* neonatal meningitis. Infect Immun **72:**1216-1220.

8. **Plainvert, C., P. Bidet, C. Peigne, V. Barbe, C. Medigue, E. Denamur, E. Bingen, and S. Bonacorsi.** 2007. A new O-antigen gene cluster has a key role in the virulence of the *Escherichia coli* meningitis clone O45:K1:H7. J Bacteriol **189:**8528-8536.

227/57s 5 décembre 2008 - 14:30 - 342 A

Identification of a Resistance island in *Acinetobacter baumannii*

P.E. Fournier
Faculté de Médecine, Université de la Méditerranée, Unité des Rickettsies, CNRS-IRD UMR6236, Marseille, France

Acinetobacter baumannii is a species of non fermentative gram-negative bacteria commonly found in water and soil. It has now become a major cause of hospital-acquired infections worldwide due to its remarkable propensity to rapidly acquire resistance determinants to a wide range of antibacterial agents that led to multidrug-drug resistance (MDR) within a few decades [1]. The prevalence of nosocomial infections in intensive care units (ICU) due to *A. baumannii* currently ranges from 2 to 10% of all Gram-negative bacterial infections in Europe [2] and account for about 2.5% of them in the United States [3]. Resistance to antimicrobial agents is mostly explained by the acquisition of plasmids [4], transposons [5] or integrons [6,7] carrying clusters of genes encoding resistance to several antibiotic families [5–7] at once. With the emergence of increasingly resistant strains, the management of *A. baumanii* infections has become a public health problem in many countries. We had the coincidental opportunity to cultivate both the MDR *A. baumannii* strain AYE, epidemic in 54 healthcare facilities in 8 French administrative regions and associated with a mortality of 26% of infected patients [7], and the remarkably susceptible strain SDF associated with human body lice [8]. Using a comparative genomic approach, we identified the complete repertoire of resistance genes exhibited by the AYE strain and investigated the mechanisms of their acquisition by comparison with the SDF strain [9].

The AYE strain exhibited a 86-kb resistance island (AbaR1, the largest identified to date) that contained 88 ORFs, including 45 resistance genes (86.5% of all resistance markers encoded in the genome) interspersed with transposons, integrons and other mobile genetic elements. At the homologous location, the SDF strain exhibited a 20 kb-genomic island flanked by transposases, including mobility-associated genes but devoid of resistance markers. Such a switching genomic structure might be a hot spot that could explain the rapid acquisition of resistance markers under antimicrobial pressure. Sequence similarity and phylogenetic analyses confirmed that most of the resistance genes found in the AbaR1 resistance island had been recently acquired from bacteria related to genera *Pseudomonas*, *Salmonella* or *Escherichia*. Using a Polymerase Chain Reaction assay based on the conserved ATPase ORF flanking sequences 17 out of the 22 (77%) clinical *A. baumannii* isolates were found to exhibit an intact ATPase ORF [9]. The presence of a genomic island at this precise location is thus not a conserved feature of all isolates, denoting a particular flexibility of the *A. baumannii* genome, in line with its exceptional ability in gathering foreign genetic material.

Recent genomic studies of *A. baumannii* confirmed the role of resistance islands in the acquisition of MDR phenotypes. Iacono *et al.* identified the AbaR2 genomic island, that putatively evolved from the AbaR1 island by reductive evolution, in the multidrug-resistant strain ACICU {Iacono, 2008 16134 /id}. This island contained seven of the resistance genes carried by the AbaR1 island. Adams *et al.*, by sequencing the genomes of three MDR and three drug-susceptible *A. baumannii* strains, suggested that resistance islands were a significant but not universal contributor to the MDR phenotype, and that antimicrobial resistance in *A. baumannii* is a complex phenomenon that may arise by a combination of genetic changes and selective pressure.

Références

1. Bergogne-Berezin E, Towner KJ (1996) Acinetobacter spp. as nosocomial pathogens: microbiological, clinical, and epidemiological features. Clin Microbiol Rev 9: 148-165.
2. Hanberger H, Garcia-Rodriguez JA, Gobernado M, Goossens H, Nilsson LE, Struelens MJ (1999) Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups. JAMA 281: 67-71.
3. Jones ME, Draghi DC, Thornsberry C, Karlowsky JA, Sahm DF, Wenzel RP (2004) Emerging resistance among bacterial pathogens in the intensive care unit - a European and North American Surveillance study (2000-2002). Ann Clin Microbiol Antimicrob 3: 14.
4. Seifert H, Boullion B, Schulze A, Pulverer G (1994) Plasmid DNA profiles of Acinetobacter baumannii: clinical application in a complex endemic setting. Infect Control Hosp Epidemiol 15: 520-528.
5. Devaud M, Kayser FH, Bachi B (1982) Transposon-mediated multiple antibiotic resistance in Acinetobacter strains. Antimicrob Agents Chemother 22: 323-329.
6. Segal H, Thomas R, Gay EB (2003) Characterization of class 1 integron resistance gene cassettes and the identification of a novel IS-like element in Acinetobacter baumannii. Plasmid 49: 169-178.
7. Poirel L, Menuteau O, Agoli N, Cattoen C, Nordmann P (2003) Outbreak of extended-spectrum beta-lactamase VEB-1-producing isolates of Acinetobacter baumannii in a French hospital. J Clin Microbiol 41: 3542-3547.
8. La Scola B, Raoult D (2004) *Acinetobacter baumannii* in human body louse. Emerg Infect Dis 10: 1671-1673.
9. Fournier PE, Vallenet D, Barbe V, Audic S, Ogata H, Poirel L, Richet H, Robert C, Mangenot S, Abergel C, Nordmann P, Weissenbach J, Raoult D, Claverie JM (2006) Comparative genomics of multidrug resistance in Acinetobacter baumannii. PLoS Genet 2: e7.
10. Héritier C, Poirel L, Fournier PE, Claverie JM, Raoult D, Nordmann P (2005) Characterization of the naturally-occurring oxacillinase of *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother 49: 4174-4179.
11. Brown S, Young HK, Amyes SG (2005) Characterisation of OXA-51, a novel class D carbapenemase found in genetically unrelated clinical strains of Acinetobacter baumannii from Argentina. Clin Microbiol Infect 11: 15-23.

228/57s 5 décembre 2008 - 14:45 - 342 A

La protéomique d'*Acinetobacter*

T. Jouenne
FRE 3101 CNRS, Université de Rouen, Mont-Saint-Aignan, France

Le mot « protéome » a été défini par Wilkins en 1995 (1) comme « la totalité de la partie protéique exprimée dans une cellule, un tissus ou un organisme donnés » Une définition similaire peut être appliquée au « transcriptome » (2) qui est le complément en ARNm d'un type cellulaire ou tissulaire. À ces deux définitions il faut ajouter « dans des conditions particulières » puisque l'expression protéique varie continuellement dans une cellule et plus encore, dans un tissu où plusieurs types cellulaires. Protéomique et transcriptomique appartiennent à l'ère postgénomique et cela de deux manières. Tout d'abord fondamentalement car un génome, dans une cellule particulière et sous des conditions définies, synthétise une grande quantité d'ARNm suivie, pour une partie de ces ARNm, par la traduction en protéines, l'ensemble de ces phénomènes représentant la biosynthèse des protéines. Ensuite protéomique et transcriptomique émergent comme de nouvelles approches en biologie après les dernières décades du tout génomique, pour mieux comprendre la complexité cellulaire. On peut montrer comme signe d'expansion de cette nouvelle ère post-génomique l'augmentation rapide du nombre de publications scientifiques, les nouveaux journaux et nombreux congrès, spécialisés et de plus en plus généralistes. On peut ajouter à cela les investissements lourds aussi bien privés que publics concédés tant à la protéomique qu'à la transcriptomique. Doit-on choisir entre ces différentes approches ? Certainement non, un consensus se dessine sur le nouveau paradigme en biologie cellulaire d'associer les différentes approches étroitement liées entre elles, du gène à la protéine fonctionnelle, et pour lesquelles les intérêts ne sont pas clairement distinguables. Néanmoins, la protéomique est la dernière étape pour mieux appréhender les mécanismes qui relient les gènes aux fonctions biologiques et aux divers états pathologiques. Elle présente l'intérêt particulier d'analyser des protéines fonctionnelles, c'est-à-dire avec leurs modifications post-traductionnelles et leurs capacités d'interactions entre elles et avec les autres composants de la cellule. Le principal inconvénient de la transcriptomique est que 50 à 80% des ARNm produits dans une cellule ne sont pas traduits en protéines ou pas de façon efficace. L'établissement du profil d'expression globale des protéines sous leurs formes variées est appelé protéomique descriptive. L'étude de leurs différences d'expression en fonction de l'environnement, est appelée protéomique fonctionnelle, les modifications de l'environnement induisant des accumulations ou diminutions d'expression protéique. Le protéome constitutif est la ligne de base des études fonctionnelles et l'analyse des modifications post-traductionnelles prend ici une importance toute particulière, surtout pour les rôles des phosphorylations et glycosylations, ou encore de la protéolyse limitée. Toutes ces modifications sont faciles à étudier puisqu'elles induisent des changements dans la masse des polypeptides analysables par spectrométrie de masse, et visibles par les méthodes bi-dimensionnelles, en particulier l'électrophorèse bi-dimensionnelle (2-DE) qui est la technique au cœur de l'analyse protéomique (3). Finalement la plus grande différence entre génomique et protéomique réside dans le fait qu'à un génome statique va correspondre une infinité de protéomes par organisme et en évolution constante ce qui amène une vision plus dynamique. Les méthodes de mise en image des gels d'électrophorèse sont de mieux en mieux définies (détection par fluorescence, Differential In-Gel Electrophoresis, …). Ces méthodes peuvent atteindre des sensibilités très importantes. Des progrès importants ont également été réalisés dans le traitement de l'image. Des logiciels performants permettent aujourd'hui de détecter les taches protéiques, mesurer leur densité, réaliser la synthèse de plusieurs cartes, comparer ces cartes, calculer des histogrammes de densité pour chacune des taches protéiques ou mettre en œuvre des protocoles d'analyse multifactorielle. Une des étapes limitantes est la caractérisation des protéines. Longtemps l'identification des protéines fut difficile, faisant appel au séquençage d'Edman. Aujourd'hui la mise au point de techniques d'identification à grande échelle à transformé cette étape grâce à deux avancées majeures : le séquençage des génomes et le développement de la spectrométrie de masse (couplée ou non à la chromatographie liquide). En 2000 était séquencé le premier génome bactérien en l'occurrence celui de *Pseudomonas aeruginosa*. Aujourd'hui, la base de données Gold (http://www.genomesonline.org/gold.cgi) annonce 867 génomes bactériens séquencés et 53 archaes. Cinq génomes d'*Acinetobacter* ont à ce jour été publiés : 4 *d'Acinetobacter baumannii* (AYE, SDF, ACICU et ATCC 17978) et 1 *d'Acinetobacter baylyi* ADP1 (4-7). Malgré cela, peu d'études protéomiques ont été réalisées sur *Acinetobacter*, probablement du fait de sa plasticité génétique. La base de données Pubmed (http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/) recense 9 articles depuis 2003 lorsqu'on croise proteomics et *Acinetobacter* en mots clefs, contre par exemple plus de 200 références pour *Escherichia coli* durant la même période. Tournés vers la recherche des mécanismes de résistance aux antibactériens, beaucoup de ces articles se sont focalisés sur le protéome membranaire appelé aussi membranome (8-10). Dans un article de 2006, Siroy et al (11) ont publié ce qui constitue aujourd'hui l'analyse protéomique la plus complète *d'A baumanni (*135 protéines membranaires et 23 périplasmiques identifiées). Ces auteurs ont comparé les cartes protéomiques des membranes interne et externe d'une souche de référence ATCC 19606 et clinique multi-résistante (MDR). Parmi les résultats majeurs apportés par cette étude, on notera la sous-expression la penicillin-binding protein 1b, les modifications structurales de la porine (12) CarO et la présence de différentes isoformes d'OmpW chez la souche clinique.

Ces auteurs ont montré également une augmentation de la capacité de la souche MDR à former un biofilm. Si l'identification des déterminants protéiques impliqués dans la multi-résistance peut conduire à terme à la mise au point de nouveaux antimicrobiens, un des débouchés prometteurs de la protéomique est le développement de nouveaux vaccins, la caractérisation des surfaceomes (protéines de surface) pourrait en effet permettre d'identifier de nouveaux antigènes de surfaces. Des travaux récents sur le surfaceome de *Legionella pneumophila* philadelphia couplant une approche protéomique et un marquage fluorescent des protéines de surface (13) démontrent le potentiel de cette approche.

Références citées

1. Wilkins, M.R., Sanchez, JC., Gooley, A.A. et al. progress in proteome projects : why all proteins expressed by a genome should be identified and how to do it. *Biotechnol. Genet. Eng. Rev*., 1995, **13**, 19-50.

2. Chee, M., Yang, R., Hubbel, E., et al. Accessing generic information with high-density DNA arrays. *Science*, 1996, **274:** 610-614.

3. Görg, A., Obermaier, C., Boguth, et al. The current state of two-dimensionnal electrophoresis with immobiline pH gradients. *Electrophoresis*, 2000, **21**, 1037-1053.

4. Barbe, V., vellenet, D., Fonknechten, N., et al. Unique features revealed by the genome sequence of *Acinetobacter* sp ADP1, a versatile and naturally transformation competent bacterium. *Nucleic Acids Res*., 2004, **32:** 5766-5779.

5. Fournier, P.E., Vallenet, D., Barbe, V., et al. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Plos Genet.*, 2006, **1**, 62-72.

6. Smith, M.G., Gianoulis, T.A., Pukatzki, S. et al. New insights into *Acinetobacter baumannii* pathogenesis revealed by high-density pyrosequencing and transposon mutagenesis. *Gen. & Develop.*, 2007, **21**, 601-614.

7. Iacono, M., Villa, L., Fortini, D. et al. Whole-genome pyrosequencing of an epidemic multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* belonging to the European clone II group. *Antimicrob. Agents Chemother.*, 2008, **52**, 2616-2625.

8. Pessione, E., Giuffrida, M.G., Prunetto, L., et al. Membrane proteome of *Acinetobacter radioresistens* S13 during aromatic exposure. *Proteomics*, 2003, **3:** 1070-1076.

9. Dupont, M., Pages, J.M.,, Lafitte, D., Siroy, A. and C; Bollet. Identification of an OprD homologue in *Acinetobacter baumannii*.*J. Prot. Res*., 2005, **4:** 2386-2390

10. Marti, S., Sanchez-Cespedes, J., Oilveira, E., et al. proteomic analysis of a fraction enriched in cell enveloppe proteins of *Acinetobacter baumannii*. *Proteomics,* 2006**, 6** suppl. 1 : S82-S87.

11. Siroy, A., Cosette, P., Seyer, D. et al. Global comparison of the mmebrane subproteomes between a multi-drug-resistant *Acinetobacter baumannii* strain and a reference strain. *J. Prot. Res*., 2006, **5:** 3385-3398

12. Siroy, A., Molle, V., Lemaître-Guillier, C., Channel formation by carO, the cardapenem resistance-associtaed outer membrane protein of Acinetobacter baumannii. *Antimicro. Agents Chemother*, 2005, **49:** 4876-4883.

13. Khemiri, A., Jouenne T. and P. Cosette. Outer membrane proteomic maps and surface-exposed proteins of *Legionella pneumophila* using cellular fractionation and fluorescent labeling. *Anal. Bioanal. Chem*. 2008, **390:** 1861-1871

229/57s — 5 décembre 2008 - 15:00 - 342 A

Acinetobacter baumannii et bêta-lactamases

T. Naas, P. Nordmann

Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital de Bicêtre et Unité Inserm U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Les β-lactamases, comme c'est le cas dans la plupart des espèces de bacilles à Gram négatif opportunistes, constituent le principal mécanisme de résistance aux β-lactamines chez *A. baumannii*.

Les β-lactamases classiquement décrites chez *A. baumannii* sont des céphalosporinases (AmpC) qui sont associées à la résistance naturelle aux aminopénicillines et céphalosporines de première génération. La surexpression de ces céphalosporinases, liée à l'insertion de séquences d'insertion spécifiques en amont du gène, est associée à une résistance additionnelle aux uréidopénicillines et aux céphalosporines de 3ème génération. Classiquement décrites, les β-lactamases de spectre restreint (certaines oxacillinases) et carbénicillinases, voir également pénicillinases de type TEM, peuvent également y être présentes et entraînent essentiellement une résistance aux carbéni- et ureidopénicillines.

Les β-lactamases, les plus intéressantes et plus récemment décrites, ont un spectre large de substrat. Quelques souches de *A. baumannii* ont été identifiées produisant des BLSEs de type SHV, TEM ou CTX-M, comme chez les entérobactéries. Les BLSEs les plus fréquentes dans cette espèce bactérienne sont PER-1 et VEB-1. PER-1 est prévalent chez *A. baumannii* en Turquie et en Chine. Une même souche productrice de VEB-1 a été identifiée dans de nombreux sites hospitaliers français de 2003 à 2005 ainsi qu'en Belgique. La détection de ce type de souche productrice de VEB-1 est difficile sur la seule base du phénotype de résistance. L'une de ces souches, *A. baumannii* AYE, a été à l'origine de la détermination du premier génome complet de *A. baumannii*. Le gène de la BLSE, VEB-1, a été identifié dans ce cas, au sein d'un îlot de résistance de 86 kb comprenant plus de 15 gènes de résistance aux antibiotiques. Une particularité toute récente des BLSEs de *A. baumannii* est l'identification d'une nouvelle carbénicillinase (RTG-4) possédant des propriétés d'hydrolyse du céfépime/cefpirome et pas du céfotaxime ou de la ceftazidime.

La résistance aux carbapénèmases est d'incidence croissante chez *A. baumannii*. Elle est peut-être liée à l'expression de deux types de carbapénèmases : les metallo-enzymes et les oxacillinases. Les carbapénèmases de type IMP et VIM ont été décrites dans le monde entier chez *A. baumannii* notamment en Amérique du Sud et en Asie. Elles confèrent une résistance à toutes les β-lactamines sauf à l'aztréonam. Les carbapénèmases les plus spécifiques de *A. baumannii* sont les oxacillinases acquises dont il existe 3 grands types : OXA-23, OXA-40, oxa-58. Une oxacillinase naturelle (OXA-51 et dérivés) est présente dans toutes les souches, mais ne confère pas de résistance clinique en l'absence de sa surexpression. Les oxacillinases acquises confèrent seules des degrés variables de résistance aux carbapénèmes et n'hydrolysent que faiblement les céphalosporines de spectre large. Les gènes de ces enzymes sont chromosomiques ou plasmidiques souvent associés à des séquences d'insertion spécifiques assurant mobilité et haut niveau d'expression. L'origine de l'une de ces oxacillinases, OXA-23, a été identifiée dans une espèce proche, *A. radioresistens*, indiquant de possibles échanges génétiques entre différentes espèces de *Acinetobacter* saprophytes.

230/57s — 5 décembre 2008 - 15:15 - 342 A

Résistance par efflux chez *Acinetobacter baumannii*

T. Lambert

EA 4043, Faculté de Pharmacie, Paris XI et Institut Pasteur, Paris, France

La majorité des souches de *Acinetobacter baumannii* impliquées dans les infections nosocomiales sont multirésistantes aux antibiotiques. Cette caractéristique tient de la capacité de ce microorganisme à acquérir de nombreux gènes de résistance et également à exacerber des mécanismes intrinsèques à l'instar des systèmes d'efflux. A ce jour deux pompes d'efflux tripartites de type Resistance Nodulation Division (RND) ont été caractérisées, AdeABC (3) et AdeIJK (2), ainsi qu'une pompe d'efflux de la famille Multidrug And Toxic compound Extrusion (MATE) AbeM (8). La pompe AdeABC régulée par un système à deux composants est présente et cryptique chez environ 80% des membres de l'espèce (4). Il a été établi que des mutations dans les gènes de régulation AdeR ou AdeS génèrent une expression constitutive de AdeABC qui affecte l'activité de diverses familles d'antibiotiques dont les aminosides, les fluoroquinolones, les β-lactamines et les tétracyclines (3). De tels mutants sont fréquemment isolés chez les souches cliniques, ce qui témoigne que le système AdeABC a une importante implication thérapeutique, il constitue d'ailleurs le mécanisme essentiel de résistance par efflux chez *A. baumannii* et contribue à lui seul à affecter l'activité de la tigécycline (2, 7). Une diminution d'activité du céfépime, de la tigécycline, des fluoroquinolones hydrophiles et de la gentamicine suggère la surexpression de AdeABC détectable par qRT-PCR. La détermination des CMI de ces antibiotiques en absence et en présence d'inhibiteur d'efflux comme la 1-(1-naphthylméthyl)-pipérazine (NMP) et le phényl-arginine-ß-naphthylamide (PABN) apporte des informations utiles car ces deux composés reversent partiellement les systèmes d'efflux d'*Acinetobacter* mais avec une spécificité d'efficacité différente (6, 9). La seconde pompe, AdeIJK est présente chez toutes les souches de *A. baumannii,* elle contribue à une résistance naturelle de faible niveau à de nombreux composés dont certains antibiotiques à l'instar des β-lactamines, des macrolides, des tétracyclines, des fluoroquinolones et de la rifampicine. AdeIJK une fois cloné s'avère toxique pour la bactérie, toutefois des souches cliniques surexprimant cette pompe ont été détectées, ce qui démontre sa capacité à jouer un rôle dans la résistance acquise aux antibiotiques. L'inactivation successive des pompes AdeABC et AdeIJK a montré qu'elles exercent un effet cumulatif dans les niveaux de résistances aux antibiotiques substrats de ces deux systèmes. La troisième pompe AbeM clonée chez *Escherichia coli* confère la résistance aux aminosides et aux fluoroquinolones mais son rôle chez *A. baumannii* n'a pas été établi. La capacité de *A. baumannii* à exporter les antibiotiques ne se limite pas seulement à ces trois pompes, la détermination de sept génomes de *A. baumannii* a permis d'identifier 43 systèmes d'efflux potentiels (1). Toutefois l'implication de ces systèmes dans la résistance reste à documenter. On peut imaginer que les pompes d'effux permettent d'instaurer une étape adaptative. En effet, ils constituent un système de défense d'emblée disponible susceptible de laisser le temps à la bactérie de mettre en œuvre d'autres mécanismes de résistance comme la mutation des cibles des antibiotiques ou l'acquisition de gènes par des éléments mobiles.

Références

1. Adams, M.D., K. Goglin, N. Molyneaux, K.M. Hujer, H. Lavender, J.J. Jamison, I.J. MacDonald, K.M. Martin, T. Russo, A.A. Campagnary, A.M.Hujer, R.A. Bonomo, and S.R. Gill. 2008. Comparative genome sequence analysis of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii*. J. Bacteriol. *In press*.

2. Damier-Piolle, L., S. Magnet, S. Brémont, T. Lambert, and P. Courvalin. 2008. AdeIJK, a RND pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob. Agents Chemother. **52 :**557-562.

3. Magnet, S., P. Courvalin, and T. Lambert. 2001. Resistance-nodulation-cell division-type efflux pump involved in aminoglycoside resistance in *Acinetobacter baumannii* strain BM4454. Antimicrob. Agents Chemother. **45:**3375-3380.

4. Marchand, I., L. Damier-Piolle, P. Courvalin, and T. Lambert. 2004. Expression of the RND-type efflux pump AdeABC in *Acinetobacter baumannii* is regulated by the AdeRS two-component system. Antimicrob Agents Chemother. **48:**3298-304.

5. Nemec, A., M. Maixnerova, T.J. van der Reijden, P.J. Broek, L. Dijkshoorn.

2007. Relationship between the AdeABC efflux system gene content, netilmicin susceptibility and multiresistance in a genotypically diverse collection of *Acinetobacter baumannii* strains. J. Antimicrob. Chemother. **60:**483-489.

6. Pannek, S., P.G. Higgins, P. Steinke, D. jonas, M. Akova, J.A. Bohnert, H. Seifert, and W.V. Kern. 2006. Multidrug efflux inhibition in *Acinetobacter baumannii*: comparison between 1-(1-naphthylmethyl)-piperazine (NMP) and phenyl-arginine-ß-naphthylamide. J. Antimicrob. Chemother. **57:**970-974.

7. Ruzin. A., D. Keeney, and P.A. Bradford. 2007. AdeABC multidrug efflux pump is associated with decreased susceptibility to tigecycline in *Acinetobacter calcoaceticus-Acinetobacter baumannii* complex. J. Antimicrob. Chemother. **59:**1001-1004.

8. Su., X.Z, J. Chen, T. Mizushima, T. Kuroda, T. Tsuchiva. 2005. AbeM, an H+-coupled *Acinetobacter baumannii* multidrug efflux pump belonging to the MATE family of transporters. Antimicrob. Agents Chemother. **49:**4362-4364.

9. Vila, J., and J.L. Martinez. 2008. Clinical impact of the over-expression of efflux pump in nonfermentative Gram-negative bacilli, development of efflux pump inhibitors. Curr. Drug Targets. **9:**797-807.

233/58s — 5 décembre 2008 - 14:50 - 342 B

La cinétique de la charge virale après le début d'un traitement antirétroviral : une baisse plus rapide de la charge virale a-t-elle vraiment un intérêt ?

C. Delaugerre
Laboratoire de virologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France

L'instauration d'un traitement antirétroviral s'accompagne de la décroissance de la charge virale plasmatique jusqu'à un seuil d'indétectabilité (le seuil actuel de la plupart des tests est de 40 copies/ml). Plusieurs phases de décroissance sont observées correspondant à l'élimination de différents types de cellules infectés : de la phase précoce correspondant aux lymphocytes T activés à demi-vie courte (24h) jusqu'à la phase ultime correspondant aux lymphocytes mémoires quiescents à demi vie longue (44 mois). Le contrôle de la charge virale plasmatique par le traitement antirétroviral participe au succès thérapeutique en limitant le risque de sélection de virus résistants.

Une étude publiée en 2001 montrait qu'une diminution précoce de la charge virale à l'instauration du traitement antirétroviral contenant des inhibiteurs de protéase (indinavir ou ritonavir) était associée à une durabilité de la réponse virologique. La charge virale après 6 jours de traitement était corrélée à la réponse virologique à la 12ème semaine (indétectable ou baisse de 1,5 $\log_{10}$). En effet, chez 99% des patients considérés comme des mauvais répondeurs à la semaine 12, une diminution de la charge virale était inférieure à 0,72 log copies/ml après 6 jours de traitement [1]. Dans l'ACTG 5142 qui comparait l'efficacité de 3 combinaisons chez les patients naïfs (2 analogues nucléosidiques / efavirenz, 2 analogues nucléosidiques / lopinavir et efavirenz / lopinavir), la diminution de la charge virale mesurée après 7 jours de traitement était plus importante pour le traitement avec efavirenz (-1,49 $\log_{10}$) que pour les traitements avec le lopinavir (-1,23 $\log_{10}$ pour lopinavir/efavirenz et -1,17 $\log_{10}$ pour lopinavir et 2 NRTI) et fortement corrélée au succès à la semaine 48 (< 50 copies/ml) [2].

Récemment, l'essai Monark a comparé chez des patients naïfs d'antirétroviraux l'efficacité d'une monothérapie de lopinavir/ritonavir à une trithérapie comprenant zidovudine/lamivudine et lopinavir/ritonavir [3]. L'analyse des facteurs associés au succès virologique des patients recevant une monothérapie de lopinavir a montré que la charge virale à la 4ème semaine de traitement était prédictive du succès virologique défini par à une charge virale < 400 copies/ml à la semaine 24 et < 50 copies/ml à la semaine 48 [4].

De la même façon, chez des patients ayant reçu de nombreux traitements, la diminution précoce supérieure à 1 $\log_{10}$ à la 12ème semaine d'un traitement optimisé associé à de l'enfuvirtide dans les essais TORO est prédictive de la réponse virologique (définie par une charge virale < 50 copies/ml et < 400 copies/ml) à la semaine 24, 48 et 96 [5]. Des résultats similaires ont été présentés chez des patients en échecs virologiques recevant un traitement comprenant le tipranavir dans les essais RESIST. La diminution de la charge virale supérieure à 1,5 $\log_{10}$ à la 8ème semaine est associée au succès virologique (< 50 copies/ml) à la semaine 48 [6].

En quoi une diminution rapide de la charge virale peut-elle favoriser une réponse durable ?

Un travail récent a démontré qu'au cours de la décroissance de la charge virale à l'instauration d'un traitement, la sélection de mutations de résistance pouvait avoir lieu [7]. En utilisant une technique ultra-sensible de PCR spécifique de mutations clées (M184V associée à la résistance à la lamivudine, la mutation K103N aux inhibiteurs non-nucléosidiques de la transcriptase inverse et la mutation L90M aux inhibiteurs de la protéase), il a été démontré que la sélection de variants résistants minoritaires au cours de la décroissance de la charge virale dépendait du nombre de jours pour atteindre l'indétectabilité (85 versus 250 jours). Cette étude suggère que selon la vitesse de diminution de la charge virale sous traitement, la sélection de virus résistant peut avoir lieu.

De quoi dépend la vitesse de la diminution de la charge virale ?

La durée de traitement nécessaire au contrôle de la charge virale dans le plasma est directement liée à la quantité de virus avant traitement. Le nombre de jours nécessaires pour atteindre l'indétectabilité (<50 copies/ml) est d'autant plus important que la charge virale initiale est élevée : 15 jours pour une charge virale de 3 log comparés à 113 jours pour une charge virale de 6 log [8]. Palmer et al. ont montré, à l'aide d'une technique de quantification avec un seuil à 1 copies/ml, que la pente de décroissance des phases tardives après plusieurs années de traitement efficace est directement corrélée à la charge virale pré-thérapeutique [9].

La combinaison du traitement efficace est aussi un facteur influençant la vitesse de décroissance de la charge virale. Le nombre de molécule n'est pas directement responsable de l'importance de la décroissance mais plutôt la composition du traitement avec un nombre de cibles thérapeutiques différents. En effet, l'ACTG 5095 n'a a pas montré un avantage à la quadrithérapie AZT/3TC/ABC+EFV comparé à l'association AZT/3TC+EFV [10]. En revanche, la décroissance de la charge virale au cours de la phase précoce est significativement plus importante avec l'association TDF+3TC+EFV+LPV/r comparé à des traitements standards 2 INTI et un IP [11]. De même, l'addition de l'enfuvirtide à une quadrithérapie efficace augmente la puissance antivirale observée par la pente de décroissance initiale (0.8 $\log_{10}$ versus 0.62 $\log_{10}$ par jour) [12].

Plus récemment, les données sur la puissance initiale d'un traitement comportant du raltégravir comparé à l'éfavirenz ont montré qu'un nombre de patients avec une charge virale indétectable (< 50 copies/ml) était atteint plus rapidement avec le raltégravir qu'avec l'éfavirenz [13]. Après 57 jours de traitement, 90% des patients ont une charge virale < 50 copies/ml sous raltégravir comparé à 37% sous éfavirenz. L'essai de phase III comparant le raltégravir et l'éfavirenz associé à TDF/FTC sur un plus grand nombre de patients naïfs rapportent une efficacité comparable à la 48ème semaine entre les 2 traitements mais confirme la plus grande rapidité d'obtention de l'indétectabilité sous raltégravir [14].

En conclusion, la diminution rapide de la charge virale semble associée à une réponse virologique durable mais d'autres paramètres comme la tolérance et l'observance au traitement antirétroviral sont à prendre en compte dans la participation au succès thérapeutique.

1. Polis MA, Sidorov IA, Yoder C, Jankelevich S, Metcalf J, Mueller BU*, et al.* **Correlation between reduction in plasma HIV-1 RNA concentration 1 week after start of antiretroviral treatment and longer-term efficacy**. *Lancet* 2001,358:1760-1765.

2. Haubrich R, Riddler S, Ribaudo H, DiRienzo G, Klingman K, Garren K*, et al.* **Initial virus decay to assess the relativeantiretroviral potency of PI-, NNRTI-, NRTI-sapring regimens for first line therapy of HIV-1 infection**. *14th CROI*. Los Angeles, USA 2007.

3. Delfraissy JF, Flandre P, Delaugerre C, Ghosn J, Horban A, Girard PM*, et al.* **Lopinavir/ritonavir monotherapy or plus zidovudine and lamivudine in antiretroviral-naive HIV-infected patients**. *Aids* 2008,22:385-393.

4. Flandre P, Delaugerre C, Ghosn J, Chaix ML, Horban A, Girard PM*, et al.* **Porgnostic factors of virologic response of lopinavir/ritonavir monotherapyin ARV naïve patients randomized in the MONARK trial**. *Antiviral Therapy* 2008,Inpress.

5. Raffi F, Katlama C, Saag M, Wilkinson M, Chung J, Smiley L, Salgo M. **Week-12 response to therapy as a predictor of week 24, 48, and 96 outcome in patients receiving the HIV fusion inhibitor enfuvirtide in the T-20 versus Optimized Regimen Only (TORO) trials**. *Clin Infect Dis* 2006,42:870-877.

6. Ernst J, Farthing C, Cooper D, Boue F, Gatell J, Kraft M, Neubacher D. **Week 8 response predicts week 48 virological responses to tipranavir/r in the RESIST studies**. *4th IAS*. Sydney, Australia 2007.

7. Metzner KJ, Allers K, Rauch P, Harrer T. **Rapid selection of drug-resistant HIV-1 during the first months of suppressive ART in treatment-naive patients**. *Aids* 2007,21:703-711.

8. Rizzardi GP, De Boer RJ, Hoover S, Tambussi G, Chapuis A, Halkic N*, et al.* **Predicting the duration of antiviral treatment needed to suppress plasma HIV-1 RNA**. *J Clin Invest* 2000,105:777-782.

9. Palmer S, Maldarelli F, Wiegand A, Berstein B, Hanna G, Brun S*, et al.* **Low-level viremia persists for at least 7 years in patients on suppressive antiretroviral therapy**. *PNAS* 2008,105:3879-3884.

10. Gulick RM, Ribaudo HJ, Shikuma CM, Lalama C, Schackman BR, 3rd MWA*, et al.* **Three- vs four-drug antiretroviral regimens for the initial treatment of HIV-1 infection: a randomized controlled trial**. *JAMA* 2006,296:769-781.

11. Louie M, Hogan C, Di Mascio M, Hurley A, Simon V, Rooney J*, et al.* **Determining the relative efficacy of highly active antiretroviral therapy**. *J Infect Dis* 2003,187:896-900.

12. Molto J, Ruiz L, Valle M, Martinez-Picado J, Bonjoch A, Bravo I*, et al.* **Increased antiretroviral potency by the addition of enfuvirtide to a four-drug regimen in antiretroviral-naive, HIV-infected patients**. *Antivir Ther* 2006,11:47-51.

13. Murray JM, Emery S, Kelleher AD, Law M, Chen J, Hazuda DJ*, et al.* **Antiretroviral therapy with the integrase inhibitor raltegravir alters decay kinetics of HIV, significantly reducing the second phase**. *Aids* 2007,21:2315-2321.

14. Lennox J, DeJesus E, Lazzarin A, Pollard R, Ramalho-Madruga JV, Zhao J*, et al.* **Safety and efficacy of raltegravir-based versus efavirenz-based combination therapy in treatment-naive HIV-1 infected patients (STARTMRK Protocol 021)**. *ICAAC-IDSA*. Washington, USA 2008.

SESSIONS INVITÉES
Invited speakers sessions

RÉSUMÉS
SESSIONS ORALES LIBRES

ABSTRACTS
FREE PAPERS FOR ORAL SESSIONS

RICAI

SESSIONS ORALES LIBRES
Free papers for oral sessions

5/2o — 4 décembre 2008 - 09:00 - 341

Forte prévalence des infections communautaires et nosocomiales à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et sécréteur de la Leucocidine de Panton-Valentine dans l'Algérois

K. Antri[1], I. Boubekri[1], O. Dauwalder[2], N. Rouzic[2], M. Bes[2], J. Etienne[2], M. Tazir[1], N. Ramdani-Bouguessa[1]
[1]Service de Microbiologie, Centre Hospitalo-universitaire Mustapha Bacha, Alger, Algérie [2]Service de Bactériologie, Centre National de Référence des Staphylocoques, Lyon, France

Staphylococcus aureus, agent impliqué dans les infections suppuratives et toxiniques a un regain d'intérêt depuis l'émergence des infections communautaires à S.aureus méticillino-résistant (SARM). L'objectif de ce travail est de déterminer la fréquence des infections communautaires et nosocomiales à S.aureus.

Un total de 700 souches de S.aureus a été collecté chez 676 patients sur une période de 20 mois (de mai 2006 à décembre 2007). L'identification a été réalisée par la recherche de la coagulase et l'agglutination au latex (Biorad). L'antibiogramme a été testé par la méthode de diffusion en gélose selon les recommandations du CLSI ainsi que l'étude moléculaire (toxines, gène mec A, agr) de 221 souches par PCR multiplex. Les infections communautaires (IC) et hospitalières (IH) étaient isolées chez 360 et 316 patients respectivement. Les infections cutanées représentaient 54% des pathologies, notamment les plaies opératoires (n=81), abcès (n=70), lésions bulleuses (n=53) et les furonculoses (n=41). La fréquence des bactériémies, ostéomyélites et pneumonies était de 5,6%, 5,3% et 3% respectivement. La prévalence des SARM communautaires était de 35% et de 49% pour les SARM hospitaliers. Parmi les 84 cas d'IC, la prévalence des SARM était de 40.5% (34/84), la majorité (88%) étant des SARM-PVL+ (30/34). Parmi les 137 cas d'IH, la prévalence des SARM était de 47.4% (65/137), la majorité (75%) étant des SARM-PVL+ (49/65). Les SARM-PVL+ hospitaliers se distinguaient des SARM-PVL+ communautaires par l'existence d'une résistance aux fluoroquinolones (46.9% vs. 0%), suggérant une diffusion intra-hospitalière de ce clone. Les souches de SARM-PVL+ avaient le profil moléculaire suivant: agr3, mecA(+), etd, edin ce qui correspond au clone majoritaire en Europe et au Maghreb ST80.

Nos résultats montrent un fort taux de SARM-PVL+ aussi bien dans la communauté qu'en milieu hospitalier. Des SARM hospitaliers PVL+ étaient multi-résistants aux antibiotiques compliquant leur approche thérapeutique et nécessitant l'élaboration de stratégies de prise en charge de ces infections.

6/2o — 4 décembre 2008 - 09:15 - 341

Introduction probable d'*Escherichia coli* producteurs de CTX-M de la communauté dans un service de maternité, et transmission des mères aux nouveau-nés

V. Dubois[3-1], B. De Barbeyrac[1], A.M. Rogues[2], C. Arpin[3], P. Marianni[4], F. Mégraud[1], C. Quentin[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service d'Hygiène Hospitalière, Hôpital Pellegrin [3]UMR 5234, CNRS, Université de Bordeaux 2, Bordeaux [4]Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Sur une période de 5 mois, de novembre 2007 à avril 2008, 10 souches d'*Escherichia coli* ont été trouvées productrices de β-lactamase à spectre étendu (BLSE), sur les 250 (4%) isolées de patients hospitalisés à la maternité de l'Hôpital Universitaire de Bordeaux (France). Parmi ces 10 souches, 8 provenaient des urines ou de prélèvements génitaux de parturientes et 2 du liquide gastrique de leurs nouveaux nés. Les 10 patients étaient hospitalisés dans 5 unités différentes de la maternité. La résistance aux β-lactamines était transférable par conjugaison pour 7 des 10 souches. Les transconjugants et les souches d'origine clinique présentaient des phénotypes de résistance variés. Une amplification des gènes bla_{CTX-M} a été obtenue pour toutes les souches. Cependant, l'isoélectrofocalisation a montré la présence d'enzymes de pIs variés (7, 8, 8, 1, 8, 5 ou 8, 9). L'analyse des séquences des gènes bla_{CTX-M} amplifiés a confirmé la présence de différentes enzymes de type CTX-M : CTX-M-1 (n=4), CTX-M-14 (n=3), CTX-M-32 (n=2) ou CTX-M-28 (n=1). Enfin, l'analyse des souches en champs pulsé a démontré qu'elles n'étaient pas épidémiologiquement reliées à l'exception des souches provenant des couples mères-enfants. Par ailleurs, des échantillons environnementaux prélevés dans des secteurs où toutes les patientes avaient séjourné (pièces d'échographie et de prélèvement) n'ont pas révélé la présence d'entérobactéries productrices de BLSE. Ces données suggèrent l'introduction de souches communautaires productrices de BLSE à l'hôpital par des patientes colonisées/infectées, plutôt qu'une épidémie de souche(s) ou de plasmide(s) dans cette maternité. La comparaison de ces souches avec des *E.coli* producteurs des mêmes enzymes de type CTX-M isolées l'année précédente, en ville, dans la région, est en cours.

Cette étude montre qu'aujourd'hui, les patients transférés d'un autre hôpital, d'un service de long séjour ou d'une maison de retraite ne sont plus les seuls à représenter un risque de portage d'entérobactéries BLSE+ à l'admission à l'hôpital, mais aussi les patients de la communauté.

7/2o — 4 décembre 2008 - 09:30 - 341

Targeted active surveillance cultures for detection of multidrug-resistant bacteria at admission in an internal medicine ward

C. Rousseau[1], D. Vanjak[3], N. Claudel[3-2], C. Zincius[1], M.H. Nicolas-Chanoine[2], B. Fantin[1]
[1]Médecine interne [2]Microbiologie [3]Unité de lutte contre les infections nosocomiales, Hôpital Beaujon, AP-HP, Clichy, France

Background: For patients displaying high risks for carrying multidrug-resistant bacteria, MDRB (transfer from another facility, intra-hospital transfer, prior hospitalization or previous MDRB carriage), active surveillance cultures are recommended in order to implement contact precautions towards colonized patients. We evaluated the relevance of such a targeted active surveillance culture strategy in our medical ward.

Method: From May 2006 to April 2007, each patient admitted in our internal medicine ward was prospectively characterized for the presence of risk factors. Nasal and rectal swabs were taken from the targeted patients at admission.

Results: Among 876 admissions, 441 patients presented risk factors (50%) and 346 were screened for the following reasons: transfer from another facility, n=93 (27%); transfer from another unit, n=64 (18%); prior hospitalization, n=177 (51%) and previous MDRB carriage, n=12 (3%). Of the 346 screened patients, 35 (10%) were colonized with MDRB (20 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* [MRSA] and 15 enterobacteriaceae (E) producing extended-spectrum β-lactamase [ESBL]). The risk factors and the prevalence of patients detected positive for MDRB in each risk factor category were as follows: transfer from another facility: n=11 and prevalence=12%, transfer from another unit: n=2 and prevalence=3%, prior hospitalization: n=11 and prevalence=6%, and already known as carriers: n=11 and prevalence= 92%.

Conclusions: Yield of active surveillance cultures in targeted patients is high, even in a medical ward. ESBL-positive E carriage tends to be as frequent as MRSA carriage. Among the targeted patients, almost all of the already known carriers present a prolonged carriage and for the other risk factor categories, the highest prevalence of MDRB carriage was found in patients coming from another facility.

8/2o — 4 décembre 2008 - 09:45 - 341

Characterization of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates recovered from 13 different Belgian hospitals between 2004 and 2008

C. Bauraing[2], P. Bogaerts[2], A. Deplano[1], C. Berhin[2], M. Struelens[1], Y. Glupczynski[2]
[1]Service de Bactériologie, Université libre de Bruxelles, Hôpital Erasme, Bruxelles [2]Service de Bactériologie, Université catholique de Louvain, Cliniques universitaires UCL Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

Purpose of the study: To investigate the genetic determinants of carbapenem resistance and clonal diversity in *Acinetobacter baumannii (Ab)* isolates collected during the period 2004-2008 in Belgian hospitals

Methods: All carbapenem-resistant (CR) Ab isolates (n=54) collected in Belgian hospitals (n=13) and referred to our laboratory were included. Species identification was performed by conventional tests and confirmed by detection of the intrinsic $bla_{OXA-51-like}$ gene. MICs of selected agents were determined by Etest. Genes coding for acquired carbapenemases (bla_{OXA-23}, bla_{OXA-24}, bla_{OXA-58}) and for the chromosomal AmpC-ß-lactamase (bla_{ADC}) were identified by sequencing. Their genetic environment was characterized by PCR-mapping and sequencing of the IS linked to these genes. Isolates were genotyped by PFGE using *Apa*I.

Results obtained: Among CR *Ab* isolates 32 (59%) carried the bla_{OXA-23} gene and 22 (41%) the bla_{OXA-58}. OXA-23-and OXA-58 producing Ab isolates were each identified in 5 hospitals, while both types were present in 3 hospitals. IS*Aba1* and *4* were located upstream of the bla_{OXA-23} in 12 and 20 isolates, respectively. IS*Aba*2, 3 and 3-like insertion sequences surrounding *bla*OXA-58 were identified in 20 Ab isolates. IS*Aba1* was located upstream of the bla_{ADC} and $bla_{OXA-51-like}$ genes in 33 and 7 isolates, respectively. No correlation could be made between the presence of a specific IS*Aba* and the level of resistance to carbapenem or other ß-lactams. PFGE revealed the existence of 6 clonal clusters (2 to 13 isolates each) and showed a polyclonal distribution of OXA-23 and OXA-58 producing *Ab* isolates. The majority of the OXA-23 CR *Ab* strains showed a PFGE type which was closely related to the previously defined European clone type I. All epidemic strains were imported through international travel, by patients transferred mostly from Southern Europe, North-Africa and South-East Asia.

Conclusion: The repeated importation into and widespread dissemination between Belgian hospitals of OXA-23 and OXA-58 CR *Ab* strains over recent years emphasizes the need for implementing a national surveillance program and closely monitoring the international spread of these "superbugs".

9/2o — 4 décembre 2008 - 10:00 - 341

Identification et sensibilité aux antibiotiques des bactéries et levures isolées d'hémoculture en France en 2007 : étude prospective annuelle multicentrique du ColBVH

O. Gallon[2], B. Lamy[5], C. Bartizel[4], F. Doucet-Populaire[1-3], J. Pollet[2], J.W. Decousser[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Antoine Béclère, Clamart [2]Pôle de Biologie-Hygiène, CH de Dourdan, Dourdan [3]Faculté de Pharmacie Paris V - EA4065, Université Paris Descartes, Paris [4]Laboratoire de Biologie, CH de Rambouillet, Rambouillet [5]Laboratoire de Biologie, CH du Bassin de Thau, Sète, France

Introduction : Les bactériémies et les fongémies constituent des infections graves pour lesquelles le retard à la mise en place d'une thérapeutique efficace peut avoir des conséquences cliniques importantes.

Objectif : Décrire les germes responsables de bactériémies ou de fongémies.

Méthodes : 74 laboratoires d'hôpitaux non universitaires du **ColBVH** ont centralisé les données des hémocultures positives du mois d'octobre 2007. Un contrôle de qualité de 4 souches a validé la qualité des informations récoltées.

Résultats : 1555 épisodes de bactériémies cliniquement significatives et non redondantes ont été inclus, dont 27% considérées comme nosocomiales. Les principaux germes identifiés sont: *E.coli* (34.0%), *S.aureus* (12.5%), *S.pneumoniae* (5.6%), Streptocoques non groupables (4.8%), *K. pneumoniae* (4.8%), *S.epidermidis* (4.2%), *E.faecalis* (3.5%), *P.aeruginosa* (3.4%), *B. fragilis* (2.32%). Les bactéries anaérobies strictes représentaient 5.7% des isolats et les levures 2.51%. Les résistances mesurées (**I+R**) étaient les suivantes : ***E.coli*** et Amoxicilline: 47.6%, Amox+Ac Clav: 32.6%, Pip+Tazo: 5.2%, Céfotaxime: 3.6%, Gentamicine: 5.2%, Amikacine: 1.4%, Ac Nalidixique: 19.8%, Ofloxacine: 17.6%, Ciprofloxacine: 13.2%, Cotrimoxazole: 18.1%; ***K. pneumoniae*** et Céfotaxime: 6.8%, Ac Nal: 22.1%, Ofloxacine: 17.8%; ***P.aeruginosa*** et Pip+Tazo: 18.3%, Ceftazidime: 11.5%, Imipénème: 18.3%, Amikacine: 23.5%, Ciprofloxacine: 29.4%. Parmi les 21 septicémies à entérobactéries BLSE, 12 étaient dues à *E.coli*. 32.2% des ***S.pneumoniae*** présentaient une diminution de sensibilité à la pénicilline (1 et 0 souche résistante respectivement à l'amoxicilline et au céfotaxime sur 86 testées). Au sein de l'espèce ***S.aureus***, 30.3% des souches étaient résistantes à la méticilline et 4.9% à la gentamicine. Les pourcentages de résistance de ***S.epidermidis*** étaient de 64.7% à la méticilline, 41.5% à la gentamicine; 13 souches étaient I/R à la teicoplanine sur 62 testées (21%). La résistance des **entérocoques** était de 12.1% à l'amoxicilline et de 18.5% à la gentamicine ; 2 souches sur 66 étaient I ou R à la vancomycine (espèces naturellement résistantes).

Discussion et Conclusion : Cette étude nationale annuelle souligne les caractéristiques de l'épidémiologie des bactériémies et des fongémies en France.

10/2o — 4 décembre 2008 - 10:15 - 341

Incidence des bactériémies/fongémies aux Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS) de 2005 à 2007

O. Bourneton[5], T. Mutel[4], C. Hernandez[1], T. Lavigne[1], J. Waller[3], B. Jaulhac[2], J. Foegle[1]
[1]Laboratoire d'hygiène hospitalière [2]Laboratoire de bactériologie [3]Laboratoire de parasitologie [4]Médecine santé publique [5]Pharmacie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Objectifs : Suivre l'évolution de l'incidence et des principales caractéristiques des bactériémies et fongémies enregistrées aux HUS entre 2005 et 2007.

Méthode : La méthodologie d'enquête établie par le C-CLIN Est, d'après le protocole national du RAISIN, inclut tous les patients hospitalisés aux HUS sur une période de 3 mois. Toute hémoculture positive donne lieu à l'ouverture d'une fiche de surveillance regroupant des données cliniques et microbiologiques.

Résultats : Les bactériémies nosocomiales acquises en hospitalisation complète représentent la majorité des épisodes bactériémiques avec un taux d'incidence variant de 0,996 à 1,31‰ journées d'hospitalisation. Les populations les plus touchées sont celles de plus de 50 ans. Les portes d'entrée les plus fréquemment retrouvées sont les cathéters centraux, les portes d'entrée digestives et urinaires. Les micro-organismes les plus fréquemment en cause sont les staphylocoques à coagulase négative, *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. La fréquence des décès survenus au cours des 7 jours suivant le début des épisodes varie de 16% en 2005 à 8% en 2007.

Les bactériémies communautaires représentent 28% des épisodes et touchent majoritairement les populations de plus de 70 ans. Les portes d'entrées les plus fréquemment retrouvées sont urinaires, digestives et pulmonaires. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* et *Streptococcus pneumoniae* sont les micro-organismes les plus fréquemment isolés. La fréquence des décès survenus au cours des 7 jours suivant le début des épisodes varie de 3,7% à 9,8% selon l'année d'étude.

Conclusion : Les bactériémies sont des infections graves, dont la mortalité est élevée, en particulier chez les patients immunodéprimés ou atteints de pathologies sévères, hospitalisés dans les services de réanimation. Cette enquête annuelle permet de mesurer le niveau de risque infectieux dans un établissement, d'identifier les portes d'entrée les plus fréquemment en cause et surtout de cibler les actions de prévention à mettre en œuvre.

RAISIN : Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales

11/3o — 4 décembre 2008 - 09:00 - 343

Présence du gène *qnrB4* dans un intégron complexe de type *sul1* chez *Enterobacter cloacae*

M. Bouchakour[5], C. Moubareck[2], J.D. Perrier-Gros-Claude[5], K. Zerouali[3], H. Amarouch[4], N. El Mdaghri[3], M.C. Ploy[1], M. Timinouni[5]
[1]Université de Limoges, Limoges [2]Institut Pasteur, Paris, France [3]CHU Ibn Rochd [4]Faculté des Sciences Ain Chock [5]Institut Pasteur, Casablanca, Maroc

Objectifs : Etudier l'environnement du gène *qnrB4* et son association à *aac(6')-Ib-cr* chez des souches de *E. cloacae* productrices de b-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées au CHU Ibn Rochd de Casablanca au Maroc.

Méthodes : Huit *E. cloacae* sélectionnés à partir d'un effectif de 188 entérobactéries productrices de BLSE ont été étudiées. La clonalité des souches a été étudiée par électrophorèse en champ pulsé. La recherche des gènes de résistance aux quinolones (*qnrA*, *B*, *S*, et *aac(6')-Ib-cr*), des b-lactamases de type AmpC (FOX, ACC, EBC, MOX, CIT, DHA), des BLSE (TEM, SHV, CTX-M1, CTX-M2, CTX-M8 et CTX-M9) et des intégrons de classe 1 a été effectuée par PCR et les produits d'amplification ont été séquencés. L'organisation des gènes dans l'intégron a été déterminée par PCR mapping. Des expériences de conjugaison ont été réalisées avec *Escherichia coli* $K_{12}J_5$ comme réceptrice.

Resultats : Sur les 8 *E. cloacae* étudiés, 4 étaient porteurs du gène *qnrB4* et produisaient une BLSE de type SHV-12 et une b-lactamase plasmidique de type DHA-1. Ces 4 souches présentaient des pulsotypes différents. Le gène de résistance plasmidique *aac(6')-Ib-cr* a été détecté chez 3 des 4 souches. Les gènes *qnrB4*, bla_{DHA-1} et *aac(6')-Ib-cr* étaient portés par un intégron complexe de type *sul1*. La structure génétique était composée de deux intégrons de classe 1 séparés par une région commune contenant ORF513. En amont d'ORF513 était localisée *aac(6')-Ib-cr* et en aval *qnrB4* et bla_{DHA-1}. Les gènes *qnrB4*, bla_{DHA-1}, bla_{shv-12} et *aac(6')-Ib-cr* étaient co-transférables par conjugaison.

Conclusion : Cette étude décrit un intégron complexe type *sul1* portant les gènes *qnrB4, aac(6')-Ib-cr* et bla_{DHA-1} chez *E. cloacae*. La présence des gènes *qnrB4* et *aac(6')-Ib-cr* sur le même intégron pourrait notablement augmenter la fréquence de survenue d'évènements mutationnels dans les topoisomerases de type II, cibles des quinolones responsables d'une résistance de haut niveau.

12/3o — 4 décembre 2008 - 09:15 - 343

Influence du portage de plasmides ayant le gène *qnr* sur l'activité de la ciprofloxacine *in vitro* et dans un modèle murin de pyélonéphrite à *Escherichia coli*

N. Allou, F. Chau, L. Garry, L. Massias, E. Cambau, B. Fantin
Université Paris 7, EA3964, Paris, France

Introduction : Les souches d'entérobactéries ayant un plasmide de multi-résistance portant un gène *qnr* (pQnr+) sont de plus en plus fréquemment isolées en microbiologie clinique. Notre objectif a été d'étudier l'influence du portage de ces plasmides (pQnr+) chez *E.coli,* en mesurant l'activité de la ciprofloxacine *in vitro* et dans un modèle murin de pyélonéphrite.

Méthodes : Nous avons comparé les résultats obtenus pour la souche de *E.coli* CFT073-RR (souche de référence pour le modèle d'infection urinaire murin) avec ceux obtenus pour ses transconjugants (Tc) ayant acquis soit un plasmide portant le gène *qnr*A1 (pQnrA1) soit un plasmide portant le gène *qnr*S1 (pQnrS1).

Résultats : *In vitro*, les CMI de la ciprofloxacine pour les souches Tc étaient augmentées d'un facteur 32-64 mais restaient inférieures à la concentration critique de sensibilité (0,5 mg/l). L'activité bactéricide de la ciprofloxacine à la concentration de 0,5 mg/l était significativement diminuée pour les souches Tc(pQnr+). En revanche, la bactéricidie à une concentration égale à 4 fois la CMI respective de chaque souche, était semblable pour les différentes souches. *In vitro*, nous n'avons pas trouvé d'augmentation de la proportion de mutants résistants à la ciprofloxacine chez les souches Tc (pQnr+). Les concentrations de ciprofloxacine prévenant l'apparition de mutants résistants (CPM) étaient au moins 20 fois supérieures pour les souches porteuses du gène *qnr*, mais étaient dans tous les cas égales à 8 fois la CMI respective de chaque souche. *In vivo*, un traitement par de la ciprofloxacine administrée par voie sous-cutanée pendant 48h a réduit de manière significative l'inoculum bactérien chez les souris infectées par la souche de *E.coli* CFT073-RR mais pas chez les souris infectées par les souches Tc (pQnrA1) ou Tc (pQnrS1). Ces résultats s'expliquent par les données pharmacocinétiques /pharmacodynamiques défavorables *in vivo* pour les souches ayant un plasmide portant un gène *qnr*.

Conclusion : Nos résultats suggèrent que les souches ayant un plasmide portant un gène *qnr* responsable d'un bas niveau de résistance à la ciprofloxacine sont moins bien éradiquées dans un foyer infectieux de pyélonéphrite.

13/3o — 4 décembre 2008 - 09:30 - 343

Epidémiologie de la résistance plasmidique aux fluoroquinolones chez les entérobactéries productrices de BLSE isolées en 2006 au CHU de Nantes

L. Crémet[1], N. Caroff[1-2], D. Lepelletier[1-2], S. Dauvergne[2], A. Reynaud[1-2], S. Corvec[1-2]
[1]Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière, CHU de Nantes [2]Université de Nantes, EA 3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Nantes, France

Objet de l'étude : Trois mécanismes de résistance plasmidique aux quinolones (les déterminants Qnr, l'enzyme AAC(6')-Ib-cr et la pompe d'efflux QepA) ont émergé dans le monde entier ces dix dernières années. L'objectif de notre étude était d'évaluer la prévalence de ces nouveaux déterminants chez les entérobactéries productrices de BLSE isolées au CHU de Nantes en 2006.

Méthodes : Les isolats cliniques ont été sélectionnés sur la base du phénotype de résistance aux fluoroquinolones avec un test de synergie positif. Les mécanismes de résistance chromosomique et plasmidique responsables ont été étudiés par PCR et séquençage. Le support plasmidique a été étudié par conjugaison et/ou électroporation du plasmide extrait par technique de Kieser. Les isolats ont été comparés par PCR-ERIC2.

Résultats : 63 souches productrices de BLSE (51 Escherichia coli, 6 Proteus mirabilis, 3 Klebsiella pneumoniae, 2 Providencia stuartii, 1 Enterobacter aerogenes) ont été sélectionnées parmi 7332 entérobactéries isolées en 2006. 47 souches étaient résistantes aux fluoroquinolones. Parmi elles, 2 K. pneumoniae, non reliées épidémiologiquement, possédaient un déterminant QnrS (prévalence de 4,3%). Une plus forte prévalence (25,5%) du variant AAC(6')-Ib-cr a été mise en évidence. Aucune souche ne possédait le système d'efflux QepA.

Les BLSE associées au gène QnrS étaient une CTX-M14 (Kp419) et une CTX-M15 (Kp658). Kp658 exprimait une résistance de haut niveau aux fluoroquinolones avec 3 mutations dans les QRDR (GyrA : Ser83Phe et Asp87Ala, ParC : Ser80Ile) associées à l'expression des déterminants plasmidiques QnrS et AAC(6')-Ib-cr. A l'inverse, Kp419 exprimait une résistance de bas niveau sans mutation dans les QRDR ni d'AAC(6')-Ib-Cr.

Conclusion : Cette étude moléculaire montre que les gènes qnr sont peu fréquents dans notre hôpital. Aucun déterminant QnrA ou QnrB n'a été retrouvé sur cette période dans cette cohorte. Seules 2 K. pneumoniae exprimaient un déterminant QnrS. Par contre, la production du variant AAC(6')-Ib-cr constitue un mécanisme de résistance émergent. En l'absence de mécanisme de résistance chromosomique associé (modification de cible), l'antibiogramme automatisé Vitek2 semble capable de détecter le bas niveau de résistance induit par un déterminant Qnr.

14/3o — 4 décembre 2008 - 09:45 - 343

Qnr plasmid-mediated quinolone resistance determinants among *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Italy

A. Cavallaro[2], S. Bolzonella[1], C. Bergo[2], G. Palù[1], S.N. Richter[1]
[1]Department of Histology, Microbiology and Medical Biotechnologies, University of Padova, via Gabelli 63, Padova [2]Hospital - University of Padova, Italie

Objectives: The aim of this study was to determine the spread of plasmid-mediated quinolone resistance determinants (qnr-like genes) in enterobacterial strains isolated from patients in North-East Italy.

Methods: The qnrA, qnrB and qnrS genes were screened by a multiplex PCR-based technique from 232 non-repetitive E.coli and K. pneumoniae isolates collected from January to June 2008, at the Padova Hospital. Only isolates that displayed ciprofloxacin MIC>0.25 or ESBL production were included in this study. Qnr gene identity was confirmed by DNA sequencing. The qnr positive bacterial strains were grouped based on the repetitive element PCR fingerprinting method, using "enterobacterial repetitive intergenic consensus" (ERIC) primers.

Results: Forty-one (17.7%) qnr-positive isolates were detected, of which eight E.coli and thirty-two K. pneumoniae. The identity of qnr genes was as follows: one qnrA (0.9%), thirty-six qnrB (15.5%) and three qnrS (1.3%). In E.coli qnrB and qnrS families were found, with prevalence of qnrB (62%); in K. pneumoniae the vast majority presented qnrB (thirty-one isolates, 97%) and only one isolate displayed the qnrA gene (3%). DNA sequencing revealed that all qnrB genes found, both in E.coli and in K. pneumoniae belonged to the qnrB19 allele: qnrS1 and qnrA1 alleles were found in K. pneumoniae. The majority of qnr-positive isolates (56%) is intermediately-resistant to ciprofloxacin (MIC=2), while 7.3% and 17.1% isolates are sensitive or resistant to ciprofloxacin, respectively. In addition, 65% of qnr-positive isolates produces ESBL. The ERIC-PCR fingerprint showed that qnrB19-positive K. pneumoniae isolates belong to six different genotypically related groups: the most numerous group comprises 17 isolates. E.coli qnrB19-positive isolates belongs to two genotypic groups, while the qnrS1 strains are genotypically unrelated.

Conclusions: This study constitutes the first epidemiological survey of the three known Qnr determinants among Italian isolates and shows their relatively high prevalence in this country, compared to reported rates in other countries. The qnrB19 allele is by far the most frequently found gene, indicating a common origin of the qnr plasmid-mediated quinolone resistance among Italian enterobacterial isolates.

15/3o — 4 décembre 2008 - 10:00 - 343

***E.coli* résistante aux quinolones - CHU Annaba, Algérie**

A. Djahoudi, L. Meradi, K. Amoura, N. Djahmi, S. Amiri
Département de Pharmacie, Faculté de médecine, Annaba, Algérie

Objectifs : Estimer la part de *E.coli* résistantes aux quinolones parmi les bacilles Gram négatif isolés durant les deux dernières années (2006 et 2007).

Etude de la résistance à d'autres antibiotiques des *E.coli* résistantes aux quinolones.

Y'a-t-il une corrélation entre la consommation et l'émergence de la résistance des bacilles à Gram négatif en milieu hospitalier ?

Résultats : Répartition taxonomique des bactéries isolées et testées aux quinolones

Espèce			S	%	I+R	%	Total
Entérobactéries		*E.coli*	410	75,22	135	24,78	545
	K	*Klebsiella sp.*	335	70,08	143	29,92	478
	E	*Enterobacter sp.*	24	53,33	21	46,67	45
	S	*Serratia sp.*	30	26,08	85	73,92	115
	P	*Proteus sp.*	56	53,84	48	46,16	104
	M	*Morganella sp.*	25	33,33	50	66,67	75
	P	*Providencia sp.*	06	66,66	03	33,34	09
		Citrobacter sp.	11	84,61	02	15,39	13
		Salmonella sp.	18	72	07	28	25
NE		*Pseudomonas sp.*	203	49,39	208	50,61	411
		Acinetobacter sp.	72	43,63	93	56,37	165
Total			1190	59,94	795	**40,06**	1985

Tab: 4-Evolution de la résistance aux quinolones.

	Année 2006 S I R N % N % N %	Année 2007 S I R N % N % N %
Entérobactéries	406 71,10 23 04,02 142 24,26	509 60,73 72 08,59 257 30,66
BGN-NE	142 52,20 40 14,70 90 33,08	133 43,75 53 17,43 118 38,81

Tab: 5-Répartition des souches *Enterobacteriaceae* selon le phénotype.

Espèce	**Pht I** **S S** **NA Pef**	**Pht II** **R S** **NA Pef**	**Pht III** **R R/I** **NA Pef**	**Pht IV** **S R** **NA Pef**	N total
	n %	n %	n %	**n %**	
E.coli	410 75,22	71 13,02	62 11,73	**02 0,36**	545
Klebsiella sp.	335 70,08	70 14,64	71 14,85	**02 0,41**	478
Enterobacter sp.	24 53,33	11 24,44	10 22,22	-	45
Serratia sp.	30 26,08	36 31,30	49 42,60	-	115
Proteus sp.	56 53,84	24 23,07	24 23,07	-	104
Morganella sp.	25 33,33	28 37,33	19 25,33	**03 4**	75
Providencia sp.	06 66,66	02 22,22	1 11,11	-	09
Citrobacter sp.	11 84,61	02 5,38	-	-	13
Salmonella sp.	18 72	04 16	3 12	-	25
Total	915 64,93	248 **17,60**	239 **16,96**	**07 0,49**	1409

Sur 1985 souches BGN résistantes aux quinolones isolées entre 2006 et 2007 la part des entérobactéries est trés importante. Avec les espèces du genre *Klebsiella*, *E.coli* represente une part domminante. Une corrélation directe est enregistrée entre l'augmentation de la consommation et la fréquence d'isolement surtout au service d'endocrinologie, réanimations et urologie.

16/3o — 4 décembre 2008 - 10:15 - 343

Résistance aux fluoroquinolones des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées au centre hospitalier de Versailles entre 2002 et 2007

C. Plainvert, B. Couzon, B. Pangon
Microbiologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

L'utilisation croissante des fluoroquinolones (FQ) dans le traitement des infections à *Streptococcus pneumoniae* (S.p) nécessite une surveillance de leur sensibilité vis-à-vis de cette classe antibiotique.

Le but de ce travail est :(i) Evaluer la résistance aux FQ des souches de S.p isolées au centre hospitalier de Versailles et son évolution entre 2002 et 2007. (ii) Déterminer les mécanismes impliqués dans leur résistance aux FQ.

Méthode : Les souches de S.p sélectionnées provenaient de prélèvements à visée diagnostique réalisés entre les 01/06/2002 et 01/07/2007 chez des adultes et des enfants. La diminution de sensibilité aux FQ a été déterminée selon les critères du CA-SFM (diamètre norfloxacine <10mm) et confirmée par la détermination des CMI par la méthode des dilutions en milieu solide et par la méthode du E-test®. L'étude des mécanismes de résistance a été réalisée : i) recherche d'un efflux par diminution des CMI de norfloxacine ou de ciprofloxacine en présence de réserpine et ii) chez les souches de CMI de la

norfloxacine > 16 mg/L, recherche de mutation dans la région QRDR par séquençage des gènes codant l'ADN gyrase et la topoisomérase IV.

Résultats : Six cent soixante seize souches ont été isolées. Trente huit souches étaient de sensibilité diminuée aux FQ (Critères CASFM) Le pourcentage de souches de S.p résistantes aux FQ est de 1,35% en 2002 et 7% en 2006. La résistance aux FQ était plus fréquente dans les hémocultures (8,1%) que dans les prélèvements respiratoires (6,4%), dans le LCR (4%) et dans la sphère ORL (3%).

Une étude phénotypique des mécanismes de résistance a été réalisée sur 30 des 38 souches : un phénotype d'efflux a été observé pour 9/30.

Sur les 10 souches dont la CMI de la norfloxacine est supérieure à 16 mg/L l'analyse moléculaire montre

Chez toutes les souches au moins une mutation dans *parC*

Pour 5 souches cette mutation était associée à une mutation dans *gyrA*.

L'association d'un phénotype d'efflux et d'une ou plusieurs mutations dans *parC* et *gyrA* pour 5 souches.

Conclusion : Notre étude a montré une augmentation de la résistance aux FQ des souches de S.p isolées au centre hospitalier de Versailles entre 2002 et 2007, impliquant les mécanismes de résistance habituellement décrits (efflux, mutation dans *parC* et *gyrA*).

17/4o — 4 décembre 2008 - 09:00 - 351

Diagnostic et prise en charge des cas de trypanosomose humaine africaine en Guinée entre 2005 et 2007

C. Vanhecke[4], M.C. Receveur[3], K. Ezzedine[3], T. Pistone[3], E. Guevard[1], J. Jamonneau[2], P. Vincendeau[3], D. Malvy[3]
[1]Coordination régionale pour les formations supérieures et la recherche en santé, Cotonou, Bénin [2]IRD, Bobo Dioulasso, Burkina Faso [3]Médecine interne et maladies tropicales, Hôpital St André, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France [4]Service médical, Ambassade de France, Conakry, Guinée

Objectif: Evaluer la prise en charge de la Trypanosomose Humaine Africaine (THA) en Guinée Conakry en fonction du mode de dépistage de la maladie.

Matériel et Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective à partir de données issues des dossiers cliniques de patients hospitalisés pour une THA entre janvier 2005 et décembre 2007 dans le centre de traitement de Dubréka, à 50 km au Nord de Conakry, Guinée Conakry. Les patients ayant consulté spontanément au centre étaient notés en dépistage passif alors que ceux recrutés lors prospections médicales effectuées dans la région étaient classés en dépistage actif. Les données collectées comprenaient la symptomatologie clinique, la prise en charge thérapeutique et les éventuelles complications liées à cette prise ne charge, les résultats des analyses sérologiques et parasitologiques de chaque patient. Pour pouvoir participer à l'étude, les patients devaient avoir un « Card Agglutination Test for Trypanosomiasis » (CATT) sur sang total et sur plasma positif.

Résultats : Entre 2005 et 2007, 196 patients atteints de THA ont été admis. 193 dossiers étaient exploitables. 120 patients sur 193 (62,17%) étaient venus spontanément au centre, et 73 (37,82%) avaient bénéficié d'un dépistage actif.

Le dépistage actif permettait un diagnostic précoce (phase 1 ou phase lymphatico-sanguine) chez 12% des sujets alors que chez les dépistés passifs, ce chiffre était de 3,33% (p<0,05). 90% des patients présentaient des adénopathies cervicales et plus de 90% exprimaient des troubles du sommeil quelle que soit la phase de la maladie. Parmi les 193 dossiers analysés, 180, soit 93,26% des patients, étaient dépistés en phase 2, dont 32 en phase 2 précoce (cytorachie < 20/ml), et 148 en phase 2 avancée. Le trypanosome a été retrouvé au niveau ganglionnaire chez 151 patients, et au niveau du LCR chez 7 patients.

157 patients avaient un dossier exploitable concernant le traitement. 134 ont été traités par mélarsoprol et 23 par pentamidine.

Conclusion : Cette étude nous a permis d'évaluer la place d'un dépistage précoce dans la prise en charge de la THA. La THA est une maladie dont le pronostic vital dépend en partie de la précocité de la prise en charge thérapeutique. Par ailleurs, un dépistage précoce permet de limiter le traitement par le mélarsoprol qui reste une thérapeutique à toxicité importante.

18/4o — 4 décembre 2008 - 09:15 - 351

Microsporidiosis in solid organ transplant recipients: two *Enterocytozoon bieneusi* cases and review

F. Lanternier[3], D. Boutboul[3], J. Menotti[5], M.O. Chandesris[3], C. Sarfati[5], M.F. Mamzer Bruneel[4], Y. Calmus[1], F. Mechaï[3], J.P. Viard[3], M. Lecuit[3], M.E. Bougnoux[2], O. Lortholary[3]
[1]Université Paris Descartes, Service de Chirurgie Viscérale, Hôpital Cochin [2]Université Paris Descartes, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur, Service de Microbiologie [3]Université Paris Descartes, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales [4]Université Paris Descartes, Service de Transplantation rénale, Hôpital Necker-Enfants malades [5]Université Paris-7, Service de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

Les microsporidies ont été initialement décrites comme des microorganismes opportunistes responsables de diarrhée chez les patients atteints de SIDA. Ce sont actuellement des pathogènes émergents responsables de diarrhée sévère chez les patients transplantés d'organe. Deux entités cliniques principales peuvent être individualisées : les infections à *Enterocytozoon bieneusi* causant des diarrhées avec des options thérapeutiques limitées, et des infections à *Encephalitozoon intestinalis* qui peuvent être disséminées et qui répondent habituellement à un traitement par albendazole.

Nous décrivons ici deux cas de microsporidioses causées par *E. bieneusi* chez un patient transplanté rénal et un patient transplanté hépatique, respectivement, chez qui une efficacité clinique complète d'un traitement par fumagilline a été obtenue. L'éradication microbiologique à long terme a été affirmée par l'utilisation des méthodes classiques et monitorée en utilisant la RT PCR. Les deux patients ont présenté une thrombopénie induite par le traitement qui a été résolutive à l'arrêt. Nous avons également revu les 18 cas de microsporidioses chez des patients transplantés rapportés dans la littérature.

En cas de persistance de la diarrhée chez un transplanté d'organe solide, la microsporisiose doit donc être considérée. Dans notre expérience, le traitement des infections à *E. bieneusi* par 10 jours de fumagilline est adéquate pour l'éradiquer dans ce contexte.

19/4o — 4 décembre 2008 - 09:30 - 351

Diagnostic de l'aspergillose pulmonaire invasive (API) probable : valeur du dosage du galactomannane (GM) dans le LBA des patients immunodéprimés

A. Lebuisson, M.T. Baixench, J. Dupouy-Camet, A. Paugam
Parasitologie-Mycologie, Hôpital Cochin, Paris, France

Méthode : nous avons analysé, rétrospectivement, sur une période de 25 mois (01/01/2006-08/02/2008), les dosages de GM aspergillaire (Platelia Aspergillus, bioRad) de 355 LBA issus de 313 patients immunodéprimés.

Résultats : Selon les critères diagnostiques EORTC, nous avons diagnostiqué 16 cas d'API probables (tableau I) ; pas d'API prouvées, les API possibles n'ayant pas été considérées.

Tableau I : Résultats des examens diagnostiques réalisés sur le LBA des 16 cas d'API probables et nature de l'immunodépression de chaque patient.

Patient (n°)	Nature de l'immunodépression	Microscopie : Filament au direct	Détection GM (ng/ml) Seuil 0,5 ng/ml	Culture : Aspergillus fumigatus
1	Transplantation hépatique	Oui	Oui (17,95)	Oui
2	Transplantation hépatique	Oui	Oui (15,41)	Oui
3	Transplantation hépatique	Non	Non (0,25)	Non
4	Transplanté hépatique	Non	Non (0,24)	Non
5	Choc septique	Non	Non (0,12)	Non
6	Lupus	Non	Non (0,07)	Oui
7	Lupus	Oui	Oui (16,5)	Oui
8	Vascularite	Non	Oui (1,39)	Oui
9	Leucémie aiguë myéloïde	Non	Non (0,25)	Non
10	Leucémie aiguë myéloïde	Non	Oui (5,1)	Oui
11	Lymphome	Non	Oui (1,46)	Oui
12	Leucémie aigüe lymphoïde	Non	Oui (2,57)	Non
13	Lymphome	Non	Non (0,08)	Non
14	Lymphome	Non	Non (0,13)	Oui
15	Leucémie lymphoïde chronique	Non	Oui (0,88)	Non
16	Leucémie aiguë myéloïde	Oui	Oui (19,64)	Non

Discussion : Si l'on compare la sensibilité des examens réalisés sur le LBA le dosage du GM apparaît comme ayant la meilleure sensibilité diagnostique de l'API probable avec 56%, la sensibilité de la culture est de 50% et celle de l'examen microscopique de 25%. La combinaison GM et/ou culture permet d'augmenter la sensibilité jusqu'à 62,5%. La spécificité du dosage du GM pour le diagnostic d'API probable est de 97,6% (7/297). Il est à noter que parmi les 7 « faux » positifs détectés, un d'entre eux pourrait correspondre à une aspergillose possible.

Conclusion : Le dosage du GM dans le LBA des patients à risque d'API apparaît comme un test diagnostique nettement plus sensible que l'examen microscopique direct et son excellente spécificité permet d'envisager sa réalisation systématique chez les patients à risque.

20/4o — 4 décembre 2008 - 09:45 - 351

Prévalence des patients traités par antifongiques dans les établissements de santé, France, 2006

A. Fischer, J.M. Thiolet, S. Maugat, B. Coignard, Groupe ENP Raisin
DMI, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

Introduction : La consommation hospitalière d'antifongiques (AF) est peu connue. En 2001 et 2006, l'Institut de veille sanitaire a coordonné deux enquêtes nationales de prévalence (ENP) des infections nosocomiales (IN), qui ont aussi documenté les prescriptions hospitalières un jour donné d'anti-infectieux (AI) dont les AF. L'objectif de ce travail était de décrire la prévalence des patients traités par AF (PpAF) dans les établissements de santé (ES) en 2006 et de la comparer à 2001.

Méthodes : L'ENP a été proposée en juin par le Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des IN à tous les ES volontaires et était mise en œuvre dans chaque interrégion par les ES et les Centres de coordination de la lutte contre les IN. Elle recueillait de manière standardisée les caractéristiques des ES, des services et des patients, les traitements AI systémiques et leur indication (IN, infection communautaire, prophylaxie).

Résultats : En 2006, 2 337 ES ont participé à l'ENP incluant 358 353 patients ; 56 874 (15,9%) recevaient au moins un traitement AI, dont 2 766 (0,77%) un traitement AF pour un total de 2 850 molécules. La PpAF était la plus élevée en réanimation (6,2%) et dans les centres de lutte contre le cancer (4,6%). Les quatre molécules AF les plus prescrites étaient le fluconazole (60%), l'amphotéricine B (19%), le voriconazole (7%) et la caspofungine (5%). En comparaison des patients enquêtés, les patients traités par AF étaient plus souvent des hommes (52,8% vs 43,6%), immunodéprimés (46,5% vs 9,5%), avec un score de Mac Cabe de 2 (30% vs 7,9%) ou un dispositif invasif (63,4% vs 24%). Dans les 1 351 ES ayant participé aux 2 enquêtes, la PpAF, toutes indications confondues, est restée stable de 2001 à 2006 (0,85% vs 0,86%). Par indication, elle a diminué pour les infections communautaires (0,32% vs 0,28%) et les IN (0,37% vs 0,33%) mais a augmenté pour les prophylaxies (0,16% vs 0,19%) ; cette augmentation est observée dans presque toutes les catégories d'ES et concerne surtout les patients adultes (45-64 ans) et les services de court séjour.

Conclusion : La fréquence des traitements AF un jour donné dans les ES, estimée pour la première fois en France, reste faible (moins de 1% des patients hospitalisés) mais a augmenté depuis 2001 pour les prophylaxies.

21/4o — 4 décembre 2008 - 10:00 - 351

Suivi thérapeutique du voriconazole et de son principal métabolite dans une cohorte de patients traités

C. Eiden[2], D. Hillaire-Buys[2], M. Cociglio[2], P. Ceballos[1], N. Fegueux[1], H. Peyrière[2]
[1]Hématologie-Oncologie Adulte [2]Pharmacologie Médicale et Toxicologie, CHRU, Montpellier, France

Introduction : Le voriconazole (VRC) est un antifongique utilisé principalement dans le traitement des Aspergilloses invasives. Sa voie principale de métabolisation est une N-oxydation du noyau fluoropyrimidine qui conduit au métabolite principal (MVRC) via les cytochromes P450 2C9, 2C19 et 3A4. Des publications récentes montrent que la variabilité des concentrations plasmatiques en VRC peut-être responsable de perte d'efficacité thérapeutique (Cmin<1mg/L) ou de toxicité (Cmin>2mg/L).

Matériels et Méthodes : Le VRC et MVRC ont été dosés par HPLC grâce à une méthode récemment publiés[1]. Une analyse rétrospective a été réalisée entre 1/7/2006-1/7/2008.

Résultats : Quarante patients (22 hommes/18 femmes) d'âge moyen 46 ans (14-78), poids moyen 65 kg (34-120) ont bénéficié d'au moins un dosage plasmatique, soit au total 136 dosages (123 Cmin) en moyenne 3 dosages/patients (1-14). La majorité des patients (70%) étaient atteints d'une hémopathie maligne. L'indication du VRC était une aspergillose pulmonaire dans 60% des cas (25/40): prouvée 20%, probable 48% et possible 32%. La durée moyenne de traitement était de 109 jours (5-690) et la posologie moyenne de 467 mg/j (200-1200). La moyenne des Cmin VRC était de 1.72mg/L (0-8.35) avec 41% des dosages <1mg/L et 25% <0.5mg/L. La moyenne des Cmin MVRC était de 3.19mg/L (0.40-24) et l'index de métabolisation (ratio [VRC]/[MVRC]) moyen de 0.96. Un effet indésirable a été observé chez 11 patients (6 hépatiques, 3 visuels, 2 cutanées), dont 5 avec des Cmin VRC> 2mg/L et 7 avec des Cmin MVRC> 2mg/L. Une augmentation de posologie a été réalisée pour 10 patients (dosage<1mg/L et/ou situation clinique défavorable) et une diminution pour 8 patients (dosage>2mg/L (4), toxicité (3), inconnu (2)). Neuf patients sont décédés, 17 ont été considérés comme répondeurs, 8 en échecs, 3 ont changé d'antifongique (1 interaction, 1 souche résistante, 1effet indésirable) et 3 sont inconnues.

Discussion-Conclusion : Le suivi thérapeutique du VRC est indispensable à l'optimisation du traitement (toxicité). Le rôle du métabolisme dans la genèse des effets indésirables demande à être vérifié. La combinaison du ratio VRC/MVRC avec le polymorphisme du CYP2C19 pourrait nous permettre une meilleure caractérisation de la métabolisation individuelle du VRC et une meilleure relation phénotype/génotype.

1. Eiden C. et *al.* Chromatographia 2008, 67: 275-280.

22/4o — 4 décembre 2008 - 10:15 - 351

Therapeutic drug monitoring (TDM) of posaconazole (PSZ) in cystic fibrosis (CF) lung transplant (LTx) patients

M. Berge[3], R. Guillemain[1], S. Lefeuvre[3], P. Chevalier[1], V. Boussaud[1], C. Amrein[1], E. Dannaoui[2], E. Billaud[3]
[1]Cardiovascular Surgery [2]Mycology [3]Pharmacology, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Invasive aspergillosis represents a major complication of LTx particularly in case of cystic fibrosis. PSZ is indicated for the curative and prophylactic treatment of fungal infections using respectively 400mgx2/day and 200mgx3/day doses. PSZ absorption is saturable, therefore dose increase often needed in CF patients is limited. PSZ half life is long, resulting in long duration to steady state (SS).

Objective: To show that PSZ TDM in CFLTx allows 1- to achieve trough concentrations (C0) levels consistent with efficiency (> 0.5 mg/L) or at least detectable (> 0.2 mg/L) ; 2 –to manage the metabolic drug interactions with immunosuppressants.

Methods: Retrospective and prospective cohort of CFLTx under PSZ between 2006 and 2008 in our center. Longitudinal collection of both doses and C0 (at SS) data for PSZ and immunosuppressants. TDM by determination of plasma PSZ by LC assay with fluorimetric detection.

Results: CFLTx (n=17), aged 26 ± 8 years received curative (n = 2), preemptive (n = 14) or prophylactic (n = 1) PSZ treatment in combination with caspofungin in 8 patients. The mean treatment duration was 228 ± 197 days, [14-621]. The post Tx period corresponded to immediate (n=4), first year (n=5) or beyond (n=8). 220 PSZ C0 were analyzed. No post Tx time effect on PSZ exposure was observed. The mean PSZ C0 was 0.7 ± 0.5 mg/L, [0.2;1.6] using an average PSZ dose of 1084 ± 310mg/day, [733;1889], resulting in more than +35% of the recommended dose (p <0001). In 65% of patients, a dose adjustment was required on day 11 as an average. Such adjustment has been successful in 86% of cases. PSZ was withdrawn (n=8) because of 7 negative cultures and 1 intravenous route (voriconazole + caspofungin). No particular adverse event (gastrointestinal disorders, headache) has been recorded during PSZ courses. The immunosuppressant tacrolimus dose was tapered by a factor 3 during the coprescription with PSZ.

Conclusion: PSZ TDM was useful to achieve PSZ therapeutic C0 in CFLTx. Despite increase and split dose, no C0> 3mg/L has been observed. PSZ safety profile was good. Indeed, as a CYP3A4 metabolic inhibitor, a joint TDM of both PSZ and immunosuppressants appeared to be necessary to manage the immunosuppressants dose adjustment at the introduction or discontinuation of PSZ.

23/5o — 4 décembre 2008 - 09:00 - 352 A

Portage rhinopharyngé du pneumocoque chez les enfants souffrant d'une otite moyenne aiguë : effet du mode de garde sur le remplacement sérotypique induit par la vaccination

R. Cohen[2], C. Levy[5], E. Bonnet[3], A. Lécuyer[5], J. Bougle[1], B. Fritzell[3], E. Varon[4]
[1]AFPA [2]CHI, Créteil [3]Wyeth, La Défense [4]HEGP AP-HP, CNRP, Paris [5]ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France

Objectif : Depuis l'introduction du vaccin anti-pneumococcique conjugué (PCV7), le portage rhinopharyngé du pneumocoque a été profondément modifié : quasi-disparition des sérotypes vaccinaux (SV) et augmentation des sérotypes non vaccinaux (SNV). Le but de cette étude est d'analyser l'influence du mode de garde sur ce remplacement sérotypique chez les enfants souffrant d'une otite moyenne aiguë (OMA).

Méthodes : De 2001 à 2007 près de 700 prélèvements rhinopharyngés ont été recueillis chaque année chez des enfants âgés de 6 à 24 mois présentant une OMA. Les prélèvements ont été transportés au Centre National de Référence des Pneumocoques (Sp) pour isolement et sérotypage des Sp. Pour chaque patient, les caractéristiques démographiques, l'antibiothérapie durant les 3 mois avant l'inclusion, le statut vaccinal anti-pneumococcique et le mode de garde ont été enregistrés.

Résultats : De 2001 à 2003, 1236 patients ont été inclus, 13,3% étaient vaccinés par le PCV7. De 2005 à 2007, 1395 patients ont été inclus, 94,3% étaient vaccinés. Pour les enfants gardés en crèche, la prescription d'antibiotiques était plus importante, 55,7% versus 37,9% pour ceux gardés au domicile ou en nourrice (p<0,0001).

	Créche		Domicile / nourrice	
N (%)	2001-2003	2005-2007	2001-2003	2005-2007
IC 95%	N=402	N=520	N=834	N=875
Porteurs de Sp	299 (74.4)	349 (67.1)*	568 (68.1)	507 (57.9)*
	[69.9 ;78.4]	[63.0 ;71.0]	[64.9 ;71.2]	[54.6 ;61.2]
SV	192 (47.7)	62 (12)	344 (41.2)	122 (14)
	[42.9 ;52.6]	[9.4 ;15.0]	[38.0 ;44.6]	[11.8 ;16.4]
SNV	107 (26.7)	287 (55.2)*	224 (26.9)	385 (44)*
	[22.5 ;31.1]	[50.9 ;59.4]	[24.0 ;30.0]	[40.7 ;47.3]
Sérotype 19A	42 (10.5)	94 (18.1)*	55 (6..6)	62 (7.1)*

	[7.8 ;13.8]	[15.0 ;21.6]	[5.1 ;8.5]	[5.6 ;9.0]
Sérotype 6A	24 (6.0)	30 (5.8)	55 (6.6)	44 (5.0)
	[4 ;8.7]	[4.1 ;8.1]	[5.1 ;8.5]	[3.8 ;6.7]
Sensibilité à la peniciline				
Sensible	86 (21.4)	157 (30.2)**	213 (25.6)	312 (35.7)**
	[17.7 ;25.7]	[26.4 ;34.3]	[22.7 ;28.6]	[32.6 ;38.9]
Intermédiaire	149 (37.1)	177 (34.0)*	253 (30.4)	183 (20.9)*
	[32.5 ;41.9]	[30.1 ;38.2]	[27.3 ;33.5]	[18.3 ;23.7]
Résistant	64 (15.9)	15 (2.9)***	99 (11.9)	12 (1.4)***
	[12.7 ;19.8]	[1.8 ;4.7]	[9.8 ;14.2]	[0.8 ;2.4]

*p<0,001, **p=0,04, *** p=0,05 en comparant les modes de garde en 2005-2007

Conclusions : Depuis l'introduction du PCV7, le remplacement sérotypique est significativement plus important chez les enfants gardés en crèche, et est principalement dû au sérotype 19A.

24/5o — 4 décembre 2008 - 09:15 - 352 A

Réponse immunitaire contre la souche de *Neisseria meningitidis* B:14:P1.7,16 chez les enfants dieppois vaccinés par MenBVac® : données 15 mois après la 3e dose

F. Caron, V. Delbos, J.P.P. Leroy, G. Berthelot, V. Grassi, J.M. Alonso, M.K. Taha
CHU de Rouen, CHG de Dieppe, Institut Pasteur, France

Rationnel : Une vaccination par MenBVac® est engagée dans la zone de Dieppe en réponse à une hyperendémie d'infections à méningocoque B:14:P1.7,16. MenBVac® est un vaccin souche-spécifique jadis développé en Norvège face à une épidémie à B:15:P1.7,16. Le schéma recommandé prévoyait 3 doses à 6 semaines d'intervalle puis un rappel à un an (schéma "3+1" J0 S6 S12 M15). La vaccination a débuté chez les enfants de 1 à 5 ans de Dieppe. Les 3ème et 4ème doses ont dû être différées à M8 et M23 (retard de livraison). Pour les 3 premières doses, le vaccin avait été évalué sub-potent par les contrôles de qualité *ex vivo*. Aussi, une étude d'immunogénicité a été décidée.

Méthode : Echantillon tiré au sort parmi les 2835 vaccinés ; prélèvements réalisés juste avant la 3ème dose, 6 semaines après et 15 mois après (juste avant la 4ème) ; dosage de l'activité bactéricide du sérum contre B:14:P1.7,16 en utilisant du sérum humain comme source de complément (hSBA) ; évaluation du pourcentage d'enfants à titre hSBA ³ 4 (corrélé à la protection) ; objectif assigné de 80% 6 semaines après la 3ème dose et de 60% 1 an après.

Résultats :

Délai N % d'enfants à hSBA ≥ 4

7 mois après la 2ème dose 235 37% (IC 95% : 31% - 43%)

6 semaines après la 3ème dose 235 88% (IC 95% : 83% - 92%)

15 mois après la 3ème dose 193 56% (IC 95% : 49% - 63%)

Conclusion : Malgré le recours à des doses qualifiées de sub-potentes *ex* vivo, MenBVac® a induit chez les enfants dieppois une réponse immunitaire vis-à-vis de B:14:P1.7,16 satisfaisante et proche de celle jadis observée en Norvège vis-à-vis de B:15:P1.7,16 avec un schéma voisin. Ces résultats étayent l'évolution vers un schéma vaccinal "2+1" permettant d'apporter une protection vaccinale à un plus grand nombre de sujets dans le contexte d'une production limitée du MenBVac®.

Etude demandée et financée par la DGS.

25/5o — 4 décembre 2008 - 09:30 - 352 A

Comparaison de l'Intradermoréaction et du test Quantiferon-TB Gold® dans le dépistage de la tuberculose-infection en pédiatrie

M. Grare[1], J. Derelle[2], M. Dailloux[1], A. Lozniewski[1], C. Laurain[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service de Médecine Infantile 3 Secteur 3, CHU de Nancy, Nancy, France

Objet de l'étude : Le dépistage de la tuberculose infection (TI) repose actuellement sur l'intradermoréaction (IDR), test peu sensible et peu spécifique. De nouveaux tests permettent une détection de la TI par mesure de la réponse INFγ à des antigènes spécifiques (ESAT-6, CFP-10, TB 7.7). Notre étude a pour objectif d'évaluer le test QuantiFERON TB Gold® (QFT, Cellestis), en comparaison avec l'IDR en pédiatrie.

Méthode : 51 enfants ont été recrutés dans notre étude, lors de suspicion d'exposition à un sujet contact. Les examens suivants ont été pratiqués : examen clinique, radiographie pulmonaire, ± prélèvements à visée bactériologique, QFT puis IDR ; et les données familiales ont été recueillies.

Résultats : 60% des enfants étaient d'origine étrangère, dont 8% étaient hébergés en foyer. 42% étaient vaccinés, le statut vaccinal des autres cas étaient inconnu. Le patient contact était un membre de la famille dans 61% des cas. Dans 47% des cas, des signes d'appel clinique ont été notés : toux, perte de poids, fièvre ; sans confirmation radiologique (radiographie pulmonaire normale). Les prélèvements (aspiration bronchique, LBA, liquide pleural, tubage gastrique) étaient négatifs pour l'examen microscopique et la culture (sauf pour 2 enfants ayant développé une tuberculose maladie). L'IDR était positive dans 36% des cas contre 10% des tests QFT. La concordance entre l'IDR et le test QFT est excellente pour l'identification de la tuberculose infection (80% IDR-/QFT-, 100% IDR+/QFT+), à la fois chez les enfants vaccinés ou non vaccinés. Les tests discordants IDR+/QFT- (20%) sont observés dans la majorité des cas chez des enfants vaccinés. 14% des tests QFT étaient indéterminés. Diverses causes ont été investiguées : acheminement et traitement du prélèvement, présence de fibrine, âge, déficit ou immaturité immunitaire. 42% des enfants ont été mis sous traitement (Rimifon® + Rifadine®), sur données cliniques ou sur résultat de l'IDR.

Conclusion : Nos données confirment l'intérêt du test QFT Gold dans le diagnostic de la tuberculose infection chez les sujets contacts, et démontrent l'intérêt particulier de l'application de ce test en pédiatrie. Cependant, les données sont encore insuffisantes en pédiatrie et des études complémentaires sont encore à mener.

26/5o — 4 décembre 2008 - 09:45 - 352 A

Excrétion prolongée de souches de Poliovirus vaccinal chez les enfants vivant avec le VIH à Abidjan

N. Zinzendorf, J. Lathro, B.T. Agbessi, T. Ouassa, L. Kouakou, Y.G. Loukou
UFR Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université de Cocody, Abidjan, Côte d ivoire

Objet de l'étude : Vaccin vivant atténué, les souches de Poliovirus vaccinal (VPO) sont excrétées dans l'environnement et ainsi peuvent être transmises à des sujets non immunisés. Si l'évolution chez les sujets immunocompétents est une conséquence bénéfique, chez l'immunodéprimé la question est préoccupante à cause du risque d'excrétion prolongée du VPO. L'infection par le VIH avec l'immunodépression induite est considérée comme un facteur prédisposant de la persistance virale, source d'excrétion prolongée du VPO. Vu le taux de prévalence de l'infection par le VIH dans la population générale en Côte d'Ivoire, il nous a semblé opportun d'apprécier le niveau de circulation du Poliovirus vaccinal et la durée d'excrétion virale chez les personnes infectés par le VIH.

Méthodes : L'étude a été réalisée au service de pédiatrie du CHU de Yopougon à Abidjan sur une période de 5 mois (mai à septembre 2002). L'étude a concerné 70 enfants vivant avec le VIH-1, vaccinés par le VPO et sous ARV. Des échantillons de selles et de sang ont été obtenus suivant des protocoles bien établi et analysés selon les procédures recommandées par l'OMS.

Résultats obtenus : Au total, 70 échantillons de sang et 310 échantillons de selles ont été recueillis. Plus de la moitié des sujets (57,15%) présentaient un déficit immunitaire modéré. Aucune souche de Poliovirus n'a été isolée dans la population d'étude. Par contre 6 sujets ont excrété des Entérovirus non Poliovirus (ENP), dont 5 sujets ont excrété des ENP pendant un mois (juin) et 1 enfant a excrété des ENP pendant trois mois (juin, juillet et août).

Conclusion : Les résultats obtenus donnent une assurance quant à l'absence d'implication de l'infection à VIH sur l'excrétion persistante du Poliovirus vaccinal chez les enfants vivant avec le VIH à Abidjan. C'est le lieu d'encourager la vaccination par le VPO chez les enfants conformément au recommandations de l'OMS.

27/5o — 4 décembre 2008 - 10:00 - 352 A

Ages effectifs de la vaccination ROR en France : conformité par rapport aux recommandations en vigueur depuis juillet 2005

V. Gajdos[2-5-4], C. Sana[3], E. Caulin[3], et le Groupe D'investigateurs[1]
[1]Urgences Pédiatriques [2]Pédiatrie, Hôpital Antoine Béclère, Clamart [3]Département médical, Sanofi Pasteur MSD, Lyon [4]Inserm U822 [5]Université Paris Sud, Paris, France

Objectifs : Estimer les âges d'administration de la 1ière et de la 2ième dose de vaccin ROR chez des enfants susceptibles de se voir appliquer les recommandations en vigueur depuis juillet 2005 en France et les comparer à ceux recommandés.

Méthodes : Etude observationnelle, transversale, multicentrique, menée dans 13 services d'urgences pédiatriques français. Etaient inclus les enfants nés après le 01-10-2004, ayant reçu au moins un vaccin ROR. Une copie de la page de vaccination du carnet de santé était réalisée. Les enfants étaient analysés en 2 groupes : ceux relevant d'un schéma vaccinal classique (1ière vaccination à 12 mois en cas d'entrée en collectivité après l'âge de 12 mois ou en l'absence de garde en collectivité)(groupe I) et ceux supposés avoir reçu une vaccination anticipée, dès l'âge de 9 mois, pour une entrée en collectivité avant 12 mois (groupe II).

Résultats : L'analyse a porté sur 663 enfants, inclus entre oct. et déc. 2007, ayant reçu une dose de ROR, dont 218 une seconde dose. Pour les enfants relevant d'un schéma classique (n = 459), l'âge médian lors de la 1ière et de la 2ième dose était respectivement de 13 [IQ:12-14] et 24 mois [IQ:20-26] ; pour ceux du groupe II (n = 204), ils étaient respectivement de 12 [IQ:12-14] et 25 mois [IQ:21-26]. L'âge de la vaccination était conforme aux recommandations pour la 1ière et la 2ième dose pour respectivement 32,2% et 51,2% des enfants du groupe I et 19,6% et 4% du groupe II. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative du pourcentage de conformité par rapport aux recommandations en fonction de la spécialité du médecin vaccinateur (médecin généraliste, pédiatre ou vaccination en PMI). L'âge moyen des différentes vaccinations se rapprochait de façon statistiquement significative des recommandations au cours du temps pour les deux groupes (p < 0,01).

Conclusion : On note une amélioration de l'adéquation aux recommandations d'administration des vaccins ROR en France au cours du temps.

*F. Perreaux (Clamart), F. Dubos (Lille), M.P. Jaby-Sergent (Colombes), Y. Gillet (Lyon), G. Picherot (Nantes), E. Laporte (Toulouse), S. Biscardi (Créteil), D. Pop-Jora (Paris), F. Moulin (Paris), P. Brosset (Limoges), M.A. Dommergues (Versailles), H. Haas (Nice), A.M. Teychene (Bondy).

28/5o — 4 décembre 2008 - 10:15 - 352 A

Evaluation de la charge de travail induite aux urgences pédiatriques par les gastro-entérites aigues en période épidémique

H. Haas, E. Huguon, et le Groupe D'investigateurs
Urgences Pédiatriques, Hôpital L'Archet, Nice, France

Objectifs : Evaluer la charge de travail médical (TM) et paramédical (TP) induite par les gastro-entérites aiguës (GEA) en période épidémique. Comparer cette charge de travail en fonction du type de GEA (rotavirus ou non).

Méthodes : Etude observationnelle, prospective, multicentrique, menée dans 17 services d'urgences pédiatriques français. Le diagnostic de GEA à rotavirus (GEAR) était réalisé par des Tests de Diagnostic Rapide (TDR) à rotavirus.

Résultats : 430 enfants présentant une GEA ont été inclus entre février et mai 2008. La médiane de l'âge était de 13 mois. Lors de l'admission aux urgences, 70% des enfants avaient déjà consulté en ville ; 70% d'entre eux avaient eu une prescription de soluté de réhydratation orale (SRO). La médiane du temps d'attente (TA) aux urgences avant la prise en charge était de 18 min. La médiane du TM était de 30 minutes et celle du TP de 30 minutes également. 92% des enfants ont été réhydratés aux urgences principalement par l'utilisation de SRO (73%). La voie parentérale représentait 26% (dont près de 10% mixte). 26% des enfants sont retournés au domicile au décours de la consultation aux urgences; 37% après mise en observation et 37% ont été hospitalisés. Parmi les enfants ayant une prescription de sortie (n=255), 94% avaient au moins une prescription de SRO. La durée moyenne d'arrêt de travail d'un des parents était de 2,9 jours.

Pour les enfants pour lesquels le TDR a été réalisé (n=191), l'étiologie à rotavirus influençait la symptomatologie (vomissements (p<0,001), signes de déshydratation (p<0,0001)…). Les pourcentages de SRO prescrits en ville (73% vs 49%) et à la sortie des urgences (95% vs 90%) étaient statistiquement plus importants chez les enfants présentant une GEAR confirmée (n=127). Il y avait une différence statistiquement significative de l'heure d'arrivée aux urgences mais non des temps de prise en charge.

Conclusion : Si le temps de prise en charge aux urgences de l'ensemble des GEA n'est pas influencé par l'étiologie, celles-ci peuvent poser des problèmes d'organisation en période épidémique : les médianes de temps de prise en charge médical et paramédical étant de 30 minutes chacune et 2/3 des enfants ayant nécessité soit une hospitalisation soit une mise en observation aux urgences.

29/7o — 4 décembre 2008 - 09:00 - 353

Antibiothérapies de 40 jours pour toutes les infections ostéo-articulaires (IOA) : évaluation à 3 ans

R. Farhad[3], V. Mondain[3], C. Trojani[2], M. Vassallo[3], F. Gérard-Pipot[1], P. Dellamonica[3], P.M. Roger[3]
[1]Bactériologie [2]Orthopédie [3]Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

Nous avons précédemment observé dans notre cohorte de patients présentant une IOA une relation entre la durée de l'antibiothérapie et l'incidence des effets secondaires médicamenteux. Depuis 2005, compte tenu que la durée optimale de l'antibiothérapie des IOA n'est pas clairement établie, tous les patients bénéficient de la même durée d'antibiothérapie, soit 6 semaines. Notre objectif est de rapporté le taux de succès thérapeutique.

Méthodes : Nous entretenons un tableau de bord d'activité hospitalière depuis juillet 2005 permettant de répertorier toutes les pathologies observées. Nous avons inclus tous les patients ayant présentés une IOA, quelque soit le mécanisme de survenue et les agents pathogènes en cause. Les critères d'inclusion étaient d'avoir bénéficié d'une antibiothérapie de 6 semaines et d'avoir un recul clinique après antibiothérapie d'au moins 6 mois. Une infection aiguë était définie comme évoluant depuis moins d'un mois. La documentation microbiologique reposait systématiquement sur des prélèvements profonds.

Résultats : Cent huit patients étaient hospitalisés de juillet 2005 à juillet 2008. Vingt et un patients (19%) étaient exclus du fait d'une antibiothérapie trop courte (n = 6), d'une antibiothérapie trop longue (n = 7) ou d'un recul clinique inférieur à 6 mois (n = 8). Les 87 patients étudiés avaient un âge moyen de 58±20 ans, avec un sex-ratio H/F de 1,72. Il s'agissait de 37 IOA survenant après implantation de matériel prothétique (43%, dont 19 aiguës), de 36 IOA sans matériel dont 13 spondylodiscites (41%, dont 24 aiguës) et 14 arthrites (16%, dont 13 aiguës). Une documentation microbiologique était obtenue chez 83 patients (95%), 11 infections étant polymicrobiennes (13%). Les 5 germes les plus représentés dans les infections monomicrobiennes étaient les staphylocoques oxa-S (n = 33, 38%), les streptocoques (n = 12, 14%), les entérobactéries (n = 10, 11%), *Pseudomonas aeruginosa* (n = 7, 8%) et les staphylocoques oxa-R (n = 7). La durée d'antibiothérapie était de 42±0.3 jours et le recul clinique de 21±9 mois. Le taux de succès thérapeutique était de 93% soit 81 patients guéris, 5 patients présentant une récidive clinique et/ou microbiologique et 1 patient étant perdu de vue. Les 5 patients en échec avaient comme caractéristique de ne pas avoir pu bénéficier d'un traitement chirurgical optimal.

Conclusion : Une antibiothérapie de 6 semaines apparaît suffisante chez la plupart des patients présentant une IOA, quelque soit le mécanisme de survenue et/ou les germes en cause.

30/7o — 4 décembre 2008 - 09:15 - 353

Activité hospitalière liée aux infections ostéo-articulaires (IOA) en Rhône-Alpes Auvergne. Contribution du PMSI à la création d'un Centre inter-régional de coordination pour la prise en charge des IOA à Lyon

S. Couray-Targe[1], C. Chidiac[2], D. Peyramond[2], I. Banterla-Dadon[3]
[1]Département de Conseil en Stratégie [2]Maladies Infectieuses et Tropicales [3]Pôle Information Médicale Recherche, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

Objectif : Développer un algorithme robuste permettant de repérer et d'analyser les prises en charges hospitalières pour IOA et les filières de patients concernés pour la constitution d'un dossier de candidature pour les Centres de Référence de Prise en charge des IOA à partir de la base Inter Régionale PMSI 2006.

Méthodes : La segmentation a consisté tout d'abord à définir des segments d'activité mutuellement exhaustifs au sein de la discipline porteurs chacun d'une cohérence clinique et d'orientation spécifique, puis à quantifier les volumes de séjours dans la base inter régionale PMSI 2006 de Rhône Alpes et Auvergne. En fonction de la cohérence des résultats et des différents échanges entre les acteurs du projet, un ajustement des segments choisis et des variables sélectionnées a alors été réalisé pour obtenir des versions successives et améliorées de l'algorithme. Arthrites infectieuses (M000, M001, M002, M008, M009, M010, M012, M013, M016, M018), Spondylodiscites et spondylites non tuberculeuses, (M460, M461, M462, M463, M464, M465, M492, M493), Ostéomyélites chroniques (M863, M864, M865, M866, M868, M869), Infections ostéo-articulaires tuberculeuses (M900, M011, M490), Infections sur matériels/prothèses orthopédiques (T846, T847, T848), Pied diabétique (M8607, M8617, M8627, M8637, M8647, M8657, M8667, M8687, M8697, L97).

Résultats : L'analyse régressive a retenu 10 segments d'activité.

	Etablissements en Rhône Alpes Auvergne					Totaux
Segmentations IOA	**Lyon**	**St Etienne**	**Grenoble**	**Clermont Ferrand**	**Annecy**	
Arthrites infectieuses	228	35	64	124	37	**488**
Spondylodiscites et spondylites non tuberculeuses	130	18	25	21	24	**218**
Ostéomyélites aigues	56	11	2	199	5	**273**
Ostéomyélites chroniques	898	25	102	28	92	**1145**
IOA tuberculeuses	32	4	3	1	0	**40**
Ostéite, périostite des mâchoires	269	3	17	12	0	**301**
Pied diabétique*	290	74	16	63	22	**465**
TOTAL	**1903**	**170**	**229**	**448**	**180**	**2930**

* valeurs élevées liés probablement à un codage erroné pour les pieds diabétiques

Conclusions : Bien que sensible à la qualité du recueil et du codage des données PMSI, cet outil de mesure reproductible dans le temps et dans l'espace a permis de réaliser une cartographie interrégionale des activités hospitalières liées aux IOA. Sa contribution peut ainsi être très utile à l'organisation, au suivi des activités et à l'estimation des potentiels de développement des centres de référence.

31/7o — 4 décembre 2008 - 09:30 - 353

Cathéters à chambre implantable (CCI) : motif d'ablation et étude épidémiologique des complications

N. Kassis[3], F. Dermoune[3], L. Mihaila[3], E. Goldschmidt[2], C. Boutelier[1], C. Sengelin[3], E. Dussaix[3]
[1]Coordination générale des soins [2]Département de cancérologie [3]Microbiologie, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

Objectifs : Evaluer les motifs d'ablation, la fréquence des complications des CCI et les critères de diagnostic cliniques et microbiologiques d'infection.

Méthodologie : Analyse rétrospective sur une période de 1 an (2007) des dossiers cliniques et microbiologiques des patients traités dans notre hôpital et dont la CCI a été retirée. L'infection sur CCI a été établie à partir de données cliniques et/ ou microbiologiques : culture positive d'au moins un des éléments du CCI suivant : chambre, liquide de rinçage, extrémité du cathéter avec un seuil à 10^3 UFC/ml ou bactériémie liée au CCI.

Résultats : 158 ablations de CCI ont été analysées, représentant 152 patients (âge=60 ans ± 12 ans. Dans 99.3% ces CCI ont été posées pour chimiothérapie. 119 CCI (75%) ont eu une pose documentée représentant 55827 jours de cathétérisme (JKT) ; 64 (40.5%) CCI ont été enlevés pour infection, 90 (58.4%) pour une cause non infectieuse (fin de traitement 58 (36.7%), obstruction 6 (3.8%), défection 14 (8.9%), remplacement pour CCI double 12 (7.6%), thrombose 4 (3%). La densité d'incidence (DI) des infections (calculée pour 119 CCI) est de 0.82/1000JKT. Parmi les 64 CCI enlevés pour infection, 56 l'ont été pour une « infection vraie » : 51/56 (91%) patients avaient au moins un critère microbiologique d'infection, 36 ont eu une culture

positive pour au moins un élément de la chambre (seuil 10^3 UFC/ml), associées dans 22 cas à une bactériémie et 15 ont eu une bactériémie liée au CCI avec culture de tous les éléments du CCI négatifs. Les principales bactéries responsables sont : staphylocoque à coagulase négative n=20 (35.7%), entérobactéries n=18-(32%), *Pseudomonas aeruginosa* n=7 (12.5%), *S.aureus* n=7 (12.5%).

Conclusion : L'infection représente 40% des motifs d'ablation. Cette infection est avérée dans 35.4% des cas. La DI est de 0.82/1000JKT. Les staphylocoques et les entérobactéries sont les principales espèces responsables d'infection. Une concertation pluridisciplinaire pourrait contribuer à améliorer la décision d'ablation des CCI. Le taux d'infection sur CCI reste cependant important dans notre hôpital. Des formations sur la manipulation des CCI sont en cours. Nous avons mis en place un suivi prospectif des ablations des CCI.

32/7o — 4 décembre 2008 - 09:45 - 353

Evaluation du risque infectieux lié aux cathéters sous-cutanés (CSC) en gériatrie

A.M. Fontenoy[1], C. Leprince[1], S. Corvec[1-4], P. Cornu[1], C. Couturier[2], B. Léquippe[2], A.C. Guille Des Buttes[1], A. Lepelletier[3], V. Ould Aoudia[2], D. Lepelletier[1-4]
[1]Bactériologie-Hygiène [2]Gériatrie [3]Pharmacie, CHU de Nantes [4]Université de Nantes, Thérapeutiques Cliniques et Expérimentales des Infections, EA3826, UFR de Médecine, Nantes, France

Objet de l'étude : La pose d'un CSC est un acte de soin très fréquent en gériatrie dans notre hôpital dont le risque infectieux est mal évalué. Le signalement d'un abcès abdominal à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline survenu en 2006, nous avait incité à surveiller les infections liées aux CSC dans le pôle gériatrique. L'objectif de l'étude était de mesurer le taux d'infections liées aux CSC et de décrire leurs caractéristiques diagnostique et microbiologique.

Méthodes : (1) réalisation de deux enquêtes transversales un jour donné (2006 et 2008) sur l'ensemble des 670 lits des cinq établissements du pôle gériatrique du CHU de Nantes, (2) signalement de tout évènement indésirable lié au CSC entre janvier 2006 et juillet 2008, (3) évaluation du risque infectieux par interrogatoire du personnel infirmier (IDE) (2006 et 2008).

Résultats : Le taux de prévalence des patients porteurs d'un CSC était de 13,1% (86/657) en 2006 et de 12,3% (84/655) en 2008. Aucune infection liée aux CSC n'a été observée lors des deux enquêtes. Le taux de signes locaux d'inflammation (lymphangite) observés était de 5% en 2006 et de 4% en 2008. Parmi les 9 signalements d'événements indésirables (EI) adressés à l'équipe d'hygiène hospitalière sur une période de 30 mois, 2 étaient des abcès et 7 des lymphangites. Les abcès ont nécessité une incision chirurgicale, révélant la présence de souches de *S.aureus*, l'une sensible et l'autre résistante à la méticilline. Une des lymphangites succédait à la perfusion d'un aminoside. La proportion d'IDE déclarant avoir déjà observé une infection liée aux CSC ne variait pas sur les 2 périodes (49%). Pour les lymphangites, cette proportion augmentait de 20% en 2006 à 90% en 2008.

Conclusion : Le risque infectieux lié aux CSC est réel mais rare. L'augmentation de la proportion d'IDE déclarant observer des EI, essentiellement des lymphangites, est probablement liée à la sensibilisation accrue du personnel soignant. Les EI peuvent être liés au type de molécules perfusées. L'évaluation des pratiques professionnelles, réalisée parallèlement en 2006 et 2008, associant des audits de pose et d'entretien des CSC, et la mise en place d'une fiche de traçabilité, a contribué au signalement et à la prévention des infections liées aux CSC.

33/7o — 4 décembre 2008 - 10:00 - 353

Relation entre prévalence des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline et indicateurs de lutte contre les infections nosocomiales. Une analyse multiniveau

L. Grammatico-Guillon[1-2], J.M. Thiolet[1], P. Bernillon[1], B. Coignard[1], B. Khosnood[3], J.C. Desenclos[1]
[1]Département des maladies infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice [2]Université François Rabelais, Tours [3]Unité Inserm 149, Villejuif, France

Objectif : Tester la relation entre les indicateurs de lutte contre les infections nosocomiales (LIN) et la prévalence du *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) dans les établissements de santé (ES) français.

Méthodes : Les données de l'enquête nationale de prévalence (ENP) des infections nosocomiales 2006 ont été appariées avec celles du tableau de bord de la LIN 2005. L'« infection à SARM acquise dans l'ES », variable dépendante, est issue de l'ENP. Les données de l'Indicateur Composite des Activités de Lutte contre les Infections Nosocomiales (ICALIN) et de l'indicateur de consommation de solutions hydro-alcooliques (ICSHA) ont été extraites de la base du tableau de bord de la LIN. Du fait d'une prévalence à SARM au niveau des ES faible et fréquemment nulle, l'analyse a été menée sur les ES ayant inclus plus de 300 patients. Nous avons réalisé un modèle logistique multiniveau afin de prendre en compte à la fois les variables individuelles (age sexe…) et celles au niveau des ES (ICALIN, ICSHA…).

Résultats : La population d'étude (ES ≥300 patients) incluait 202 ES avec 128 631 patients (0,34% d'infectés à SARM). L'ICSHA moyen était de 7,8 litres pour 1000 journées d'hospitalisation (médiane 6,1, étendue : 0- 33) et l'ICALIN moyen de 92 sur 100 (médiane 94,5, étendue : 67-100). Dans les analyses multiniveaux, l'ICALIN était associé à une baisse de la prévalence de l'infection à SARM (OR = 0,97; IC95% : 0,94-0,99). Aucune association n'était retrouvée pour l'ISCHA. Les covariables du modèle final associées à l'infection à SARM étaient le sexe masculin, une intervention chirurgicale récente, le port d'un cathéter ou d'une sonde urinaire, le score de Mac Cabe différent de 0, l'hospitalisation en secteur public, et en soins de suite et rééducation ou soins longue durée.

Discussion : Cette étude a montré qu'au niveau des ES une association existait entre la prévalence des infections nosocomiales à SARM acquise et le score ICALIN; mais pas avec l'indicateur ICSHA. Le choix d'un modèle multiniveau a permis de prendre en compte la non-indépendance des observations et de réduire le biais écologique. La variable à expliquer, de type prévalence, est moins appropriée qu'un taux d'incidence ce qui peut expliquer, en partie, ces résultats limités.

42/10o — 4 décembre 2008 - 11:00 - 341

Apport de la PCR en temps réel (PCR-TR) au diagnostic des méningites bactériennes communautaires de l'adulte et de l'enfant

G. Roth, P. Gautier, P.Y. Donnio
Service de Bactériologie-Virologie et Hygiène Hospitalière, CHU de Rennes, France

L'engagement du pronostic vital dans les méningites bactériennes communautaires impose l'instauration d'une antibiothérapie la plus précoce possible. Celle-ci réduit la mortalité mais accroît les difficultés du diagnostic bactériologique en supprimant la possibilité de cultiver l'agent pathogène. Les méthodes de diagnostic moléculaire prennent alors tout leur intérêt, permettant l'identification rapide de la bactérie responsable, même non cultivable.

La PCR-TR constitue ainsi une avancée importante pour un diagnostic rapide, cependant peu d'études ont évalué les performances de cette méthode appliquée aux méningites bactériennes. Nous rapportons ici notre expérience en analysant rétrospectivement les résultats de PCR-TR pratiquée sur les LCR de 168 patients admis au CHU de Rennes entre janvier 2004 et juin 2006 (nouveaux-nés exclus). Ces cas ont été classés en 3 groupes : 22 méningites bactériennes communautaires certaines (groupe 1), 132 patients sans méningites bactériennes (groupe 2) et un dernier groupe (groupe 3) rassemblant 11 méningites purulentes sans diagnostic bactériologique et 3 purpuras fébriles sans méningites.

La détection concernait *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* et *Listeria monocytogenes* par amplification d'une séquence cible reconnue en temps réel par l'hybridation d'une sonde spécifique et ceci séparément pour chacun des 4 pathogènes. La PCR-TR a permis d'identifier un pathogène dans 19 des 22 cas du groupe 1 et pour 1 cas parmi les 132 sans méningites bactériennes. Les 3 cas de méningites non identifiées étaient dues respectivement à *Haemophilus influenzae*, *Eikenella corrodens* + *Streptococcus anginosus* et *Streptococcus agalactiae*. Les performances respectives de la PCR-TR, de l'examen direct et de la culture sont les suivantes :

	Sensibilité	Spécificité	VPP	VPN
PCR-TR	86	99	95	98
Examen direct	65	99	93	95
Culture	75	100	100	96

Pour le groupe 3 la PCR-TR a permis de documenter 4 des 11 cas de méningites puriformes ainsi que les 3 cas de purpura sans syndrome méningé.

La PCR-TR apparaît comme une méthode adaptée et performante pour le diagnostic rapide des méningites bactériennes communautaires. Les évolutions récentes de cette technologie nous permettent d'envisager raisonnablement un délai de réponse inférieur à 2 heures après la ponction lombaire.

43/10o — 4 décembre 2008 - 11:15 - 341

Quantification par PCR en temps réel de *Staphylococcus aureus* et de *Pseudomonas aeruginosa* dans les prélèvements respiratoires protégés

C. Deloizy, N. Launay, J.M. Le Glaunec, P. Legrand, V. Cattoir
Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Henri Mondor, Créteil, France

Introduction : En 2006, Staphylococcus aureus (SA) et Pseudomonas aeruginosa (PA) étaient responsables respectivement de 19% et 10% des infections nosocomiales (IN) en France. Les pneumopathies acquises sous ventilation représentent quant à elles la 2ème cause d'IN mais aussi la 1ère cause en terme de mortalité. Le diagnostic classique de ces infections repose sur l'analyse de prélèvements respiratoires protégés avec la réalisation d'un examen direct (de sensibilité médiocre < 50%) et d'une culture quantitative (nécessitant au moins 24 h).

Objectif : Le but de ce travail a été de développer une méthode sensible et rapide de PCR en temps réel pour la quantification de l'ADN de S.aureus et de P.aeruginosa directement à partir du prélèvement.

Méthodes : La mise au point de la méthode a été effectuée sur 31 prélèvements positifs ou non à SA et/ou PA. Pour la détection par PCR, des cibles spécifiques ont été choisies pour SA (gène nuc) et PA (gène ecfX). Pour la quantification en temps réel sur LightCycler® (Roche Diagnostics), une gamme d'étalonnage externe a été obtenue après clonage. L'ADN bactérien à partir des échantillons biologiques a été extrait à l'aide d'une méthode rapide de choc thermique. En parallèle, une numération par culture quantitative a été entreprise.

Résultats : Dans les conditions optimales de PCR, la quantification était linéaire de 101 à 1010 copies et les limites de détection étaient de 5.101 copies pour SA et de 3.101 pour PA. Pour les prélèvements respiratoires positifs en culture (> 103 UFC/mL) à SA et/ou PA, la PCR était positive dans tous les cas avec des résultats concordants (< 1 Log10) dans la majorité des cas pour SA (5/8) et supérieurs d'au moins 1 Log10 pour PA (6/8). Les prélèvements stériles ou positifs à d'autres germes étaient négatifs par PCR dans la majorité des cas (3/5 et 5/5, respectivement).

Conclusion : Les résultats obtenus dans cette étude sont prometteurs montrant une sensibilité de 100% et une bonne corrélation entre la culture et la PCR, notamment pour SA. La quantification souvent plus élevée de PA par PCR peut être expliquée par une agrégation des germes ou une antibiothérapie. L'impact clinique de la méthode dans la prise en charge thérapeutique des patients reste à évaluer.

44/10o — 4 décembre 2008 - 11:30 - 341

Intérêt et limites de l'identification moléculaire en pratique microbiologique courante

A. Goubard, V. Cattoir, J.M. Le Glaunec, N. Launay, C.J. Soussy, P. Legrand
Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Henri Mondor, Créteil, France

Introduction : Même si les méthodes phénotypiques permettent d'identifier la majorité des isolats cliniques, l'identification de certaines espèces reste souvent délicate. Or, l'identification précise des bactéries pathogènes est primordiale pour le choix de l'antibiothérapie ainsi que pour le diagnostic étiologique des infections. Les techniques de biologie moléculaire constituent alors une alternative fiable et précise pour l'identification bactérienne.

Objectifs : Le but de ce travail a été d'évaluer l'intérêt et les limites de l'identification bactérienne par biologie moléculaire dans un laboratoire de microbiologie clinique.

Méthodes : L'identification génotypique a été réalisée par PCR-séquençage des différents gènes cibles (*rrs*, *sodA*, *rpoB*) en fonction du groupe bactérien suspecté. Sur une période de 4 ans, 1150 isolats cliniques (37% provenant d'hémocultures) ont fait l'objet d'une identification moléculaire. La plupart des souches testées n'étaient pas identifiables de façon précise par les techniques phénotypiques alors que d'autres correspondaient à des germes rares dont une confirmation de l'espèce était désirée. Les résultats phénotypiques et génotypiques ont ensuite été comparés afin d'évaluer la pertinence du recours à l'outil moléculaire.

Résultats : Sur les 1150 souches testées, 1048 (91,1%) ont été identifiées au niveau de l'espèce par PCR. L'identification précise a été le plus souvent obtenue avec les staphylocoques et les streptocoques (*sodA*) alors pour les entérobactéries l'identification au niveau de l'espèce n'a été possible que dans 61,8% des cas (*rrs*). A noter que seules 8 souches (0,7%) n'ont donné aucun résultat par PCR. La comparaison des techniques phénotypiques et génotypiques a montré une concordance des résultats d'identification au niveau de l'espèce, du genre et du groupe bactérien dans 20,7, 55 et 17,6% des cas, respectivement. Enfin 6,7% des résultats étaient totalement discordants.

Conclusion : Les techniques de biologie moléculaire ont permis d'identifier précisément plus de 90% des souches non identifiables au niveau de l'espèce avec les méthodes phénotypiques. Il s'agit donc d'un outil fiable d'identification bactérienne dont l'utilisation, en raison de son surcoût, est à réserver aux prélèvements importants.

45/10o — 4 décembre 2008 - 11:45 - 341

Identification des bactéries par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF

N. Blondiaux, R.J. Courcol
Pôle de Microbiologie, CHU de Lille, France

Objet de l'étude : L'identification des bactéries est une étape importante pour la prise en charge des maladies infectieuses. A côté des méthodes conventionnelles automatisées, la spectrométrie de masse de type Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight (SM-MALDI-TOF) est une technique qui permet l'identification des bactéries par caractérisation des protéines associées aux membranes. Ces protéines sont les mieux conservées et offrent une typicité d'espèce avec en plus une masse moléculaire relativement faible.

Méthodes : L'identification des bactéries a été réalisée par la spectrométrie de masse (Ultraflex II, Bruker Daltonics, Wissembourg). 429 bactéries représentant 194 espèces issues de la souchothèque du laboratoire ont été étudiées. L'acquisition du spectre de masse, l'identification et la classification des souches ont été réalisées grâce au logiciel Biotyper 2.0 (Bruker Daltonics) qui permet trois approches différentes pour l'identification: la banque de référence MSP (Main Spectra Projection), l'analyse en composante principale (PCA) pour la classification des bactéries, l'indice de corrélation des composants (CCI) pour l'analyse des relations entre les spectres. L'identification des bactéries a été faite à partir de bactéries entières sans extraction préalable.

Résultats : L'identification des bactéries au niveau du genre et de l'espèce a été de 91%. Une discordance majeure a été observée avec le genre Shigella qui a toujours été identifiée Escherichia coli. L'espèce Salmonella enterica est correctement identifiée mais les sérotypes proposés ne peuvent être retenus. Les paramètres expérimentaux intervenants dans la méthode de spectrométrie de masse (milieux de culture, durée d'incubation des cultures, dépôts des bactéries, concentration de la matrice, temps de séchage des bactéries avant le dépôt de la matrice) seront discutés ainsi que sa praticabilité en routine journalière.

Conclusion : Les résultats obtenus montrent les bonnes performances de la spectrométrie de masse pour l'identification des bactéries.

46/10o — 4 décembre 2008 - 12:00 - 341

Peut-on utiliser la spectrométrie MALDI-TOF pour l'identification en bactériologie clinique ?

W. Moussaoui[2], A. Birgy[2], G. Prévost[2], P. Riegel[2], J.M. Scheftel[2], M. Kostzreva[1], Y. Piémont[2]
[1]Brucker Daltonics, Allemagne [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

Annoncée depuis plusieurs années, l'identification bactérienne via les protéines totales grâce à la spectrométrie de masse MALDI-TOF est une approche séduisante par son faible coût, sa rapidité et son aspect applicable à un grand nombre d'espèces bactériennes. Les protéines ribosomales et certaines protéines membranaires sont les plus abondantes. Elles génèrent ainsi des spectres de masse dont les caractéristiques ont une valeur d'identification taxonomique potentielle. Plusieurs travaux ont déjà démontré sa remarquable capacité d'identification pour certains genres bactériens.

Nous avons testé cette approche en évaluant les performances d'un équipement et d'un logiciel commercial (Microflex®, BioTyper®, Bruker Daltonics) dans le cadre de l'activité de routine d'un laboratoire hospitalier (CHU Strasbourg). La banque de données est composée de 3030 entrées. La comparaison des spectres générés avec la base de données permet d'obtenir un score de similarité (log score). Nous avons ainsi étudié 531 bactéries de tous genres (hors mycobactéries) isolées de tout type d'échantillon d'origine humaine sur une période de 4 semaines consécutives. Ces bactéries ont été identifiées parallèlement par les techniques phénotypiques usuelles (galeries API® ou cartes Vitek2®, bioMérieux). Nous avons montré préalablement que la qualité d'identification à partir d'isolement datant de 24H ou 48h était très peu modifiée et qu'elle ne dépendait pas de la nature des milieux de culture. Le temps nécessaire pour identification par MALDI-TOF de 48 échantillons est d'environ 2 heures, comprenant le temps de préparation des extraits protéiques.

Les résultats montrent une concordance avec l'identification classique pour 87% des souches. Dans le cas où les anaérobies (64 souches) sont exclues, la concordance est de 93%. Les entérobactéries, les entérocoques et les staphylocoques ont plus de 95% de concordance alors que les streptocoques et *Pseudomonas* et apparentés ont une concordance de 82% et 86% respectivement. Seules 57% des souches de *S. maltophilia* sont correctement identifiées. Les anaérobies présentent une concordance insuffisante (43%) notamment pour le genre *Clostridium*. En ne retenant que les identifications avec un score de similarité supérieure à 2 (87% des 531 souches), la concordance est de 95%. Elle est de 97% si on ne considère que les souches aérobies (90% des 467 souches).

En conclusion, avec une implémentation dans la base de données que l'on peut juger rapide, l'utilisation en routine du MALDI-TOF, avec les limites énoncées ci-dessus, répond à la fois aux critères de qualité d'identification, de rapidité, de faible coût de consommable, d'homogénéité technologique et de rationalisation de l'activité d'identification bactérienne dans un laboratoire hospitalier.

47/10o — 4 décembre 2008 - 12:15 - 341

Identification rapide de bactéries à partir d'hémocultures positives en utilisant la spectrométrie de masse MALDI-TOF

P. Mogabure[5], T. Maier[1], G. Schwarz[1], M. Kostrzewa[1], A.M. Fahr[3], M. Holfelder, U. Eigner[3], G. Gatermann[3], F. Szabados[4], C. Boogen[4], U. Weller[2]
[1]Bruker Daltonik GmbH, Bremen [2]Laboratory Dr C. Boogen, Cologne [3]Laboratory Limbach, Heidelberg [4]Institute Hygiene and Microbiology, Ruhr-University Bochum, Allemagne [5]Bruker Daltonique, Wissembourg, France

L'identification de bactéries dans le sang est un des aspects les plus importants en termes de diagnostic pour les laboratoires de microbiologie. Une analyse rapide et fiable permet une adaptation plus rapide de l'antibiothérapie. Avec les méthodes classiques le rendu de résultat se fait 1 à 2 jours après la positivité de l'hémoculture. Des méthodes d'identification s'affranchissant de la subculture ont été développées ces dernières années (moléculaires notamment), mais restent chères et très consommatrices de temps.

Méthodes : 54 hémocultures positives (BD Bactec Plus) ont été remises en culture et identifiées par des méthodes biochimiques, considérées ici comme la méthode de référence. En parallèle 1mL du bouillon a été transféré dans un tube Vacuette (Greiner Vacuette) contenant 2,5 mL de gel dans lequel est incorporé un activateur de coagulation et centrifugé 10 minutes à 3000 rpm. De cette façon les bactéries ont été séparées du sang. Les bactéries (présentes à la surface du gel) sont alors prélevées et lavées dans de l'eau purifiée. Une extraction protéique est ensuite réalisée par ajout d'acide formique et acétonitrile. 1µL de l'extrait obtenu est ainsi déposé sur une cible MALDI. Après ajout de matrice (HCCA), la cible a été insérée dans un Microflex LT (Bruker Daltonics GmbH). L'identification a ensuite été réalisée à grâce au logiciel MALDI Biotyper 2.0.

Résultats : L'approche directe par spectrométrie de masse MALDI-TOF a permis 41 identifications (75,9%) identiques de celles de la méthode de

référence. 2 autres souches ont été correctement identifiées, mais avec un indice de confiance d'identifcation plus bas. 3 échantillons ont donné des résultats discordants à l'espèce, mais identiques au genre.

Enfin 8 bactéries (14,8%) n'ont pu être identifiées.

Conclusions : La méthode décrite ici permet aux microbiologistes de donner une réponse fiable et plus rapide (jusqu'à 48 heures) aux cliniciens lors de septicémies, donnant lieu à une prise en charge plus rapide et donc plus efficace du patient. De plus, cette technique ne demande que peu de manipulations et ne représente pas de surcoût pour le laboratoire en termes de consommables.

Ce type d'analyse a également été développé pour l'identification d'échantillons d'urines infectées

52/12o — 4 décembre 2008 - 11:00 - 342 B

Sensibilité performante de Determine HIV1/2 AG/AB Combo® pour les patients à différents stades de l'infection à VIH

A. Gautheret-Dejean[1-3-4], S. Mesmin-Poho[1-3], T. Guidasci[2], M. Wirden[1-3], J.M. Huraux[1-3], T. Keren[5], H. Agut[1-3]
[1]UPRES EA 2387, UPMC Université Paris 6 [2]Inverness Medical France, Courbevoie [3]Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP [4]Laboratoire de Microbiologie, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France [5]Inverness Medical Innovations, Yavne, Israël

Objet de l'étude : Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo® (Inverness Medical Innovations) est un nouveau test immunochromatographique rapide qui détecte simultanément l'antigène p24 (Agp24) et les anticorps anti-VIH-1/2. Ce test permet également la discrimination entre la présence de l'Agp24 et celle des anticorps. Le but de notre étude rétrospective était d'évaluer la sensibilité de Determine HIV-1/2 Ag/Ab Combo® par comparaison avec des tests ELISA détectant les anticorps anti-VIH1/2 ± l'Agp24.

Méthodes : la sensibilité a été évaluée sur des échantillons sériques répartis selon les groupes suivants :

- Sérums de patients au stade chronique de l'infection à VIH : 25 VIH-2, 66 VIH-1 non-typés, 34 VIH-1 de sous-types A, C, D, F, J, G, et H, formes recombinantes circulantes CRF01, CRF02, CRF06, CRF09 et CRF11, et groupe O.

- 82 Sérums de patients infectés par du VIH-1 ou du VIH-2 aux stades de préséroconversion ou perséroconversion.

Cinquante µl de sérum ont été utilisés pour effectuer le test. Le résultat a été donné après 15, 20 et 30 minutes de migration comme suit : «p24 Pos» : présence d'une bande dans la région Agp24, «Ac Pos»: présence d'une bande dans la région Ac, «Négatif» : absence de bande dans les régions Agp24 et Ac, «Invalide» : absence de bande dans la région contrôle.

Résultats obtenus : tous les échantillons de patients au stade chronique étaient positifs pour les anticorps. Quatre d'entre eux étaient aussi positifs pour l'Agp24. Parmi les 83 échantillons de patients aux stades de pré- ou perséroconversion, 22, 21 et 36 étaient positifs pour l'Agp24, l'Agp24 et les Ac, et les Ac, respectivement, après 15 minutes de migration. Deux étaient négatifs et deux invalides. Après 20 minutes, 24, 21 et 36 étaient positifs pour l'Ag p24, l'Agp24 et les Ac, et les Ac, respectivement. Deux étaient invalides. Les résultats étaient identiques après 30 minutes.

Conclusion : les performances du test Determine HIV1/2 Ag/Ab Combo® sont très bonnes en termes de sensibilité. Ainsi, 100% de échantillons sériques de sujets au stade chronique de l'infection à VIH-1 ou -2 étaient positifs après 15 minutes. Pour les patients au stade de pré- ou perséroconversion, la sensibilité était de 98,02% après 15 minutes et 100% après 20 minutes. Ce test sera très utile pour le dépistage de l'infection à VIH.

53/12o — 4 décembre 2008 - 11:15 - 342 B

La charge virale HHV-6 dans le sang total exprimée par copies de génome viral par million de cellules constitue un outil adapté chez les patients immunodéprimés

A. Gautheret-Dejean[5-4-6], F. Mousnier[4], C. Henquell[1], D. Boutolleau[5-4], P. Bonnafous[5-4], N. Dhédin[3], C. Settegrana[2], H. Agut[5-4]
[1]Laboratoire de Virologie médicale, CHU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand [2]Service d'Hématologie biologique [3]Service d'Hématologie clinique [4]Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP [5]UPMC Univ Paris 06, UPRES EA 2387 [6]Laboratoire de Microbiologie, UPRES EA 4065, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France

Objet de l'étude : la charge virale dans le sang total constitue un outil majeur pour évaluer les infections par le sixième herpesvirus humain (HHV-6) chez les patients. Les résultats sont généralement exprimés en nombre de copies de génome viral (gec) par millilitre de sang total. Dans ce compartiment biologique, l'ADN du HHV-6 est principalement localisé dans les leucocytes. Le nombre de leucocytes sanguins étant très variable chez les patients immunodéprimés, en particulier les receveurs de cellules souches hématopoïétiques, nous avons évalué l'expression de la charge HHV-6 par gec par mL ou par million de cellules (gec/mc) à l'aide de PCR en temps réel pour quantifier les ADN viral et cellulaire.

Méthodes : 194 prélèvements sanguins et 19 liquides céphalo-rachidiens (LCR) provenant de 101 patients ont été analysés. La numération et la formule leucocytaire ont été obtenues pour 142 échantillons sanguins. Afin d'analyser les résultats plus précisément, les échantillons sanguins ont été répartis selon des critères hématologiques : numération leucocytaire normale, leucopénie, agranulocytose, lymphopénie.

Résultats obtenus : pour les LCR, les deux modes d'expression de la charge (gec/mL ou gec/mc) étaient corrélés ($p<0,0001$; $R^2=0,883$). Les résultats étaient analogues pour les échantillons sanguins mais à un moindre degré ($p<0,0001$; $R^2=0,730$). Lorsque les échantillons sanguins ont été répartis selon les critères hématologiques, nous avons été surpris de constater que les deux modes d'expression étaient corrélés même en cas de lymphopénie, mais plus en cas d'agranulocytose ($p=0,2095$; $R^2=0,087$). De plus, le ratio entre l'expression par million de cellules et par mL allait de 0,5 pour une formule normale à 1,5 et 8,2 en cas respectivement de lymphopénie ou agranulocytose.

Conclusion : la charge virale HHV-6 dans le sang total exprimée en gec/million de cellules constitue un outil adapté pour le diagnostic et le suivi d'infections à HHV-6 chez les patients neutropéniques, en particulier greffés de cellules souches hématopoïétiques avant la reprise de l'hématopoïèse. Ces résultats soulignent la part des polynucléaires dans la charge virale sanguine.

54/12o — 4 décembre 2008 - 11:30 - 342 B

Diagnostic de l'infection par le virus de l'hépatite E : intérêt de la détermination de l'index d'avidité des IgG anti-VHE

C. Bigaillon[2-1], S. Tessé[2], G. Lagathu[2], E. Farfour[2], E. Nicand[2]
[1]Ecole du Val de Grâce [2]Service de biologie médicale, Centre National de Référence du virus de l'hépatite E (http//www.cnr.vha-vhe.aphp.fr), HIA Val de Grâce, Paris, France

L'hépatite E est diagnostiquée par la détection de l'ARN du VHE et/ou d'IgM anti-VHE chez les patients immunocompétents. Quand l'ARN n'est pas détecté, la spécificité des IgM peut être discutée du fait de possibles stimulations polyclonales du système immunitaire ou de défauts de spécificité du test ELISA IgM. La détection des IgG anti-VHE et la détermination de leur index d'avidité (IA) peuvent alors permettre de préciser le diagnostic. Le but de cette étude est d'évaluer l'intérêt de l'IA dans le diagnostic de l'hépatite E.

135 sérums issus de la sérothèque du CNR des hépatites entéro-transmissibles (hépatite E) ont été testés. Ces sérums qui présentaient tous une réactivité IgG anti-VHE ont été catégorisés en 4 groupes:

· groupe 1: 16 sérums de sujets asymptomatiques avec profil d'infection ancienne (ARN et IgM anti VHE [EIAgen HEV® IgM (Adaltis)] négatifs),

· groupe 2: 20 sérums de patients présentant une hépatite E aiguë (IgM anti-VHE et ARN positifs),

· groupe 3: 3 sérums de patients présentant une réactivité IgM polyclonale lors d'une infection par le virus Epstein-Barr (IgM anti-VHE positifs, ARN négatif),

· groupe 4: 92 sérums de patients adressés pour diagnostic biologique de l'hépatite E (IgM anti-VHE positifs et ARN négatif)

L'IA a été déterminé en adaptant le kit EIAgen HEV® IgG (Adaltis). Deux puits, dont un lavé 3 fois par une solution d'urée 6M, ont été utilisés pour chaque patient. L'IA (%) a été calculé comme suit: Densité optique (DO) du puits avec urée / DO du puits sans urée x100.

L'IA des IgG anti-VHE du groupe 1 était supérieur à 50% (moyenne : 74,4% ; extrêmes : 50-100%). L'IA du groupe 2 était inférieur à 40% (moyenne: 18,5% ; extrêmes : 1,8 –38,4%) avec 2 exceptions. Dans le groupe 3, l'IA était supérieur à 60% (moyenne : 70,7% ; extrêmes : 61,1-87%). Parmi les patients du groupe 4, 73 avaient un IA <40% concordant avec une infection aiguë, 14 avaient un IA supérieur à 60% évoquant un contact de plus de 6 mois avec le virus. Enfin, 5 avaient un IA compris entre 40 et 60%, ne permettant pas de conclure sur l'antériorité du contact.

La détermination de l'IA des IgG améliore le diagnostic des infections par le VHE chez les patients immunocompétents quand l'ARN viral n'est pas détecté. La maturation de l'avidité des IgG anti-VHE étant lente, quand l'IA est élevé, il permet d'exclure les infections aiguës lors de réactivations polyclonales ou de défauts de spécificité du test ELISA de détection des IgM.

55/12o — 4 décembre 2008 - 11:45 - 342 B

Détection moléculaire des viroses respiratoires : application en routine sur 522 prélèvements d'enfants de moins de 2 ans

G. Lazarian[1], V. Escuret[1-3], E. Javouhey[2], Y. Gillet[2], B. Lina[1-3], D. Floret[2], F. Morfin[1-3]
[1]Laboratoire de Virologie Est, Centre de Biologie et Pathologie Est [2]Services de Pédiatrie, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon [3]Virologie et Pathologie Humaine, CNRS FRE 3011, Université Lyon 1, Lyon, France

Objectif : Mise en place de techniques de PCR en temps réel pour la détection des virus respiratoires dans un laboratoire de virologie recevant 3000 prélèvements respiratoires par an.

Méthodes : Les techniques de PCR sélectionnées ont été appliquées aux prélèvements respiratoires d'enfants de moins de 2 ans reçus au laboratoire entre janvier et mai 2008. L'extraction a été réalisée sur EasyMag. Deux PCR ont été réalisées sur tous les prélèvements : (i) une PCR temps réel multiplex influenza A, influenza B, VRS, contrôle interne (ProFlu-1®, Prodesse, Biotrin) réalisée 5 fois par semaine et (ii) une PCR temps réel rhinovirus (PCR maison) réalisée 2 fois par semaine. Tous les prélèvements ont été inoculés sur cultures cellulaires.

Résultats : 522 prélèvements ont été testés. 310 prélèvements ont été positifs

pour un ou plusieurs virus (59%). Le virus le plus fréquemment détecté était le rhinovirus, soit seul (155 positifs), soit en co-infection le plus souvent avec le VRS (29 positifs). Le VRS a été détecté seul dans 144 prélèvements, le virus influenza B dans 25 prélèvements et le virus influenza A dans 20 prélèvements. Une corrélation avec la symptomatologie des patients a pu être réalisée pour 140 patients. Parmi les enfants présentant une bronchiolite, un virus a été retrouvé dans 82% des cas, le plus souvent un VRS (38%), un rhinovirus (25%) ou les 2 (11%). Ces virus ont été également fréquemment retrouvés chez les enfants présentant un asthme : VRS (31%), rhinovirus (25%), VRS et rhinovirus (6%) ou virus parainfluenza et rhinovirus (6%).

Conclusion : Les techniques de PCR sont particulièrement intéressantes pour la détection des rhinovirus, virus aussi fréquents que le VRS. Le développement d'autres PCR multiplex ou la mise en place de nouvelles techniques comme les puces à ADN, pourrait permettre d'élargir le panel de virus détectés en particulier aux virus parainfluenza, adénovirus, métapneumovirus, bocavirus et coronavirus.

56/12o — 4 décembre 2008 - 12:00 - 342 B

Tests de diagnostic rapide de la grippe en pédiatrie ambulatoire : influence sur la prise en charge

R. Cohen[2], C. Levy[4], F.M. Caron[1], F. De La Rocque[4], J. Langue[1], A. Mosnier[3]
[1]AFPA [2]CHI, Créteil [3]GROG, Paris [4]ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France

Objectif : En période épidémique de grippe, l'impossibilité des praticiens, par le seul examen clinique, à identifier l'agent infectieux chez l'enfant fébrile entraîne une sur-prescription d'antibiotiques et/ou d'examens complémentaires. L'utilisation de tests de diagnostic rapide de la grippe (TDRG) doit permettre, lorsqu'ils sont positifs d'identifier rapidement les patients infectés par le virus, ou à l'inverse, en cas de négativité, l'orientation des examens para cliniques vers la recherche d'une infection potentiellement sévère. Le but de cette étude est d'évaluer l'impact des TDRG dans la prise en charge de la grippe en pédiatrie ambulatoire.

Méthodes : Pendant la période de grippe 2007/2008, une étude prospective a été menée en France auprès de pédiatres et généralistes.

Résultats : En 22 semaines [46 à 15], 565 pédiatres et généralistes ont inclus 13660 enfants présentant des symptômes cliniques de grippe. L'âge moyen était de 4,6 ± 3,2 ans (médiane 3,9 ans). Pour 71,6% des patients, l'apparition des symptômes était < à 48 h (31,6% < 24 h, 12,2% <12h).

La population des enfants vaccinés représentait 2,2% des cas (n=300), parmi eux, 78% étaient des patients à risque. Les TDRG ont été positifs pour la population globale dans 45.6% (n= 6224). Parmi les enfants à risque (n=723), les TDRG étaient positifs dans 38,4% des cas chez les vaccinés vs 51,1% chez les non vaccinés (p=0.001). Lors de la consultation initiale une otite moyenne aiguë (OMA) et/ou une pneumonie ont été diagnostiquées dans 12,1% des cas.

N (%) [IC 95%]	Prescription d'antiviral	Prescription d'antibiotique	Prescription d'un arrêt travail parental
Total N = 13660	N = 1656 (12,4)	N = 2263 (17,0)	N=3657 (27,8)
TDR + N=6224 (45,6)	25,8% [25;27]	10,3% [9;11]	33,3% [32;35]
TDR - N=7225 (52,9)	0,9% [0.7;1]	22,8% [22;24]	23,1% [22;24]
	p<0,0001	p<0,0001	p<0,0001

Conclusion : Même en période épidémique de grippe, les TDRG positifs n'atteignent pas 50% ce qui souligne le caractère aléatoire du diagnostic clinique de la grippe. La prise en charge en ambulatoire devrait être optimisée par l'amélioration du diagnostic, les TDRG pourraient en être un des outils : leur utilisation dans cette étude a permis une prise en charge thérapeutique plus adaptée, en particulier concernant la prescription des antiviraux et des antibiotiques.

57/12o — 4 décembre 2008 - 12:15 - 342 B

Emergence de virus A(H1N1) résistants à l'oseltamivir durant l'hiver 2007/2008

V. Escuret[1-2], M. Sabatier[2], V. Caro[3], L. Diancourt[3], I. Grog[4], O. Ferraris[1-2], M. Valette[1-2], B. Lina[1-2]
[1]Centre National de Référence des virus Influenza région Sud, Hospices Civils de Lyon [2]Virologie et Pathologie Humaine, CNRS FRE 3011, Université Lyon 1, Lyon [3]Pf8, Plate-forme Génotypage des Pathogènes et Santé Publique, Institut Pasteur [4]Coordination nationale des groupes régionaux d'observation de la grippe, Open-Rome, Paris, France

Objectif : Les centres nationaux de référence (CNR) qui participent aux réseaux VIRGIL (*vigilance against viral résistance*) et EISS (*European Influenza Surveillance Scheme*) surveillent l'émergence de virus influenza résistants aux antiviraux. Bien que l'utilisation des antiviraux soit faible, un nombre important de virus A(H1N1) résistants ont été détectés au cours de l'hiver 2007/2008, notamment en France. Notre objectif est de rapporter les résultats virologiques et cliniques observés pour les virus A(H1N1) sensibles et résistants à l'oseltamivir isolés dans le sud de la France.

Méthodes : La surveillance de la grippe est communautaire (GROG) et hospitalière. Les virus isolés sont tous identifiés (typage, sous-typage, variants). Pour l'ensemble des isolats nous avons déterminé la concentration inhibitrice 50% (CI50) des virus à l'oseltamivir et au zanamivir. Nous avons également séquencé la neuraminidase et l'hémagglutinine pour une sélection de virus sensibles et résistants. D'autre part les données cliniques des patients infectés ont été recueillies.

Résultats : Au total, 374 virus A(H1N1) ont été isolés. Parmi eux, 142 étaient résistants à l'oseltamivir (38%) mais sensibles au zanamivir. Les CI50 moyennes pour l'oseltamivir des souches sensibles et résistantes étaient respectivement de 1,36 ± 0,70 nM et de 565,42 ± 358,15 nM. Aucune résistance n'a été retrouvée chez les virus A(H3N2) ou de type B. Les virus résistants portaient tous la mutation His274Tyr. Aucune caractéristique moléculaire spécifique des virus résistants n'a été identifiée au niveau de l'hémagglutinine. Enfin aucune différence n'a été observée entre les formes cliniques des patients infectés par des virus sensibles ou résistants.

Conclusion : Entre 1999 et 2006, les virus A(H1N1) étaient apparentés à la souche A/New Caledonia/20/99, et ne présentaient pas de résistance aux antiviraux. Au cours de l'hiver 2007/08, les variants A(H1N1) apparentés à la souche A/Solomon Islands/3/2006 sont apparus. L'apparition des souches A(H1N1) résistantes est concomitante de l'émergence de ce variant.

L'apparition de virus naturellement résistants à l'oseltamivir est un phénomène inattendu qui n'est pas encore élucidé. La poursuite de la surveillance et la découverte de nouveaux antiviraux sont des priorités.

58/13o — 4 décembre 2008 - 11:00 - 343

Comparative *in vitro* activity of meropenem, imipenem and piperacillin/tazobactam against 1071 clinical isolates using 2 different methods: a French multicentre study

M.L. Joly-Guillou[1], M. Kempf[1], J.D. Cavallo[7], M. Chomarat[5], L. Dubreuil[4], J. Mangein[2], C. Muller-Serieys[6], M. Roussel-Delvallez[3]
[1]Bactériologie, CHU d'Angers, Angers [2]Microbiologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux [3]Bactériologie, CHU de Lille [4]Microbiologie, Faculté de Pharmacie, Lille [5]Bactériologie, CHU de Lyon, Lyon [6]Bactériologie, CHU Bichat-Claude Bernard, Paris [7]Microbiologie, Hôpital de Saint-Mandé, Saint-Mandé, France

Background: Since meropenem has been introduced latterly in France, an observatory surveillance system was set up in 2006 to monitor the in vitro activity of this antibiotic.

Objective: This study was designed to evaluate the activity of meropenem, against 1071 non repetitive strains isolated from bacteremia (55%), pneumonia (29%), peritonitis (12%) and wound infections (3%), during a survey carried out in 15 French community and university hospitals, in 2006. Susceptibility testing and Minimum Inhibitory Concentrations (MICs) of meropenem, imipenem and piperacillin plus tazobactam were determined by ETEST method (ET) in each centre. Bacterial strains were centralized in order to determine susceptibilities to antibiotics by using -disc diffusion test for meropenem and -MICs by agar dilution method (AD) for meropenem, imipenem and piperacillin/tazobactam. Multicentre studies provide values analysis from centralized testing. In reality, every day, antibiotic therapy is based on the sensitivity to antibiotics produced locally, using different methods. A comparison between results obtained from the various centres and those obtained from the centralized method was done.

Results: Cumulative susceptibility rates against *E.coli* were meropenem: 100%; imipenem: 100% and piperacillin/tazobactam: 90%. Against other *Enterobacteriaceae*, the rates were meropenem: 99%, imipenem: 98% and piperacillin/tazobactam: 90%. All *staphylococci*, *streptococci* and *anaerobes* were susceptible to the three antibiotics. Against non fermeters, meropenem was active on 84-90% of the strains. Some discrepancies were noted between MICs realised by ET in each centre and MICs realised by AD in specific centre. Discrepancies were more numerous and frequently related to a few centres for imipenem than for meropenem. MICs by ET were higher than MICs by AD: +0.5log2 for meropenem and +1.1log2 for imipenem.

Conclusions: Compared to imipenem, meropenem displays lower MICs against *Enterobacteriaceae*, *E.coli* and *P aeruginosa*. Except for non fermenters, MICs90 of carbapenems were <4mg/L. Against *Acinetobacter*, carbapenems displayed similar MICs. Compared to carbapenems, Piperacillin/tazobactam was less active against Enterobacteriaceae and *Acinetobacter* but not *P aeruginosa.*

59/13o — 4 décembre 2008 - 11:15 - 343

***In vitro* time kill studies of imipenem (IPM), meropenem (MPM), ertapenem (ERT) and doripenem (DOR) against genotypically characterized extended-spectrum Béta-lactamase (ESBL) producing *E.coli* (EC) isolates**

V. Vernet-Garnier[2], F. Toulat[2], O. Bajolet[2], C. De Champs[2], A. Andremont[1], C. Muller-Serieys[1]
[1]Bichat-Claude Bernard AP-HP, Paris [2]CHU Robert Debré, Reims, France

Background: Plasmid-mediated ESBL EC have been increasing in prevalence and diversity worldwide. Infections caused by these EC require early treatment and penems are recognized as the drugs of choice. The aim of this study was to compare the *in-vitro* bactericidal activity (BA) of IPM, MPM, ERT and DOR against 6 genotypically characterized ESBL producing clinical *E.coli* isolates.

Material and methods: PCR and DNA-sequencing methods were used to identify ESBL-genes. Time-kill curves (0,1, 2, 4, 6 and 24h) were done according to CLSI guidelines (inoculum ~ 10^6 CFU/mL) vs CTX-M-2, M-9, M-14, M-15, M-61 and SHV-12 enzymes non related EC isolates. Drugs were

tested at MIC and 10xMIC. MICs are shown in the table:

ESBL type	MIC IPM mg/L	MIC MPM mg/L	MIC ERT mg/L	MIC DOR mg/L
CTX-M-2	0.50	0.060	0.032	0.032
CTX-M-9	0.19	0.032	0.023	0.032
CTX-M-14	0.19	0.047	0.125	0.032
CTX-M-15	0.19	0.032	0.032	0.032
CTX-M-61	0.25	0.047	0.047	0.032
SHV-12	0.19	0.032	0.023	0.032

Cell counts were determined by serial dilution plating.

Results: Using MICs, BA was obtained at 2 hours for ERT (³3$\log_{10}$ CFU/mL killing) against 4/6 strains (CTX-M-14, M-15, M-61 and SHV-12); BA of MPM, IPM and DOR achieved at 4h for all EC. A regrowth was observed after 6h for all isolates except for CTX-M-15 EC with ERT. At 10xMIC, ERT was bactericidal at 1h against 3/6 strains (CTX-M-9, M-14, and M-61). BA was recorded at 2-4h for IPM, MPM and DOR for all strains. No regrowth was observed after 6h excepted for SHV-12 ESBL with IPM, ERT and DOR.

Conclusion: IPM, MPM, ERT and DOR achieved a rapid BA against the most prevalent ESBL-producing EC. With a narrow spectrum of activity when compared to other penems, ERT achieved more rapid killing than either IPM, MPM and DOR. These data support the clinical utility of ERT in ESBL *E.coli* community or nosocomial infections.

60/13o — 4 décembre 2008 - 11:30 - 343

Sensibilité a la daptomycine des souches de staphylocoques responsables de bactériemies : étude prospective nationale du ColBVH

O. Gallon[2], B. Lamy[5], F. Geffroy[4], F. Doucet-Populaire[1-3], J. Pollet[2], J.W. Decousser[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Antoine Béclère, Clamart [2]Pôle Biologie-Hygiène, CH de Dourdan, Dourdan [3]Faculté de Pharmacie Paris V - EA4065, Université Paris Descartes, Paris [4]Laboratoire de Bactériologie, CH Laënnec, Quimper [5]Laboratoire de Biologie, CH du Bassin de Thau, Sète, France

Introduction : La daptomycine est un antibiotique appartenant à la famille des lipopeptides, indiquée dans le traitement de certaines bactériémies à staphylocoques.

Objectif : Décrire au niveau national la sensibilité à la daptomycine des souches de *Staphylococcus aureus* et de Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) isolées à l'hôpital dans un contexte de bactériémie.

Méthodes : Dans le cadre du Collège de Bactériologie–Virologie–Hygiène des Hôpitaux de France, 52 laboratoires d'hôpitaux non universitaires ont recueilli prospectivement au cours du mois d'octobre 2007 les souches de *S.aureus* et de SCN provenant de bactériémies cliniquement significatives. Les isolats et les données cliniques ont été centralisés (CH de DOURDAN, 91). L'identification des *S.aureus* a été confirmée biochimiquement (Plaques Microscan® Staph, Siemens). Les Concentrations Minimale Inhibitrices (CMI) à la daptomycine, vancomycine, teicoplanine et linézolide ont été déterminées par la méthode des Etest® sur milieu Mueller-Hinton. Les résultats obtenus ont été interprétés selon les recommandations 2008 du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (Sensibilité à la daptomycine si CMI≤ 1mg/l, Résistance si CMI > 1 mg/).

Résultats : 219 souches ont été étudiées: 166 *S.aureus* et 53 SCN. Toutes les souches étaient catégorisées comme sensibles à la vancomycine et au linézolide, 13 SCN étaient classées I ou R à la téicoplanine (CMI > 4 mg/l) et une seule souche de SCN était résistante à la daptomycine (CMI= 1.5 mg/l). Parmi ces 4 antibiotiques, la daptomycine présentait la CMI $_{90}$ la plus basse vis à vis de *S.aureus*.

	Daptomycine	Vancomycine	Teicoplanine	Linézolide
***S.aureus* (n=166)**				
CMI Min – Max (mg/l)	0.047 - 1	0.75 - 2	0.125 - 4	0.032 – 1.5
CMI $_{50}$ (mg/l)	0.125	1.5	1	0.5
CMI $_{90}$ (mg/l)	0.25	1.5	1.5	1
SCN (n=53)				
CMI Min – Max (mg/l)	0.047 - 1.5	0.38 - 3	0.25 - 16	0.094 – 0.75
CMI $_{50}$ (mg/l)	0.19	2	2	0.38
CMI $_{90}$ (mg/l)	0.5	2	12	0.5

Discussion et Conclusion : Cette étude nationale annuelle souligne la très bonne activité *in vitro* de la daptomycine vis-à-vis des souches de Staphylocoques isolées de bactériémies en France. Il convient donc désormais de discuter la place de la daptomycine au sein de l'arsenal thérapeutique déjà disponible pour la prise en charge thérapeutique de ce type d'infections.

61/13o — 4 décembre 2008 - 11:45 - 343

Sensibilité de *E.coli* aux quinolones et aux céphalosporines de troisième génération (C3G) dans les infections urinaires communautaires : étude AFORCOPI-BIO 2008

D. De Mouy[1], A. Mérens[3-2], J.D. Cavallo[3-2], J.L. Galinier[1], D. Gontier[1], J. Pfeffer[1], R. Fabre[1], N. Grillet[1], G. Payro[1], J.P. Arzouni[1], J.P. Lepargneur[1], M. Baynat[1]
[1]Réseau, AFORCOPI-BIO [2]Ecole du Val-de-Grâce, Paris [3]Biologie médicale, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

Objectifs : étude de l'évolution de la résistance de *E.coli* aux quinolones et/ou aux C3G dans les infections urinaires communautaires (IUC) en 2008, comparaison aux données 2007.

Méthodologie : enquête prospective multicentrique menée au sein de 10 laboratoires de ville de l'AFORCOPI-BIO, réseau fédéré au sein de l'ONERBA. Inclusion par centre de 50 souches d'*E.coli* consécutives non redondantes isolées d'IUC. Recueil standardisé de données médico-administratives : âge, sexe, séjour en maison de retraite, hospitalisation à domicile, séjour en SS-LD, antécédent d'hospitalisation dans les 6 mois, d'infection urinaire dans les 6 mois, prise d'antibiotiques dans les 6 mois, présence d'une sonde à demeure, pathologie urologique. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques par chaque centre. Envoi des souches intermédiaires ou résistantes à l'acide nalidixique (NAL) et/ou aux C3G à un centre coordinateur pour détermination des CMI.

Résultats : 509 souches d'*E.coli* ont été inclues dans l'étude, isolées chez 509 patients (moyenne d'âge 55 ans, 7 mois-96 ans). Pour les quinolones, les taux de sensibilité de 82,4% pour NAL et 88,2% pour la ciprofloxacine (CIP) sont en diminution par rapport à l'étude menée selon la même méthodologie en 2007 (86% pour NAL et 90% pour CIP) et par rapport aux données de l'année 2000. Les résistances atteignent :

- 27,8% pour NAL et 17,6% pour CIP chez la femme de plus de 65 ans (versus 22% et 14% en 2007)

- 21% pour NAL et 15,8% pour CIP chez l'homme (versus 25% et 22% en 2007)

- 9,3% pour NAL et 6,3% pour CIP chez la femme de moins de 65 ans (versus 7% et 5% en 2007).

Parmi les souches NAL R, seules les C3G et la fosfomycine conservent des taux de sensibilité supérieurs à 95%.

Sept souches étaient I ou R aux C3G (1,38%), dont 5 produisaient une BLSE (0,98%).

Conclusion : Le taux de résistance de *E.coli* à la ciprofloxacine dans les IU communautaires atteint 11,8% en France en 2008 (10% en 2007), mais reste bas (6,3%) chez la femme de moins de 65 ans. La prévalence des souches de *E.coli* porteur d'une BLSE reste stable à 1%.

62/13o — 4 décembre 2008 - 12:00 - 343

Place du mécillinam dans le traitement des infections urinaires

A. Mérens[2-1], S. Coyne[2], F. Janvier[2-1], P. Mc Gill[2], J.D. Cavallo[2-1]
[1]Ecole du Val-de-Grâce, Paris [2]Biologie médicale, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

Le mécillinam est une b-lactamine fréquemment utilisée dans les pays scandinaves pour le traitement des cystites. Peu hydrolysé *in vitro* par certaines BLSE, il a été proposé comme alternative thérapeutique des cystites dues à des *E.coli* producteurs de BLSE.

Afin de réévaluer l'intérêt de cet antibiotique dans le traitement des infections urinaires (IU), nous avons déterminé son activité *in vitro* sur une collection de souches de *E.coli* isolées d'IU et bien caractérisées sur les mécanismes de résistance (30 sauvages et 78 productrices de b-lactamases : 28 TEM, 14 TRI, 2 OXA, 18 BLSE, 16 Cases). Trois méthodes ont été utilisées : mesure des CMI par dilution en milieu solide, microdilution en milieu liquide et méthode des disques par diffusion en gélose. La technique de dilution en gélose est beaucoup plus reproductible que la microdilution en milieu liquide, avec des CMI_{50} et CMI_{90} à 0,125 mg/L pour les souches sauvages. Selon les concentrations critiques recommandées en 2008 par le CA-SFM (2/8 mg/L) et par l'EUCAST (8/8 mg/L), le pourcentage de sensibilité de *E.coli* par la méthode de dilution en gélose est respectivement de 100% pour les souches sauvages, 47% et 75% pour les TEM, 30% et 85% pour les TRI, 23% et 73% pour les BLSE, 62.5% et 87,5% pour les Cases. Avec les concentrations critiques proposées par l'EUCAST, la catégorie intermédiaire disparaît. Sur un recueil de 86 souches pédiatriques non consécutives d'*E.coli* isolées d'IU communautaires en 2007, le taux de sensibilité global au mécillinam est de 80,2% (concentrations critiques de l'EUCAST).

L'étude des courbes de bactéricidie en fonction du temps montre une activité bactéricide abolie chez les souches porteuses des enzymes TEM ou TRI et des BLSE, mais conservée chez la souche OXA.

Du fait de la fréquence élevée des b-lactamases chez *E.coli* et de la nécessité d'une administration en 4 doses quotidiennes, la place du mécillinam dans le traitement probabiliste des cystites est donc limitée par rapport à des molécules plus régulièrement actives comme la fosfomycine, la furadoïne et les fluoroquinolones. Son utilisation comme alternative thérapeutique dans les cystites à *E.coli* BLSE sensibles au mécillinam, évoquée récemment à partir d'un modèle animal, mériterait une confirmation clinique.

63/13o — 4 décembre 2008 - 12:15 - 343

Mucoviscidose et associations d'antibiotiques (AA) *in vitro :* activités comparées de la colistine (Cs) et de la tobramycine (Tob)

V. Murbach[2], L. Weiss[1], V. Rosner[1], C. Renault[2], M. Soller[2], F. Jehl[2]
[1]Centre de Ressources et de Compétences sur la Mucoviscidose [2]Laboratoide de Bactériologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Mucoviscidose et associations d'antibiotioques (AA) *in vitro* : activités comparées de la colistine (Cs) et de la tobramycine (Tob).

Objet : étudier l'effet bactéricide des antibiotiques en associations doubles (AD) ou triples (AT) selon qu'elles incluent ou non la Cs sur les souches isolées de patients atteints de mucoviscidose : *S. maltophilia* (Sm, n=9), *B.*

cepacia (Bc, n=5), *P.aeruginosa* (Pa, n=12), *A. xylosoxydans* (Ac n=1).

Méthode : dénombrement des bactéries survivantes après 24h de contact avec, soit une AD, β-lactamine (β-lac)+Tob (n=17) et β-lac +Cs (n= les 17 mêmes bactéries pour comparaison), soit une AT, β-lac + cipro + Tob (n=34) et β-lac + cipro + Cs (n= les 34 mêmes bactéries pour comparaison). Il y a donc 51 comparaisons au total. La ceftazidime (Caz, n= 54) et ticarcilline-ac. clavulanique (TCC, n = 24) sont les β-lac les plus fréquentes. L'AA est considérée comme plus bactéricide que son comparateur si le % de bactéries survivantes est > d'1 facteur 10.

Résultats : 31/51 comparaisons donnent des résultats identiques. Parmi celles-ci on compte 19 AT, dont 8 incluent la Caz, 2 incluent le TCC et 2 incluent pipéracilline-tazobactam (Ptaz) et 12 AD dont 6 incluent la Caz et 4 incluent le TCC. Les 31/51 résultats identiques concernent principalement Bc (aucune bactéricidie) et Pa (0% et 0.01% de survivants).

16/51comparaisons sont en faveur de l'association avec la Cs : parmi celles-ci on compte 14 AT dont 8 incluent Caz, 5 incluent TCC et 1 inclue PTaz. Ces 16/51 résultats en faveur de la Cs concernent toutes les souches à l'exception de 3 Pa.

4/51 comparaisons sont en faveur de l'association avec Tob : il s'agit de 2 Sm isolés chez le même patient à 2 mois d'intervalle.

Conclusion : cette étude met en évidence l'apport des AA, particulièrement celles incluant la Cs sur les souches multirésistantes. La Cs présente un intérêt certain par son potentiel de synergie bactéricide, égal ou supérieur à la Tob dans 47/51 associations. Cette étude conforte la Cs comme alternative thérapeutique chez ces patients soumis à de fréquentes cures d'antibiotiques.

65/14o — 4 décembre 2008 - 11:30 - 352 A

Etude multicentrique pour la surveillance de la résistance du cytomégalovirus aux antiviraux chez les transplantés

S. Hantz[2-1], M.C. Mazeron[3], N. Schnepf[3], F. Garnier[1], V. Lachaise[1], F. Denis[2-1], S. Alain[2-1], pour le groupe Observatoire de la résistance du CMV aux antiviraux
[1]CNR CMV, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU [2]JE Avenir Inserm, Faculté de Médecine, Limoges [3]CNR CMV, Laboratoire de Virologie associé, CHU Lariboisière, AP-HP, Paris, France

Objectif : Le but de ce travail est d'étudier l'incidence de la résistance du CMV aux antiviraux au sein d'une cohorte multicentrique à l'ère de la prophylaxie et de déterminer les facteurs favorisant l'apparition de ces résistances au cours de la pratique quotidienne en transplantation.

Methodes : Les patients sont inclus au moment de leur première infection active à CMV et suivis ensuite pendant 3 ans. En cas de résistance clinique (persistance de la réplication virale plus de 3 semaines sous traitement), une étude phénotypique et génotypique de la souche est effectuée et le traitement est alors adapté. Les données sur les traitements antiviraux, le régime immunosuppresseur et l'évolution clinique sont également collectées.

Resultats : A ce jour, 337 patients ont été inclus issus de 16 centres (type de greffes : 226 reins, 53 moelles, 25 cœurs, 25 foies, 4 poumons, 2 reins/pancréas, 1 foie/rein, 1 cœur/poumon). Parmi les 34 patients présentant une résistance clinique, l'analyse génotypique a retrouvé 12 patients avec une souche porteuse de mutations de résistance : 2/3 transplantés hépatiques (2 mutations UL97 L595S), 1/4 transplantés pulmonaires (1 mutation UL97 L595S) et 9/20 transplantés rénaux (1 mutation UL97 M460V, 1 UL97 M460V + UL54 S897L, 1 UL97 A594P + UL54 D515Y, 1 UL97 A594V, 1 UL97 newL595P, 1 UL97 L595S, 1 UL97 L595S + UL54 newS614A, 1 UL97 L595S + UL54 D515G, 1 UL97 newC603T). Le statut sérologique était D+/R- pour 10 patients et D+/R+ pour les 2 autres. Un sérum anti-lymphocytaire a été administré à 6/12 patients. Tous ont reçu du ganciclovir et 7/12 ont eu une prophylaxie par valganciclovir (n=5) ou valaciclovir (n=2). Le délai moyen pour observer l'émergence d'une mutation de résistance est de 202 jours (de 118 à 468 jours). Pour 7 patients, ce délai a été inférieur à 6 mois après la greffe et pour 4 autres, ce délai était compris entre 6 mois et un an post-greffe. La charge virale de ces patients était en moyenne de 3,83 log copies/mL (3,17-6,66).

Conclusion : Les mutations de résistance au ganciclovir peuvent survenir après prophylaxie. La surveillance de l'infection à CMV et de l'émergence des mutations de résistance demeure une priorité dans le cadre de la prise en charge quotidienne des transplantés.

66/14o — 4 décembre 2008 - 11:45 - 352 A

Retrospective study of vGCV prophylaxis for CMV infection in thoracic transplant patients

S. Lefeuvre[2], P. Chevalier[1], R. Zekkour[2], M. Berge[2], C. Amrein[1], V. Boussaud[1], C. Charpentier[3], R. Guillemain[1], E. Billaud[2]
[1]Cardiovascular Surgery [2]Pharmacology [3]Virology, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Cytomegalovirus (CMV) infection is the most common opportunistic infection after solid organ transplantation. Intravenous GCV, an hematotoxic drug with renal elimination pathway, remains the first-line treatment for CMV disease. Because of its poor bioavailability, oral GCV was replaced by an oral prodrug valganciclovir (vGCV) for universal prophylaxis. We assessed in a retrospective study the efficacy and safety of vGCV during and for 4 months after discontinuation of prophylaxis in 1) heart (HT) and 2) lung cystic fibrosis (CFLT) or not (LT) transplant patients.

Selected patients were HT, LT and CFLT between 2005 and 2007, with a stable renal function (RF), receiving 900 mg vGCV daily for preventing CMV disease. Prophylaxis was introduced early post transplantation respectively during 3 to 6 months in HT and 8 to 12 months in CFLT and LT. Donor (D) and recipient (R) CMV serostatus were collected. A GCV therapeutic drug monitoring (TDM) was realized to document efficient concentrations in the 0.5 to 1 mg/L range for plasma GCV trough levels measured by UV-LV assay. Moreover, efficacy was checked by pp65 antigenemia (Ag) detection in peripheral blood leukocytes.

32 patients (11 HT, 7 LT, 14 CFLT) were included. CMV serostatus repartition was 53% D^+/R^-, 25% D^-/R^+ and 22% D^+/R^+. Treatment was maintained for 106 ± 67 days in case of HT versus 270 ± 85 days for LT and CFLT. 300 determinations of GCV trough concentrations have been made, representing 7 to 12 samples per patient. Doses per day were 700 ± 225, 915 ± 60, and 820 ±150 mg respectively in HT, LT and CFLT, resulting in mean trough level drugs of 0.75 ± 0.5 $mg.L^{-1}$. Lower doses registered in HT were adapted to RF. The safety data reported 9 neutropenia but only 2 were attributable to vGCV. Three D^+/R^- CFLT patients presented a positive pp65 Ag, one during the vGCV prophylaxis and two within the 4 months after discontinuation. Two of them developed CMV disease, corresponding to an incidence of 6% in this high risk group.

In conclusion, 900 mg vGCV daily, adapted to RF, appeared effective and safe for long CMV prophylaxis related to efficient exposition. These first results also suggest that regular TDM is not necessary in case of oral vGCV prophylaxis for thoracic transplant patients with stable RF.

67/14o — 4 décembre 2008 - 12:00 - 352 A

Comparison of the clinical performance of carcinogenic HPV typing of the linear array and Papillocheck® HPV-screening sssay

B. Blanc[2], D. Benmoura[2], A. Agostini[2], H. Khiri[3], G. Pénaranda[1], P. Halfon[3]
[1]Biostatistiques, CDL Pharma [2]Hôpital Ambroise Paré [3]Laboratoire Alphabio, Marseille, France

Background: Human papillomavirus (HPV) types 16, 18, 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, and 66 are considered as carcinogenic to human beings. Two available tools based on different technologies (reverse dot blot, Linear Array (LA) (Roche), and DNA-chip technology, Papillocheck® HPV-screening (Greiner)) allow to assess the distribution of the HPV genotypes without data comparison.

Aims: The primary aim of the study was to compare the clinical performance of two commercially available typing assays using a clinical cut-off of CIN2+ patients. The secondary aim was to comparatively assess the distribution of HPV types using these two assays.

Patients and Methods: 147 among 187 "high-risk population" patients screened by pap smear (ThinPrep, Cytic) were included in the study. A colposcopy with histological examination was performed for all these patients. The LA, a commercialized PGMY09/11 L1 consensus primer PCR test that detects 37 HPV genotypes by reverse line blot hybridization and the Papillocheck® HPV-screening assay, a based DNA-Chip technology for the type-specific identification of 18 high-risk and 6 low-risk types of HPV and HPV-HR determination using HC-2 (Digene) were performed for the 147 patients. All these tests were performed on the samples collected in PreservCyt liquid media for liquid-based cytology (ThinPrep).

Results: The overall clinical sensitivity of the Papillocheck® and LA was 87% for the detection of CIN2+ and similar to the sensitivity of the LA HC-2 (90%) (p=0,97). The respective distributions of the HPV types using the Papillocheck® and LA were: HPV 16 (25% and 16%), HPV 18 (5% and 4%), HPV 31/33 (11% and 10%), HPV 45 (1% and 2%), HPV 51 (5% and 3%), HPV 53 (2% and 2%), HPV 56 (4% and 2%) and multiples HPV infection in 39% and 53% of cases. No significant difference was found between the two assays in HPV types distribution.

Conclusions: The Papillocheck® HPV-screening and LA assays have a good clinical sensitivity to detect HPV types in CIN2+ patients. These assays allow in the same experiment to detect and determine the type of the virus. Our study showed that HPV type 16, 31/33, and mixed genotypes are the most prevalent and that Papillocheck® HPV-screening tends to detect more multiples infections that the LA.

68/14o — 4 décembre 2008 - 12:15 - 352 A

HPV et cancers des voies aéro-digestives supérieures : premières données bordelaises

H. Fleury, L. Roncin, A. Touzalin, C. Deminière, E. De Mones Del Pujol, J.C. Fricain, F. Siberchicot
Virologie, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Introduction : Comme le tabac et l'alcool, les HPV sont maintenant considérés comme impliqués dans la pathogénèse de tumeurs des voies aéro-digestives supérieures (VADS) ; les HPV à haut risque oncogène (en particulier HPV16) auraient une place privilégiée dans l'émergence, à partir d'une contamination sexuelle par voie orale, du processus menant aux carcinomes des VADS via l'inactivation de p53 et pRb par les protéines E6 et E7. Nous avons, en 2008, introduit la détection des HPV oncogènes dans l'abord diagnostique des tumeurs des VADS au CHU de Bordeaux ; nous présentons ici nos premiers résultats.

Matériel et méthodes : Au cours du premier semestre 2008, nous avons reçu 51 biopsies d'origines diverses (par nombre décroissant : amygdales, langue, oropharynx, sinus, plancher buccal, corde vocale, gencive, pharynx../..). Les

biopsies ont été partagées en deux fractions, l'une réservée à l'étude anatomopathologique et l'autre congelée à –80°C avant investigation virologique. Pour la virologie moléculaire, les biopsies ont été digérées avant extraction de l'ADN par la méthode Qiagen ; l'ADN HPV a alors été recherché à l'aide du kit Amplicor HPV Detection Roche permettant de détecter 13 génotypes d'HPV à haut risque oncogène (HPV-HR). Les échantillons positifs ont alors été génotypés par le Linear Array HPV Genotyping Roche qui détecte 37 génotypes dont 13 HPV-HR et 24 HPV-BR (bas risque).

Résultats : Sur le plan histologique, les carcinomes épidermoides étaient les plus fréquents suivis par les papillomes et des lésions hyperplasiques. La virologie moléculaire a pu etre menée sur 48 échantillons ; 7 étaient positifs pour les HPV-HR (14%) ; 5 HPV-HR étaient mis en évidence dans les 23 carcinomes épidermoides de l'oropharynx (21,7%) ; tous les HPV-HR de l'étude étaient des HPV16.

Conclusion : Nos résultats sont conformes à ceux de la littérature étrangère et soulignent l'importance de l'association entre HPV16 et carcinomes différenciés de l'oropharynx en particulier des amygdales. Nous souhaitons maintenant développer des outils moléculaires comme la détection des ARNm E6 et l'analyse de séquence de TP53.

69/16o — 4 décembre 2008 - 11:00 - 353

Antibioprophylaxie chirurgicale : analyse des pratiques non conformes

B. Tequi, C. Paille, N. Surer, C. Dely, P. Lombrail, L. Moret
Laboratoire de santé publique, CHU Nantes, Nantes, France

Le respect des recommandations nationales pour l'antibioprophylaxie chirurgicale (ATBPC) a été choisi comme indicateur d'efficacité clinique et de sécurité dans le projet européen PATH de comparaison des performances hospitalières. La conformité globale de l'ATBPC pour 4 actes chirurgicaux varie de 39,8 à 76,8%. L'objectif de ce travail est d'analyser les critères non conformes pour les actes ayant une conformité globale est inférieure à 50%.

Méthodes : Etude rétrospective réalisée en 2007, dans 26 établissements français, données recueillies dans le dossier anesthésique pour: prothèse totale de hanche (PTH), cancer colo-rectal (CCR), hystérectomie (HYS), pontage aorto-coronaire (PAC). Le respect des 5 critères de la conférence de consensus de la SFAR de 1999 définit la conformité globale.

Résultats : Conformité globale < 50% : 48,0% pour 647 HYS (15 établissements) et 39,8% pour 421 CCR (15 établissements) parmi 2344 actes

Non conformités majeures:

- molécule utilisée

- HYS: conformité 68,8%, un tiers des établissements utilise amoxicilline-ac. clavulanique (AMC) ou cefoxitine (FOX), dans 38 à 100% des cas CCR : conformité 71,9%. Les 8 établissements utilisant FOX ont une meilleure conformité de 69,7 à 94,1%. Les autres molécules utilisées sont les C1G, C2G associées aux aminosides, ou imidazolés, les C3G et/ou les fluoroquinolones.

- délai d'injection
- HYS conformité 77,7%
- CCR conformité 76,8% variant de 0 à 100% pour les 2 actes.
- durée d'ATBPC prolongée pour 37,2% des CCR

Conclusion : Les chirurgies propres-contaminées HYS et CCR ont une conformité globale < à 50%, alors qu'elle est à 76,8 et 59,2%.pour respectivement PTH et PAC qui sont des chirurgies propres. La simplicité du protocole n'est pas un facteur facilitant l'adhésion puisque l'injection unique de cefazoline n'est pas respectée dans plus d'un tiers des cas d'HYS. Le choix de la molécule influence le respect des recommandations pour le CCR: AMC est associée à des réinjections postopératoires contrairement à FOX. Le choix d'AMC, première molécule utilisée en thérapeutique en établissement de soins, engendre une confusion entre utilisation prophylactique et thérapeutique pour le CCR. De plus, l'évolution des résistances à AMC chez *E.coli* devrait amener à revoir les recommandations.

70/16o — 4 décembre 2008 - 11:15 - 353

Audit clinique ciblé sur l'antibioprophylaxie en chirurgie orthopédique et traumatologique, une démarche d'amélioration continue

G. Rondelot[3], J. Sellies[1], M. Llorens[1], M.B. Irrazi[2], C. Cuny[2], B. Gustin[3]
[1]Service d'Hygiène Hospitalière [2]Service d'Orthopédie-Traumatologie [3]Service de Pharmacie, CHR de Metz-Thionville, Metz, France

Objet : Un Audit Clinique Ciblé (ACC) sur l'antibioprophylaxie (ATBP) chirurgicale a été réalisé dans le service de chirurgie d'orthopédie et de traumatologie du CHR Metz - Thionville. L'objectif du travail est de présenter les démarches et les résultats obtenus.

Méthodes : Trois tours d'audit ont été planifiés (2006, 2007 et 2008) sur 60 dossiers, en s'appuyant sur les référentiels de la Haute Autorité de Santé (HAS) et de la SFAR. L'exploitation statistique est réalisée sur SPHINX. L'audit concerne la chirurgie de première intention de la hanche (urgente ou programmée). En 2006 et 2007, il a été effectué :

- audits organisationnels prospectifs (Protocole d'ATBP et surveillance du risque infectieux)
- audits de pratiques rétrospectifs (Prescription et Administration de l'ATBP).

Les conclusions du premier tour de l'audit ont permis d'élaborer de façon pluridisciplinaire un plan d'amélioration en 3 phases : création d'une dynamique de changement, définition et pilotage du plan d'action et réévaluation. En 2008, ne seront évalués que les critères non-conformes du 2ème tour.

Résultats :

- Audit organisationnel : validation du modèle d'ordonnance pré imprimée, support du protocole, de la prescription et de la traçabilité de l'administration de l'ATBP.
- Audit des pratiques :
  - amélioration du taux de prescription écrite et du taux d'antibiotique administré de 7%, du taux de conformité des doses administrées de 3%,
  - diminution du nombre de non-conformité sur l'administration de 50%.

Lors de la première évaluation, la principale non-conformité concernait le délai entre l'administration et l'incision. Une action d'amélioration spécifique de sensibilisation et de réorganisation nous a permis de diminuer de moitié ce type de non-conformité. Le 3ème tour d'audit permettra de mesurer le maintien et l'efficacité des mesures d'amélioration.

Conclusion : Cet ACC sur l'ATBP en chirurgie orthopédique, travail pluridisciplinaire, contribue à l'amélioration continue de la qualité et de la sécurité des soins. Nos outils (ordonnance pré imprimée et les kits d'ATBP) et notre organisation sont validés, permettant une extension aux autres spécialités chirurgicales.

71/16o — 4 décembre 2008 - 11:30 - 353

Face à la gestion d'une épidémie d'entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) : l'expérience du centre hospitalier universitaire d'Amiens, du 1er juin au 31 août 2008

C.C. Adjidé[6], L. Trouillet[6-4], A.C. Devos[6], M.H. Fave[4], M. Gosset[6], M. Grésanleux[6], C. Hésèque[6], M.P. Hirsch[4], O. Obin[6], F. Lamory[6], C. Rambur[6], B. Tur[6], D. Wolny[4], J.P. Cheval[6], M. Belmekki[4], M. Biendo[1], F. Eb[1], J.L. Schmit[5], J.M. Dubaele[3], M. Slama[2], O. Ganry[6-4]
[1]Laboratoire de bactériologie [2]Néphrologie et médecine interne [3]Pharmacie centrale, Hôpital Nord [4]Réseau sanitaire n°2 de Picardie, service d'hygiène hospitalière, d'épidémiologie et santé publique [5]Service de pathologie infectieuse et médecine du voyage [6]Unité d'hygiène et d'épidémiologie hospitalière, Service d'hygiène, d'épidémiologie et de santé publique, CHU, Amiens, France

Objectifs : Décrire l'épidémie, les difficultés liées à gérer les listes de "patients contacts" et à appliquer les mesures, le challenge ainsi imposé à l'établissement de soins.

Matériel et méthode : Décrire la gestion des patients ERG+, des listes des "patients contacts, leur dépistage, l'évaluation de l'application des mesures de contrôle d'épidémie avec l'accompagnement des équipes dans les services concernés au CHU d'Amiens : 1607 lits et places sur 4 sites, un service d'épidémiologie hygiène hospitalière et santé publique comprenant une unité d'hygiène (UHEH) et un unique praticien hygiéniste et le réseau sanitaire n°2 de Picardie.

Résultats : Sept patients ERG+ ont été diagnostiqués en gériatrie de janvier à juin. Les patients ont été mis en isolement et les contacts dépistés. Le 6 juin un nouveau cas diagnostique d'ERG+. S'en suivent, recherche de contacts soit tout patient hospitalisé en gériatrie aiguë depuis le 01/2008 ; isolement technique des patients encore hospitalisés. Leur dépistage débute le 9/06 avec 10 ERG+/43 dépistés ; au 30/06 on était à 19 ERG+/272 dépistés, 57ERG+/1468 dépistés le 31/07, 62 ERG+/2381 dépistés au 31 août. Médecine gériatrique, néphrologie, hépato-gastroentérologie étaient les services les plus touchés. Chaque ERG+ pouvait engendrer environ 100 contacts nouveaux et impliquer plusieurs services. Un secteur ERG+ et des secteurs contacts progressivement éclusés furent mis en place. Des réunions de crise furent régulières. Un logigramme fut créé pour aider les personnels à mieux réagir face à l'épidémie. Tous les acteurs impliqués dans la prise en charge de patients ERG+ furent formés, accompagnés et évalués. Pour 6 mois, un dépistage systématique des patients dès l'admission puis chaque semaine fut mis en place dans des services considérés à risque d'infections/colonisations par ERG. Les 1601 contacts alors sortis du CHU et leur médecin traitant ont reçu un courrier et une ordonnance de dépistage et la gestion des résultats fut organisée. Le 18/07, un point fut fait sur la gestion de l'épidémie avec une délégation du CCLIN Paris-Nord. L'enquête de prévalence d'ERG alors exigée donna zéro dépistage positif. Au 31/07, les résultats de 11 ERG+/571 dépistages sur ordonnance étaient connus. Pour le CHU, pertes d'activités et de recettes et désorganisation de plusieurs secteurs de soins en sont les résultats.

Conclusion : En 2008, organiser et délivrer des soins de qualité sans perte de chance pour les infectés/contaminés pose problème en période d'épidémie d'ERG dans tout établissement de santé français concerné. Gestion des porteurs et contacts, désorganisation et pertes d'activités à l'heure de la tarification aux activités, font planer sur sa tête une véritable épée de Damoclès.

[1] *Nous remercions la Direction des soins et le cadre supérieur du pôle pour leur soutien actif et constant durant cette épreuve*.

72/16o — 4 décembre 2008 - 11:45 - 353

Réussite d'un programme de surveillance des Legionelles dans un établissement de santé multi-sites. Leçons de 6 ans d'expérience

D. Lecointe[4-2], C. Theodora[4], E. Fagundez[3], J.P. Musset[3], R. Beauvais[4-2], P. Pierron[3], P. Brisse[3], D. Breton[4], C. Fevre[1], C. Malbrunot[2]
[1]Direction des Travaux et du Biomédical [2]Service de Microbiologie-Hygiène [3]Services Techniques [4]Unité Fonctionnelle d'Hygiène Hospitalière et de Lutte contre les Infections Nosocomiales, Centre Hospitalier Sud-Francilien, Corbeil-Essonnes, France

Suite à une suspicion de légionellose nosocomiale, le Groupe de Travail multidisciplinaire « *Eau et légionelles* » a été constitué en août 2002, afin de mettre en œuvre la circulaire du 22 avril 2002 sur les différents sites du Centre Hospitalier Sud-Francilien.

Un plan d'action comprenant la rédaction et la validation des procédures d'entretien des points d'usage, la formation du personnel médical, soignant, technique et administratif, et les travaux à engager sur la production et la distribution de l'eau chaude sanitaire (ECS) a été élaboré. Son efficacité a été contrôlée par la mesure de la concentration en *Legionella pneumophila* (Lp) dans l'ECS.

De 2003 à 2008, le pourcentage de points positifs à Lp sur les 4 principaux sites de l'établissement est passé de 91,2 à 31,0%, ce qui représente une diminution de 65,9%. Celui pour lesquels la concentration en Lp était supérieure à 10^3 UFC/L d'ECS est passé de 67,7 à 18,6%.

Les résultats de chaque site ont montré des évolutions différentes. Sur le site Gilles-de-Corbeil, le pourcentage de points positifs est passé de 87,5 à 8,7%, et de 73,4 à 8,7% pour les points dont la concentration était supérieure à 10^3 UFC/L. Pour le site Louise-Michel ces mêmes pourcentages sont passés de 89,5 à 35,3% et de 62,6 à 17,6%, et pour le site MAG de 100 à 26,7% dans les 2 cas. Le site A. Calmette n'avait pas été prélevé en 2003, puis ses résultats avaient oscillé entre 55 et 33% pour l'ensemble des points positifs, et entre 40 et 11% pour ceux dont la concentration excédait 10^3 UFC/L, sans montrer de diminution prononcée. Lui seul montrait constamment la présence de Lp sérogroupe 1.

Au cours des 6 années de suivi, 4 cas suspects de légionellose nosocomiale ont été investigués. L'identité des souches clinique et environnementales a démontré une contamination sur le site A. Calmette dans un cas mais l'imputabilité de l'établissement a été écartée dans les 3 autres.

Notre travail a permis de diminuer significativement le risque théorique lié aux légionelles sur 3 des 4 principaux sites de l'établissement : sans désinfection continue du réseau d'ECS, le pourcentage de points positifs est devenu inférieur ou égal à un seuil en dessous duquel les patients hospitalisés seraient moins exposés à contracter une légionellose nosocomiale.

73/16o — 4 décembre 2008 - 12:00 - 353

Etude épidémiologique et microbiologique de l'importation de SARM en service de médecine

A. Audry-Blanchard[1], N. Breton[1], A. Therby[2], J.C. Hilaire[1], C. Mandart[2], M.R. Le Bihan[1], A. Greder-Belan[2], P.Y. Allouch[1]
[1]Hygiène Hospitalière [2]Medecine Interne et Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier de Versailles, Versailles, France

En Réanimation, la prévention de l'infection à *Staphylococcus aureus* résistant à la Méthicilline (SARM) passe par un dépistage systématique des patients à risque et leur mise en isolement. En service de Médecine, la stratégie est débattue. Notre travail consiste en une étude prospective épidémiologique et microbiologique de 15 mois visant à étudier l'incidence de l'importation de SARM et les facteurs de risque associés.

Matériels et méthodes : Tous les entrants ont eu un prélèvement nasal. Les souches de SARM isolées ont été comparées par électrophorèse en champs pulsés, et les clones identifiés par la technique de séquençage des gènes des enzymes ancillaires (MLST). Ont également été inclus dans l'étude les isolats provenant de prélèvements diagnostics.

Chaque prélèvement était accompagné d'un bordereau rempli par le médecin et renseignant les éléments démographiques et la présence de facteurs de risque d'importation.

Résultats : 923 patients ont eu à la fois une fiche et un prélèvement. 20 souches isolées de portages et 8 issues de prélèvements à visée diagnostique ont été étudiées. Ces souches correspondent à 2 clones principaux en PFGE et une souche orpheline. Le clone principal (75% des isolats) correspond au séquence type 8, le clone secondaire correspond au séquence type 5.

Pour l'étude épidémiologique : 3 patients sont arrivés infectés, 7 patients étaient connus porteurs avant d'entrer, 32 patients ont été dépistés positifs au prélèvement d'entrée.

Facteurs de risque	Risque relatif	Khi^2	p
Vivant en institution ou HAD	3.51	11.17	0.0008
Hospitalisation dans l'année précédente	2.46	6.16	0.0131
Connu porteur ou infecté à SARM dans l'année précédente	10.51	24.22	0.00000
Antibiotique dans l'année précédente	2.05	4.44	0.035
Porteur de plaie chronique	2.85	4.37	0.036

Conclusion : L'étude microbiologique prouve qu'il existe une situation d'endémie avec transmission croisée par 2 clones principaux. Le dépistage de tous les patients présentant un seul facteur de risque est peu rentable sauf pour le facteur « connu porteur ou infecté à SARM dans l'année précédente ». Nous envisageons une stratégie basée sur le seul dépistage des patients « connus porteurs ou infectés dans l'année », associé à une vigilance accrue dans les soins pour éviter le passage de l'état de porteur à l'état d'infecté.

79/18o — 4 décembre 2008 - 14:30 - 341

Etude EPIZOD : évaluation de l'incidence du zona et des douleurs post-zostériennes dans la population générale française métropolitaine âgée de 50 ans et plus

S. Pinchinat[3], J.L. Gallais[4], G. Mick[5], F. Simon[2-1], C. Baptiste[6], L. Serradell[7], T. Derrough[7]
[1]CIBER Epidemiologia y salud publica [2]Instituto de Salud Carlos III, Centro Nacional de Epidemiologia, Madrid, Espagne [3]BIOSTATEM, Castries [4]Société Française de Médecine Générale, Issy-les-Moulineaux [5]Hôpital Neurologique, Centre d'Etude et Traitement de la Douleur [6]Département Affaires Médicales [7]Département d'Epidémiologie, Sanofi Pasteur MSD, Lyon, France

Objet de l'étude : Evaluer l'incidence annuelle du zona dans la population définie et estimer la proportion des douleurs post-zostériennes (DPZ) parmi les cas de zona incidents.

Méthodes : Etude menée en 2006/07 sur les patients vus en 2005 par un échantillon aléatoire de médecins généralistes (MG), de dermatologues, de neurologues, et de centres de lutte contre la douleur, pondéré par la répartition démographique des sujets âgés de 50 ans et plus, par département. Le recueil des données était rétrospectif basé sur les données médicales disponibles sur les cas de zona puis de DPZ. L'analyse porte sur les cas diagnostiqués par le médecin lui-même (cas incidents) et non sur les cas référés.

Résultats obtenus : Malgré un taux de participation limitée des professionnels de santé (50%), la répartition régionale des médecins est représentative de la répartition régionale de la population française de 50 ans et plus.

Un total de 777 cas incidents a été rapporté par 225 MG (699 cas), 22 dermatologues (72 cas) et 3 neurologues (6 cas).

Le nombre moyen de cas incidents rapporté par MG était de 3.1 cas en 2005 et l'incidence du zona estimée à 8.7/1000, IC 95% [8.03 – 9.31] patients-année. Cette incidence était significativement plus élevée chez les femmes (1.3 fois) et augmentait avec l'âge. L'âge médian des patients atteints de zona était de 70 ans.

Toutes spécialités confondues, l'incidence a été estimée à 9.0/1000, IC 95% [8.34 – 9.64] patients-année.

Parmi les 777 cas de zonas incidents, 343 cas de DPZ ont été décrits, d'une durée variable. La proportion de sujets présentant des douleurs à 3 et 6 mois après le diagnostic de zona, considérées comme des DPZ puisque persistant ou survenant après la phase éruptive, était respectivement de 32.0% et 17.6%.

Conclusion : L'incidence du zona chez les sujets de plus de 50 ans est proche de celles déjà évaluées en France et en Europe. La proportion de sujets présentant des DPZ est en revanche plus élevée, probablement du fait de la méthodologie utilisée (suivi rétrospectif vs suivi prospectif) et de l'absence de définition consensuelle des DPZ, en particulier en terme séméiologiques et chronologiques.

80/18o — 4 décembre 2008 - 14:45 - 341

Etude des virus entériques circulant au Caire entre 2006 et 2007

A.H. Kamel[3-2], M.A. Ali[2], H.G. El Nady[1], A. de Rougemont[3], P. Pothier[3], G. Belliot[3]
[1]Child Health Department, Medical Division [2]Laboratory of Virology, Department of Water Pollution Research, National Research Center, Cairo, Egypte [3]Centre National de Référence des virus entériques, Laboratoire de Virologie, CHU de Dijon, Dijon, France

Objectif : L'objectif de cette étude a été de déterminer quels étaient les virus entériques impliqués dans les cas de gastro-entérites dans la ville du Caire auprès d'une population jeune (moins de 20 ans).

Méthodes : Entre mars 2006 et février 2007, 230 selles provenant de patients souffrant de gastro-entérites ont été recueillies au Caire pour leur analyse par le Centre National de Référence des Virus Entériques à Dijon. Rotavirus (RV), norovirus (NoV), astrovirus (HAstV) et adénovirus (AdV) ont été recherchés par RT-PCR et ELISA. Le typage de ces virus a été effectué par PCR (RV) et séquençage des produits de PCR (tous les virus). Une analyse plus approfondies des NoV appartenant au génotype prédominant, GGII.4, a été produite sur les séquences complètes des gènes codant la protéine capsidiale VP1.

Résultats : Un ou plusieurs virus ont été détectés dans 50% des selles (N=115) dont 80% lors des mois hivernaux. Parmi les échantillons positifs, les RV ont été retrouvés dans 57% (N=76) des cas et les NoV dans 20% des selles positives. Quant aux AdV et HAstV, ils représentaient 10 et 1,7% des échantillons positifs. Le typage des RV a révélé le plus souvent la présence de réassortants de types G2[P4] (N=31), G1[P8] (N=13) et G9[P4] (N=6), mais aussi des recombinants rares que sont G12[P4] (N=1) et G12[P6] (N=6). Les NoV de génogroupe I comptaient pour un tiers des NoV détectés. Parmi ceux du génogroupe II, 63% appartenaient au sous-groupe GGII.4, prédominants dans le monde. L'analyse phylogénétique du gène codant la protéine VP1 a permis de révéler la présence de GGII.4, similaires à ceux retrouvés en Europe, Amérique du Nord et Australasie, mais aussi d'un nouveau sous-groupe.

Conclusion : La forte incidence des virus entériques et la présence de nouveaux variants soulignent la nécessité d'une surveillance accrue de ceux-ci dans une agglomération géante telle que celle du Caire. Elle donne également

un nouvel éclairage sur les besoins en vaccin (RV) en Egypte et éventuellement dans le Moyen Orient.

81/18o — 4 décembre 2008 - 15:00 - 341

Infection néo-natale fatale à adénovirus et kératoconjonctivites secondaires chez les soignants dans un service de réanimation

C. Henquell[4], B. Boeuf[3], A. Mirand[4], P. Dechelotte[1], O. Traore[2], A. Labbe[3], H. Peigue-Lafeuille[4]
[1]Service d'Anatomo-Pathologie [2]Service d'Hygiène Hospitalière [3]Service de Réanimation Pédiatrique [4]Service de Virologie, CHRU de Clermont-Ferrand, Clermont-Ferrand, France

Les infections disséminées néonatales à adénovirus sont rares mais gravissimes. Nous rapportons une infection néonatale fatale à adénovirus 29, secondairement responsable chez le personnel soignant d'une épidémie de kérato conjonctivite.

Une enfant de 12 jours, née à terme et présentant depuis 24h une altération de l'état général, a été admise et intubée en toute urgence en réanimation dans un tableau de choc avec détresse respiratoire aigüe et hémorragie alvéolaire extériorisée massive. Le bilan biologique montrait une CIVD, une leuconeutropénie, une CRP basse. Malgré l'instauration d'une dialyse péritonéale et le contrôle de l'hémorragie pulmonaire l'enfant est décédée à la 36ème heure par défaut d'oxygénation et défaillance multiviscérale. A l'autopsie, la destruction du revêtement pulmonaire alvéolaire était complète, l'examen histologique évoquant un effet cytopathogène viral. L'importante hémophagocytose des tissus lymphoïdes était en faveur d'un syndrome d'activation macrophagique secondaire à une infection virale. Un adénovirus a été isolé en 48 heures par culture à partir d'une biopsie pulmonaire, son génome était également mis en évidence par PCR au niveau du pharynx et du sang de l'enfant – mais absent à l'examen rétrospectif d'un échantillon de sang maternel prélevé la veille de l'accouchement. Trois soignants en contact direct avec l'enfant ont développé une kératoconjonctivite une semaine plus tard. Un adénovirus a été isolé des prélèvements oculaires. L'analyse des séquences virales de la souche de l'enfant et des prélèvements oculaires a identifié un adénovirus type 29. L'analyse phylogénétique, en montrant une homologie de 100% entre les souches, a prouvé leur origine commune et la transmission au sein du service.

Cette observation rappelle la gravité des infections à adénovirus chez les patients fragiles et le potentiel de dissémination de ce virus résistant dans l'environnement. En temps que modèle, elle a été l'occasion de revoir les procédures de protection des soignants lors de l'intubation et des soins en réanimation respiratoire et de rappeler que l'application stricte des mesures d'hygiène est primordiale pour éviter la transmission au personnel et à l'entourage, qu'il s'agisse d'adénovirus ou d'autres virus à transmission respiratoire.

82/18o — 4 décembre 2008 - 15:15 - 341

Cas groupés d'hépatite A nosocomiales

L. Guet[1], A.M. Roque-Afonso[5], V. Merle[4], M. Dubuisson[1], D. Thillard[3], J.M. Germain[3], A. Carbonne[2]
[1]Equipe Sectorielle d'Hygiène, CHI Eure Seine, Evreux [2]CCLIN, Paris [3]Antenne régionale, CCLIN Paris Nord [4]Santé Publique, CHU, Rouen [5]CNR-Virologie, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

Objet de l'étude : Les hépatites A nosocomiales sont rares, voire exceptionnelles.

6 cas d'hépatite A ont été diagnostiqués dans un CH de Haute-Normandie : 3 soignants d'un même service, une patiente de ce service (service N), une technicienne de laboratoire et un agent de la blanchisserie.

Les 6 personnes présentent une cytolyse hépatique avec fièvre, asthénie et malaise ; aucun des cas ne présente de diarrhée.

Le diagnostic d'hépatite A est confirmé par la présence d'Ig M anti HAV dans les sérums.

Méthodes : Une investigation a été réalisée dans le service par l'équipe opérationnelle d'hygiène et l'antenne régionale du CCLIN Paris Nord. Elle a comporté : une visite de risque de transmission du virus par contact (évaluation de la disponibilité des SHA - gestion des excrétas) ; une enquête alimentaire ; une étude des dossiers des patients hospitalisés dans le service pendant la période correspondant à l'incubation de la maladie.

Résultats : Un patient présente une élévation des transaminases début janvier : Monsieur B, hospitalisé dans le service N.

Les IgM anti HAV sont positives dans son sérum du 07/02/2008 (diagnostic rétrospectif).

L'étude génétique par amplification de l'ARN, a montré qu'il s'agissait de la même souche virale pour les 7 cas : génotype IA. Cette souche était différente de celle responsable d'une épidémie communautaire de la région.

Conclusion : Mr B pourrait être le cas index.

Dans des locaux vétustes, les soignants du service N et la patiente ont pu se contaminer par des contacts directs et indirects avec Monsieur B (patient très agité) ;

Les conditions de travail dans ce service à cette période étaient très difficiles: un sous effectif en personnel soignant, des patients très dépendants …

L'application des précautions standard était rendue difficile pour les soignants dans ce contexte.

Pour les deux cas extérieurs au service (blanchisseuse, cas n°5 et technicienne, cas n°6), la contamination est probablement liée au manque de respect des précautions standard.

92/21o — 4 décembre 2008 - 14:00 - 343

Les analogues de nucléosides : de nouveaux antibactériens ?

A. Doléans-Jordheim[1], E. Malandain[1], E. Bergeron[1], C. Dumontet[2], J. Freney[1], L.P. Jordheim[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Unité RTI2B, Faculté de Pharmacie, ISPB, Université Lyon 1 [2]Unité 590, Inserm, Lyon, France

Les résistances aux antibiotiques sont responsables de nombreux échecs thérapeutiques et représentent à l'heure actuelle un frein dans la synthèse et l'utilisation de nouveaux antibactériens. C'est pourquoi le développement de nouvelles molécules ayant des cibles et des modes d'action différents de ceux des antibiotiques devient une priorité en infectiologie. Les analogues de nucléosides, déjà utilisés en cancérologie et en virologie, pourraient représenter une nouvelle arme thérapeutique efficace pour lutter contre certaines infections bactériennes. Ces molécules ont pour cible les ADN polymérases et la synthèse de l'ADN, entrainant à terme la mort des cellules cancéreuses et de certains micro-organismes. Dans nos travaux, le rôle des analogues de nucléosides en tant que molécules antibiotiques et plus particulièrement celui d'un anticancéreux appelé gemcitabine a été étudié. Nous avons dans un premier temps évalué la sensibilité de différentes souches bactériennes à la gemcitabine par la méthode des concentrations minimales inhibitrices (CMI). Les bactéries à Gram positif *Staphylococcus aureus* (ATCC 29213) et *Enterococcus faecalis* (ATCC 29212) se sont révélées sensibles à cette molécule pour des CMI comprises respectivement entre 4 et 8 µM et entre 6 et 25 µM. Le mode d'action de la gemcitabine a été recherché notamment par l'obtention de souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à cet analogue. Une mutation par duplication, identifiée par séquençage dans le gène codant la désoxyadénosine kinase de *Staphylococcus aureus* (SadAK) a confirmé le rôle de cette kinase dans le métabolisme de la gemcitabine. Cette étude a été complétée par l'évaluation par méthode des CMI de l'activité antibactérienne de 86 analogues de nucléosides autre que la gemcitabine sur des souches de *Staphylococcus aureus* et *Escherichia coli*. Comme le montrent les résultats encourageants obtenus avec la gemcitabine et compte tenu de l'urgente nécessité de développer de nouveaux antibactériens face à l'émergence constante de souches bactériennes multi-résistantes, l'utilisation des analogues de nucléosides représente une perspective attrayante en infectiologie.

93/21o — 4 décembre 2008 - 14:15 - 343

Intérêt du monitorage des concentrations sériques de la ceftazidime et des associations amoxicilline-acide clavulanique et pipéracilline-tazobactam administrées en perfusion continue chez le patient de réanimation

N. Blondiaux[1], A. Durocher[2], R. Favory[2], T. Onimus[2], S. Nseir[2], D. Mathieu[2], F. Saulnier[2], F. Wallet[1], R.J. Courcol[1], M. Roussel-Delvallez[1]
[1]Centre de Biologie-Pathologie - Pôle de Microbiologie [2]Service de Réanimation Médicale, CHRU, Lille, France

L'étude (11/2007 à 06/2008) inclut 46 patients du service de réanimation médicale du CHRU de Lille présentant un tableau clinique infectieux, correspondant à 46 épisodes (21 documentés), traités par pipéracilline-tazobactam (TZP) (24/46), ceftazidime (CAZ) (9/46) ou amoxicilline-acide clavulanique (AMC) (13/46). Les antibiotiques ont été administrés en perfusion continue à 200 mg/kg pour TZP et 100 mg/kg pour CAZ et AMC en dose d'entretien avec un bolus d'1/3 de cette dose. Des dosages ont été réalisés à T0, T90 minutes puis quotidiennement. La moyenne d'âge des patients était de 59 ans, le poids moyen de 77 kg. Le traitement a été institué dans 75% des cas pour pneumopathie. L'objectif d'atteindre une concentration sérique d'antibiotique supérieure à 4 à 6 fois la CMI a nécessité des adaptations posologiques dans 46% des cas, guidées par les résultats des dosages (13/24 pour TZP, 5/9 pour CAZ et 3/13 pour AMC). Après adaptation, le pourcentage de patients avec des taux sériques conformes aux valeurs cibles est de 85% contre 54% initialement. Le monitorage des concentrations sériques des β-lactamines permet donc d'améliorer ces taux significativement (p<0,01). Les résultats sont présentés dans le tableau ci-dessous.

	TZP		CAZ		AMC		Total	
Adaptation	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après	Avant	Après
Nombre de patients avec des taux sériques conformes aux valeurs cibles	11	17	4	9	10	13	25	39
n	24	24	9	9	13	13	46	46
p	< 0,05		< 0,05		*NS*		< 0,01	

Les posologies utilisées permettent d'obtenir un T>CMI couvrant en moyenne 99% de l'intervalle entre deux administrations. Ce pourcentage moyen n'est plus que de 68,5% pour T>4CMI. Pour les patients ayant bénéficié d'une adaptation posologique le T>4CMI(%) était égal en moyenne à 18,5% avant l'adaptation ; il atteint 41% après adaptation (p<0,0005).

Lors de séances d'hémodialyse, des travaux antérieurs avaient montré une élimination supplémentaire de 45% en moyenne. Un doublement de la posologie avant la séance a permis de limiter cette élimination à 31% (24% pour TZP, 34,5% pour CAZ et 33% pour AMC)(p<0,025).

La surveillance des concentrations sériques d'antibiotiques apparaît donc

comme un outil important pour le suivi thérapeutique des β-lactamines. Cette démarche est d'autant plus utile que la pathologie est sévère et l'état du patient grave et instable.

94/21o — 4 décembre 2008 - 14:30 - 343

Activité *in vitro* des fluoroquinolones (FQ) sur des souches hospitalières récentes de *P.aeruginosa (Pa), S. maltophilia (Sm)* et entérobactéries. Conséquences pharmacodynamiques (PK/PD)

M. Lauer, M. Kleinberg, V. Murbach, F. Jehl
Bactériologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Objet : Déterminer l'activité bactériostatique *in vitro* de la lévofloxacine (LVX), la ciprofloxacine (CIP) et la moxifloxacine (MOX) sur des souches hospitalières de *(Pa), (Sm)*, et diverses entérobactéries d'isolement récent (2008) par mesure des CMI et évaluer la bactéricidie dynamique. Evaluer les conséquences des résultats obtenus en termes de PK/PD.

Méthodes : Les CMI de LVX, CIP et MOX ont été mesurées par E-Test sur *Pa* (n=40), *Sm* (n=40), *K. pneumoniae* (*Kp*) (n=40), *E.coli* (*Ec*, n=40), et 40 entérobactéries diverses (ed, n=40). Les CMI 50, 90, moyennes et modales ont été calculées. Des cinétiques de bactéricidie sur 24h des 3 FQ ont été réalisées sur 5 souches de *Pa*, *Sm*, et *Kp* à 1CMI, 2 CMI et aux pics sériques respectifs des FQ. Les paramètres ASC 0-24/CMI (efficacité) et Cmax/CMI (prévention de l'émergence de résistance) ont été calculés sur la base de nos résultats *in vitro* et des données cinétiques IV et orales des FQ.

Résultats principaux : l'activité bactériostatique des FQ sur *Kp*, *Ec*, et ed est globalement équivalente en terme de CMI 50 et modales (0.016 à 0.25 mg/L). L'activité des 3 FQ sur *Sm* est similaire. Vis à vis de *Pa*, les CMI moyennes (9.9 à 14.4 mg/L), modales (toutes >32mg/L) et CMI 90 (toutes >32 mg/L) sont très proches; les CMI 50 sont voisines (CIP: 0.19, MOX: 1.5, LVX: 0.75 mg/l). A une exception, toutes les souches de *Pa* sensibles (S) à CIP (26/40) sont S à LVX, et toutes les souches R à LVX sont R à CIP. En cinétique de bactéricidie, au pic sérique, CIP et LVX sont équivalentes sur 2/5 souches (chute de 6 logs), LVX>CIP sur 2/4souches (6 logs vs 2 logs), CIP=LVX= aucune bactéricidie sur 1/5 souche.

Les résultats PK/PD sont: ***P.aeruginosa**:* ASC/CMI 50 identiques pour LEV (500mg x 2) *vs* CIP (500 mg x 2 oral, 400 mg x 2 IV) à savoir 130 (IV) et 150 (*per os)*. Le calcul avec les CMI 90, moyennes et médianes est en faveur de LVX. Cmax / CMI 50 atteint les pré-requis (10-12) pour LVX et CIP, IV et orale.

S. maltophilia : ASC/CMI 50 : 66 *vs* 6 (IV), 79 *vs* 7 (orale) pour LVX et CIP respectivement. Entérobactéries : les paramètres LVX sont 2x > CIP.

Conclusion : Les activités *in vitro* sur les bactéries testées et les pharmacocinétiques respectives de LVX et CIP aboutissent à des valeurs de paramètres PK/PD équivalentes ou supérieures pour LVX.

95/21o — 4 décembre 2008 - 14:45 - 343

Pharmacocinétique de la colistine chez le rat

F. Lemaitre[2], I. Lamarche[2-3], P. Gobin[2-1], W. Couet[2-3-1]
[1]Laboratoire Toxicologie-Pharmacocinétique, CHU de Poitiers [2]Inserm ERI-23 [3]UFR Médecine-Pharmacie, Université de Poitiers, Poitiers, France

Introduction : En raison de la remise en cause de son caractère néphrotoxique, la colistine, administrée sous forme de Colistine Méthane Sulfonate (CMS) hydrolysé en colistine dans le plasma, connaît actuellement un regain d'intérêt. L'étude de la toxicité de la colistine nécessite de connaître les données pharmacocinétiques de cette molécule lesquelles sont pour la plupart obsolètes. L'étude des paramètres pharmacocinétiques chez le rat permet de disposer de données de comparaison entre homme et rat afin de reproduire chez l'animal les concentrations toxiques équivalentes chez l'homme.

Matériel et méthodes : Six rats Sprague-Dawley (SD) ont été répartis en 2 groupes de 3 recevant 15mg/kg de CMS et 60mg/kg de CMS en bolus IV. Le dosage plasmatique de la colistine a été effectué par LC-MS/MS à l'aide d'une méthode développée au laboratoire. Une analyse non compartimentale des résultats a permis de déterminer les Cmax, AUC, demi-vies d'élimination et de calculer la clairance d'élimination apparente (CL_{app}) de la colistine. Ces CL_{app} ont pu être ensuite comparées à la clairance d'élimination chez l'homme (données du laboratoire non publiées).

Résultats : Les Cmax, AUC, $T_{1/2}$ et CL_{app} sont présentés dans le tableau suivant :

Paramètres pharmacocinétiques				
	Rat		Rat	
Posologie (mg/kg)	**60**	SD	**15**	SD
Cmax (µg/mL)	**9,78**	**0,47**	**3,13**	**0,24**
T1/2 (min)	**36**	**1,51**	**31**	**2,55**
AUC (µg.H/kg.mL)	**31,2**	**1,99**	**10,5**	**1,58**
CL app (ml/kg.mn)	**72,7**	**4,82**	**53,3**	**11,72**

Discussion - Conclusion : Le rat élimine environ 32 fois plus vite que l'homme ($CL_{app\ rat}$: 63mL/kg.mn et $CL_{app\ homme}$: 1,94mL/kg.mn). Ainsi pour obtenir une même concentration plasmatique à l'état stable (C_{ss}), il faut administrer une dose d'entretien 32 fois supérieure chez le rat. La plus forte dose d'entretien utilisée dans les études de toxicité chez le rat[1,2] de 60mg/kg/j de CMS est 20 fois supérieure à celle préconisée chez l'homme (3mg/kg/j), mais n'aboutit, compte-tenu des différences de clairances, qu'à une C_{ss} inférieure (20/32ème) à celle obtenue en thérapeutique pouvant expliquer l'absence de toxicité retrouvée chez le rat.

[1] Wallace SJ, Li J, Nation RL, Rayner CR, Taylor D, Middleton D, Milne RW, Coulthard K, Turnidge JD. Antimicrob Agents Chemother. 2008 Mar;52(3):1159-61.

[2] Hakim A, Kallel H, Sahnoun Z, Badraoui R, Jammoussi K, Bouaziz M, Zeghal KM, Rebaii T. Med Sci Monit. 2008 Apr;14(4):BR74-7.

96/21o — 4 décembre 2008 - 15:00 - 343

Création d'un modèle pharmacocinétique de population d'amikacine à modèles multiples pour le suivi thérapeutique en gériatrie

P.B. Bouniot[2-1], S.G. Goutelle[2-1], L.B. Bourguignon[2-1], D.C. Carli[2], D.M. Matanza[2], P.M. Maire[2-1]
[1]Pharmacocinétique, ADCAPT [2]Pharmacie Antoine Charial, Francheville, France

Objet de l'étude : Les aminoglycosides sont des antibiotiques à marge thérapeutique étroite, et présentant une forte variabilité inter et intra individuelle. L'objectif de notre étude est de construire un nouveau modèle pharmacocinétique pour l'amikacine en gériatrie, utilisable avec un contrôleur à modèles multiples, afin de contrôler cette variabilité et de pouvoir proposer des schémas posologiques individualisés avec une précision maximale [1].

Méthodes : Les dossiers de 39 patients hospitalisés à l'hôpital Antoine Charial (Hospices Civils de Lyon) ont été utilisés pour la construction du modèle. Différentes paramétrisations structurelles ont été testées (un ou deux compartiments) et différentes covariables ont été incluses dans le modèle (clairance de la créatinine, poids corporel). Seuls des modèles et des relations linéaires entre paramètre et covariable ont été retenus. L'analyse de population a été effectuée selon une méthode non paramétrique (algorithme NPAG) Le choix du meilleur modèle a reposé sur la comparaison des capacités prédictives (biais en µg/ml, précision en $\mu g^2/ml^2$), du coefficient de corrélation au carré (r^2), et de la log-vraisemblance, dans les situations *a priori* et *a posteriori* (après estimation bayésienne des paramètres individuels).

Résultats obtenus : Le modèle retenu est un modèle à un compartiment, incluant deux covariables : le poids relié au volume de distribution et la clairance de la créatinine reliée à l'élimination. Ce modèle est décrit par quatre paramètres pharmacocinétiques (médiane m ± écart type) : Ka =2,59 ± 1,9 h^{-1}, Ki = 0,025 ± 0,022 h^{-1}, Ks = 0,0012 ± 0,0008 $ml.min^{-1}.h^{-1}$ et Vs = 0,38 ± 0,17 $L.kg^{-1}$. Les performances prédictives du modèle sont très satisfaisantes : b=-0,17 ; p=33,11 ; r^2=0,74 en situation *a priori* et b=-0,33 ; p=3,02 ; r^2=0,97 en situation *a posteriori*

Conclusion : Ce travail constitue la première étape de la construction d'un modèle pharmacocinétique. Une validation prospective de ce modèle avec le logiciel MM-USC*Pack va être entreprise, dans le but de pouvoir l'appliquer au suivi thérapeutique des concentrations en amikacine.

Références :

[1] *Jelliffe, Roger; Bayard, David; Milman, Mark; Van Guilder, Michael; Schumitzky, Alan*

Achieving Target Goals Most Precisely Using Nonparametric Compartmental Models and "Multiple Model" Design of Dosage Regimens. Therapeutic Drug Monitoring. 22(3):346-353, June 2000.

97/21o — 4 décembre 2008 - 15:15 - 343

Modelisation de l'activite PK-PD *in vitro* de la ciprofloxacine sur *Pseudomonas aeruginosa*

C. Grignon[4-5-3], N. Grégoire[4-5-3], E. Comets[1-2], W. Couet[4-5-3]
[1]Inserm U738 [2]UFR Médecine, Université Paris 7, Paris [3]Laboratoire de Toxicologie-Pharmacocinétique, CHU de Poitiers [4]Inserm ERI 23 [5]UFR Médecine-Pharmacie, Université de Poitiers, Poitiers, France

Objectif de l'étude : La concentration minimale inhibitrice (CMI) est la valeur de référence *in vitro* pour décrire l'activité d'un antibiotique contre les bactéries. Il ne représente pas l'effet dynamique de l'antibiotique au cours du temps, mais plutôt l'effet antimicrobien sur la période d'incubation à une concentration fixe. L'objectif de l'étude était de développer un modèle mécanistique pharmacocinétique-pharmacodynamique (PK-PD) intégrant les informations décrivant les effets de la ciprofloxacine contre *Pseudomonas aeruginosa in vitro* au cours du temps.

Méthodes : Des time-kill curves ont été réalisées *in vitro* pour la ciprofloxacine contre *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 avec des concentrations constantes (0.5 à 16 x CMI). Pour expliquer la recroissance bactérienne observée lors de time-kill curves, trois modèles PK-PD ont été développés en utilisant une approche de population : deux modèles avec deux sous-populations bactériennes (un modèle avec un transfert de la sous-population « sensible » à la sous-population « résistante » et l'autre avec deux sous-populations indépendantes), et un modèle adaptatif avec une seule population bactérienne.

Résultats obtenus : Les time-kill curves obtenues montraient qu'en l'absence de ciprofloxacine, la population bactérienne augmentait et atteignait un plateau, et qu'en présence de ciprofloxacine, la population bactérienne diminuait, atteignait un nadir, puis ré-augmentait de nouveau (sauf pour la concentration la plus élevée). A partir de simples expériences de time-kill curve *in vitro*, cette modélisation a été capable d'estimer des paramètres d'activité antibactérienne (EC_{50}, E_{max}) de la ciprofloxacine contre une souche de *Pseudomonas aeruginosa.*

Conclusion : Ces trois modèles peuvent être utilisés pour comparer l'efficacité

des antibiotiques contre différentes souches bactériennes et comme outils pour l'adaptation de posologie pour prévenir l'émergence de résistances. Le modèle avec deux sous-populations indépendantes a été sélectionné selon des critères statistiques, cependant, des techniques de biologie moléculaire pourraient permettre d'approfondir la mécanistique.

108/25o — 4 décembre 2008 - 14:00 - 353

Diversité génétique des souches de *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline et contenant les gènes de la leucocidine de Panton Valentine

J.P. Rasigade, H. Meugnier, M. Bes, G. Lina, F. Vandenesch, J. Etienne, A. Tristan
Centre National de Référence des Staphylocoques, Inserm U851 et Université Lyon 1, Lyon, France

Les souches de *Staphylococcus aureus* productrices de la leucocidine de Panton Valentine (PVL) sont à l'origine d'infections cutanées suppuratives, ainsi que d'infections graves telles que les ostéo-arthrites et les pneumonies nécrosantes. Contrairement aux souches de *S.aureus* résistantes à la méticilline (SARM), la structure des populations des souches méticilline-sensibles (SASM) est peu connue. Nous avons déterminé le type *agr*, le *spa*-type et le profil toxinique de 211 souches de SASM PVL+, collectées au niveau mondial de 1981 à 2007. Ces souches appartenaient aux quatre types *agr* : *agr*I (29%), *agr*II (9%), *agr*III (42%), *agr*IV (20%). L'analyse en *spa*-typing a distingué 95 *spa*-types différents, répartis en 13 complexes clonaux (spaCC) reflétant des fonds génétiques très variés, ce qui contraste avec le caractère clonal des SARM PVL+. Trois spaCCs sont toutefois majoritaires : *agr*III/spaCC 044 (24%), associé aux MLST ST80 et ST1, *agr*III/spaCC 021 (21%), associé au MLST CC30, et *agr*IV/spaCC 159 (20%), associé au MLST ST121. Ces trois spaCCs sont ubiquitaires. Certains spaCCs ont une spécificité géographique, comme *agr*III/spaCC 786 en Asie du Sud-Est ou *agr*I/spaCC 355 en Afrique Noire et aux Caraïbes. L'évolution dans le temps de la répartition entre ces différents complexes clonaux a permis d'observer en France l'émergence notable du spaCC 044 : non retrouvé avant 1990, mais représentant 12% des souches de 1991 à 2000, 29% de 2001 à 2005 et 47% après 2005. Ce spaCC 044 est celui du clone de SARM ST80, clone dominant de SARM PVL+ en Europe, ce qui suggère que ce clone résistant a émergé par transfert de la cassette SCC*mec* IV au clone sensible. A l'inverse, on a observé la décroissance des spaCC 021 et 159 : de 76% avant 1990, leur proportion est tombée à 20% après 2005. Enfin, dans cette collection aux fonds génétiques très variés, la PVL était le seul facteur de virulence commun à toutes les souches (aucun des 20 facteurs de virulence testés n'était retrouvé chez plus de 25% des isolats), suggérant ainsi que la PVL soit effectivement le seul véritable facteur de virulence de ces souches.

109/25o — 4 décembre 2008 - 14:15 - 353

Gestion d'une épidémie à entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) dans la région Lorraine : mise en place d'un guide pratique de prise en charge

S. Hénard[1], N. Jouzeau[1], V. Bussy-Malgrange[2], L. Simon[1], K. Saby[1], I. Girardot[1], C. Rabaud[1]
[1]CCLIN-Est, Nancy [2]ARLIN de Champagne-Ardenne (RESCLIN), Reims, France

Introduction : Depuis 2005, la Lorraine est confrontée à une épidémie de colonisations à ERG (*E. faecium* Van A). Les recommandations du CTINILS rédigées en octobre 2005, reprises dans une fiche technique DGS/DHOS de décembre 2006 détaillent les mesures à mettre en œuvre. Ces mesures étaient initialement prévues pour lutter contre un phénomène épidémique débutant. Mais lorsqu'elle a été reconnue et prise en charge, l'épidémie en Lorraine était déjà installée : plus de 450 cas recensés au CHU de Nancy en 4 ans et près de 40 autres établissements touchés à des degrés différents en Lorraine. Par suite, certaines mesures sont apparues inapplicables.

Objectif : Harmoniser la prise en charge d'une épidémie à ERG installée, en complétant et en adaptant les recommandations nationales.

Méthode : Après avoir visité chacun des établissements concernés par l'épidémie, et après avoir recensé leurs difficultés à mettre en œuvre les recommandations nationales, une mission régionale spécifique a rédigé des procédures relatives :

- à la prise en charge des patients infectés, colonisés ou contacts selon le type de structure qui les héberge,

- à la gestion des transferts de ces patients vers d'autres établissements hospitaliers (fiche de liaison, livrets explicatifs)

- à la conduite à tenir lors de transports sanitaires, …

Une première synthèse de ces procédures a été présentée et validée lors d'une réunion régionale en octobre 2007. Elle a ensuite été enrichie en fonction de l'analyse des problèmes rencontrés : un chapitre relatif à la gestion de l'épidémie en service de dialyse, une proposition de définition du patient anciennement ERG «négativé» …

Résultats : La diffusion de ce guide pratique pour la prise en charge d'une épidémie à ERG au niveau d'une région a permis d'harmoniser les pratiques et semble avoir contribué à endiguer l'épidémie sans pour autant bloquer l'ensemble du système sanitaire lorrain.

La synthèse de ces procédures est accessible sur le site du CClin Est (http://www.fc-sante.fr/cclin-est/Alertes/Enterocoques/ Revision_synthese_des_procedures_ERG_version3.pdf) et a donné lieu à la création d'un guide (version papier + CD rom) qui pourra être obtenu sur simple demande auprès du CClin Est (CHU de Nancy, 54511 Vandœuvre les Nancy ; cclin.est@chu-nancy.fr).

110/25o — 4 décembre 2008 - 14:30 - 353

Prévalence des gènes de résistance aux *Bê*ta-lactamines et aux macrolides chez *Capnocytophaga* selon les espèces et l'origine des souches

E. Ehrmann[1], T. Handal[4], C. Giraud-Morin[1], I. Madinier[2], M.B. Bonnaure-Mallet[3], T. Fosse[1]
[1]Laboratoire de bactériologie et épidémiologie moléculaire, CHU de Nice [2]UFR Odontologie, Nice [3]UPRES EA 1254, Rennes, France [4]Dental Faculty, Olso, Norvège

Introduction : *Capnocytophaga* sp. est une bactérie microaérophile de la flore orale potentiellement responsable d'infections graves en particulier chez le patient neutropénique. L'objectif de ce travail est de déterminer la prévalence des gènes responsables de la résistance aux β-lactamines (cfxA like) et aux macrolides (ermF) selon l'espèce et la situation pathologique ou non.

Matériel et méthodes : Au total 93 souches de Capnocytophaga provenant de la flore orale de patients immunodéprimés (10), de volontaires sains (15) et de patients présentant une parodontite (9) ont été étudiées. L'identification a été réalisée par séquençage des ARN 16s. Une technique de Rep-PCR a permis de typer la totalité des souches et de différentier les souches répétitives des souches uniques. La recherche des gènes de résistance a été réalisée à l'aide d'une technique de PCR spécifique.

Résultats : Une diversité importante des espèces (ARN 16s) et types de *Capnocytophaga* (Rep-PCR) a pu être observée. La distribution des espèces est significativement différente selon les groupes de patients étudiés (p = 0.005). Une prédominance de *C. ochracea* est observée chez le volontaire sain (73%) et de *C. sputigena* chez les patients présentant une parodontite (67%). La répartition est plus diversifiée chez les immunodéprimés avec la présence supplémentaire de *C. gingivalis* et *C.leadbetteri.* Après élimination des souches répétitives (37/93) une proportion élevée de souches exprimant une β-lactamase a été observée dans le groupe parodontite (83%) et le groupe immunodéprimé (50%). Au contraire la prévalence est beaucoup plus faible chez les volontaires sains (18%, p=0.001). Le gène responsable de cette résistance est *cfxA* dans 2/3 des cas et une autre β-lactamase du même groupe (*cfxB*) pour le 1/3 restant (essentiellement *C. sputigena*). Une prévalence plus faible de souches résistantes à l'érythromycine est observée (17 à 32%) sans lien avec la résistance aux β-lactamines ou l'identification. La résistance est due à la présence du gène *ermF* avec une séquence identique pour toutes les souches (substitution ILE130VAL). A noter que pour quelques patients présentant la même espèce de *Capnocytophaga* et le même type Rep-PCR des phénotypes de résistances différents ont pu être observées (présence ou absence de *cfxA* ou *ermF*) suggérant une mobilité importante de ces gènes.

Conclusion : Cette étude comparative montre une répartition différente des espèces de *Capnocytophaga* selon la pathologie suggérant des propriétés particulières (physiopathologie, mobilité des gènes) pour les principales espèces dans l'écosystème buccal normal ou les infections opportunistes chez les patients soumis à des antibiothérapies.

111/25o — 4 décembre 2008 - 14:45 - 353

Prévalence des souches porteuses de gènes *qnr* parmi les entérobactéries productrices de BLSE : enquête d'un réseau d'hôpitaux du Sud-Est francilien en 2007

M.N. Adam[10], A. Akpabie[8], C. Benoit[5], C. Boval-Gallet[5], J. Breuil[15], E. Cambau[1], E. Chachaty[14], P. Cormier[3], Y. Costa[7], H. Fiette[9], S. Galah[6], E. Hernandez[4], C. Malbrunot[3], A. Mérens[11], L. Mihaila[13], C. Serizer[2], C.J. Soussy[1], H. Vrillon[12]
[1]Bactériologie-Virologie-Hygiène, GH Albert Chenevier-Henri Mondor, Créteil [2]Microbiologie, CH Etampes, Etampes [3]Microbiologie, Hôpital Sud-Francilien, Evry-Corbeil Essonnes [4]Microbiologie, CM Forcilles, Ferolles-Attilly [5]CH Fontainebleau, CMC Bligny, Fontainebleau, Briis-Sous-Forges [6]Microbiologie, GH Charles Foix-Jean Rostand, Ivry-Sur-Seine [7]Microbiologie, CH Lagny, Lagny [8]Microbiologie, Hôpital Emile Roux, Limeil-Brévannes [9]Hôpital Marc Jacquet, Melun [10]Hôpital d'Orsay, Orsay [11]Microbiologie, HIA Begin, Saint-Mandé [12]Hôpital national, Saint-Maurice [13]Microbiologie, Hôpital Paul Brousse [14]Microbiologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif [15]Microbiologie, CH Intercommunal, Villeneuve-St-Georges, France

Objet : La résistance plasmidique aux quinolones liée aux gènes *qnr* a été décrite ces dernières années en particulier chez les souches d'entérobactéries productrices de beta-lactamase à spectre élargi (BLSE). La fréquence d'isolement des souches porteuses des gènes *qnr* a été étudiée dans certains hôpitaux mais est encore largement inconnue. Notre objectif était d'étudier la prévalence des souches porteuses des nouveaux gènes de résistance aux quinolones *qnr* dans plusieurs hôpitaux d'un même bassin de vie.

Méthodes : 17 hôpitaux de la région Ile de France ayant des activités différentes, ont participé à cette enquête. Dans chaque centre, toutes les souches d'entérobactéries productrices de beta-lactamase à spectre élargi originales et isolées consécutivement pendant l'année 2007 ont été testées par PCR, selon diverses méthodes propres à chaque laboratoire, pour la présence

des gènes *qnrA*, *qnrB* et *qnrS*.

Résultats : Au total, 1006 souches ont été testées avec une prévalence globale de 16,3% de souches porteuses d'au moins un gène *qnr* (164/1006). La prévalence varie selon les centres de 0% à 25% avec un nombre de souches allant de 0 à 54 pour l'année 2007. Les principales espèces bactériennes sont concernées selon des proportions différentes : 5,5% chez Escherichia coli (32/580), 30% chez Klebsiella pneumoniae (61/206), 47% chez Enterobacter cloacae (62/133). La répartition des hôpitaux en fonction du nombre de souches qnr-positives isolées est la suivante : 2 hôpitaux avec aucune souche; 12 hôpitaux avec de 1 à 10 souches et 3 hôpitaux avec plus de 10 souches. Ces 3 hôpitaux représentent 47% des souches BLSE testées et 63% des souches *qnr*-positives.

Conclusion : Les souches porteuses de gènes *qnr* sont présentes de façon non négligeable dans les hôpitaux du bassin Sud-est francilien.

112/25o — 4 décembre 2008 - 15:00 - 353

Evolution de la proportion des entérobactéries productrices de Bêta-lactamases à spectre étendu (EBLSE) et impact sur les précautions complémentaires d'hygiène

A.M. Fontenoy[1], C. Leprince[1], S. Corvec[1-2], M.E. Juvin[1], J. Caillon[1-2], A.C. Guille Des Buttes[1], A. Reynaud[1-2], D. Lepelletier[1-2]
[1]Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes [2]Université de Nantes, Thérapeutiques Cliniques et Expérimentales des Infections, EA3826, UFR de Médecine, Nantes, France

Objet : Les résultats nationaux publiés par l'IVS montrent une augmentation de la densité d'incidence (DI) des EBLSE pour 1000 JH. Cependant, on observe une dispersion d'un facteur 7 entre les incidences les plus basses (Ouest 0.05) et les plus élevées (Paris-Nord 0.33). Les objectifs de cette étude étaient (1) mesurer l'évolution de la proportion des EBLSE parmi les entérobactéries résistantes au C3G (ERC3G) au CHU de Nantes entre 2005 et 2007, (2) calculer la DI des EBLSE pour 1000 JH et (3) évaluer l'impact sur les précautions complémentaires (PC).

Méthode : La proportion de EBLSE et la DI étaient mesurées à partir des données du laboratoire. L'évaluation de l'application des mesures complémentaires était analysée à partir des données cumulées de la surveillance RAISIN périodique annuelle entre 2006 et 2008 (avril-juin). Les données étaient saisies et analysées à l'aide des logiciels Excel et Epi Info. Le test du Chi-2 était utilisé pour la comparaison des proportions.

Résultats : La proportion des EBLSE parmi les ERC3G variait de 16% en 2005 à 38% en 2007 (P<0,0001). La proportion de *E.coli* parmi les EBLSE variait de 62% à 79% sur la même période. La DI des EBLSE augmentait de 0,03 en 2005 à 0,12 / 1000 JH en 2007 (P< 0,0001) et la DI de *E.coli* de 0,02 à 0,10 / 1000 JH (P< 0,0001). En 2007, les EBLSE étaient principalement isolées en Soins de Suite et Rééducation Fonctionnelle (19%), en réanimation et USI (13%), et aux Urgences (10%) ; les EBLSE étaient isolées principalement d'urines (79%). Les PC mises en place pour les patients porteurs de EBLSE étaient plus souvent conformes par rapport aux autres BMR, mais sans différence significative concernant la signalétique (100% *vs.* 94%), l'information dans le courrier médical (93% *vs.* 77%), et la présence d'une unité mobile d'isolement (100% *vs.* 89%).

Conclusion : Les données de surveillance des BMR montrent une augmentation spectaculaire de la proportion des EBLSE, en particulier chez *E.coli*. Une partie de ce réservoir est d'origine communautaire et présente un risque potentiel de transmission hospitalière, même si aucune épidémie à *E.coli* BLSE n'a été jusqu'à présent rapportée dans notre hôpital. Les PC étaient aussi souvent appliquées pour les patients porteurs de EBLSE que pour ceux porteurs d'autres BMR.

113/25o — 4 décembre 2008 - 15:15 - 353

Caractérisation des mécanismes de résistance impliqués dans l'émergence de souches de *Pseudomonas aeruginosa* toto-résistantes

L. Vettoretti[1-3], N. Floret[2], D. Hocquet[1-3], P. Plésiat[1-3], D. Talon[1-2], X. Bertrand[1-2]
[1]CNR associé Résistance chez Pseudomonas [2]Service d'hygiène hospitalière [3]Service de Bactériologie, CHU, Besançon, France

Objet de l'étude : Au cours des dernières années, l'émergence de souches de *P.aeruginosa* toto-résistantes (souches uniquement sensibles à la colistine) a été décrit dans plusieurs pays. Au sein de notre CHU, l'incidence de ce phénotype a augmenté entre 2003 et 2005. Ce travail a donc pour objectif d'en décrire l'épidémiologie moléculaire et d'identifier les mécanismes de résistance développés par les souches isolées au CHU de Besançon durant cette période.

Méthodes : Le profil de macrorestriction de l'ADN total (PFGE) ainsi que les mécanismes de résistance aux β-lactamines ont été caractérisés : production de β-lactamases, perte de la porine OprD et surproduction des systèmes d'efflux actif MexAB-OprM et MexXY.

Résultats : Entre 2003 et 2005 dix-huit patients (1 en 2003, 2 en 2004 et 15 en 2005) étaient colonisés ou infectés avec des souches toto-résistantes. La résistance aux b-lactamines résultait, dans la plupart des cas, de la surproduction de la cephalosporinase AmpC et de la perte de la porine OprD. Un isolat produisait une BLSE de classe D (Oxa-28) mais aucun ne produisait de metallo-β-lactamase (MBL) ou de BLSE de classe A. Les isolats se répartissaient en 8 profils PFGE, et l'acquisition ou la perte de gènes de résistance au sein d'un même clone a été observée.

Conclusion : Nos résultats suggèrent que l'émergence de souches de *P.aeruginosa* toto-résistantes est polyclonale. Les mécanismes de résistance impliqués sont très majoritairement d'origine intrinsèque et varient au cours de la diffusion d'un clone. L'acquisition de MBL ou de BLSE, largement impliquée dans les épidémies décrites dans la littérature, reste un phénomène peu fréquent dans notre CHU.

129/30o — 4 décembre 2008 - 16:00 - 342 B

Evaluation of the efficacy of intramuscular (IM) administration of ceftaroline (CPT) against a methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strain in a rabbit endocarditis model (REM)

C. Jacqueline[2], J. Caillon[2], V. Le Mabecque[2], E. Batard[2], A.F. Miègeville[2], D. Biek[1], Y. Ge[2], G. Potel[2]
[1]Cerexa Inc, Alameda, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

Background: Ceftaroline is a novel, parenteral, broad-spectrum cephalosporin exhibiting bactericidal activity against gram-positive organisms, including MRSA and multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* (MDRSP), as well as common gram-negative pathogens. CPT is currently in phase 3 development. We previously reported the highly bactericidal activity of IV CPT against MRSA in rabbit. The objective of this study was to compare the activity of 3 different doses of CPT with teicoplanin (TEC) after IM administration against a MRSA strain using a REM.

Methods: MICs were 1 and 0.5 mg/L for CPT and teicoplanin (TEC), respectively. Preliminary PK studies were performed to determine the PK parameters of IM administration and facilitate dose selection. Animals were randomized to: no treatment (controls), CPT 5 mg/kg bid, CPT 20 mg/kg bid, CPT 40 mg/kg bid, or TEC 20 mg/kg bid.

Results: The absolute bioavailability of IM CPT exceeded 90% of IV CPT (as measured by AUC). The Cmax of CPT at 5, 20, and 40 mg/kg increased approximately in proportion to dose (5.18, 15.75, and 37.85 mg/L, respectively). The plasma elimination half-life was 0.74-1.14 hours over the range tested. Bacterial titers in vegetations (Veg.) after 4 days of treatment were:

Regimen	Mean ± SD $\log_{10}$ CFU/g of Veg. (n)
Controls	8.99 ± 0.47 (0/10)
IM CPT (40 mg/kg bid)	2.45 ± 0.14 (10/10)[a,c]
IM CPT (20 mg/kg bid)	3.14 ± 1.38 (8/10)[a,b]
IM CPT (5 mg/kg bid)	5.26 ± 2.73 (3/9)[a]
IM TEC (20 mg/kg bid)	3.07 ± 0.66 (6/10)[a,b]

(n): no. of sterile veg./total no. of veg.; a: P < 0.001 *vs* controls; b: P < 0.05 *vs* IM CPT (5 mg/kg bid); c: P < 0.001 *vs* IM CPT (5 mg/kg bid); Bonferroni's test after analysis of variance.

Conclusions: IM CPT demonstrated excellent bactericidal activity against the MRSA strain at 20 and 40 mg/kg, resulting in sterilization rates in vegetations of 80% and 100%, respectively. The results strongly support IM CPT as a promising and effective therapeutic option for the treatment of severe MRSA infections.

130/30o — 4 décembre 2008 - 16:15 - 342 B

Assessment of the *in vivo* activity of ceftaroline (CPT) against vancomycin-susceptible and -resistant *Enterococcus faecalis* (EF) strains in a rabbit endocarditis model (REM) : Comparison with linezolid (LZO) and vancomycin (VAN)

C. Jacqueline[2], G. Amador[2], E. Batard[2], V. Le Mabecque[2], D. Biek[1], Y. Ge[1], G. Potel[2], J. Caillon[2]
[1]Cerexa Inc, Alameda, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

Background: Ceftaroline, the bioactive metabolite of ceftaroline fosamil, is a novel, parenteral, broad-spectrum cephalosporin exhibiting bactericidal activity against gram-positive organisms, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae* (MDRSP), and VAN-resistant *EF,* as well as common gram-negative pathogens. CPT is currently in phase 3 development. The objective of this study was to evaluate and compare the in vivo activity of CPT with LZO and VAN against EF strains using simulated human dosing in a REM.

Methods: MICs for EF 12704 and EF NJ1 were 2 and 1 mg/L for CPT, 2 and >256 mg/L for VAN, and 2 and 1 mg/L for linezolid, respectively. The pharmacokinetics of CPT and comparators were determined to facilitate human dose simulation. Animals infected with one of the two EF strains were randomly assigned to no treatment (controls), CPT (computer-controlled infusion syringe pump simulating a human-equivalent (HE) dosage of 10mg/kg/12h), LZO (simulating an HE dosage of 10mg/kg/12h), and VAN (administered by a constant IV infusion to reach 20xMIC steady-state concentration). Surviving bacteria were counted in vegetations (Veg.) at the end of 4 days of treatment.

Results:

Treatment	**Mean ± SD $\log_{10}$ CFU/g of Veg.**	
	EF 12704 Van-S (n)	**EF NJ1** Van-R (n)
Controls	8.56 ± 0.74 (8)	8.60 ± 0.54 (9)
CPT (HE 10mg/kg/12h)	5.68 ± 0.49 (7)[a, d]	3.98 ± 0.85 (9)[a, b]
LZO (HE 10mg/kg/12h)	6.88 ± 0.70 (7)[a]	6.88 ± 0.77 (9)[a, c]
VAN	6.70 ± 0.25 (8)[a]	8.01 ± 0.76 (8)

(n): (number of animals). a: P < 0.001 *vs* controls; b: P < 0.001 *vs* LZO and VAN; c: P < 0.05 *vs* VAN.

Conclusions: CPT exhibited significant in vivo activity against both EF strains.

This novel cephalosporin was significantly more active than LZO and VAN against VAN-S and VAN-R EF. The in vivo activity of CPT against EF appears to be related to the MIC of the strain.

131/30o — 4 décembre 2008 - 16:30 - 342 B

Is Vancomycin infusion really inefficient in severe bone infections? : *In vivo* contribution of a filling biomaterial loaded with vancomycin in an acute MRSA osteomyelitis model

G. Amador[1], C. Jacqueline[1], H. Gautier[2], E. Batard[1], V. Le Mabecque[1], A.F. Miègeville[1], G. Potel[1], J.M. Bouler[2], P. Weiss[2], J. Caillon[1]
[1]EA 3826 [2]Inserm UMRS 791, Nantes, France

Background: Nanocrystalline calcium-deficient apatites (CDA) can be associated with therapeutic agents like antibiotics to form drug-delivery systems. Vancomycin (V), considered as the standard treatment for osteomyelitis, is criticized for its poor penetration in bone tissues. The aim of this work was to assess the *in vivo* contribution of vancomycin introduced by wet granulation onto CDA microparticles for 2.5, 10 and 50 percent per gram.

Methods: Femoral trepanation of rabbits was performed, followed by injection of 10^9 CFU MRSA (vancomycin MIC 1µg/mL) suspension into the knee cavity. A surgical debridment of the infected tissues was performed 3 days later and animals were randomly assigned to: V (vancomycin constant IV infusion to reach a 20xMIC serum steady-state concentration as a control group), V+CDA V2.5% or V10% (100 mg CDA with vancomycin 25 or 100 µg/mg filling in addition to constant IV infusion) and CDA V2.5%, V10% and V50% (100 mg CDA with vancomycin 25, 100 and 500 µg/mg respectively). Surviving bacteria were counted in joint fluid (JF), bone marrow (BM) and bone (BO) at days 3 and 7 (4-days treatment).

Results:

Treatment	n	Mean ± SD delta log_{10} CFU/g of tissue (day 7 – day 3)		
		JF	BM	BO
V	5	-0.08 ± 0.97	-0.59 ± 1.89	-0.57 ± 0.80
CDA V2.5%	5	-0.88 ± 0.70	-1.83 ± 1.30	-2.13 ± 0.81[b]
V+CDA V2.5%	5	0.75 ± 0.93	-3.19 ± 1.76[b]	-2.48 ± 1.47[b]
CDA V10%	5	-0.05 ± 1.03	-3.41 ± 1.43[b]	-2.35 ± 1.45[a]
V+CDA V10%	5	-0.90 ± 0.39	-4.03 ± 1.33[a]	-4.63 ± 1.28[a,c]
CDA V50%	5	-0.58 ± 0.99	-3.92 ± 1.58[b]	-4.12 ± 1.12[a,d]

n : number of animals. a: p<0.01 vs V and V+CDA V2.5%; b: p<0.05 vs V and V+CDA V2.5%; Student-Newman-Keuls test after ANOVA. c: p<0.05 vs CDA V2.5% and V+CDA V2.5% d: p<0.05 vs CDA V2.5%

Conclusions: (1) V was ineffective after a 4-day treatment of MRSA. (2) Vancomycin associated with CDA was the only regimen to demonstrate significant *in vivo* activity in BM and BO, in this model. (3) A 10% concentration of vancomycin is efficient *in situ* associated to constant IV infusion. (4) CDA with a 50% vancomycin concentration is the most relevant combination without systemic approach.

132/30o — 4 décembre 2008 - 16:45 - 342 B

Dissémination d'*Acinetobacter baumannii* (Ab) dans différents organes à partir d'un modèle expérimental de pneumopathie chez la souris

M. Kempf, M. Eveillard, P. Legras, M.L. Joly-Guillou
UFR Médecine, Université d'Angers, Angers, France

Ab est considéré comme un pathogène opportuniste impliqué principalement dans des pneumopathies en réanimation. Notre objectif était d'évaluer les capacités de cette bactérie à diffuser et coloniser d'autres organes à partir d'un foyer pulmonaire dans un modèle expérimental chez la souris.

Deux souches (1 souche de collection et 1 souche épidémique) ont été inoculées (5.10^6 UFC) par voie intra-trachéale chez 50 souris C3H/HeN rendues transitoirement neutropéniques. Les organes (poumons, reins, foie, rate, cerveau) ont été prélevés de J1 à J4 chez les souris (environ 12 souris sacrifiées par jour). Afin de contrôler l'absence de contamination majoritaire des organes par des bactéries sanguines, 6 souris témoins euthanasiées ont été perfusées (SP) par 40 ml de sérum physiologique avec une méthode mise au point localement (entrée du circuit de rinçage par le cœur et sortie par l'artère fémorale). Les numérations bactériennes ont été réalisées après broyage des organes.

A J1, pour 7 souris non rincées (SNP) sur 10, Ab avait diffusé dans tous les organes avec des numérations variant de 10^2 à $3,5.10^6$ UFC/g. Pour la SP, la diffusion avait également été totale avec des concentrations dans les organes autres que les poumons variant de $2,3.10^4$ à $5,2.10^5$ UFC/g. La diffusion avait été partielle pour les 3 autres SNP, avec des quantités plus faibles (de 2.10^2 à 10^4 UFC/g) dans chaque organe colonisé. A J2, Ab avait diffusé dans tous les organes prélevés pour 5 SNP sur 9, seulement dans certains organes pour 3 SNP et était totalement absent pour 2 SNP. La diffusion avait été complète pour 1 SP avec des concentrations variant de $7,4.10^4$ à $9,6.10^6$ UFC/g, et partielle pour l'autre. A J3 et J4, 12 des 20 souris n'avaient plus de bactérie détectable dans les poumons. Deux d'entre elles (dont 1 SP) avaient encore une faible colonisation cérébrale (10^2 – 10^3 UFC/g). Au total, le rapport "numération pulmonaire / numération dans les autres organes" variait de 10^2 à 10^5.

Nos résultats expérimentaux chez la souris montrent la capacité d'Ab à coloniser différents organes à partir d'un foyer pulmonaire initial. Des études complémentaires avec d'autres souches d'Ab vont être réalisées pour évaluer la variabilité de cette capacité suivant les souches.

133/30o — 4 décembre 2008 - 17:00 - 342 B

Ceftaroline (CPT) *versus* ceftriaxone (CRO) in a highly penicillin-resistant pneumococcal pneumonia (PRPP) model

D. Croisier-Bertin[2], L. Piroth[2], P.E. Charles[2], D. Biek[1], Y. Ge[1], P. Chavanet[2]
[1]Cerexa, Alameda, Etats-Unis [2]CHU de Dijon, Infectious Diseases Department, Dijon, France

Background: Ceftaroline is a novel, parenteral, broad-spectrum cephalosporin exhibiting bactericidal activity against gram-positive organisms, including methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and multidrug-resistant *Streptococcus pneumoniae*, as well as common gram-negative pathogens. The efficacy of simulated human dosing with CPT or CRO in PRPP was evaluated.

Methods: 3 *S pneumoniae* strains induced pneumonia in rabbits: PSSP (susceptible), PISP (intermediate), and PRSP (resistant). MICs ($mg.L^{-1}$) were 0.06/0.015, 1/0.125, and 4/0.25 for CRO and CPT, respectively. The animals were randomized to no treatment (controls), IV CPT human equivalent (HE) dosage 600 mg/12h, IV CRO HE dosage 1g/24h and for PRSP-infected rabbits 5 or 20 mg/kg/12h IM CPT. Serum levels were measured by microbiological assay, pharmacokinetic data were obtained, and evaluation of efficacy was based on bacterial counts in lungs and spleen (expressed per gram tissue).

Results: 5-7 animals/group were tested. For IV CPT/IV CRO, mean AUC_{0-24} was 155/938 $mg.h.L^{-1}$, Cmax was 20/158 $mg.\ L^{-1}$ and Cmin was 1.3/6 $mg.\ L^{-1}$, respectively. Bacterial counts were:

Treatment	Mean bacterial concentration ± SD (log_{10} CFU/g)					
	Lung			Spleen		
	PSSP	PISP	PRSP	PSSP	PISP	PRSP
No treatment	8.1±0.5	8.4±0.5	8.31±0.7	4.91±0.6	4±1.4	4.51±1.1
CRO	1±0 [b]	1±0 [b]	6.2±1.4	1±0 [b]	1±0 [b]	2.02±1.02 [a]
CPT IV	1±0 [b]	1±0 [b]	1.1±0.2 [b,c]	1±0 [b]	1±0 [b]	1±0 [b]
CPT IM 5mg/kg	-	-	2.31± 0.9 [a,d]	-	-	1.4±0.8 [a]
CPT IM 20mg/kg	-	-	1.08±0.16 [b,c]	-	-	1±0 [a]

[a] p<0.05 vs. controls, [b] p< 0.001 vs. controls, [c] p<0.01 vs. CRO, [d] p<0.05 vs. CRO

CPT IV and CRO were highly efficacious against PSSP and PISP. CPT IV and IM were superior to CRO IV against PRSP with a quasi sterilization of lungs and spleen. %T>MIC for CPT of 30% and 45% were associated with 50% and 100% bacterial count reductions, respectively.

Conclusion: In this PRPP model, CPT IV with human simulated dosing or IM was more effective against PRSP than CRO IV.

134/31o — 4 décembre 2008 - 16:00 - 343

Antibiorésistance des *Listeria monocytogenes* d'origine non humaine en France de 1996 à 2006

S.A. Granier[1], C. Moubareck[2], C. Colaneri[1], A. Lemire[2], S. Roussel[1], T. Dao[1], P. Courvalin[2], A. Brisabois[1]
[1]Unité CEB, AFSSA - Lerqap, Maisons-Alfort [2]CRAB, Institut Pasteur, Paris, France

Depuis les années 80, la listériose constitue un problème de santé publique. En effet, cette maladie d'origine alimentaire engendre un taux élevé d'hospitalisation et une forte mortalité. Elle nécessite un traitement antibactérien qui inclut généralement l'amoxicilline associée à la gentamicine.

L'objectif de cette étude était d'évaluer l'évolution des phénotypes et le flux de gènes de résistance au sein de l'espèce *L. monocytogenes* en France sur une période de 10 ans. Deux cent cinq isolats d'origine alimentaire et environnementale, représentant chacun un profil d'électrophorèse en champ pulsé, ont été collectés entre 1996 et 2006. Leur phénotype de résistance a été déterminé par la méthode de microdilution.

Deux cent une souches présentaient le phénotype de résistance sauvage : sensibles à la pénicilline G, l'amoxicilline, la tétracycline, l'érythromycine, la gentamicine, le triméthoprime, la vancomycine et résistantes aux céphalosporines de 3ème génération et à l'acide nalidixique. Quatre souches présentaient une résistance acquise : deux de sérotype 4b résistantes à l'érythromycine, une de sérotype 1/2a résistante à la tétracycline-minocycline et une de sérotype 1/2a résistante à la tétracycline-minocycline et au triméthoprime.

L'analyse par PCR a montré que le gène *erm*(B) était présent chez les souches résistantes à l'érythromycine, le gène *tet*(M) chez les souches résistantes à la tétracycline-minocycline et le gène *dfrD*, chez la souche résistante au triméthoprime. Le gène *tet*(M) est probablement porté par un transposon conjugatif du fait de la présence chez les mêmes hôtes du gène *int* responsable de la mobilité de ce type d'élément génétique.

Ces résultats montrent que la résistance aux antibiotiques ne diffuse pas au sein de la population de *L. monocytogenes* non humaine en France. Malgré un faible fréquence de la résistance chez *L. monocytogenes* et devant l'augmentation actuelle du nombre de cas de listériose humaine, il paraît essentiel de continuer à exercer une surveillance afin de détecter toute évolution dans la population de *L. monocytogenes* non humaine.

135/31o — 4 décembre 2008 - 16:15 - 343

Increasing incidence of listeriosis in France and its relations with host factors and food control

A. Leclercq[1], A. Le Monnier[1], M. Lecuit[1], V. Goulet[2]
[1]CNR/CCOMS Listeria, Institut Pasteur, Paris [2]Département des maladies infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Introduction: Listeriosis is caused by the bacterium *Listeria monocytogenes* (*Lm*), a foodborne pathogen. This disease, which is largely confined to risk groups including pregnant women, the elderly and immunocompromised individuals, has increased in incidence in France in 2006. Our objective is to describe this increase of incidence and investigates its origin, notably at the food control level.

Methods: Since 1998, the French surveillance system for human listeriosis relies on the mandatory notification of cases to the national public health institute (InVS) and the submission of Lm strains to the national reference centre (NRC, Institut Pasteur). The voluntary submission of *Lm* strains isolated in the context of current control by food operators and the mandatory submission of *Lm* food strains to the NRC in case of official enquiries contribute also to the French surveillance system for human listeriosis. These modalities of collection of human and food data have shown effective in controlling this foodborne disease.

Results: Based on surveillance data for 2005-2007, the French incidence of listeriosis has increased from 3.5 cases per million inhabitants in 2005 to 5.0 in 2007. The number of pregnancy-associated cases is stable, and this increase involves mostly sporadic cases of bacteremic patients over 60 year-old. No outbreak explains this increase. The causes of this increasing are unknown. It could rely on (1) the use of new immunosuppressive therapeutic regimens in patients over 60 years, (2) a change in food practice in this at-risk group, (3) a change in food industry practice such as food composition and/or shelf life modification, and (4) a possible unforeseen side effect of the application of new European regulation on food hygiene.

Significance: In conclusion, in addition to the current efficient recommendations for prevention of listeriosis for pregnant women in France, new recommendations will have to be established when the cause of this increase will be precisely determined.

136/31o — 4 décembre 2008 - 16:30 - 343

Antimicrobial resistance of *Listeria monocytogenes* human strains isolated since 1926 in France

A. Morvan[3], C. Moubareck[2], A. Leclercq[3], M. Hervé-Bazin[3], S. Brémont[2], M. Lecuit[3-4-1], P. Courvalin[2], A. Le Monnier[3]
[1]Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes [2]CNR Résistance aux Antibiotiques [3]CNR/CCOMS Listeria [4]Groupe Microorganismes et Barrières de l'Hôte, Inserm avenir U604, Institut Pasteur, Paris, France

Context: Amoxicillin plus gentamicin is the treatment of choice for listeriosis, a foodborne infection caused by *Listeria monocytogenes* (*Lm*). *Lm* is considered universally susceptible to antibiotics active against Gram-positive bacteria, but resistant strains have been reported. We have studied retrospectively the antimicrobial resistance of Lm human strains isolated between 1926, the year of its discovery, and 2007.

Methods: 5856 human *Lm* strains from the collection of the CNR *Listeria* were selected randomly in order to obtain a representative sample of each clinical form. Their susceptibility to 23 clinically relevant antibiotics was determined by disc diffusion. MICs of fluoroquinolones and penicillins were determined by E-test. All resistant strains were typed by PFGE with restriction endonucleases *Asc*I and *Apa*I and those displaying a unique profile were screened for the presence of antibiotic resistance genes by PCR.

Results: A total of 69 strains (1.2% of the analyzed *Lm*) were resistant to one or more antibiotics. Resistance to ciprofloxacin and norfloxacin in 31 isolates (24 pulsotypes) was attributed to active efflux. Resistance to tetracycline and minocycline in 31 strains (12 pulsotypes) was encoded by *tet*(M), presumably carried by a conjugative transposon in the 14 strains which also harboured the *int* gene. High-level resistance to trimethroprim due to the *dfrD* gene was found in one strain. The gene conferring resistance to chloramphenicol in two strains (2 pulsotypes) belonged to the *cat* family. Characterization of fusidic acid, macrolide and streptomycin resistant isolates is in progress.

Conclusions: *Lm* has not acquired significant resistance to antibiotics. Importantly, neither emergence nor spread of resistance to the recommended antibiotic regimen for listeriosis and no evolution of MICs over the years was observed.

137/31o — 4 décembre 2008 - 16:45 - 343

Surveillance de la résistance de *Mycobacterium tuberculsis* à la rifampicine et à l'isoniazide par la méthode Genotype MTBDR

E. Mehiri-Zghal, A. Ghariani, Z. Allegui, H. Draoui, L. Essalah, N. El Marzouk, H. Gharbi, N.L. Slim-Saidi
Laboratoire de microbiologie, Hôpital A. Mami de pneumologie Ariana, Tunis, Tunisie

Introduction : L'émergence de souches multirésistantes associant une résistance à la rifampicine et à l'isoniazide (multidrug resistance : MDR) pose un réel problème de santé publique.

Dans la majorité des cas, la résistance à la rifampicine est liée à des mutations dans la région 81pb du gène rpoB qui code pour la sous unité β de l'ARN polymérase. Quant à l'isoniazide la résistance est due à des mutations au niveau du gène katG dans 50 à 95% des cas.

Matériel et méthodes : Dans notre étude, nous avons comparé la sensibilité de 46 souches cliniques de Mycobacterium tuberculsis par la méthode moléculaire « Genotype MTBDR Hain Lifescience, Nehren, Germany » à la méthode classique des proportions afin de confirmer la multirésistance ou de vérifier la sensibilité aux 2 antituberculeux majeurs.

Résultats : La résistance à la rifampicine est détectée dans 34 cas (28 MDR). La mutation 531 (MUT3) est la plus fréquente (62%) suivi des mutations 516 et 526. des mutations multiples sont retrouvées chez 5 souches.

Sur les 43 isolats résistants à l'isoniazide par la méthode des proportions, 38 (88,4%) ont une mutation dans le codon 315 du gène kat G, seule mutation détectée par la méthode Genotype MTBDR

La corrélation entre les 2 méthodes (proportion et moléculaire) est de 82%.

Conclusion : En conclusion, les méthodes moléculaires (MTBDR) attrayantes par leur facilité et leur rapidité, complètent les méthodes classiques dans la démarche diagnostique de la tuberculose, permettant ainsi d'adapter rapidement le traitement ainsi que de prévenir la transmission des souches multirésistantes.

138/31o — 4 décembre 2008 - 17:00 - 343

Infection pulmonaire à *Mycobacterium abscessus* : place des nouvelles molécules

A. Prevotat[3], S. Bonne[3], F. Fortin[1], N. Veziris[2], E. Senneville[3], Y. Yazdanpanah[3], L. Legout[3]
[1]Service de Pneumologie, Polyclinique de la Louvière, Lille [2]Centre National de Référence des Mycobactéries, Centre Hospitalier Universitaire de la Pitié-Salpêtrière, Paris [3]Service Régional Universitaire de Maladies Infectieuses et du Voyageur, Centre Hospitalier Dron, Tourcoing, France

M. abscessus, mycobactérie à croissance rapide, est responsable d'infections pulmonaires sur poumon pathologique ou non. Nous rapportons une observation d'infection pulmonaire à *M. abscessus* traitée par tigécycline-amikacine-cefoxitine.

Mme O, 45 ans, aux antécédents de diabète insulino-dépendant, de gastrectomie totale, de polyarthrite rhumatoïde sous méthotrexate est admise pour altération de l'état général, fièvre, toux productive, dyspnée d'effort associé à des crépitants bilatéraux. Le scanner thoracique retrouvait des condensations alvéolaires lobaires inférieures droites et des micronodules bilatéraux. Un prélèvement d'expectoration et un lavage broncho-alvéolaire étaient réalisé retrouvant à 2 reprises en culture *M. abscessus* (PCR et milieux liquides). La patiente a reçu clarithromycine par voie orale pendant 2 mois sans amélioration.

M. abscessus (CNR des mycobactéries) était sensible à la clarithromycine (CMI=0.25mg/l), tigécycline (CMI=0.1mg/l), modérément sensible à amikacine (CMI=32mg/l), cefoxitine (CMI=64mg/l), linezolide (CMI=16mg/l) et résistante à l'imipénème, aux fluoroquinolones, à la minocycline. Un traitement par amikacine-tigécycline-cefoxitine intra-veineux a permis une amélioration clinique et scannographique à 2 mois. L'amikacine a été stoppée à 1 mois. *M. abscessus* est sensible à la clarithromycine (100%), à l'amikacine (90%), à la cefoxitine (70%), et à l'azithromycine. L'imipénème n'est actif que dans 50% des cas, la ciprofloxacine et la doxycycline dans moins de 5% des cas. Parmi les nouvelles molécules, la tigécycline a une bonne activité in vitro, avec des CMI basses mais est à évaluer, le linézolide est moins actif et pose des problèmes de toxicité au long cours. La télithromycine est active in vitro mais n'a pas été testée en clinique. Le traitement antibiotique doit être basé sur les données de l'antibiogramme.

139/31o — 4 décembre 2008 - 17:15 - 343

Tobramycin-clarithromycin combination on *Mycobacterium tubercolosis* clinical isolates

K. Stoffels[3], H. Traore[1], R. Vanhoof[2], M. Fauville-Dufaux[3]
[1]Laboratoires SMB [2]National Reference Laboratory of Resistance to Aminoglycosides [3]National Reference Laboratory of Tuberculosis and Mycobacteria, Scientific Institute of Public Health, Department of Institut Pasteur, Brussels, Belgique

Objectives: This study investigated the *in vitro* susceptibility of 25 *Mycobacterium tuberculosis* clinical isolates to two well-known drugs, tobramycin (TM) and clarithromycin (CL). The effect of both drugs administered together was also investigated to detect a possible synergistic effect.

Methods: MIC of isolates with variable resistance profiles was determined by the radiometric BACTEC 460 TB and was defined as the minimal antibiotic concentration for which at least 99% of the mycobacterial population growth was inhibited. The influence of TM on the MIC of CL was interpreted by Fractional Inhibitory Concentration (FIC).

Results: The median MIC for both TM and CL was 8 µg/ml (range: 2 to 8 µg/ml and ≤2 to >16 µg/ml respectively). For 36% (9/25) of the tested isolates a decrease of the MIC of CL by a single or twofold dilution was observed (FIC ≤ 0,5) when a subinhibitory concentration of TM was added. No antagonistic effect (FIC > 4) was observed. Similar results were observed for isolates

susceptible or resistant to first-line antituberculosis drugs.

Conclusion: Although the MICs for CL and TM seem high compared to conventional anti-tuberculosis drugs, these antibiotics should not immediately be ruled out as clinically insignificant. Indeed, after administration of 300mg aerosolised TM, antibiotic concentrations in the epithelial lining fluid are higher than 10 times the median MIC observed for the TB isolates tested in this study (8µg/ml) [Conte 1993, Geller 2002, 2003, Dopfer 2007, Rosenfeld 2001]. Oral administration of 500 mg CL twice daily leads to a peak concentration of 13,50+/-3,3 µg/g in the lungs [Scaglione 1993], 505±293 µg/ml in alveolar cells [Conte 1994] and 34±5 µg/ml in epithelial lining fluid [Patel 1996], thus all exceeding the MIC of 8 µg/ml.

Promising new drug delivery systems such as the Dry Powder Inhaler allow achieving very high local antibiotic concentration, *e.g.* 7 times higher for TM compared to aerosol administration [Newhouse 2003, Pilcer 2008] and thus far beyond the MIC of resistant isolates.

These results suggest that both drugs should be investigated further as potential adjuncts to the difficult treatment of multi-drug resistant tuberculosis where other alternatives have failed.

145/34o — 4 décembre 2008 - 16:30 - 353

Chez les patients traits par anti-TNF, le risque de tuberculose est plus élevé sous infliximab ou adalimumab que sous etanercept TNF. Résultats définitifs à 3 ans de l'observatoire RATIO

D. Salmon[10], F. Tubach[9], P. Ravaud[9], P. Dellamonica[6], C. Michelet[11], D. Vittecoq[12], C. Leport[8], R.M. Chichemanian[5], S. Bretagne[3], D. Emilie[2], M. Lemann[7], X. Mariette[4], O. Lorthololary[1], for the RATIO Group
[1]Université Paris V, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades, Service de maladies infectieuses et tropicales, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur, Université Paris [2]Laboratoire de microbiologie et d'immunologie, Université Paris-Sud 11, AP-HP, Hôpital Béclère, Inserm U764, Clamart [3]Service de parasitologie, Université Paris-Est, AP-HP, Hôpital Henri Mondor, Créteil [4]Service de rhumatologie, Université Paris-Sud 11, AP-HP, Hôpital de Bicêtre, Inserm U802, Le Kremlin-Bicêtre [5]Centre régional de pharmacovigilance [6]Université de Nice, Hôpital de L'Archet, Nice [7]Service de gastro-entérologie, Université Paris 7 Denis Diderot, AP-HP, Hôpital Saint Louis [8]Maladies Infectieuses et Tropicales, Université Paris 7 Denis Diderot, UFR de médecine ; AP-HP, Hôpital Bichat [9]Département d'Epidémiologie, Biostatistique et Recherche Clinique, Université Paris 7 Denis Diderot, UFR de médecine ; Inserm U738 ; Assistance Publique –Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Bichat [10]Service de médecine interne, Université Paris V, Paris Descartes, AP-HP, Hôpital Cochin, Paris [11]Université de Rennes, Hôpital Ponchaillou, Rennes [12]Université Paris-Sud 11, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

Objectif : Nous avons présenté à la SFR en 2007 les résultats descriptifs des 69 cas de tuberculoses sous anti-TNF collectés en 3 ans en France dans l'observatoire RATIO depuis la mise en place des recommandations de dépistage de la tuberculose latente avant traitement. Nous présentons maintenant les études d'incidence et cas témoins dont les objectifs sont d'identifier des facteurs de risque de tuberculose et de comparer l'incidence par rapport à la population Française globalement et pour chacun des anti-TNF utilisés. anti-TNF.

Méthodes : L'observatoire RATIO est une étude prospective nationale regroupant 490 services cliniques mise en place pour décrire les infections opportunistes et les lymphomes survenant chez des patients traités par anti-TNF.Nous avons collecté les cas de tuberculose survenus durant 3 ans chez des patients traités par anti-TNF en France, quelle que soit l'indication de traitement, avec 2 témoins traités par anti-TNF par cas. Nous avons calculé le taux d'incidence standardisé sur l'âge et le sexe, et les « standardized incidence ratio » (SIR) en comparaison avec la population française. Par ailleurs, nous avons réalisé une étude cas témoins en utilisant un modèle de régression logistique conditionnelle pour identifier les facteurs de risque de survenue de tuberculose.

Résultats : Nous avons colligé 69 cas de tuberculose chez des patients traités pour polyarthrite rhumatoïde (n=40), spondylarthropathies (n=18), colite inflammatoire (9), psoriasis (n=1) et maladie de Behçet (n=1) par infliximab (n=36), adalimumab (n=28) ou etanercept (n=5).

Aucun de ces cas n'avait reçu de chimioprophylaxie antituberculeuse bien conduite avant le début des anti-TNF.

Le taux d'incidence standardisé était 116.7/100,000 personnes-années. Le SIR était 12.2 (intervalle de confiance à 95% (IC) 9.7–15.5) et était plus élevé pour un traitement par infliximab ou adalimumab que pour un traitement par etanercept: 18.6 (13.4–25.8) and 29.3 (20.2–42.4) versus 1.8 (0.7–4.3), respectivement.

Dans l'étude cas témoins, l'exposition à adalimumab ou infliximab versus etanercept était un facteur de risque indépendant de survenue de tuberculose : odds ratio= 17.1 (3.6–80.6) et 13.3 (2.6–69.0), respectivement. Les autres facteurs de risque de TB étaient l'âge, un traitement anti-TNF de moins d'1 an et une origine d'un pays à forte prévalence de TB.

Conclusion : Le risque de tuberculose est plus important chez les patients traités avec les anticorps monoclonaux anti-TNF qu'avec le récepteur soluble du TNF. Ce risque est plus important durant la première année de traitement. Enfin, cette étude démontre l'efficacité de la chimioprophylaxie des tuberculoses latentes dont le dépistage reste imparfait avec les techniques actuelles.

146/34o — 4 décembre 2008 - 16:45 - 353

Etude multicentrique des infections à *Mycobacterium genavense* en France : 1996-2007

P. Charles[2], O. Lortholary[2], F. Doustdar[3], A. Dechartres[1], J.P. Viard[2], M. Lecuit[2], M.C. Gutierrez[3]
[1]Inserm U738, Hôpital Bichat [2]Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital Necker-Enfants Malades [3]Département Infection et Epidémiologie, Institut Pasteur, Paris, France

Objet de l'étude : *Mycobacterium genavense* est une mycobactérie non tuberculeuse de culture difficile qui cause des infections disséminées sévères chez les patients immunodéprimés. Nos objectifs étaient de décrire cette infection et son pronostic à l'ère des traitements antirétroviraux hautement actifs et de faire une description moléculaire de la bactérie grâce à une approche multigénique.

Méthodes : Une étude multicentrique a été conduite en France. Nous avons identifié les patients infectés par *M. genavense* entre 1996 et 2007 par l'intermédiaire d'un laboratoire de référence (Institut Pasteur). Les données cliniques, biologiques et microbiologiques ont été recueillies pour chaque malade dans une grille standardisée. L'ADN bactérien a été séquencé pour pouvoir identifier plusieurs allèles de la bactérie dans les gènes codant pour l'ARNr16s, *hsp*65 et *rpoB*.

Résultats : Vingt-cinq cas de *M. genavense* ont été identifiés dans 15 centres. Vingt patients étaient infectés par le VIH, 3 étaient transplantés et 2 avaient une sarcoïdose. Seize patients étaient des hommes, l'âge moyen au diagnostic était 42 ans (écart type 10 ans) et le taux médian de lymphocytes CD4 était de 13/mm³. Vingt-quatre malades avaient une infection disséminée avec une perte de poids (79%), une fièvre (75%), des douleurs abdominales (71%), une splénomégalie (71%), une hépatomégalie (62,5%), une diarrhée (62,5%), des adénopathies intra-abdominales (62,5%). *M. genavense* a été isolée dans des adénopathies chez 13 patients, des biopsies digestives (9), des hémocultures (6), des crachats (3), des selles (3) et des prélèvements de moelle osseuse (5). Onze patients sont morts, 8 ont été guéris et 6 ont survécu avec des manifestations chroniques. Le pourcentage de survie à 1 an, 3 ans et 5 ans était respectivement de 72%, 59% et 53%. Cinq patients ont eu un syndrome inflammatoire de restauration immunitaire. Quatre différents allèles de *M. genavense* ont été identifiés lors du séquençage du gène codant pour hsp65.

Conclusion : Si les caractéristiques cliniques, biologiques et microbiologiques sont comparables à celles rapportées dans d'anciennes séries, le pronostic de cette infection s'est nettement amélioré. Nous avons mis en évidence une variabilité génétique de cette bactérie qui pourrait être prise en compte pour le diagnostic moléculaire de l'infection.

147/34o — 4 décembre 2008 - 17:00 - 353

Caractéristiques et devenir des patients vivant avec le VIH initialement perdus de vue puis reprenant contact avec le système de soins

B. Ndiaye[4], K. Ould-Kaci[4], K. Cochonat[3], C. Fontier[6], P. Bataille[1], F. Bonnevie[2], H. Guerroumi[5], F. Ajana[5], P. Chaud[4], Y. Yazdanpanah[5]
[1]Hémodialyse, Boulogne [2]Hématologie, Dunkerque [3]Pneumologie, CH, Lens [4]Cire, Drass, Lille [5]Maladies Infectieuses, Tourcoing [6]Dermatologie, CH, Valenciennes, France

Objectif : Etudier les caractéristiques et le devenir des patients perdus de vue (PDV) qui reprennent contact avec le système de soins après plus d'une année de non suivi.

Méthode : La population source était 1007 patients infectés par le VIH ayant débuté leur suivi dans les centres hospitaliers de la région du Nord Pas-de-Calais entre les 01/97 et 12/05. Les patients PDV étaient des patients qui : (i) n'avaient pas été vus dans le service hospitalier de la région Nord Pas-de-Calais où ils étaient suivis pendant au moins 12 mois ; (ii) n'étaient pas suivis pendant cette période ni dans un autre centre hospitalier de la région, ni par un médecin généraliste dans le cadre du VIH, ni dans un hôpital d'une autre région et; (iii) n'étaient pas décédés dans les 12 mois qui ont suivi la date de dernière visite. Nous avons comparé les caractéristiques cliniques et biologiques des patients PDV qui reprennent contact avec le système de soins, entre la dernière visite précédant la survenue de la perte de vue et la visite de la reprise de contact avec le système de soins. Nous avons comparé le risque de décès chez les patients PDV puis reprenant contact avec le système de soins avec le risque de décès chez les patients régulièrement suivis.

Résultats : 135 patients (13.4%) étaient perdus de vue au cours de la période d'étude. Parmi les patients PDV, **74** (54.8%) sont revenus après plus d'une année de non suivi. L'âge médian de ces patients est de 31 ans (IQR = 27-38), 45 (60.8%) sont des hommes, 43 (58.1%) des hétérosexuels et 19 (27,1%) d'origine africaine. La durée médiane de perte de vue est de 19 mois (IQR = 15-27). Au moment de la reprise de contact, 11(16.9%) patients présentaient un événement sida. Dix (14.3%) patients ont été hospitalisés dans les 6 mois suivant la reprise de contact avec une durée médiane d'hospitalisation de 23 jours (IQR = 12-52). La médiane des CD4 était de 453/mm^3 (IQR= 322-666) au moment de la perte de vue vs. 317/mm^3 (IQR = 204-543) au moment de la reprise de contact (p<0,0001). Les patients PDV ayant repris contact avaient un risque plus élevé de décéder que les patients régulièrement suivis : HR= 3.03, IC à 95% [1.45-6.33].

Conclusion : Les patients PDV même lorsqu'ils reprennent contact avec le système de soins ont trois fois plus de risque de décéder que les patients régulièrement suivis. Des interventions doivent être mises en place pour diminuer le risque de perte de vue.

148/34o — 4 décembre 2008 - 17:15 - 353

Dosages pharmacologiques des antirétroviraux (ARV) : pratique clinique et impact immuno-virologique

S. Pillet[3], P. Pugliese[3], R. Garraffo[1], I. Perbost[3], J. Cottalorda[2], P. Dellamonica[3], P.M. Roger[3]
[1]Pharmacologie [2]Virologie [3]Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

Le dosage des ARV ont été étudiés essentiellement dans les études thérapeutiques visant à permettre l'autorisation de mise sur le marché des nouvelles molécules. L'intérêt de ces dosages pour augmenter le nombre de patients en succès thérapeutique, défini par une charge virale indétectable au sixième mois d'ARV, reste controversé. Les propositions de dosages pharmacologiques des ARV sont indiquées dans les recommandations nationales, notamment lorsque des variations pharmacocinétiques sont attendues et/ou en cas d'effets secondaires dose-dépendants. Notre objectif était de connaître le nombre de dosages effectués en accord avec les recommandations et leur impact viro-immunologique.

Patients et méthode : A partir d'un recours au logiciel NADIS®, tous les patients de notre service ayant bénéficié d'au moins un dosage d'ARV durant la période de janvier 2005 à décembre 2007 étaient inclus. Les motifs de dosages et les modifications thérapeutiques induites étaient répertoriées. Les cinétiques de charges virales plasmatiques et du taux de lymphocytes T CD4 avant le dosage et dans l'année suivant le dosage étaient collectées.

Résultats : Sur une file active de près de 850 patients traités par ARV sur cette période, 213 (25%) ont bénéficié de 254 dosages pharmacologiques. Leur moyenne d'âge était de 43±10 ans, avec un sex-ratioH/F de 2,22. Cent treize patients étaient au stade SIDA (53%). Aucun motif de dosage n'était trouvé chez 15 patients (7%). Les 4 motifs de dosages les plus fréquents étaient la co-infection par le virus de l'hépatite C dans 30% des cas, un effet secondaire médicamenteux dans 25% des cas et un échec virologique dans 22% des cas et une interaction médicamenteuse attendue dans 8% des cas. Les inhibiteurs de protéase comptaient pour 80% des dosages et l'efavirenz 9%. Cent cinquante et un dosages étaient normaux (58%), tandis que 58 surdosages (23%) et 45 sous-dosages (19%) étaient objectivés. Cent soixante cinq dosages pharmacologiques restaient sans impact thérapeutique (65%). Le changement d'un antiviral était la modification majoritairement observée, chez 39 patients (18%), une augmentation de posologie étant effectuée 13 fois. Les patients bénéficiant d'une adaptation thérapeutique motivée par les dosages d'ARV ne voyaient pas leur cinétique de charge virale ou de lymphocytes CD4 améliorée comparativement aux patients sans dosages pharmacologiques.

Conclusion : Afin d'optimiser les indications de dosages des ARV, l'évolutivité des co-infections devrait être prise en compte. De même, les changements thérapeutiques peuvent être motivés sans dosage des ARV. Ces dosages pharmacologiques des ARV apparaissent sans impact viro-immunologique.

163/39o — 5 décembre 2008 - 09:00 - 343

Etude de la première et de la dernière étape du processus catalytique des bêta-lactamases à spectre étendu de type CTX-M

D. Leyssene, J. Delmas, D. Dubois, F. Robin, N. Pradel, R. Bonnet
Bactériologie, UFR médecine, Clermont-Ferrand, France

L'utilisation intensive des céphalosporines de 3ème génération en thérapeutique humaine a conduit à l'émergence de béta-lactamases à spectre étendu (BLSE) capables d'hydrolyser ces molécules. Parmi elles, les enzymes de type CTX-M constituent actuellement un véritable problème de santé publique de part leur dissémination mondiale et leur isolement préférentiel chez des bactéries virulentes retrouvées aussi bien à l'hôpital qu'en communautaire. Une meilleure connaissance des interactions moléculaires entre les béta-lactamines et ces béta-lactamases pourrait aider à lutter efficacement contre ces enzymes.

L'objectif de ce travail était donc d'analyser le premier et le dernier stade du processus catalytique des CTX-M. La structure de l'enzyme mutée inactive CTX-M-9 S70G a été obtenue à haute résolution en complexe avec différentes béta-lactamines permettant d'étudier d'une part la phase de reconnaissance du substrat (pénicilline G et céfotaxime) et d'autre part la phase précédant la libération du produit de l'hydrolyse (pénicilline G hydrolysée).

Il émerge de ces travaux : (i) la présence d'interactions conservées entre les enzymes de type CTX-M et les béta-lactamines au cours du processus catalytique, (ii) une densité importante de liaisons hydrogène et un élargissement de la poche catalytique permettant une reconnaissance et une accommodation optimale du céfotaxime, (iii) un mécanisme d'entrée des béta-lactamines dans le site actif probablement assisté par le résidu arginine 276, et (iv) un réarrangement moléculaire consécutif à l'hydrolyse du cycle béta-lactame favorisant un phénomène d'auto-expulsion de la béta-lactamine hydrolysée.

Ces travaux permettent donc de mieux comprendre les aspects moléculaires du mécanisme d'hydrolyse des béta-lactamines par les BLSE de type CTX-M et pourraient aider, à terme, à la conception de nouvelles molécules inhibitrices de ces enzymes ou de nouvelles béta-lactamines plus résistantes à leur action hydrolytique.

164/39o — 5 décembre 2008 - 09:15 - 343

Caractérisation moléculaire et biochimique de SHV-56, une nouvelle bêta-lactamase résistante aux inhibiteurs, isolée d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* d'origine clinique

V. Dubois[2-1], L. Poirel[3], C. Arpin[2], L. Coulange[2], L.A.A. Minarini[3], M.C. Bezian[1], P. Nordmann[3], C. Quentin[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Saint-André [2]UMR 5234, CNRS, Université de Bordeaux 2, Bordeaux [3]Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Inserm U914, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Une souche de *Klebsiella pneumoniae* Kp2792 a été isolée, en 2003, des urines d'une femme de 68 ans, hospitalisée à l'hôpital Saint-André (Bordeaux) pour un érysipèle de la jambe, après 1 mois et demi de traitement par Augmentin®. A l'antibiogramme, Kp2792 présentait un phénotype TRI (pénicillinase de type TEM résistante aux inhibiteurs) sans co-résistances à d'autres antibiotiques. La détermination des CMI a confirmé que la résistance aux pénicillines n'était pas significativement diminuée par l'acide clavulanique (amoxicilline ± clavulanate, CMI ≥ 4,096 mg/L). L'isoélectrofocalisation a montré la présence d'une seule β-lactamase de pI 7.6. Les essais de transfert de la résistance aux β-lactamines par conjugaison et d'extraction de l'ADN plasmidique sont restés sans succès. L'amplification par PCR à partir de l'ADN total des gènes codant pour des b-lactamases peu ou pas sensibles aux inhibiteurs était négative, sauf pour bla_{SHV}. Un Southern blot réalisé avec une sonde spécifique a montré la présence d'un seul gène bla_{SHV} de localisation chromosomique. Le clonage et le sous-clonage de ce gène dans le vecteur pBK-CMV après digestion par les enzymes EcoRI et BamHI ont permis d'obtenir le plasmide recombinant pSC1 conférant le même phénotype « résistant aux inhibiteurs » (RI) que la souche Kp2792. Le séquençage des amplicons obtenus à partir de la souche clinique et du plasmide pSC1 a mis en évidence un gène codant pour une nouvelle β-lactamase, SHV-56, qui diffère de SHV-1 par 2 substitutions, L35Q (caractéristique de la pénicillinase SHV-11) et K234R. Afin d'étudier cette dernière mutation, non rapportée à ce jour, la substitution K234R a été introduite par mutagénèse dirigée dans SHV-11. Le mutant obtenu possédait le phénotype RI attendu. Par ailleurs, les enzymes SHV-56 et SHV-11 ont été purifiées et leurs paramètres cinétiques ont été déterminés. L'analyse de ces paramètres a confirmé que la substitution K234R était associée à la résistance aux inhibiteurs.

En conclusion, la souche Kp2792 possédait un gène chromosomique bla_{SHV-56} codant pour une nouvelle β-lactamase résistante aux inhibiteurs, SHV-56. Cette enzyme dérive de SHV-11 par une seule substitution K234R, un nouveau site critique dans la résistance aux inhibiteurs pour les enzymes de type SHV.

165/39o — 5 décembre 2008 - 09:30 - 343

RTG-4 : première carbénicillinase à spectre étendu isolée chez *Acinetobacter baumannii*

A. Potron[2], L. Poirel[2], J. Croizé[1], C. Recule[1], V. Chanteperdrix[1], P. Nordmann[2]
[1]Bactériologie, CHU de Grenoble, Grenoble [2]Bactériologie, CHU de Bicêtre, Inserm U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objectifs de l'étude : L'isolement, en 2007 au CHU de Grenoble, d'une souche de *A. baumannii* KAR, présentant une résistance au céfépime et au cefpirome et paradoxalement une sensibilité intermédiaire à la ceftazidime, est à l'origine de cette étude.

Méthodes : La sensibilité aux antibiotiques de la souche KAR a été étudiée en réalisant des antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé à l'aide de disques contenant différents antibiotiques. Les concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées par E-tests. Les clonages ont été réalisés en utilisant un vecteur à nombre de copies élevé, pBK-CMV. Les plasmides ont été extraits par la méthode de Kieser.

Résultats : L'antibiogramme de la souche KAR présentait des images de synergie entre le céfépime et l'acide clavulanique, orientant vers la production d'une BLSE. La recherche de gènes de BLSE connus (bla_{TEM}, bla_{SHV}, bla_{VEB}, bla_{PER}) a été négative et le clonage de l'ADN total de la souche KAR a identifié un gène codant pour une carbénicillinase. RTG-4 diffère de la β-lactamase à spectre restreint RTG-3 par 4 substitutions en acides aminés. Les expériences de mutagénèse dirigée ont montré qu'une des substitutions, localisée à proximité de la sérine active de l'enzyme, est responsable de l'extension du spectre de RTG-4 vers le céfépime, le cefpirome et la ceftazidime. RTG-4 est plus résistante aux inhibiteurs de β-lactamases (tazobactam et sulbactam) que RTG-3. L'analyse de l'environnement génétique du gène bla_{RTG-4} a identifié un transposon particulier composé de deux séquences d'insertion différentes. IS*Aba9*, située en amont de bla_{RTG-4} serait responsable de la mobilisation de ce transposon par un mécanisme de «one-ended transposition». Ce transposon a été identifié sur un plasmide d'environ 50kb.

Conclusion : Cette étude a identifié la première carbénicillinase ayant des propriétés de BLSE. Comme décrit pour TEM ou SHV, une mutation dans la séquence d'une carbénicillinase peut être responsable de l'extension du spectre d'hydrolyse. La localisation plasmidique de bla_{RTG-4} peut faire craindre une dissémination de cette nouvelle b-lactamase à spectre élargi.

166/39o — 5 décembre 2008 - 09:45 - 343

Molecular characterization of AmpC-producing *Escherichia coli* clinical isolates recovered at two Belgian hospitals

P. Bogaerts[2], H. Rodriguez-Villalobos[1], C. Bauraing[2], C. Laurent[2], A. Deplano[1], C. Berhin[2], M. Struelens[1], Y. Glupczynski[2]
[1]Service de Bactériologie, Université libre de Bruxelles, Hôpital Erasme, Bruxelles [2]Service de Bactériologie, Université catholique de Louvain, Cliniques universitaires UCL Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

Purpose of the study: The aim of the study was to characterize the resistance mechanisms associated with an AmpC phenotype in *E.coli* clinical isolates.

Methods: Non-duplicate *E.coli* isolates recovered at two Belgian hospitals between 2004 and 2006 were selected on the basis of a resistant phenotype consistent with increased AmpC production. The presence of genes coding for plasmid-mediated AmpC cephalosporinases (pAmpC) and the existence of mutations in the chromosomal *ampC* genes (cAmpC) was studied by PCR and sequencing. Selected *ampC* chromosomal genes were cloned and the conferred resistance patterns were analyzed. The isolates were further submitted to phylotyping and genotyping analysis.

Results obtained: 83 out of 6850 *E.coli* isolates were selected. Of these, 72 (87%) were cAmpC overproducers and 11 (13%) pAmpC producers (10 bla_{CMY-2} genetically linked to IS*Ecp1* insertion sequence and 1 bla_{ACC-1} gene). No specific phenotypic traits of resistance could be used as discriminant marker between those resistance mechanisms. Among cAmpC overproducers, 12 (14.5% of all AmpC overproducing isolates) were extended-spectrum AmpC (ESAC) expressing isolates. Cloning and sequence analysis of a new extended-spectrum *ampC* allele suggested that a L293P mutation was responsible for the extension of the substrate spectrum to cefepime. cAmpC (including ESAC) expressing isolates belonged in majority to commensal non virulent phylogroup A and B1 while pAmpC producing isolates preferentially belonged to extra-intestinal virulent phylogroup B2 and D ($p<10^{-5}$).Ten out of the 12 ESAC isolates shared a high level (>95%) of rep-PCR profile similarity.

Conclusion: This is the first study of AmpC producing *E.coli* isolates in Belgium and the first report of ESAC producing strains outside of France. A similar percentage of ESAC and of pAmpC producing *E.coli* isolates was observed. We detected one new ESAC allele and one ESAC producing isolate belonging to a virulent extra-intestinal phylogroup D. These data underline the need for additional studies of the clinical relevance of these strains.

167/39o — 5 décembre 2008 - 10:00 - 343

Role of the Ser-287-Asn replacement in the hydrolysis spectrum extension of AmpC bêta-lactamases in *Escherichia coli*

H. Mammeri[2], M. Galleni[1], P. Nordmann[3]
[1]Center for Protein Engineering, Université de Liège, Liège, Belgique [2]Service de Bactériologie, CHU d'Amiens, Amiens [3]Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Inserm U914, CHU Paris Sud, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objectives: *Escherichia coli* is divided into four phylogenetic groups A, B1, B2, and D. *E.coli* isolates of the commensal digestive flora are mostly of the group A whereas *E.coli* isolates responsible for extraintestinal infections are mostly of group B2. The chromosome-borne *ampC* gene of *E.coli*, which codes for a cephalosporinase, exhibits three distinctive patterns matching with the phylogenetic groups A and B1, B2, and D. Recently, a novel mechanism of resistance, the extended-spectrum AmpC (ESAC) beta-lactamases, was described among *E.coli* clinical isolates of phylogenetic groups A or B1. These enzymes, which derived from chromosomal cephalosporinases by structural alterations, exhibit increased catalytic efficiency toward extended-spectrum cephalosporins (ESCs). This study was undertaken to elucidate the structural and functional modifications induced by the S287N replacement which is one of the most frequently amino acid change encountered in ESAC beta-lactamases.

Materials and methods: Two S287N variants were obtained by site-directed mutagenesis from wild-type cephalosporinases representative of the phylogenetic groups A and B2. A modeling study analysis was carried out using Deepview and Esypred softwares.

Results: Biochemical analysis revealed that S287N replacement lead to important increase of the catalytic efficiency toward ESCs in AmpC beta-lactamases of group A only. A modelisation study showed that the bulky side chain of Asn-287, which is located in the helix H-9, might create steric hindrances with the residue located at position 350 in the helix H-11, thus enlarging the R2 binding site.

Conclusions: These results showed that the natural polymorphism of cephalosporinases in *E.coli* may facilitate the emergence of resistance mutants among clinical isolates of phylogenetic group A and B1.

168/39o — 5 décembre 2008 - 10:15 - 343

Epidémiologie et caractérisation moléculaire d'isolats cliniques de *Escherichia coli* résistants aux céphalosporines de 3e génération sans production de BLSE

S. Corvec[1-2], D. Lepelletier[1-2], C. Leprince[1], S. Dauvergne[2], A. Reynaud[1-2], N. Caroff[1-2]
[1]Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière, CHU de Nantes [2]Université de Nantes, EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Nantes, France

Objet de l'étude : La résistance aux céphalosporine de 3ème génération a émergé dans le monde entier, en particulier avec les enzymes de type CTX-M. Deux autres mécanismes enzymatiques peuvent également expliquer la résistance à ces antibiotiques : l'hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique AmpC ou la présence d'une céphalosporinase plasmidique. Dans ce travail, nous avons caractérisé les b-lactamases AmpC produites par des souches cliniques de E.coli isolées sur une période de 3 ans.

Méthodes : Les isolats cliniques ont été sélectionnés sur la base du phénotype de résistance : CMI CAZ>64 mg/L et test de synergie négatif. Les mécanismes responsables de l'hyperproduction de l'enzyme chromosomique AmpC ou de la production d'une céphalosporinase plasmidique ont été étudiés par PCR et séquençage. Le groupage phylogénétique a été déterminé par PCR multiplex et les isolats ont été comparés par PCR-ERIC2.

Résultats : 22 souches ont été sélectionnées parmi 11940 isolées dans la période 2004-2006. 5 souches hyperproduisaient leur enzyme chromomomique en raison de mutations dans le promoteur et/ou l'atténuateur du gène ampC. Parmi elles, 3 étaient sensibles au céfépime et 2 étaient résistantes en raison de mutations d'acides aminés dans la protéine AmpC au niveau du site de liaison R2 (AmpC chromosomiques à spectre élargi, ESAC). 17 isolats produisaient une AmpC plasmidique (toutes de type CMY sauf une). Les isolats n'étaient pas reliés épidémiologiquement sauf 8 isolats de groupe phylogénétique B1 qui présentaient une délétion de 5 pb du gène ampC conduisant à une enzyme tronquée au niveau de l'AA 309.

Conclusion : Chez *E.coli,* l'hyperproduction de la céphalosporinase naturelle AmpC est très difficile à différencier phénotypiquement de la production d'une AmpC plasmidique. Cette étude moléculaire montre que la production d'une AmpC plasmidique est un mécanisme de résistance largement émergent et que la prévalence des ESAC reste faible au cours de cette période.

172/41o — 5 décembre 2008 - 09:00 - 352 A

Distribution des génotypes et résistance à la lamivudine du virus de l'hépatite B (VHB) chez des patients co-infectés par le VIH-1, originaires d'Europe et d'Afrique subsaharienne

N. Schnepf[1], C. Lafuente-Lafuente[2], I. Jarrin[2], G. Simoneau[2], J.D. Magnier[2], A. Trylesinski[3], P. Sellier[2], M.J. Sanson Le Pors[1], M.C. Mazeron[1]
[1]Bactériologie-Viologie [2]Médecine Interne, Hôpital Lariboisière [3]Laboratoire Gilead, Paris, France

La co-infection par le VHB et le VIH-1 est fréquente, en particulier en Afrique sub-saharienne où la prévalence de ces deux infections est élevée. Le génotype du VHB, l'antigénémie Hbe, la résistance à la lamivudine peuvent influencer l'évolution de l'hépatite.

Objectif : Etudier le rôle de ces facteurs chez des patients co-infectés par le VIH originaires d'Europe et d'Afrique subsaharienne

Résultats : Au total, 100 patients consécutifs infectés par le VIH-1, porteurs d'une hépatite B chronique et suivis pendant au moins 2 ans, ont été inclus. Ils ont été classés selon leur origine géographique en groupe 1 (35 patients originaires d'Europe) ou groupe 2 (65 patients originaires d'Afrique sub-saharienne). La cohorte incluait 39 femmes (14,3% des patients du groupe 1 et 52,3% des patients du groupe 2, p<0,001). La transmission des deux virus s'était faite majoritairement par voie homosexuelle dans le groupe 1, tandis que dans le groupe 2 l'infection périnatale ou horizontale dans l'enfance était le principal mode de transmission du VHB, le VIH-1 étant transmis par voie hétérosexuelle. Le génotype du VHB a pu être déterminé chez 63 patients ayant eu une charge virale suffisante au cours du suivi (30/35 du groupe 1 et 33/65 du groupe 2). Les patients du groupe 1 étaient infectés par les génotypes A (21), G (2), D (2), B (1), C (1) et E (3), tandis que les patients du groupe 2 étaient infectés par les génotypes E (24) et A (9). A l'inclusion, le nombre de patients positifs pour l'antigène Hbe était significativement plus élevé dans le groupe 1 (60,4%) que dans le groupe 2 (24,6%) (p=0,001). Quatre-vingt trois patients ont reçu de la lamivudine. Des mutations de résistance du VHB ont été recherchées chez 38 patients, et étaient présentes chez 19 (14 du groupe 1 et 5 du groupe 2). Les profils obtenus étaient L180M+M204V (9 patients), V173L+L180M+M204V (8 patients), et L180M+M204I (2 patients). Une maladie hépatique avancée a été diagnostiquée chez 19 patients au cours du suivi.

Conclusion : Les deux groupes différaient par le sexe ratio, la présence de l'antigène Hbe, le mode de transmission et le génotype prédominant du VHB. Ni le génotype, ni l'origine géographique n'étaient associés à une évolution défavorable de la maladie hépatique.

173/41o — 5 décembre 2008 - 09:15 - 352 A

Identification en Algérie d'un nouveau sous-type au sein du génotype D du virus de l'hépatite B

V. Thibault[2], S. Sayon[2], F. Khelifa[1]
[1]*Virologie, Institut Pasteur d'Algérie, annexe de Constantine, Constantine, Algérie* [2]*Virologie Pitié-Salpêtrière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France*

La diffusion du virus de l'hépatite B de par le monde se traduit par une répartition inhomogène des 8 génotypes (A-H) décrits à ce jour. La prévalence de chacun des génotypes dans chaque région est directement liée aux migrations humaines et aux modes de contaminations.

Objet de l'étude : Le but de notre étude était de caractériser sur le plan moléculaire les souches de VHB de génotype D circulant en Algérie et de les comparer par rapport aux souches de même génotype décrites dans d'autres régions du monde.

Méthodes : L'étude porte sur 70 prélèvements obtenus chez des porteurs chroniques du VHB du nord-est algérien. Des analyses phylogéniques ont été réalisées sur 70 séquences couvrant une partie de la polymérase et la protéine S et sur 5 génomes complets. Les principaux paramètres phylogéniques ont été calculés au moyen du programme MEGA 4. Les motifs spécifiques ont été recherchés.

Résultats obtenus : L'analyse d'un fragment de 600nt. couvrant le gène S et une partie de POL des 70 souches algériennes indique un regroupement phylogénétiquement distinct des séquences de génotype D disponibles sur Genbank. Le cadre de lecture de l'Ag HBs révèle l'appartenance de ces souches au sérotype ayw2 sans autre particularité. Par contre des motifs particuliers existent au niveau de la polymérase en position rtP237T et rtL451I. La phylogénie après séquençage du génome complet de 5 souches confirme ces données avec un regroupement des souches algériennes distinct des sous types 1 à 5 décrits pour le génotype D. La divergence intra-groupe de ce nouveau sous type est de 2.3% comparable à celle observée pour les autres sous-types et il diverge de 3.9 à 4.6% des autres sous type D. Une analyse par régions codantes retrouve la classification du nouveau sous type pour l'HBs et la polymérase mais un regroupement avec le génotype E pour le gène Core et en moindre mesure pour le gène X.

Conclusion : Les souches de génotypes D circulant en Algérie appartiennent à un nouveau sous type du VHB résultant très certainement d'une recombinaison originale entre le génotype D et E dans la région codant la capside. Cet évènement recombinant pourrait s'expliquer par un brassage des souches du pourtour méditerranéen de type D et africaines de type E.

174/41o — 5 décembre 2008 - 09:30 - 352 A

Impact de l'hépatite Delta sur la fibrose hépatique mesurée par élastométrie impulsionnelle

F. Lunel Fabiani[1], W. Mansour[1], X. Causse[3], I. Fouchard Hubert[2], A. Ducancelle[1], F. Dubois[4], S.N. Si Ahmed[3]
[1]*Laboratoire de Virologie* [2]*Service d'Hépato-Gastroentérologie, Centre Hospitalo-Universitaire d'Angers, Angers* [3]*Service d'Hépato-Gastroentérologie, Centre Hospitalier Régional d'Orléans, Orléans* [4]*Laboratoire de Virologie, Centre Hospitalo-Universitaire Bretonneau, Tours, France*

Introduction : L'évaluation de la fibrose hépatique par élastométrie impulsionnelle (Fibroscan®-Echosens) a été évaluée dans les hépatites B et C. La prévalence de l'hépatite Delta est faible dans les pays de l'Europe de l'Ouest, élevée dans les pays de l'Europe de l'Est, en Afrique et en Asie. Nous avons essayé d'évaluer l'impact de la coinfection par le virus Delta sur la fibrose hépatique mesurée par élastométrie impulsionnelle sur une petite série de patients mauritaniens (66) vus en consultation dans le cadre d'une ONG.

Méthodes : Nous avons comparé des patients atteints d'hépatite B et des patients atteints de coinfection B Delta par une évaluation clinique, par une évaluation biologique et par élastométrie impulsionnelle. Nous avons inclus 18 patients atteints d'hépatite B et 23 patients atteints de coinfection B-Delta qui rentraient dans les critères validant la mesure de l'élastométrie (plus de 60% de mesures concordantes). Ces patients ont été inclus en 3 jours entre le 07 mai 2007 et le 10 mai 2007.

La variable à expliquer était donc la valeur de l'élastométrie exprimée en KPa. La variable explicative était la coinfection par le virus Delta appréciée par la présence d'anticorps anti-Delta. Il s'agissait d'une étude pilote avec une analyse statistique sur Stat View.

Résultats :

	VHB	VHD	P
Patients	18	23	
Homme/Femme	13/5	19/4	NS
Age (ans)	35	40	0,212
ALAT (UI/l)	21,5	42,3	0,014
ASAT (UI/l)	15,6	35,3	0,004
APRI	0,141	0,566	0,043
Fibroscan (KPa)	**5,8**	**10,2**	**0,034**

L'élastométrie a été facilement réalisée chez la plupart des patients exceptés chez quatre patients dont deux avaient une ascite, un avait une tumeur hépatique et le dernier avait un surpoids. La population était homogène sans comorbidité (en dehors du patient avec un surpoids, il n'y avait pas de consommation d'alcool). L'élastométrie était significativement plus élevée chez les patients coinfectés. La recherche de l'ARN Delta était positive chez 9/23 patients coinfectés par le virus Delta. Les résultats du Fibromètre montraient également des scores de fibrose plus élevés chez les patients coinfectés par le virus de l'hépatite Delta.

Conclusion : Les patients coinfectés par les virus B et Delta ont une fibrose significativement plus importante que les patients mono-infectés par le virus de l'hépatite B, la fibrose étant mesurée par élastométrie impulsionnelle ou par des marqueurs sanguins non invasifs (APRI, Fibromètre). Ces résultats constituent une pré-étude réalisée au sein d'une association de patients. Une étude épidémiologique de plus large envergure en milieu hospitalier, et en collaboration étroite avec les Médecins hospitaliers mauritaniens, en Centre de Santé chez les donneurs de sang et les femmes enceintes, coordonnée par l'ANRS, est actuellement en cours pour évaluer l'épidémiologie et l'histoire naturelle de l'hépatite B et Delta dans ce pays de forte endémicité. Les marqueurs non invasifs de fibrose hépatique seront des outils importants dans cette évaluation.

175/41o — 5 décembre 2008 - 09:45 - 352 A

Tropisme leucocytaire du virus de l'hépatite C étudié par analyse bio-informatique des séquences des gènes des glycoprotéines d'enveloppe virales E1 et E2

R. Moenne-Loccoz[3], S. Fafi-Kremer[3-4], J. Lupberger[3], B. Ellero[1], M.L. Woehl-Jaegle[1], P. Wolf[1], M. Doffoel[2], J.P. Gut[3-4], T. Baumert[3-2], F. Stoll-Keller[3-4], E. Schvoerer[3-4]
[1]*CHRU, Centre de Transplantation* [2]*CHRU, Hépato-gastro-entérologie* [3]*Inserm U748* [4]*CHRU, Laboratoire de Virologie, Strasbourg, France*

Objet de l'étude : Le tropisme leucocytaire du virus de l'hépatite C (VHC) et son interférence avec le système immunitaire favoriseraient la persistance virale et ses complications. La compartimentation des quasi-espèces virales entre leucocytes et plasma (les quasi-espèces plasmatiques constituant un bon reflet des variants présents au sein des hépatocytes), définie par la présence de variants viraux distincts dans les 2 compartiments, est un argument en faveur du leucotropisme viral. Notre objectif est de caractériser les variants viraux des leucocytes sanguins par séquençage des gènes entiers des glycoprotéines d'enveloppe virales E1 et E2, ces glycoprotéines étant essentielles à l'interaction virus/récepteurs cellulaires.

Méthodes : Un patient greffé du foie pour cirrhose liée au VHC (génotype 1b) a été choisi d'après une étude précédente montrant une compartimentation des variants sur la région hypervariable HVR1 de E2. Le plasma et les cellules mononucléées sanguines ont été collectés en pré-greffe et 7 jours après. Les quasi-espèces du VHC ont été analysées par clonage/séquençage des gènes entiers codant les glycoprotéines E1 et E2 (10 clones par date et par compartiment), puis par outils bio-informatiques : recherche d'acides aminés conservés ou spécifiques (« signatures ») des leucocytes, arbres phylogénétiques étudiant la compartimentation des variants viraux.

Résultats : La compartimentation des variants a été observée par la mise en évidence d'un regroupement significatif (bootstrap 100%) de variants leucocytaires sur l'arbre phylogénétique.

Les variants viraux présentent des acides aminés spécifiques des leucocytes, dans HVR1 mais également en dehors de la région HVR1 : *Asp* (versus *Asn*) et *Arg* (versus *Ser*) dans HVR1 ; *Val* (versus *Ala*) et *Ala* (versus *Val*) dans le domaine ectomembranaire de E1 ; *Asp* (versus *Asn*) en position 570 de E2. En revanche, certains résidus sont stables pour l'ensemble des séquences étudiées, et en particulier sur un segment ciblé par un anticorps neutralisant (AP33).

Conclusion : Nos analyses des glycoprotéines d'enveloppe E1 et E2 suggèrent une sélection de variants viraux leucotropes qui pourraient présenter des avantages moléculaires au sein de E1 et de E2 favorisant le tropisme leucocytaire du VHC.

176/41o — 5 décembre 2008 - 10:00 - 352 A

Impact of antiviral treatment on noninvasive predictors of liver fibrosis in HIV-HCV co-infected patients: the Fibrovic 2 Study-ANRS HC02

P. Halfon[4], F. Carrat[7], P. Bédossa[1], J. Lambert[7], G. Pénaranda[3], C. Perronne[2], S. Pol[5], P. Cacoub[6]
[1]*Anatomopathologie, Hôpital Beaujon, Clichy* [2]*Maladies Infectieuses, Hôpital Raymond Poincaré, Garches* [3]*Biostatistiques, CDL Pharma* [4]*Laboratoire Alphabio, Marseille* [5]*Hépatologie, Hôpital Cochin* [6]*Médecine Interne, Hôpital Pitié-Salpêtrière* [7]*UMR 7087, Université Paris 6, Paris, France*

Background: Non invasive liver fibrosis scores have been proposed as alternatives to liver biopsy (LB) in HCV-infected patients.

Aim: To assess the impact of antiviral treatment on non invasive serological markers of liver fibrosis in HIV-HCV patients.

Methods: We included 114 HIV-HCV co-infected patients with a LB performed before (LB1) and six months after the end of treatment (Week 72 (W72)). Fibrotest (FT), Forn's index, age-platelet ratio index (APRI), SHASTA, Fib4, Hepascore (HS), and Fibrometer (FM) were assessed. There were 29 (25%) sustained virological responders (SVR) to treatment.

Results: At baseline (BL), all noninvasive fibrosis scores except the Forn's index did not show significantly lower values in SVR patients. At W72, all noninvasive scores showed a significant decrease in SVR patients ($p<0.01$. There was no difference of fibrosis stage on LB between BL and W72 in SVR or non-SVR patients. SVR patients had a significant decrease of necroinflammatory activity on LB between BL and W72.

Conclusion: In HIV-HCV patients, HCV clearance is associated with a

significant reduction in non invasive fibrosis serological markers, which most likely reflect the histological improvement associated with SVR. If confirmed, such results will reinforce the reliability of these markers in the follow-up after HCV treatment.

177/41o — 5 décembre 2008 - 10:15 - 352 A

Une augmentation des posologies de ribavirine entraîne une augmentation de concentrations sériques chez les coinfectés VIH/VHC

F. Almasi[4], G. Spiridon[4], V. Jullien[1], J.M. Meritet[2], P.H. Pol[3], P.H. Sogni[3], D. Salmon[4]
[1]Laboratoire de Pharmacologie [2]Laboratoire de Virologie [3]Service d'Hépatologie [4]Service de Médecine interne, Hôpital Cochin, Paris, France

Objet d'étude : Dans le cadre de traitement de l'hepatite C chez les patients Co-infectés VIH et VHC la posologie optimale de ribavirine varie en fonction du poids du patient et du génotype du VHC. L'objectif de cette étude était d'évaluer la relation entre une augmentation de la posologie de ribavirine et l'augmentation des concentrations sériques ainsi que la relation concentration-toxicité d'une part et concentration-efficacité d'autre part.

Méthodes : Nous avons mesure la concentration sérique de ribavirine chez 20 patients débutant un traitement de l'hépatite C par interferone pégylé et ribavirine (800-1200 mg/j). A M1, en cas de concentration inférieur à la concentration thérapeutique cible (définie à 2.2 microgrammes/ml), la posologie de ribavirine était augmentée de 200 mg/j (sans dépasser 1200mg/j).

Résultats : La concentration sérique moyenne de ribavirine à M1 était 1.96 µ/ml (extrêmes : 0.8-5.2).13/20 patients (65%) avaient une concentration <2.2 µg /ml, en moyenne de 1.4 µg/ml. Chez 9 patients sur 13, la posologie de ribavirine a été augmentée de 200 mg/j, s'accompagnant dans 8 cas sur 9 d'une augmentation de la concentration sérique de ribavirine d'en moyen 0.52 µg/ml, 50%des patients ont dépassé le seuil de 2.2 µg/ml. Cependant, malgré une augmentation de la concentration de ribavirine, 4 patients n'ont avaient le taux thérapeutique. Une chute d'hémoglobine de 2 g/dl en moyenne a été constatée chez tous les patients. Elle était plus marquée pour les patients ayant une concentration > 2.2 µg/ml que ceux ayant une concentration < 2.2 µg/ml (2.3 g/dl versus 1.6 g/dl respectivement). Il n'y avait pas de relation entre la concentration sérique de la ribavirine et la réponse virlogique précoce ni soutenue.

Conclusion : Si l'augmentation de la posologie de la ribavirine entraine une augmentation de la concentration, celle-ci reste dans 50% des cas insuffisante pour atteindre le taux thérapeutique. Il serait préférable pour atteindre la concentration thérapeutique de prescrire d'emblée des posologies élevées et rapportées au poids mais celles-ci s'accompagnent plus souvent d'anémie.

178/43o — 5 décembre 2008 - 09:00 - 353

Impact d'une équipe mobile d'antibiothérapie (EMA) sur la prise en charge des bactériémies

S. Diamantis[4-2], C. Rioux[2], G. Defrance[2-1], L.L. Pham[2-1], E. Papy[3], A. Andremont[1], E. Bouvet[2], P. Yéni[2], J.C. Lucet[4]
[1]Laboratoire de microbiologie [2]Service de maladies infectieuses et tropicales [3]Service de pharmacie [4]Unité d'hygiène, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

Introduction : Bien que les EMA soient recommandées en France, elles sont encore peu implantées et leur impact a rarement été évalué.

Objectif : Mesurer l'impact du passage systématique de l'EMA dans la journée du rendu d'une hémoculture positive (Hc+) sur l'adéquation de l'antibiothérapie (ABT) dans un hôpital universitaire de 950 lits.

Méthodes : Analyse prospective durant 6 mois des bactériémies significatives (BS, excluant les contaminants) hors réanimation. Le laboratoire de bactériologie téléphonait au service la positivité des Hc et souvent donnait un conseil antibiotique, dans tous les cas avant l'intervention de l'EMA. L'ABT prescrite par le service était évaluée (et modifiée si besoin) lors du passage de l'EMA : elle était considérée **efficace** en cas de traitement par un antibiotique actif sur l'antibiogramme, et **adaptée** si conforme aux recommandations locales, en fonction de l'examen direct et du contexte clinique.

Résultats : Sur 789 Hc+, 280 étaient des épisodes de BS dont 183 étaient observés hors réanimation et 174 audités (109 communautaires et 65 nosocomiaux). 26 épisodes (15%) n'ont pas pu être évalués ni conseillés : 10 sorties précoces, 12 interventions non souhaitées, 4 audités trop tardivement. Dans 58 cas (33%), le service avait déjà initié une ABT efficace et adaptée. Dans 90 cas (52%), l'EMA est intervenue en initiant un traitement ou en le modifiant car inefficace (n=55, 32%), ou en adaptant un traitement efficace (n=35, 20%). L'ABT conseillée par l'EMA n'a jamais été inefficace. L'EMA est intervenue le jour du rendu de l'Hc+ pour 64 (71%) des 90 cas, 9 fois le jour précédent (10%), 17 fois un jour suivant (19%).

Conclusion : L'EMA est intervenue dans 81% des épisodes de BS hors réanimation. Cette intervention a été utile dans 90 des 148 cas (61%) des épisodes audités et évalués, en permettant d'initier ou d'adapter l'ABT le plus souvent le jour du rendu par le laboratoire de bactériologie de l'Hc+. La poursuite du recueil sur un an permettra de présenter des facteurs associés à une ABT adaptée.

Tableau récapitulatif :

Action de l'EMA	ABT prescrite par le service avant le passage de l'EMA (N=174)			Total
	Non prescrite ou inefficace	Efficace mais non adaptée	Adaptée	
Conseil non évaluable	7	19	0	26
Evaluation (adaptation)	55 (55)	35 (35)	58 (0)	148 (90)

179/43o — 5 décembre 2008 - 09:15 - 353

Que deviennent les antibiothérapies instaurées avant l'hospitalisation ou aux urgences ? : à propos de l'analyse d'une cohorte de 747 patients hospitalisés en médecine interne

S. Robaday[1-2], M. Etienne[1], H. Levesque[2], F. Caron[1]
[1]Infectiologie [2]Médecine Interne, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

Rationnel et but de l'étude : Avec les recommandations de bon usage et d'évaluation des pratiques professionnelles, les audits sur l'antibiothérapie (AB) se multiplient. Cependant, la plupart des enquêtes sont transversales (analyse un jour donné). De nombreux traitements étant initiés en ville ou dans le Service d'Accueil et d'Urgences (SAU), le but a été d'analyser longitudinalement la prescription de l'AB chez les patients admis en Médecine Interne (MI).

Méthode : Etude rétrospective de l'ensemble des patients hospitalisés en MI durant 3 mois ; analyse de la pertinence des prescriptions et des non prescriptions en ville, puis au SAU, puis en MI, comparativement au POPI, référentiel de l'établissement.

Résultats : Sur les 747 hospitalisations en MI, 620 (83%) provenaient du SAU ; 299 (40%) avaient reçu une AB à un moment donné, dont 165 (55%) avant la MI, essentiellement au SAU (n=105). Les infections respiratoires (45%) et urinaires (25%) dominaient.

Des examens microbiologiques ont été pratiqués pour 72% des patients (ECBU pour 45% d'eux, hémocultures pour 40%). L'infection a été documentée pour 14%.

Il a été observé 129 changements de thérapeutique (43% des cas), avec par le plus souvent 1 seul changement (n=82, soit 63%), mais jusqu'à 6 (n= 3, soit 2%) par dossier. Les bithérapies étaient plus fréquentes en MI (43%) qu'au SAU (19%). Les taux de conformités étaient globalement identiques avant et durant l'hospitalisation en MI :

	AB pré MI : n=165	**AB en MI : n=290**
Absence d'AB à tord	2%	0%
AB à tord	7%	8%
Délai d'instauration/adaptation satisfaisant	96%	90%
Molécule(s) adaptée(s)	69%	73%
Posologie adaptée	91%	85%
Durée adaptée **Trop longue** **Trop court**	Ne s'applique pas	68% 24% 8%
Conformité globale	**54%**	**49%**

Conclusion : Dans cette étude, les antibiothérapies initiées en pré hospitalier et aux urgences étaient fréquemment modifiées (43% des cas), mais ceci n'améliorait pas le taux de conformité globale, demeurant autour de 50%.

180/43o — 5 décembre 2008 - 09:30 - 353

Pertinence de la prescription des antibiotiques en soins de suite et réadaptation

A. Akpabie[6-5], S. Al Rifai[4], T. Cepisul[2], A. Droulers[2], S. Etienne[1], R.J. Eyoka[2], K. Giraud[4], S. Lakroun[3], S. Lebesgue[3], B. Moussa[2], H. Naga[3], M. Ouwehand[2], M. Oudjhani[7], D. Schacre[1], N. Slimane[2], V. Veauclin[4], J. Verdavainne[1], C. Jeronimo[5]
[1]Gérontologie 1 [2]Gérontologie 2 [3]Gérontologie 3 [4]Gérontologie 4 [5]Hygiène hospitalière [6]Microbiologie [7]Pharmacie, Hôpital Emile Roux AP-HP, Limeil-Brévannes, France

Evaluation des pratiques professionnelles (EPP), Référence 40, Critère 40a de la Certification V2007.

Objectif : Augmenter le taux de réévaluation entre 24 et 72 heures des antibiothérapies systémiques en soins de suite et réadaptation (SSR).

Méthodologie : - Méthode: Audit clinique; observation des dossiers de patients. Référentiel: Circulaire 2002-272 du 2 mai 2002 relative au bon usage des antibiotiques dans les établissements de santé. Période: 15 jours, du 17 septembre au 1er octobre 2007. Périmètre du projet d'évaluation: Secteurs d'activité des SSR. Population de patients et traitements antibiotiques inclus: Malade en hospitalisation complète recevant une antibiothérapie systémique instaurée par un médecin de l'hôpital pendant la période de l'étude. Etat des lieux: Le traitement a été réévalué entre 24 et 72 heures dans 59% des cas (41/79). Axe d'amélioration: Atteindre un taux de 100% de réévaluation des traitements antibiotiques systémiques entre 24 et 72 heures tracée dans le dossier du patient en SSR. Indicateur de suivi: Taux de réévaluation du traitement entre 24 et 72 heures. Modalités de suivi: Si au moins température, examen clinique, CRP ou NFS est réalisé. Nouvelles évaluations: Sur des périodes de 15 jours en janvier et avril 2008.

Résultats : Taux de réévaluation entre 24 et 72 heures: période 1: 59%, période 2: 88%, période 3: 95%.

Conclusion : Objectif atteint. Suivi annuel de l'indicateur. Explorer un nouveau sujet d'EPP.

181/43o — 5 décembre 2008 - 09:45 - 353

Evaluation de l'antibiothérapie des pneumopathies communautaires dans un CHU

H. Gil[1], F. Grenier[1], J. Leroy[2], N. Meaux Ruault[1], C. Hafsaoui[1], N. Magy Bertrand[1]
[1]Médecine Interne, CHU Jean Minjoz [2]Maladies Infectieuses, CHU Saint Jacques, Besançon, France

Objet : Comme de nombreux établissements, le CHU de Besançon dispose d'un référentiel de prise en charge des pneumopathies communautaires (PAC). Ces recommandations font l'objet d'une présentation semestrielle aux internes. Le but de ce travail est d'évaluer leur application ainsi que celles de la SPILF dans la prise en charge des PAC admises au service d'accueil et d'urgence (SAU).

Méthodes : il s'agissait d'une étude rétrospective menée entre mai 2007 et mai 2008 et portant sur les patients admis au SAU du CHU de Besançon pour une PAC puis hospitalisés dans le service de Médecine Interne (MI). La présence d'un foyer clinique et/ou radiologique a été étudiée ainsi que le dosage des leucocytes et de la protéine C réactive (CRP). Le score de Fine a été calculé pour chaque patient. Les prescriptions d'antibiotiques ont été confrontées aux recommandations locales et à celles de la SPILF pour le SAU et le service de MI.

Résultats : cent dossiers de patient ont été examinés (58 femmes et 42 hommes). L'âge moyen était de 79 +/- 11 ans [37-102]. Quatre-vingt-onze patients avaient un foyer clinique, 73 avaient un foyer radiologique et 68 présentaient un foyer radiologique et clinique. L'antibiothérapie proposée au SAU était conforme aux recommandations de la SPILF dans 46% des cas et au référentiel local dans 31% des cas. Trente patients n'avaient pas eu de prescription d'antibiotique au SAU et 42 prescriptions étaient hors référentiel. Après l'admission en MI, 35 prescriptions ont été modifiées ainsi que 4 modifications de posologie. Au final, par rapport au SAU, les prescriptions en MI étaient conformes aux recommandations locales (61% des cas) et de la SPILF (65% des cas) ($p<0,05$). Six patients gardaient une prescription hors référentiel en MI.

Conclusion : ce travail souligne l'importance des référentiels mais la difficulté de leur application. Malgré des séances de formations semestrielles auprès des internes, le SAU souffre de l'hétérogénéité des intervenants (internes et séniors) et de l'absence d'un référent permanent. Les bons résultats obtenus dans le service de MI découlent d'une formation de terrain s'appuyant sur la discussion de l'antibiothérapie au staff avec un sénior référent.

182/43o — 5 décembre 2008 - 10:00 - 353

Maîtrise de la consommation des antibiotiques dans un hôpital de gériatrie : un bilan sur 7 ans

C. Bonnal[7-2], B. Baune[3], S. Saad[5], R. Cotteret[4], N. Tuyindi[3], L. Armand-Lefèvre[1], Z. Boudiaf[6], Y. Wolmark[4], O. Drunat[5], J.C. Lucet[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie [2]UHLIN, Hôpital Bichat-Claude Bernard [3]Pharmacie [4]Service de Gériatrie [5]Service de Psychogériatrie [6]Service de Radiologie [7]Unité d'Hygiène, Hôpital Bretonneau, Paris, France

Objectifs : Evaluer l'action de l'équipe d'hygiène, du service de pharmacie et du CLIN en terme de maîtrise de la consommation des antibiotiques (ATB)

Matériels et méthode : Depuis l'ouverture en 2001, le bon usage des ATB est une priorité de cet hôpital gériatrique de 197 lits (31 aigu, 61 SSR, 105 SLD). Un praticien hygiéniste/référent antibiotique (0.3 ETP) et un pharmacien senior assurent le contrôle de la prescription des ATB (informatisée), la rédaction du référentiel de traitement des infections et sa réactualisation, la formation des prescripteurs et les enquêtes sur le traitement ATB des infections (urinaires en 2003, 2004, 2005, respiratoires en 2006, 2008), et le suivi des bactériémies. Parallèlement, la consommation des ATB est suivie par le pharmacien et l'incidence des BMR (SARM, EBLSE) est calculée par le microbiologiste. Un cadre hygiéniste (0.5 ETP) participe conjointement à cette action en particulier pour la maîtrise de la diffusion des BMR.

Résultats : Alors que l'activité globale de l'hôpital n'a cessé de croître entre 2001 et 2007 (tableau), la consommation d'ATB a diminué (222 à 147) ainsi que le taux de SARM (0.6 à 0.21). Le taux d'Entérobactéries BLSE (EBLSE) est resté relativement stable (0.04 à 0.21) comme celui des bactériémies (0.11 à 0.28, max : 0.45). Les enquêtes sur les infections urinaires ont permis une réduction de la consommation des ATB dans cette indication (21% sur un an en 2005), associée à une réduction durable de la consommation des fluoroquinolones (FQ) de 26 à 11. La surveillance des infections respiratoires a montré que le référentiel ATB était connu et appliqué dans 90% des cas.

Conclusion : Malgré des moyens en personnel limités, la consommation des ATB a pu être diminuée d'un tiers tout en limitant la diffusion des BMR, et sans incidence notable sur le taux des bactériémies.

Tableau : Les indicateurs suivis sur l'établissement entre 2001 et 2007 :

	2001	2002	2003	2004	2005	2006	2007
Nombre de JH > 24 H	19882	57429	63707	70999	69530	72187	71554
Admissions	292	613	809	802	931	942	1221
Nbre de prlvts microbio /1000JH	16.4	17.1	14.4	13.0	15.4	14.5	22.7
ATB (DDJ/1000JH)	**222**	**206**	**197**	**143**	**172**	**134**	**147**
FQ (DDJ/1000 JH)	**26**	**21**	**14**	**11**	**12**	**14**	**11**
Bactériémies/1000JH	0.15	0.28	0.11	0.20	0.45	0.26	0.22
SARM/1000JH	0.60	0.47	0.36	0.36	0.18	0.39	0.21
EBLSE/1000JH	0.10	0.04	0.06	0.04	0.07	0.21	0.08

199/48o — 5 décembre 2008 - 11:00 - 343

Un nouvel élément génétique, IMU, source de mobilité de gènes de résistance aux antibiotiques

L. Poirel[2], A. Carrer[2], J. Pitout[1], P. Nordmann[2]
[1]Department of Pathology and Laboratory Medicine, University of Calgary, Calgary, Canada [2]Inserm U914, Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicetre, France

Objet de l'étude : Les gènes de résistance aux antibiotiques disséminent prinicipalement par l'intermédiaire de plasmides, d'intégrons (sous la forme de gène cassettes), et de transposons chez les Gram négatifs. Notre étude a été initiée par l'isolement d'une souche de Enterobacter cloacae résistante à toutes les ß-lactamines, y compris aux carbapénèmes, dans laquelle un gène de carbapénèmase encadré de structures génétiques nouvelles a été identifié. Méthodes. Les gènes de résistance (BLSE, carbapénémases) ont été recherchés par PCR. Les structures génétiques encadrant les gènes de BLSE ont été obtenues par clonage.

Résultats : E. cloacae CHE-2 a été isolé chez un patient hospitalisé à Calgary, Canada. La souche était résistante à toutes les ß-lactamines, y compris imipénème, méropenème et ertapénème (CMIs > 32 µg/ml). Les expériences de conjugaison ont permis d'identifier deux plasmides conférant une résistance aux ß-lactamines. L'un possédait le gène codant la BLSE SHV-5, le second le gène codant pour GES-5, un mutant ponctuel de la BLSE GES-1 hydrolysant les carbapénèmes et les céphamycines, et faiblement inhibé par l'acide clavulanique. Le gène blaSHV-5 se trouvait sur un plasmide de 150 kb alors que le gène blaGES-5 était sur un petit plasmide de 7 kb. Le séquençage total de ce plasmide pCHE-A a permis d'identifier de nouvelles structures génétiques nommées IMU (Integron-Mobilization Unit), appartenant à la famille des Eléments Transposables Miniatures Inversés (MITE). Deux éléments IMUs (longs chacun de 377 pb) ont été identifié de part et d'autre d'un intégron de classe 1 formant ainsi une structure composite. Cet intégron de classe 1 contenait le gène de résistance aux carbapénèmes blaGES-5. La mobilisation de cette structure composite a été démontrée in vitro sous l'action d'une transposase agissant en trans.

Conclusion : Cette étude a permis l'identification d'un nouvel élément génétique à l'origine de la mobilité des gènes. Son mode de mobilisation nécéssite l'action à distance d'une transposase. Ceci constitue donc la mise en évidence d'un nouvel élément de plasticité génétique, ayant une implication entre autre dans le transfert de déterminant de résistance aux carbapénèmes.

200/48o — 5 décembre 2008 - 11:15 - 343

Modulation de l'expression d'une Bêta-lactamase à spectre étendu sous traitement antibiotique

D. Hocquet[2-1], M. Thouverez[2-4], F. Legrand[3], X. Bertrand[2-4], P. Plésiat[2-1]
[1]Bactériologie [2]CNR Résistance aux antibiotiques, Laboratoire associé P.aeruginosa [3]Hématologie [4]Hygiène hospitalière, CHU, Besançon, France

Objet de l'étude : Au cours d'une épidémie impliquant des *Pseudomonas aeruginosa* multi-résistants exprimant une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE), une importante variation du niveau de résistance aux bêta-lactamines a été observée. Le but de cette étude était de déterminer le mécanisme génétique ayant permis une telle modulation.

Méthodes : Huit isolats ont été obtenus de 7 patients hospitalisés dans les services d'hématologie du CHU de Besançon entre 2004 et 2007. Le caractère clonal de ces isolats a été déterminé par electrophorèse en champ pulsé (ECP). Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été mesurées par la technique de dilution en agar. La BLSE a été identifiée par isoélectrofocalisation et séquençage de son gène. L'environnement génétique de la BLSE a été déterminé par séquençage. L'expression des gènes a été déterminée par PCR en temps réel après transcription inverse.

Resultats obtenus : Les résultats de l'ECP ont confirmé le caractère clonal des 8 isolats. Cette souche épidémique exprimait la BLSE de classe D Oxa-28 (responsable d'une résistance à la ceftazidime - CAZ), dont le gène faisait partie d'un intégron de classe 1 porté par un plasmide. Curieusement, 6 patients ont d'emblée été infectés ou colonisés par des isolats épidémiques résistants à la CAZ (CAZ-R ; CMI, 128 µg/ml) tandis que le dernier patient a d'abord été infecté par un isolat épidémique de résistance intermédiaire à la CAZ (CAZ-I ; CMI, 16 µg/ml) devenant résistant après 8 jours de traitement par la CAZ en monothérapie. La résistance modérée à la CAZ était liée à une réduction de l'expression du gène *oxa-28* de 6 fois chez l'isolat CAZ-I par rapport à l'isolat CAZ-R. Cette réduction d'expression était due à l'insertion d'une cassette de 319-pb immédiatement en amont du gène cassette *oxa-28*. L'excision de cette séquence chez le patient en cours de traitement, facilement reproduite *in vitro* sous pression de sélection par la CAZ, a restauré le niveau d'expession du gène *oxa-28* et la résistance complète à la CAZ.

Conclusion : Ces résutats montrent pour la première fois que l'expression d'une BLSE peut être modulée chez un patient sous traitement antibiotique par un mécanisme d'insertion/excision d'une cassette en amont du gene codant pour la bêta-lactamase.

201/48o — 5 décembre 2008 - 11:30 - 343

Contributions des sites *attC* à l'expression du second gène cassette dans les intégrons de classe 1

H. Jacquier[3], D. Mazel[2], C. Zaoui[3-1], M.J. Sanson Le Pors[3], B. Berçot[3]
[1]Chronic Pseudomonas Infection Research Group, Helmholtz Center for Infection Research, Inhoffenstrasse 7, D-38124, Braunschweig, Allemagne [2]Institut Pasteur, Unité Plasticité du Génome Bactérien, CNRS URA2171, Département Génomes et Génétique [3]Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris VII, Paris, France

Objet de l'étude : Les intégrons sont des éléments génétiques ayant la capacité de porter, de capturer et d'exprimer des gènes de résistance aux antibiotiques sous forme de gènes cassette. Les sites de recombinaison *attC*, sont connus pour adopter une structure secondaire stable en simple brin nécessaire pour leur recombinaison. Dans cette étude, nous avons voulu évaluer l'impact de la structure du site *attC* sur l'expression du second gène cassette, *aac(6')-Ib*$_7$, codant une aminoglycoside 6'-*N*-acetyltransferase, inséré en aval du gène cassette *bla*$_{IMP-8}$ dans un intégron de classe 1.

Méthodes : Un fragment de 1.3 kb contenant le gène *bla*$_{IMP-8}$ et la partie 5' proximale du gène *aac(6')-Ib*$_7$ a été cloné dans le vecteur pSP-luc modifié. Le gène *aac(6')-Ib*$_7$ a été fusionné en phase avec le gène de la luciférase, *luc*. Puis le site *attC* du gène *bla*$_{IMP-8}$ a été substitué par différents sites *attC* naturels et mutés de tailles et de structures secondaires variées (technique de PCR par chevauchement). Les plasmides obtenus ont été électroporés dans *Escherichia coli* Top10 et l'expression du second gène a été évaluée par le dosage de l'activité luciférase. La quantité d'ARNm du premier et second gène cassette a été mesurée par RT-PCR.

Résultats obtenus : Les valeurs de l'activité luciférase étaient significativement différentes pour les constructions portant les sites *attC* des gènes *smr2* (60 bp) et *catB8* (60 bp) mais similaires pour celles portant les sites *attC* des gènes *aacAII* (110 bp), *bla*$_{GES-1}$ (110 bp) et *bla*$_{OXA-20}$ (110 bp). L'activité la plus faible était observée en aval des sites *attC* des gènes *bla*$_{IMP-8}$ (78pb) et *bla*$_{IMP-13}$ (133 bp). Des mutations introduites dans le site *attC* du gène *catB8* révèlent qu'une petite ORF peut favoriser l'expression du gène *aac(6')-Ib*$_7$*::luc* situé en aval sans modification de la transcription. Le même résultat est observé lorsque la structure tige-boucle du site *attC* du gène *bla*$_{OXA-20}$ est modifiée.

Conclusion : Cette étude souligne que la structure du site *attC* a un impact direct sur l'expression du second gène cassette. La longueur du site *attC* n'affecte pas ou peu l'expression alors que l'ouverture potentielle de la structure tige-boucle semble être le facteur limitant l'expression du gène situé en aval.

202/48o — 5 décembre 2008 - 11:45 - 343

Structures génétiques associées aux gènes des carbapénèmases de type KPC

G. Cuzon, T. Naas, P. Nordmann
Hôpital de Bicêtre, Faculté de Médecine Paris-Sud, Inserm U914: Emerging Resistance to Antibiotics, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objectifs : Les carbapénèmases de type KPC, présentes chez les entérobactéries (particulièrement Klebsiella pneumoniae) et plus rarement chez Pseudomonas aeruginosa, hydrolysent fortement toutes les β-lactamines (sauf les céphamycines). Depuis leur première description au début des années 2000 dans l'Est des Etats-Unis, ces carbapénèmases ont été rapportées dans de nombreux pays, suggérant un pouvoir de dissémination important. La détection de ces enzymes peut de plus se révéler difficile. En France, les cas décrits restent sporadiques et importés. L'objectif de l'étude a été de caractériser les éléments génétiques impliqués dans la mobilisation et la dissémination du gène blaKPC.

Méthodes : Les structures génétiques encadrant le gène blaKPC-2 ont été analysées dans plusieurs souches de K. pneumoniae et de P.aeruginosa isolées aux USA, en Colombie et en Grèce. Le transposon caractérisé a été cloné dans pACYC184. Un variant déficient en transposase a été construit. Des essais de transposition combinés avec un système de conjugaison ont été réalisés à partir des plasmides naturels (pNBC633) et recombinants (pACYC184). Les événements de transposition ont été analysés par PCR et séquençage.

Résultats : Dans toutes les souches étudiées, le gène blaKPC-2 était porté par un nouveau transposon de type Tn3, Tn4401, délimité par deux séquences répétées inversées imparfaites et possédant en plus du gène blaKPC-2, les gènes codant pour une transposase et une résolvase ainsi que deux nouvelles séquences d'insertion ISKpn6 et ISKpn7. Cependant, deux isoformes de ce transposon ont été caractérisées, Tn4401a et Tn4401b qui diffèrent par une délétion de 100 pb en amont du gène blaKPC-2. Tn4401 était capable de transposer in vitro sur le plasmide conjugatif pOX38-Gen avec une fréquence élevée (2. 105 par bactéries réceptrices). L'analyse des sites d'insertion a montré que Tn4401 n'avait pas de site d'insertion préférentiel mais était toujours encadré par des duplications de site de 5 pb, signatures d'événements de transposition.

Conclusion : Cette étude a identifié un nouveau transposon de type Tn3, Tn4401, associé au gène blaKPC-2. Ce transposon peut mobiliser le gène blaKPC-2. Tn4401, identifié dans toutes les souches étudiées, ainsi que les transferts de plasmides entre souches et la dissémination des souches elles-mêmes, participe probablement à la rapide diffusion mondiale des carbapénèmases de type KPC.

203/48o — 5 décembre 2008 - 12:00 - 343

***Pseudomonas aeruginosa* produisant la métallo-Bêta-lactamase IMP-13 en France**

D. Tandé[3], G. Cuzon[4], T. Naas[4], R. Baron[2], C. Berthou[2], B. Lejeune[1], P. Nordmann[4]
[1]Département d'Hygiène [2]Département d'Oncologie-Hématologie [3]Laboratoire de Bactériologie, CHU de Brest, Brest [4]Hôpital de Bicêtre, Faculté de Médecine Paris-Sud, Inserm U914: Emerging Resistance to Antibiotics, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objectifs : Les metallo-ß-lactamases (MBLs) sont des déterminants de résistance émergeants chez Pseudomonas aeruginosa mais aussi chez d'autres bactéries à Gram-negatif. Six MBLs : IMP, VIM, SPM, SIM, GIM, et AIM ont été identifiés. Le variant IMP-13 a été détecté uniquement en Italie. Ce travail avait pour but de caractériser le mécanisme de résistance aux carbapénèmes chez des souches de P.aeruginosa isolées à Brest.

Méthodes : Les souches de P.aeruginosa résistantes aux carbapénèmes ont été caractérisées par analyse des plasmides, point iso-électrique, conjugaison et PFGE. Les gènes de MBL (IMP, VIM, SPM, SIM et GIM), ainsi que les gènes plasmidiques blaOXA-48, blaKPC, blaTEM, blaSHV, et chromosomiques blaAMPC et blaOXA-50 ont été recherchés par PCR. La présence d'une carbapénèmase a également été recherchée par hydrolyse enzymatique de l'imipénème.

Résultats : 7 souches de P.aeruginosa sensibles uniquement à la colistine ont été isolées chez 4 patients entre février 2006 et mai 2007 dans le service d'hématologie du CHU de Brest. L'analyse phénotypique de ces souches a révélé la présence d'une MBL alors que l'analyse en PFGE a montré un lien épidémiologique. L'analyse du déterminisme moléculaire de la résistance aux carbapénèmes a mis en évidence la présence du gène blaIMP-13 associé au gène cassette aacA4 codant pour une enzyme AAC(6)-Ib. L'intégron contenant le gène blaIMP-13 et son environnement génétique sont différents de celui de la souche P.aeruginosa IMP-13 épidémique en Italie. Le gène blaIMP-13 n'est pas transférable par conjugaison et localisé sur le chromosome. L'enquête épidémiologique n'a pas pu mettre en évidence de lien ou de voyage récent en Italie, et le seul point commun entre tous ces patients est qu'ils étaient hospitalisés dans la même chambre, sans pour autant s'être croisés. Les prélèvements d'environnement n'ont cependant pas mis en évidence de MBL-P.aeruginosa, pouvant expliquer la transmission croisée.

Conclusion : Contrairement aux P.aeruginosa produisant des variants de VIM, pour lesquels de nombreuses épidémies nosocomiales ont été décrites en France, en Grèce, en Espagne, et en Italie, il s'agit là, de la première description de P.aeruginosa produisant IMP-13 en France et la seconde description d'une épidémie nosocomiale impliquant P.aeruginosa produisant IMP-13 dans le monde.

204/48o — 5 décembre 2008 - 12:15 - 343

Le pire n'est pas à venir, il est bien présent : association spectaculaire de bactéries multirésistantes chez un même patient

F. Laurent[2], L. Poirel[1], T. Pierre[2], A. Boibieux[3], O. Raulin[2], H. Salord[2], C. Roure-Sobas[2], P. Nordmann[1], S. Tigaud[2]
[1]Inserm U914 Emerging resistance to antibiotics, Laboratoire de Microbiologie, Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine et Université Paris-Sud, le Kremlin-Bicêtre, [2]Centre de Biologie Nord - Laboratoire de Bactériologie, Service des Maladies Infectieuses, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix Rousse [3]Service des maladies infectieuses - Laboratoire de Bactériologie, Service des Maladies infectieuses, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France

Un touriste français a été hospitalisé en Unité de Réanimation à Athènes pendant 5 semaines à la suite d'une chute accidentelle ayant entraîné de multiples fractures costales et sternales, Trachéotomisé à J3, il développa au cours de ce séjour une fongémie à *Candida albicans*. Après son rapatriement en France (Service de réanimation médicale, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon), les prélèvements successifs réalisés on conduit à l'isolement de bactéries multirésistantes (BMR) parmi les plus importantes dans les espèces considérées. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée en milieu liquide (Phoenix BD) puis confirmée par diffusion en milieu solide (Disques et E-test). La caractérisation moléculaire des mécanismes de résistance a été réalisée par PCR suivie de séquençage.

Les souches isolées ont été les suivantes :

.*Acinetobacter baumanii* résistant aux carbapénèmes par production de la carbapénémase OXA-58 (pneumopathie initiale)

.*Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline : clone Brésilien/Hongrois (*agr*1, SCC*mec*II, ST239, *sea* +) (pneumopathie secondaire)

.Staphylocoque à coagulase négative de sensibilité diminuée à la teicoplanine (8 mg/L) et résistant au linézolide (8 mg/L) (bactériémie sur catheter)

.Entérocoques résistants aux glycopeptides : *E. faecalis van*A et *E. faecium van*A (colonisation digestive)

.*Pseudomonas aeruginosa* résistant aux carbapénèmes et producteur de la ß-lactamase à spectre élargi SHV-5 (colonisation cutanée et urinaire)

.*Klebsiella pneumoniae* multirésistante et de sensibilité diminuée aux carbapénèmes co-productrice de la ß lactamase à spectre élargi SHV-5 et de la carbapénèmase VIM-1 (colonisation urinaire)

.*Providencia stuartii* résistante aux céphalosporines de large spectre par hyperproduction de céphalosporinase (colonisation cutanée)

Si certaines de ces associations de souches multirésistantes ont été décrites précédemment, une telle diversité de BMR chez un même patient, nous semble être nouvelle.

Les mécanismes de résistance mis en évidence sont parmi les plus récemment identifiés dans le monde et de spectre très large. Ce cas souligne à nouveau l'importance des transferts internationaux dans l'acquisition et l'apparition de la multirésistance. Une connaissance approfondie de l'épidémiologie de la résistance d'un point de vue mondial est nécessaire pour le management de ces patients après transferts depuis l'étranger.

209/50o — 5 décembre 2008 - 11:00 - 352 A

Paludisme grave chez l'enfant en France de 1996 à 2005

P. Mornand[6], F. Legros[1], C. Verret[3], P. Minodier[5], A. Faye[2], P. Imbert[4]
[1]Centre National de Référence du Paludisme [2]Pédiatrie Générale, Hôpital Robert Debré, Paris [3]Departement d'Epidémiologie et de Santé Publique (Région Nord) [4]Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint-Mandé, France [5]Pédiatrie, Hôpital Sainte Justine, Montréal, Québec [6]Pédiatrie, Hôpital Principal, Dakar, Sénégal

Les travaux consacrés au paludisme grave pédiatrique d'importation sont rares et peu informatifs. Dans une étude nationale rétrospective, nous en avons recherché les facteurs de survenue et évalué les facteurs associés à la gravité chez l'enfant voyageur.

A partir de la base de données épidémiologiques du Centre National de Référence du paludisme, nous avons d'abord recherché chez les enfants âgés de 0 à 15 ans, hospitalisés de 1996 à 2005 pour un paludisme à *Plasmodium falciparum*, les facteurs associés à la survenue d'une forme grave. Puis nous avons étudié les dossiers de paludisme grave, défini selon les critères OMS 2000, dans les hôpitaux ayant déclaré plus de 5 cas pendant la période étudiée. Pour ce travail, la pertinence des critères OMS 2000 et les facteurs prédictifs de gravité ont été évalués en analyse uni- et multivariée, en l'absence de décès, selon le recours aux actes thérapeutiques majeurs (ATM) ou à l'admission en réanimation ; le seuil de parasitémie associé à la gravité a été recherché par la réalisation de courbes ROC.

Parmi 4 150 enfants inclus, 3 299 avaient une forme simple et 851 avaient une forme grave (âge moyen : 7,7 ; ET 4,2 ans, *versus* 6 ; ET 4,1 ans, $p<0,0001$). Les facteurs indépendants prédictifs de la survenue d'une forme grave étaient le jeune âge (OR=3,2 chez les moins de 2 ans, $p<0,0001$) et le séjour dans un pays du Sahel ($p=0,0001$).

Parmi les 421 cas graves étudiés dans les 14 hôpitaux les plus déclarants, le recours aux ATM étaient significativement plus fréquent en cas d'âge < 2 ans ($p=0,01$), de séjour dans un pays du Sahel ($p=0,002$), de thrombopénie < 100 000/mm^3 ($p=0,04$) et d'absence de chimioprophylaxie ($p=0,03$). Les critères OMS les plus prédictifs du recours à au moins un ATM étaient : l'anémie sévère, le coma, la prostration, les convulsions multiples et les troubles de conscience. Les variables associées au séjour en réanimation étaient le séjour dans un pays du Sahel ($p=0,03$), une thrombopénie < 100 000/mm^3 ($p=0,002$) et l'absence de chimioprophylaxie ($p=0,003$). Les critères OMS les plus prédictifs de séjour en réanimation étaient la détresse respiratoire, le coma, la prostration et les convulsions multiples. En revanche, l'hyperparasitémie isolée ≥ 4% n'avait pas de valeur pronostique et c'est le seuil de 8% qui a montré le meilleur rapport sensibilité/spécificité pour repérer la nécessité d'une prise en charge intensive.

Malgré son caractère rétrospectif, ce travail fournit des données importantes pour améliorer la connaissance et la prise en charge du paludisme grave d'importation de l'enfant en France.

210/50o — 5 décembre 2008 - 11:15 - 352 A

Bactériologie des péritonites appendiculaires de l'enfant : conséquences sur l'antibiothérapie probabiliste

C. Guillet-Caruba[1], A. Cheikhelard[2], M. Guillet[1], N. Khen-Dunlop[2], S. Sarnacki[2], Y. Révillon[2], P. Berche[1], A. Ferroni[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service de Chirurgie Viscérale Pédiatrique, CHU Necker-Enfants Malades-Université Paris Descartes, Paris, France

Objet : L'appendicite aigüe est l'urgence viscérale la plus fréquente en pédiatrie. Depuis plusieurs années, les prélèvements du liquide péritonéal ne sont plus systématiquement réalisés. L'antibiothérapie n'est pas toujours protocolisée, et les complications infectieuses postopératoires ne sont pas rares. Notre but était d'étudier l'épidémiologie récente des germes retrouvés dans le liquide péritonéal parallèlement à la présentation clinique des péritonites pour optimiser le traitement anti-infectieux péri-opératoire.

Méthode : Entre Mars 2006 et Mai 2008, 126 patients opérés d'une appendicite avec épanchement péritonéal ont bénéficié en peropératoire d'une culture aérobie et anaérobie, avec identification et antibiogramme systématiques. Les résultats bactériologiques ont été étudiés en fonction de la sévérité des paramètres clinico-biologiques et des constatations peropératoires.

Résultats : La culture du liquide péritonéal est restée négative dans toutes les appendicites inflammatoires. Elle était positive dans 66 cas (27% des appendicites phlegmoneuses, 52% des gangrénées, 89% des perforées), retrouvant : entérobactéries (85% dont Escherichia coli 93%), Streptococcus spp (39% dont 95% appartenant au groupe milleri), Pseudomonas aruginosa (23%), flore anaérobie (23% dont 67% plurimicrobienne), Enterococcus spp (6%) et Haemophilus influenzae (1%). La culture était plurimicrobienne dans 61% des cas.

Les bactéries aérobies ou aéro-anaérobies étaient globalement sensibles à l'amoxicilline, l'association amoxicilline-acide clavulanique (clav), le céfotaxime et l'association ticarcilline-clav dans respectivement 55%, 75%, 82%, et 95% des cas, sensibilité majorée de 96% à 100% par addition de gentamycine au prix d'une monothérapie sur P.aeruginosa. Toutes les bactéries étaient sensibles à l'association pipéracilline-tazobactam. Les anaérobies étaient sensibles aux associations beta-lactamines + inhibiteurs de lactamase et au métronidazole.

Seize abcès post-opératoires (dont 15 après appendicite gangrénée ou perforée) sont survenus. La culture effectuée sur 8 abcès a retrouvé, seuls ou en association, E.coli (2), P.aeruginosa (3), S. constellatus (3) et C. albicans (1).

Conclusion : Le prélèvement du liquide péritonéal dans les appendicites inflammatoires est inutile. Dans les autres cas, il pourrait être abandonné à condition de tenir compte de la fréquence non négligeable de P.aeruginosa. L'association ticarcilline-clav ou pipéracilline-tazobactam pourrait répondre à cet objectif.

211/50o — 5 décembre 2008 - 11:30 - 352 A

Evaluation prospective de l'antibiothérapie en réanimation pédiatrique au CHU Necker-Enfants Malades

M. Wolff[1-4], J.R. Zahar[6-3], A. Le Monnier[6], A. Ferroni[6], P. Durand[2], O. Lortholary[5-3], F. Lesage[4]
[1]Réanimation, Hôpital des Enfants Reine Fabiola, Bruxelles, Belgique [2]Réanimation pédiatrique, CHU Kremlin Bicêtre [3]Equipe Mobile d'Infectiologie [4]Réanimation pédiatrique [5]Service de Maladies infectieuses et tropicales [6]Microbiologie-Hygiène Hospitalière, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France

Introduction : Les unités de réanimation, de par leur recrutement et la gravité des patients admis, sont les premiers prescripteurs d'antibiotique. Ainsi leur consommation est dix fois supérieure à celles des autres unités. La faible spécificité des signes cliniques d'infection chez l'enfant nous amène fréquemment à une prescription antibiotique probabiliste.

Matériels et méthodes : Il s'agit d'une étude observationnelle prospective évaluant l'adéquation de 95 prescriptions consécutives d'antibiotiques, en réanimation pédiatrique polyvalente et néonatale du CHU Necker Enfants-Malades.

La prescription antibiotique a été évaluée à J0 et J4 par deux experts indépendants (clinicien infectiologue, microbiologiste) sur la base des recommandations françaises et internationales et en fonction de la documentation microbiologique quand celle ci existait.

Résultats : L'âge moyen des enfants admis était de 3,4 ans ± 4,69. 94% des enfants étaient admis à partir de leur domicile toutefois 74% avaient un antécédent d'hospitalisation dans les trois derniers mois. 14% des patients présentaient des signes cliniques de gravité (sepsis sévère, choc septique). Il s'agissait de 85 prescriptions probabilistes dont 13 seront secondairement documentées et 10 documentées d'emblée. Les portes d'entrée les plus fréquentes étaient : pulmonaires (42%), neuro méningées (17%), digestives (8%). A J0 et J4 34% et 54% des prescriptions étaient respectivement considérées comme adéquates. A J0 et J4 on notait une divergence entre clinicien et microbiologiste dans respectivement 12% et 16%.

Conclusions : L'évaluation des pratiques professionnelles est la première étape de l'amélioration des pratiques. Dans notre expérience, seules 54% des prescriptions antibiotiques en réanimation pédiatriques sont considérées comme adéquates à J4. Les conclusions des différents experts soulignent l'importance de la multidisciplinarité dans l'évaluation de l'antibiothérapie.

212/50o — 5 décembre 2008 - 11:45 - 352 A

Interêt du dosage des antibiotiques dans les infections graves de l'enfant drépanocytaire

M. Benkerou[1], P. Mariani Kurkdjian[2], M.D. Kitzis[3], A. Carol[2], C. Doit[2], C. Vanceslas[1], E. Bingen[2]
[1]Centre de la Drépanocytose [2]Microbiologie, Hôpital Robert Debré [3]Microbiologie, Hôpital Saint Joseph, Paris, France

La gestion du risque infectieux est un enjeu majeur, dans la prise en charge du patient drépanocytaire. Dans l'état actuel des connaissances, les posologies des antibiotiques ne sont pas différentes chez l'enfant drépanocytaire par rapport à la population générale pédiatrique.

Patients : de 1999 à 2006, onze enfants drépanocytaires sont hospitalisés à l'hôpital Robert Debré pour des infections bactériennes graves. De 1999 à 2001, les infections mal contrôlées avec des antibiothérapies à posologie usuelle ont fait réaliser des dosages plasmatiques d'antibiotiques. De 2001 à 2006, pour les patients pris en charge initialement à l'hôpital Robert Debré, les antibiotiques sont débutés à posologie augmentée d'emblée, et des dosages sont faits systématiquement. L'évolution clinique est jugée sur le délai d'apyrexie et de stérilisation des prélèvements bactériologiques, l'existence ou non d'un deuxième geste chirurgical, ou de séquelles.

Résultats : les infections ostéoarticulaires prédominent (7 cas sur 11). Les germes majoritairement retrouvés sont *Salmonnella sp.* (7 cas). Les autres germes sont *Enterobacter cloacae* (1 cas), *Klebsiella pneumoniae* (1 cas), *Staphylococcus aureus* (1 cas), *Fusobacterium necrophorum* (1 cas).L'antibiothérapie initiale est adaptée au germe isolé dans 7 cas. A

posologie usuelle initiale, l'évolution clinique est le plus souvent compliquée (2 cas sur 3). Elle est favorable à posologie augmentée initiale (4 cas sur 4). Les dosages plasmatiques sont optimaux pour les antibiotiques à posologie augmentée.

Conclusion : ce travail met en évidence le bénéfice d'une antibiothérapie d'emblée à posologie plus élevée dans le contrôle du processus infectieux chez ce groupe de patients drépanocytaires. En l'absence de données dans la littérature pour les posologies optimales d'antibiotiques du patient drépanocytaire, la réalisation des dosages plasmatiques d'antibiotiques est indispensable dans les infections bactériennes sévères. Une étude prospective pour étudier la pharmacocinétique des antibiotiques et leur efficacité, est nécessaire chez l'enfant drépanocytaire.

213/50o — 5 décembre 2008 - 12:00 - 352 A

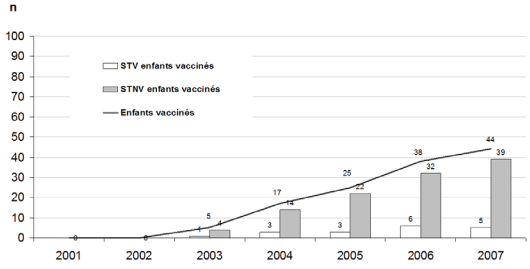
Méningites à pneumocoque en France en 2007 : impact du vaccin antipneumococcique conjugué heptvalent (PCV7)

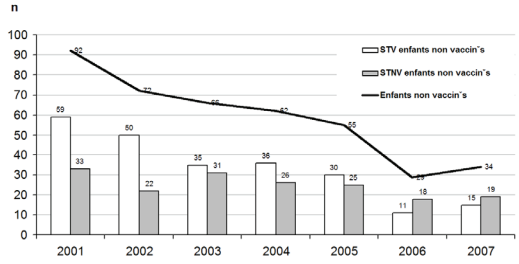
C. Levy[2-3], E. Bingen[2], A. Lécuyer[2-3], Y. Aujard[2], R. Cohen[2-3], E. Varon[1], Groupe des Pédiatres et Microbiologistes de l'Observatoire[2]
[1]CNRP APHP-HEGP [2]GPIP, Paris [3]ACTIV, Saint-Maur, France

Objectifs : Dans le cadre de l'Observatoire National des Méningites Bactériennes de l'enfant du GPIP/ACTIV, l'objectif de ce travail est de décrire les principaux changements épidémiologiques des méningites à pneumocoque depuis l'introduction du vaccin anti-pneumococcique conjugué heptavalent (PCV7).

Méthodes : 259 services de pédiatrie et 168 services de microbiologie répartis dans toute la France ont inclus depuis 7 ans tous les patients de moins de 18 ans, ayant une méningite bactérienne documentée.

Résultats : De 2001 à 2007, 830 méningites à pneumocoque ont été répertoriées sur un total de 2949 méningites bactériennes. En 2001 comme en 2007, le pneumocoque représentait près du tiers des méningites. Chez les enfants de moins d'1 an, le pic de fréquence était à 5 mois et 61,7% des cas sont survenus entre 2 mois et 2 ans. 152 cas sont survenus chez des patients vaccinés par le PCV7, ils avaient recu en moyenne 2,4 doses. Les sérotypes vaccinaux (STV) représentaient moins de 12% des cas et les sérotypes non vaccinaux (STNV) 88% étaient essentiellement les sérotypes 19A, 15 B/C et 7F. Parmi les enfants non vaccinés, une diminution des STV a été observée. La figure montre l'évolution des STV et des STNV chez les enfants en fonction de leur statut vaccinal. Le taux de mortalité des méningites à pneumocoque était de 11%.





Conclusion : La survenue de méningites à pneumocoque chez des enfants non vaccinés par le PCV7, confirme que la couverture vaccinale en France doit être améliorée. Dans la population vaccinée, l'effet du PCV7 est réel puisque les STV sont peu nombreux et que les cas restants concernent des STNV. De plus, chez les enfants non vaccinés, entre 2001 et 2007, une diminution des STV a été retrouvée ce qui pourrait être lié à l'effet indirect du vaccin.

214/50o — 5 décembre 2008 - 12:15 - 352 A

Diagnostic rétrospectif de l'infection congénitale à CMV dans le sang séché sur carte de Guthrie : l'expérience en France

C. Vauloup-Fellous[1-1], S. Couderc[9], J.F. Magny[8], S. Parat[3], S. Marlin[7], V. Couloigner[4], N. Loundon[6], M. François[5], F. Denoyelle[6], L. Grangeot-Keros[1], M. Leruez-Ville[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Antoine Bèclère [2]Laboratoire de Virologie [3]Maternité [4]Service d'ORL Pédiatrique, Hôpital Necker-Enfants Malades [5]Service d'ORL, Hôpital Robert Debré [6]Service d'ORL [7]Service de génétique, Hôpital Trousseau [8]Pédiatrie, Institut de Puèriculture, Paris [9]Maternité, Hôpital de Poissy, Poissy, France

Situation du sujet : En France et dans les autres pays industrialisés, le dépistage systématique de l'infection congénitale à cytomégalovirus (CMV) n'est pas réalisé. En tant que Centre National de Référence, nous avons développé une technique de détection de l'ADN du CMV dans le sang séché des cartes de Guthrie afin de permettre un diagnostic rétrospectif d'une infection congénitale chez des enfants présentant des symptômes cliniques compatibles, notamment une surdité.

Objectifs : 1) Evaluer la spécificité et la sensibilité de la détection de l'ADN du CMV dans le Guthrie par rapport à la méthode de référence (détection dans les urines) 2) Faire le diagnostic rétrospectif de l'infection congénitale à CMV chez des enfants présentant une surdité.

Méthodes : La population d'étude consistait en : 1) 175 nouveau- nés ayant eu un dépistage de l'infection congénitale avec recherche du CMV dans les urines dans la première semaine de vie, 30 de ces nouveau-nés avaient une détection positive du CMV. 2) 57 enfants atteints de surdité. L'ADN du CMV a été détecté dans les cartes de Guthrie par 2 techniques différentes. La méthode 1 consistait en une lyse à la soude suivie d'une extraction par le kit QIAamp DNA Blood Mini Kit et d'une amplification par une technique de PCR temps réel «maison» fait en duplicate. La méthode 2 consistait en une extraction au phénol-chloroforme suivie par une amplification avec le kit CMV PCR (Abbott, France).

Résultats : La sensibilité et la spécificité de la méthode 1 étaient de 100% (38/38) et de 97% (133/137) lorsque seulement un duplicate était positif. La sensibilité et la spécificité de la méthode 2 étaient de 94% (32/34) et de 96.8% (123/127). Les charges virales moyennes des cas discordants (détection négative dans les urines mais positive dans le Guthrie) étaient de 400 [35-6,000] avec la méthode 1 et de 38 [9-500] copies/ml avec la méthode 2. La PCR CMV était positive pour 8 des 57 enfants sourds avec une charge virale médiane de 24690 [1300-100000] copies/ml.

Conclusions : Les bonnes performances des techniques de détection du CMV DNA dans les Guthrie permettent de faire le diagnostic rétrospectif de l'infection congénitale à CMV. L'importance de l'infection congénitale à CMV dans l'étiologie des surdités de l'enfant sera discutée.

222/54c — 5 décembre 2008 - 14:30 - HAVANE

Pour

J.M. Klossek
Service ORL et chirurgie cervicofaciale, CHU de Poitiers, France

L'antibiothérapie dans les sinusites aigues après avoir été perçue comme un réel progrès dans leur prise en charge dans les années 50-60, fait à présent l'objet de discussions sur son intérêt. Pour analyser ce phénomène, les localisations maxillaires doivent être différenciées des autres sinusites frontales, ethmoïdales et sphénoïdales beaucoup plus rares.

Pour ces dernières localisations, bien qu'aucune étude comparative ne soit disponible, l'antibiothérapie est systématiquement instituée pour réduire le risque de complications et favoriser le retour à la normale. Néanmoins l'antibiotique même adapté aux germes en cause ne prévient pas pour autant toute complications(1).

Pour la localisation maxillaire, l'antibiothérapie est la plus discutée(2). Une récente méta analyse conduit à réduire son utilisation aux formes sévères(2, 3). Toutefois la plupart des études sélectionnées comparant l'antibiothérapie à un traitement placebo ne sont pas documentées bactériologiquement(4). Il est de ce fait prématuré de conclure à l'inutilité de l'antibiothérapie et à se rallier aux choix thérapeutiques proposés par les auteurs à partir de tels études. La recommandation de l'ECCAI modifie également la place de l'antibiothérapie dans la sinusite aigue maxillaire qualifiée de légère ou modérées, en retardant sa mise en route au 10ème jour de l'évolution de l'infection(5, 6), période pendant laquelle une corticothérapie locale est proposée(7). Néanmoins dans les formes dites sévères, l'antibiothérapie reste recommandée.

En France plusieurs publications et recommandations ont tenté d'évaluer en cas d'infection sinusienne maxillaire, les situations où l'antibiothérapie paraissait pertinente et supérieure à un traitement symptomatique (8). Finalement la présence d'une douleur unilatérale infraorbitaire accompagnée d'une rhinorrhée purulente et d'une obstruction nasale homolatérale ont été les critères retenus avant de déclencher une antibiothérapie. De plus une évolution d'au moins 72 heures en dehors de toute complication, doit être observée pour démarrer ce traitement.

L'analyse des essais randomisés réalisés en France comparant deux antibiotiques dans cette situation confirme le rôle de l'antibiothérapie même si aucun bras comparatif avec un traitement placebo n'est présent dans ces études (8). Néanmoins dans ces études, les patients présentent outre les caractéristiques cliniques proposées par l'AFSSAPS, soit une écoulement purulent confirmé au méat moyen et/ou une radiographie avec une opacité complète ou un niveau hydroaérique du sinus maxillaire atteint. Quelle que soit la molécule étudiée les succès s'élèvent entre 85 et 92%. La comparaison avec les études étrangères incluant des patients présentant une symptomatologie légère ou modérée est impossible car les populations sont objectivement différentes (3). Le rapprochement peut être tenté mais il ne correspond pas à une évaluation scientifique. Cette situation ne fait que souligner la surévaluation du nombre de sinusite maxillaire dont l'infection est réellement bactérienne. Un nombre important d'infection virale sont traitées abusivement par une antibiothérapie de crainte de voir apparaitre une infection bactérienne ultérieurement. Aucune étude n'est disponible pour évaluer ce risque mais de nombreux consensus l'estime à 2%(9). Finalement l'antibiothérapie demeure nécessaire pour les affections bactériennes mais lorsque celle-ci sont précisément analysées et diagnostiquées afin d'augmenter le bénéfice de cette stratégie thérapeutique par rapport à un traitement purement symptomatique.

Références :

1. Stoll D, Klossek JM, Barbaza MO. Prospective study of 43 severe complications of acute rhinosinusitis. Rev Laryngol Otol Rhinol (Bord). 2006;127:195-201.

2. Burton MJ, Kuppersmith RB, Rosenfeld RM. Extracts from The Cochrane Library: Antibiotics for acute maxillary sinusitis. Otolaryngol Head Neck Surg. 2008 ;139:486-9.

3. Falagas ME, Giannopoulou KP, Vardakas KZ, Dimopoulos G, Karageorgopoulos DE. Comparison of antibiotics with placebo for treatment of acute sinusitis: a meta-analysis of randomised controlled trials. Lancet Infect Dis. 2008 Sep;8:543-52.

4. Young J, De Sutter A, Merenstein D, van Essen GA, Kaiser L, Varonen H, et al. Antibiotics for adults with clinically diagnosed acute rhinosinusitis: a meta-analysis of individual patient data. Lancet. 2008 Mar 15;371:908-14.

5. Fokkens W, Lund V, Mullol J. European position paper on rhinosinusitis and nasal polyps 2007. Rhinol Suppl. 2007:1-136.

6. Thomas M, Yawn BP, Price D, Lund V, Mullol J, Fokkens W. EPOS Primary Care Guidelines: European Position Paper on the Primary Care Diagnosis and Management of Rhinosinusitis and Nasal Polyps 2007 - a summary. Prim Care Respir J. 2008 ;17:79-89.

7. Meltzer EO, Teper A, Danzig M. Intranasal corticosteroids in the treatment of acute rhinosinusitis. Curr Allergy Asthma Rep. 2008 ;8:133-8.

8. Klossek JM, Chidiac C, Serrano E. Current position of the management of community-acquired acute maxillary sinusitis or rhinosinusitis in France and literature review. Rhinol Suppl. 2005:4-33.

9. Pearlman AN, Conley DB. Review of current guidelines related to the diagnosis and treatment of rhinosinusitis. Curr Opin Otolaryngol Head Neck Surg. 2008 ;16:226-30.

223/54c — 5 décembre 2008 - 15:00 - HAVANE

Contre

M. Garre
Service de médecine interne et maladies infectieuses, CHU de la Cavale Blanche, Brest, France

La majorité des recommandations thérapeutiques publiées concerne les sinusites maxillaires aiguës de l'adulte. Un traitement antibiotique est préconisé si les symptômes sont unilatéraux et durables, ce cas de figure laissant supposer une infection bactérienne et non virale. Des données récentes amènent à s'interroger quant à la pertinence de ces propositions.

1) La valeur prédictive des signes cliniques a été analysée à partir des données individuelles provenant des essais antibiotique *versus* placebo ([1]). Il n'y a aucune valeur ajoutée de l'antibiotique ni quand les symptômes durent plus de 6 jours, ni en cas de douleur faciale unilatérale, d'écoulement nasal purulent ou de température supérieure à 37°5C.

2) Une méta-analyse des comparaisons antibiotiques/placebo ([2]) démontre un bénéfice très modeste du traitement (Odd Ratio 1,8 ; IC 95% : 1,34-2,46) au prix d'un surcroît d'effets secondaires (OR 1,87 ; IC : 1,21-2,30).

3) Une étude très récente factorielle randomisée en double aveugle amoxicilline/placebo ne démontre aucun bénéfice de la bêtalactamine ([3]).

4) Il est surprenant qu'il n'y ait pas de lien entre spectre *in vitro* des antibiotiques et activité *in vivo* : tous les produits récents ne sont que non inférieurs aux comparateurs plus anciens ; l'azithromycine ne fait pas plus mal que les bêtalactamines ([4]) ; les quinolones dites antipneumococciques ne font pas mieux que les bêtalactamines ([5]).

L'effet des antibiotiques est donc loin d'être évident. Ceci explique que pour l'évaluation des nouveaux produits la FDA exige ou bien des essais de supériorité ou bien des essais *versus* placebo ([6]).

([1]) – Young J, De Sutter A, Merenstrin D et al. Antibiotic for adults with clinically diagnosed acute rhinosinusitis : a meta-analysis of individual patient data. Lancet 2008; 371: 908-914.

([2]) – Falagas ME, Giannopolou KP, Vardakas KZ, Dinopoulos G, Karageorgopoulos DE. Comparison of antibiotics with placebo : a meta-analysis of randomised controlled trials. Lancet 2008; 8: 543-552.

([3]) – Williamson IG, Rumiby K, Benge S et al. Antibiotics and topical nasal steroid for the treatment of acute maxillary sinusitis. JAMA 2007; 298: 2487-2490.

([4]) – Jonnidis JPA, Contosoulos DG, Chew P, Lau J. Meta-analysis of randomized controlled trials on the comparative efficacy and safety of azithromycin against other antibiotics for upper respiratory tract infections. J. Antimicrob. Chemother. 2001; 48: 677-689.

([5]) Karageorgopoulos DE, Giannopoulou KP, Grammatikas AS, Dimopoulos F, Falagas ME. Fluoroquinolons compared with B-lactam antibiotics for the treatment of acute bacterial sinusitis. CMAJ 2008; 178: 845-851.

(6) http://www.fda.gov/cder/guidance/indexation. Guidance for industry. Acute bacterial sinusitis: developping drugs for treatment. October 2007.

236/59o — 5 décembre 2008 - 14:30 - 343

À propos des SARM de type communautaire (SARM-TC) isolés en Bretagne en 2008

B. Vetter[7-8], D. Tandé[7], P.Y. Donnio[8], J. Vaucel[5], P. Gautier[8], P. Le Guen[9], D. Jan[2], M.J. Dufour[1], P. Pouedras[6], J.F. Ygout[3], P. Plessis[4], et le Bactériocercle Breton (BCB)
[1]CH Lannion [2]CH Laval [3]CH Lorient [4]CH Morlaix [5]CH St Brieuc [6]CH Vannes [7]CHU Brest [8]CHU Rennes [9]HIA Brest, France

L'émergence de SARM dans la population générale est décrite depuis le début de la décennie. En France l'une des premières épidémies communautaires due à un SARM producteur de la leucocidine de Panton et Valentine (LPV) est survenue dans le département des Côtes d'Armor entre 2001 et 2003, impliquant le clone « Européen » ST80. Cinq ans après cette épidémie, nous nous sommes intéressés aux SARM-TC isolés en Bretagne.

Entre le 01-02 et le 30-06-2008, 9 laboratoires hospitaliers dans 4 départements bretons et la Mayenne ont isolé 33 souches de SARM sensibles aux fluoroquinolones (hors mucoviscidose ou hospitalisation dans un service de néonatologie). Les données démographiques, le contexte clinique, le phénotype de résistance ont été recueillis. La caractérisation moléculaire a consisté en

- la recherche par PCR des gènes codant pour la LPV et la toxine du choc staphylococcique (TSST-1),
- la comparaison des profils de restriction après électrophorèse en champ pulsé (ECP),
- le typage de la casette staphylococcique (SCC*mec*) par PCR multiplex, parfois complété par une détermination de l'allotype de la recombinase *ccr*AB,
- le typage par détermination des séquences répétées du gène de la protéine A (*spa* type) pour 6 souches sélectionnées.

Parmi les 33 isolats, 5 possédaient les gènes de la LPV et 13 celui de la TSST-1. Ont été identifiés par ECP, PCR SCC*mec* et *spa typing* :

-1 isolat ST80-SCC*mec* IV producteur de LPV,

-1 clone majeur ST5, SCC*mec* IV ou VI, regroupant 18 isolats, dont 11 possédaient le gène de la TSST-1 et 7 étaient non toxinogènes,

-1 clone mineur de 3 isolats ST8-SCC*mec* IV producteurs de LPV.

D'un point de vue phénotypique, une résistance à l'acide fusidique n'était notée que chez les souches TSST-1+. D'un point de vue épidémiologique la notion d'infections groupées n'existait que pour certaines souches LPV+ (ST8). Les souches TSST-1+ étaient presque 3 fois plus fréquentes que les LPV+ mais le caractère de leur acquisition, communautaire ou nosocomial, était souvent difficile à établir.

En Bretagne, l'incidence de ST80 LPV+ est faible, ST8 LPV+ est émergent et ST5 TSST-1+ est répandu sans caractère communautaire affirmé. La résistance à l'acide fusidique ne peut être retenue comme indicateur des souches LPV+ circulant dans notre région.

237/59o — 5 décembre 2008 - 14:45 - 343

Diversité génétique du portage nasal de *Staphylococcus aureus* dans une population amérindienne vivant isolée en Sud-Guyane

R. Ruimy[3-1], L. Armand-Lefèvre[3-1], H. Meugnier[2-1], M. Bes[2-1], M. Bertine[3], B.E. Lixandru[3], F. Barbier[3], C. Angebault[3], F. Djossou[4-1], F. Vandenesch[2-1], A. Andremont[3-1]
[1]Ecologie de la résistance aux antibiotiques de Escherichia coli et Staphylococcus aureus dans les flores commensales de l'homme et des animaux en milieu naturel, Consortium du projet ERAES [2]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Centre National de Référence des Staphylocoques, Inserm U851 et Hospices Civils, Lyon [3]Laboratoire de Microbiologie, EA3964, Université Denis Diderot, Paris 7 et Hôpital Bichat-Claude Bernard, APHP, Paris, France [4]Centre de Santé, Centre Hospitalier Andrée Rosemon, Cayenne, Guyana

Le portage nasal de *S.aureus* varie de 15 à 35% et expose les porteurs à un risque plus élevé d'infections que les non porteurs. La diversité génétique des souches de portage nasal a été très peu étudiée : (i) par rapport à celle des souches responsables d'infections, (ii) dans des populations vivant en Afrique et Amérique du Sud. L'objectif de notre étude vise à déterminer cette diversité dans une population d'Amérindiens adultes vivant dans un village aux échanges limités et contrôlés.

Matériels et Méthodes : En Octobre 2006, 163 volontaires sur les 255 adultes peuplant le village de Trois-Sauts en Sud-Guyane ont eu un écouvillonnage nasal. Les souches de *S.aureus* ont été isolées sur Chapman et leur antibiogramme réalisé en milieu gélosé. Le fond génétique des souches a été caractérisé par MLST, spa-typing, agr-typing et la recherche de 20 gènes de virulence et du gène *mecA*.

Résultats : La prévalence du portage était de 42% (n=68). Aucune souche n'était résistante à la méticilline, 2 souches étaient résistantes à la pénicilline, kanamycine, tobramycine, tétracycline, lincomycine, et cotrimoxazole. Les 66 autres avaient respectivement un taux de résistance à la pénicilline, acide fusidique, rifampicine et érythromycine de 98.5% (n=65), 30% (n= 20), 12% (n= 8), et 7.6% (n=5).

Les 68 souches étaient réparties dans 10 ST dont 3 nouveaux. Cinq ST regroupaient 91% (n=62) des souches : ST1 (n=17, 25%), ST188 (n=13, 19%), ST1223 (n=12, 18%), ST15 (n=11, 16%), et ST5 (n=9, 13%). Le ST1223

constitue avec des ST isolés d'aborigènes une nouvelle branche de l'arbre phylogénétique de *S.aureus*. Au sein de chacun des ST1, ST188, ST1223 et ST15 les souches ont un profil génétique homogène pour les autres marqueurs alors qu'au sein du ST5 (n=9) 6 profils ont été observés. A noter que seules 12% (n=8) des souches possèdent les gènes codant la leucocidine de Panton-Valentine (6 ST5 et 2 ST30).

Conclusion : La prévalence élevée du portage nasal de *S.aureus* et la faible diversité génétique des souches dans une population vivant isolée en Sud-Guyane suggère l'existence soit de facteurs de risques de transmission, soit de facteurs liés à la génétique humaine. Nous retrouvons une prévalence élevée d'un nouveau ST (ST1223) qui constitue un génotype très divergent des autres ST.

238/59o — 5 décembre 2008 - 15:00 - 343

Prévalence du portage de SARM par les porcs à l'abattoir

E. Jouy[3], A. Le Roux[3], V. Tocqueville[3], S.A. Granier[2], M.L. De Buyser[2], A. Brisabois[2], P. Sanders[1], I. Kempf[3], M. Kobisch[3], C. Chauvin[3]
[1]AFSSA - Lermvd, Fougères [2]Unité CEB, AFSSA - Lerqap, Maisons-Alfort [3]Unités MB et EBEP, AFSSA - Lerapp, Ploufragan, France

En 2006, aux Pays-Bas, suite à la description d'un cas de transmission d'un *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) du porc à un éleveur et sa famille, le portage nasal de SARM chez 540 porcs répartis dans 9 abattoirs hollandais a été recherché et identifié chez 39% des porcs et 81% des lots.

A l'instar de la Hollande et d'autres pays, l'AFSSA, en collaboration avec la DGAL et les DDSV, a réalisé une enquête de prévalence du portage de SARM chez le porc. L'échantillonnage, représentatif de la production nationale, portait sur 165 lots de 10 porcs, prélevés par écouvillonnage nasal dans 21 abattoirs entre janvier et septembre 2007. Parallèlement, une enquête de concordance visant à déterminer le différentiel entre statuts en élevage et à l'abattoir, a été conduite sur 37 lots de 10 porcs prélevés à l'élevage puis à l'abattoir. La recherche de SARM a été réalisée par enrichissement sélectif des écouvillons en milieu liquide puis isolement sur un milieu sélectif chromogène. L'identification de l'espèce et la recherche du gène *mec*A ont été réalisées par PCR. Les antibiogrammes des SARM isolés ont également été réalisés.

L'enquête de prévalence a montré que 29,0% des lots (IC 95% [22,8 – 35,2]) et 13,2% des porcs (IC 95% [8,2 – 18,3]) étaient porteurs de SARM au moment de l'abattage. Parmi les facteurs liés au portage de SARM recherchés, seul un effet "abattoir" a pu être mis en évidence. L'enquête de concordance a en outre montré une différence significative entre le portage des SARM à l'élevage (5% des lots et 0,8% des porcs) puis au moment de l'abattage (38% des lots et 16% des porcs). La très grande majorité des SARM isolés au cours de cette étude est résistante à la tétracycline et plus de la moitié d'entre eux sont résistants aux macrolides. Contrairement aux SARM isolés chez l'Homme en milieu hospitalier, les SARM isolés chez les porcs sont majoritairement sensibles aux fluoroquinolones.

Les données de ces 2 enquêtes montrent que le SARM peut être présent chez le porc charcutier français et que les nombres de lots et d'animaux porteurs sont plus importants à l'abattoir qu'à l'élevage en fin d'engraissement. Ces résultats suggèrent une contamination croisée des porcs entre leur départ de l'élevage et le moment de l'abattage.

239/59o — 5 décembre 2008 - 15:15 - 343

Epidémiologie des souches de portage nasopharyngé de *Haemophilus influenzae* chez des enfants fréquentant les crèches collectives du département des Alpes Maritimes de 1999 à 2008 (résultats préliminaires)

H. Carsenti-Dellamonica[3], C. Delmas[1], B. Dunais[2], C.H. Pradier[2], P. Touboul[2], P. Bruno[2], M. Sabah[3], P. Dellamonica[3], H. Dabernat[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Purpan [2]Département de Santé Publique [3]Infectiologie, Université de Nice, Nice, France

Objet : Le portage nasopharyngé de *Haemophilus influenzae* par des enfants fréquentant les crèches collectives du département des Alpes Maritimes a été suivi au cours des périodes hivernales de décembre à Mars en 1999, 2004, 2006 et 2008 (résultats préliminaires)chez 298, 337, 335 et 341 enfants respectivement.

Résultats : Observé chez 58,7% des enfants en 1999, il est de 61,4%, 70% et 68% au cours des périodes suivantes. Le portage de souches capsulées de type f est de 1,3% en 1999, 0,9% et 0,3% en 2004 et 2006 ; celui des souches de type e de 0% en 1999 est de 1,2% en 2004 et 0,3% en 2006. Aucune souche de type b n'a été isolée chez ces enfants majoritairement vaccinés (98.5%).

Le taux de souches productrices de beta-lactamase (BL) est de 53,1% en 1999 et de 23,3% en 2008. Une résistance à l'ampicilline sans production de beta-lactamase (BLNAR) est observée chez 0,9% des souches en 1999, 7,2% en 2004 et 11,5% en 2006. Les mutations du gène *ftsI* codant pour la PLP3 cible des beta-lactamines présentes chez ces souches correspondent à celles décrites dans les études antérieures en France avec une grande hétérogénéité. Les souches se répartissent dans les groupes I et II définis par les substitutions d'acides aminés (groupe I, n=2 et 5 en 2004 et 2006) (groupe II, n= 22 et 24 respectivement).

L'étude moléculaire des souches par électrophorèse en champ pulsé a montré la grande hétérogénéité des souches non capsulées de *H. influenzae* avec respectivement 77, 139 et 140 profils différents au cours des années 1999, 2004 et 2006. Pour les souches BL le nombre de profils électrophorétiques est passé de 33, 54 à 40 avec un pourcentage de souches présentant des profils différents de 58,5%, 74,2% et 45,9% respectivement. Certains profils dominent mais sont distribués dans 14 à 21 crèches au cours des deux périodes confirmant une circulation importante des souches entre les enfants dans les crèches.

Conclusion : Ces études confirment l'hétérogénéité des souches de *H. influenzae* circulant dans les crèches collectives et montre une diminution des souches BL en relation probable avec les campagnes d'intervention pour le bon usage des antibiotiques

240/59o — 5 décembre 2008 - 15:30 - 343

Etude du portage de *Neisseria meningitidis* dans la zone de Dieppe affectée par une hyperendémie d'infections invasives au clone B:14:P1.7,16

V. Delbos, L. Lemée, J.P.P. Leroy, G. Berthelot, J.M. Alonso, I. Parent Du Chatelet, M. Revillion, V. Grassi, M.K. Taha, F. Caron
CHU de Rouen, CHG de Dieppe, Institut Pasteur, Institut de veille sanitaire, Rouen, France

Objectif : La Seine-Maritime connaît depuis 2003 une hyperendémie d'infections invasives (II) à méningocoque (M) dominée par un clone de sérogroupe B, de phénotype B:14:P1-7,16 et de génotype ST-32. Une vaccination a été engagée par MenBVac®, vaccin antérieurement développé en Norvège contre B:15:P1-7,16 et apportant une protection croisée. Le but était d'analyser le portage de M dans la population âgée de 1 à 25 ans de la zone de Dieppe, la plus touchée par les IIM.

Méthodes : Parmi les 27 000 sujets concernés, 8 600 ont été tirés au sort. Après écouvillonnage de gorge réalisé à Dieppe, les cultures étaient transférées à Rouen pour isolement, identification et génogroupage (par PCR) des M. Le sérogroupage, sérotypage et sous-typage étaient réalisés au CNR. Une chimioprophylaxie était proposée aux porteurs de M géno-groupables.

Résultats : La participation fut de 40% (3522 sujets, dont 12% vaccinés par MenBVac®), avec 98% de prélèvements exploitables. Le taux brut de portage de M était de 5,5% (194/3459), augmentant avec l'âge, de 1,1% chez les 1-5 ans à 11,2% chez les 21-25 ans ($p<0,0001$) ; le taux standardisé de portage était de 6,4% [IC 95% : 5,5 – 7,4] pour la population étudiée. Le génogroupage était positif pour 119 des 194 isolats (61%) : 70 B, 25 C, 17 Y et 7 W135. Le sérogroupage ne put être réalisé pour 18 isolats (non revivifiables) et permis de caractériser l'antigène de capsule de 91 isolats (52%) ; 27% (16/60) des souches de génogroupe B, et 44% (11/25) des souches de génogroupe C n'exprimaient pas le gène de la capsule. Avec 5 isolats de phénotype B:14:P1.7,16 (tous chez des sujets $\geq$ 20 ans, aucun vacciné par MenBVac®), analogue au clone hyperendémique, le taux standardisé de portage de ce clone était de 0,18% (IC 95% 0,08-0,44%) ; il existait 3 souches apparentées, mais non capsulées (NA):14:P1.7,16. Parmi les souches C, 10 étaient de formule C:NT:P1-2,5, clone actuellement fréquent en France.

Conclusion : Malgré l'hyperendémie d'IIM, le taux de portage de B14:P1-7,16 était faible, de l'ordre de 2 sujets pour 1000. Ceci est en faveur d'une faible circulation du clone B:14 :P1.7,16 et donc d'une faible immunisation spécifique.

241/59o — 5 décembre 2008 - 15:45 - 343

Facteurs de risque de portage de bactéries résistantes aux fluoroquinolones dans les flores commensales

V. de Lastours[1-2], F. Chau[2], F. Tubach[3], B. Pasquet[3], B. Fantin[1-2]
[1]Service de Médecine Interne, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Beaujon, Clichy [2]EA3964, Faculté de Médecine, Université Paris Diderot [3]Unité de recherche clinique Paris Nord, Hôpital Bichat, Paris, France

Objet de l'étude : La connaissance des facteurs de risque de colonisation par des germes résistants est indispensable pour contrôler la dissémination horizontale et identifier les patients à risque d'infections par des bactéries résistantes aux antibiotiques. Cependant, aucune étude n'a déterminé les facteurs de risque de colonisation par des bactéries résistantes aux fluoroquinolones (FQ) simultanément dans plusieurs flores chez le même patient.

Méthodes : Tout patient adulte admis dans un service de médecine de notre hôpital pouvait être inclus prospectivement avec son accord. L'objectif était de dépister et d'étudier les facteurs de risque liés au portage de bactéries résistantes aux FQ dans trois flores commensales d'intérêt: les streptocoques non groupables (SNG) de la flore pharyngée, *Escherichia coli* de la flore fécale et les staphylocoques coagulase negatifs (SCN) de la flore nasale. Pour chaque patient, un recueil des données démographiques, des comorbidités, des précédentes hospitalisations, des traitements antibiotiques reçus dans les 3 mois, du lieu de vie avant l'hospitalisation et d'une colonisation antérieure ou actuelle par des bactéries multi-résistantes (BMR) étaient recueillies. Pour chaque patient, un écouvillonnage nasal, pharyngé et rectal était réalisé dans les 24 heures après l'admission. Les souches résistantes ont été détectées sur des milieux sélectifs. L'analyse statistique a comparé les facteurs de risques présents chez les patients porteurs de bactéries résistantes aux FQ avec ceux porteurs de bactéries sensibles, flore par flore.

Résultats : 555 patients ont été inclus en six mois. Le taux moyen de portage de résistance à la ciprofloxacine était de 11.4% chez *E.coli* et 33.5% chez SCN; 28,1% des souches de SNG étaient résistants à la levofloxacine. 41% des patients étaient porteurs d'une résistance aux FQ dans une flore, mais seulement 0.9% dans les trois. L'analyse multivariée à montré que l'âge et un

antécédent de portage de bactéries BLSE sont les facteurs de risque associés au portage de *E.coli* résistants à la ciprofloxacine ; que l'âge, le transfert d'une structure de soins et l'exposition aux antibiotiques sont associés au portage de SCN résistants à la ciprofloxacine. La consommation d'antibiotiques, et en particulier de béta-lactamines, pendant moins d'une semaine dans les 3 mois précédents l'hospitalisation est un facteur protecteur de résistance à la levofloxacine chez les SNG.

Conclusions : Le portage de bactéries résistantes aux fluoroquinolones dans les flores commensales est un phénomène fréquent. Cependant, les facteurs de risque diffèrent de façon importante selon les flores puisque le portage d'une résistance aux FQ simultanément dans les 3 flores ne relève que du hasard. Aucune intervention simple ne pourrait réduire de façon simultanée le portage de bactéries résistantes aux fluoroquinolones dans les trois flores à la fois.

242/60o — 5 décembre 2008 - 14:30 - 352 A

Staphylocoques infectants – staphylocoques colonisants : nouvelles données issues de souches isolées du pied diabétique

A. Sotto[5], G. Lina[1], J.L. Richard[4], C. Combescure[2], J. Etienne[1], J.P. Lavigne[5-3]
[1]Inserm U851, CNR Staphylocoque, Lyon [2]Département de l'informatique médicale [3]Laboratoire de Bactériologie [4]Maladies Métaboliques et Endocriniennes, CHU Carémeau [5]Espri 26, Inserm, Nîmes, France

Objet de l'étude : Les infections du pied chez le diabétique sont fréquentes (25% des diabétiques au cours de leur vie) et difficile à diagnostiquer et à traiter. A ce jour aucun outil ne permet de différencier les plaies infectées des plaies colonisées. Cette étude pilote menée au CHU de Nîmes avait pour but d'évaluer le potentiel de virulence des souches de *Staphylococcus aureus* isolées de plaies du pied et de discriminer les ulcères infectées et colonisés.

Méthodes : En utilisant les marqueurs génotypiques de virulence (30 principaux gènes de virulence), l'étude de la clonalité (PFGE, *spa*-typing, SCC*mec*) et le modèle *in vivo* de virulence *Caenorhabditis elegans*, nous avons comparé la virulence de 132 souches de *S.aureus* en fonction du grade, du moment de recueil de la souche et du devenir de la plaie.

Résultats : Une combinaison de gènes de virulence obtenue à partir d'un modèle de régression logistique et des courbes ROC a retenu 5 gènes : *cap8*, *sea, sei, lukE* et *hlgv*. Ces gènes permettraient de distinguer les plaies non infectées (grade 1) des plaies infectées (grades 2-4) (AUC 0.958) et de prédire l'évolution de la plaie lors du suivi clinique. Un tiers des souches étaient clonales appartenant majoritairement (66%) au clone de Lyon (*agr* allele 1, *spa* type t008, SCC*mec* type IV). En utilisant le modèle des nématodes, les souches de *S.aureus* isolées des plaies de grade 1 étaient significativement moins virulentes (DL_{50}= 3,5 ±0,2) par rapport aux souches isolées de plaies de grade 2-4 (DL_{50}= 1,6 ±0,1) ($p<0,001$), quelle que soit la résistance.

Conclusion : Cette étude démontre la coexistence de 2 populations de *S.aureus* sur les plaies du pied chez le diabétique. Une association de 5 gènes pourraient permettre de distinguer les colonisations (Grade 1) des infections (Grade 2-4), prédire le devenir de la plaie et contribuer à un meilleur usage des antibiotiques dans la prise en charge des plaies du pied chez le diabétique.

243/60o — 5 décembre 2008 - 14:45 - 352 A

Implications biologiques du polymorphisme de la leucocidine de Panton Valentine de *Staphylococcus aureus*

T. Besseyre Des Horts[2], O. Dumitrescu[2-1], C. Badiou[2], Y. Benito[2-1], F. Vandenesch[2-1], J. Etienne[2-1], G. Lina[2-1]
[1]Centre National de Référence des staphylocoques, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon [2]Inserm U851, Equipe "Pathogénie des Staphylocoques", Université de Lyon, Lyon, France

Objectif : Les souches de *Staphylococcus aureus* productrices de la leucocidine de Panton Valentine (LPV) sont responsables d'infections cutanées primitives et de pneumonies nécrosantes. La LPV appartient au groupe des toxines synergohyménotropiques (TSH), dont l'activité biologique nécessite l'association de deux composés (S et F) sécrétés indépendamment. Un polymorphisme récemment mis en évidence sur le composé S de la LPV engendre une différence de séquence protéique entre le composé S de la LPV des *S.aureus* résistants à la méthicilline d'origine communautaire diffusant aux États Unis et les composés S des LPV des différentes souches européennes. L'objectif de notre travail a été de tester *in vitro* l'impact biologique de ce polymorphisme afin d'expliquer les caractéristiques épidémiologiques des souches de *S.aureus* diffusant sur les différents continents.

Méthodes : Les différents composés S issus du polymorphisme de la LPV ont été clonés à partir de souches LPV positives et produits chez *E.coli*. Les composés avec lesquels ils seraient susceptibles d'agir (le composé F de la LPV, LukD et la sous-unité B de l'hémolysine γ) ont également été clonés et produits chez *E.coli*. La toxicité des composés S et F seuls et des différents couples possibles a ensuite été testée dans un modèle d'interaction avec des polynucléaires humains, en mesurant par cytométrie de flux l'incorporation d'un agent de viabilité cellulaire.

Résultats : Les toxines seules n'ont eu, comme attendu, aucune activité, contrairement aux différents couples testés qui présentent eux une activité leucotoxique. Néanmoins il n'a été trouvé aucune différence de toxicité entre les différents polymorphismes du composé S de la LPV, quelque soit le composé F associé.

Conclusion : Notre étude n'a donc pas permis de mettre en évidence un quelconque rôle biologique du polymorphisme récemment décrit sur le composé S de la LPV. Néanmoins, la formation des pores membranaires n'étant qu'une facette de l'activité de la LPV, des études *in vivo* seraient nécessaires afin de mieux explorer les éventuelles différences d'activité biologique entre les variants de la LPV.

244/60o — 5 décembre 2008 - 15:00 - 352 A

Microarray analysis identifies extensive adaptive changes in the transcriptome of group B *Streptococcus* in response to incubation with human blood

L. Mereghetti[2-1], I. Sitkiewicz[1], N.M. Green[1], J.M. Musser[1]
[1]Center for Molecular and Translational Human Infectious Diseases Research, The Methodist Hospital Research Institute, Houston, Texas, Etats-Unis [2]EA3854, "Bactéries et risque materno-foetal", Université François-Rabelais et Centre Hospitalier Universitaire, Tours, France

Transient passage or prolonged exposure of group B streptococcus (GBS) to blood is a crucial step in pathogenesis. To enhance understanding of how the bacterium adapts in this new environment, we performed a whole-genome transcriptome analysis after incubation with whole human blood.

GBS reference strain NEM316 was grown in Todd-Hewitt broth, mixed to fresh heparinized human blood donated by seven healthy volunteers, and incubated at 37°C and 40°C. Samples were removed immediately after adding bacteria (T0), and after 30 (T1) and 90 (T2) minutes of incubation. RNA was extracted and synthesized in cDNA. cDNA was fragmentated, labelled and hybrydized on custom-made Affymetrix microarrays.

Principal component analysis showed extensive clustering of the transcriptome data among the seven samples at T0, T1 and T2. Global changes occurred in the GBS transcriptome rapidly in response to blood contact following shift from growth in a rich laboratory medium. Expression of almost 40% of the genes was altered after 30 minutes, mostly as a down-regulation (83% of the transcriptional changes) of genes belonging to all functional categories. We observed complex dynamic changes in the expression of transcriptional regulators and stress response genes that allow GBS to rapidly adapt to blood. The transcripts of relatively few proven virulence genes were up-regulated during the first 90 minutes. However, genes encoding proteins involved in interaction with the host coagulation/fibrinolysis system and bacterial-host interactions were rapidly up-regulated. Extensive transcript changes also occurred for genes involved in carbohydrate metabolism, including multi-functional proteins putatively involved in pathogenesis. Finally, we discovered that an incubation temperature closer to that occurring in patients with severe infection and high fever (40°C) induced additional differences in the GBS transcriptome relative to normal body temperature (37°C).

In conclusion, our study provides for the first time a transcriptomic analysis of GBS during ex vivo contact with human blood, and identifies new leads to understand GBS pathogenesis in human invasive infections.

245/60o — 5 décembre 2008 - 15:15 - 352 A

Etude du polymorphisme du gène *cdtR* régulant l'expression de la toxine binaire de *Clostridium difficile*

C. Eckert[2], S. Idris[2], D. Decré[2], B. Burghoffer[2], J. Audo[2], F. Barbut[2-1]
[1]UHLIN, Hôpital Saint Antoine, AP-HP [2]UPRES EA2392, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

Objectif : Certaines souches de *C. difficile* (dont la souche épidémique 027) produisent en plus des toxines A et B, une ADP-ribosyltransférase spécifique de l'actine (CDT ou toxine binaire) qui pourrait être un facteur de virulence additionnel. Récemment Carter *et al*. ont montré que les gènes *cdtA* (partie enzymatique) et *cdtB* (partie ligand) codant pour la toxine binaire sont sous la dépendance d'un gène régulateur *cdtR* appartenant à la famille LytTR. Nous avons étudié la variabilité du gène *cdtR* de différentes souches toxinogènes.

Méthodes : 29 souches toxinogènes de *C. difficile* positives pour les gènes de la toxine binaire et provenant de différents hôpitaux d'Ile de France ont été étudiées. Les souches de référence CD196 (souche 027) et CD630 ont également été incluses. Les séquences des gènes *cdtR* (amplification de 949 pb) et *cdtA* (amplifications de 955 pb et 1025 pb) ont été analysées.

Résultats : L'alignement des séquences protéiques déduites du gène *cdt*A a permis de définir trois groupes (A à C). Le groupe B comprend 19 souches différant du groupe A (8 souches dont la souche CD196) par 11 mutations ponctuelles ; le groupe C (3 souches) présente 15 mutations par rapport au groupe A. L'alignement des séquences protéiques déduites du gène *cdtR* a identifié 6 groupes (1 à 6). Le groupe 1 (8 souches dont la CD196) diffère du groupe 2 par 13 mutations ponctuelles. Le groupe 3 correspond à la souche CD630 ; les groupes 4 et 5 (1 et 3 souches respectivement) présentent respectivement 9 et 8 mutations ponctuelles par rapport au groupe 1. Le groupe 6 (15 souches) est caractérisé par un codon stop prématuré. La confrontation de ces groupes a mis en évidence une corrélation entre le polymorphisme de ces 2 gènes ; par exemple les 8 souches du groupe 1 appartiennent au groupe A et aux toxinotypes III ou IX. Les souches du groupe 6 caractérisées par un codon stop appartiennent au groupe B et au toxinotype V.

Conclusion : Ces observations indiquent une association entre le polymorphisme des gènes codant la toxine binaire et celui du gène codant la protéine régulatrice CdtR. Il serait intéressant de corréler ces résultats à la production de protéine CDT mise en évidence par WB afin de connaître l'impact du polymorphisme de *cdtR* sur la production de la toxine binaire.

246/60o — 5 décembre 2008 - 15:30 - 352 A

Lymphome gastrique de type MALT, expression gastrique de la famille NOX (NADPH-oxydases) et infection à *Helicobacter pylori*

E. Bessede[1], N. Salles[1], P. Lehours[1], F. Mégraud[1], C. Copie-Bergman[2], K. Leroy[2], J.C. Delchier[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Inserm U857, Bordeaux [2]Laboratoire d'Anatomo-Pathologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

Les NOX sont des complexes enzymatiques membranaires, dont l'activation induit la production de radicaux libres oxygénés, et permet la destruction des micro-organismes pathogènes. Le lymphome gastrique du MALT est lié à l'infection par *Helicobacter pylori*. Au niveau de sa physiopathologie, une des hypothèses serait l'induction d'une production de radicaux libres oxygénés, secondaire à l'activation des NOX éventuellement en relation avec l'infection à *H. pylori*.

L'objectif principal de ce projet est de rechercher l'expression des différentes NOX dans les biopsies gastriques de patients souffrant de lymphome gastrique du MALT, en fonction de la présence d'une translocation t(11-18), et du statut infecté par *H. pylori* ou non du patient.

Il s'agit d'une étude rétrospective. Au total, 50 biopsies ont été étudiées.

14 biopsies de MALT, t(11-18) +, dont 10 ont été réalisées 2 fois, au diagnostic et après traitement

10 biopsies de MALT, t(11-18) -

10 biopsies de gastrite

Le statut *H. pylori* était connu pour chaque patient. Après extraction de l'ARN total, une RT-PCR en temps réel a été effectuée 2 fois. L'étude comparative des groupes a été réalisée (Kruskal Wallis, Anova).

Il n'a pas été observé d'augmentation de l'expression de NOX5, son expression n'est donc pas liée au lymphome du MALT ($p = 0,574$) et ne varie pas en fonction de la présence de la translocation ($p = 0,28$). L'expression de NOX2 augmente chez les patients atteints de lymphome ($p = 0,007$), et cette augmentation est liée à la présence de la translocation t(11-18) ($p = 0,014$). Après traitement du lymphome, l'expression de NOX2 diminue de façon significative ($p = 0,001$). Aucune incidence du statut *H. pylori* n'a été mise en évidence sur l'expression des NOX.

En conclusion, cette étude décrit l'expression des NOX au cours du lymphome du MALT et met en évidence une relation entre NOX2 et la translocation t(11-18).

247/60o — 5 décembre 2008 - 15:45 - 352 A

Phénotype d'adhésion identique sur cellules endothéliales cérébrales humaines de souches *d'Escherichia coli* K1 responsables de méningites néonatales ou de bactériémies sans méningites

C. Bernard[1-3], E. Mairey[1-3], G. Dumenil[1-3], P.O. Couraud[4], S. Bonacorsi[2], X. Nassif[1-3]
[1]Inserm U570 [2]EA3105, Service de Microbiologie, Université Paris 7 [3]Faculté de Médecine [4]Institut Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France

Escherichia coli est la deuxième cause d'infections néonatales dans les pays industrialisés après les streptocoques du groupe B. Ces infections regroupent des pneumonies, des bactériémies et des méningites. Des facteurs spécifiques ont été mis en évidence dans l'interaction des bactéries avec la barrière hématoencéphalique, mais le mécanisme permettant à certaines souches d'*E.coli* de franchir cette barrière reste inconnu.

Objet de l'étude : Nous avons voulu déterminer si les souches d'*E.coli* responsables de méningites exprimaient un phénotype particulier d'adhésion sur les cellules endothéliales cérébrales humaines.

Méthodes : Deux souches d'*E.coli* appartenant au même complexe clonal ont été étudiées : S88 (O45:K1) responsable de méningite néonatale, et HN50 (O2:K1) isolée d'une bactériémie néonatale sans méningite. L'adhésion a été étudiée en condition de flux avec des contraintes de cisaillement de 0.044 à 3.5 dynes/cm2 sur des cellules endothéliales cérébrales humaines. Une souche uropathogène CFT073 a servi de témoin.

Résultats : Le nombre de bactéries adhérentes à 0.044 dynes/cm^2 est respectivement de 72 et 71 par mm^2 pour les souches S88 et HN50 et le pourcentage de bactéries restant adhérentes après augmentation du flux à 3.5 dynes/cm^2 est de 100 et 80% respectivement.

Les souches S88 et HN50 sont toutes deux capables de se multiplier sur les cellules endothéliales cérébrales humaines à 0.044 dynes/cm^2 ; elles forment une monocouche qui couvre la surface apicale des cellules et est partiellement détruite lors de l'augmentation du flux.

Conclusion : Au sein d'un même complexe clonal, une souche responsable de méningites néonatales et une souche donnant des bactériémies sans méningites présentent le même phénotype d'adhésion sur les cellules endothéliales cérébrales humaines. Ainsi le franchissement de la barrière hématoencéphalique ne semble pas être la conséquence d'une seule interaction spécifique entre les souches d'*Escherichia coli* K1 et les composants de cette barrière.

RÉSUMÉS
SESSIONS D'AFFICHES LIBRES

ABSTRACTS
FREE PAPERS FOR POSTERS SESSIONS

SESSIONS D'AFFICHES
Posters Sessions

248/62A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Expression de CTX-M et sélection de résistance à l'ertapénème chez *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*

D. Girlich, L. Poirel, P. Nordmann
Bactériologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicetre, France

Les carbapénèmes (imipénème, ertapénème et méropénème) sont les beta-lactamines de choix pour le traitement des infections dues aux *Enterobacteriaceae* productrices de beta-lactamases à spectre élargi. L'utilisation de l'ertapénème comme alternative aux autres carbapénèmes est actuellement débattue car des résistances à l'ertapénème ont déjà été décrites. L'objectif de cette étude était de déterminer si l'ertapénème pouvait entraîner la sélection in-vitro de beta-lactamases de type CTX-M avec une activité carbapénèmase. La fréquence d'apparition de mutants résistants à l'ertapénème a donc été évaluée in-vitro sur des souches de *Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* productrices de CTX-M-2, CTX-M-3, CTX-M-9 ou CTX-M-15. Le risque de sélection de mutations au sein de gènes bla_{CTX-M} et l'expression des porines dans les mutants résistants à l'ertapénème ont également été examinés.

La fréquence de mutants obtenus était similaire quelle que soit la beta-lactamase exprimée et similaire à celle obtenue avec les souches contrôles, n'exprimant pas de b-lactamase. Les expériences de PCR et RT-PCR quantitative ont montré que l'addition d'ertapénème entraînait une diminution de l'expression des gènes de porines *ompC* et *ompF* chez *E.coli* et *ompK35* et *ompK36* chez *K. pneumoniae,* mais ne sélectionnait pas de mutation dans les gènes bla_{CTX-M}. L'ertapénème entraîne donc la sélection de mutants de sensibilité réduite à l'ertapénème par modification de la structure des porines quel que soit le contenu en beta-lactamases.

249/62A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Souches d'*Enterobacter aerogenes* multirésistantes et modification des protéines de la membrane externe

J.P. Lavigne[1], A. Sotto[3], N. Bouziges[3-2], A. Davin-Regli[1], J.M. Pagès[1]
[1]UMR-MD1, Université de la Méditerranée, Marseille [2]Laboratoire de Bactériologie, CHU Carémeau [3]Espri 26, Inserm, Nîmes, France

Objet de l'étude : Le but de cette étude était d'étudier les mécanismes d'efflux et les modifications de porines d'isolats d'*E. aerogenes* multirésistants collectés chez des patients traités par imipénème (IMP).

Méthodes : Du 1er janvier 2005 au 31 août 2007, un suivi des patients infectés par des souches d'*E. aerogenes* multirésistantes (sécréteurs de BLSE ou ayant une céphalosporinase déréprimée) a été mené au CHU de Nîmes, dans le but d'identifier une résistance à IMP. Les souches isolées ont été caractérisées phénotypiquement (résistance vis-à-vis des principaux antibiotiques, identification de la ou des beta-lactamase(s) produite(s)) et génotypiquement (électrophorèse en champ pulsé). Les immunodétections des composantes de la pompe à efflux et des porines ont été réalisées sur cellules totales et sur membrane externe et identification des composantes par spectrométrie de masse.

Résultats : Durant l'étude, 39 souches issues de 17 patients infectés ont été sélectionnées : à l'inclusion, 17 souches présentaient une céphalosporinase déréprimée et étaient sensibles à l'IMP ; lors du suivi, 22 souches présentaient une sensibilité intermédiaire et/ou une résistance à l'IMP. En comparant les souches à l'inclusion et lors du suivi sous IMP, l'étude des modifications des porines a démontré l'expression (n=10), la diminution (n=3) ou l'absence de porines (n=4). L'étude des systèmes d'efflux (pompe AcrAB-TolC) a objectivé une surexpression des composants de ce système (n=17). Chez un patient, les différentes souches isolées ont permis d'établir les différents stades d'évolution de la résistance: modification des porines, 'switch' des porines, disparition des porines. Durant le 'switch' des porines, une protéine supplémentaire est apparue comme essentielle dans le passage entre présence/absence de porine.

Conclusion : Cette étude a permis de mettre en évidence les différentes étapes de modifications de la perméabilité membranaire chez des souches d'*E. aerogenes* multirésistantes lors d'un traitement par IMP. Ces souches présentes dans nos hôpitaux sont inquiétantes car elles aggravent le pronostic de ces infections et conduisent à des impasses thérapeutiques.

250/62A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* associated to DHA-1, an AmpC Bêta-lactamase and loss of outer membrane protein OMP-36

D. Piérard[3], P. Bogaerts[4], C.H. Jones[5], O. Soetens[3], H. De Beenhouwer[1], F. Trullemans[2], Y. Glupczynski[4], S. Lauwers[3]
[1]Clinical microbiology, OLV Hospital, Aalst [2]Hematology [3]Microbiology and hospital infection control, Universitair Ziekenhuis Brussel (UZB), Brussels [4]Bacteriology-virology, Cliniques Universitaires UCL, Mont-Godinne, Belgique [5]Research, Wyeth, Pearl River, Ny, Etats-Unis

Purpose of the study: To investigate the carbapenem resistance development in a K. pneumoniae blood isolate.

Methods: Two K. pneumoniae blood isolates (A & B) recovered from a 23 year old man treated for about one month with meropenem for peritonitis after partial resection of Burkitt lymphoma were compared to three epidemic strains (X, Y & Z) isolated in the regional hospital where he was hospitalized before transfer to UZB. Molecular techniques were used for strain typing (PFGE, ribotyping and RAPD), resistance genes identification (PCR-sequencing) and OMP profiling (SDS PAGE).

Results obtained: All five isolates were shown to be clonally related by PFGE, ribotyping and RAPD. Isolate B, recovered after meropenem treatment, was resistant to all tested antibiotics except tigecycline. The 4 other isolates were susceptible to carbapenems. All carried genes for SHV-11 and OXA1/30. All but isolate A carried the blaDHA-1 ampC gene. Outer membrane protein gel electrophoresis showed that the expression of OMP-36 was down-regulated in isolates A and B, but not in X, Y and Z.

Conclusion: A patient with severe abdominal and hematological disease was transferred to UZB from a regional hospital experiencing a nosocomial K. pneumoniae outbreak expressing DHA-1 AmpC beta-lactamase. After a prolonged meropenem course, a carbapenem resistant K. pneumoniae was isolated from blood. The loss of an outer membrane protein, OMP-36, possibly consecutive to carbapenem treatment, and the presence of an AmpC beta-lactamase seems to be associated with the emergence of carbapenem resistance in this isolate.

251/62A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Mécanismes membranaires de résistance chez *Acinetobacter baumannii* : analyses fonctionnelles de la porine CarO *(carbapenem-associated resistance outer membrane protein)*

M. Catel-Ferreira[2], V. Molle[1], A. Siroy[2], M. Pestel-Caron[3], T. Jouenne[2], E. Dé[2]
[1]Laboratoire de Phosphorylation des protéines et pathogénies bactériennes, IBCP, CNRS-UMR, Lyon [2]Laboratoire PMS, FRE 3101 CNRS, IFRMP 23, Mont-Saint-Aignan [3]Groupe de Recherche sur les Antimicrobiens et les Micro-organismes EA 2656, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

Ces dernières années ont vu l'émergence de *Acinetobacter baumannii*, coccobacille Gram négatif ubiquitaire, en tant que responsable de véritables épidémies nosocomiales (par ex. l'épidémie de 2003 dans le Nord de la France) mobilisant les autorités sanitaires et l'opinion publique. La prévention et le traitement des infections à *A. baumannii* se heurtent à sa capacité naturelle à survivre dans des environnements hostiles, à résister à de nombreux agents antiseptiques, mais aussi à l'apparition de bactéries multirésistantes (MDR). A ce jour, les mécanismes moléculaires, associés à la membrane et participant à la résistance de cette bactérie face aux antibiotiques, restent peu connus.

En prélude à l'étude de tels mécanismes chez cet organisme, nous avons entrepris la comparaison des sous protéomes membranaires (interne/externe) entre une souche de référence (ATCC 19606) et un isolat clinique MDR - résistant notamment à l'Imipénème -. Ceci nous a permis de montrer que ce dernier voyait s'établir au sein de son enveloppe, la sous expression d'une protéine liant la pénicilline (la PLP 1b), l'apparition d'isoformes d'une porine à canal hydrophobe, OmpW, ainsi que, pour 2 protéines NlpE et CsuD, une surexpression à relier avec la capacité augmentée de cette souche à former des biofilms.

Enfin, nous avons étudié plus particulièrement une protéine dont la structure primaire semblait modifier au sein de la membrane externe de l'isolat clinique MDR : la protéine CarO. Nous décrirons certaines analyses structurales (Structure I et IV) et fonctionnelles (reconstitution en bicouches lipidiques artificielles) permettant de caractériser plus précisement cette protéine, qui semblerait être spécifique à la L-Ornithine, plus généralement aux acides aminés basiques et aux carbapénèmes.

252/62A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

La perte d'atlE, principale autolysine de *S. epidermidis* ne modifie pas l'activité des glycopeptides dans le modèle de sepsis/péritonite de souris

M. Hello, N. Caroff, C. Jacqueline, V. Le Mabecque, A.F. Miègeville, M. Lefebvre, J. Caillon, G. Potel, E. Batard
UPRES EA 3826, UFR de Médecine, Nantes, France

Introduction : Les mécanismes de résistance de *S. epidermidis* aux glycopeptides sont mal élucidés. Le principal mécanisme évoqué est un épaississement de la paroi bactérienne lié à une perte de l'autolyse. Notre objectif était d'étudier les conséquences de la perte d'*atlE* sur l'activité *in vitro* et *in vivo* de la teicoplanine (TEI) et de la vancomycine (VA).

Méthodes : Un couple de souches de *S. epidermidis* isogéniques O-47 *atlE(+)* et O-47 *atlE(-)* était utilisé (Pr Heilmann C., université de Münster, Allemagne). Les CMI de la TEI et de la VA étaient déterminées par microméthode. Leur CMB était déterminée par macrométhode en milieu liquide. L'inoculum létal 50 (IL 50) était évalué à J6 chez des souris immunodéprimées inoculées par voie intrapéritonéale (3 à 8 $\log_{10}$ CFU). La dose efficace médiane des 2 glycopeptides (DE 50) était également évaluée à J6 : après une inoculation de 7 $\log_{10}$ CFU, les souris étaient traitées par différentes doses de TEI ou de VA en injections sous-cutanées à 0, 4, puis 8 heures.

Résultats : Les CMI de la TEI et de la VA étaient similaires entre les 2 souches. Elles étaient tolérantes à la TEI (CMB>256 mg/L). En revanche, seule la souche *atlE(-)* était tolérante à la VA. *In vivo*, il n'y avait pas de différence de virulence entre les 2 souches. Les DE 50 de la TEI et de la VA étaient similaires entre les 2 souches (tableau).

Tableau : Résultats de la délétion du gène *atlE* chez *S. epidermidis* sur l'activité *in vitro* et *in vivo* des glycopeptides.

	O-47 *atlE(+)*	O-47 *atlE(-)*
IL 50 (CFU/souris)	10^4	$2{,}5.10^4$
CMI TEI (mg/L)	4	2
CMB TEI (mg/L)	>256	>256
DE 50 TEI (mg/Kg)	2	7
CMI VA (mg/L)	1	1
CMB VA (mg/L)	8	>256
DE 50 VA (mg/Kg)	9	6

Conclusion : La perte d'*atlE* ne modifie pas la CMI de la vancomycine ni celle de la teicoplanine. Elle diminue l'activité bactéricide de la vancomycine *in vitro*, mais ne semble pas avoir d'impact sur l'activité des glycopeptides dans le modèle de sepsis/péritonite de souris. L'autolyse est un processus complexe très régulé dont les mécanismes restent à élucider afin de mieux comprendre ses relations avec la résistance et la tolérance aux antibiotiques inhibiteurs de paroi.

253/62A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Analyse de la multirésistance de souches d'*Aeromonas hydrophila* d'origine environnementale et clinique

M. Hernould[1], V. Dubois[1], C. Harf-Monteil[2], C. Quentin[1], C. Arpin[1]
[1]CNRS-5234, Université de Bordeaux 2, Bordeaux [2]CHU de Strasbourg, UPRES EA 332, Université Louis Pasteur, Strasbourg, France

Cinq souches non clonales d'*Aeromonas hydrophila* multirésistantes aux antibiotiques, y compris aux quinolones, ont été étudiées. Trois d'entre elles provenaient d'eau de rivière (Arga, Espagne), et les 2 autres ont été isolés chez des patients de l'hôpital de Strasbourg. Les mécanismes responsables de la multirésistance ont été analysés.

Les 5 souches étaient résistantes à l'acide nalidixique (CMI_{NAL}, 256 à 1024 mg/l). La CMI des fluoroquinolones était variable (norfloxacine, 0,5 à 128 mg/l ; ciprofloxacine, 0,1 à 32 mg/l). Toutes possédaient une mutation dans gyrA (Ser83Ile ou Ser83Arg) et 3 avaient, en plus, une mutation dans parC (Ser80Ile). L'addition de PAßN diminuait les CMI_{NAL} de 2 à 16 fois, suggérant l'implication de système(s) d'efflux. L'amplification des gènes *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* et *qepA* était négative.

Toutes les souches étaient également résistantes à la tétracycline (16 à 128 mg/l) et présentaient des déterminants tet variés (*tetC*, 2 souches et *tetA*, *tetB* ou *tetE*, 1 souche).

A l'antibiogramme + cloxacilline, 3 souches montraient un profil ''pénicillinase'', confirmé par une PCR positive pour une ß-lactamase de type TEM. De plus, ces souches étaient résistantes à kananycine-néomycine par production d'une APH(3')-Ia ou APH(3')-Ic. Un gène aac(6')-Ib (tobramycine-nétilmicine-amikacine) a été également retrouvé chez 2 souches.

La multirésistance de 3 souches était associée à la présence d'intégrons de classe 1. Deux souches d'origine environnementale et clinique comportaient un intégron identique composait des cassettes *catB3* (chloramphénicol) et *aadA1* (streptomycine/spectinomycine, S/SPE). L'autre souche d'origine clinique possédait un intégron comportant les gènes *dhfrXII-orfF-aadA2* (triméthoprime-fonction inconnue-S/SPE). Les séquences de ces 2 intégrons étaient similaires à celles précédemment décrites chez des souches d'A. hydrophila isolées d'animaux d'élevage (n° GenBank DQ462519 et AY522923). Des expériences préliminaires de transfert à *Escherichia coli* par conjugaison et transformation sont restées négatives.

En conclusion, nos données confirment l'émergence de la multirésistance aux antibiotiques chez *A. hydrophila* dans l'environnement, mais aussi chez des souches rencontrées à l'hôpital, incitant à une surveillance renforcée de ces bactéries.

254/62A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Phénotypes et génotypes de résistance de *S. typhimurium* d'origine non humaine

S.A. Granier[1], L. Cosnuau[1], J. Grout[1], C. Piquet[1], C. Pires-Gomes[1], D. Mevius[2], A. Brisabois[1]
[1]Unité CEB, AFSSA-Lerqap, Maisons-Alfort, France [2]WUR, Lelystad, Pays-Bas

Les salmonelloses humaine peuvent être considérées comme un réel problème en santé publique et chaque année, environ 4000 cas liés au sérotype Typhimurium sont recensés en France. Un traitement antibiotique peut être prescrit dans les cas les plus sévères et fait appel aux fluoroquinolones ou aux ß-lactamines. L'objectif de cette étude financée par un réseau de recherche européen (WP21, MedVetNet) était de comparer les phénotypes et génotypes de résistance de 650 souches de *S.* Typhimurium collectées par le réseau *Salmonella* de l'AFSSA dédié à la surveillance des isolats d'origine non humaine.

Un quart des souches présentait le phénotype sauvage. La sensibilité diminuée aux fluoroquinolones a été estimée aux environs de 16%. La résistance combinée aux quinolones et aux β-lactamines a été observée pour plus de 14% des souches. Le phénotype ACSSuT (résistances associées à l'ampicilline, chloramphénicol, streptomycine, sulfamides et tétracycline) caractéristique du lysotype DT104 était présent pour 29% des souches dont un tiers présentait des résistances additionnelles. Aucune BLSE n'a été détectée.

Les jonctions gauche et/ou droite de la structure SGI1, ilot génomique impliqué associé au phénotype ACSSuT, ont été détectées par PCR chez 34% des souches, l'intégron de classe 1 chez 33%. Ces détections par PCR montrent une remarquable variabilité au sein des séquences SGI1 de *S.* Typhimurium. Aucun gène *qnr* n'a été détecté.

Des discordances entre les phénotypes observés et les génotypes détectés par PCR sont en cours d'investigation. C'est le cas pour douze souches possédant l'intégron de classe 1 et par conséquent supposées porter le gène *sul1* qui ont été phénotypiquement sensibles aux sulfamides. De même, treize souches de phénotype ACSSuT ont présentés des génotypes négatifs pour SGI1 et l'intégron de classe 1.

Ces résultats concernant les isolats d'origine non humaine doivent ensuite être confrontés à ceux obtenus pour les salmonelles d'origine humaine (Weill et al., JCM, 2006). L'ensemble des résultats analysés devrait permettre à terme d'estimer dans quelle mesure les souches de *S.* Typhimurium constituent un réservoir de gènes de résistances susceptibles de diffuser vers d'autres sérovars ou d'autres entérobactéries.

255/62A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

A propos d'une souche de *Eggerthella lenta* isolée dans une hémoculture, résistante à l'Imipénème

N. Hidri, O. Barraud, F. Garnier, C. Martin, M.C. Ploy, F. Denis
Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

Eggerthella lenta, bacille à Gram positif anaérobie appartenant à la flore intestinale de l'homme est rarement isolé dans les hémocultures. Son identification par les méthodes biochimiques habituelles n'est pas aisée. Elle repose souvent sur le séquençage du gène de l'ARN 16S. Dans la littérature, la sensibilité aux β-Lactamines est habituelle.

En février 2008, un patient de 56 ans a été hospitalisé pour pontage vasculaire. Dans un abcès cutané, infection du site opératoire, ont été isolées une souche de *Enterobacter cloacae*, hyperproductrice de céphalosporinase, et une souche de *Proteus mirabilis*, sensible aux β-Lactamines. Le patient a reçu Imipénème et Ciprofloxacine, à doses thérapeutiques. Secondairement, sur trois hémocultures prélevées en 24 heures, une seule a permis d'isoler, en culture monomicrobienne, une souche de bacille à Gram positif anaérobie. L'identification par Rapid ID 32 ANA (Biomérieux, France) n'était pas satisfaisante, avec *Eggerthella lenta* en troisième proposition mais sans aucun test à l'encontre. Le séquençage du gène de l'ARN 16S était compatible avec *E. lenta*. L'antibiogramme par diffusion réalisé sur milieu Wilkins Chalgren, selon les recommandations du CA-SFM, mettait en évidence une résistance à la Pipéracilline, une double zone à l'Imipénème, une sensibilité moindre à la Moxifloxacine et une sensibilité au Métronidazole et à la Vancomycine. La recherche de β-Lactamase par nitrocéphine était négative. Les CMIs ont été déterminées par E-Test® (AES, France): les CMI de l'amoxicilline et de l'association Amoxicilline – acide clavulanique étaient à 1, 5 mg/l, celle de la Pipéracilline à 96 mg/l, celle de la Moxifloxacine à 1,5 mg/l et celle de l'Ertapénème à 2 mg/l. Pour l'Imipénème, une double population était visible, une population sensible avec une CMI à 0,38 mg/l et une résistante avec une CMI > 32 mg/l.

Conclusion : La résistance aux carbapénèmes est inhabituelle chez cette espèce et la description d'une double zone pour l'imipénème suggère une vigilance lors de l'étude de la sensibilité à cet antibiotique. Il est probable que cette souche a été sélectionnée suite à l'antibiothérapie prescrite.

256/62A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Isolement d'une souche d'*Haemophilus influenzae* résistante à l'imipénème chez un patient présentant une pneumopathie acquise sous ventilation

O. Barraud[1-3], N. Pichon[2], N. Hidri[1], F. Denis[1-3], B. François[2], M.C. Ploy[1-3]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Service de Réanimation Polyvalente, CHU Dupuytren [3]Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire des Micro-organismes EA3175, Université de Limoges, Faculté de Médecine, Limoges, France

Objet de l'étude : La résistance aux β-lactamines des bactéries du genre *Haemophilus* est due à deux mécanismes : production d'une β-lactamase (souche BLPAR) et/ou modification de la cible de l'antibiotique (BLNAR). En France, où seules les souches non capsulées sont concernées, la prévalence des BLNAR est en augmentation, avec un taux en 2005 de 19%. Ces souches présentent une moindre sensibilité aux β-lactamines, mais restent sensibles aux C3G et aux carbapénèmes. L'objet de l'étude a concerné une souche d'*Haemophilus influenzae* BLNAR présentant une résistance inhabituelle à l'imipénem.

Méthodes : Dans une aspiration distale protégée recueillie chez un patient présentant une pneumopathie précoce acquise sous ventilation, une souche d'*Haemophilus influenzae*, isolée à 10^5 UFC/mL, a présenté un diamètre diminué à la céfalotine (15 mm). Dans le cadre d'un protocole de recherche clinique impliquant l'instauration d'un traitement par doripénem, des CMI en E-test du doripénem et de l'imipénem ont été déterminées. De plus, le séquençage du gène *ftsI* codant la PLP3 a été effectué.

Résultats obtenus : La CMI obtenue pour le doripénem était de 0,19 mg/L. Pour l'imipénem, la valeur de la CMI était de 1,5 mg/L mais avec la présence dans l'ellipse d'une sous-population atteignant une CMI de 24 mg/L. La souche a donc été catégorisée résistante à cet antibiotique. Les CMI d'autres

carbapénèmes et de C3G n'ont pas mis en évidence de phénomène comparable et ont catégorisé la souche sensible. La CMI de l'amoxicilline était de 1,0 mg//L. Le séquençage du gène *ftsI* a montré la présence de mutations connues permettant de classer la souche dans le sous-groupe IIb des BLNAR.

Conclusion : La résistance hétérogène à l'imipénem, dont le mécanisme reste à élucider, a été mise en évidence très récemment en Italie sur 2 souches non capsulées. La souche que nous avons isolée est, à notre connaissance, la première souche française présentant un tel phénotype. Son isolement rappelle la nécessité de la détection des BLNAR en routine, et incite aussi à la détermination de la CMI en cas d'instauration d'un traitement par l'imipénem.

257/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Microbiological characteristics of invasive *Streptococcus pyogenes* strains in France in 2007

A. Doloy[3-5-2-1], P. Bidet[3-4-6], A. Lepoutre[7], G. Collobert[3], C. Poyart[3-5-1], E. Bingen[3-4-6], A. Bouvet[3-5-2]
[1]Cochin Hospital, APHP [2]Hôtel Dieu, APHP [3]National Center for Streptococci [4]Paris 7-Denis Diderot University [5]Paris Descartes University [6]Robert Debré Hospital, APHP, Paris [7]National Institute for Public Health Surveillance, Saint-Maurice, France

Objectives: Characterization of molecular markers of *Streptococcus pyogenes* strains isolated from invasive infections in France in 2007.

Methods: A nationwide laboratory-based surveillance for invasive infections was conducted for a period of one year. Invasive disease was defined as isolation of *S. pyogenes* from a normally sterile site or from a non-sterile site obtained from a patient with streptococcal toxic shock syndrome, necrotizing fasciitis, post-partum fever, or pneumonia. All isolates collected from the 219 participant laboratories were characterized using *emm* sequence typing, PCR detection of toxin and superantigen genes, phenotype and genotype of antibiotic susceptibility. Selected and clustering isolates were investigated by pulse-field gel electrophoresis (PFGE) and rep-PCR.

Preliminary results: 625 invasive strains were obtained from different patients (17% of children *i.e* under 18 years, and 83% of adults). Most isolates were from blood cultures (65%) or other sterile sites (23%). The three predominant *emm* types, accounting for almost 60% of the isolates, were *emm*1 (31%), *emm*89 (17%), and *emm*28 (12%), and 45 other *emm* types were also distinguished. Age-related changes in *emm* type distribution were noticed. In children, *emm*1 and *emm*12 were identified in 45% and 12% of isolates, respectively. The distribution of phage-associated superantigen genes (*spe*A, *spe*C, *ssa*, and *sme*Z) were linked to certain *emm* types. Macrolides and tetracycline resistance was found in 7% and 13% of the isolates, respectively. High levels of kanamycin resistance were restricted to *emm*11, *emm*28, and *emm*83 types.

Conclusion: This study confirmed changes in the epidemiology of invasive *S. pyogenes* infection in France, such as the emergence of *emm*-type 89 and the decrease of macrolides resistance.

258/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Molecular characterization of *Streptococcus pyogenes* strains responsible for meningitis in France

A. Doloy[3-5-2-1], P. Bidet[3-4-7], L. Tiamuna[3], C. Poyart[3-5-1], P. Trieu-Cuot[3-6], E. Bingen[3-4-7], A. Bouvet[3-5-2]
[1]Cochin Hospital, APHP [2]Hôtel Dieu, APHP [3]National Reference Centre for Streptococci [4]Paris 7-Denis Diderot University [5]Paris Descartes University [6]Pasteur Institute [7]Robert Debré Hospital, APHP, Paris, France

Objectives: *Streptococcus pyogenes* remains an uncommon cause of meningitis, despite the worldwide resurgence of invasive infections. The aim of this study was to characterize the molecular markers of the strains isolated in France (1999-2007) and responsible for meningitis.

Methods: Thirty two *S. pyogenes* isolates, from 13 children and 16 adults, were analyzed. Strains were characterized by T type, *emm* sequence type, presence of genes encoding SIC protein, and SpeA, SpeB, SpeC, SmeZ and Ssa pyrogenic exotoxins. Subtyping was performed by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) with *Sma*I restriction enzyme, and by using the DiversiLab system (bioMérieux), a semi-automated repetitive-sequence-based PCR (rep-PCR). Antibiotics resistance was also studied.

Results: Meningitis were associated with otitis, mastoiditis, pharyngitis or sinusitis, or occurred in previously healthy patients. Age ranged from 1 to 83 years (mean age, 27). Streptococcal toxic shock syndrome occurred in 10 cases, and fatal outcome in 9 cases. Among the 10 different *emm* types identified (*emm*1, *emm*2, *emm*3, *emm*4, *emm*6, *emm*28, *emm*78, *emm*89, *emm*100, and *emm*104), *emm*1 (12 cases) and *emm*6 (6 cases) represented 62% of cases, irrespective of age. The *sic* gene was identified in 8/12 of the *emm*1 isolates and commonly associated with *spe*A, *spe*B and *sme*Z genes, and with a single PFGE pulsotype. Strains of *emm* type 6 were characterized by *spe*B and *spe*C genes, and two different PFGE patterns. The results of rep-PCR were in agreement with PFGE results, although more discriminative. Most strains were susceptible to antibiotics.

Conclusion: These results revealed that *S. pyogenes* strains responsible for meningitis are genetically heterogeneous harboring a variety of distinct *emm* types. The prevalence of *emm*1 and e*mm*6 isolates may indicate widespread transmission of these strains in the population, rather than a particular ability to cause meningitis.

259/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prevalence of *emm* and T types and antibiotic resistance of group A Streptococci isolated at Charles Nicolle hospital of Tunisia

M. Hraoui[2-1], I. Boutiba-Ben Boubaker[2], A. Doloy[1], G. Collobert[1], S. Ben Redjeb[2], A. Bouvet[1]
[1]Service de Microbiologie, Hôtel Dieu, AP-HP, Université Paris Descartes, Centre National de Référence des Streptocoques Laboratoire associé pour les streptocoques du groupe A, Paris, France [2]Service de Microbiologie Hôpital Charles Nicolle, Laboratoire de recherche "Résistance aux Antimicrobiens", Tunis, Tunisie

Group A *Streptococcus* (GAS) is an important human pathogen causing a wide spectrum of diseases ranging from uncomplicated to extremely severe infections.

The M protein, encoded by the *emm* gene, is considered to be a major virulence factor. Sequence analysis of the *emm* gene has become an important surveillance tool for investigating the dynamics of GAS infections.

The aim of the present study was to carry out an epidemiological characterization of GAS isolated at Charles Nicolle hospital of Tunis.

A total of 103 non duplicated strains, collected from January 2000 to December 2006 at the laboratory of Microbiology of Charles Nicolle University Hospital of Tunis, were investigated. They were recovered mainly from upper respiratory tract (33%), cutaneous pus (19%) and blood (12%). All isolates were identified by conventional methods and specific agglutination grouping. Antimicrobial susceptibility testing was performed by disk diffusion method. Biotyping was carried out using rapid ID-32 STREP tests. T-typing was performed by slide agglutination and *emm* genotyping by PCR and DNA sequencing.

All GAS were fully susceptible to penicillin G, pristinamycin and vancomycin and showed low resistance level to gentamicin. Rates of resistance to tetracycline, erythromycin, clindamycin, rifampin and bacitracin were 70.8%, 4.8%, 4.8%, 0.9% and 2.9%, respectively. 1.9% and 4.8% of isolates showed high resistance level to streptomycin and kanamycin respectively.

Biotype 3 was the most common. T3/13/B3264 was the most frequent T serotype, accounting for 17.4% of all isolates, T1 and T4 were 7.7% and 4.8%, respectively. A total of 39 different *emm* types were identified, *emm*118 (9.7%) was the most common type followed by *emm*42 (8.7%), *emm*1 (7.7%), std432 (6.7%), *emm*28 (5.8%), and *emm*76 (5.8%). No significant association between *emm* types and origin of the specimens was found.

In conclusion, this first report of *emm* types of GAS present in Tunisia revealed a unique *emm* distribution which is different from GAS distribution in geographically diverse locations. These results will be useful for the development of an appropriate vaccine, particularly in our country where the incidence of rheumatic fever remains high.

260/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Bilan bactériologique de 3 années de dépistage du streptocoque de groupe B (SGB) au cours du dernier trimestre de la grossesse

P. Honderlick, J. Gravisse, P. Cahen, D. Vignon
Microbiologie, Hôpital Foch, Suresnes, France

L'intérêt du dépistage du SGB au cours du dernier trimestre de la grossesse est confirmé de longue date désormais. Pour suivre au mieux les recommandations, au fil des années notre procédure de recherche des SGB a évoluée. nous avons toujours utilisé un milieu gélosé d'abord non sélectif puis sélectif de différents fournisseurs en fonction des études existantes, de notre satisfaction d'usager, de nos marchés financiers avec les sociétés…. Nous présentons ici un bilan de plus de 3 ans basé sur la comparaison des résultats de culture du dépistage au "9ème mois" et des prélèvements orificiels de naissance.positifs à SGB. Nous avons obtenu respectivement pour 1713 recherches en 2005, 84 dépistage positifs (5%): 2152 en 2006, 296 positifs (12%): 1859 en 2007, 236 positifs (13%): 1008 jusqu'au 30/06/08 et 120 positifs (12%). Durant cette même période 10 SGB dans les prélèvements de naissance en 2005, 42 positifs en 2006, 31 en 2007 et 17 SGB à la naissance au 1er semestre 2008. Au cours de ces plus de 3 ans de suivi, le pourcentage de bébés positifs à SGB s'établit donc régulièrement à 13 - 14% des dépistages positifs au 3ème trimestre. Pour les 100 bébés porteurs ou infectés à SGB entre 2005 et 2008, 57 portage de SGB au 3ème trimestre étaient retrouvés, 32 femmes dépistées négatives ont données naissance à un enfant porteur et finalement pour 11 mères aucune notion de dépistage n'est retrouvée dans le dossier bactériologique. Parallèlement nous observons un taux global de transmission materno néonatal de 14% (100 bébés positifs pour 736 dépistages SGB +). Il n'est probablement pas inutile, puisque cela évite à nombre d'enfants de commencer leur vie par une infection qui reste parfois mortelle, et en particulier durant cette période de pénurie en nouvelles molécules, de dire « merci les antibiotiques ».

261/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Antibiotic resistance and *emm*-types of *Streptococcus dysgalactiae* subsp. *equisimilis* strains isolated from invasive and non-invasive infections

A. Ergani[2-3], A. Doloy[2-1-3], G. Collobert[2], C. Poyart[1-3], A. Bouvet[2-3]
[1]*Centre National de Référence des Streptocoques, CNR-Strep, Service de Bactériologie, Groupe Hospitalier Cochin-Saint-Vincent de Paul, AP-HP* [2]*Laboratoire Associé au Centre National de Référence des Streptocoques, CNR-Strep LA-SGA-A* [3]*Université Paris Descartes, Paris, France*

Human severe infections, including bacteremia, necrotizing fasciitis, and toxic shock syndrome, due to *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* are increasing.

Objectives: To characterize the genetic relatedness, the *emm*-type and the antibiotic resistance genes of *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* human strains isolated from invasive and non-invasive infections.

Methods: A total of 55 strains sent to the National Reference Center for Streptococci between January 2007 and August 2008 which were responsible for 19 invasive infections and for 36 pharyngeal or cutaneous non-invasive infections was studied. Most invasive strains were obtained from blood culture (15), others were from bone tissue (2), articular fluid (1) and aponeurotic tissue (1). Species identification was performed by rapid ID 32 STREP. Lancefield groups were determined by latex agglutination. Antibiotic susceptibility testing was done by disk diffusion method according to the CA-SFM guidelines. Streptococcal *emm* sequence was determined according to the CDC protocol. Detection of macrolide and tetracycline resistance genes: *erm*(B), *erm*(TR), *mef*(A), *tet*(M), *tet*(O), *tet*(K), and *tet*(L) was done by PCR. Clonal relatedness of the strains was inferred by PFGE using *Sma*I restriction enzyme.

Results: Among the 55 *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* strains; 38 were group G (69%), 15 were group C (27%) and two were group A (4%). Twenty-two different *emm*-types were recovered irrespective to their origin and Lancefield groups. The most frequent *emm* sequence types were stG485 (n=14; 25%) and stG6 (n=5; 9%). Ten strains (18,8%) were resistant to erythromycin. Six had an MLSB constitutive (5 strains) or inducible (1 strain) phenotype due to *erm*(B) (n=2) or *erm* (TR) (n=4) resistance gene. Four with the M phenotype and *mef*(A) gene were susceptible to clindamycin. Among the 24 (44%) tetracycline resistant isolates *tet*(M), *tet*(M)+tet(L), *tet*(O) and *tet*(L) genes were detected in 19, 2, 2 and 1 strain, respectively. Different PFGE patterns were observed irrespective to the *emm*-type.

Conclusion: The present study shows the high genetic diversity of the *S. dysgalactiae* subsp. *equisimilis* human strains whatever their clinical origin (invasive *vs* non-invasive). It also demonstrates that various genetic determinants account for erythromycin and tetracycline resistance.

262/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Beta-lactams resistance mechanisms of invasive *Streptococcus pneumoniae* strains isolated in Children's Hospital of Tunis (2000-2007)

F. Charfi, H. Smaoui, N. Jelili, A. Kechrid
Laboratory of microbiology, Children's Hospital, Tunis, Tunisie

Purpose of study: The objective of this study was to identify the altered penicillin binding proteins (*pbp*) genes which induced beta-lactams resistance in *Streptococcus pneumoniae* (*Sp*) strains isolated from Tunisian children.

Methods: 100 invasive *Sp* strains were isolated between 2000 and 2007 and identified by susceptibility to optochin as well as polymerase chain reaction (PCR) amplification of the pneumolysin gene (*ply*). Beta-lactams susceptibility was performed by the disk diffusion method as determined by CA-SFM guidelines. Minimum inhibitory concentrations (MIC_S) of penicillin G (PG), amoxicillin (AMX) and cefotaxim (CTX) were determined by E-test method (AB BIODISK) for penicillin non susceptible pneumococci (PNSP) strains defined by an inhibitory diameter of 5µg oxacillin disk less than 26mm. *Sp* ATCC 49619 was used as a control strain. The detection of beta-lactams altered genes *pbp2x*, *pbp2b* and *pbp1a* was assessed by multiplex PCR and analysed by electrophoresis on 2% gel. Serogroups and serotypes were performed respectively by latex agglutination test and swelling capsular reaction (Statens Institute, Copenhagen).

Results: The prevalence of PNSP isolates was 52% (44 isolates had a low level of resistance (LLR), 8 isolates had a high level of resistance (HLR)). AMX resistance concerned 9% of isolates (8 isolates had LLR and 1 strain had HLR). All CTX resistant isolates (4%) had a LLR. Among PNSP isolates, 21% of them had all three *pbp* genes altered (MIC_{50} PG=0.75µg/ml, MIC_{50} AMX=0.38µg/ml and MIC_{50} CTX=0.38µg/ml). *pbp2x* and *pbp2b* altered genes were simultaneously detected in 22% of *Sp* isolates (MIC_{50} PG=0.75µg/ml, MIC_{50} AMX=0.5µg/ml and MIC_{50} CTX=0.38µg/ml) whereas *pbp2x* and *pbp1a* altered genes were detected simultaneously in only 4% of *Sp* isolates. 2 PNSP isolates had only *pbp 2b* gene modified and 3 PNSP ones had unaltered *pbp* genes. Among PNSP isolates, 34.6% and 25% of them belong to serotypes 14 and 23F respectively.

Conclusion: HLR to penicillin is due to alteration in *pbp2x* and *pbp2b*. The predominant serotype for PNSP was 14.

263/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Antimicrobial resistance survey in Belgian clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* collected during winter 2007-2008

R. Vanhoof[1], E. Van Bossuyt[1], S. De Craeye[1], J. Van Eldere[2], J. Verhaegen[2], T.H.H. Belgian Sp Study Group[1]
[1]*Bacteriology, WIV-Pasteur, Brussels* [2]*Microbiologie, UZ Gasthuisberg, Leuven, Belgique*

448 unduplicated non invasive isolates of S.pneumoniae collected by 15 laboratories were tested for their susceptibility by a microdilution technique following CLSI recommendations. Non-susceptibility rates (I+R) were as follows: penicillin G (PEN) 11.6% [4.0% R], ampicillin (AMP) 11.4% [4.0% R], amoxicillin+/-clavulanic acid (AMX/C) 0, cefaclor (CFC) 10.3% [9.6% R], cefuroxime (CRX) 9.2% [8.7% R], CRXaxetil 8.7% [7.8% R], cefotaxime (CTX), ceftazidime (CTZ), cefepime (CPM) 2.0% [0% R], imipenem (IMI) 2.5% [0% R], ciprofloxacin (CIP) and ofloxacin 5.1% [0.4% R], levofloxacin 0.7% [0.4% R], moxifloxacin 0.4% [0.2% R], erythromycin (ERY) 29.7% [29.2% R], azithromycin 29.7% [28.8% R], telithromycin (TEL) 0%, clindamycin 26.3% [25.4% R] and tetracycline (TET) 21.9% [16.5% R]. From 2001 to 2008 a significant decrease in Pen-NS (21.0% to 11.6%), Pen-R (9.7% to 4.0%) and CIP-NS (11.2% to 5.1%) was found. IMI was the most active compound (MIC50, MIC90 and IR: 0.004 µg/mL, 0.03 µg/mL and 2.5%) followed by TEL (0.008, 0.03, 0%) and AMX/C (0.008, 0.12, 0%). Cross-resistance between PEN and other beta-lactams in the PEN-IR isolates was incomplete: all these isolates remained fully susceptible to AMX/C. All beta-lactams were less active on PEN-IR isolates than on PEN-S isolates. AMX/C was the most active compound on PEN-IR isolates. ERY-IR was significantly higher in children of 0-5 y than in adults (43.9%/27.34%) while PEN-IR was significantly higher in Brussels than in the Flanders (22.9%/8.1%). TET-IR was significantly higher in male patients than in female patients (25.4%/15.5%) ; No other significant differences were found. The commonest resistance phenotype was ERY-TET (12.7%) followed by ERY (7.4%) and PEN-ERY-TET (5.8%). Resistance to ≥ 3 compounds was found in 7.4% Capsular types 19 (25%), 14 (19.3%), 23 (15.4%) and 15 (13.5%) were the most important in PEN IR isolates.

264/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Diminution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées d'infections invasives en France entre 2003 et 2007 : résultats des Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP)

M. Kempf[1], R. Baraduc[1], H. Bonnabau[2], M. Brun[1], H. Chardon[1], J. Croizé[1], M.C. Demachy[1], P.Y. Donnio[1], P. Dupont[1], T. Fosse[1], L. Gibel[2], A. Gravet[1], B. Grignon[1], T. Hadou[1], F. Hamdad[1], J.L. Koeck[1], G. Laurans[1], J. Maugein[1], A. Péchinot[1], M.C. Ploy[1], J. Raymond[1], A. Ros[1], M. Roussel-Delvallez[1], C. Segonds[1], M. Vergnaud[1], V. Vernet-Garnier[1], M. Weber[1], E. Varon[3], L. Gutmann, A. Lepoutre[4], P. Lanotte[1]
[1]*CHU Dupuytren, Observatoires Régionaux des Pneumocoques (ORP)* [2]*CHU Dupuytren, UFRCB, Limoges* [3]*AP-HP HEGP, CNRP, Paris* [4]*InVS, Saint-Maurice, France*

Historique : En France, la proportion de souches de Pneumocoques de Sensibilité Diminuée à la Pénicilline (PSDP) n'a cessé d'augmenter depuis 1987, atteignant 52% en 2001. En 2002, une campagne nationale de bon usage des antibiotiques a été lancée. Afin d'évaluer l'évolution de la résistance aux antibiotiques des souches de pneumocoques isolées d'infections invasives, les données récoltées par les ORP entre 2003 et 2007 ont été analysées.

Méthode : Durant cette période, 1083 souches isolées de liquides céphalo-rachidiens (LCR) et 10351 souches isolées d'hémocultures ont été étudiées. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la pénicilline G (PEN), de l'amoxicilline (AMX) et du céfotaxime (CTX) ont été déterminées par la méthode de référence en milieu gélosé. Les activités inhibitrices de l'érythromycine (ERY), du cotrimoxazole (SXT) et de la tétracycline (TE) ont été appréciées par la méthode de diffusion en milieu gélosé ou à l'aide de galeries ATB-Pneumo^{O} ou de cartes VITEK2^{O} (BioMérieux). L'interprétation des résultats a été faite selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Résultats :

Tableau I : Proportion en 2003, 2005 et 2007, chez l'enfant et l'adulte, des souches de pneumocoques isolées d'infections invasives (LCR + hémocultures), intermédiaires et résistantes à PEN, AMX et CTX

Année	2003	2005	2007
LCR n= nb de souches E*/A**	**n=99/229**	**n=104/264**	**n=95/292**
PEN % I+R (E/A)	47,5/46,3	43,5/36,7	33,7/34,6
AMX % I+R (E/A)	23,2/26,6	15,3/17,8	16,9/14,7
CTX % I+R (E/A)	18,2/15,3	12,5/9,9	10,5/7,8
Hémocultures n= nb de souches E/A	**n=362/3125**	**n=397/3159**	**n=370/2938**
PEN % I+R (E/A)	46,1/43,6	34,3/37,7	27,8/32,5
AMX % I+R (E/A)	25,7/27,8	17,4/22,3	12,2/17,4
CTX % I+R (E/A)	17,5/15,7	9,8/13,1	6,5/9,3

* E = enfants<16 ans, **A = adultes ³ 16 ans

Tableau II : Proportion en 2003, 2005 et 2007 des souches de pneumocoques isolées d'infections invasives (LCR + hémocultures) intermédiaires et résistantes à 6 antibiotiques

(I+R)%	2003	2005	2007
PEN	44,1	38,3	32,2
AMX	27,3	21,3	16,6
CTX	15,8	12,6	8,9
ERY	47,4	41,2	34,5
SXT	33	29	23,7
TE	27,2	25,1	19

Conclusion : Entre 2003 et 2007, le nombre de PSDP isolés d'infections invasives a baissé de 44,1% à 32,2%, à la fois chez l'adulte et l'enfant. Une diminution de la résistance aux autres antibiotiques a également été observée durant cette période. L'ensemble de ces résultats confirme un retour à une plus grande sensibilité aux antibiotiques des pneumocoques en France.

265/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evolution des sérotypes de souches de *Streptococcus pneumoniae* (SP) isolées au cours d'infections respiratoires (IR) chez l'adulte en France métropolitaine entre 2001/2002 et 2006/2007

H.B. Drugeon[3], E. Leput[2], et le Groupe d'étude[1]
[1]Services de bactériologie hospitaliers, Groupe d'étude [2]Laboratoire de bactériologie, Drug R&D, Angers Technopole, Beaucouzé [3]Service de bactériologie, Faculté de médecine, Nantes, France

Objet : Présenter l'évolution des sérotypes de souches de SP isolées au cours d'IR chez l'adulte en France : comparaison 2001/02 et 2006/07.

Méthodes : Le réseau de suivi des résistances du pneumocoque évalue depuis la campagne 2001/02 la sensibilité aux antibiotiques usuellement prescrits de souches de SP isolées d'IR chez l'adulte. Les sérotypes ont été déterminés en 2001/02 par la méthode du gonflement de capsule sur 657 souches isolées dans 31 laboratoires. En 2006/07, la sérotypie a été réalisée par PCR sur 1002 souches provenant de 42 laboratoires. Les CMI des antibiotiques ont été déterminés par microdilution.

Résultats : En 2001/02, 46 sérotypes ou groupes de sérotypes ont été identifiés. En 2006/07, 29 sérotypes ou groupes de sérotypes ont été identifiés et 11% des souches n'ont pu être déterminées bien que possédant le gène de capsule. En 2001/02, 8 sérotypes ont une fréquence supérieure à 5% (3, 6A, 6B, 9V, 14, 19A, 19F, 23F), en 2006/07, 6 sérotypes (3, 6A, 14, 19A, 19F, 23F). Entre 2001/02 et 2006/07, la fréquence du 23F diminue de 17.05 à 6.1% et 2 sérotypes (11A et 35B) ont une fréquence en augmentation et supérieure à 3% en 2006/07. Entre 2001/02 et 2006/07, vis-à-vis de la pénicilline, la résistance de bas niveau est retrouvée chez 15 et 15 sérotypes, la résistance de haut niveau chez 9 et 16 sérotypes. Vis-à-vis de l'amoxicilline, la résistance de bas niveau est retrouvée chez 9 et 13 sérotypes, la résistance de haut niveau chez 6 et 9 sérotypes respectivement. Vis-à-vis des macrolides, un mécanisme de résistance est retrouvé respectivement chez 21 et 19 sérotypes.

Conclusion : La fréquence de certains sérotypes épidémiques et vaccinaux (6B, 9V, 23F) diminue très nettement. La résistance de bas et haut niveaux aux bêtalactamines se dissémine et s'observe en 2006/07 chez un plus grand nombre de sérotypes. Les mécanismes de résistance aux macrolides sont toujours largement présents parmi de nombreux sérotypes mais leur nombre diminue légèrement.

266/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evolution de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* (Sp) dans le nord de la France entre 2001 et 2007

M. Roussel-Delvallez[1], A. Charlet[1], M. Caillaux[2], C. Cattoen[2], V. Chieux[2], A. Decoster[2], D. Descamps[2], B. Dumoulard[2], N. Gravelines[2], S. Hendricx[2], M. Ménouar[2], M.N. Noulard[2], J.M. Pannecouck[2], J.G. Paul[2], C. Rolland[2], S. Samaille[2], F. Templier[2], A. Vachée[2], M. Vasseur[2], A. Verhaeghe[2], F. Wallet[1], R.J. Courcol[1]
[1]Pôle de Microbiologie, CHU de Lille, Lille [2]Biologie, Hôpitaux Généraux, Nord-Pas-de-Calais, France

Entre 2001 et 2007, 407, 420, 531 et 381 souches de Sp ont été isolées d'hémocultures, LCR et pus d'oreille. Les CMIs de pénicilline (P), amoxicilline (AMX) et céfotaxime (CTX) ont été réalisées par la méthode de dilution en agar et interprétées selon les critères du CA-SFM. Erythromycine (ERY), cotrimoxazole (SXT), tétracycline (TET), chloramphénicol (C), pristinamycine (PRI), fosfomycine (FOS) et rifampicine (RA) ont été testés par diffusion en gélose. Une diminution significative des PSDP est observée chez l'enfant (70,6 vs 53,2% p<0,05) et chez l'adulte (48,1 vs 29,1% p<0,05). Chez l'enfant, on observe une diminution des souches I+R à AMX (38,5 vs 35,3% p= 0,5) et une augmentation des souches I+R au CTX (7,5 vs 9,7% p=0,5). Chez l'adulte une stabilité des souches I+R à AMX (19,6 vs 19,4%) et une augmentation au CTX (4,6 vs 5,45% p=0,6). Les souches résistantes à AMX et CTX (CMI>2mg/L) restent rares et stables (<0,5%). Le nombre de souches et les % de résistance de PEN, AMX, CTX et des autres antibiotiques sont montrés dans les tableaux suivants (* = <0,05).

N souches	2001	2003	2005	2007
Tous	407	420	531	381
Adultes	220	255	329	257
Enfants	187	165	202	124

	Pourcentage de résistance I+R											
	PSDP				AMX				CTX			
	2001	2003	2005	2007	2001	2003	2005	2007	2001	2003	2005	2007
Tous	58,7	49,1	49,7	55,2	28,3	32,4	33,9	24,9	5,9	10,2	18,5	6,8
Adultes	48,6*	36,5	40,7	29,1*	19,6	23,5	26,7	19,4	4,6	7,5	16,3	5,45
Enfants	70,6*	68,5	60	53,2*	38,5	46,1	42	35,3	7,5	14,6	21,5	9,7

Pourcentage de résistance I+R									
antibiotique	2001	2003	2005	2007	**antibiotique**	2001	2003	2005	2007
ERY	60,7	56,1	48	48	**PRI**	3,4	0,3	0	0
SXT	44,8	39,8	32	32	**RA**	0,0	0,5	0	0
TET	42,3	31,0	26	26	**FOS**	6,41	1,3	5	2,8
C	29*	19,9	9	9*					

Les sérogroupes isolés par fréquence chez l'adulte sont les souches non agglutinables (NA) et les sérogroupes 19, 1, 14, 6 et 3, en 2007 ; chez l'enfant 19, NA, 1, 3, 6, 15, et 14. On note une augmentation du sérogroupes 19 et 1 non présents dans le vaccin heptavalent.

267/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evolution de la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae (Sp)* en Ile-de-France-Est entre 2001 et 2007

M.C. Demachy[1], F. Faibis[1], E. Varon[3], Groupe des Microbiologistes de L'ORP Ile-de-France Est[2]
[1]Microbiologie, CH [2]Microbiologie, ORP IDF-EST, Meaux [3]CNR des Pneumocoques, HEGP, Paris, France

Objectif : Etude de l'évolution de la résistance aux antibiotiques de *Sp* dans l'Observatoire Régional Ile de France Est entre 2001 et 2007.

Méthodes : Durant 4 années, 2001, 2003, 2005 et 2007 ont été étudiées respectivement 609, 598, 515 et 440 souches de *Sp* non redondantes isolées d'hémocultures, de LCR, et de pus d'oreille chez l'enfant et chez l'adulte dans 31 laboratoires de Microbiologie. Les CMI de la pénicilline G (PEN), de l'amoxicilline (AMX) et du cefotaxime (CTX) ont été déterminées par le centre coordinateur sur toutes les souches par la méthode de dilution en gélose. L'activité de l'érythromycine (ERY), du cotrimoxazole (SXT), et du chloramphenicol (CHL) a été étudiée par la méthode de diffusion en gélose ou la galerie ATB-pneumo (bioMérieux). Les résultats ont été interprétés selon les recommandations du CA-SFM.

Résultats : Entre 2001 et 2007 le taux global de *Sp* de sensibilité diminuée à PEN est passé de 61,7% à 37,7% (p < 0,001) et le pourcentage de souches de CMI > 1 mg/l a diminué de 21,8% à 5,9% (p < 0,001). Les souches résistantes à AMX et CTX (CMI > 2 mg/l) ont quasiment disparu en 2007 (0,45% et 0% respectivement). Pour les autres antibiotiques la diminution est aussi significative : ERY (63% à 39%), SXT (47% à 21%), CHL (23% à 8%).

Taux de résistance selon l'âge et le type de prélèvement :

Année	2001	2003	2005	2007	2001	2003	2005	2007
	ENFANT (< 16 ans)				ADULTE			
Hémoculture (n)	63	61	62	52	284	328	271	234
PEN (% I/R)	35/21	28/21	34/5	29/9	31/19	21/17	25/8	26/5
AMX (% I/R)	33/1	26/2	16/2	13/0	32/1	28/1	21/3	18/0
CTX (% I/R)	16/1	23/0	8/0	5/0	15/0	15/0	10/0	6/0
ERY (% I+R)	55	55	37	42	51	45	40	35
CHL (% I+R)	25	24	7	7	26	22	9	8
SXT (% I+R)	48	45	32	25	41	36	33	21
Pus d'oreille (n)	252	175	142	121				
PEN (% I/R)	51/25	36/27	53/10	45/5				
AMX (% I/R)	40/4	37/6	33/1	19/1				
CTX (% I/R)	21/1	24/0	18/0	7/0				
ERY (% I+R)	79	71	65	45				
CHL (% I+R)	21	13	8	8				
SXT (% I+R)	55	40	37	22				

Conclusion : La décroissance du taux de résistance aux antibiotiques de *Sp* amorcée en 2003 se poursuit en 2007.

Néanmoins les taux de résistance restent encore élevés.

268/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prévalence en 2008 du portage de *Streptococcus pneumoniae.* Vaccination et antibiotiques chez les enfants gardés en crèche dans le département du Nord

S. Chevrier-Onillon[1], M. Lelieur-Pierard[1], H. Carsenti-Dellamonica[2], B. Dunais[2], P. Dellamonica[2], R.J. Courcol[1], M. Roussel-Delvallez[1]
[1]Centre de Biologie-Pathologie, CHRU, Lille [2]Centre d'Antibiologie, CHU, Nice, France

Les structures accueillant les jeunes enfants permettent d'étudier l'écologie bactérienne en communauté, dont le portage du pneumocoque (SP). Elles permettent aussi de mesurer l'influence de l'introduction du vaccin conjugué anti-pneumococcique (2003), ainsi que l'impact des campagnes visant à rationaliser l'utilisation des antibiotiques.

Entre 1999 et 2008, 5 enquêtes transversales ont été menées dans les crèches collectives des départements du Nord et des Alpes Maritimes. La période d'étude se situe entre janvier et mars, et concerne 25 structures

d'accueil par département. Les résultats concernent ici l'enquête 2008 dans le département du Nord, et sont comparés aux résultats de 2006.

Pour chaque enfant, outre le statut vaccinal répertorié, un prélèvement nasopharyngé a été réalisé, permettant d'étudier le portage du SP et la sensibilité aux antibiotiques.

L'enquête dans le département du Nord a concerné 207 enfants. Le taux de couverture vaccinale est de 85%, ce qui montre une progression significative ($p<10^{-3}$) par rapport au taux de 2006 (71%).

Le nombre de cures d'antibiotiques est significativement diminué ($p<10^{-4}$) : nous avons pu constater un nombre moyen de 0.56 cure d'antibiotique par enfant. D'après le carnet de santé, seulement 38% des enfants, contre 52% en 2006 ont bénéficié d'un traitement anti-infectieux dans les 3 mois précédant le prélèvement, et seuls 5 enfants ont eu 3 ou 4 cures. Les antibiotiques les plus utilisés sont les ß-lactamines (94%) qui se détaillent comme suit :

- amoxicilline=13.5%, en baisse ($p=2.10^{-3}$)
- amoxicilline + inhibiteur de ß-lactamase=28%, en augmentation ($p<10^{-3}$)
- céphalosporine de 1ère et 2e génération=4%
- céphalosporine de 3e génération (C3G)=48.5%, stable (p=0.079).

Nous avons mis en évidence 42% de portage de SP, en recul par rapport à 2006 (61% de portage) (p=0.028). La proportion de PSDP n'est pas significativement supérieure en 2008 (61%) par rapport à 2006 (54.8%) (p=0.24).

Au final, nous constatons une diminution du portage de SP sans augmentation significative des PSDP. La vaccination anti-pneumococcique est en nette progression. Les campagnes assurant la promotion de l'utilisation des antibiotiques ont été efficace, les enfants recevant moins de traitements.

269/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evolution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus Pneumoniae* en Champagne-Ardennes de 2001 à 2007

V. Duval[8], J. Madoux[8], T. Guillard[8], L. Brasme[8], C. Alba[3], C. Auvray[2], I. Baudinat[1], P. Bineau[6], J.M. Garnier[9], C. Lafaurie[4], D. Simeon[5], M. Thouvenin[7], C. De Champs[8], V. Vernet-Garnier[8]
[1]CH Chalons-en-Champagne [2]CH Charleville-Mézières et Sedan [3]CH Chaumont [4]CH Epernay [5]CH Langres [6]CH Saint-Dizier [7]CH Troyes [8]CHU Reims [9]LABM Gillard, Reims, France

Objectif : Etude de l'impact des prescriptions d'antibiotiques (ATB) depuis 2002 sur l'évolution de la résistance *de S. pneumoniae* en Champagne-Ardenne (CA) entre 2001 et 2007, dans le cadre des Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP).

Matériels et méthodes : Les souches cliniques de *S. pneumoniae* ont été collectées sur 7 ans : 2001, 2003, 2005 et 2007 dans 9 centres hospitaliers et un laboratoire privé formant l'ORP de CA. Ces souches ont été isolées, chez l'adulte et l'enfant, au niveau d'hémoculture (HEM), de liquide céphalo-rachidien (LCR) et de pus d'oreille moyenne (OMA). La sensibilité aux différents ATB a été évaluée, après dédoublonnage des souches, soit par la méthode de diffusion en milieu gélosé, soit à l'aide de galeries ATB-pneumo ou de cartes VITEK2â (bioMérieux®). Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la pénicilline G (PEN), de l'amoxicilline (AMX) et du céfotaxime (CTX) ont toutes été contrôlées par le CHU de Reims, par la méthode de référence en milieu gélosé.

Les taux de prescriptions des ATB en médecine de ville proviennent des données recueillies par l'URCAM.

Résultats : Au total, 628 souches de *S. pneumoniae* ont été isolées majoritairement d'HEM (77, 76, 82 et 74%), puis d'OMA (17, 16, 13 et 16%) et de LCR (6, 8, 5 et 8%).

Données de 2001 et 2007 du début à la fin de notre étude :

Origine	Nombre de souches		% de résistance (I+R)								
			PEN			AMX			CTX		
	2001	2007	2001	2007	p	2001	2007	p	2001	2007	p
Global	164	126	53.8	34.9	0.001	21.8	15.9	NS	9.6	5.5	NS
Adultes	116	99	46.9	32.2	0.03	16.2	17.2	NS	9.0	5.0	NS
Enfants	48	27	72.7	44.4	0.01	36.4	11.1	0.02	11.4	7.4	NS
HEM	126	93	49.2	33.3	0.02	18.9	17.2	NS	9.8	5.3	NS
OMA	28	23	75.0	50.0	NS	35.7	10.0	0.02	10.7	10.0	NS
LCR	10	10	50.0	30.0	NS	20.0	20.0	NS	0.0	0.0	NS

% de résistance (I+R) pour l'ensemble des souches			
Antibiotiques	2001	2007	p
Erythromycine	57.1	37.3	0.0007
Tétracycline	35.9	22.1	0.01
Cotrimoxazole	42.7	23.0	0.0005
Chloramphénicol	16.9	9.0	0.04
Rifampicine	0.0	0.0	NS

Entre 2001 et 2007, les souches de haut niveau de résistance à la PEN et à l'AMX ont diminué respectivement de 8,9 à 5.5% et de 1,3 à 0%. Pour le CTX, aucune souche isolée ne présentait de résistance à haut niveau.

Les données recueillies sur les consommations d'ATB montrent une baisse de prescription en ville de 29.3% en CA (sauf pour l'AMX) entre 2001 et 2007 (2ème plus forte baisse en France).

Conclusion : Une diminution du nombre total de souches et du taux de pneumocoque de sensibilité diminuée aux b-lactamines, excepté à l'AMX est constatée en CA. La résistance aux autres antibiotiques suit une diminution similaire. Cette évolution de la résistance du pneumocoque est parallèle à la diminution de prescription des antibiotiques en médecine de ville dans notre région.

270/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evolution de la sensibilité aux Bêta-lactamines des souches invasives de *Streptococcus pneumoniae* (Sp) et de souches d'otite moyenne aiguë (OMA) de l'enfant isolées de 1995 à 2007 dans la région Picardie

F. Hamdad[12], G. Laurans[12], M.T. Albertini[8], Z. Benchikh[4], M. Bouquigny[10], A. Brocard[9], M. Demange[11], A.S. Goetgheluck[1], J. Heurte[2], P. Lemaitre[5], J.P. Thellier[3], C. Shanen[7], A. Sueur[6], D. Thomas[12], B. Canarelli[12], F. Rousseau[12], M. Biendo[12], E. Varon[13], F. Eb[12]
[1]CH Abbeville [2]CH Beauvais [3]CH Château-Thierry [4]CH Chauny [5]CH Creil [6]CH Doullens [7]CH Laon [8]CH Saint Quentin [9]CH Senlis [10]CH Soissons [11]CH Villiers Saint Denis [12]Bactériologie, CHU, Amiens [13]CNRP, Paris, France

Le suivi de la résistance aux ß-lactamines de SP isolé au cours des infections invasives (méningites et bactériémies de l'adulte et de l'enfant) ainsi qu'au cours des OMA de l'enfant est réalisé dans le cadre des Observatoires régionaux de SP tous les 2 ans depuis 1995.

L'activité des ß-lactamines particulièrement de l'oxacilline, a été étudiée par diffusion en gélose selon les recommandations du CA-SFM et les CMI à la pénicilline (PEN), amoxicilline (AMC) et céfotaxime (CTX) ont été déterminées par les laboratoires participants par galerie ATB-pneumo, E-test ou par Vitek. La détermination par la méthode de référence a été réalisée sur toutes les souches par le centre coordinateur.

De 1995 à 1999, le sérotypage a été réalisé seulement sur les souches de SP de sensibilité diminuée à la PEN (PSDP). Depuis 2001, toutes les souches sont sérotypées.

Le nombre de SP isolé est resté globalement constant sauf chez l'enfant dont le nombre de LCR et d'OMA diminue depuis 2003.

Le pourcentage de PSDP dans les hémocultures de l'adulte augmente jusqu'en 2001 puis diminue progressivement. Depuis 2005, les souches Peni R ont diminuées alors que les Péni I ont augmentées, les souches Amox R ont augmentées mais, restent rares et les souches CTX I ont diminuées. Aucune souche CTX R n'a été isolée.

Depuis 1997, le sérotype 14 était le plus fréquent parmi les PSDP et en 2007, c'est le sérogroupe 19 puis le sérotype 14 qui sont les plus fréquents.

Dans les hémocultures de l'enfant, de 1997 à 2005, une souche sur deux est un PSDP (5/17, 6/11, 5/10, 7/15, 8/17, 8/17) alors qu'en 2007, aucun PSDP n'a été isolé (0/10).

Le nombre de méningites à SP de l'adulte est constant mais le nombre de PSDP varie (4/17, 2/11, 4/10, 3/11, 5/9, 4/11, 5/8). Chez l'enfant, le nombre de méningite tend à diminuer depuis 2001 ainsi que les souches de PSDP (2/7, 3/8, 3/5, 1/2, 2/3, 0/2, 1/3). Aucune souche isolée dans les LCR ne présente une résistante à l'AMX ou au CTX.

Dans les OMA de l'enfant, le pourcentage de PSDP est importante depuis 1997, mais diminue à partir de 2005 (40.5, 70.7, 60.6, 69.2, 64.5, 54, 48.2) ainsi que le nombre d'otite. Des souches résistantes à l'AMX et au CTX ont été isolées mais restent rares.

Le taux de PSDP dans la région Picardie diminue essentiellement chez les enfants.

271/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Epidémiologie de la résistance aux Bêta-lactamines de *Streptococcus pneumoniae* (Sp) isolés d'hémocultures (HC), de liquide céphalorachidien (LCR) et d'otite moyenne aiguë (OMA) sur les années impaires de 2001 à 2007 dans 13 centres de l'Observatoire Régional du Pneumocoque (ORP) Arc Alpin-Val de Rhône

J. Croizé[13], C. Recule[13], D. Champelovier[13], S. Bland[3], P. Clergeau[10], M.C. Koné[7], D. Fasquelle[11], V. Gauduchon[5], F. Sifaoui[4], A. Mandjee[9], P. Marthelet[8], J. Sartre[2], J. Tous[6], P. Verger-Hirtz[14], I. Vray[12], L. Gibel[15], H. Bonnabau[15], E. Varon[1]
[1]APHP HEGP CNR Paris [2]CH Valence [3]CHG Annecy [4]CHG Annemasse [5]CHG Briançon [6]CHG Chambéry [7]CHG Gap [8]CHG Montélimar [9]CHG Romans [10]CHG Sallanches [11]CHG Thonon [12]CHG Voiron [13]CHU UJF Grenoble [14]LAM Meylan [15]UFRCB CHU Limoges, France

Objectif : Etude de l'épidémiologie de la résistance des B lactamines sur quatre années impaires de 2001à 2007 dans un ORP et dans ses 13 centres participants.

Matériel et méthodes : Sur les quatre années impaires 2001,2003,2005,2007 ont été isolés respectivement 236, 305, 310 et 248 Sp dans les 13 centres (sauf 10 en 2001, et 12 en 2005) de l'ORP Arc Alpin avec trois centres importants (minimum 30 souches pour les quatre années à Annecy, Chambéry, Grenoble). Le nombre de souches analysées sur les quatre années selon les prélèvements est repectivement : HC (162,216,228,179), LCR (16,24,27,23) et OMA (75,78,60,38). Notons 36 souches incluses isolées de liquide pleural en 2005 (18) et 2007 (8). Les CMIs de pénicilline (P), amoxicilline (AMX) et céfotaxime (CTX) ont été réalisées par la méthode de dilution en agar et interprétées selon les critères du CA-SFM.

Résultats : (1)Le pourcentage de souches I+R aux trois B lactamines est

respectivement sur les 4 années consécutives: sur l'ensemble de ORP : P : 41/38/28/29 AMX : 24/23/13/15 CTX 27/20/11/15 et selon les 3 prélèvements : LCR P : 40/30/30/43 AMX 13/26/9/13 CTX 20/17/9/17 ; HC : P 27/29/20/22 AMX 17/18/10/12 CTX 18/15/6/10 ; OMA : P 72/65/49/55 AMX 43/36/20/21 CTX 49/36/23/37 (2) Le pourcentage de souches P I/R par centre participant C1 à C13 (numérotation différente des auteurs de abstract) est : PIR 2001 : 56/ND/55/37/40/34/75/23/32/63/36/33/ND P IR 2003 50/26/43/44/36/39/83/46/36/41/39/27/30 P IR 2005 : 38/41/15/24/20/24/33/55/30/25/ND/8/21 P IR 2007 : 32/25/29/39/9/30/100/28/50/8/33/33/15

Conclusion : L'ORP Arc Alpin Val de Rhône voit une diminution des isolements en 2007 par rapport aux années précédentes. Après diminution régulière de la résistance aux trois B lactamines jusqu'en 2005, nous constatons une stabilisation ou légère augmentation notamment des souches CTXI (aucune souche R). Des variations inter centres existent, avec deux centres possédant un pourcentage de souches P IR >ou= 50% en 2007.

272/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Diminution de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques en 2007 en Limousin. Résultats de l'Observatoire Régional du pneumocoque et évolution depuis 2001

C. Grélaud[12], X. Balavoine[6], O. Barraud[12], F. Célérier[10], D. Chagnaud[9], P. Chambon[5], F. Garnier[12], P.Y. Guillot[7], N. Hidri[12], C. Lemaire[7], I. Lenoir[5], S. Maach-Barbarie[5], C. Martin[12], G. Masson[12], T. Menard[6], L. Morelet[7], D. Pressac[4], C. Rebeyrotte[1], A. Sommabere[2], D. Sommier[8], M. Trazit[11], V. Vialette[3], F. Denis[12], M.C. Ploy[12]
[1]CH Bourganeuf [2]CH Brive [3]CH Guéret [4]CH Tulle [5]LABM Brive [6]LABM La Souterraine [7]LABM Limoges [8]LABM St-Feyre [9]LABM St-Junien [10]LABM St-Yrieix [11]LABM Ussel [12]CHU Dupuytren, Limoges, France

Tous les 2 ans, l'ORP Limousin étudie la sensibilité aux antibiotiques ainsi que le sérogroupe des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées de LCR, d'hémocultures ou de pus d'oreille. Cet ORP est constitué de 1 CHU, 5 CHG et 10 laboratoires privés répartis sur les trois départements du Limousin (Corrèze, Creuse, Haute-Vienne).

Les CMI de la pénicilline (PEN), de l'amoxicilline (AMX) et du céfotaxime (CTX) ont été déterminées par la méthode de référence selon les recommandations du CA-SFM. La sensibilité aux autres antibiotiques (érythromycine, norfloxacine, trimethoprime-sulfamethoxazole, tétracycline, pristinamycine) a été étudiée par diffusion en gélose ou ATB pneumo ou Vitek. Le sérogroupe a été déterminé par agglutination avec des particules de latex sensibilisées avec des antisérums spécifiques des sérogroupes 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 14, 15, 18, 19 et 23 (Statens serum institut).

Le nombre de souches isolées tous les 2 ans était stable de 2001 à 2005 (environ 400 souches/an) et a diminué en 2007 (355). Le taux de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) a progressé légèrement de 2001 à 2003 (65% versus 68%) pour ensuite diminuer très significativement de 2005 à 2007 (55% en 2005 et 37% en 2007). Le taux de souches I + R à AMX et CTX a également diminué en 2007, ainsi qu'aux autres antibiotiques et ceci quelle que soit la nature du prélèvement et aussi bien chez l'enfant que chez l'adulte. Seul le taux de I + R au CTX dans les LCR est resté constant (18%).

	PENI I	PENI R	AMX I	AMX R	CTX I	CTX R
2001	59.7%	4.1%	15%	3%	9%	1%
2003	47.7%	20.3%	42.4%	4.4%	27.4%	0.9%
2005	28.7%	30.7%	41.2%	2.6%	42.4%	0.6%
2007	25.49%	11.76%	25.5%	1.96%	23.53%	0.98%

De 2001 à 2007, la représentation des sérogroupes 4, 6, 14, 18 a diminué alors que celle des sérogroupes 19 et 23 stagne. Par ailleurs, le sérogroupe 3 émerge surtout dans les LCR.

En conclusion, les données de l'ORP montrent une diminution des résistances du pneumocoque aux antibiotiques en Limousin en 2007. Cette diminution était déjà observée depuis 2005 au niveau national.

273/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Observatoire Régional du Pneumocoque en région Centre : épidémiologie de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en 2007

A. Holstein[12], J. Brion[12], A. Grillon[12], P. Amirault[15], J.P. Arnould[5], M.N. Bachelier[3], Z. Benseddik[4], L. Bret[10], M. Cahiez[6], B. Cattier[1], C. Chandesris[9], V. Chieux[4], G. Courouble[2], J.L. Graveron[8], P. Harriau[11], P. Laudat[14], M.F. Lartigue[13], D.M. Poisson[10], A. Secher[7], A. Goudeau[12], P. Lanotte[12]
[1]Laboratoire, CHIC Amboise et Château-Renault, Amboise [2]Laboratoire, CH de Blois, Blois [3]Laboratoire, CH Jacques Coeur, Bourges [4]Laboratoire, CH Fontenoy, Chartres [5]Laboratoire, CH Chateaudun, Chateaudun [6]LABM Lescaroux, Chateauroux [7]Laboratoire, CH Jousselin, Dreux [8]LABM Graveron, Fleury-les-Aubrais [9]Laboratoire, CH Montargis, Montargis [10]Laboratoire de Microbiologie, CHR Orléans, Orléans [11]LABM Harriau, St Amand-Monrond [12]Service de Bactériologie-Virologie, Centre coordinateur de l'ORP Centre, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours [13]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours [14]LABM Arnaud, Tours [15]Laboratoire, CH Vierzon, Vierzon, France

Objectif : L'objectif des Observatoires régionaux du Pneumocoque (ORP) est de participer à la surveillance de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques en partenariat avec le CNR des Pneumocoques, l'InVS et les laboratoires GSK.

Méthodes : Quinze laboratoires privés et hospitaliers de la région Centre transmettent au centre coordinateur les souches isolées d'hémoculture, de liquides céphalo-rachidiens (LCR), de liquides pleuraux et de liquides d'oreille moyenne. Celui-ci collecte les données liées à la souche et détermine les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des souches en milieu gélosé pour la pénicilline G, l'amoxicilline et le céfotaxime, ainsi que le sérogroupe.

Résultats : De janvier à décembre 2007, les souches de 265 patients (184 adultes et 81 enfants < 16 ans) ont été étudiées. Ces souches provenaient de 176 hémocultures, de 27 LCR, de 5 liquides pleuraux et de 57 liquides d'oreille moyenne. La proportion des pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) (CMI > 0,064 mg/L) est de 39,6% pour l'ensemble des souches. Les souches résistantes à la pénicilline (CMI > 1 mg/L) représentent 16,2%. Chez les enfants, 53,8% des pneumocoques retrouvés dans les pus d'oreille moyenne sont des PSDP. Parmi les pneumocoques issus des LCR, 11/27 (40,7%) sont des PSDP et 6 ont une CMI au céfotaxime ≥ 0,5 mg/L. En ce qui concerne l'amoxicilline, 69 des 265 souches (26%) sont de sensibilité diminuée (CMI > 0,5 mg/L) et 4/265 (1,5%) sont résistantes (CMI > 2 mg/L). Les souches de sensibilité diminuée au céfotaxime (CMI > 0,5 mg/L) représentent 21,9% des souches (58/265) et 2/265 (0,7%) sont résistantes (CMI > 2 mg/L). Concernant les autres familles d'antibiotiques, 36,6% des souches sont de sensibilité diminuée à l'érythromycine, 29,2% aux tétracyclines. En ce qui concerne les sérogroupes, le sérogroupe 19 est nettement prédominant chez l'adulte et l'enfant, suivent les sérogroupes 1, 6 et 14.

Conclusion : La proportion de PSDP en région Centre continue de décroître pour l'ensemble des souches (56,8% en 2001, 46,7% en 2003, 45,5% en 2005). A contrario, la proportion de pneumocoques de sensibilité diminuée au céfotaxime est en augmentation, 21,9% en 2007 contre 18,3% en 2005. Enfin, par rapport aux années précédentes, il apparaît que le nombre de méningite à pneumocoque est en augmentation dans notre région.

274/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

1997-2007 : 10 ans de suivi de l'évolution de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en région Centre. Bilan de l'Observatoire Régional du Pneumocoque

A. Holstein[12], J. Brion[12], P. Amirault[15], J.P. Arnould[5], M.N. Bachelier[3], Z. Benseddik[4], L. Bret[10], M. Cahiez[6], B. Cattier[1], C. Chandesris[9], V. Chieux[4], G. Courouble[2], J.L. Graveron[8], P. Harriau[11], P. Laudat[14], M.F. Lartigue[13], D.M. Poisson[10], A. Secher[7], A. Goudeau[12], P. Lanotte[12]
[1]Laboratoire, CHIC Amboise et Château-Renault, Amboise [2]Laboratoire, CH de Blois, Blois [3]Laboratoire, CH Jacques Coeur, Bourges [4]Laboratoire, CH Fontenoy, Chartres [5]Laboratoire, CH Chateaudun, Chateaudun [6]LABM Lescaroux, Chateauroux [7]Laboratoire, CH Jousselin, Dreux [8]LABM Graveron, Fleury Les Aubrais [9]Laboratoire, CH Montargis, Montargis [10]Laboratoire de Microbiologie, CHR Orléans, Orléans [11]LABM Harriau, St Amand-Monrond [12]Service de Bactériologie-Virologie, Centre coordinateur de l'ORP Centre, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours [13]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours [14]LABM Arnaud, Tours [15]Laboratoire, CH Vierzon, Vierzon, France

Objectif : Depuis 1997, l'Observatoire Régional du Pneumocoque (ORP) de la région Centre participe aux cotés des autres ORP régionaux à la surveillance de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en France.

Méthodes : Un réseau de laboratoires de microbiologie publics et privés a adressé au centre coordinateur les souches de pneumocoque isolées d'hémocultures, de pus d'oreille moyenne (OMA) et de liquides céphalo-rachidiens (LCR). Le centre coordinateur a collecté les données concernant la sensibilité aux antibiotiques et a réalisé des CMI en milieu gélosé pour la pénicilline G, l'amoxicilline et le céfotaxime, en 1997, 1999, 2001, 2003, 2005 et 2007.

Résultats : Sur cette période de 10 ans, un total de 2426 souches a été collecté et analysé. Les principaux résultats sont présentés dans le tableau suivant :

	Pénicilline				Erythromycine	Cotrimoxazole	Tétracycline
	(% I+R)				(% I+R)	(% I+R)	(% I+R)
Année (nb souches)	*Hémoc*	*LCR*	*OMA*	Total*	Total*	Total*	Total*
1997 (714)	*12*	*56*	*78,6*	47,3	56	48,7	30
1999 (796)	*41,9*	*40*	*87,2*	56,7	59	43,3	36,3
2001 (227)	*48*	*44*	*78,7*	56,8	60	38	39
2003 (214)	*41*	*38*	*73,6*	46,7	51	34	30,5
2005 (210)	*36,5*	*61,5*	*55,6*	45,5	48	27,2	27,7
2007 (265)	*34,7*	*40,7*	*53,8*	39,6	36,6	18,9	29,2

* En 1997 et 1999, la proportion des souches intermédiaires et résistantes (% I+R) tient compte de l'ensemble des souches collectées y compris les souches respiratoires, pour les années suivantes, le calcul tient compte également des souches des liquides pleuraux.

Après une augmentation entre 1997 (47,3%) et 2001 (56,8%), la proportion des souches de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) a diminué pour atteindre 39,6% en 2007. Les PSDP issus des OMA présentent la plus forte baisse (87,2% en 1999, 53,8% en 2007). Concernant les autres antibiotiques, on observe une plus grande sensibilité des pneumocoques à l'érythromycine et au cotrimoxazole en 2007 par rapport à 1997. En revanche, aucune évolution significative vis-à-vis de la sensibilité aux tétracyclines n'est observée.

Conclusion : La proportion de PSDP a nettement diminuée ces 6 dernières années en région Centre pour l'ensemble des souches. Ces données sont

similaires à celles observées à l'échelle nationale (37,9% en 2007). Seul un suivi longitudinal permet de mesurer l'évolution de la résistance et des souches de pneumocoque impliquées dans les infections.

275/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Observatoire Régional du Pneumocoque en région Pays de la Loire : résistance de *Streptococcus pneumoniae* (Sp) aux antibiotiques en 2007

M. Kempf[2], F. Kowalczyk[2], P. Andorin[1], E. Bichier[1], G. Bonnaudet[1], G. Chambreuil[1], G. Cheviet[1], J.Y. Darreau[1], D. Jan[1], E. Jaouen[1], F. Jouble[1], M.E. Juvin[1], M. Langeard[1], C. Le Brun[1], J.Y. Le Reste[1], B. Lureau[1], M. Mozas[1], C. Varache[1], M. Eveillard[2], M.L. Joly-Guillou[2]
[1]ORP Pays de la Loire [2]Observatoire Régional du Pneumocoque (ORP) Pays de la Loire - Centre coordinateur, CHU Angers, Angers, France

Objectif : Décrire la résistance aux antibiotiques de Sp dans l'Observatoire Régional du Pneumocoque (ORP) Pays de la Loire en 2007.

Méthode : En 2007 ont été étudiées 331 souches de pneumocoque isolées de liquides céphalo-rachidiens (LCR), d'hémocultures (HEM), de liquides pleuraux (LPL) et de pus d'otite (OMA) chez l'adulte et l'enfant. Les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI) de la pénicilline (P), de l'amoxicilline (AMX) et du céfotaxime (CTX) ont été réalisées par le centre coordinateur, par la méthode de dilution en gélose. L'activité inhibitrice de l'érythromycine (E), du cotrimoxazole (SXT), de la rifampicine (RA), de la pristinamycine (PRI) et de la norfloxacine (NOR) a été déterminée localement par méthode de diffusion en gélose, galerie ATB-Pneumo^{O} ou carte VITEK2^{O} (BioMérieux). Les résultats ont été interprétés selon les critères du CA-SFM. Les sérogroupes ont été déterminés par agglutination de particules de latex sensibilisées.

Résultats : Globalement, les taux de résistance (I+R) étaient: P (39%), AMX (22%), CTX (7%), E (39%), SXT (17%), NOR (4%), PRI (2%), RA (0,6%). La résistance de haut niveau ne concernait que 8% des souches pour P (CMI>1 mg/L), 0,9% pour AMX et 0,3% pour CTX (CMI>2 mg/L). Les pneumocoques de sensibilité diminuée à P (PSDP - CMI > 0,064 mg/L) étaient fréquemment résistants à E (86,7%). Chez l'adulte, 249 souches ont été isolées, essentiellement d'hémocultures (86%). La résistance à P était 34,9% (I = 27,3%, R = 7,6%), AMX 19,7% (I = 19,2%, R = 0,4%), CTX 7,6% (I = 7,2%, R = 0,4%), E (35%), SXT (15%). Chez l'enfant, 82 souches ont été isolées (59% d'OMA, 30% d'HEM). Les taux de résistance (I+R) dans les OMA (P = 69%, AMX = 40%, CTX = 6%, E = 69%) étaient significativement plus élevés que dans les hémocultures (P = 24%, AMX = 12%, CTX = 4%, E = 28%). Les sérogroupes les plus isolés en 2007 étaient, par ordre de fréquence : 19, 1, 14, 6, 9, 15. Le sérogroupe 19 (30% des isolements) était prédominant dans les HEM (25%), LCR (20%) et dans les OMA (62%).

Conclusion : La diminution de la résistance de Sp aux antibiotiques amorcée en 2003 se confirme en 2007. La surveillance de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques doit toutefois être poursuivie.

276/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Bactériémies à staphylocoques : étude nationale prospective de l'Observatoire des résistances du COLBVH

O. Gallon[2], B. Lamy[5], F. Geffroy[4], J. Pollet[2], F. Doucet-Populaire[1-3], J.W. Decousser[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Antoine Béclère, Clamart [2]Pôle de Biologie - Hygiène, CH de Dourdan, Dourdan [3]Faculté de Pharmacie - EA4065, Université Paris Descartes, Paris [4]Laboratoire de Bactériologie, CH Laënnec, Quimper [5]Laboratoire de Biologie, CH du Bassin de Thau, Sète, France

Introduction : *Staphylococcus aureus* et les Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) sont responsables de 12.5% et 5.9% des bactériémies en France (données ColBVH 2007).

Objectif : Décrire au niveau national la sensibilité aux antibiotiques et la prévalence de la résistance homogène ou hétérogène aux glycopeptides au sein des *S. aureus* et SCN isolés de bactériémie.

Méthodes : En octobre 2007 52 laboratoires du ColBVH ont recueilli prospectivement les souches de staphylocoques isolées de bactériémies cliniquement significatives. Les isolats et les données cliniques ont été centralisés pour réalisation d'un antibiogramme par diffusion en milieu gélosé, d'une détermination des CMI vancomycine et teicoplanine sur Mueller-Hinton (Etest®, Mac Farland 0.5), du test recommandé par le CA SFM (MH + 5mg/l de teico, gélose GISA® AES) et du test « macrométhode » (CMI vanco et teico sur MH, Etest®, Mac Farland 2).

Résultats : 166 *S. aureus* et 53 SCN ont été étudiés; tous étaient sensibles à la vancomycine.

Parmi les SCN, 64% étaient résistants à l'oxacilline; 13% étaient intermédiaires et 11% résistants à la teicoplanine. Parmi les souches sensibles aux glycopeptides, la majorité avait un test positif de détection des sous populations résistantes: 27/41 avec le test MH teico et 15/41 avec la macrométhode.

Concernant *S. aureus*, 31% étaient résistants à l'oxacilline et aucun à la teicoplanine; 2 SARM et 4 SASM présentaient au moins un test de détection des sous populations résistantes aux glycopeptides positif (5 avec le test MH + teico et 1 avec les 2 tests); aucune de ces 5 souches n'était résistante à la gentamicine. Parmi les SARM, 69% étaient résistants à la kana et à la tobramycine, 6% à la gentamicine et 94% à l'ofloxacine. Les 3 seules souches de SARM sensibles aux fluoroquinolones étaient d'origine nosocomiale et présentaient le profil de résistance du clone français sécréteur de toxine TSST-1: intermédiaire à l'acide fucidique, résistance plus élevée à la tobra qu'à la kanamycine.

Discussion et Conclusion : Cette étude nationale souligne (i) l'importante diminution de sensibilité des SCN à la teicoplanine, (ii) la disparition du clone GISA genta R et (iii) l'émergence à l'hôpital d'un clone de SARM sensible aux fluoroquinolones et potentiellement sécréteur de TSST-1.

277/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evolution of phage and *spa* types in the MRSA population of a Belgian hospital: 2002 and 2007

C. Wildemauwe[1], D. De Brouwer[1], P. Bifani[1], C. Godard[1], P. Buyssens[1], J. Dewit[1], M. Dehem[3], R. Joseph[2], R. Vanhoof[1]
[1]Scientific Institute of Public Health, Pasteur Institute, Brussels [2]Jan Yperman Hospital, Leper, Belgique [3]Genoscreen, Lille, France

Staphylococcus aureus represents a public health burden owing to the spread of nosocomial multi-resistant clones and to the emergence of community-associated methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). In Belgium, in 2006, the MRSA proportion at hospital level was estimated 24%, a promising decreasing trend since 2005 (EARSS). Strain typing of pathogens is essential to pinpoint the sources and routes of transmission and to forecast future trends. Phage typing has been one of the first standardized typing techniques for *S. aureus* (International Union of Microbiological Societies). Recently, *spa* genotyping has proven to be an effective typing tool to distinguish strains within a heterogeneous species such as *S. aureus*.

MRSA isolates received from a Belgian general hospital during 2002 (n=150) and the second half of 2007 (n=105) were compared by phage and *spa* typing.

In 2002, [J]* phage types (= lysis only by group III phages) characterized 45% of the MRSA isolates, 13% belonged to the [O]* phage types (=lysis by groups I, III and possibly 81 or 95), 12% to a local phage type 29/42E/54/D11* and 28% were not assigned to a defined group. Thirteen different *spa* types (Ridom StaphType) were found among the isolates: 39% belonged to t038, 27% to t121, 14% to t041, 5% to t740, and 4% to t002 and t024 each. Two *spa* types were only sporadically represented (2 and 3 isolates) and five were unique to one isolate.

In 2007, 35% of the MRSA isolates belonged to [J]*, 23% to [O]* and 39% could not be put in a defined group. Eight different *spa* types were found: 34% belonged to t740, 32% to t121, 15% t038 and 11% to t002. Three *spa* types were only represented in two isolates and one *spa* type was unique.

Some correlations between phage and *spa* types could be found: t041 *spa* type was specific for the 29/42E/54/D11* phage type and the majority of the t121 typed isolates were related to [J]*.

In conclusion, some concordance between certain *spa* and phage types of MRSA could be found whereas better discrimination was achieved by a combination of both methods for about half of the isolates. Phage typing results from 2002 and 2007show that [J]* remained the dominant phage types group but has decreased in percentage whereas [O]*, the second phage types group, has increased. As to the *spa* types, t740 became dominant while t121 remained second. During the examined periods, phage and *spa* typing point to some quantitative changes among the Belgian MRSA population.

278/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Aspects bactériologiques et épidémiologiques des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline dans un hôpital universitaire polyvalent

A. Ferjani, M. Marzouk, J. Boukadida
Laboratoire de microbiologie et d'immunologie - UR02SP13, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Objet de l'étude : *Staphylococcus aureus* est une cause majeure d'infections humaines. La méticillinorésistance aggrave le pronostic et complique de manière sérieuse la prise en charge de ces infections. Dans ce cadre nous avons étudié les différents aspects bactériologiques et génotypiques des isolats de *S.aureus* résistant à la méticilline (SARM) identifiés dans notre laboratoire.

Matériel et méthodes : étude rétrospective déroulée pendant l'année 2007, elle a englobé toutes les souches non redondantes de SARM isolées à partir de différents prélèvements provenant de différents services. L'identification bactérienne a été réalisée de manière conventionnelle et la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée selon les recommandations du comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie (CA-SFM). La résistance à la méticilline a été confirmée par la mise en évidence du gène *mec A* par PCR. Les souches mec A (+) ont été caractérisés par génotypage après macro restriction par SmaI en électrophorèse en champs pulsés (ECP) dans sa variété CHEF.

Résultats : un total de 197 souches non redondantes de *S.aureus* étaient isolées durant la période d'étude essentiellement à partir des suppurations cutanées (42,6%) provenant du service de dermatologie (19%).

Trente huit isolats (19%) étaient résistants à la méticilline. Ces souches ont été isolées essentiellement des pus cutanés (63%) et d'hémocultures (13%). Les taux les plus élevés ont été constatés dans les services de dermatologie (24%), de médecine interne (18,42%) et de pédiatrie (10,5%).

Les souches de SARM étaient souvent multi résistantes aux antibiotiques : 95% à l'amikacine et à la kanamycine, 87% à l'acide fusidique, 37% à

l'érythromycine, 13% à l'ofloxacine et 10,5% à la rifampicine. Aucune résistance n'a été notée pour les glycopeptides, la pristinamycine et la fosfomycine.

A partir d'un échantillon de 19 souches de SARM et selon Tenover, 4 profils génotypiques ont été individualisés. Un clone prédominant et endémique dans le service de dermatologie et 3 clones sporadiques.

Conclusion : La fréquence de SARM est relativement importante. Les suppurations cutanées font de la dermatologie le réservoir de SARM dans notre hôpital.

279/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Etude épidémiologique de la colonisation nasale de *Staphyloccocus aureus* (SA) dans un service de réanimation et de soins intensifs (Réa-Usi) néonatal

F. Tavani[2], B. Grandbastien[1], N. Kacet[3], L. Storm[3], R.J. Courcol[2], M.O. Husson[2]
[1]SGRIVi, CHRU de Lille [2]Laboratoire de microbiologie, CHRU de Lille, Centre de Biologie et Pathologie [3]Unités de Réanimation et de Soins Intensifs Néonatales, CHRU de Lille, Hôpital Jeanne de Flandre, Lille, France

Objectif de l'étude : Cette étude a pour but de déterminer l'importance du dépistage systématique nasal de SA chez les nouveau-nés, de préciser l'incidence de cette colonisation et d'étudier les mécanismes de diffusion des souches au sein des services de Réa-Usi néonatals.

Méthodologie : Un prélèvement nasal a été effectué à l'entrée dans le service puis une fois par semaine chez 627 nouveau-nés sur une période de 10 mois. La diffusion des souches entre enfants a été analysée à partir de 41 souches isolées durant 21 semaines consécutives et la diffusion familiale a été recherchée au sein de 22 familles. Cette analyse repose sur le génotypage des souches par électrophorèse en champ pulsé.

Résultats obtenus : L'incidence de la colonisation nasale est de 0.7% pour SARM et de 11.7% pour les SASM. Le délai de colonisation est compris entre 1 et 70 jours (médiane = 7 jours). Parmi les 74 enfants ayant eu un dépistage nasal positif à SA, (24.3%) ont eu une infection. La même souche a été retrouvée chez 94.4% des enfants et la colonisation a été antérieure ou concomitante à l'infection dans respectivement 28% et 61% des cas. Cinq clusters (homologie > 80%) ont été mis en évidence parmi les 41 souches de SASM isolées chez les enfants. Ils regroupent 6, 5, 4 (2 clusters) et 2 enfants. Pour 4 clusters, l'analyse temporelle montre que les enfants ont été hospitalisés au même moment dans le même service. Parmi les 22 couples parents/enfants, la diffusion familiale est retrouvée chez 8 couples (36.4%). Mais la transmission « parents vers enfant » n'a été établie avec certitude que dans 2 cas (prélèvement des parents effectué antérieurement). Par ailleurs les enfants issus d'une même fratrie (3 cas) sont colonisés par la même souche.

Conclusion : le portage nasale des nouveau-nés par SA est à prendre en considération dans les services de Réa-Usi néonatals. Son dépistage est pertinent dans la mesure où il représente un facteur de risque d'infection sévère. Notre étude démontre que la diffusion des souches est importante avec deux modes de transmission croisée possibles : une transmission entre enfants avec le rôle du manuportage par le personnel hospitalier et une transmission familiale à prendre en considération pour les stratégies de prévention.

280/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Intérêt du profil de résistance aux antibiotiques dans la détection des souches de SARM productrices de PVL et/ou TSST-1

H. Gbaguidi-Haore[2], M. Thouverez[2], G. Couetdic[1], P. Cholley[2], D. Talon[2], X. Bertrand[2]
[1]Bactériologie [2]Hygiène hospitalière, CHU, Besançon, France

Objectif : Déterminer si le profil d'antibio-résistance constitue un marqueur phénotypique performant pour la détection des souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) producteurs de toxines PVL ou de TSST-1.

Méthodes : Etude rétrospective, portant sur des souches de SARM (sans doublon) isolées de prélèvements à visée diagnostique entre 2004 et 2007 au CHU de Besançon. Toutes les souches SARM sensibles aux fluoroquinolones (SARM-FQS), ont été analysées, pour chacune d'entre elle, deux souches SARM-FQR, sélectionnées de façon aléatoire ont été inclues. L'ensemble des souches a été testé pour la présence des gènes de la PVL, *tst* et *mec*A, et génotypées par électrophorèse en champ pulsé (ECP).

Résultats : Sur les 962 souches de SARM isolées entre 2004 et 2007, 56 (5,8%) étaient SARM-FQS. Seules 49 de ces souches (87,5%) étaient disponibles pour l'étude. Parmi les souches de SARM-FQS, 9 et 21 contenaient respectivement les gènes de la PVL et *tst*, aucune n'était positive pour les deux gènes. Toutes les souches SARM-FQR étaient négatives pour les gènes des deux toxines. La relation entre la présence de ces gènes et le profil de résistance aux antibiotiques montraient que 28 des 29 souches sensibles aux fluoroquinolones et non sensibles à l'acide fusidique contenaient soit le gène de la toxine PVL (n=7), soit celui de la toxine TSST-1 (n=21). Deux souches de SARM-FQS et sensibles à l'acide fusidique étaient productrices de PVL. Le génotypage des souches a montré que 8 des 9 souches PVL+ étaient regroupées dans un clone unique spécifique, la dernière souche PVL+ appartenant à un profil ECP sporadique. Dix-huit des 21 souches TSST1+ avaient le même profil ECP, proche de celui de la majorité des souches de SARM-FQR.

Conclusion : Nos résultats démontrent la diffusion d'un clone de SARM producteur de PVL et d'un clone producteur de TSST1. La sensibilité aux fluoroquinolones associée à la non-sensibilité à l'acide fusidique est un marqueur simple et performant pour la détection et la surveillance des souches SARM productrices de toxines PVL ou TSST-1.

281/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Caractérisation moléculaire de SARM isolés chez le porc

S.A. Granier[1], E. Pecorella[1], M.L. De Buyser[1], E. Jouy[3], C. Chauvin[2], A. Brisabois[1]
[1]Unité CEB, AFSSA - Lerqap, Maisons-Alfort [2]Unité EBEP [3]Unité MB, AFSSA - Lerapp, Ploufragan, France

Contexte : Depuis de nombreuses années, le SARM est considéré comme un des principaux pathogènes chez l'homme, responsable d'infections nosocomiales en milieu hospitalier mais aussi d'infections communautaires. Beaucoup plus récemment, une enquête a montré la présence de SARM dans les élevages de porcs aux Pays Bas suggérant un lien entre des souches hébergées chez l'homme en contact avec les élevages et celles isolées chez le porc.

Objectif : L'étude présentée avait pour but d'identifier la présence de telles souches chez les porcs français et d'apprécier leur diversité génétique selon la méthode du *spa*-typing.

Matériel et Méthodes : L'enquête a été menée en 2007 dans les abattoirs. Un écouvillonnage nasal a été réalisé après l'étape de saignée selon un plan d'échantillonnage représentatif des lots de porcs abattus en France. Les souches de SARM ont été isolées sur un milieu sélectif chromogène spécifique et identifiées par PCR. Au total, 198 souches de SARM isolées lors de cette enquête ont été caractérisées par la méthode du *spa*-typing. Les résultats de typage ont été analysés avec le logiciel BioNumerics connecté à la base de données Ridom.

Résultats : Les souches se sont réparties en 12 *spa*-types différents dont l'un est très largement majoritaire, le t011, regroupant 66% des souches. Les autres *spa*-types retrouvés étaient : t002 (8%), t1184 (6%), t899(5%), t2370 (4%), t034 (3%), t108 (2%). Les *spa*-types t588 et t430 n'ont été retrouvés que pour une seule souche chacun et trois souches ont présentés un *spa*-type encore inconnu dans la base de données.

Conclusion : Cette étude a permis de mettre en évidence la présence d'un *spa*-type majoritaire, le t011, parmi les souches de SARM des porcs prélevés à l'abattoir en France. Ce *spa*-type a déjà été identifié chez le porc dans de nombreux pays et correspond au type ST398 obtenu par typage MLST. A l'exception de ce clone majoritaire, l'analyse moléculaire de cette population de SARM montre une certaine diversité génétique au regard des autres études déjà menées en Europe.

282/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Incidence des *Staphylococcus* résistants à la méticilline acquis et consommation de produit hydro-alcoolique

H. Sénéchal, M. Olivier, N. Garreau, M. Aupée, P. Jarno, B. Lejeune, et les Praticiens et Infirmier(e)s de L'inter-région Ouest
C.CLIN-Ouest Hôtel-Dieu, CS 26419, Rennes, France

Introduction : La prévention de la transmission croisée des bactéries multi-résistantes (BMR) repose en partie sur la promotion de l'hygiène des mains. L'objectif est d'étudier un lien entre l'incidence des *Staphylococcus* résistants à la méticilline (SARM) acquis et la consommation en produit hydro-alcoolique (PHA).

Méthodes : Une cohorte de centres hospitaliers (CH) de l'inter région Ouest a été constituée. Ces CH avaient participé en 2004, 2005, 2006 à la surveillance des BMR et à l'enquête sur la consommation en produits d'hygiène des mains (PHM). Les densités d'incidence (DI) annuelles pour 1000 jours d'hospitalisation (JH) de SARM acquis ont été calculées ainsi que les consommations en PHA en ml/journée-patient. Les analyses de tendance ont été effectuées par la comparaison des intervalles de confiance à 95% des DI. La relation entre indicateur ICSHA (pourcentage de consommation réalisée en PHA par rapport à l'objectif personnalisé défini par le tableau de bord) et DI de SARM a été mesurée à l'aide du coefficient de Spearman.

Résultats : Dix sept CH ont été inclus. La diminution des DI de SARM acquis entre 2004 et 2006 (0,22 en 2004, 0,12 en 2005 et 0,13/1000 JH en 2006) était non significative ($p>0,05$). Cette diminution n'est pas retrouvée sur l'ensemble des CH ayant participé au réseau BMR (0,17/1000 JH en 2004, 0,18 en 2005 et 0,20 en 2006). On notera que la DI était plus élevée en 2004 ($p<0,05$) sur notre cohorte. La consommation en PHA a augmenté significativement ($p<10^{-4}$) :3,6 ml/journée-patient en 2004, 5,0 en 2005 et 7,5 en 2006. Cette consommation était significativement plus élevée ($p<0,05$) que pour l'ensemble des CH (3,3 ml/journée-patient en 2004, 3,7 en 2005 et 5,7 en 2006. Les 17 CH avaient un indicateur ICSHA en catégorie intermédiaire en 2005 et 2006 signifiant la mise en place d'actions. La corrélation entre DI et indicateur ICSHA était faible et non significative en 2005 (r^2=-0,19; p=0,46) et en 2006 (r^2=-0,32; p=0,21).

Conclusion : A défaut de mettre en évidence un lien entre incidence des SARM acquis et consommation en PHA, cette étude de cohorte montre une tendance à la diminution des SARM contrairement à l'ensemble des CH de l'inter-région et une consommation des PHA plus importante. Cela reflète une politique d'établissement active.

283/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Infections urinaires à *Staphylococcus saprophyticus* au CHU Mongi Slim de La Marsa

S. Mahfoudh, D. Cherif, L. Bakir
Laboratoire de Biologie Clinique, CHU Mongi Slim de La Marsa, Tunis, Tunisie

Staphylococcus saprophyticus est reconnu comme un uropathogène qui provoque les mêmes symptômes et expose aux mêmes risques qu'*E.coli*.

Objectifs : Déterminer la fréquence des infections urinaires (IU) à *Staphylococcus saprophyticus*, dresser leur profil épidémiologique et étudier la sensibilité aux antibiotiques de ce germe afin de planifier une prise en charge adéquate de ces infections au sein de notre hôpital.

Méthodes : Etude rétrospective de janvier à décembre 2006, colligeant les ECBU provenant de patients hospitalisés et consultants en externes, avec une culture ≥10^5 UFC/ml à *Staphylococcus saprophyticus* et une leucocyturie ≥ ou ≤ 10^4 leucocytes /ml.

Résultats : Sur les 1132 ECBU positifs recensés, *Staphylococcus saprophyticus* est le principal cocci à Gram positif isolé et il est responsable de 4.6% des IU dont 4.24% sont d'origine communautaire. 96% des patients sont des femmes avec une moyenne d'âge de 35 ans. La majorité des souches a été isolée pendant l'automne (21 / 52). 57.7% des souches présentent une pénicillinase. La résistance à la méticilline est de 11.5% et ces souches ont été isolées chez des patients consultants en externes. La résistance aux cotrimoxazole est de 3.7%.

Conclusion : *Staphylococcus saprophyticus* est responsable d'IU chez la jeune femme et l'apparition de souches résistantes incriminées dans ces infections, incite à une prescription rationnelle des antibiotiques.

284/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Le phénotype LSa chez les bactéries du genre *Staphylococcus*

F. Trueba[5], S. Tessé[5], O. Chesneau[6], V. Guigas[5], B. Soullie[1], C.P. Soler[3], P. Le Guen[2], J.M. Puyhardy[4], E. Nicand[5]
[1]HIA Robert Picqué, Bordeaux [2]HIA Clermont Tonnerre, Brest [3]HIA Percy, Clamart [4]HIA Legouest, Metz [5]Biologie, HIA du Val de Grâce [6]Institut Pasteur, Paris, France

Objet de l'étude : Chez les staphylocoques, les gènes *vga,* homologues du gène *lsa* de *Enterococcus faecalis*, codent pour des protéines d'efflux qui confèrent la résistance à la streptogramine A (Sa) et à la lincomycine (L). Le phénotype LSa est associé aux gènes *vga*(A), *vga*(A)v et au variant *vga*$(A)_{LC}$ récemment caractérisé chez *Staphylococcus haemolyticus*. Une analyse moléculaire de ce phénotype de résistance a été réalisée sur des souches cliniques de staphylocoques isolées en France.

Méthodes : Une recherche de souches cliniques de staphylocoques intermédiaires ou résistants à la lincomycine et sensibles à l'erythromycine a été réalisée dans 5 Hôpitaux d'Instruction des Armées. Les méthodes biochimiques classiques et le séquençage du gène qui code l'ARNr 16S ont permis l'identification de toutes les souches. Un antibiogramme (diffusion en milieu gélosé) et la détermination des CMI de l'erythromycine, clindamycine et pristinamycine par la méthode de l'E-test ont été réalisés. Des amorces ont été choisies pour amplifier par PCR, une région interne du gène *vga* et les produits obtenus séquencés. La recherche du transposon Tn *5406* par PCR, a été faite chez les souches possédant le gène *vga*(A)v.

Résultats : Parmi les 27 souches de staphylocoques étudiées (16 *Staphylococcus aureus* et 11 staphylocoques à coagulase négative), 92.6% sont résistants à la streptogramine A. La seule présence des gènes *vga*(A), *vga*(A)v ou *vga*$(A)_{LC}$ est incapable de conférer la résistance à la pristinamycine. Le gène *vga*(A)v est retrouvé chez 13 *S. aureus* et 5 *S. epidermidis*, une souche de *S. epidermidis* possède un nouveau gène *vga* variant. Nous décrivons la première souche isolée en France de *S. haemolyticus* possédant le gène variant *vga*$(A)_{LC}$.

Conclusion : Le gène *vga*(A)v est porté par le transposon Tn*5406* chez *S. aureus*. Nous rapportons pour la première fois la détection de ce gène et du Tn*5406* chez *S. epidermidis*. La découverte de nouveaux gènes *vga* témoigne de la diversité des souches et des différents phénotypes retrouvés.

285/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Cinq ans de surveillance des SARM et entérobactéries BLSE au CHU de Limoges

N. Pestourie, O. Barraud, M. Mounier, F. Garnier, N. Hidri, M.C. Ploy, F. Denis, C. Martin
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

Objet de l'étude : La notification des BMR est une mission essentielle d'un laboratoire hospitalier. En terme d'hygiène, elle implique la mise en œuvre de précautions de type « contact » des patients porteurs. L'étude a porté sur la surveillance des SARM et des entérobactéries BLSE isolés au CHU de Limoges de 2003 à 2007.

Méthodes : L'analyse des données a été réalisée à l'aide du logiciel « Gamme infectio » (Info Partner, Nancy) à partir des données issues du système de gestion de laboratoire « Bacterio » (Info Partner). L'évolution pour l'année a été mesurée après dédoublonnage selon les critères de l'ONERBA. La significativité des évolutions a été vérifiée à l'aide d'un Khi^2 de tendance. Pour les SARM, outre le pourcentage global, ont été déterminés les taux dans les hémocultures et par secteur hospitalier ainsi que les résistances associées. Les pourcentages globaux et par espèce, les taux dans les hémocultures et les urines ont été étudiés pour les entérobactéries BLSE.

Résultats obtenus : Les résultats montrent une diminution significative (p<0,01) du taux des SARM (36,9% en 2003 et 27% en 2007) qui concerne aussi bien les services de chirurgie que de médecine, avec un pourcentage plus faible pour les services de réanimation (21,9% en 2007). Cependant, ce taux reste supérieur et stable dans les bactériémies (environ 32%). Les résistances associées ont globalement diminué mais montrent une stabilité pour les fluoroquinolones (90%) et une hausse pour le cotrimoxazole (de 1 à 4,5%*)*. Le pourcentage de GISA a été divisé par trois au cours de la période. Le taux d'entérobactéries BLSE est en augmentation significative (p<0,01) depuis 2003 (2,3%) pour atteindre 5,7% en 2007 dans les bactériémies. En 2007, près de 50% des souches BLSE appartiennent à l'espèce *Escherichia coli,* contre 15% en 2003, et près d'1 souche sur 4 de *Citrobacter koseri* héberge une BLSE.

Conclusion : La diminution globale du pourcentage de porteurs de SARM au CHU de Limoges entre 2003 et 2007 rejoint les données nationales. Seules les valeurs obtenues pour les bactériémies ne suivent pas la diminution observée au niveau national. L'augmentation du taux de BLSE est une donnée préoccupante qui montre tout l'intérêt de la surveillance permanente de la résistance aux antibiotiques.

286/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

***vanA* chez *Enterococcus faecium*, *E. faecalis* et *E. casseliflavus* d'origine bovine**

M. Haenni, E. Saras, P. Châtre, D. Meunier, J.Y. Madec
Unité de bactériologie, Afssa, Lyon, France

Objectif : Les entérocoques font partie de la flore gastro-intestinale animale, soumise à une pression de sélection en cas d'ingestion d'antibiotiques. Jusqu'en 1996, l'administration par voie orale de l'avoparcine dans les élevages a favorisé la sélection d'ERV. En parallèle de la récurrence des épidémies hospitalières à ERV en France, cette étude avait pour objectif une première estimation de la présence des ERV chez les bovins.

Méthode : Les ERV ont été recherchés dans les fèces de bovins sains (967 échantillons) et chez des animaux malades (536 échantillons). L'identification morphologique et biologique a été confirmée par PCR. Les CMI à la vancomycine (VAN) et à la téicoplanine (TEI) ont été déterminées par E-test et les gènes *van* recherchés par PCR.

Résultats : Au total, 3 souches d'entérocoques d'origine géographique différentes ayant acquis une résistance aux glycopeptides ont été isolées. *E. faecium* S8346, issu d'un bovin malade, présentait le phénotype VanA (résistance VAN/TEI), de même que *E. faecalis* H356_2 (bovin sain). *E. casseliflavus* S8702 (bovin malade) présentait un phénotype VanB (résistance VAN, sensibilité TEI), mais un génotype *vanA*/*vanC2.*

L'analyse moléculaire des 3 souches d'ERV a révélé des supports génétiques similaires au Tn*1546* (RFLP), avec une organisation conservée *vanRSHAX*. Le transfert par conjugaison de l'élément *vanA* a été démontré pour H356_2. L'existence de résistances associées, facteur de co-transmissibilité, a été observée pour les 3 souches.

Par ailleurs, 8 *E. casseliflavus* (dont 7 chez des bovins sains) et 15 *E. gallinarum* (dont 14 chez des bovins malades) portant naturellement *vanC* ont été identifiés, mais aucune des deux espèces ne présentait de clonalité par PFGE.

Conclusion : Cette étude a montré la présence, bien qu'à faible prévalence, de l'élément transférable *vanA* chez les entérocoques de bovins en France, et ce même 5 à 9 ans après l'interdiction de l'avoparcine. Si le risque pour l'homme reste à déterminer, les bovins constituent néanmoins un réservoir de résistances transmissibles à surveiller afin d'en limiter le transfert à l'homme, par voie orale par exemple.

287/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Aspects éthiques de la prise en charge d'une épidémie à ERG au CHU de Nancy

S. Hénard[3], G. Gabriel[4], T. May[2], P. Hartemann[1], X. Ducrocq[4], C. Rabaud[3]
[1]Service d'hygiène hospitalière [2]Service des maladies infectieuses et tropicales, CHU Nancy [3]CCLIN-Est [4]Comité de Réflexion Ethique Nancéien Hospitalo-Universitaire, CHU Nancy, Nancy, France

Introduction : Depuis 2005, le CHU de Nancy est confronté à une épidémie de colonisations à ERG (entérocoques faecium Van A). La gestion de cette épidémie, avec la mise en place d'un secteur de cohorting, a conduit à s'interroger sur le côté discriminatoire de cette mesure (ou potentiellement vécue comme telle par le patient, son entourage et par les soignants) et sur le risque réel de perte de chance concernant leur prise en charge médicale. De même, la nécessaire mise à disposition d'une liste nominative des patients, accessible par les soignants de l'établissement, posait question au regard du secret médical.Les patients ERG positifs peuvent être considérés comme définitivement négativés si un prélèvement réalisé à l'issue d'une antibiothérapie sélectionnant les ERG est négatif. Ces patients négativés peuvent alors bénéficier d'une prise en charge classique hors secteur de cohorting.

Objectif : Débattre des aspects éthiques de la prise en charge des patients

porteurs d'ERG en secteur de cohorting, de la nécessaire diffusion d'une liste nominative au sein du personnel soignant, et de l'intérêt d'une antibiothérapie en test diagnostique de non portage d'ERG.

Méthodes : Le Comité de Réflexion Ethique Nancéien Hospitalo-Universitaire (CRENHU) a été saisi à deux reprises en novembre 2007 puis en mars 2008 afin d'émettre un avis sur ces 3 questions.

Résultats : Le CRENHU a insisté pour que tout soit mis en œuvre pour éviter toute perte de chance dans la conduite optimale des soins apportés aux patients hébergés dans l'unité de cohorting. Il a également suggéré la mise en place de mesures informatiques mieux sécurisées pour identifier les patients porteurs.

Il a émis un avis défavorable quant à l'intérêt d'une antibiothérapie en test diagnostique de non portage d'ERG, considérant qu'au regard du bénéfice annoncé, les risques restaient trop importants : effet indésirable potentiel d'une antibiothérapie non nécessaire (iatrogénie), effet néfaste potentiel au plan de l'écologie bactérienne et risque de favoriser une dissémination chez un patient qui redeviendrait excréteur.

Conclusion : La gestion d'une épidémie à ERG implique une réflexion concernant le respect des droits et de la liberté individuelle du patient au regard de l'enjeu collectif lié à la maîtrise de l'épidémie.

288/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Epidémie à *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine de type Van B (EfRV) au CH de Béthune (Pas-de-Calais). Réalisation d'une enquête de prévalence en mai 2008

S. Dekeyser[2], F. Dufossez[1], S. Payen[2-2], E. Béclin[3], K. Blanckaert[4], D. Descamps[2-3]
[1]Département d'information médicale [2]Laboratoire de microbiologie [3]Unité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales, Centre Hospitalier Germon et Gauthier, Béthune [4]Antenne régionale du Nord-Pas-de-Calais, CCLIN Paris Nord, Lille, France

Objet : Dans le cadre de la maîtrise de l'épidémie à *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine de type Van B (EfRV) qui sévit au CH de Béthune (538 lits dont 409 de MCO) depuis mars 2008, organisation d'une enquête de prévalence mandatée par les autorités sanitaires en mai 2008, dans les services de court et long séjour non encore touchés par l'épidémie (hors maternité et pédiatrie) pour tous les patients hospitalisés depuis plus de 24 heures (9 unités de soins sur 18).

Méthode : Dans chaque service, information au patient, recueil des éléments nécessaires à l'enquête (une fiche par patient) : données administratives, traitement anti-infectieux, antécédents d'infection à *Clostridium difficile* ; réalisation des prélèvements (écouvillonnage intra-rectal profond ou échantillon de selle). Au niveau du laboratoire, mise en culture sur milieu sélectif chromogène, saisie et exploitation des résultats avec le logiciel Epidata après vérification et anonymisation des fiches.

Résultats : 239 patients ont été prélevés le jour de l'enquête sur les 267 présents : ces patients venaient dans 65% des cas de leur domicile, et dans 28,3% d'un établissement de santé ; 15,4% avait pris un traitement anti-infectieux et 9% avaient présenté une infection à *Clostridium difficile* dans les 6 derniers mois. Sur les 239 patients dépistés, 9 se sont révélés porteurs d'EfRV (taux de prévalence : 3,4%) avec identification de 3 services : neurologie (7 patients), chirurgie viscérale (1 patient) et soins continus d'urgence (1 patient). L'âge moyen des patients porteurs était de 81,5 ans (58 à 91 ans) ; ils étaient hospitalisés en moyenne depuis 15 jours (hospitalisation multiple pour 3 d'entre eux) et 2 patients prenaient un traitement anti-infectieux.

Conclusion : Le but de cette enquête était de mieux contrôler l'épidémie en établissant un état des lieux du portage EfRV au CH de Béthune. Les patients colonisés nouvellement identifiés ont été rapidement pris en charge en zone de cohorting. Le dépistage des sujets contacts générés (181) a permis de dépister 5 cas secondaires (4 en neurologie et 1 aux soins continus d'urgence) et de maîtriser la propagation de l'épidémie pour les patients déjà transférés dans une autre structure de soins.

289/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Epidémie à *Enterococcus faecium* résistant à la vancomyvine de type Van B (EfVR) au CH de Béthune (Pas-de-Calais): mise en place d'une démarche de gestion de l'épidémie à l'échelle de l'établissement

D. Descamps[2], E. Béclin[3], S. Dekeyser[2], K. Blanckaert[4], C. Lemaire[1]
[1]Commission médicale de l'établissement [2]Laboratoire de microbiologie [3]Unité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales, Centre Hospitalier Germon et Gauthier, Béthune [4]Antenne régionale Nord Pas de Calais, CCLIN Paris Nord, Lille, France

Ojectifs : Rapporter les moyens engagés et les résultats d'une intervention pour épidémie à EfRV.

Le cas index (infection urinaire sur sonde) a été diagnostiqué en mars 2008 dans le service (svce) de Néphrologie de notre étbt et signalé aux autorités sanitaires Le dépistage du svce et des filières de soins associées (hémodialyse, dialyse péritonéale) a révélé d'autres patients (pts) porteurs.

Les mesures suivantes ont été prises : **1)** Mise en place d'une cellule de crise **2)** Dépistage rectal des pts contacts hospitalisés y compris ceux déjà transférés dans un autre svce ou étbt ou rentrés à domicile **3)** Arrêt des entrées et sorties dans les svces concernés en attendant les résultats des trois prélèvements de dépistage réalisés à une semaine d'intervalle **4)** Utilisation au laboratoire d'un milieu d'enrichissement et d'un milieu chromogène pour détecter les EfRV, confirmation microbiologique systématique et envoi des souches au centre national de référence pour typage moléculaire **5)** Application stricte des recommandations nationales avec regroupement des pts porteurs et contacts de l'étbt dans des zones de cohorting spécifiques avec du personnel dédié et identification des svces accueillant les pts indemnes **6)** Application des précautions contact pour les pts porteurs et contacts **7)** Revue systématique des antibiothérapies instaurées chez les pts porteurs **8)** Suivi des pts porteurs et contacts à l'aide d'une liste réactualisée quotidiennement et consultable sur le site intranet **9)** Large information dans l'étbt (mail, site intranet, réunions d'information) et auprès des patients concernés, des médecins traitants, des structures d'aval **10)** Réalisation d'une enquête de prévalence de portage en mai 2008 dans les svces non touchés afin de maîtriser le réservoir.

Depuis le début de l'épidémie, 53 pts porteurs (âge moyen : 76.6 ans) ont été identifiés et 20 décès constatés non imputables à l'EfRV.Deux pts (2/53)ont présenté une infection urinaire, les autres (51/53) un simple portage digestif. Dix svces ont été touchés :9 svces de MCO et 1 svce de SSR.290 pts contacts sur 739 identifiés ont bénéficié de 3 prélèvements de dépistage négatifs.

Une intervention rapide, coordonnée, impliquant toute la communauté hospitalière a permis de contrôler l'épidémie en treize semaines.

290/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Isolement d'un *Enterococcus faecium* van A (ERG) au centre hospitalier de Grasse : mise en place des recommandations du CTINILS

N. Négrin, S. Léotard
Hygiène, Centre Hospitalier, Grasse, France

Nous avons mis en évidence chez une patiente hospitalisée un *Enterococcus faecium* van A (ERG) dans les urines. L'isolement d'un ERG reste encore rare mais est souvent rattaché à des épidémies. A notre connaissance aucun ERG n'avait été isolé dans les hôpitaux voisins.

Objectif : Réagir rapidement afin d'éviter la diffusion de l'ERG

Méthode : Application des recommandations du CTINILS : mise en place des isolements, création d'une liste de patients contacts, dépistages, rappel du bon usage des antibiotiques. Plusieurs CLIN exceptionnels ont eu lieu afin d'organiser la surcharge de travail, le renforcement des mesures d'hygiène, l'arrêt des admissions et des transferts, l'information aux patients et aux médecins traitants.

Résultats : J1, déclaration au CCLIN et à la DDASS. J2, liste de patients contacts et début des prélèvements. J8, 2 autres patients + dont un transféré dans un SSR extérieur avant le résultat du dépistage (élargissement de la liste contact). Grâce à une application informatique, le nombre de prélèvements par patient est répertorié par le Laboratoire. Le bureau des entrées alerte (service d'accueil du patient, CLIN, Laboratoire) à chaque nouvelle hospitalisation d'un patient contact. Après 3 prélèvements négatifs, le patient sort de la liste. Il est à noter qu'un patient initialement négatif s'est positivé au 2ème dépistage puis négativé par la suite. Il est donc important de ne pas se contenter d'un seul résultat. Au total, en 3 semaines nous avions 4 patients + (colonisés). La liste des patients contacts (hors SSR extérieur) est de 120 patients. 10 mois après il reste 66 patients contacts et pas d'autres patients positifs. Actuellement, selon les recommandations du CCLIN Sud Est, le dépistage est systématiquement réalisé pour tout patient admis en Réanimation.

Conclusion : Aucun établissement n'est à l'abri de l'isolement d'un ERG. La rapidité de la mise en place des mesures est primordiale dans la maîtrise de la diffusion de l'ERG. La mise en œuvre des recommandations n'a pas été toujours facile mais la taille de notre Hôpital (532 lits MCO et SSR) nous a permis de communiquer rapidement à l'ensemble de l'établissement.

291/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

WEBISO : la surveillance des infections de site opératoire *via* Internet

P. Jarno, P. Angora, N. Garreau, M. Olivier, H. Sénéchal, M. Aupée
CCLIN Ouest, Rennes, France

Objet de l'étude : Jusqu'en 2008, la surveillance des ISO était effectuée sur le logiciel EPI-INFO. Il s'agit, pour favoriser la participation à la surveillance des ISO, de fournir une application conviviale et réactive aux utilisateurs pour la saisie des données et l'édition de rapports de résultats.

Méthodes :

- Développement sous PHP, langage de développement universel ; dans un environnement MySQL qui permet de gérer les bases de données sur Internet

- Appui d'un groupe de professionnels de santé des établissements de soins (ES) de l'inter région Ouest, pour la validation du cahier des charges et le respect des principes de départ concernant l'application : simplicité de mise en œuvre et de maintenance ; simplicité d'utilisation et ergonomie pour les professionnels des ES ; indépendance de tout composant logiciel pouvant être installé sur un poste client ; évolutivité.

Résultats : Cette application Web permet :

· la génération de rapports de résultats (poster ou rapport résumé) au niveau d'un ES, d'une région ou d'une inter région, dynamiques et disponibles en ligne (et en temps réel) au format HTML ou PDF ;

· la saisie en ligne des données de surveillance des ES ;

· le suivi de l'avancement de la participation des ES ;

· des analyses de la qualité des données avec modifications de la saisie avant validation ;

· la récupération immédiate du fichier par l'établissement en format Excel, une fois l'ensemble des fiches de surveillance saisies ;

· l'envoi de fichiers de surveillance obtenus à partir d'autres applications (EPI INFO, EXCEL ou ACCESS).

Cette application est disponible sur le site du CCLIN Ouest (http://www.cclinouest.com/, onglet « Surveillances »).depuis le 1er janvier 2008. En 2008, 54 ES et 112 services ont utilisé cette application pour saisir les données de surveillance de près de 9000 interventions chirurgicales.

Conclusion : L'application a déjà reçu l'approbation des professionnels de santé participant à la surveillance des ISO dans l'inter région Ouest. Un travail est en cours dans le cadre du Réseau d'Alerte et de Surveillances des Infections Nosocomiales (associant les 5 CCLIN et l'IVS) pour proposer, via la coordination nationale, cette application aux ES des 4 autres inter régions.

292/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Particularité de l'écologie bactérienne réunionnaise : actualité au centre hospitalier Félix Guyon (CHFG)

O. Belmonte[1], M.P. Moiton[4], D. Drouet[3], Y. Lefort[3], J. Alba[2], M.C. Jaffar-Bandjee[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie et d'Hématologie [2]Pharmacie [3]Service de Réanimation Polyvalente [4]Unité de Médecine Interne, CH Felix Guyon, Saint-Denis, France

Relativement épargnée à la fin des années 90, La Réunion doit aujourd'hui faire face à l'émergence des bactéries multi-résistantes (BMR). Au CHFG, l'écologie bactérienne évolue de façon paradoxale : alors que la problématique des Bacilles Gram Négatif Multi-Résistants (BGNMR) explose, la situation des cocci gram positif reste satisfaisante.

Les germes retenus ont été isolés au sein de prélèvements à visée diagnostique chez des patients hospitalisés au CHFG entre 1997-2001 et 2006-07.

Entre 1997 et 2007, la faible prévalence des SARM s'est renforcée (13,4% en 2006/07 vs 20% en 1997/98). La circulation d'un nouveau clone plus sensible (profil : KT-Pefloxacine-Lincomycine résistant), amorcée dès 1998, représente actuellement une problématique concentrée dans un nombre limité de services (4 services > 50% des cas). Pour *S.pneumoniae*, la tendance actuelle expose une diminution régulière des PSDP (<40%) couplée à une stabilisation des résistances associées aux bêta-lactamines.

En 8 ans, on observe une augmentation de la prévalence de 57% des entérobactéries résistantes aux C3G (EMR) liée essentiellement à la progression des BLSE (X3) et de 100% des *P.aeruginosa* (PMR) résistants à la ceftazidine. Les résistances aux aminosides et fluoroquinolones évoluent de façon opposées entre EMR (nette augmentation) et PMR (diminution). La situation est stable pour l'imipénème. De plus, depuis 2006 l'établissement doit faire face à une épidémie d'*A.baumannii* (37 cas documentés) phénotype 5 (OXA 23) posant de sérieux problèmes de prise en charge thérapeutique (sensibilité limitée à colistine / rifampicine +/- tobramycine).

L'évolution des résistances observées, notamment chez les BGN, peut être corrélée aux fortes consommations d'antibiotiques (ATB) (C3G, imipénème) au CHFG. La nature et l'augmentation du nombre de BMR détectées est également à confronter à la situation globale dans l'Océan Indien (faible prévalence des SARM, cas importés et documentés depuis les iles voisines de BLSE, Ab phen 5).

La Réunion se trouve aujourd'hui à un carrefour délicat concernant la situation de son écologie bactérienne (émergence et transmission de BMR, forte pression médicale régionale…). Malgré les mesures prises au CHFG, les conséquences de cette évolution, notamment vis à vis des BGNMR, seront à surveiller de près dans le futur y compris dans le secteur communautaire.

293/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Anti-infectieux empiriques dans les 24-48 premières heures des bactériémies des patients hospitalisés dans les hôpitaux du groupe des microbiologistes d'Ile-de-France en 2007

H. Porcheret[2], D. Barraud[3], M. Bingen[3], Y. Costa[4], V. Estève[6], F. Faibis[5], M.C. Demachy[5], A. Scanvic[1], E. Vallée[8], Y. Péan[7]
[1]Microbiologie, CH Argenteuil, Argenteuil [2]Microbiologie, CH Aulnay-sous-Bois, Aulnay-sous-Bois [3]Microbiologie, CH Gonesse, Gonesse [4]Microbiologie, CH Lagny, Lagny [5]Microbiologie, CH Meaux, Meaux [6]Microbiologie, CH Orsay, Orsay [7]Microbiologie, Institut Mutualiste Montsouris, Paris [8]Microbiologie, CH Poissy-St Germain en Laye, Poissy, France

Objectif : Analyser les antiinfectieux administrés chez le patient bactériémique avant la transmission au prescripteur du premier résultat positif d'hémoculture.

Méthodes : Pour toutes les bactériémies identifiées en 2007, le microbiologiste relevait les antiinfectieux (antibiotiques et antifungiques) administrés (quelle que soit la raison) au patient au moment de l'annonce de la positivité de l'hémoculture. Le traitement a été comparé à la sensibilité de l'espèce bactérienne isolée, testée selon les recommandations du CA-SFM. Si au moins une molécule administrée était active sur le ou les microorganismes isolés, le traitement était considéré comme adapté. La définition du caractère communautaire (BC) ou non communautaire (BNC) des bactériémies reposait sur des paramètres cliniques et anamnestiques.

Résultats : Parmi les 2013 bactériémies analysées, (58,3% BC, 41,7% BNC), le traitement antiinfectieux était adapté pour 1286 (63,9%), inadapté pour 266 (13,2%) et pour 461 (22,9%) bactériémies aucun antiinfectieux n'était administré. Il n'y avait pas de différence dans la répartition des différentes familles d'antibiotiques entre les traitements adaptés et inadaptés avec une large part donnée aux molécules à spectre large (25% céphalosporines de 3ème génération, 13 à19% aminosides, et 15 à 16% de fluoroquinolones). Le traitement était plus fréquemment adapté, quand la bactériémie était communautaire, qu'elle était monomicrobienne, que 2 ou 3 antibactériens étaient utilisés, que l'espèce isolée était un streptocoque, un pneumocoque ou une entérobactérie, que l'origine de la bactériémie était urinaire ou pleuropulmonaire ou qu'il s'agissait d'un service de pédiatrie (soins intensifs compris) ou de maternité-obstétrique.

Conclusion : Près d'1/4 des patients pour lesquels des hémocultures étaient prélevées ne reçoivent aucun antiinfectieux en attendant le résultat des analyses. Les raisons (en rapport ou non avec la bactériémie) pour lesquelles les autres patients (plus des 3/4) reçoivent des antiifectieux n'ont pas été analysées. Néanmoins la proportion de traitements adaptés peut apparaître faible (et doit être améliorée) et ce malgré le recours fréquent à plusieurs antiinfectieux et aux molécules à spectre large.

294/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Epidémiologie des bactériémies dans le service d'hématologie du CHU de Limoges entre 2003 et 2007

N. Hidri[1], P. Turlure[2], N. Dmytruk[2], S. Girault[2], O. Barraud[1], F. Garnier[1], C. Martin[1], G. Masson[1], M.C. Ploy[1], D. Bordessoule[2], F. Denis[1]
[1]Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Service d'Hématologie, CHU Dupuytren, Limoges, France

Objectifs : Une étude rétrospective entre 2003 et 2007 des bactériémies du service d'hématologie du CHU de Limoges a été menée à partir des données du laboratoire.

Résultats : Le service d'Hématologie comprend trois UF: HDJ, Hématologie avec 39 lits, Réanimation avec 10 lits, dont 4 flux laminaires protégés. Ce service a une activité de greffe de cellules souches périphériques. Au cours de la période 2003 – 2007, en excluant les doublons, 613 isolats ont été identifiés dans les hémocultures. 73,47% étaient des bactéries à Gram positif, et 26,53% des bactéries à Gram négatif. Les bactéries à Gram positif étaient majoritairement des Staphylocoques (69,7% des cas), répartis en *S. epidermidis* pour 69%, *S. aureus* pour 6,7% et autres Staphylocoques pour 24,2%. Les streptocoques comptaient pour 18,7% des cas, répartis en streptocoques oraux pour 48,8%, entérocoques pour 28,56%, *S. agalactiae* pour 8,3%, *S. pneumoniae* pour 6,9%. Les entérobactéries représentaient 55,48% des bactéries à Gram négatif (dont la moitié environ était des *E.coli*) et *Pseudomonas aeruginosa*, 20,7%.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a mis en évidence que les *S.aureus* (21 souches) étaient des SARM dans environ ¼ des cas, que les Staphylocoques à coagulase négative étaient méticillino - résistants dans 68,5% des cas (78% au sein de la population des *S. epidermidis*), et de sensibilité diminuée à la Vancomycine dans 7,54%. Les Streptocoques oraux étaient de sensibilité diminuée à l'Amoxicilline dans 18,4% des cas, les entérocoques dans 33,3% et les *S. pneumoniae* dans 17%. Les entérobactéries étaient multirésistantes aux antibiotiques dans 6,1% des cas (avec 3 souches de *K. pneumoniae* BLSE et 2 souches de *E. cloacae*, 1 BLSE et 1 céphalosporinase déréprimée) et résistantes à l'acide nalidixique dans 28,2% des cas. Sur 34 souches de *P.aeruginosa*, 82% étaient résistantes à la Ticarcilline, 15% à la Ceftazidime, 24% à l'association Pipéracilline – Tazobactam, 44% à l'Imipénème et 44% à la Ciprofloxacine. Ces chiffres étaient stables durant la période examinée, sans phénomène épidémique. Ils confortent le schéma d'antibiothérapie probabiliste institué dans le service d'Hématologie devant une fièvre, l'association Pipéracilline – Tazobactam voire Imipénème et/ou Vancomycine.

295/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Surveillance des bactériémies en médecine dans un CHU d'Ile-de-France : étude prospective

C. Rousseau[1], A. Lefort[1], M.H. Nicolas-Chanoine[2], B. Fantin[1], D. Vanjak[3]
[1]Médecine intene [2]Microbiologie [3]Unité de lutte contre les infections nosocomiales, Hôpital Beaujon, AP-HP, Clichy, France

Objectif : Déterminer l'incidence des bactériémies dans les services de médecine d'un CHU et en décrire les caractéristiques épidémiologiques.

Méthode : Les données ont été recueillies de façon prospective de décembre 2006 à mars 2007 pour tout patient ayant un flacon d'hémoculture périphérique positif et hospitalisé dans les services de médecine du CHU Beaujon (urgences porte (UP), gastro-entérologie (GE), assistance nutritive (AN), hépatologie, cardiologie, médecine interne (MI), gériatrie).

Résultats : Parmi les 126 hémocultures positives, 83 (66%) correspondaient à une bactériémie cliniquement significative (BS) (incidence de 4.6/1000JH). Le *sex-ratio* était de 1 et l'âge médian de 62 ans. Une immunodépression était retrouvée dans 5% des cas et un geste chirurgical dans 19% des cas. La répartition des BS était : 32% en GE, 19% en hépatologie, 17% aux UP, 12% en MI et en AN, 6% en gériatrie et 2% en cardiologie. La porte d'entrée était abdominale (32%), urinaire (27%), liée à un cathéter (18%), cutanée (4%), pulmonaire (2%), ORL (1%) ou indéterminée (16%). Les germes isolés incluaient 57% d'entérobactéries (5/45 céfotaxime-résistant), 11% de

Staphylocoque à coagulase négative, 9% de *Streptococcus* spp, 8% de *Staphylococcus aureus* (3/7 méticilline-résistant), 6% d'*Enterococcus* spp, 5% de levures et 3% de *Pseudomonas* spp. Cinq bactériémies étaient polymicrobiennes. L'origine des BS était dans 54% des cas nosocomiale (n=45), 33% communautaire (n=27) et 13% liée aux soins à domicile (n=11). Ainsi, les BS associées aux soins avaient une incidence de 3.1/1000JH et un taux de mortalité intra-hospitalière de 29%.

Conclusions : Un tiers des hémocultures positives sont des souillures, nécessitant des mesures d'éducation du personnel soignant. Les bactériémies significatives ont une incidence élevée dans les services de médecine. La majorité est d'origine nosocomiale et liée aux soins, en particulier cathétérisme pour alimentation parentérale ou chimiothérapie, et associée à une mortalité importante. Ce type de soins étant en pleine expansion, il paraît important de renforcer la surveillance des bactériémies en médecine et de sensibiliser le personnel soignant aux mesures de prévention.

296/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

les bactériémies : fréquence des germes et sensibilité aux antibiotiques au CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie

H. Ziane, F. Ousser, F. Djennane, A. Beloufa, M. Neggazi, S. Gourari, N. Ramdani-Bouguessa, M. Tazir
Service de Microbiologie, Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha Bacha, Alger, Algérie

Les bactériémies sont des infections graves nécessitant en urgence une antibiothérapie adaptée. Notre objectif est de déterminer la fréquence des bactéries isolées et leur sensibilité aux antibiotiques.

Une étude prospective a été menée du 01 novembre 2007 au 31 juillet 2008.Les hémocultures et les techniques d'identification bactérienne ont été réalisées selon les méthodes standards et l'antibiogramme selon les recommandations du CLSI.

Parmi 1798 hémocultures, 166 épisodes de bactériémies (9,23%) ont été comptés. Les bactériémies étaient nosocomiales dans 74% et communautaires dans 26%. Le sexe ratio (H/F) était de 1,37 et l'âge médian de 29 ans. Les services concernés étaient la réanimation (n=56), la pédiatrie (n=30), la néonatologie (n=32), les services de médecine (n=37) et la chirurgie (n=11). Les principales portes d'entrée (PE) étaient : site opératoire (n=14), digestive (n=12), endocardite (n=8), pulmonaire (n=7) et urinaire (n=5). Dans 62cas la PE est restée méconnue. Parmi les 172 souches, les bactéries à Gram négatif étaient les plus isolées (n=121). Les espèces les plus fréquentes étaient : *K.pneumoniae* (n= 29*), E.coli (n=18), P.aeuginosa* (n=11), *A.baumanii* (n=11), *Enterococcus sp* (n=9), *S.aureus* (n=6) *et S.pneumoniae* (n=4). La résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération était de 42,6%, avec production de β-lactamase à spectre étendu dans 92%. Cette résistance était associée dans 71% aux aminosides et 13% aux fluoroquinolones. *P.aeruginosa* et *A.baumanii* étaient respectivement résistants à la ceftazidime dans 9% et 72%. Aucune résistance n'a été retrouvée à l'imipenem. Quatre souches de *S.aureus* étaient méticillino-résistantes et 3 souches de *S.pneumoniae* avaient une résistance intermédiaire à la pénicilline. En revanche aucune résistance aux glycopeptides n'a été notée chez *S.aureus* et *Entérococcs sp.* Le taux de mortalité était de 14%, lié essentiellement au traitement initial inadapté (48,2%) et au terrain.

La forte fréquence des bactériémies nosocomiales à entérobactéries multirésistantes impose une surveillance continue de celles-ci, afin de guider l'antibiothérapie probabiliste et améliorer le pronostic. Des mesures d'hygiène sont aussi nécessaires pour réduire les bactériémies nosocomiales.

297/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Sepsis à *acinetobacter baumannii* dans un service de réanimation des brûlés : étude sur 5 ans

K. Bousselmi, L. Thabet, I. Rahmani, H. Oueslati, J. Haddad, B. Touil, S. Oueslati, A.A. Messadi
Réanimation des Brulés, CTGB, Ben Arous, Tunisie

Problématique : L'infection nosocomiale est associée à une augmentation de la morbidité, de la mortalité et du coût de la prise en charge. Elle est la première cause de décès chez le brûlé déjà fragilisé par sa maladie. *A.baumanii* (*Acinetobacter baumanii*), seul ou associé à d'autres germes, est une des principales espèces responsable de sepsis chez le brûlé. Ce germe, dont l'éradication est très difficile, pose souvent le problème de multirésistance.

But du travail : Evaluer l'incidence des infections nosocomiales à *A.baumanii*, déterminer le profil épidémiologique de ces infections et leur pronostic.

Méthodes : Nous avons mené une étude rétrospective concernant les patients hospitalisés dans le service de réanimation des brûlés à Tunis, durant une période de 5 ans (du 1er janvier 2000 au 31 décembre 2004).

Résultats : Durant la période d'étude, 56 épisodes de sepsis à *A.baumanii* ont été identifiés chez 55 patients parmi les 623 hospitalisés plus de 48 heures. L'âge moyen de nos patients est de 32 ans. Le sex-ratio est de 1.11. Plus de 40% des patients ont des pathologies associées. La surface cutanée brûlée moyenne est de 41%. *A.baumanii* occupe la première place devant *Staphylococcus aureus* et *Pseudomonas aeruginosa*. L'incidence de l'infection nosocomiale à *A.baumanii* est de 8.98% soit 3.05‰ patients-jours.

L'infection à *A.baumanii* se déclare en moyenne 4.5±3 jours d'hospitalisation. 23 cas sont imputés seulement à *A.baumanii*. La localisation hématogène est la plus fréquente (71%), suivi par la localisation urinaire (35%), cutanée (28%) et pulmonaire (1.8%). Le séjour moyen est de 28.5 jours en réanimation et de 37 jours dans le post-réanimation quand l'évolution est favorable.

Dans notre étude, 36.8% des souches sont sensibles à l'imipénème. La résistance aux aminosides et aux fluoroquinolones est très élevée (supérieur à 88%). Seule la colistine garde une activité constante sur toutes les souches isolées et constitue l'alternative de dernier recours.

L'âge ≥30 ans, la TBSA ≥40%, la mise de KTVC et la ventilation artificielle sont des facteurs indépendant et significativement liés au décès chez les patients. Les indices de pronostic spécifiques des brûlés (UBS, ABSI et IB), liés à la TBSA, sont statistiquement significatifs. La mortalité septique dans notre série est de 32.7%, soit le double de celle du service durant la même période d'étude. La mortalité attribuable à l'infection à ce germe est de 14.7%.

Conclusion : Les infections à *A.baumanii* sont fréquentes, précoces et graves. La multirésistance est habituelle. Seule la colistine garde une activité constante sur ce germe. Elle devrait constituer désormais, l'antibiothérapie de première intention. Une longue durée d'hospitalisation et une lourde mortalité sont associées à cette complication.

298/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Observatoire d'incidence des infections dans les centres des brûlés en France

R. Le Floch[6], C. Vinsonneau[7], R. Ravat[4], P. Ainaud[5], M. Bertain-Maghit[3], H. Carsin[2], G. Perro[1]
[1]Hôpital Pellegrin, Bordeaux [2]HIA Percy, Clamart [3]Hôpital Edouard Herriot [4]Hôpital St Joseph-St Luc, Lyon [5]Hôpital de la Conception, Marseille [6]CHU Jean Monet, Nantes [7]Hôpital Cochin, Paris, France

Objet : Les infections chez les patients brûlés représentent la première cause de décès passée la phase aiguë. Afin d'en améliorer la prévention, nous ne disposons pas de données épidémiologiques nationales. Cette étude nationale vise a évaluer l'incidence et les caractéristiques des infections dans cette population.

Méthode : Etude non interventionnelle, épidémiologique, longitudinale, réalisée parmi 18 centres de brûlés sur le territoire national et qui s'est déroulée sur une période trois mois de juillet à septembre 2006. Seuls les nouveaux épisodes infectieux débutant pendant cette période de recueil ont été pris en compte. Parmi les 784 patients ayant séjourné durant la période d'observation dans les centres participants, 348 ont eu un séjour strictement inclus dans les bornes de l'étude.

Résultats obtenus : Les caractéristiques moyennes de la population globale sont : âge 35,5 ans, surface brûlée totale 15,7%, Surface profonde 9,5%, inhalation de fumées 9,8%. Le taux de mortalité est de 5%. L'incidence globale de patients infectés est de 19% (N = 784) et de 48,3% pour les brûlés sur plus de 30% (N = 120). L'incidence globale des infection est de 32,7%. La densité d'incidence de patients infectés est de 1,7 épisodes / 100 jours-patient et la densité d'incidence des infections est de 2,0 épisodes / 100 jours-patient. Les sites infectées sont par ordre décroissant de fréquence : brûlure (32%), poumons (32%), urines (17%) et bactériémies (14,6%). Plusieurs sites sont concernés dans 14,6% des cas. Les principaux agents pathogènes sont Gram négatifs (72%), les Gram positifs représentant 55%. Parmi les premiers on retrouve : *Pseudomonas aeruginosa* (28%), *Proteus* (18%), *E.coli* (16%), *Serratia* (11%), *Klebsielle* (4%). Parmi les Gram positifs : *Staphylococcus aureus* (32%) et *Entérocoques* (9%). Les levures représentent environ 5%. Concernant les résistances 27% des germes ont un profil multi-résistant. En analyse multivariée, les facteurs reliés à la mortalité sont : le % de surface brûlée, le % de surface brûlée profonde, les scores ABSI et de Baux.

Conclusion : Les infections acquises en centre de brûlés sont fréquentes et souvent multiples pour un même patient. La brûlure est l'un des sites principaux avec les poumons et les germes retrouvés sont fréquemment multi-résistants

299/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Surveillance microbiologique des cornées conservées au sein de la banque de cornées des Hospices Civils de Lyon dans la période de janvier 2003 à juillet 2008

O. Dumitrescu[2], C. Auxenfans[1], N. Builles[1], P. Pascal[1], O. Damour[1], M.E. Reverdy[2]
[1]Banque de cornées, Hôpital E.Herriot [2]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Objectif : Les obligations en matière de sécurité sanitaire imposées par les dispositions législatives font des centres de conservation de cornée des éléments à part entière de la transplantation cornéenne. L'objectif de ce travail est de présenter le bilan d'activité janvier 2003 – juillet 2008 concernant la surveillance microbiologique de cornées conservées au sein de la banque de cornées des Hospices Civils de Lyon.

Matériel : Depuis 2003, le centre de conservation de cornée de Lyon reçoit des liquides de conservations provenant de plusieurs départements : Ain, Allier, Rhône-Alpes, Yonne et les départements de l'Outre-Mer. Les liquides de conservation sont réceptionnés directement en flacons d'hémoculture et sont incubés pendant 10 jours dans l'automate BactAlert. En cas de positivité, les flacons sont ensemencés afin d'identifier le micro-organisme contaminant. Les taux de contamination ont été analysés selon le type de micro-organisme et le

département d'origine et comparés aux moyennes nationales.

Résultats : Le nombre de liquide de conservation de cornées reçus variait selon l'année de 452 à 620. Le taux de contamination a baissé progressivement de 2003 (8,6%) à 2007 (2,7%), de plus, les taux de contamination observés dans notre centre étaient globalement inférieurs aux moyennes nationales. L'analyse par germe a révélé que les bacilles à Gram négatif non-fermentants représentent la cause majeure de contamination (69,6% à Lyon et 50% au niveau national), contrairement aux Staphylocoques à coagulase négative (4,2% à Lyon et 22% au niveau national). Concernant l'analyse par département, les départements de l'Outre-Mer étaient affectés par le taux le plus important de contamination.

Conclusion : Le bilan d'activité présenté permet une évaluation des pratiques et montrent que au niveau de départements drainés par le centre de conservation de Lyon, la contamination la plus importante se produit lors du prélèvement (par de germes de l'environnement) et non pas lors de la préparation (taux bas de staphylocoques à coagulase négative). Concernant les départements d'origine, il n'a pas été observé de disparité, à l'exception des départements de l'Outre-Mer, dont l'important taux de contamination a conduit à la suspension temporaire de son activité.

300/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Etude microbiologique des liquides de conservation de rein (LTR) de 556 patients transplantés en 2007 dans 6 hôpitaux d'Ile-de-France

A. Felten[5], N. Fortineau[1], P. Honderlick[2], O. Join-Lambert[4], C. Lacroix[5], P. Legrand[3], S. Vimont[6], Groupe d'étude des liquides de conservation de rein d'Ile-de-France

[1]Hôpital de Bicêtre [2]Hôpital Foch [3]Hôpital Henri Mondor [4]Hôpital Necker [5]Hôpital Saint Louis [6]Hôpital Tenon, France

Chaque rein de donneur est conservé réfrigéré en liquide de conservation pendant 20 h au maximum et la stérilité du LTR est contrôlée avant la greffe.

Objectif : Comparer les techniques d'analyse bactériologique et mycologique des LTR de six hôpitaux d'Ile de France, et analyser les résultats des cultures dans la perspective d'une standardisation des techniques bactériologiques.

Méthodes : Elles varient entre centres: volume de LTR de 100 ul à 100 ml, durée d'incubation de 2 à 8 j pour les bactéries et de 5 j à 3 s pour les champignons. Cette étude rétrospective se limite à l'analyse globale des résultats des cultures positives (LTR+) des 6 centres en 2007, et à la comparaison des résultats des LTR+ des 2 reins d'un même donneur.

Résultats : Sur 556 greffes de rein dont 548 LTR ont été analysés, le nombre de cultures positives (LTR+) est de 124 (23%), variant entre 54% dans le centre qui met le LTR en flacons d'hémoculture[3], 36% dans le centre qui filtre 100 ml de LTR[6], et 4.5% dans le plus grand centre (185 transplants sur 556) qui met en culture 100 ul de LTR sur un seul milieu[4].

Les LTR+ sont respectivement mono- et poly-microbiens dans 83 et 41 cas. Parmi les espèces, 147 sont des bactéries (91%) et 14 des champignons (9%, 7 fois associés à des bactéries). Parmi les bactéries identifiées, 45% sont potentiellement pathogènes - entérobactéries, bacilles gram négatif aérobie strict, *Staphylococcus aureus*, voire enterocoques -, tandis que 35% sont des staphylocoques à coagulase négative (35%).

Quarante deux LTR+ proviennent des reins droit et gauche des mêmes donneurs, 16 analysés dans le même centre et 26 dans des centres différents. Les résultats des 2 LTR sont identiques dans 20 cas dont 8 à *E.coli* et 2 à *Candida*, sont partiellement concordants dans 18 cas dont 12 poly-microbiens avec plusieurs bactéries potentiellement pathogènes, et sont discordants dans 4 cas.

Conclusion : Malgré la diversité des techniques, la cohérence des résultats entre centres est acceptable. L'analyse bactériologique d'un échantillon de LTR de petit volume sur milieu de gélose au sang nous paraît adaptée au contexte du LTR. L'étude prospective des conséquences des LTR+ sur le suivi des patients est nécessaire pour confirmer cette option.

301/63A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Résultats 2007 de l'Observatoire Régional du Pneumocoque Alsace

G. Camdessoucens-Miehe[12], V. Murbach[7], P. Barrand[8], A. Boulenc[8], D. De Briel[1], J.M. Delarbre[3], J.L. Flipo[6], C. Gherardi[9], I. Grawey[1], T. Gueudet[11], A. Heidt[2], V. Herzig[8], F. Jehl[7], V. Lantz[10], C. Lemble[5], I. Mahoudeau[11], P. Pierrot[9], C. Rieder Monsch[11], F. Tytgat[4], A. Gravet[12]

[1]CH de Colmar [2]CH de Haguenau [3]CH de Mulhouse [4]CH de Saverne [5]CH de Sélestat [6]CH de Wissembourg [7]CHRU de Strasbourg - Laboratoire de Bactériologie [8]LABM Colmar [9]LABM Mulhouse [10]LABM Soultz [11]LABM Strasbourg [12]Centre Coordinateur ORP Alsace - Laboratoire de Microbiologie, CH de Mulhouse, Mulhouse, France

L'observatoire Régional du Pneumocoque Alsace participe au réseau de surveillance de l'évolution de la résistance aux antibiotiques des souches de pneumocoques et des sérotypes en partenariat avec le Centre National de Référence des Pneumocoques et l'Institut de veille sanitaire. Les laboratoires participants envoient les souches invasives de pneumocoques au laboratoire coordinateur qui effectue les concentrations minimales inhibitrices de la pénicilline G, de l'amoxicilline et du cefotaxime par la méthode de dilution en milieu gélosé, interprétées selon les recommandations du CA-SFM. Les sérotypes sont déterminés par l'agglutination de latex sensibilisés (Laboratoire du CHU de Limoges). Entre le 1er janvier et le 31 décembre 2007 les 17 laboratoires participant au réseau ont collecté 176 souches non redondantes de Streptococcus pneumoniae. Les souches ont été isolées de 146 hémocultures, de 6 liquides céphalo-rachidiens, de 18 pus d'otites moyennes aiguës (OMA) et de 6 liquides pleuraux chez 150 adultes et 26 enfants. Le pourcentage de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G (PSDP) est de 29,0% (51/176). Il était de 35,1% en 2005 (206 souches collectées), 42,9% en 2003 (191 souches collectées). Le pourcentage de PSDP isolés d'hémocultures est de 26,0% (38/146) contre 31,1% (47/151) en 2005 et 40,0% (50/125) en 2003. Le pourcentage PSDP isolés d'OMA est de 44,4% versus 47,4% en 2005, mais l'effectif passe de 38 à 18 souches incluses. Cinq souches (2,8%) sont résistantes à la pénicilline G, 2 (1,1%) à l'amoxicilline, aucune au céfotaxime (0%). La résistance en 2007 (versus 2005) est de 35,2% (36,9%) pour l'érythromycine, 25,6% (22,3%) pour la tétracycline, 40,9% (33,6%) pour le cotrimoxazole, 5,7% (4,2%) pour la fosfomycine, 0% (0%) pour la rifampicine et la vancomycine. Les sérotypes observés sont par ordre de fréquence : 19, 6, 14, 1 et 23 (33, 13, 13, 11 et 9 souches respectivement), 68 souches (38,6%) ne sont pas agglutinables avec les panels utilisés, il s'agit de souches sensibles à la pénicilline (64/68). En conclusion, la diminution du pourcentage des PSDP observée en 2005 se confirme, les souches de haut niveau de résistance sont rares. Les pourcentages de PSDP observés en Alsace demeurent parmi les plus bas au niveau national.

302/64A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Caractérisation moléculaire des souches de *S. aureus* isolées de surinfections de varicelle en France

O. Raulin, G. Durand, M. Croze, M. Bes, H. Meugnier, F. Vandenesch, G. Lina, F. Laurent, J. Etienne

Université de Lyon, Centre National de Référence des Staphylocoques, Inserm U851, Centre de Biologie Est et Centre de Biologie Nord des Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

La varicelle, traditionnellement considérée comme une pathologie bénigne de l'enfance, peut être à l'origine de complications pouvant aller jusqu'au décès. On considère que 4 à 9% des varicelles sont suivies de complications, les plus fréquentes étant des surinfections bactériennes (31 à 70%), et plus particulièrement des surinfections de la peau et des tissus mous (20 à 50% de l'ensemble des complications). Les deux bactéries les plus fréquemment en cause sont *Streptococcus pyogenes* et *Staphylococcus aureus*.

Le but de cette étude a été d'étudier l'habillage toxinique de 60 souches de *S. aureus* isolées de surinfections de varicelle reçues par le Centre National de référence des Staphylocoques entre 2002 et 2007 et de le confronter à l'expression clinique. Le profil toxinique (*eta, etb, tst, pvl, sea-c, seh, sek-m, seo, hlb, luk*M) a été déterminé par PCR et complété par la détermination de l'allèle *agr*, la recherche du gène *mecA* et pour certaines souches la détermination du *spa* type.

Les résultats montrent une incidence globale élevée (n= 18, 30%) des SARM avec une majorité de souches (67%, n=12) appartenant au clone Géraldine (SARM, *agr*2, tst+). Une toxine majeure a été identifiée chez 55% des souches (ETA et/ou ETB 18%, PVL 8%, TSST-1 28%). La symptomatologie clinique corroborait l'habillage toxinique des souches impliquées : la présence d'*eta* et *etb* était associée à un impétigo bulleux ou un SSSS (staphylococcal scalded-skin syndrome ou maladie exfoliante généralisée) alors qu'en présence de la leucocidine de Panton et Valentine des abcès cutanés étaient observés. En revanche, lorsque la toxine TSST-1 était présente, la traduction clinique était plus variable allant de la fièvre scarlatiniforme à des symptomatologies suppuratives. En l'absence de toxine majeure, les formes cliniques apparaissent extrêmement polymorphes.

303/64A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Molecular and biological characterization of *Salmonella enterica* serovar Paratyphi B dT$^+$, or *Salmonella* Java human isolates

L. Majtánová[2], T. Majtán[1], V. Majtán[2]

[1]Institute of Molecular Biology, SAS [2]Slovak Medical University, Bratislava, Slovaquie

Purpose of the study: At present, *Salmonella* Paratyphi B dT$^+$ (or *Salmonella* Java) presents an emerging problem of public health. The aim of this study was to characterize 13 isolates from sporadic human cases of gastroenteritis by determination of their phenotypic and genotypic properties.

Methods: The *S.* Paratyphi B dT$^+$ strains were phage typed according to the method of Anderson (1964) and the susceptibility to 11 antibiotics was determined by disk diffusion method (CSLI). All the strains were investigated for the selected virulence factors – bacterial adherence to hydrocarbon (Rosenberg et al., 1980), motility (Braga et al., 1995) and biofilm formation (Stepanovic et al., 2003,2004). The isolates were further analyzed by plasmid profiling, pulsed-field gel electrophoresis and PCR-based detection of class 1 integrons.

Results obtained: The studied strains belonged to different phage types with predominance of 3aI or 3aI variant phage types (61.5%). The multidrug resistance only of two strains was found (ASSuNA, SsuNA), other strains were resistant only to streptomycin and sulfizoxazole (SSu). Except of one isolate (2/08), the isolates were characterized of low hydrophobicity of cell surface and 5 isolates displayed motility ≥ 50 mm after 6 h incubation in semisolid agar medium. Five isolates were strongly adherent and formed expressive biofilm. The plasmid profiling analysis showed the presence of 90-kb plasmid in 8 isolates. Analysis of PFGE using *Xba*I revealed 6 DNA profiles (X1, X2, X2a,

X3, X4, X5). The presence of class I integrons was did not found.

Conclusion: Although the set of studied strains of *S.* Paratyphi B dT$^+$ (*S.* Java) was small, remarkable is emerging and gradual growth of this serovar in human population in Slovakia. The results of PFGE analysis indicated their clonal diversity. For the reason of possible increase of resistance to antibiotics as well as the clonal spreading of these strains, the continual monitoring of their occurrence is necessary.

This work was supported by Ministry of Health of the Slovak Republic under the project *Molecular analysis of antibiotic resistance of nontyphoid salmonella serovars*.

304/64A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Virulence factors in uropathogenic *Eschericha coli* producing CTX-M -1 group extended spectrum Bêta-lactamase at Charles Nicolle Hospital of Tunis,Tunisia

S. Ferjani, M. Saidani, K. Mamlouk, S. Ben Redjeb
Laboratoire de recherche "résistance aux antibiotiques", Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie

Objectives: The emergence of virulent uropathogenic *E.coli* clones producing extended spectrum beta-lactamase (ESBL) such as CTX-M enzymes has been reported. These clones are now spreading worldwide, even in community.

The objective of this work is to examine virulence factors, phylogentic group and CTX –M group ESBL in uropathogenic *E.coli* isolates

Methods: Between 2006 and 2008, 200 *E.coli* strains were collected from urinary tract infections. They were identified by conventional procedures and their antibiotic susceptibilities were performed by disk diffusion method on Mueller Hinton agar according to CLSI guidelines. ESBL detection was done by the double-disk synergy test. The virulence factors, phylogenetic groups and CTX-M group were determined by PCR.

Results: Thirty-one strains were ESBL positive, 25 of them were isolated from cystitis and 6 from pyelonephritis. They were resistant to nalidixic acid (77.4%), ciprofloxacin (77.4%), amikacin (45.2%), gentamicin (83.9%), tetracyclines (80.6%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (29%) and susceptible to colistin and imipenem. All the strains belonged to CTX-M-1 group. Phylogenetic group frequencies were B2 (64.5%), A (19.3%), D (9.7%) and B1 (6.5%). The proportions of virulence factors were *papG* allele II (16,1%), *sfa/foc* (9,7%), *fim*H (90,3%), *hyl*A (16,1%), *cnf1* (12,9%), *sat* (48,4%), *fyu*A (77,4%), *iut*A (77,4%), *iroN* (12,9%), *iha* (64,5%), *kpsMT*II (61,3%), *tra*T (83,9%), *usp* (64,5%), *pai* (74,2%) and *omp*T (58,1%). No strains harbored the *papG* allele I, *papG* allele III and *afa/dra*. Strains virulence score median was 9 ranging from 1 to14.

Conculsions: These preliminary data confirm that most CTX-M-1 group ESBL producing *E.coli* belonged to B2 virulent group. However, our study should be completed by clonality and CTX-M type determination to better characterise these strains.

305/64A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation du potentiel de virulence *in vitro* et *in vivo* de souches d'*Escherichia coli* uropathogènes isolées au cours de bactériuries asymptomatiques, cystites, pyélonéphrites chez des femmes enceintes : comparaison avec des souches isolées au cours du choc septique

J.P. Lavigne[3], D. Laouini[3], N. Bouziges[3-1], A. Gouby[1], P. Marès[2], A. Sotto[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service de Gynécologie-Obstétrique, CHU de Carémeau [3]Inserm, Espri 26, Nîmes, France

Objet de l'étude : Très peu d'études ont évalué le potentiel de virulence des souches isolées au cours d'infections urinaires chez les femmes enceintes. Le but de l'étude était de comparer le potentiel de virulence de souches d'*Escherichia coli* isolées au cours de bactériuries asymptomatiques (BA), de cystites (C) et de pyélonéphrites (PN) chez des femmes enceintes avec des souches isolées de choc septique (CS).

Méthodes : Des femmes enceintes ayant une BA, C ou PN à *E.coli* ont été incluses prospectivement du 1/01/2007 au 31/12/2007 dans le service de gynécologie du CHU de Nîmes. Pour chaque inclusion de C ou PN, une souche d'*E.coli* isolée chez un patient en choc septique (d'origine urinaire) a été retenue. Pour chaque souche, le potentiel de virulence a été analysé *in vitro* (PCR simple ou multiplex pour identification de 18 gènes de virulence) et *in vivo* (modèle de nématodes *C. elegans* avec établissement de courbes de survie). L'origine et la clonalité des souches ont été déterminées par groupage phylogénétique (PCR), sérotypage (PCR) et électrophorèse en champ pulsé (ECP).

Résultats : 31 souches de BA, 23 de C, 11 de PN et 34 de CS ont été étudiées. Le profil *in vitro* de virulence des souches isolées de BA étaient similaires à celui des C mais différent des PN (*papGIII*, *cnf1*, *kpsMTK1* marqueurs de C et *papGII* et *papC* marqueurs de PN) et surtout des CS (*papA*, *focG*, *afa*, *fimH, hlyA, kpsMTK1, malX*) (p<0,001). L'origine génétique des souches a confirmé que les souches isolées de BA étaient réparties de façon similaire à celles isolées de C (phylotype B2 et sérotype O:157 prédominants) mais aucun clone n'a été objectivé par ECP. Par contre l'origine des souches de CS était très différent (phylotypes D et B1 prédominants). L'étude *in vivo* a démontré que les souches isolées au cours de BA avaient le même potentiel de virulence que les souches isolées de C (DL50 3,6 j ±0,4 (BA) vs 3,1 j ±0,1 (C) (p=non significatif)).

Conclusion : Notre étude suggère que les souches isolées de BA ont le même potentiel de virulence que les souches responsables de C. Cela confirme la nécessité de traiter toutes les BA. Les souches responsables de PN et de CS semblent avoir une 'signature génétique' particulière pour ces infections avec des marqueurs de virulence et des origines génétiques différentes.

306/64A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Phage types and virulence markers of *Salmonella typhimurium* human isolates from Slovakia

V. Majtán, J. Majtán, L. Majtánová, A. Ofukaná
Slovak Medical University, Bratislava, Slovaquie

Purpose of the study: Non-typhopidal *Salmonella* are one of the most important organisms causing food-borne diseases worldwide. *S.* Typhimurium is the second most prevalent serovar (Enteritidis ranked first) in Europe during the last period. The aim of this study was to determine the phage type of 536 *S.* Typhimurium human strains isolated during 1997 – 2006 from apparently sporadic cases and to investigate of their selected virulence factors.

Methods: Phage typing was performed using 36 typing phages according to Anderson et al. (1977). Cell-surface hydrophobicity was assesed using bacterial adherence to hydrocarbon – xylene according to Rosenberg et al., (1980). Motility of strains was determined in semisolid agar medium after 6 h of incubation (Braga et al., 1995) and the biofilm production was investigated using a plastic tissue culture microtiter plates. The optical density was measured at 570nm on automated microtitre plate reader.

Results obtained: Among 536 isolates 32 definitive phage types (DTs) were identified. The predominant phage types were DT104 (24.3%) and DT20a (16%). Other epidemiologically significant phage types were DT120 (7.1%), U302 (4.9%), DT41 (4.3%) and DT193 (2.6%). The one hundred and sixteen isolates (21.6%) were untypable (UT) and 49 strains (9.1%) reacted with typing phages but did not conform to designated phage types (RDNC). On the basis of virulence markers investigation, 38.8% of isolates were hydrophobic and exhibited positive adherence to xylene. Motility more than 50mm was expressed by 70.1% isolates and 85.6% isolates formed biofilm. Clear correlation among phage types and particular virulence marker was not found. However, the strains of dominant phage types, mainly DT104 and DT20a decisively exhibited positive results.

Conclusion: The results from study of selected virulence markers of 536 *S.* Typhimurium strains suggested their pathogenic potential. Although the phage type of strains was did not the criterion of virulence, the DT104 strains were strong positive in all virulence markers tests.

This work was supported by Ministry of Health of the Slovak Republic under the project *Molecular analysis of antibiotic resistance of nontyphoid salmonella serovars.*

307/64A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

A new genus of the order *Actinomycetales*, *Hoyosia* gen. nov., with description of *Hoyosia altamirensis* sp. nov., isolated from Altamira Cave, Cantabria, Spain

V. Jurado[2], R. Kroppenstedt[1], C. Saiz-Jimenez[2], H.P. Klenk[1], D. Mouniée[3], L. Laiz[2], A. Couble[3], P. Boiron[3], V. Rodriguez-Nava[3]
[1]Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Allemagne [2]CSIC, Instituto de Recursos Naturales y Agrobiologia, Sevilla, Espagne [3]UMR CNRS 5557, Center for Microbial Ecology- French Observatory for Nocardiosis, Faculté de Pharmacie, Université Claude Bernard Lyon I, Lyon, France

A novel actinomycete, strain S31^T, was isolated from a complex biofilm in the Altamira Cave, Spain. A polyphasic study was carried out to clarify the taxonomic position of this strain.

The phylogenetic analysis with the sequences of representatives of the genera *Corynebacterium, Dietzia, Gordonia, Millisia, Mycobacterium, Nocardia, Parvopolyspora, Rhodococcus, Segniliparus, Skermania, Tsukamurella,* and *Williamsia* indicated that strain OFN S31^T formed a distinct taxon in 16S rRNA gene tree that was more closely associated to *Mycobacterium* clade. The type strain *Mycobacterium fallax* was the most related species to the strain OFN S31^T (95.7% similarity). The cell wall contained meso-diaminopimelic acid, arabinose and galactose, which are characteristic components of cell-wall chemotype IV of actinomycetes.

Strain S31^T is characterized by the absence of mycelia and mycolic acids. The absent of mycolic acids related this strain with *Corynebacterium amycolatum*, *Corynebacterium kroppenstedii* and *Turicella otitidis*. This Strain OFN S31^T revealed MK8 as major menaquinone this result distinguished this strain from *M. fallax*, *C. amycolatum* and *T. otitidis* and related with *C. kroppenstedii* in which MK8 was the major menaquinone.

Based on morphological, chemotaxonomic, phenotypic and genetic characteristics, strain OFN S31^T is considered to represent a novel species of a new genus classed in a new family. The results showed that it should be assigned as a member of the family *Hoyosiaceae* in a new genus, *Hoyosia*, as *Hoyosia altamirensis* gen. nov., .sp. nov. The type strain *H. altamirensis* is strain S31^T.

308/64A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Retrospective review of clinical strains of *Nocardia* isolated in the 1940-1970 period, and first report of infection by *Nocardia* wallacei in Mexico

K. Sanchez-Herrera[3-1], A. Couble[1], D. Mouniée[1], H. Sandoval[3], F. Laurent[1], N. Ramírez-Durán[1], M. Uzcategui[5], J.A. Serrano[5], R. Arenas[2], C. Collazo[4], P. Boiron[1], V. Rodriguez-Nava[1]
[1]Université Claude Bernard, Lyon 1, UMR CNRS 5557, Observatoire Français des Nocardioses, Faculté de Pharmacie, Lyon, France [2]Hospital General Dr. Manuel Gea González SSA, Departamento de Dermatología [3]Universidad Autónoma Metropolitana-Xochimilco, Departamento de Sistemas Biológicos [4]Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (INDRE), Mexico, Mexique [5]Universidad de Los Andes, Departamento de Patología, Facultad de Medicina, Merida, Venezuela

Introduction: *Nocardia* are ubiquitous, soil saprophytes microorganisms. They produce a cutaneous-subcutaneous chronic infection known as Mycetoma. According to López-Martínez, *et al.* (2006) Mexico is the country in America that has the biggest number of clinical cases of Mycetoma being *N.brasiliensis* the most common etiologic agent, followed by *N.asteroides* and *N.otitidiscaviarum*. The taxonomy field is in constant evolution and new strains are added everyday. For this reason the aim of this study is to assess 22 clinical isolates and to determinate possible differences in antimicrobial susceptibility between different strains obtained in its major part since the 40's to the 70's.

Materials and méthods: Clinical strains were isolated from Hospital General Dr. Manuel Gea González and Instituto de Diagnóstico y Referencia Epidemiológica (INDRE) in Mexico. All patients presented the clinical form of Mycetoma, almost all of them were in lower limbs and trunk and a few of them in upper limbs, the most recent strain was isolated from a patient presenting AIDS (year 2007). The isolates were identified by using 16S rRNA gene sequencing and phenotipically on traditional biochemical tests and Biolog® system, their antibiotic susceptibility was tested according to the protocol of the Comité de l´Antibiogramme de la Societé Française de Microbiologie (CA-SFM).

Results: From our strains formerly identified as *N.brasiliensis* we identified two genera of Actinomycetes: *Rhodococcus* (N=3) identified as *R. rhodochrorus* (99.82% 16S gene similarity) and *Nocardia* (N=19) identified in species as: *N. brasiliensis* (N=7, 99.86%), *N. farcinica* (N=11, 99.98%) and *N.wallacei* (N=1, 99.79%). Slight differences were found in the antibiotics susceptibility regarding to the OFN reports. For example, our strains were susceptible to vancomycin, amoxicillin and trimetoprim/sulfametoxazol. The antibiotic susceptibility pattern for the strain identified as *N. walllacei* showed to be similar to that one published by Conville, *et al*. (2008) except to amikacin. Phenotypical results showed that the strains identified as *N.farcinica* and *N. brasiliensis* presented an intraspecies variability.

Conclusion: New methodology and recent taxonomy allow us identify *N.farcinica* as the new etiologic agent of Actinomycetoma in Mexico and for the first time a clinical case of *N. wallacei* is reported.

309/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Identification des *Staphylococcus* par spectrométrie de masse avec le système MALDI BioTyper™

D. Dubois[1], D. Leyssene[1], J.P. Chacornac[2], R. Talon[2], R. Bonnet[1], J. Delmas[1]
[1]Bactériologie, UFR de Médecine, Clermont-Ferrand [2]Microbiologie, INRA, Clermont-Theix, France

Introduction : Les méthodes d'identification phénotypique traditionnelles ou génotypique des staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont respectivement imprécises ou chronophages et onéreuses. L'identification des SCN reste néanmoins primordiale en médecine pour établir leur rôle comme agent infectieux et en agroalimentaire pour caractériser les flores d'intérêt technologique. Nous avons évalué les performances du système MALDI BioTyper™ (Bruker Daltonics) basé sur la spectrométrie de masse de type MALDI-TOF pour identifier les espèces du genre *Staphylococcus* d'importance médicale et agroalimentaire.

Méthodes : 152 souches de *Staphylococcus* (60 isolats cliniques et 92 isolats d'origine agroalimentaire) préalablement identifiées par analyse génomique (« Staph array » basée sur le gène *sodA*) et représentant 22 espèces ont été utilisées. L'extraction des protéines par action d'acide formique et d'acétonitrile a été réalisée à partir de quelques colonies isolées, obtenues après une nuit d'incubation à 37°C en aérobiose sur gélose Columbia au sang. Après avoir été recouvert d'une matrice d'analyse (acide-cyano-4-hydroxy-cinnamique), chaque extrait a été traité par le spectromètre de masse Ultraflex III MALDI-TOF/TOF. Les spectres générés ont été analysés de manière automatisée par le logiciel MALDI BioTyper™ 1.1 sur une gamme de 2 000 à 20 000 Da, puis comparés aux spectres des 3 030 micro-organismes présents dans la base de données du BioTyper™. Celle-ci comprenait 124 souches de staphylocoques, incluant 37 des 40 espèces actuellement décrites.

Résultats : 151 souches sur 152 (99,3%) ont été correctement identifiées au niveau de l'espèce. Une souche clinique de *S. saprophyticus* n'a été identifiée qu'au niveau du genre. En outre, cette méthode ne nécessite aucun test d'orientation préalable tels que la coloration de Gram ou le test de la catalase.

Conclusion : Le système MALDI BioTyper™ se révèle être un outil très fiable pour l'identification des espèces de *Staphylococcus*. La simplicité et la rapidité de préparation et d'analyse des échantillons associées au faible coût en consommables de cette méthode, en font un outil très bien adapté à une utilisation quotidienne et intensive dans les laboratoires de biologie médicale et agroalimentaires.

310/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Identification des staphylocoques par amplification : séquençage du gène *tuf*

M. Bergeron, M. Bes, C. Gardon, C. Courtier, H. Meugnier, Y. Benito, J. Etienne, G. Lina, F. Vandenesch, S. Boisset
Centre de Biologie et de Pathologie Est, Laboratoire de Bactériologie, Centre National de Référence des Staphylocoques (CNR), Inserm U851, Lyon, France

Le genre *Staphylococcus* regroupe actuellement 40 espèces et 21 sous-espèces. L'identification au niveau de l'espèce est un pré-requis pour adapter la prise en charge thérapeutique.

Le faible pouvoir discriminant des méthodes d'identification biochimiques conduit à utiliser des techniques moléculaires parmi lesquelles le séquençage de l'ADNr 16S n'est pas totalement satisfaisant. Les gènes *tuf* (facteur d'élongation) et *gap* (glycéraldehyde-3-phosphate déshydrogénase), en raison d'un polymorphisme de séquence important sont de bons candidats pour une indentification par amplification – séquençage.

Objectif : développer un outil moléculaire permettant l'identification rapide et exhaustive de toutes les espèces de staphylocoques.

Méthode : (1) évaluer la capacité d'identification par séquençage des gènes *tuf* et *gap* chez 47 souches type. (2) Valider, sur une collection de 186 souches, une méthode utilisable en routine au CNR (Centre National de Référence), en comparant l'identification par séquençage du gène *tuf* aux méthodes actuellement utilisées (galerie ID 32 STAPH (bioMérieux^R SA) couplée à des tests biochimiques ou moléculaires complémentaires).

Résultats : L'analyse des séquences (arbres phylogénétiques) montre que le gène *gap* présente un meilleur pouvoir discriminant que le gène *tuf* et permet d'identifier tous les staphylocoques au niveau de l'espèce alors que le gène *tuf* ne permet pas de différencier *S. delphini* et *S. pseudintermedius*. Cependant, des raisons techniques (échecs d'amplification, longueur de séquence) nous ont conduit à préférer le gène *tuf* pour la mise au point de notre méthode.

Pour les 186 souches de staphylocoques initialement identifiées par le CNR, le séquençage du gène *tuf* donne une identification concordante avec l'identification du CNR dans 98,9% des cas et une discordance pour 2 souches. En comparaison, l'identification obtenue par galerie ID 32 STAPH concorde avec celle de *tuf* pour seulement 108 souches (58,1%), 10 (5,37%) sont identifiées de manière insatisfaisante (profil douteux), et 68 (36,6%) sont mal ou non identifiées.

Conclusion : le séquençage du gène *tuf* permet une excellente identification des espèces de staphylocoques. Cette méthode rapide et spécifique remplace désormais les multiples tests jusqu'alors utilisés par le CNR.

311/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Molecular identification of clinical coagulase-negative staphylococci other than *S. epidermidis* isolated from neutropenic patients

O. Bouchami[2], M. Miragaia[1], D.C. Oliveira[1], W. Achour[2], H. De Lencastre[1], A. Ben Hassen[2]
[1]Molecular Genetics Laboratory, Instituto de Technologica Quimica e Biologica da Universidade Nova de Lisboa, Oeiras, Portugal [2]Service des laboratoires, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis, Tunisie

Objectives: The emergence of coagulase-negative staphylococci (CNS) as reservoir of antibiotic resistance determinants requires the development of methods for their rapid and reliable identification. The aim of this study was to identify methicillin-resistant CNS (MRCNS) other than *S. epidermidis* to the species level, using a commercial identification kit (API ID32 STAPH) and 16S-23S rRNA intergenic spacer length polymorphism analysis (ITS-PCR), a PCR based method.

Methods: A total of 112 MRCNS other than *S. epidermidis* isolates were recovered from various clinical specimens of neutropenic patients at the bone marrow transplant center of Tunisia during 2002-2004. All isolates were tested in our laboratory for Gram, catalase, mannitol fermentation and were identified by API ID32 STAPH system (bioMérieux). Molecular identification was performed by ITS-PCR. The ITS-PCR results were compared by those of the conventional identification.

Results: The 112 isolates tested were identified by API ID32 STAPH system and included nine species. Species identification was redetermined by ITS-PCR, and 26 (23%) discrepancies were found between molecular identification results and those provide by API system. Most (16 strains) of these discrepancies occurred with *S. epidermidis* strains that were misidentified by API ID32 STAPH as *S. hominis* (9), *S. haemolyticus* (4) and *S. warneri* (3). Only, four isolates: *S. capitis* (1), *S. haemolyticus* (2), *S. saprophyticus* (1) could not be identified by ITS-PCR. The agreement of the API ID32 STAPH system and ITS-PCR was 77%. Whatever the used identification method, *S. haemolyticus* and *S. hominis* remain the predominant species among our CNS other than *S. epidermidis* collection. API system was used in most clinical laboratories to identify CNS. However, this diagnostic system appears not to be able to make reliable distinction between the different species of CNS because of the variable expression of phenotypic characters.

Conclusion: The results from this study indicate that ITS-PCR is a potentially useful and reliable tool, enabling hospital laboratories to obtain full and accurate identification of CNS at the species level.

312/65A 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation of the new chromogenic medium StrepB select for screening of group B *Streptococcus* in pregnant women

A. Tazi, A. Doloy, M.E. Hemet, J. Raymond, C. Poyart
Bacteriologie, CNR des Streptocoques, Hôpital Cochin-Saint Vincent de Paul, Université Paris Descartes, Paris, France

Objectives: To compare and evaluate the new chromogenic StrepB SelectTM (BioRad) medium to the GranadaTM (bioMérieux) and Columbia horse blood agar plates (CH-BAP) for screening of Group B streptococcus vaginal colonization in pregnant women.

Methods: 190 vaginal swabs were processed and the three media inoculated. All plates were examined after 18-24 h incubation at 37°C and reincubated for an additional 24 h. All suspected colonies were identified as GBS by using a commercial Lancefield group-specific latex agglutination test.

Results: GBS were isolated in 32 samples (16.8%) by at least one medium. After 24h of incubation GBS were recovered on CH-BAP in 16 samples (50%) compared to 28 (87.5%) for StrepB SelectTM, and 27 (84.5%) for Granada. After 48 h of incubation, 30 (93.7%) out of the 32 GBS vaginal carriers were positive with CH-BAP, StrepB SelectTM and Granada. Other streptococcal and enterococcal species present in the vaginal flora gave GBS-like colonies on StrepB SelectTM medium implying the use of other tests to confirm GBS identification. We demonstrated that direct agglutination of GBS isolated on chromogenic medium with PASTOREX STREP B accurately identified GBS. The 2 StrepB SelectTM false negative results corresponded to a very low colonisation rate as less than two colonies were detected on Granada or CH-BAP. Two Granada false negative results corresponded to non-haemolytic and non-pigmented GBS strains which were correctly identified on StrepB SelectTM.

Conclusion: Specific GBS detection media provided a clear advantage compared to CH-BAP as the characteristics dark-blue (StrepB SelectTM) or orange (GranadaTM) GBS colonies obtained in 24 h are easily visualized and clearly apparent. Both selective media inhibit the growth of associated saprophytic flora enabling direct agglutination and antibiotic susceptibility testing without subculture. The use of the new StrepB SelectTM chromogenic medium in routine laboratories may therefore markedly facilitate the rapid and accurate detection of GBS in vaginal samples.

313/65A 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Comparaison d'un milieu chromogène et de deux milieux Granada pour la détection des streptocoques du groupe B dans les prélèvements vaginaux

C. Roure-Sobas, Y. Gille, M.E. Reverdy, C. Andonian, J. Brault, O. Raulin, H. Salord, F. Laurent, S. Tigaud
Bactériologie, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France

Objectif : Les recommandations pour la prévention des infections néonatales à streptocoques du groupe B (SGB) reposent sur la détection prénatale de la colonisation vaginale. Le but de cette étude prospective est de comparer un nouveau milieu chromogène (StreptoB select (SBS), Bio-Rad) et deux milieux Granada l'un manufacturés par bioMérieux (G-BM) et l'autre par Becton-Dickinson (G-BD), pour détecter la colonisation vaginale au huitième mois de grossesse.

Méthode : 275 échantillons vaginaux reçus pour dépistage de SGB durant une période de deux mois ont été ensemencés directement, dans un ordre randomisé, sur les trois milieux, puis incubés selon les recommandations du fabricant. Les cultures ont été observées après 24H et 48 H d'incubation.

Résultats : 45 prélèvements (16%) contenaient des SGB détectés par au moins l'une des cultures. Le milieu SBS (chromogène) détecta 44 (98%) SGB, tous à 24 h, le G-BD détecta 39 (88,6%) SGB dont 35 en 24 h, le G-BM détecta 39 (90,9%) SGB, dont 38 en 24 h.

Si l'on considère comme « Positif » les prélèvements où l'une au moins des cultures donne lieu à la pousse de SGB, on peut calculer les sensibilités à 24 et à 48 heures :

	SBS	G-BM	G-BD
24 H	0,98	0,84	0,78
48 H	0,98	0,87	0,87

Conclusion : Le milieu chromogénique a présenté une sensibilité un peu supérieure aux Granada, surtout à la 24ème heure d'incubation, mais au prix d'une dépense supplémentaire puisque toutes les souches de couleur suspecte durent être contrôlées par un sérogroupage nécessitant parfois une subculture.

314/65A 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Détection rapide par culture de *Streptococcus agalactiae* pour le dépistage périnatal

R. Lienhard, M.L. Tritten, A. Jacquet, H.H. Siegrist
Microbiologie, ADMED, La Chaux-de-Fonds, Suisse

Objectifs : Tester une méthode rapide pour la recherche de streptocoques bêta-hémolytiques du Groupe B (SGB) basée sur la détection directe de l'antigène de Lancefield B à partir d'un enrichissement dans un bouillon Todd-Hewitt, de l'écouvillon de dépistage périnatal.

Méthodes : Un total de 447 écouvillons pour la recherche de SGB sont mis en culture dans un Todd-Hewitt contenant de la colistine et de l'acide nalidixique. Après une incubation de 18 h à 35°C, 100 ml (2 gouttes) de bouillon prélevés autour de l'écouvillon sont extraits selon la procédure du kit Streptex® (Remel Inc.) avant l'agglutination pour la détection des groupes de Lancefield A, B, C, D, F et G. Simultanément chaque bouillon est repiqué sur une gélose au sang de mouton (n=447) et pour une partie d'entre eux, sur une gélose chromogène Strepto B ID® (bioMérieux) (n=168). L'agglutination est aussi utilisée pour identifier les colonies de la gélose chromogène ou bêta-hémolytiques. Les Todd-Hewitt présentant des résultats discordants sont repiqués ou analysés par PCR pour contrôle.

Résultats : Parmi les 81 bouillons présentant une agglutination directe positive pour un SGB, 80 ont été confirmés. Pour 1 bouillon positif il n'a pas été possible de mettre en évidence un SGB. Sur les 366 bouillons sans agglutination, ou positif pour un autre groupe, seul 1 repiquage a révélé des SGB sur gélose au sang de mouton et gélose chromogène (sensibilité = 98,7%, spécificité = 99,7%).

Conclusion : L'agglutination directe d'un bouillon d'enrichissement contenant l'écouvillon de dépistage donne une réponse rapide dans les 24h par une méthode sensible et spécifique pour la détection des SGB. La procédure s'intègre dans le flux des analyses d'un laboratoire de bactériologie médicale et son coût est faible.

315/65A 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Colonisation bactérienne des voies respiratoires des patients mucoviscidosiques au CHU de Nancy en 2007: intérêt d'un milieu chromogène pour la détection des *Small Colony Variants* de *Staphylococccus aureus*

A. Rivier, T. Hadou, N. Aïssa, A. Lozniewski
Laboratoire de Bactériologie, CHU de Nancy, Nancy, France

Objectifs : Etudier la flore bactérienne respiratoire chez les patients mucoviscidosiques suivis au Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) de Nancy en 2007 et évaluer l'intérêt du milieu chromogène SAID (bioMérieux) pour la détection des Small Colony Variants de Staphylococccus aureus (SCV-SA) en routine.

Méthodes : Nous avons réalisé une étude rétrospective des données bactériologiques obtenues après analyse des prélèvements respiratoires (n = 917) effectués chez 227 patients du CRCM de Nancy en 2007. De plus, une étude comparant les performances de 2 milieux (gélose Columbia ANC additionnée de 5% de sang mouton et gélose SAID) pour la détection des SCV-SA a été effectuée sur 122 prélèvements consécutifs obtenus chez 108 patients.

Résultats : 1184 souches bactériennes ont été isolées dont 29,3% de Pseudomonas aeruginosa (53% de souches mucoïdes), 28,9% de Hæmophilus spp., 26,5% de S. aureus (2.9% de SCV-SA), 2,6%, de souches appartenant au complexe Burkholderia cepacia, 1,6% de Achromobacter xylosoxidans, 1,4% de Stenotrophomonas maltophilia, 0,9% d'autres bacilles à Gram négatif non fermentaires et 8,7% de bactéries appartenant à d'autres espèces. Parmi les souches de P.aeruginosa, 55% étaient résistantes à la ceftazidime, 57% à l'imipénème et 30,7% à la tobramycine. Pour S. aureus, 17% des souches étaient résistantes à la méticilline, 25% aux fluoroquinolones, 19,3% à la rifampicine, 18% à l'acide fusidique, 2,2% à la gentamicine, 2,2% à la pristinamycine, 0,7% au cotrimoxazole et 0,7% à la minocycline. La présence de SCV-SA a été détectée chez cinq patients à l'aide de la gélose SAID et chez un seul d'entre eux à l'aide de la gélose Columbia ANC.

Conclusion : Par rapport à des données antérieures (CRCM Nancy 1997), nous avons observé une relative stabilité de la fréquence d'isolement des principaux micro-organismes habituellement isolés chez les patients mucoviscidosiques (P.aeruginosa, Hæmophilus spp. et S. aureus) et une diminution de celle des génomovars appartenant au complexe B. cepacia. L'utilisation du milieu SAID a permis d'augmenter la sensibilité de détection des SCV-SA.

316/65A 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

First performance verification of the automated streaking system PREVI™ isola

H. De Montclos[1], C. Fulchiron[2], D. Archeny[1], M.J. Bridon[1], G. Bossy[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Centre Hospitalier de Bourg-en-Bresse, Bourg-en-Bresse [2]RD Microbiology, Biomérieux, La-Balme-les-Grottes, France

This report presents data obtained during the first external verification study of the automatic streaking system PREVI™ isola (bioMérieux). The study was performed with beta-1 prototype. Samples to inoculate must be liquid or converted into suspensions in saline. According to the kind of specimen, the automate chooses the media to inoculate, lays down a radial inoculum onto the Petri dish, and perform circular streaking with a single-use applicator.

The objectives of the study were: 1) to check the ability of the automate to realize isolates from clinical samples, 2) to validate a previously published method for enumeration of bacteria in urine, 3) to study the impact of the time before streaking.

The quality on the automatic streaking (AS) is defined as lower, equivalent or upper to the manual streaking using two criteria: a) the isolates realized on the

AS reflect the sample's microbiological status (polymicrobial sample, presence of pathogen), b) the isolates present enough isolated colonies to allows the necessary following identifications and susceptibility tests. A total number of 368 biological samples were studied on 865 media. Lower, equivalent and upper quality of automatic streaking was respectively of 2,8%, 92,9% and 4,3%.

Urine samples were classified as positive with automated streaking when more than 30 colonies were numbered in the third quadrant of the plate. This preliminary study using 133 urine samples resulted in a 87,5% agreement.

Time before streaking might be important when laboratories process simultaneously numerous samples that may have to wait on racks before streaking. Various samples (n=163) were inoculated then allowed to sediment for up to 3 hours in the racks before streaking. 98% of plates were considered equivalent to the initial plate.

The PREVI™ isola (bioMerieux) system proved through this study to provide a regular and homogeneous streaking in accordance with usual microbiological requirements. The microbiological quality of results deserves the development of new field trials of this system.

317/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Comparaison de deux dispositifs automatiques d'analyse d'urine : l'IQ200 (IRIS) et l'UF-1000i (Biomérieux)

A. Urano, D. Trystram, V. Jarlier, A. Aubry
Service de Bactériologie-Hygiène, CHU Pitié-Salpêtrière - APHP, Paris, France

L'Objet de l'étude : était d'évaluer, en pratique de routine, deux automates de dépistage des infections urinaires, l'IQ200 et l'UF-1000i dans un laboratoire hospitalier de bactériologie. L'analyse des "corps organisés" (cellules, bactéries …) contenus dans l'urine est basée pour l'IQ200 sur un logiciel d'imagerie numérique et de reconnaissance automatique de particules (APR™) et pour l'UF-1000i sur la cytométrie de flux et un laser rouge à semi-conducteur.

Méthodes : Deux cent trente deux échantillons urinaires consécutifs ont été analysés en aveugle par méthode manuelle (numération à l'état frais des globules blancs, GB, et globules rouges, GR, et coloration de Gram) prise comme méthode de référence et les deux automates.

Résultats obtenus : La corrélation entre les numérations des GB et des GR était bonne (r>0,6) entre microscopie et automates, et excellente entre les deux automates (r>0,7). La détection des bactéries et de levures par les automates en comparaison avec la méthode de référence a aboutit aux résultats suivants exprimés en faux positifs (FP) et négatifs (FN) et en valeur prédictive négative (VPN) et positive (VPP) pour cet échantillon parmi lequel il y a avait 24% de culture positive.

	FP	FN	VPN	VPP
UF-1000i	11%	18%	95%	70%
IQ200	23%	36%	82%	48%

Conclusion : Ces résultats montrent que, si les deux automates ont des performances comparables pour la numération des GB et GR, l'UF-1000i semble plus performant que l'IQ200 pour la détection des micro-organismes. Ces résultats sont à confirmer sur un plus grand nombre d'échantillons.

318/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Comparaison des résultats de l'automate IRIS IQ 200 avec les résultats de l'examen cytologique de l'urine et évaluation des performances de l'automate pour la prédiction de l'infection urinaire

S. Ledru, J.P. Canonne
Laboratoire de Microbiologie, CH Dr Schaffner, Lens, France

Objet : Etude comparative entre les résultats d'un automate (Iris IQ Elite® 200) et la technique de référence (examen cytologique direct et culture) pour la réalisation de l'examen cytologique des urines et la prédiction de l'infection urinaire. Différents automates existent sur le marché utilisant le principe de la cytométrie de flux pour l'analyse des éléments du culot urinaire (Sysmex ™ UF-100®, UF-50® et UF 1000®). L'Iris utilise un principe novateur : l'analyse photographique de cellules passant dans un flux laminaire devant un objectif microscopique.

Méthodes : Quatre cents urines consécutives fraîchement émises ont été analysées parallèlement par nos tests de routine (numération des hématies et leucocytes, examen direct et culture sur milieu BCP, gélose Columbia supplémentée en ANC et gélose chromogène pour levures si présence de levures à l'examen direct) et sur l'automate. Un appareil photographique capture 500 champs par échantillon. Au sein de chaque champ, les images des particules sont individualisées et classées à l'aide de modèle de réseau neuronal par le logiciel Auto-Particule Recognition (APR™)

Résultats : L'incidence des cultures positives était de 30%. L'examen microscopique direct et la culture restant la méthode de référence, nous avons d'abord comparé les résultats de l'automate à ces résultats. On note une bonne corrélation entre l'examen direct réalisé sur l'IRIS IQ Elite® et l'examen direct microscopique (Sensibilité=75%, spécificité=87%, VPP=75%, VPN=87%), de même entre l'examen direct sur l'IRIS IQ Elite® et la culture (Sensibilité=68%, spécificité=80%, VPP=60%, VPN=86%). Pour améliorer la productivité du poste nous avons donc cherché les combinaisons des différents paramètres de l'IRIS IQ Elite® (numération des leucocytes, numération des petites particules, présence de bactéries et/ou levures) qui nous permettraient d'éliminer des examens directs et de prédire la négativité des cultures.

Conclusion : En combinant les différents paramètres fournis par l'automate, nous pouvons éliminer 43% des examens microscopiques directs et prédire la négativité de 32% des cultures avec une sensibilité et une valeur prédictive négative de 100%, ce qui optimise beaucoup ce poste de travail le plus important quantitativement.

319/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de l'automate de cytologie urinaire IQ200® Elite (Iris)

F. Canis, A. Courbet, E. Mazars, H. Bisiau, C. Cattoen
Laboratoire de Biologie, CH, Valenciennes, France

Objectifs : Evaluer les performances de l'analyseur automatique de microscopie urinaire IQ200 et comparer les résultats obtenus avec ceux de l'examen direct microscopique en méthode manuelle (MM) Méthodes: Les performances de l'IQ200 ont été vérifiées en étudiant la répétabilité, la reproductibilité, la linéarité, la limite de détection et le risque de contamination.

345 échantillons urinaires prélevés sur acide borique ont été analysées quotidiennement: Ensemencement sur gélose CPS3® BioMérieux, analyse par microscopie sur cellule de Kova® (méthode manuelle) selon les recommandations du Rémic 2007 puis passage sur l'analyseur IQ200. Les résultats discordants ont été recontrôlés. La détection des leucocytes et des hématies a également été réalisée par bandelette urinaire (BU).

Résultats : La répétabilité intra essai montre un coefficient de variation (CV) de 9.48% pour les hématies (GR), 8.45% pour les leucocytes (GB) et de 5.34% pour le décompte des particules. Le CV inter essai est de 5.3%. La linéarité est conservée jusque 1000 GB/µl et 900 GR/µl.

Le tableau présente les résultats de l'automate comparés à ceux de la MM considérée comme «technique de référence».

N=345	Hématies	Leucocytes	Cristaux	cylindres	Cellules	Levures	Bactéries
Corrélation %	51	92	96	93	97	99	82
Sensibilité (Se %)	100	95	81	87	98	100	99
Spécificité (Sp%)	24	87	97	93	97	99	63
VPP%	42	91	78	55	81	58	60
VPN%	100	93	98	99	100	100	99

La sensibilité et la VPN de l'automate sont excellentes sur tous les éléments urinaires. Les faibles VPP observées pour les hématies, cylindres et levures sont liées à une meilleure détection de ces éléments par l'image numérique que par la MM. La réalisation d'une BU a permis de confirmer la présence des hématies non détectées en MM pour 68,6% des échantillons. En tenant compte des résultats de la BU, la VPP et la Sp sont respectivement de 82% et 50%.

Conclusion : Les performances de l'IQ200 sont satisfaisantes et permettent une standardisation de la cytologie urinaire. Nous avons observé une meilleur sensibilité que la MM, tout en conservant une bonne spécificité. Pour 100 échantillons jours, le gain de temps est estimée à 20 heures hebdomadaires.

320/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Que faut-il attendre de l'automatisation du sédiment urinaire ? A propos du Sysmex UF 1000 Biomérieux®

T. Gueudet, C. Rieder Monsch, M. Saez, A. Pujol
Laboratoire Schuh BIO 67-Biosphere, Strasbourg, France

Le Sysmex UF 1000 est un automate de deuxième génération qui se base sur la technologie de la cytométrie en flux pour identifier les éléments cellulaires urinaires (canal N°1) et détecter les germes (canal N°2). C'est la présence de ces deux canaux distincts de comptage qui le differencie essentiellement de son prédécesseur. Après 6 mois d'utilisation dans notre laboratoire nous avons mené une étude prospective sur 2300 urines durant le mois de Juillet 2008 provenant de patients de villes (60%), de cliniques et de maison de retraite (40%).

Concernant le **sédiment urinaire**, le taux de contrôle au microscope est de 32%. Les alarmes sont réparties de la manière suivante : globules rouges 45%, cellules rondes rénale 40%, levures 25%, cylindres 18%, cristaux 15%. Il existe une zone de chevauchement au niveau des fenêtres de lecture des globules rouges, cristaux et levures ce qui explique les fréquents contrôles concernant ces éléments. Les cellules rondes rénales détectées par l'automate s'avèrent souvent être des globules blancs altérées ou des amas de leucocytes.

L'étude bactériologique des urines permet d'avoir une **valeur prédictive négative d'infection urinaire de 99,5%** en utilisant le seuil de 100 bactéries/µl associé à une leucocyturie inférieure à 25 globules blanc/µl. Ainsi un résultat négatif peut être rendu au clinicien le jour de recueil des urines, pour environ 45% des échantillons. Au final dans notre étude 24% des urines sont positives et 76% négatives ou ininterprétables. Parmi les cas faussement négatifs, il s'agit 5 fois de *E.coli*, 1 fois *Citrobacter*, et quelques cas de portage de Streptocoque du groupe B ou de *S. aureus*. Aucun cas de contamination inter échantillon n'a été mis en évidence.

Cet automate permet de standardiser le sédiment urinaire, d'assurer une

répétabilité et une reproductibilité des analyses, une transmission directe des résultats dans l'informatique centrale et de rendre avec fiabilite une exclusion d'infection urinaire le jour même du prélèvement. Cependant il faut rester critique concernant les résultats rendus par l'automate (valeurs de globules rouges, détections des levures, enfant <5 ans, immunodéprimés).

Une avancée réelle est constatée par rapport aux automates de première génération.

321/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Automate d'analyse urinaire UF-1000i Sysmex® : évaluation de la fiabilité du comptage cytologique (leucocytes et hématies) et du seuil de leucocyturie significative proposée par le fabricant

A. Birgy, C. Ménard, J.M. Scheftel, Y. Piémont, B. Jaulhac, S.J. De Martino
Laboratoire de Bactériologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Objet de l'étude : Evaluer les seuils d'alerte leucocytaire et érythrocytaire proposés par le fabriquant et par le REMIC pour l'interprétation de l'ECBU automatisé en milieu hospitalier.

Méthodes : Cette étude a été réalisée sur spécimens urinaires (42 pour l'étude des leucocytes et 47 pour celle des hématies) recueillis chez des patients non sondés admis au CHU. Chaque prélèvement a été conditionné en tube borate. Les comptages (leucocytes et érythrocytes) automatisés (fluorocytométrie en flux par UF-1000i, Sysmex) et manuels (cellule de comptage en microscopie optique) ont été réalisés en parallèle.

Resultats obtenus : Les comptages des leucocytes et des hématies urinaires par les deux méthodes étaient concordants pour plus de la moitié des spécimens analysés (55% pour le comptage des leucocytes, et 62% pour le comptage des hématies).

Le comptage automatisé des leucocytes et des hématies donnait des valeurs supérieures au comptage manuel pour près d'1/3 des spécimens. Ces derniers étant situés lors du comptage manuel sous les seuils significatifs selon les critères du REMIC.

Parmi les spécimens (n = 21) présentant une leucocyturie sigificative selon le REMIC (≥ 10 000 leuco./ mL) et classés en leucocyturie non significative selon les critères du fabricant (leucocyturie < 25 000 leuco. / mL), un seul était le siège d'une bactériurie significative objectivée en culture.

Conclusion : Il semble que l'automate surévalue le comptage des leucocytes et des hématies urinaires dans un cas sur trois. L'application d'un seuil de leucocyturie significative ≥ 25 000 leuco./mL proposée par le fabricant de l'automate (UF-1000i Sysmex®) semble valide dans 95% des cas.

322/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Détection rapide de *Pseudomonas aeruginosa* par PCR en temps réel à partir de flacons d'hémocultures positifs

A. Gilibert, J.M. Le Glaunec, N. Launay, P. Legrand, V. Cattoir
Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Henri Mondor, Créteil, France

Introduction : Pseudomonas aeruginosa est un bacille à Gram négatif (BGN) de l'environnement responsable de nombreuses infections opportunistes chez les patients fragilisés. Il représente environ 10% des infections nosocomiales (notamment pneumopathies et bactériémies). Dans les hémocultures (HC), l'identification de P.aeruginosa nécessite classiquement 24 h à partir de la positivité des flacons. Cependant, l'utilisation de méthodes génotypiques, rapides et fiables, pourrait permettre de raccourcir significativement ce délai afin d'instaurer un traitement précoce adapté.

Objectifs : Le but de ce travail a été de développer une méthode de PCR en temps réel pour l'identification rapide et fiable de P.aeruginosa à partir des flacons d'HC positifs à BGN.

Méthodes : Sur une période de 2 mois, 60 épisodes de bactériémies à BGN ont été inclus. La détection de P.aeruginosa a été réalisée en utilisant le gène ecfX comme cible pour la PCR. L'ADN bactérien a été extrait à partir du flacon d'HC par une méthode rapide de choc thermique (< 30 min) et la PCR en temps réel a été effectuée en utilisant des sondes fluorogéniques spécifiques sur LightCycler® (Roche Diagnostics). Tous les résultats moléculaires ont été comparés à ceux de la culture.

Résultats : Sur les 60 HC testées, 40 étaient monomicrobiennes à Enterobacteriaceae, 12 à P.aeruginosa, 4 à Stenotrophomonas maltophilia, 1 à Bacteroides fragilis et 3 étaient polymicrobiennes (dont une avec P.aeruginosa). L'ADN de P.aeruginosa a pu être détecté par PCR dans 12/13 des HC positives en culture. Le seul résultat faussement négatif obtenu était celui d'une HC polymicrobienne contenant une très grande majorité de K. pneumoniae en culture avec seulement de rares colonies de P.aeruginosa (inhibition de la PCR ?). Aucune réaction de PCR n'a été positive pour les BGN autres que P.aeruginosa.

Conclusion : La méthode mise au point ici semble être une méthode fiable pour l'identification rapide de P.aeruginosa dans les flacons d'HC positifs à BGN avec une spécificité et une VPP de 100%, une sensibilité de 92,3% et une VPN de 97,9%. Même s'il est vraisemblable qu'une identification rapide soit un bénéfice pour le patient, il reste à évaluer l'impact clinique exact de ce nouvel outil diagnostique.

323/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation préliminaire de l'hybridation *in situ* de sondes nucléiques peditiques (*PNA Fish*) pour le diagnostic de *Staphylococcus aureus* à partir des hémocultures

P. Roy, O. Raulin, H. Salord, C. Roure-Sobas, F. Laurent, S. Tigaud
Bactériologie, HCL Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France

I - Introduction : Les germes du genre *Staphylococcus* (**S**) sont présents dans 25% des hémocultures positives. On distingue les *Staphylococcus aureus (SA)*, pathogènes majeurs et les *Staphylococcus* à coagulase négative (SCN) parfois pathogènes, mais souvent germes de souillure, avec une prise en charge sensiblement différente. Le diagnostic précoce entre SA et SCN est donc un impératif.

Des techniques rapides ont été développées : coagulase libre directe (CLD) et nucléase thermostable (NT) p. ex., et plus récemment, l'amplification génique ou l'hybridation. Nous rapportons une technique d'hybridation in situ d'une sonde spécifique d'acides nucléiques peptidiques (PNA–Fish) d'AdvanDX®, qui cible l'ARN 16s de *SA* directement sur hémoculture. Le gène ciblé par la sonde montre une fluorescence verte pour *SA*. Les SCN ont une fluorescence rouge.

II - Matériel et méthode :

A) 29 hémocultures de routine détectées positives par l'automate Bact'Alert® : 24 Gram évoquant **S**, 5 permettant d'éliminer le genre **S**..

B) De plus, 29 hémocultures négatives ont été sur-ensemencées par des souches cliniques diverses de **S**, pour palier le faible nombre de septicémies à SA dans la période (1 mois) de l'étude.

Les techniques rapides (PNA-Fish, CLD et NT) ont été comparées avec l'identification en 24 heures (coagulase, dNase et galeries ID 32Staph®). L'évaluation tient compte de la concordance des identifications, de la rapidité d'obtention et de la facilité de mise en œuvre.

III - Résultats :

a) Sur les hémocultures positives, le PNA-Fish a reconnu les 5 SA/29 et n'a montré aucune discordance avec les techniques traditionnelles :

b) Sur les flacons sur-ensemencés par différentes souches cliniques de SA, PNA-Fish a reconnu les 22 SA/29.

c) La Sensibilité et la Spécificité sont au total de 100%

d) Le délai de réponse : PNA-Fish 3 heures, CLD 4 heures, NT 2H30.

e) La recherche de la fluorescence verte parmi une fluorescence parasite orange liée à l'absorption non spécifique de la rhodamine reste difficile, mais l'expérience peut être maîtrisée en quelques jours.

IV - Conclusion : Dans le cadre de cet essai préliminaire, PNA-Fish de reconnaissance de *Staphylococcus aureus* s'est montrée fiable avec une concordance parfaite avec les techniques habituelles du laboratoire.

324/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Préanalytique des flacons d'hémoculture adulte FA et FAN Biomérieux

P. Guiet[1], M. Ruelle[1], J.J. Ragon[1], S. Vignot[2], C. Hervé[1]
[1]Biologie médicale [2]Direction qualité-gestion des risques, Centre Hospitalier, Sens, France

Objectif : L'objectif de cette étude était d'évaluer l'efficacité du préanalytique du prélèvement des hémocultures par le contrôle du volume sanguin introduit par flacon.

Méthodes : Deux enquêtes ont été effectuées sur les flacons d'hémoculture négatifs BacT/ALERT FA et FAN Biomérieux, en octobre 2007 puis en mars 2008 au centre hospitalier de Sens. Le volume de sang recueilli dans les flacons a été mesuré visuellement par un système de graduations de 5 en 5 ml. Les non conformités ont été définies par les recommandations du fournisseur (<5ml et >15ml).

Résultats : L'enquête effectuée en octobre 2007 a permis de contrôler le volume sanguin de 214 flacons. Le taux de non conformités atteint 49.5% pour l'ensemble du centre hospitalier et est identique pour les flacons aérobie et anaérobie. Ces non conformités sont essentiellement des volumes sanguins inférieurs à 5ml (48.6%). Les services les moins conformes sont les urgences et la réanimation (respectivement 84.1 et 53.7%). Les services de médecine sont à 28.3%, les autres à 21.5%.

La restitution des résultats dans les services les moins conformes a mis en évidence une non qualité : les équipes soignantes ont retenu que la quantité de sang à introduire par flacon est de 5ml soit le volume minimum et non pas le volume optimal de 10ml. Cette dérive a été corrigée par la rédaction d'un protocole de prélèvement des hémocultures en collaboration avec la Direction qualité de l'établissement.

Une deuxième enquête est effectuée en mars 2008 : 265 flacons sont vérifiés. Les taux de non conformités ont nettement baissé (27.2% pour l'établissement, 25.9% pour les urgences et 17.7% en réanimation). Les médecines sont stables (28.4%), les autres en augmentation (34.4%).

Conclusion : Cette enquête a montré l'intérêt de choisir des indicateurs pertinents en préanalytique. La mesure du volume sanguin introduit dans les flacons d'hémoculture est désormais un indicateur contrôlé deux fois par an au centre hospitalier de Sens avec des axes d'amélioration définis en étroite collaboration avec les services cliniques et la Direction qualité.

L'impact clinique dans la prise en charge précoce des bactériémies reste à évaluer.

325/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Apport du délai de positivité pour différencier la présence d'entérobactéries, de *Pseudomonas* et de bacilles à Gram négatif (BGN) anaérobies stricts dans les flacons d'hémocultures présentant un BGN à l'examen direct

G. Defrance[2], M. Billard[2], G. Baron[1], R. Ruimy[2], A. Andremont[2], L. Armand-Lefèvre[2]
[1]Département de Biostatistique [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

Introduction : Les Entérobactéries (Eb) sont les bacilles à Gram négatif (BGN) les plus fréquemment isolés au cours des bactériémies. Cependant, il est important de les différencier des autres BGN, anaérobies stricts (Ana) et *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) notamment, afin d'orienter le clinicien dans le choix de l'antibiothérapie probabiliste. A l'examen direct, la morphologie et la mobilité du BGN sont des éléments diagnostics majeurs, mais pas toujours suffisants pour prédire son type. L'objectif de notre étude était d'évaluer l'apport du délai de positivité (DDP) et de l'atmosphère, aérobie (Ae) ou anaérobie (Aa), du premier flacon positif pour distinguer la présence d'une Eb *vs* un Ana ou un *Pa*.

Matériel et méthode : A partir du Bactec 9240, nous avons relevé, sur une période de 2 ans à l'hôpital Bichat-Claude Bernard, le DDP et l'atmosphère du premier flacon d'hémoculture positif (409 Aa et 144 Ae) de 553 patients consécutifs présentant une hémoculture positive à BGN à l'examen direct.

Résultats : Au total, 88% (n=358) des BGN initialement isolés en Aa étaient des Eb et 12% (n=50) des Ana ; 48% (n=69) de ceux isolés en Ae étaient des Eb, 41% (n=59) des *Pa* et 11% (n=16) des BGN autres. Le DDP moyen était, pour les Eb de 8,9h [4,3 -13,5] en Aa et de 12,4h [2,0-22,8] en Ae, pour les Ana, de 29,4h [17,8 - 41,0] et pour les *Pa*, de 16,1h [9,1 - 23,1]. Un premier flacon positif en Aa associé à un DDP ≤18h était hautement prédictif de la présence d'une Eb (sensibilité [Se] 99,4%, specificité [Sp] 96% et valeur prédictive positive [VPP] 99,4%) alors qu'un DDP > 18h était fortement prédictif d'un Ana (Se = 96,0% ; Sp = 99,4% et VPP = 96,0%). Un premier flacon positif en Ae associé à un DDP ≤12 h était en faveur d'une Eb (Se = 62.3%, Sp = 79,2% et VPP = 72.9%). Les likelihood ratio calculés pour des intervalles de temps de 0-12h, 13-18h, 19-24h et > 24h étaient respectivement de 3,0 ; 0,6 ; 0,5 et 0,1 pour la présence d'Eb, de 0,3 ; 2,2 ; 3,0 et 0,2 pour la présence de *Pa* et de 0,8 ; 0,5 ; 0,2 et 28,4 pour les autres BGN.

Conclusion : Un DDP court est un facteur fortement prédictif de la présence d'une Eb *vs* un Ana si le premier flacon positif est Aa et constitue un argument supplémentaire, associé à la morphologie et la mobilité du germe, pour l'orientation Eb *vs Pa* si le premier flacon positif est Ae.

326/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Microscan dried Pos ID (PID2) panel multicenter evaluation with clinical isolates of Gram-positive bacteria

S. Mirrett[2], L.B. Reller[2], P. Schreckenberger[1], J. Tjhio[1], J. Hindler[3], J. Skinner[4], L.M. Mann[4], L.M. Smoot[4], B. Zimmer[4]
[1]Loyola University Medical Center, Chicago [2]Duke University Medical Center, Durham [3]UCLA Medical Center, Los Angeles [4]Siemens Healthcare Diagnostics, Sacramento, Etats-Unis

Purpose of the Study: The accurate identification of staphylococci, enterococci and other gram-positive bacteria is important in disease diagnosis and treatment. The MicroScan Dried Pos ID (PID2) panel database was recently updated. This study describes the validation of the new database for the Pos ID 2 (PID2) Panel to accurately identify clinically relevant gram-positive bacteria.

Methods: A total of 682 clinical isolates comprised of 227 staphylococci, 183 enterococci, 228 streptococci, and 44 additional gram-positive microorganisms was tested using the newly updated PID2 panel on the WalkAway System. The 44 additional microorganisms included isolates of *Micrococcus* and related species, *Listeria monocytogenes*, *Kocuria kristinae*, *Rothia dentocariosa*, *Aerococcus* spp. *Gemella* spp. *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., and *Rhodococcus equi*. Accuracy was evaluated by comparing identification obtained from the PID2 panel to identification determined with conventional tube methodology and other reference methods.

Results Obtained: Correct identification was obtained for PID2 for 98.5% (672/682) of the isolates. Additional tests were required to correctly identify 4.5% (31/682) of these isolates. Incorrect identifications were obtained for 1.3% (9/682) including 1 *E. faecium*, 1 *E. casseliflavus*, 2 *S. mitis/oralis*, 1 *Leuconostoc* spp., 2 *S. pneumoniae*, 1 *S. haemolyticus*, and 1 *K. kristinae*. A single (0.1%) very rare biotype was obtained for *E. faecalis*.

Conclusion: The results of this study show that the MicroScan updated database for the PID2 panel provides accurate identification results for clinically important gram-positive bacteria.

327/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Multicenter evaluation of the new microscan rapid Pos ID 2 (RPID2) panel with clinical isolates of Gram-positive bacteria

P. Schreckenberger[1], J. Tjhio[1], S. Mirrett[2], L.B. Reller[2], J. Hindler[3], J.D. Bobolis[4], L.M. Smoot[4], L.M. Mann[4], B. Zimmer[4]
[1]Loyola University Medical Center, Chicago [2]Duke University Medical Center, Durham [3]UCLA Medical Center, Los Angeles [4]Siemens Healthcare Diagnostics, Sacramento, Etats-Unis

Purpose of the Study: Rapid and accurate identification of gram-positive bacteria is critical to disease diagnosis and treatment. This study describes the validation of the new two hour MicroScan Rapid Pos ID 2 (RPID2) Panel to accurately identify clinically relevant gram-positive bacteria.

Methods: A total of 717 clinical isolates comprised of 227 staphylococci, 196 enterococci, 233 streptococci, and 61 additional gram-positive microorganisms was tested using this newly developed panel on the WalkAway System. The 61 additional microorganisms included isolates of *Micrococcus* and related species, *Kocuria kristinae*, *Listeria monocytogenes*, rothia spp., *Aerococcus* spp., *Abiotrophia/Granulicatella*, *Gemella* spp., *Leuconostoc* spp., *Pediococcus* spp., and *Rhodococcus equi*. Accuracy was evaluated by comparing identification obtained from the RPID2 Panel to the identification determined with a combination of additional reference methods including conventional biochemical tube tests, spot tests, other MicroScan Gram-Positive overnight identification panels, and 16S rRNA gene sequencing on a select set of microorganisms.

Results Obtained: A correct identification, with no additional tests required, was obtained with RPID2 for 94.4% (677/717) of the isolates. Additional tests were required to identify 2.9% (21/717), including 1 *Listeria monocytogenes*, 2 *S. aureus*, 2 *S. capitis*, 2 *S. epidermidis*, 1 *E. casseliflavus*, 2 *E. faecium*, 5 *E. gallinarum*, 5 *S. dysgalactiae*, and 1 *S. mitis/oralis*. Incorrect identifications were obtained for 1.8% (13/717) including 1 eacy of the following: *Rothia* spp., *S. epidermidis*, *S. haemolyticus*, *S. simulans*, *E. avium*, *E. casseliflavus*, *E. faecalis*, *E. faecium*, *S. anginosus*, *S. constellatus*, *S. dysgalactiae*, *S. parasanguis*, and *S. pneumoniae*. A very rare biotype was obtained for 0.8% (6/717) including 1 each of the following: *S. parasanguis*, *Abiotrophia/Granulicatella*, *S. bovis*, *Gemella morbillorum*, *E. faecalis*, and *Micrococcus luteus*.

Conclusion: The results of this evaluation with clinical isolates show that the new MicroScan RPID2 Panel provides rapid, accurate identification results for clinically important gram-positive bacteria in two hours.

328/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Hémoculture : évaluation de la quantité de sang prélevée au centre hospitalier du pays d'Aix (CHPA)

O. Bellon, F. Uetwiller, L. Bailloud, E. Lagier, H. Chardon
Service de Diagnostic Biologique des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier du Pays d'Aix, Aix-en-Provence, France

Le diagnostic d'infection sanguin e se pose grâce à la réalisation d'hémocultures.

Sur le centre hospitalier du pays d'Aix, le taux de flacons positifs étant relativement peu élevé : 19803 flacons avec 18058 flacons qui sont restés stériles soit 91.2% (92.7% en 2005) nous nous sommes intéressés à la quantité de sang prélevée par flacons.

Antérieurement il était possible de visualiser la quantité de sang dans le bouillon après décantation. Actuellement l'utilisation de milieux contenant du charbon ne permet plus cette visualisation. Une série de pesée des flacons (adultes) a donc été effectuée.

Sur les flacons aérobies 42/63 (77%) contenaient moins de 2ml (68% moins d'1 ml). Pour les flacons anaérobie 48/64 (78%) contenaient moins de 2ml (50% moins d'un ml).

Une re-formation des services de médecine a été mise en place à la suite de ce constat. Une nouvelle série de pesées a eu lieu en juillet 2008 (181 flacons dont 117 pour les services non formés). La quantité de sang prélevée par couple d'hémoculture reste encore insuffisante : 13% seulement avec au moins 20 ml et 26% avec moins de 5ml. Mais on note une amélioration dans les services formés par rapport aux services non formés : 11% / 35% pour les volumes inférieurs à 5ml, 33%/23% pour les volumes de 5 à 10ml et 41%/32% pour les volumes de 10 à 20 ml.

Le suivi évolutif de ce paramètre est en train de devenir un indicateur de notre structure, en effet, il existe une relation directe entre le volume de sang inoculé dans les flacons d'hémoculture et le rendement de la technique, un volume de 20ml de sang prélevé augmente le pourcentage de positivité de 30%, comparativement à un volume de 10ml qui est le minimum souhaitable chez l'adulte et enfin le coût des seuls flacons d'hémoculture en 2007 était 55 662 euros TTC.

En conclusion, à l'époque ou pour réduire les contaminations il est proposé de ne faire qu'une seule ponction il sera encore plus important de veiller à la quantité de sang prélevée dans les flacons.

329/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de l'intérêt de l'antigénurie pneumocoque par test immunochromatographique dans le diagnostic des pneumopathies communautaires acquises de l'adulte au CHU de Toulouse

A. Le Goff, C. Segonds, G. Chabanon
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Institut Fédératif de Biologie, Hôpital Purpan, Toulouse, France

Objectif : évaluer l'intérêt et les pratiques de prescription de l'antigénurie pneumocoque (test immunochromatographique Binax) dans le diagnostic des pneumopathies communautaires acquises (PCA) de l'adulte au CHU de Toulouse.

Méthode : le test a été prescrit chez 278 patients sur la période 2002-2004. Ses performances par rapport à l'analyse bactériologique ont été évaluées chez 247 patients. De plus, pour 31 des 32 patients antigénurie **+**, les données radiologiques et/ou la CRP ont été relevées. Enfin, l'évolution du nombre de prescriptions et du taux de positivité dans les différents services du CHU entre la période 2002-2004 et l'année 2007 a été étudiée.

Résultats :

Performances par rapport à l'analyse bactériologique

	hémoculture et/ou prélèvement respiratoire (n=247)	hémoculture (n=178)
Sensibilité (%)	64	76
Spécificité (%)	93	89
VPP (%)	88,9	43
VPN (%)	97,5	97

- Parmi les 216 patients antigénurie **-**, l'analyse bactériologique était négative dans 207 cas (96%); positive dans 9 cas (4%) dont 4 bactériémies.
- Parmi les 31 patients antigénurie **+**, 29 présentaient une image radiologique compatible avec une PCA et/ou une CRP élevée; l'analyse bactériologique était positive dans 16 cas et négative dans 13 cas; l'antigénurie a permis un gain de temps diagnostique chez 5/13 patients antigénurie et hémocultures **+**. Enfin, 2 patients présentaient des cultures négatives sans signes évocateurs de PCA (faux +?).

Evolution du nombre de prescriptions et du pourcentage de tests **+** depuis 2002

année	nombre de prescriptions	nombre de tests +	pourcentage de tests +
2002	10	2	20
2003	80	11	13,8
2004	188	19	10,1
2007	1035	84	8,1

Trois groupes de services ont été individualisés sur la base du pourcentage de tests **+ :**

- 0-5% : cardiologie, hématologie, médecine interne

- 6-10%: pneumologie, urgences, néphrologie, gériatrie

- >10% : réanimation respiratoire, maladies infectieuses

Conclusion : si l'antigénurie pneumocoque présente un intérêt indéniable, ayant permis dans notre série de 278 patients le diagnostic de 13 PCA à cultures négatives, sa réalisation ne dispense pas de l'analyse bactériologique en raison de la possibilité de faux négatifs (4% dans notre série). Toutefois, en raison de son coût élevé et de l'inflation des prescriptions, les indications doivent être mieux cernées: infections sévères ou terrain à risque de pneumococcie.

330/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Génotypage d'échantillons de *Pseudomonas aeruginosa* par biologie moléculaire : quelle place pour la rep-PCR semi-automatisée (système DiversiLab®) ?

A. Doléans-Jordheim[3], E. Bergeron[3], J. Croizé[1], H. Salord[4], B. Cournoyer[2], J. André[3], M.A. Mazoyer[3], F.N.N. Renaud[3], J. Freney[3]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital A. Michalon, Grenoble [2]Unité Ecologie Microbienne, UMR5557, CNRS, Université Lyon 1 [3]Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Pharmacie, ISPB, Université Lyon 1 [4]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

L'électrophorèse en champ pulsé ou "pulsed-field gel electrophoresis" (PFGE) est une méthode de génotypage bactérien hautement discriminante. Elle est basée sur la séparation en fonction de leur taille de longs fragments d'ADN après coupure enzymatique du génome du micro-organisme. Cette méthode est traditionnellement considérée comme la technique de référence pour les études épidémiologiques de nombreuses espèces bactériennes. Cependant, elle présente plusieurs inconvénients dont sa durée de réalisation (2-3 jours) et sa « lourdeur » en termes de réalisation et d'équipement. Une méthode de typage aisée et rapide a été proposée pour le suivi des épidémies en temps réel, le système DiversiLab® (bioMérieux). Nous avons évalué les performances de cette méthode fondée sur une technique semi-automatisée de rep-PCR (repetitive-sequence-based – PCR). Ce procédé permet le typage de bactéries par amplification de séquences d'ADN non codantes, de tailles comprises entre 30 et 400 bp, conservées et dispersées dans le génome bactérien. La migration des amplicons est réalisée en quelques heures dans des microcapillaires de puces, permettant un rendu final des résultats en un jour. Cette rep-PCR a été utilisée pour l'étude de 84 souches de *Pseudomonas aeruginosa* cliniques et environnementales, isolées lors de 9 enquêtes épidémiologiques. Les résultats ont été comparés à ceux obtenus par PFGE. Une bonne corrélation a été établie entre ces deux méthodes et de nombreux avantages ont été relevés concernant cette technique de rep-PCR dont la facilité d'emploi du système DiversiLab® et sa rapidité. Cependant, le pouvoir discriminant de la rep-PCR semi-automatisée reste à confirmer. Ainsi, bien que d'autres études apparaissent nécessaires pour confirmer la sensibilité de cette technique, la rep-PCR couplé au système DiversiLab® semble représenter un outil rapide et performant dans le groupage des souches de *Pseudomonas aeruginosa.*

331/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Typage moléculaire par le système Diversilab des souches d'*Achromobacter xylosoxidans* isolées chez les patients atteints de mucoviscidose : comparaison avec l'électrophorèse en champ pulsé

J. Caillon, V. Le Mabecque, C. Jacqueline, E. Batard
Laboratoire EA 3826, Faculté de Médecine, Nantes, France

Achromobacter xylosoxidans (AXX), bacille à Gram négatif non fermentant, est de plus en plus isolé dans les expectorations des patients atteints de mucoviscidose. A ce jour, peu d'études épidémiologiques ont été réalisées sur la surveillance et la prévention de la transmission de ces souches. Actuellement, la méthode de référence pour le typage moléculaire est l'électrophorèse en champ pulsé. Mais cette méthode est limitée par la complexité technique, les coûts et les délais des résultats (au moins trois jours).

Objectif de cette étude était d'étudier le typage moléculaire des souches AXX par un nouveau système Diversilab et de le comparer à l'électrophorèse en champ pulsé (ECP).

Méthodes : Quarante souches AXX isolées chez 20 patients atteints de la mucoviscidose, 2 souches par patient (une isolée en 2005 et l'autre en 2006) ont été étudiées. L'ECP a été réalisée et interprétée selon les procédures publiées. Pour la méthode avec le Diversilab, l'ADN des souches a été extrait puis amplifié par une rep-PCR selon les recommandations du fabricant. Les fragments ont été ensuite séparés par électrophorèse réalisée dans un système microfluidique. Les dendrogrammes de l'ECP et du Diversilab fournissent une représentation hiérarchique des groupements de similarités entre échantillons. Nous avons comparé les résultats des deux techniques

Résultats : Toutes les souches étaient différentes d'un patient à l'autre. Pour chaque patient, les deux souches étaient similaires en 2005 et 2006, sauf pour trois patients qui étaient colonisés par des souches différentes d'AXX. Les résultats obtenus par le Diversilab et l'ECP sont concordants.

Conclusions : Le système DiversiLab est un outil puissant et rapide (4H) permettant de séparer les souches entre elles. Dans notre étude aucune infection croisée n'a été observée et chaque patient était colonisé par une seule souche à l'exception de trois patients.

332/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Caractérisation d'une épidémie à *Acinetobacter baumannii* multi-résistant (ABBMR) survenue au CHU de Grenoble par deux techniques de typage moléculaire : Electrophorèse en champ pulsé (ECP) et *repetitive sequence based*-PCR (rep-PCR) semi-automatisée (Diversilab®)

L. Coussa-Rivière[2], A. Doléans-Jordheim[4], M.R. Mallaret[3], J. Freney[4], C. Jacquot[1], J. Croizé[2]
[1]Département d'Anesthésie-Réanimation I [2]Laboratoire de Microbiovigilance, Département des Agents Infectieux [3]Unité d'Hygiène Hospitalière, Université Joseph Fourier, CHU de Grenoble [4]Laboratoire de Microbiologie, Unité RTI2B, ISPB, Université Lyon 1, Lyon, France

Objectif : L'épidémiologie hospitalière requiert des outils rapides et performants de typage moléculaire afin de confirmer ou d'exclure un lien génétique entre plusieurs isolements. Notre étude avait pour but de mettre en évidence la clonalité de 35 souches ABBMR en comparant 2 outils d'épidémiologie moléculaire: une technique manuelle, l'ECP et une technique semi-automatisée, la rep-PCR Diversilab® (bioMérieux).

Méthode : L'ECP est réalisée après coupure de l'ADN par l'enzyme de restriction Apa I et l'interprétation des bandes par le logiciel Molecular Analyst Fingerprinting Plus Biorad (indice de Dice, méthode de calcul UPGMA). Pour la rep-PCR, une empreinte génétique est fournie après amplification de séquences répétitives non codantes puis migration électrophorétique en micro-capillaires dans une puce ; l'analyse des données est faite sur un site internet sécurisé. Les dendrogrammes générés par la méthode de calcul UPGMA sont considérés comme différents si le pourcentage de similitude est inférieur à 95%.

Résultats : Durant les 6 premiers mois de l'épidémie débutée en 2007, 28 souches d'ABBMR de même antibiotype (résistant à toutes les béta-lactamines sauf à l'imipénème et aux polypeptides, résistant aux aminosides et aux fluoroquinolones) ont été isolées de 26 patients hospitalisés dans 3 services de réanimation différents et de 7 prélèvements de surface effectués dans ces services.

Un unique pulsotype a été obtenu par l'ECP avec un pourcentage de similitude de 82,9%. La rep-PCR confirme également cette clonalité avec un pourcentage supérieur à 95%.

Afin de tester la spécificité de ces 2 techniques, 9 souches d'*A.baumannii* non reliées à cette épidémie (sans lien chronologique ou antibiogrammes différents) ont été analysées conjointement. L'ECP et la rep-PCR n'ont pas

trouvé de lien entre ces souches et celle épidémique (60,4% et 65% respectivement).

Conclusion : L'ECP et la rep-PCR montrent une très bonne corrélation pour confirmer un lien épidémique ou l'exclure. La facilité d'utilisation, la standardisation et la rapidité de réalisation (4 heures) de la technique semi-automatisée Diversilab® pourrait permettre aux acteurs de la microbiovigilance d'instaurer rapidement des mesures correctives et préventives pour limiter l'expansion d'un pathogène nosocomial.

333/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Génotypie par *multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis* de *Pseudomonas aeruginosa* à l'hôpital F. Bourguiba de Monastir (Tunisie)

A. Ben Haj Khalifa[2-3], H. Vu-Thien[2], C. Pourcel[1], M. Khedher[3], M. Mastouri[3], D. Moissenet[2]
[1]Institut de génétique et Microbiologie, Orsay [2]Service de Microbiologie, Hôpital Armand-Trousseau (APHP), Paris, France [3]Service de Microbiologie, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir, Tunisie

Pendant une période de quinze mois, une série de 96 isolats cliniques de *Pseudomonas aeruginosa* provenant de douze services de l'hôpital Fattouma Bourguiba de Monastir (Tunisie) ont été étudiés. 41/96 isolats (43%) provenaient de deux unités de soins intensifs (médicale et chirurgicale). Tous les isolats ont été caractérisés par sérotypie et antibiotypie, puis génotypés par 2 techniques : randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) et multiple-locus VNTR analysis (MLVA). La plupart des isolats (48%) appartenaient au sérotype O:11 suivi par les sérotypes O:12, O:6 et O:10 (6,25% chaque), O:4 (5,2%), O:2 et O:1 (4,2% chaque). Treize antibiotypes différents ont été observés. La génotypie a montré 83 types par RAPD et 52 types par MLVA et que des isolats de même sérotype pouvaient présenter des génotypes différents. Six génotypes prédominants ont été observés avec la technique MLVA. Dans l'unité de soins intensifs de chirurgie, le génotype MLVA 18 était le plus souvent retrouvé au cours d'une épidémie affectant 9 patients durant 4 semaines. L'hétérogénéité génotypique de la plupart des isolats analysés montre que les phénomènes épidémiques ou de cas groupés ont été rares à l'hôpital Fattouma Bourguiba pendant la période d'étude. La technique MLVA montre un grand pouvoir discriminant avec une bonne reproductibilité pour génotyper les isolats cliniques de *P.aeruginosa*.

334/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Comparaison de deux tests immuno-enzymatiques pour la recherche des toxines A et B de *Clostridium difficile* dans les selles

D. Fournier, A.M. Freydière, O. Dauwalder, G. Lina, J. Etienne, F. Vandenesch
Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie et Pathologie Est, Lyon, France

Objectif : Comparer les performances de deux tests immuno-enzymatiques unitaires, détectant les toxines A et B de *Clostridium difficile* : Vidas® *C. difficile* Toxin A&B (bioMérieux, France) et ImmunoCard® Toxins A&B (Méridian Bioscience, France).

Méthodes : Cent vingt échantillons de selles diarrhéiques de patients suspects d'infections à *C. difficile* ont été analysés simultanément par les deux tests. Le test ImmunoCard a été effectué selon les recommandations du fabricant. Concernant le test Vidas, l'étape de centrifugation de 5 minutes à 12000g, inapplicable dans de nombreux laboratoires de diagnostic clinique, à été remplacée sur conseil du fabricant par une centrifugation de 15 min à 4000g.

Les résultats ont été comparés à ceux de la culture toxigénique, utilisée comme technique de référence et qui consiste à déterminer le caractère toxinogène (test ImmunoCard® Toxins A&B) des souches isolées en culture (gélose *C. difficile*, bioMérieux).

Résultats : Parmi les 120 selles étudiées, 15 se sont révélées positives par culture toxigénique (12,5%).

Par rapport à la méthode de référence, la sensibilité et la spécificité étaient respectivement de 80,0% et 98,1% pour le test ImmunoCard et de 78.6% et 97,9% pour le test Vidas. Deux échantillons de selles se sont révélés être faussement positifs avec chacun des tests. La négativité des quatre selles correspondantes a été confirmée par le test de cytotoxicité cellulaire.

Le pourcentage de résultats «équivoques» par le test Vidas était de 8,3%. Ce pourcentage était le double de celui retrouvé dans d'autres études, et pourrait s'expliquer par la modification de l'étape de centrifugation.

Conclusions : Si l'on exclut le problème des résultats ininterprétables par le test Vidas, les performances des deux tests apparaissent similaires ; ces tests présentent une excellente spécificité mais manquent de sensibilité. L'implication de la modification du protocole de centrifugation dans le nombre de résultats équivoques par le test Vidas mériterait d'être approfondie. Cependant la nécessité de trouver un protocole de centrifugation adaptable à tout laboratoire est une réalité.

335/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Comparaison de trois milieux pour la culture de *Clostridium difficile* : intérêt des milieux favorisant la germination des spores ?

C. Rousseau, F. Diakité, L. Feghoul, P. Cruaud, A. Collignon, I. Poilane
Laboratoire de Microbiologie, CHU Jean Verdier, AP-HP, Bondy, France

Introduction : *Clostridium difficile* est le principal agent des diarrhées post-antibiotiques et bactériennes nosocomiales. Depuis l'émergence du clone 027 épidémique en Europe, il apparaît nécessaire d'isoler les souches de *C. difficile* afin de réaliser un suivi épidémiologique par typage moléculaire. Nous avons donc comparé trois conditions de culture sélectives pour l'isolement de *C. difficile*.

Méthodes : Une étude préliminaire comparative de trois conditions de culture a été réalisée sur 40 selles prélevées chez des patients hospitalisés. Les selles ont été ensemencées après dilution sur le milieu commercial CLO (Biomérieux) et sur un milieu préparé au laboratoire (CCTa) : Columbia (Oxoid), céfoxitine 8mg/l, cyclosérine 250mg/l, sang de cheval 5% et taurocholate 0,1% (favorisant la germination des spores). Le milieu CCTa a également été ensemencé avec des selles ayant subi un choc alcoolique (CA) permettant d'éliminer les formes végétatives. Les colonies de *C. difficile* ont été dénombrées sur chaque milieu après identification présomptive éventuellement complétée par une identification antigénique (C. DIFFICILE Test Kit, Oxoid) ou biochimique (Id 32Ana Biomérieux).

Résultats : Les cultures sur milieux CLO et CCTa après CA sont comparables en terme d'intensité de fluorescence, l'aspect des colonies étant plus caractéristique sur CLO. Le milieu CLO apparaît très sélectif en inhibant la flore associée. Sur CLO, on observe 35 à 26 fois moins de colonies que sur le milieu CCTa respectivement avec et sans CA. En revanche, le milieu CCTa sans CA est peu sélectif avec une flore associée gênant la lecture de la fluorescence et nécessitant un ré-isolement pour étudier la souche. Le nombre important de colonies de *C. difficile* sur le milieu CCTa après CA (10^3 à 10^6 UFC/ml) suggère que *C. difficile* est sous forme sporulée en grande quantité dans les selles.

Conclusion : Le milieu commercial CLO est un bon milieu pour l'isolement de *C. difficile*. Néanmoins, il paraît intéressant d'associer un milieu permettant la germination des spores. Dans ce cas le milieu CCTa ensemencé après choc alcoolique semble être la méthode à privilégier. L'ajout de ce type de milieu permet d'augmenter la sensibilité de détection en s'affranchissant des conditions de conservation et de transport.

336/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Diagnostic des infections à *Clostridium difficile* au Centre Hospitalier de Versailles

S. Marque Juillet, G. Gesbert, B. Pangon, M. Harzic, A. Le Monnier
Microbiologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

Clostridium difficile (CD) est la première cause de diarrhée associée aux antibiotiques. Le diagnostic des infections à CD (ICD) repose à la fois sur la recherche des toxines A et B dans les selles, et sur l'isolement de CD.

En 2007, un audit de l'arbre diagnostic utilisé dans notre laboratoire a mis en évidence les limites des tests de diagnostic rapide et la faible sensibilité de la culture.

Les objectifs de notre étude sont:

- Evaluer les performances de 2 méthodes pour la détection rapide des toxines A et B : ImmunoCard® toxins A & B (Meridian), Vidas® *C. difficile* A & B, (bioMérieux) en comparant les résultats à ceux de l'effet cytopathogène (ECP) sur cellules MRC5 et aux données cliniques.

- Définir la place de chacun des tests utilisés dans l'arbre diagnostic de notre laboratoire.

Matériels et méthodes : La recherche de toxines a été réalisée systématiquement par les trois méthodes pendant 4 mois sur toutes les selles diarrhéiques de patients suspects d'ICD et sur toutes les souches isolées. Toutes les selles ont été ensemencées sur milieu CLO® (BioMérieux).

Résultats : Les résultats de 18 (12%) des 137 selles étudiées (115 patients adultes) permettent de conclure à une ICD.

Le test Vidas *C. difficile* A et B® a une meilleure sensibilité (88.9 vs 83.3%) et spécificité (100 vs 96.6%) que le test Immunocard toxins A et B®.

La mise en culture systématique et rapide des selles avec lecture sous UV a significativement amélioré le taux d'isolement des souches de CD (sensibilité 83.3%, 15/18). Un ensemencement tardif (n=2) et une antibiothérapie efficace (n=1) peuvent expliquer les échecs d'isolement de CD. Il existe des résultats équivoques ou discordants entre culture et test rapide pour lesquels la recherche de l'ECP a été utile.

Discussion et Conclusion : L'analyse des résultats de cette étude prospective a permis de résoudre les problèmes soulevés lors de l'audit, c'est à dire d'optimiser les techniques utilisées, de déterminer la place respective de chaque test dans un nouvel arbre diagnostic des ICD.

La détection rapide et simultanée des toxines A et B constitue une étape importante du diagnostic des ICD, mais doit être associée à une technique de confirmation, incluant le recours à l'ECP (technique de référence) dans certaines situations.

337/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Détermination du caractère toxinogène des souches de *Clostridium difficile* obtenues en primoculture de selles de patients par le test immuno-enzymatique ImmunoCard® Toxines A et B

A. Audion[1], V. Lalande[1-2], F. Barbut[1-2], J.C. Petit[1-2]
[1]Bactériologie-Virologie, Hôpital Saint Antoine [2]Laboratoire Clostridium difficile associée au CNR des Anaérobies et du botulisme, Paris, France

Dans le cadre du diagnostic microbiologique des infections à *Clostridium difficile* (ICD), les dernières recommandations européennes préconisent, au minimum, la recherche directe des toxines uniquement dans les selles diarrhéiques. La culture sur milieu sélectif permet d'augmenter la sensibilité d'environ 10% des cas d'ICD si elle est associée à la détermination du pouvoir toxigènique de la souche, définissant la culture toxigènique. La méthode de référence concernant la détermination de ce pouvoir toxinogène est le test de cytotoxicité *in vitro* (TCIV) réalisé à partir d'un surnageant de bouillon de culture de la souche pure. Cette méthode est longue (5 à 10 jours de culture en bouillon), peu standardisée et nécessite un laboratoire ayant accès à la culture cellulaire.

Objectifs : Comparer les performances du test immuno-enzymatique ImmunoCard® Toxin A&B (Méridian®, France) à la technique de référence pour la détermination du caractère toxinogène de souches de *Clostridium difficile* isolée par culture de selles sur milieu sélectif.

Méthodes : 100 selles consécutives adressées au laboratoire pour le diagnostic d'ICD ont été incluses si la culture comprenait au moins 5 colonies isolées ou non. La recherche directe des toxines était réalisée par l'étude de l'effet cytopathogène (ECP) du filtrat des selles en 24h sur cellules fibroblastiques MRC-5. Parallèlement, les selles étaient mises en culture sur milieu sélectif TCCA (taurocholate, céfoxitine, cyclosérine), incubées pendant 48 heures en anaérobiose. Le caractère toxigènique des souches était confirmé dans tous les cas par la méthode de référence du TCIV. Les 100 souches ont été testées par une technique immuno-enzymatique ImmunoCard® Toxin A&B (Méridian®, France), selon les recommandations du fabricant, en utilisant au moins 5 colonies.

Résultats : Pour 56 selles, la recherche de la toxine B était positive (souches ECP+). Pour ces 56 souches ECP+, le test ImmunoCard® Toxin A&B à partir des colonies a été positif. Pour les 44 selles restantes (souches ECP-), la recherche du pouvoir toxinogène par TCIV ainsi le test ImmunoCard® Toxin A&B étaient positifs dans 24 cas. Sur les 17 souches pour lesquelles l'Immunocard® Toxin A&B a été négatif, le test de cytotoxicité a été aussi négatif. Au total, la prévalence des souches toxinogènes est de 80%. La sensibilité et la spécificité du test ImmunoCard® Toxin A&B sont de 100% pour la détection du caractère toxinogène d'une souche de *Clostridium difficile*.

Conclusion : Le test immuno-enzymatique ImmunoCard® Toxin A&B (Méridian®, France) représente une excellente alternative à la méthode de référence sur culture cellulaire pour la détection du pouvoir toxinogène de souches de *Clostridium difficile* isolées sur milieu sélectif. Sa sensibilité et sa spécificité sont excellentes. Dans la stratégie de diagnostic des ICD, ce test présente le triple avantage d'être simple, applicable par tous les laboratoires pratiquant la culture et de permettre un raccourcissement significatif du délai de rendu de résultats de la culture toxigènique.

338/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Validation du kit Fluo-RAL (RAL) pour la recherche de mycobactéries par coloration à l'auramine

P. Gérôme[2], M. Fabre[1], C.P. Soler[1]
[1]Biologie médicale, HIA Percy, Clamart [2]Biologie médicale, HIA Desgnettes, Lyon, France

But de l'étude : Valider le kit Fluo-RAL (RAL) pour une utilisation en routine.

Matériel et méthode: Les étalements: 133 paires d'étalements de produits pathologiques éventuellement traités à la N-acétyl-L-cystéine soude et fixés à la flamme ont été choisis pour leur représentativité parmi des frottis conservés au laboratoire. Les taux de produits prétraités étaient les suivants: crachats 18/58, aspiration bronchiques 24/31, tubage gastrique 8/9, lavage bronchique 11/11, liquide pleural 5/6, liquide céphalo-rachidien 2/2, biopsie ganglionnaire 6/7, biopsie pleurale 1/1, biopsie colique 1/1, biopsie osseuse 2/2, pus 2/2, hémoculture 2/2. Coloration: Les lames de chaque paire étaient fixés 5 min à l'alcool méthylique puis colorées respectivement selon la méthode de Degommier [auramine (Merck) phéniquée à 0,2% 15 min, HCl 1N à 0,5% en éthanol 95° 5 min, rouge thiazine (RAL) phéniqué à 0,2% 1,5 min, alcool-acide 3 min] ou à l'aide du kit Fluo-RAL [auramine phéniquée 15 min, décolorant de Degommier 3 min, rouge thiazine phéniqué 5 min]. Entre chaque phase les frottis étaient rincés à l'eau distillée. Lecture: Les frottis ont été examinés au grossissement 400 au microscope à fluorescence de manière indépendante par 2 techniciens. Les résultats ont été exprimés de manière semi-quantitative, l'examen étant considéré négatif après l'examen de 300 champs. En cas de positivité le résultat était confirmé par coloration de Ziehl. En cas de discordance entre examinateurs les lames étaient relues avant conclusion définitive.

Résultats : Les résultats de la lecture des 133 paires de frottis sont résumés dans le tableau suivant. Les deux méthodes donnent des résultats identiques et ce quel que soit le type de frottis.

Coloration	Kit Fluo-RAL					Degommier
Résultat	Négatif	1+	2+	3+	4+	
Négatif	73	0	0	0	0	73
1+	0	9	1	0	0	10
2+	0	0	11	0	0	11
3+	0	0	0	32	0	32
4+	0	0	0	0	7	7

Conclusion : Le kit Fluo-RAL a été validé pour son utilisation en routine. Cette technique élimine les risques liés à la manipulation de poudre (auramine en particulier) et améliore la standardisation de la coloration. Avec les modifications apportées aux recommandations du fabricant (5 min de fixation contre 10 ; 15 min de coloration à l'auramine contre 20) les temps de coloration des deux méthodes sont comparables. Le kit Fluo-RAL est de plus parmi les moins coûteux.

339/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Aspects cliniques, diagnostiques et thérapeutiques de la tularémie en France

M. Maurin[1], B. Gestin[1], N. Ravanel[1], I. Pelloux[1], A. Mailles[2]
[1]CNR Francisella, Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble, Grenoble [2]Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Nous souhaitons faire le point sur les aspects récents cliniques, diagnostiques et thérapeutiques de la tularémie en France, à partir d'une série de 60 cas consécutifs investigués au CNR entre 2006 et 2008.

Il s'agit de 36 hommes et 24 femmes (sex ratio 1.5), d'âge moyen 53 ans (17 à 95 ans), le plus souvent infectés dans leur département de résidence (57cas), répartis dans 13 régions différentes.

Le diagnostic est confirmé au CNR par l'une des techniques suivantes : 1) la sérologie (microagglutination, immunofluorescence indirecte), positive chez 48 patients (80%), sur un sérum précoce dans 41 cas, ou sur un sérum tardif (séroconversion) dans 7 cas ; 2) la détection d'ADN bactérien par PCR en temps réel (ISFtu2, Tul4) chez 25 patients (16 ganglions, 2 escarres, 1 conjonctive, 6 écouvillons pharyngés) ; 3) l'isolement et/ou l'identification d'une souche de *F. tularensis* subsp. *holarctica* chez 12 patients (1 ganglion, 5 hémocultures, 1 LCR, 1 escarre, 1 conjonctive, 3 écouvillons pharyngés).

Les manifestations cliniques correspondent à une tularémie ulcéro-ganglionnaire (19 cas), ganglionnaire (8 cas), pharyngée (13 cas), oculaire (1 cas), typhoïdique (5 cas), à une méningite (1 cas), à des adénopathies médiastinales chroniques (3 cas), à un syndrome pseudo-grippal isolé (5 cas) ou sont méconnues (5 cas). Concernant ces 60 cas, le mode de contamination est un contact direct avec un lagomorphe (17 cas) ou un sanglier (3 cas), l'ingestion d'un lièvre infecté (7 cas), une morsure de tique (5 cas), ou demeure hypothétique (28 cas). Le seul facteur de risque patent est le fait d'être chasseur ou parent de chasseur (8 et 3 cas). Une hospitalisation initiale est nécessaire dans 7 cas, et un seul patient décède. Les formes ganglionnaires évoluent souvent de façon chronique, avec suppuration dans 11 cas et nécessité d'une exérèse chirurgicale dans 9 cas. Le traitement repose en règle sur l'administration d'une tétracycline, ou plus souvent d'une fluoroquinolone.

La série rapportée ici montre que la tularémie en France présente des aspects cliniques souvent atypiques. Le diagnostic demeure basé sur la sérologie, mais l'apport diagnostique de la PCR est grandissant.

340/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Méningite à *Francisella tularensis*

O. Zamfir[1], V. Chieux[1], Z. Benseddik[1], J.L. Brault[2], A. Tehindrazanarivelo[2], A. Chartier[2], N. Ravanel[3], I. Pelloux[3], M. Maurin[3]
[1]Laboratoire de bilogie médicale [2]Service de neurologie, CH, Chartres [3]Laboratoire de bactériologie, CHU, Grenoble, France

Introduction : Nous présentons l'observation d'une méningite à *Francisella tularensis*.

Observation : Un homme de 68 ans est hospitalisé pour confusion fébrile, sans signes neurologiques focalisés. L'examen cytobactériologique du LCR montre 1220 éléments/mm^3 avec une prédominance de cellules mononucléées (80% de lymphocytes et 14% de monocytes), l'examen direct est négatif. Le patient est traité initialement par l'association de aciclovir, ceftriaxone et vancomycine. La culture sur gélose chocolat du LCR permet d'isoler, après 72 heures d'incubation sous CO_2, de très petits coccobacilles à Gram négatif, catalase faiblement positive, oxydase négative. Les caractères glucose, fructose, lipase et GGT sont positifs en galerie api NH (*BioMérieux*). La carte HN Vitek-2^R (*BioMérieux*) décode *Francisella tularensis*. La souche est envoyée au CNR des *Francisella* qui identifie (séquences ADNr16S et ITS) *Francisella tularensis subsp. holarctica*. Les sérologies (microagglutination et immunofluorescence) pratiquées au CNR des *Francisella* sont fortement positives. Après un traitement prolongé par gentamicine, chloramphénicol et ciprofloxacine, l'évolution est favorable.

Discussion : Cette observation est intéressante car la méningite est une présentation clinique atypique et rare de tularémie, et le diagnostic est ici confirmé par isolement en culture de *Francisella tularensis* à partir du LCR. En l'absence de contexte clinique ou épidémiologique évocateur de tularémie, le diagnostic bactériologique de cette maladie demeure particulièrement délicat. Par ailleurs, le délai nécessaire à l'identification de *F. tularensis* expose le personnel de laboratoire manipulant ces cultures à un risque infectieux notoire. Dans notre cas, le terrain fragilisé du patient avec multiples comorbidités

semble expliquer la survenue de cette forme grave de la maladie. Une anamnèse orientée a permis d'envisager à posteriori des hypothèses sur l'éventuel mode de contamination chez ce patient.

341/65A 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Identification de *Brucella* spp. par PCR en temps réel : une étude comparative des gènes cibles *IS711*, *bcsp31* and *per* et étude de phylogénie avec le genre *Ochrobactrum*

L. Bounaadja[2-1], D. Albert[3], B. Chenais[2], S. Henault[3], M.S. Zygmunt[4], S. Poliak[1], A. Cloeckaert[4], B. Garin-Bastuji[3]
[1]Laboratoire Départemental de la Sarthe [2]Laboratoire de Biologie et Génétique Evolutive; EA2160 Mer Molécules Santé, Université du Maine, Le Mans [3]Laboratoire Communautaire de Référence de Brucellose, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments (afssa), Maisons-Alfort [4]Equipe "Plasticité Génomique, Biodiversité, Antibiorésistance (PGBA)", UR1282 - Infectiologie Animale, Santé Publique (IASP-311) ; INRA, Nouzilly, France

Le genre *Brucella* appartient au groupe des α-proteobacteries et inclut 6 espèces pathogènes de classe III (*B.abortus*, *B. canis*, *B. melitensis*, *B. neotomae, B. ovis* et *B. suis*) infectant les animaux (avortement, stérilité…) et accidentellement l'homme, pour certaines d'entre elles. Récemment, de nouvelles espèces ont été isolées chez les mammifères marins et chez le campagnol *et publiées sous les noms respectifs de B. ceti*, *B. pinnipedialis* et *B. microti*. Nous avons évalué les performances d'une PCR en temps réel (PCR-TR) ciblant les monogènes : *bcsp31* (*brucella* cell surface protein), et *per* (perosamine synthetase) et le gène IS*711* (insertion sequence). Ce dernier est présent en plusieurs copies et est donc à même d'augmenter la sensibilité de la PCR. Ces 3 PCR-TR ont été comparées avec des PCR conventionnelles nichées ciblant les mêmes gènes et basées sur des amorces décrites dans la littérature. La PCR-TR se montre plus rapide et spécifique que la PCR conventionnelle. Vingt six souches de *Brucella* et 68 souches d'autres micro-organismes, reliés au niveau génétique ou antigénique ou potentiellement responsables d'avortement chez l'animal, ont été utilisées dans cette étude pour évaluer la spécificité. Toutes les PCRs sont parfaitement spécifiques. Cependant, en PCR conventionnelle, les amorces ciblant le gène *bcsp31* amplifient *Ochrobactrum intermedium* en PCR simple. L'IS*711* apparaît comme étant le meilleur candidat de par sa sensibilité élevée. Une série de prélèvements biologiques d'animaux (sains et infectés par *Brucella*) ont donc été testés en PCR-RT sur les 3 cibles afin de valider cet outil de détection. L'IS*711* montre une sensibilité de détection des *Brucella* supérieure aux 2 autres gènes.

Dans un deuxième temps, une étude de phylogénie sera effectuée entre le genre *Brucella* et *Ochrobactrum*. Des RFLPs, des western Blots, des ELISAs et des PCRs basées sur des gènes spécifiques à *Brucella* : *bp26*, IS*711* et la séquence BRU-RS1 nous permettront de savoir si le genre *Ochrobactrum* fait finalement partie du genre *Brucella.*

342/65A 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation of the NucliSENS easyMAG extraction system associated with real-time nucleic acid sequenced-based amplification on NucliSENS EasyQ for the detection of *Mycoplasma pneumoniae* in respiratory specimens

E. Bessede, C.M. Bébéar, S. Pereyre
Laboratoire de Bactériologie EA3671, Infections humaines à mycoplasmes et Chlamydia, Université Victor Segalen Bordeaux 2 et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Respiratory specimens are highly diverse, and are known to contain inhibitory substances that can interfere with subsequent amplification.

We evaluated the automated nucleic acid extraction NucliSENS easyMAG system and the real-time isothermal nucleic acid sequence-based amplification (NASBA) NucliSENS EasyQ analyser (bioMérieux, France) to detect *Mycoplasma pneumoniae* in respiratory specimens. We also compared the performance of this combination with our routine method.

Firstly, three pre-treatment protocols of respiratory samples before nucleic acid extraction with easyMAG and detection of *M. pneumoniae* with EasyQ were compared. Pre-treatments with DNase alone, DNase and proteinase K or DNase, proteinase K and heat inactivation were evaluated on 74 *M. pneumoniae*-positive and-negative samples including sputa, tracheal or bronchial secretions, bronchoalveolar liquids, nasopharyngeal aspirates and throat swabs. Detection of the internal control included in the EasyQ assay was used to validate negative results. No significant difference was observed between the three pre-treatments on positive samples. However, the three-step pre-treatment gave significantly fewer invalid results than the other two on negative samples. Moreover, according to further assays, pre-treatment did not appear to be necessary on bronchoalveolar liquids, nasopharyngeal aspirates and throat swabs.

Secondly, the performance of the automated NucliSENS easyMAG / EasyQ combination were compared to the automated nucleic acid extraction MagNAPure (Roche) method system associated with our in-house real-time PCR targeting the P1 adhesin gene. Sensitivity and results on 30 positive samples were compared. The easyMAG / EasyQ combination was able to detect *M. pneumoniae* in a 10-fold more diluted nucleic acid extract than the in-house system. Results on positive samples were not significantly different.

In conclusion, the easyMAG / EasyQ combination is an interesting tool for the detection of *M. pneumoniae* in respiratory specimens, regarding sensitivity, standardisation and the presence of an internal control. Pre-treatment of sputa, tracheal and bronchial aspirates is recommended before *M. pneumoniae* detection.

343/65A 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Comparaison de trousses de PCR en temps réel commercialisées pour la détection de *Mycoplasma pneumoniae* dans des échantillons respiratoires

A. Touati[2], A. Racinne[1], A. Ben Hassen[2], C.M. Bébéar[1], S. Pereyre[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie EA3671, Infections humaines à mycoplasmes et Chlamydiae, Université Victor Segalen Bordeaux 2 et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France [2]Service des Laboratoires, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis, Tunisie

Objectif : *Mycoplasma pneumoniae* (Mpn) est responsable de nombreuses infections respiratoires et un diagnostic rapide est nécessaire pour optimiser le traitement antibiotique de cette bactérie naturellement résistante aux β-lactamines. Sa culture étant fastidieuse, les techniques de biologie moléculaire présentent un intérêt majeur. Nous nous sommes proposé de comparer 5 trousses commercialisées de PCR en temps réel pour la détection de Mpn dans des échantillons respiratoires, avec la technique de PCR en temps réel « maison » utilisée au CHU de Bordeaux.

Matériels et Méthodes : 70 échantillons respiratoires de nature variée ont été sélectionnés rétrospectivement, 20 négatifs pour Mpn, et 50 positifs en PCR, en culture ou issus de patients présentant des IgM spécifiques de Mpn. L'extraction a été réalisée avec le kit QIAamp DNA Mini Kit (Qiagen). Les 5 trousses, Mycoplasma pneumoniae ASR Cepheid, Mycoplasma pn/ Chlamydophila pn Diagenode, MYCOPLASMA pn. Q-PCR Alert kit Nanogen, Simplexa Mycoplasma pneumoniae Focus Diagnostics et Venor *Mp*-QP ont été comparées avec la technique Taqman « maison » ciblant l'adhésine P1. Tous les tests ont été réalisés sur LightCycler 480 (Roche), ou sur SmartCycler II (Cepheid) pour la trousse Cepheid. Un prélèvement était considéré comme positif en PCR s'il était détecté par au moins 2 techniques différentes. La sensibilité et la spécificité analytique ont été étudiées pour chaque trousse.

Résultats : La limite de détection était de 4,3 10^{-7} ng/µl d'ADN de culture de Mpn pour la technique « maison », les trousses Nanogen et Cepheid, 2,4 10^{-6} ng/µl pour la trousse Venor et 4,3 10^{-6} ng/µl pour les trousses Diagenode et Focus. Aucune amplification non spécifique n'a été détectée. Quarante-deux prélèvements ont été confirmés positifs en PCR. Les meilleures performances ont été retrouvées avec la technique « maison » et la trousse Nanogen, avec respectivement 100% et 98% des prélèvements positifs détectés, suivies par Focus (90%), Diagenode (86%), Cepheid (83%) puis Venor (62%).

Conclusion : La plupart des trousses testées ont présenté des performances correctes pour la détection de Mpn en comparaison avec la technique « maison ». Toutes autorisent des résultats rapides, spécifiques et validés par la présence de contrôles internes d'amplification.

344/65A 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

***Chlamydia trachomatis* serological discordances between enzyme immunoassay (EIA) and microimmunofluorescence (MIF)**

B. Bergues, F. Eb, C. Cannau, H. Mammeri
Service de Bactériologie, CHU d'Amiens, Amiens, France

Objectives: Serology remains a useful tool to diagnose invasive genital infections caused by Chlamydia trachomatis. Although the microimmunofluorescence (MIF) technique retains an established position as gold standard, the Enzyme-Immunosorbent Assay (EIA), which is time-less consuming, is becoming widely distributed. To improve their performances, peptide-based methods, which use species-specific peptide sequences, have recently been introduced. This study was undertaken to evaluate the positive predictive value of a commercially peptide-based method using the microimmunofluorescence as a reference technique.

Materials and Methods: 728 serums from patients hospitalised at the Amiens hospital (Amiens, France) during 2007 were tested with the Chlamydia trachomatis-IgG-ELISA plus kit (Medac™). All the sera that had been found positive or in the grey zone, were subsequently controlled using two MIF techniques, the SeroFIA™ Chlamydia trachomatis kit (Savyon Diagnostics™) and an in-house MIF technique. Sera displaying titers ≥ 1/64 for IgG isotype were considered positive.

Results: 86 and 13 sera were found positive or in the grey zone with the peptide based method, respectively. Amongst the positively-detected sera, 71% were negatively controlled by microimmunofluorescence.

Conclusion: A major discordance was observed between the peptide-based method and the microimmunofluorescence technique. Moreover, some sera displayed a very high EIA index whereas the related MIF titers were above 1/32 suggesting a lack of specificity of the peptide-based method. Our results suggested that the peptide-based method should be used as a screening test which requires a confirmation for all positive results. The combination of EIA and MIF could help routine microbiological laboratories to diagnose chlamydial infections more reliably.

345/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Apport de la PCR en temps réel *Chlamydia trachomatis/Neisseria gonorrhoeae* (Abbott RealTime™ CT/NG) dans le diagnostic des infections bactériennes sexuellement transmissibles : expérience du CHRU de Tours

G. Baty, A. Holstein, V. Morange, L. De Visser, L. Mereghetti, A. Goudeau, P. Lanotte
Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Bretonneau, CHRU de Tours, Tours, France

Objectif : *Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* sont les deux bactéries principalement responsables d'infections bactériennes sexuellement transmissibles (IBST) en France et elles sont actuellement en recrudescence (1, 2). Le test Abbott RealTime™ CT/NG, est un test de PCR en temps réel capable de détecter simultanément la présence de *C. trachomatis* et de *N. gonorrhoeae*. L'objectif de cette étude a été d'apprécier l'apport de cette technique diagnostique depuis sa mise en place au sein de notre laboratoire.

Méthodes : de juin 2007 à juin 2008, 644 patients ont été testés dans des contextes d'urétrites, de douleurs pelviennes, de salpingites ou de dépistage plus large chez les personnes ayant un comportement sexuel à risque. Les femmes représentaient 88,8% de la population du fait d'un recrutement lié à la proximité du service de gynécologie de l'hôpital (9000 consultations et 2000 hospitalisations par an). Après extraction de l'ADN des échantillons sur l'extracteur automatique m2000sp (Abbott), l'amplification est effectuée sur l'appareil m2000rt (Abbott).

Résultats : les résultats des 681 tests effectués (plusieurs prélèvements réalisés pour certains patients) ont été analysés. *C. trachomatis* a été détecté chez 70 patients, soit 11% de la population testée. *N. gonorrhoeae* a été retrouvé chez 10 patients, soit 1,55% des patients. Ces deux pathogènes ont été retrouvés simultanément chez 5 patients. La PCR en temps réel d'obtenir un résultat dans la journée pour *N. gonorrhoeae*, contre 2 à 5 jours pour la culture, avec une détection plus sensible. En effet, 5 des 10 gonocoques n'ont été détectés que par biologie moléculaire. En ce qui concerne *C. trachomatis*, le kit Abbott RealTime™ CT/NG a permit de réduire fortement le nombre de résultats ininterprétables dus à la présence d'inhibiteurs (0,3% contre 2,5% avec la technique de PCR utilisée précédemment).

Conclusion : Cette technique rapide et sensible permettant de détecter simultanément ces deux germes nous est apparue comme un atout pour le diagnostic des IBST. De plus, la nouvelle version du test permet de détecter le nouveau variant Suédois qui pourrait diffuser largement dans la population (3).

1. Gallay A et al.. Les infections à *Neisseria gonorrhoeae* en France en 2006 : progression importante chez les femmes et augmentation persistante des résistances à la ciprofloxacine. Bull Epidemiol Hebd, n°5/6 2008.

2. Goulet V et al. Augmentation des diagnostics d'infections à *Chlamydia trachomatis* en France : analyse des données Renachla de 2003 à 2006. Bull Epidemiol Hebd, n°5/6 2008.

3. Herrmann B et al. Emergence and spread of *Chlamydia trachomatis* variant, Sweden. Emerg Infect Dis, 2008;14:1462-1465.

346/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Détection de *Chlamydia trachomatis* et prise en charge au centre de dépistage anonyme et gratuit d'Amiens : bilan de l'année 2007

J. Merlin[2], A.S. Monge[2], F. Hamdad[3], F. Millat[2], F. Berger[2], C. Avlessi[2-1], O. Sannier[2], G. Chaby[2-4], F. Eb[3], J.L. Schmit[2]
[1]Centre de gynécologie obstétrique [2]Centre de prévention des maladies transmissibles [3]Laboratoire de bactériologie [4]Service de dermatologie-vénéréologie, CHU, Amiens, France

Objectif de l'étude : Estimer la prévalence de l'infection à *C.trachomatis* chez des consultants d'un centre de dépistage anonyme et gratuit du VIH (CDAG) ainsi que les caractéristiques de la population infectée et traitée.

Méthode : Les 1817 personnes (sex ratio=1) venues pour un test VIH au CDAG d'Amiens en 2007 ont bénéficié d'un dépistage de *C.trachomatis* par PCR Cobas Amplicor (Roche) sur les urines 1er jet et au cas par cas, sur un prélèvement génital.

Des données concernant les sujets dépistés positifs ont été recueillies à partir de leur dossier. Une analyse descriptive a été réalisée.

Résultats : *C.trachomatis* a été détecté chez 94 sujets (prévalence globale de 5,2% [IC95% : 4,2 ; 6,2], 5,6% chez les femmes, 4,7% chez les hommes) dont 72% étaient totalement asymptomatiques.

Le sex ratio est de 0,8, l'âge moyen des femmes est de 22 ans et 10 mois, celui des hommes de 25 ans et 9 mois (p=0,004). L'âge médian est de 23 ans. On dénombrait autant d'étudiants que de personnes en activité professionnelle (respectivement 41 et 42%) et 93% étaient hétérosexuels. Dans 83% des cas, on comptait au moins deux partenaires dont 68% dans les 12 mois précédents. Dix sujets (11%) ont signalé un antécédent d'infection sexuellement transmissible dont 7, une infection à *C.trachomatis*. Deux patientes avaient au moins un antécédent de fausse couche ; aucune n'a signalé de grossesse extra utérine.

Dans 85% des cas, le traitement utilisé fut de l'azithromycine 1g en prise unique. Dans 41,5% des cas, au moins le dernier partenaire a été dépisté. Un contrôle de l'efficacité du traitement a été effectué au centre pour 47 patients (50%).

Conclusion : La prévalence observée est comparable à celles retrouvées dans la littérature malgré des populations et des techniques de prélèvement non superposables.

Un effort doit être fait pour le dépistage des partenaires et les contrôles post traitement.

347/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Rapid molecular genetic assay for direct identification of *Bordetella* from patients specimens

M.F. Prère, F. Bertin
Laboratoire de Bactériologie, CHU de Toulouse, Toulouse, France

Background: Biological diagnosis of whooping cough is more and more necessary to confirm respiratory tract infection. Indeed clinical symptoms are variable especially in adolescents and adults which contaminate babies too young to be vaccinated. Early diagnosis is essential in nursery to prevent an outbreak. Using cultures or serological methods whooping cough is under diagnosed. The PCR assay proved highly sensitive for the diagnosis of pertussis.

Objective: We used a new test (GenoQuick® Bordetella (GQB), Hain Life Science, Germany) which permits the fast molecular genetic identification of *Bordetella pertussis* and *parapertussis* direct from patients specimens: swabs from nose or throat.

Method: The test was performed on 40 specimens for 3 months. Patients were from 1 month to 65 years old and most of them were young children admitted in paediatric emergency with paroxysmal cough or prolonged cough.

The operating procedure described by the manufacturer includes 3 phases, i.e.1- DNA extraction from swab, 2- amplification and 3-revelation on a dipstick. In the primer/nucleotides mix of amplification reaction specific probes are included; they are hybridized by the single stranded amplicons. These complexes then selectively bind to the test band and are visualised by a gold labelling.

Results: The positives results (26/40) correlated with the clinical suspicion in 20 cases and agreed with the feeling of clinician in 6 cases even if none paroxysmal cough were observed; 2 cases were no vaccinated neonates with uncharacteristic respiratory symptoms. These results could be confirmed using classic in-house PCR in some cases.

Conclusion: The GQB allows very simply biological confirmation of whipping cough. No specific equipment is required, except a thermocycler. Absence of electrophoresis system, of ethidium bromide staining and imaging system is a clear-cut advantage of the GQB. The GQB can easily be incorporated into routine diagnostics. In addition, the short testing time (about one hour) optimises diagnosis and treatment orientation.

The GQB test completely complies with all requirements for a fast, easy, valid test very helpful in particular to paediatrician in paediatric emergency unit.

348/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Intérêt de la PCR en temps réel dans le diagnostic bactériologique des endocardites infectieuses

R. Boussier, F. Denis, F. Garnier
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

Objectif : Comparer une PCR en temps réel ARN 16S à la culture pour l'identification des bactéries responsables des endocardites infectieuses.

Méthode : 82 valves, isolées de patients atteints d'endocardites infectieuses d'après les critères de Duke, ont rétrospectivement été étudiées par biologie moléculaire. Les valves ont été broyées à l'aide du Fast Prep, l'ADN a ensuite été extrait et purifié à partir du broyat par le kit QIAamp DNA Mini kit (Qiagen). Une réaction de PCR en temps réel à l'aide du Smart Cycler a été réalisée sur chacun des ADNs purifiés en utilisant les amorces 91E et 13BS qui permettent l'amplification spécifique d'un fragment interne au gène codant pour l'ARN 16S ribosomal d'environ 490pb. Pour toute PCR positive, le fragment amplifié a fait l'objet d'un séquençage. Le résultat a alors été comparé à celui de la culture.

Résultats : la culture a permis d'obtenir une identification bactérienne pour 22 cas, soit 26,8% des patients. La PCR a été positive pour 18 cas, soit 22% des patients. La culture et la PCR étaient concordantes pour 5 cas sur 22. Enfin, la PCR a permis une identification bactérienne pour 13 prélèvements dont la culture était négative. Au total, si on associe culture et PCR, on obtient une identification bactérienne dans 35 cas, c'est-à-dire 42,7% des patients.

Conclusion : la PCR en temps réel ARN 16S apparaît comme une méthode complémentaire de la culture pour l'identification de la bactérie responsable des endocardites infectieuses. Il est à noter que la culture, bien que moins sensible surtout lorsque le patient a déjà reçu des antibiotiques, reste la méthode de référence puisqu'elle permet ainsi de pouvoir réaliser un antibiogramme sur toute culture positive.

349/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Mise au point d'une méthode de PCR en temps réel pour la détection de *Kingella kingae* dans les liquides articulaires

P. Lehours[3-1], O. Richer[2], F. Babre[2], P. Pillet[2], S. Boisset[4], A.M. Freydiere[4], A. Ferroni[5], C. Burucoa[6], F. Mégraud[3-1], A. Ménard[3-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie, CHU Pellegrin [2]Hôpital Des Enfants, CHU Pellegrin [3]Inserm U853, Bordeaux [4]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon [5]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris [6]Laboratoire de Microbiologie, CHU de Poitiers, EA 3807, Poitiers, France

Kingella kingae (*K. kingae)* est la deuxième bactérie en cause dans les arthrites de l'enfant. Son isolement étant difficile, cette infection est probablement sous estimée. La PCR pourrait donc constituer un outil performant pour le diagnostic de cette infection et en améliorer la prise en charge thérapeutique.

Le génome de *K. kingae* n'est pas connu, mais une toxine a été récemment décrite et la séquence de son gène est maintenant connue. Nous avons mis au point une PCR en temps réel ciblant le gène *rtx*A codant pour cette toxine et utilisant la chimie SYBR Green avec l'analyse du point de fusion (Tm) des produits de PCR. La spécificité de cette PCR a été validée avec de nombreuses souches de bactéries de genre différent (n=30) et des souches d'espèces proches telles que *Kingella oralis*, *Kingella denitrificans* et *Kingella potus*.

L'efficacité de cette PCR a aussi été validée avec succès sur 13 souches de *K. kingae* et 25 prélèvements de liquides articulaires trouvés négatifs (n=10) et positifs (n=15) pour la recherche de *K. kingae* effectuée par PCR en temps réel ciblant le gène *cpn*60 (Pediatr Infect Dis J. 2007 - 26:377-81) et le gène 16S ADNr (Clin Microbiol Infect. 2007 Apr;13(4):419-23) avec l'avantage de ne pas nécessiter de séquençage. Elle est applicable sur différents thermocycleurs de PCR tels que l'AbiPrism (Applied Biosystem) ou le Smart Cycler (Cepheid, Instrument Laboratories).

L'identification de *K. kingae* conditionne la prise en charge des enfants atteints de cette infection et permettra d'administrer rapidement une antibiothérapie adaptée. Une étude prospective est actuellement réalisée afin d'évaluer en conditions réelles les performances de cette nouvelle PCR.

350/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Analyse des nouveaux cas de syphilis diagnostiqués de 2003 à 2006 au CHU de Nîmes

A. Minchella[2], A. Sotto[2], J.P. Lavigne[1]
[1]Service de Bactériologie [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Caremeau, Nîmes, France

Introduction : Depuis 2000 une recrudescence des infections sexuellement transmissibles (IST), et en particulier de la syphilis, est constatée en France. Nous avons étudié les nouveaux cas de syphilis diagnostiqués dans notre établissement entre le 01/01/03 et le 31/12/06.

Méthode : l'étude a été réalisée rétrospectivement à partir du registre des sérologies syphilitiques du laboratoire de bactériologie. Seuls ont été retenus les nouveaux cas de syphilis diagnostiqués dans la période d'étude. Un questionnaire standardisé était alors colligé.

Résultats : Nous avons recensé 50 nouveaux cas de syphilis : 15 en 2003, 7 en 2004, 9 en 2005 et 19 en 2006. Cela concernait 10 femmes dont 4 enceintes et une enfant de 2 ans et 40 hommes dont un nouveau-né. L'âge moyen était de 46 ans [0;90] (et : 17). Il s'agissait de syphilis primaires (8 cas), secondaires (16), tertiaires (12 dont 3 associées à une uvéite, 9 à une atteinte neurologique), latentes (13) et 1 cas n'était pas précisé. 46 correspondaient à des contaminations récentes, 4 (tertiaires) à des contaminations anciennes non ou mal soignées.

Le mode de contamination était sexuel, excepté 2 cas de transmission materno-fœtale et une contamination par toxicomanie. 9 patients (dont les 4 femmes enceintes) étaient originaires d'Afrique du nord. Parmi les hommes, 22 étaient homosexuels, 13 hétérosexuels et 4 de pratiques sexuelles inconnues.

26 patients (52%) étaient co-infectés par le VIH, dont 2 infectés également par le virus de l'hépatite B et 4 par celui de l'hépatite C. Tous étaient des hommes et 22 d'entre eux avaient des pratiques homosexuelles.

Conclusion : Ces données confirment la recrudescence de cas de syphilis, notamment chez des personnes jeunes, homosexuelles. Cette étude souligne l'importance des efforts de prévention à mettre en œuvre pour enrayer la recrudescence des IST.

351/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation du test rapide Tetanos Fumouze (Sofibel) pour la détection des anticorps antitétaniques

C. Roure-Sobas, O. Raulin, L. Rego, H. Salord, F. Laurent, Y. Gille, S. Tigaud
Bactériologie, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France

Le but de cette étude est d'évaluer la performance d'un test rapide de detection des Ac antitétaniques (TETANOS FUMOUZE, Sofibel) pour évaluer le statut immunitaire des patients admis aux urgences. Le test a été comparé à un test ELISA (VIROTECH Ingen) utilisé comme test de référence et au Tetanos Quick Stick (TQS, Ingen), Tous les tests ont été pratiqués dans le même laboratoire.

Deux cents sérums issus de la sérothèque du laboratoire ont été analysés. Ces sérums proviennent de patients admis aux urgences ou de services de consultations de l'hôpital de la Croix Rousse pour lesquels le statut immunitaire vis-à-vis du tétanos a été recherché. Aucun critère de sélection n'a été retenu pour le choix des 97 premiers sérums. Les 103 sérums suivants ont été choisis pour mieux analyser les qualités intrinsèques du nouveau test rapide (sérums négatifs ou proches du seuil en ELISA)

Les validations statistiques ont utilisé le logiciel XLSTAT.

Au seuil de 0,1 UI /ml, la sensibilité du TETANOS FUMOUZE est de 70,5% et la spécificité de 100% par rapport au test de reference ELISA

L'excellente spécificité du test Tetanos Fumouze en font un test très fiable pour la décision de la mise en oeuvre d'une prophylaxie antitétanique.

La diminution du temps de lecture du test Tetanos Fumouze ramené à 10 min a pour effet une diminution de sensibilité. Dans 95% des cas la presence d'Ac est détectée en 10 min mais un délai de lecture de 30 min est nécessaire pour 5% des serums ayant un titre faible d'Ac. L'influence du temps de lecture est statistiquement significative (p<0,01).

	Elisa au seuil de 0,1 UI/MI		
Tetanos Fumouze	Protection	Pas de Protection	Total
Pas de Protection	51	27	78
Protection	122		122
Total	173	27	200

	Elisa au seuil de 0,1 UI/MI		
TQS Ingen	Protection	Pas de Protection	Total
Pas de Protection	83	27	110
Protection	90		90
Total	173	27	200

Tableaux des comparaisons des tests rapides avec l'ELISA de référence, au seuil de 0,1 UI/MI

352/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

***Helicobacter pylori* IgG: évaluation comparative de 29 dispositifs médicaux de diagnostic *in vitro* disponibles en France en 2008**

N. Charlier-Bret[1], B. Boucher[1], T.D. Ly[5], C.J. Soussy[4], F. Zerbib[3], M. Duran Cordobes[1], M. Fromage[1], F. Poisson[1], A. Courillon Mallet[2], J.D. De Korwin[2], J.L. Fauchère[2], F. Mégraud[2], J. Raymond[2], J.C. Delchier[2]
[1]Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (Afssaps), DEDIM [2]Groupe d'étude français des Helicobacter [3]Hépatogastroentérologie, Hôpital St André, Bordeaux [4]Bactériologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil [5]Laboratoire Biomnis, Ivry-sur-Seine, France

Dans le cadre de ses missions de contrôle du marché des produits de santé, l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (Afssaps) a réalisé en 2008 une évaluation comparative de 29 Dispositifs Médicaux de Diagnostic In Vitro permettant le diagnostic sérologique IgG de l'infection à *Helicobacter pylori* (17 tests ELISA, 12 tests de diagnostic rapide).

Ce contrôle du marché a comporté une évaluation de la conformité des notices aux exigences essentielles de la directive Européenne 98/79/CE et une évaluation de la sensibilité et de la spécificité de chaque dispositif, en utilisant un panel de 96 sérums natifs recueillis en prospectif chez des patients adressés pour une endoscopie haute avec biopsies. La culture, la recherche de gastrite active par anatomopathologie, le test rapide à l'uréase, et, dans certains cas, le test respiratoire à l'urée ont permis de classer ces sérums en 45 positifs (patients infectés par *H.pylori*) et 51 négatifs (patients non infectés).

Pour les tests ELISA, les résultats ont montré une sensibilité diagnostique allant de 86,7 à 100%, une spécificité diagnostique de 52,9 à 90,2% et une performance diagnostique (pourcentage de sérums bien classés) allant de 70,8 à 90,6%. La valeur prédictive négative (VPN) est en général excellente avec une moyenne de 96,1%. Pour les tests de diagnostic rapide, les résultats ont montré une plus grande hétérogénéité avec une sensibilité diagnostique allant de 55,6 à 97,8%, une spécificité diagnostique de 52,9 à 90,2%, une performance diagnostique de 66,7 à 84,4% et une VPN de 68,3 à 97,5%.

Ces résultats permettent de mieux situer le niveau de performance des 29 tests sérologiques de l'infection à *H.pylori* testés.

353/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Dépistage de la leptospirose : performance de la trousse Serion Elisa *classic* Leptospira IgM

S. Trombert-Paolantoni, P. Thomas, F. Hermet, V. Clairet, L. Maury
Microbiologie, Laboratoire Pasteur Cerba, Cergy Pontoise, France

Objet de l'étude : Evaluer la sensibilité et la spécificité de la détection des IgM anti-Leptospira avec la trousse Sérion Elisa *classic* en comparaison de la trousse Panbio ELISA.

Méthodes : 23 sérums de patients dont la PCR Leptospira en temps réel avec sondes Taqman est positive et 19 sérums positifs par la technique de microagglutination de Martin et Pettit (M.A.T) servent à l'étude de la sensibilité. La spécificité est évaluée en comparaison de 49 sérums négatifs en M.A.T. et de sérums positifs en IgM anti-Borrelia (n=10), en IgM anti-VCA (n=10) et en IgM de la syphilis (n=10).

Resultats obtenus : 14/23 (61%) des sérums de patients positifs en PCR et

16/19 (84%) des sérums positifs en M.A.T. présentent des IgM. La concordance est de 95% avec la trousse Panbio. Les sérogroupes Icterohaemorrhagiae, Grippotyphosa, Australis, Tarassovi, Canicola, Sejroe, Patoc et Cynopteri sont détectés. 38/49 (77%) des sérums négatifs en M.A.T. sont négatifs en IgM Sérion. Les résultats sont concordants avec la trousse Panbio dans 31/49 (63%) cas. Les 18/49 cas discordants entre les 2 trousses correspondent à un résultat positif en IgM Panbio et négatif en IgM Sérion. Des réactions sérologiques croisées sont observées plus fréquemment avec les IgM syphilis (5/10) qu'avec les IgM anti-VCA (2/10) et les IgM anti-Borrelia (1/10).

Conclusion : La trousse Sérion présente une sensibilité équivalente et une meilleure spécificité que la trousse Panbio. La présence d'IgM est détectée dans 61% des cas de leptospirose diagnostiquée par la PCR.

354/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Quantification de *Legionella pneumophila* par culture et par PCR-en temps réel sur des échantillons d'eaux de réseau

L. Cavalié[2], S. Pécastaings[4], J. Abrador[2], A. Baron[3], S. Hallier[1], C. Roques[2-4], N. Marty[2]
[1]Société GeneSystems, Bruz [2]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU [3]DDASS 31 [4]Laboratoire de Bactériologie, Faculté de pharmacie, Toulouse, France

Le but de cette étude est de comparer la quantification de L. pneumophila par PCR en temps réel (GeneSystems), selon la norme XP T90-471, au dénombrement de L. pneumophila par culture (NFT 90-431, 2003) afin d'envisager des seuils d'actions à partir de résultats rapides obtenus par PCR temps réel.

Des prélèvements ont été réalisés en différents points d'un réseau d'eau chaude sanitaire (ECS) d'une agglomération après purge. Ce réseau avait été préalablement désinfecté.

Au total 64 échantillons de 2 L ont été analysés. La méthode GeneSystems comprend une préparation d'ADN avec un extracteur semi-automatisé, le GeneExtract, et une PCR temps réel avec un thermocycleur dédié, le GeneDisc Cycler V2. Les limites de détection (Ld) et de quantification (Lq) sont respectivement de 170 UG/L (Ldp) et 830 UG/L (Lqp) pour la PCR et de 50 UFC/L (Ldc) et 250 UFC/L (Lqc) pour la culture.

Au niveau qualitatif, les résultats obtenus sont les suivants :

- 54 échantillons sont concordants par les deux méthodes (84,4%) : 27 échantillons (42,2%) négatifs (Ld) par les deux méthodes.

- Les 10 échantillons restants (15,6%) sont négatifs en culture et positifs par PCR (de < UG 8000 à>

Trois extraits d'ADN ont été dilués au 1/10ème pour lever les inhibitions PCR.

Sur les 22 échantillons faiblement positifs en PCR (< L. UFC 5400 1900 de concentrations des présentent restants 3 Les guide. valeur comme admise communément L,

Au niveau quantitatif, sur les 27 échantillons positifs par les deux méthodes, 20 (74,1%) ne présentent pas de différences significatives de quantification (variations comprises entre +/- 0,5Log).

L'ensemble de ces résultats montre une bonne correspondance entre PCR et culture. Notamment, un résultat PCR négatif est corrélé à un résultat négatif en culture. Cela représente un atout essentiel pour une plus grande réactivité dans la gestion du risque légionelle dans les établissements hospitaliers recevant des patients jugés à haut risque. Ainsi, un résultat >1000 UG/L permet de déclencher une action de maintenance et un résultat < d'un l'efficacité confirmer permet>

355/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation d'un milieu sélectif pour isolement de *Stenotrophomonas maltophilia*

C. De Gialluly, J. Rosin, V. Abraham, F. Lartigue, N. Van Der Mee, A.S. Domelier, R. Quentin
Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Trousseau, Tours, France

Stenotrophomonas maltophilia (Sm) est de plus en plus souvent isolé d'expectorations de patients atteints de mucoviscidose. *Sm* est rarement seul mais souvent associé à *Pseudomonas aeruginosa (Pa)* et/ou *Staphylococcus aureus (Sa)*. Le repérage de cette bactérie dans un environnement dense (10^6 UFC/mL), polybactérien est par conséquent difficile. L'utilisation d'un milieu sélectif pourrait faciliter son repérage.

Pour juger de l'aide apportée par un tel milieu, nous avons testé l'utilisation d'un milieu CLED additionné de vancomycine, d'imipénème, d'amphotéricine B proposé par M Denton et KG Kerr* (milieu VIA) parallèlement à nos milieux habituels non sélectifs (CLED) entre janvier à juillet 2008.

Sur 399 prélèvements (139 patients), 31 (7,8%) ont été positifs : i) 18 *Sm* ont été isolés sur milieu VIA et CLED ; ii) 10 *Sm* n'ont été retrouvés que sur milieu VIA avec des concentrations allant de 10^4 UFC/mL à 10^7 UFC/ mL pour 5 d'entre eux et une flore associée constituée de *Pa, Pa* muqueux et/ou de *Sa* à plus de 10^5 UFC/mL ; et iii) 3 *Sm* n'ont été détectés que sur CLED avec des concentrations faibles de 10^3 UFC/mL et une flore associée constituée de *Sa* et/ou *Haemophilus influenzae* à faible concentration ($\leq 10^3$ UFC).

Au total, le milieu VIA permet d'améliorer la détection de *Sm* quand la flore associée est abondante ou constituée de *Pa*. Néanmoins, l'usage du CLED sans antibiotique doit être conservé ; il permet de détecter de faibles concentrations de *Sm* dont la croissance pourrait être ralentie par les antibiotiques.

* Kerr KG, Denton M, Todd N, Corps CM, Kumari P, Hawkey PM. A new selective differential medium for isolation of *Stenotrophomonas maltophilia*. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1996;15:607-10.

356/65A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

La mise au point d'un milieu sensible, spécifique et prédictif de recherche de *Stenotrophomonas maltophilia* dans l'environnement de soins

C.C. Adjidé[2], A. De Meyer[2], M. Weyer[2], O. Obin[2], F. Lamory[2], C. Lesueur[1], L. Trouillet[2], M. Biendo[2-1], O. Ganry[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Unité d'hygiène et d'épidémiologie hospitalière, Service d'hygiène d'épidémiologie et de santé publique, CHU, Amiens, France

Objectifs : Mettre au point et estimer les caractéristiques intrinsèques de SM2i (S. maltophilia Selective Medium), milieu sélectif, spécifique, valide pour la recherche de *Stenotrophomonas maltophilia* (Smalto) dans l'environnement de soins.

Matériel et Méthode : Mise au point, dans le cadre d'un projet hospitalier de recherche clinique, de SM2i composé de ≥ 30 g de Mueller Hinton (MH), ≥ 30 g de Maltose, ≥ 500 mg de DL-méthionine, bleu de bromothymol à 2%. Après autoclavage, refroidissement à 50 °C, ajustement du pH à 7,1, addition de ≥ 0,6% de vancomycine, ≥ 3,2% d'imipénème, ≥ 0,4% d'amphotéricine B, entre autres. Les géloses SM2i, coulées dans des boîtes de pétri de 90 cm de diamètre, datées et stockées à +4°C, sont utilisables pendant 4 semaines.

Sur SM2i, les Smalto apparaissent verdâtres, de vert olive à tilleul, s'entourent d'un halo bleu. SM2i a été mis au point en utilisant des souches CIP de *Smalto*, *Burkholderia cepacia*, *Pseudomonas aeruginosa* et une souche *Smalto* du laboratoire d'hygiène, géloses MH et au sang. SM2i a été validé sur des souches multirésistantes de *P.aeruginosa* et d'entérocoques résistants à la vancomycine et sur une série de prélèvements d'eau, puis évalué sur des prélèvements d'eau et d'écouvillonnages de robinets par rapport à MH+imipénème. Ses caractéristiques intrinsèques, sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive (VPP) et négative (VPN) ont été déterminées.

Résultats : Sur SM2i, de couleur verte**,** les colonies de *Smalto* sont lisses, rondes, vertes; ont un centre vert olive avec une zone périphérique plus claire ou un centre vert foncé avec une zone périphérique vert olive, et entourées d'un halo bleu. SM2i apparaît sélectif, spécifique, prédictif pour rechercher de Smalto dans l'environnement. Dans 122 échantillons d'eau froide et sur 122 écouvillons secs, les prévalences de Smalto étaient de 14,8% dans l'eau, de 10,7% sur les écouvillons. Smalto était identifié isolément dans 6,6% d'eau et 2,5% d'écouvillons et avait contaminé 17,2% des robinets. Comparativement au MH, sensibilité, spécificité, VPP et VPN de SM2i étaient respectivement de 100/100/100/100% sur l'eau contre 87,5/100/100 et 98,8% sur les écouvillons.

Conclusion : SM2i apparaît sensible, spécifique, prédictif pour rechercher Smalto dans l'environnement. L'aspect coloré des Smalto évite toute confusion d'avec d'autres bactéries multirésistantes qui pourraient se développer sur SM2i. L'évaluation de ce milieu sur des prélèvements cliniques semble donner les mêmes résultats.

357/66A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Enquête sur la connaissance du statut immunitaire varicelle chez des étudiants du CHU de Poitiers

M. Méchain[2], M.P. Peltier[1], S. Ayraud-Thevenot[2], O. Castel[2]
[1]Santé au Travail, CHU La Milétrie [2]Équipe Opérationnelle d'Hygiène, CHU La Mitétrie, Poitiers, France

Au premier semestre 2008, en Oncologie-Hématologie, trois alertes d'une possible transmission du VZV à un patient et/ou à un membre du personnel ont été signalées au CLIN. Ces épisodes ont rappelé l'importance de l'immunisation contre la varicelle du personnel travaillant auprès de patients à risque de développer une forme grave. L'objet principal de cette étude est d'estimer la prévalence de l'immunisation naturelle connue chez les étudiants en médecine et pharmacie, population difficilement suivie par le service de *Santé au Travail*.

L'objet secondaire est l'évaluation de l'acceptation éventuelle d'une sérologie, d'une vaccination et d'une restriction de stage.

L'enquête concerne les étudiants en 3ème, 4ème et 5ème années à la Faculté de Médecine (366) et de Pharmacie (158) de Poitiers. Le recueil des données est réalisé par auto-questionnaire fermé anonyme, à l'issu du dernier examen de l'année universitaire 2008.

Le taux de réponses est de 86,2% (524/608). La perception du danger est limitée car les étudiants pensent que la varicelle présente un risque mineur pour eux à 73,0% et pour le patient à 14,4%. Lors de la visite obligatoire au service de *Santé au Travail*, le carnet de santé permettrait une meilleure vision du statut mais le taux de visites est faible (52%). La varicelle a été contractée avec certitude dans 76,1% (399) des cas (90,4% avant le collège). Le doute sur le statut est de 15,5% (81). L'absence certaine de maladie représente 8,4% (44) des cas. Parmi ces deux dernières catégories : 80,8% savent que la vaccination est recommandée, 92,5% pensent qu'elle est obligatoire ou recommandée. L'intention d'accepter des mesures préventives est de 92,7% pour la sérologie et de 99,2% pour la vaccination en cas de sérologie négative.

Ces résultats apportent des éléments concrets pour décider quelle politique

adopter concernant le choix des étudiants hospitaliers pour l'application des recommandations vaccinales. Quoi qu'il en soit, il est indispensable, avant la prise de stages, de sensibiliser les étudiants sur la varicelle et de mener avec eux une réflexion éthique responsabilisante sur la transmission soignant-patient.

358/66A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

HHV6 en France. Evaluation du statut sérologique des patients hospitalisés

J.S. Casalegno, Y. Mekki, B. Lina
Laboratoire de Virologie, Centre de biologie et pathologie Est, Hôpital femme-mère-enfant, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

Objectifs : Décrire la séroprévalence de l'HHV6 pour les patients hospitalisés en France et examiner les facteurs associés à l'infection HHV6

Méthodes : Etude rétrospective, menée au laboratoire de virologie du centre de biologie et pathologie est à Lyon. Les données disponibles pour 1492 patients âgés de 0 à 106 ans testés par technique ELISA pour la recherche d'HHV6 IgG de 1996 à 2008 ont été analysé.

Résultats : La séroprévalence des patients hospitalisés en France est de 78,7% (IC 95% 76,5 à 80,7%)

Conclusion : HHV6 est une infection courante et ubiquitaire en France avec près de 80% de la population hospitalière infectée.

359/66A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Surveillance de l'évolution des souches de rotavirus responsable de gastroentérites aiguës chez l'enfant de moins de 5 ans en France entre 2006 et 2008

A. de Rougemont[2], J. Kaplon[2], P. Lebon[10], M. Lorrot[9], E. Bingen[9], A. Gagneur[1], A. Tran[1], J.L. Stephan[12], S. Pillet[12], M. Rodière[7], V. Foulongne[7], L. Fourcade[5], S. Alain[5], N. Parez[8], C. N'Guyen Bourgain[8], D. Oriot[11], G. Agius[11], D. Floret[6], B. Lina[6], A. Martinot[4], D. Hober[4], F. Huet[3], D. Gendrel[10], P. Pothier[2]
[1]CHU de Brest, Brest [2]Centre National de Référence des virus entériques [3]Service de Pédiatrie, CHU de Dijon, Dijon [4]CHU de Lille, Lille [5]CHU de Limoges, Limoges [6]Hospices Civils de Lyon, Lyon [7]CHU de Montpellier, Montpellier [8]Hôpital Armand Trousseau, APHP [9]Hôpital Robert-Debré, APHP [10]Services de Pédiatrie et Laboratoires de Virologie, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, APHP, Paris [11]CHU de Poitiers, Poitiers [12]CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

Introduction : Les rotavirus (RV) restent l'étiologie principale des gastroentérites aiguës (GEA) du jeune enfant en France et dans le monde. L'introduction récente des vaccins anti-rotaviraux nécessite la mise en place d'une surveillance étroite des infections et des épidémies à RV afin d'évaluer et surveiller la circulation des souches mais également de détecter l'émergence de nouvelles souches potentiellement à risques épidémiques.

Méthodes : Cette étude prospective a été conduite durant 2 saisons consécutives, 2006-07 et 2007-08, chez des enfants de moins de 5 ans, consultant pour une diarrhée aiguë dans les services d'urgence pédiatrique de 11 CHU. La détection des RV a été effectuée dans des selles par une technique immuno-enzymatique. Les ARN ont été extraits puis génotypés par RT-PCR sur la base de la séquence en acides aminés de leurs protéines capsidiales VP4 et VP7 (génotypes P et G, respectivement).

Résultats : Au cours des 2 saisons, 989 RV ont été génotypés dont 516 durant la saison 2006-07 et 473 durant la saison 2007-08. Les souches G1 étaient prédominantes avec 55,5% de prévalence, suivies des G9 avec 27,7%, des G2 avec 7,2% et des G3 avec 2,4%. Une association était retrouvée dans 86,8%des cas avec le génotype P[8], et 6,9% avec P[4]. Les infections mixtes ont représenté 3,9% des échantillons dont 61,5% étaient une association de souches G1/G9. La distribution des génotypes était géographiquement hétérogène, les prévalences régionales des souches G1 et G9 s'étendant de 40,7% à 73,2% et de 6,5% à 46.2%, respectivement. Enfin, 14 souches de réassortant atypiques ont été détectées : G2P[6] (*n*=1), G3P[3] (*n*=1), G3P[9] (*n*=1), G8P[6] (*n*=5) et G12P[8] (*n*=7).

Conclusion : Les souches G1 sont les principales responsables de GEA en France suivies des G9 qui demeurent le deuxième génotype le plus fréquent depuis leur émergence au cours de la saison 2004-05. En revanche, la prévalence des G2, élevée durant la saison 2006-07, est retombée au cours de la saison 2007-08 au niveau habituellement observée. La stabilité des génotypes G1 et P[8] depuis plusieurs saisons pourrait permettre d'obtenir une protection vaccinale suffisante. Néanmoins, l'émergence potentielle de souches inhabituelles telles que G8P[6] et surtout G12P[8], régulièrement observées, devra être prise en considération.

360/66A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Group A Rotavirus genomic diversity : Relationship between RNA electrophoretypes and VP7/VP4 genotypes detected between 2000 and 2007 in Tunisian children

A. Chouikha[5], M. Ben Hadj Fredj[10], I. Fodha[10], S. Ketata[10], I. Brini[11], F. Messaadi[7], M. Mastouri[4], T. Sfar[3], M. Hachicha[8], A. Bouaziz[6], F. Amri[2], A. Harbi[9], S. Bousnina[11], M. Zribi[7], N. Boujaafar[10], A. Trabelsi[10], A.D. Steele[1]
[1]MRC Diarrhoeal Pathogens Research Unit, Medical University of Southern Africa, Pretoria, Afrique du Sud [2]Pediatric Unit, University Hospital Ibn Al Jazzar, Kairouan [3]Pediatric Unit, University Hospital Tahar Sfar, Mahdia [4]Laboratory of Microbiology, University Hospital Fattouma Bourguiba [5]Laboratory of Transmitted Diseases (MDT-01), University of Pharmacy, Monastir [6]Pediatric Unit, University Hospital Tletli, Nabeul [7]Laboratory of Hygiene [8]Pediatric Unit, University Hospital Hedi Chaker, Sfax [9]Pediatric Unit [10]UR06SP20 Laboratory of Microbiology, Univerity Hospital Sahloul, Sousse [11]Pediatric Unit, Children's University Hospital, Tunis, Tunisie

Introduction: Rotaviruses are the most frequent agents associated with diarrhoea in children worldwide. Analysis of the electrophoretic mobility of the 11 segments by polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) yields a pattern which is both constant for each rotavirus group and characteristic for a particular rotavirus isolate. The group A rotaviruses can be further characterized by analysis of VP7 and VP4 genes specificities, responsible for rotavirus classification into G and P genotypes, respectively.

Material and Methods: 278 rotavirus-positive specimens detected by ELISA method were collected from Tunisian children with diarrhoea from January 2000 to December 2007. Polyacrylamide gel electrophoresis (PAGE) of dsRNA was then performed and gels were stained using silver nitrate. The extracted RNA was used for a Reverse Transcription - Polymerase Chain Reaction (RT-PCR) by use of specific VP7 and VP4 consensus primer pairs. Pearson's correlation tests were used to determine the relationship between electrophoretype pattern and molecular characteristics of the rotavirus strains (VP7 genotype, VP4 genotype, G/P combination).

Results: All 278 faecal specimens presented an electrophoretype with a characteristic 4-2-3-2 migration pattern typical of Group A rotaviruses. Among them, 12 different electrophoretypes were visualized, 7 with a long profile (L1 to L7) and 4 with a short one (S1 to S4). Rotavirus strains presented long profile in 186 cases (66.9%), short profile in 87 cases (31.3%), and mixed profiles (M) in 5 cases (1.8%). Concerning VP7 types, G2 viral strains were found to be predominant and were detected in 91 specimens (32.7%). Strains with G1, G3, G4, G8 and G9 specificities were detected in 62 cases (22.3%), 82 cases (29.5%), 13 cases (4.7%), 2 cases (0.7%) and 7 cases (2.5%), respectively. A high rate of mixed strains (21%) was also found. The results of VP4 genotyping showed a predominance of P[8] genotype which comprised half of the strains identified (139 cases, 50%). The second most commonly seen VP4 genotype was P[4], detected in 83 cases (29.9%). VP4 P[6] and P[11] were found in 31 (11.1%) and 11 (4.0%) specimens, respectively. Fourteen mixed VP4 types (5%) were detected. The vast majority of strains were typed as G2P[4] (71 cases, 25.5%), G3P[8] (71 cases, 25.5%) and G1P[8] (34 cases, 12.2%). In total, 17 different G/P combinations of rotavirus strains co-circulated in Tunisia between 2000 and 2007, reflecting the high level of genomic diversity. Electrophoretype pattern of rotavirus strains was significantly correlated with VP7 genotype (P=0.018) and with VP4 genotype specificities (P<0.001). However, no statistical significant association was found between electrophoretype and G/P combination of rotavirus strains.

361/66A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Une épidémie de rage canine à Bangui (RCA)

E. Nakouné[1], M. Digol[1], S. Mangue[1], E. Bawa[1], S. Gosseye[2], A. Le Faou[1]
[1]Arboviroses, grippe, rage [2]Vaccinations, Institut Pasteur de Bangui, Bangui, République centrafricaine

Dans les pays en développement, la rage sévit de manière endémique et elle est présente dans les agglomérations. la rage canine. A l'Institut Pasteur de Bangui, le laboratoire de la rage assure le diagnostic de l'infection tant humaine qu'animale. Depuis 1990, 887 diagnostics ont été réalisés, surtout chez le chien dont 506 étaient positifs. Après une recrudescence en 1998-2000, le nombre de diagnostics effectués avait baissé pour atteindre 2 positifs pour 8 prélèvements en 2005. Depuis une épidémie sévit de nouveau dans les localités de Bangui et Bimbo.

Matériel et méthodes : Les villes de Bangui et de Bimbo sont deux localités adjacentes et forment un ensemble de 600.000 habitants. L'habitat est constitué de maisons individuelles avec des quartiers résidentiels et des quartiers plus populaires avec une forte promiscuité. Les animaux évoluent en liberté. Des chiens errants, isolés, sont présents dans la ville.

Quand un cas de rage est déclaré, les services vétérinaires du Ministère de l'Agriculture effectuent une enquête auprès du propriétaire et récupèrent le cadavre de l'animal ou en assurent l'euthanasie et adressent à l'Institut Pasteur de Bangui la tête de l'animal. Avec une fiche de renseignements. Le diagnostic est effectué par immuno-fluorescence sur le cerveau.

Résultats : Diagnostics de rage positifs chez l'animal à Bangui (respectivement 1er et 2ème semestre) :

2005 (2, 1) 2006 (2, 5), 2007 27, 23), 2008 (11, 9 au 31/08)

Les 4 premiers cas de cet épisode étaient groupés dans le sud de la ville de Bangui le long du fleuve. En 2007 les cas étaient déjà répartis sur toute la ville.

Cette situation a perduré en 2008. L'évolution du nombre de personnes mordues et vaccinées a suivi celle du nombre de cas de chiens enragés. La mise en place en mai 2007 d'un centre de prévention et de traitement de la rage a permis de vacciner gratuitement toute personne mordue. Celle-ci s'est révélée efficace car seulement 2 cas de rage chez des enfants ont été rapportés, l'un avant a mise en place de cette vaccination et le deuxième celui d'un enfant non vacciné.

Discussion : Ces résultats sont en faveur d'une réintroduction récente de la rage dans la ville à partir d'une source extérieure qui peut être un animal sauvage. La faible couverture vaccinale des animaux explique cette propagation. Les cas sont surtout présents dans les quartiers populaires, mais les quartiers résidentiels ont également été touchés. A partir de là, malgré une densité de chiens faible, la maladie a gagné toute la ville. Cette hypothèse sera vérifiée par l'étude phylogénique des souches de Rabiesvirus.

362/66A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Phylogenetic analysis of Echovirus 30 French isolates reveals emergence of multiple new lineages and recombination events

N. Leveque[2], J. Jacques[2], F. Renois[2], D. Antona[3], B. Lina[1], L. Andreoletti[2]
[1]Virologie, Centre National de Référence des entérovirus, Lyon [2]Laboratoire de virologie médicale et moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Reims, (IFR 53/équipe EA infection et immunité de l'épithélium respiratoire), Faculté de Médecine, Reims [3]Département de Maladies Infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Background: Echovirus-30 epidemiology has been characterized by numerous genetic variants that were associated with local meningitis outbreaks or with outbreaks in distant geographical areas. However, the epidemiological and the virological features related to the emergence of these neutrotropic epidemic strains remains poorly understood.

Methods: In the present study, we retrospectively analyzed the molecular features of 23 E-30 strains isolated from aseptic meningitis cases hospitalized from April to November 2005 in the Champagne Ardenne (CA) area (Northeastern France). The viral genome regions corresponding to the 3' end of the VP1 capsid protein and the 3Dpol coding genes were amplified and sequenced. Sequences were then compared to 24 E-30 strains isolated in CA between 1999 to 2005, to 73 E-30 strains isolated in 10 French medical virology laboratories during the 2005 outbreak and to 10 other enterovirus serotypes having co-circulated during the same epidemic season in CA and their corresponding prototype strains.

Results: In VP1 capsid gene, most 2005 isolates appeared to be genetically closer to those isolated during 2000 aseptic meningitis outbreak comparatively to those identified during 2003 and 2006 non-epidemic years. Moreover, we observed the co-circulation of 4 distinct lineages (bootstraps>70%) in Champagne-Ardenne area without any difference in temporal distribution or clinical features while eleven were detected in France during the same epidemic season. At last, sequencing of the 3Dpol coding region showed that E-30 and other enterovirus isolates from the B species exhibited different phylogenetic links between VP1 and 3Dpol genomic regions suggesting frequent intra- and interserotypic recombination events within the non structural part of the genome among strains having co-circulated during the same epidemic season.

Conclusion: Using the structural protein-coding region of the viral genome, we evidenced the co-circulation of distinct E-30 lineages during the 2005 outbreak. This high genetic diversity may be a prerequisite for the emergence of new strains responsible for further potential aseptic meningitis outbreaks. Moreover, phylogenetic comparison of the VP1 and 3Dpol genes revealed independent circulation of E-30 genome fragments through frequent recombination events within the non-structural part of the viral RNA. Single VP1 gene analysis cannot accurately describe the phylogenetic relationships among enteroviruses.

363/66A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Respiratory enteroviruses can induce a specific production of CC or CXC chemokines by human bronchial epithelial cells and eosinophils

J. Jacques[1-2], J. Roux[2], F. Renois[1-2], N. Leveque[1-2], L. Andreoletti[1-2]
[1]Laboratoire de Virologie médicale et moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire [2]IFR 53/équipe EA infection et immunité de l'épithélium respiratoire, Faculté de Médecine, Reims, France

Background: Enteroviruses (EVs) are now suspected to be important etiologic agents for childhood bronchiolitis, a syndrome characterized by peribronchial mononuclear cell infiltration and release of inflammatory mediators by basophil and eosinophil leukocytes.

Methods: To identify the mechanisms that can regulate the development of airway mucosa inflammation during EV respiratory lower tract infection, we investigated the production of chemokines by EV-infected bronchial epithelial cells.

Results: Cultures of primary human small airway epithelial cell (SAEC) were infected by wild-type respiratory EV strains, demonstrating a replicative and productive infection by Coxsackievirus B5 and Echovirus 30 strains. Exposure of SAEC to gamma interferon (INF-γ), in combination with Coxsackievirus B5 and Echovirus 30 infection, induced a significant increase in RANTES production that was synergistic with respect to that obtained by EV-infection or INF-γ treatment alone. We observed that the replicative infection of the SAEC by Coxsackievirus B5 and Echovirus 30 wild-type viruses induced dose and time-dependent increases in mRNA and protein secretion for RANTES, MCP-1 and IL-8. The protein secretion of these chemokines appeared to be significantly increased at 48 or 72 hours post-infection in cultures treated by low-doses of INF-γ comparatively to mock-infected cells (P<0.001), and was correlated to the viral replication activity. SAEC-derived chemokines exhibited a strong chemotactic activity for normal human blood eosinophils. Furthermore, we observed an EV productive infection in eosinophils, which specifically released significant levels of RANTES and MCP-1, 24 hours post-infection.

Conclusion: The inflammatory process in EV-induced bronchiolitis appears to be triggered by the infection of epithelial cells and further amplified via mechanisms driven by INF-γ and by the secretion of eosinophil chemokines.

364/66A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

A propos d'une épidémie de rougeole en Champagne-Ardennes

N. Leveque[4], F. Bureau-Chalot[6], V. Brodard[4], S. Alsibai[3], S. Touche[5], D. Waku-Kouomou[2], C. De Champs[7], F. Freymuth[1], L. Andreoletti[4]
[1]Virologie médicale et moléculaire, Centre national de référence associé au CNR de la rougeole, Caen [2]CNR, Centre National de Référence pour la Rougeole, Lyon [3]Cire Est, Cellule Interrégionale d'Epidémiologie Est (Cire Est), Nancy, Nancy [4]Laboratoire de Virologie médicale et moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire de Reims (IFR 53/équipe Avenir-EA), Faculté de Médecine de Reims [5]Médecine du Travail, CHU de Reims [6]Laboratoire d'Hygiène Hospitalière, Equipe opérationnelle d'hygiène hospitalière, Centre Hospitalier Universitaire de Reims [7]Bactériologie, Laboratoire de Bactériologie du CHU, Reims, France

Introduction : La rougeole est une maladie virale hautement contagieuse à déclaration obligatoire associant fièvre, éruption maculopapuleuse et immunodépression transitoire responsable de surinfections bactériennes. Quatre-vingt six cas de rougeole ont été déclarés, en France, entre juillet 2005 et juin 2007. Nous décrivons ici une épidémie survenue à Reims (Marne) au cours des premiers mois de l'année 2008.

Méthodes : Au cours de l'épidémie, un cas clinique de rougeole a été défini par l'association d'une fièvre ≥ 38,5°C, d'une éruption maculo-papuleuse et d'au moins un des signes suivants : conjonctivite, coryza, toux ou signe de Köplick. La confirmation biologique a été ensuite obtenue par la mise en évidence d'IgM spécifiques, d'une séroconversion IgG ou par la recherche de l'ARN viral à partir de prélèvements sériques ou salivaires (CNR rougeole). En cas de détection du génome viral, un génotypage ainsi qu'une analyse phylogénétique ont été réalisés. Les données cliniques et épidémiologiques relatives à chaque patient ont été recueillies.

Description de l'épidémie : Dix-neuf cas de rougeole ont été rapportés entre le 21 Janvier et le 25 Mars 2008. Ils concernaient 11 adultes et 8 enfants âgés de 7 mois à 46 ans dont 12 n'avaient jamais été vaccinés et 7 n'avaient bénéficié que d'une injection de ROR. Le cas index était une jeune femme, mère au foyer, dont l'hospitalisation, ainsi que celle de son mari et de ses enfants, a donné lieu à une chaîne de transmission nosocomiale parmi le personnel soignant (3 cas) et les patients hospitalisés (3 cas). Une dernière génération de cas était représentée par 4 cas contaminés dans la salle d'attente d'un cabinet médical. Seize cas ont été confirmés biologiquement sur la base d'IgM sériques et/ou salivaires (12/16) ou par la mise en évidence d'une séroconversion (4/16). Sur les 19 cas diagnostiqués, 4 complications ont été observées à type de pneumopathie (2), otite moyenne (1) ou kératite (1). L'ARN viral détecté chez 11 patients a permis la construction d'un arbre phylogénétique montrant la co-circulation de deux sérotypes : D4 (10 cas) et D5 (1 cas). Les 10 souches appartenant au génotype D4 sont génétiquement proches de souches communes en Angleterre et impliquées dans une épidémie en Irlande en 2007. La souche de génotype D5 est identique aux souches impliquées dans les épidémies de rougeole en Suisse en 2006-2007.

Conclusion : Il s'agit de l'épidémie la plus importante depuis la mise en place du plan d'éradication et de notification obligatoire des cas (BEH n°41-42 du 25 octobre 2005). Elle rappelle la nécessité de conserver l'accès à un diagnostic virologique rapide par tests sérologiques (IgM sériques ou salivaires) dés la constatation de signes cliniques évocateurs. Son évolution sur un mode nosocomial souligne l'importance d'une vérification du statut sérologique (IgG) du personnel soignant vis à vis de la rougeole.

365/66A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Séroprévalence de trois agents de fièvre éruptive virale chez la femme enceinte du Centre Tunisien

N. Hannachi[1], M. Marzouk[1], S. Hidar[3], S. Elmhamdi[2], I. Harrabi[2], A. Ferjani[1], H. Khairi[3], H. Gannem[2], J. Boukadida[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie et d'Immunologie, UR02SP13 [2]Service d'épidémiologie [3]Service de gynécologie obstétrique, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Introduction : Le virus de rubéole (VR), le virus de la varicelle et du zona (VZV) et le parvovirus B19 (B19) sont des agents classiques de fièvre éruptive. L'infection par ces virus durant la grossesse est préoccupante vu le risque d'infection tératogène, congénitale ou d'atteinte maternelle grave. Notre objectif est d'étudier la séroprévalence de ces trois virus chez des femmes enceintes tunisiennes et d'évaluer la fiabilité de leur interrogatoire concernant les antécédents éruptifs.

Méthodes : Cette étude a concerné 404 femmes enceintes consultant en prénatal dans la région de Sousse. Les données épidémiologiques ont été recueillies, après consentement, grâce à un questionnaire. Les femmes ont été

interrogées sur leurs antécédents de rubéole, de varicelle ou d'infection par le B19. Une sérologie ELISA a été effectuée à la recherche d'IgG dirigés contre le VR, le VZV et le B19. L'analyse des résultats a été réalisée par le logiciel SPSS.

Résultats : Les séroprévalences des IgG anti VR, VZV et B19 étaient respectivement de 79,2%, 80,7% et 79,1%. Une association significative (p=0.042) a été notée entre niveau d'instruction (scolarisée ou non) et infection par le VR; promiscuité (plus de 2 personnes par pièce durant l'enfance) et séropositivité VZV (p=0.014) ainsi que âge (plus de 30 ans) et infection B19 (p=0.003). Le taux de malformations infantiles noté chez les femmes séropositives VZV était important sans pour autant être significatif (p=0,055). De faux antécédents de varicelle ont été rapportés pour 32,4% des femmes séronégatives vis-à-vis de ce virus. Un antécédents de rubéole n'a été rapporté que chez 7.9% des séropositives pour le VR. L'infection par le B19 n'était connue par aucune des femmes.

Conclusion : La susceptibilité des femmes tunisiennes à la rubéole, à la varicelle et à l'infection par le B19 n'est pas rare. Un renforcement des stratégies de dépistage et de vaccination contre la rubéole est recommandé. Une sérologie à la recherche de ces trois agents viraux doit systématiquement être indiquée chez la femme enceinte qui présente une éruption et ceci indépendamment des antécédents éruptifs rapportés.

366/67A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Etude de la résistance du virus *Herpes simplex* de type 2 au cidofovir chez des patients infectés par le virus de l'immunodéficience humaine de type 1

M. Guillet[2], C. Deback[2], D. Boutolleau[2], A. Foucher[1], V. Martinez[3], E. Caumes[1], H. Agut[2]
[1]Maladies Infectieuses et Tropicales [2]Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière AP-HP [3]Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Saint-Louis AP-HP, Paris, France

Le virus herpes simplex de type 2 (HSV-2) est un des deux agents de l'herpès génital. Après la primo-infection, le virus reste en latence dans les ganglions des nerfs sensitifs sacrés, à partir desquels il peut se réactiver. Chez les patients immunodéprimés, dont les patients infectés par le VIH, les réactivations sont plus fréquentes et extensives. La sévérité ainsi que la difficulté de prise en charge de ces infections constitue un risque majeur d'émergence de virus résistants aux antiviraux. Notre étude a porté sur 35 souches d'HSV-2 isolées chez 16 patients infectés par le VIH et ayant présenté des infections herpétiques sensibles ou résistantes cliniquement à un traitement par cidofovir (CDV), antiviral utilisé en troisième ligne en cas de résistance à l'aciclovir et au foscarnet. L'étude phénotypique des souches d'HSV-2 isolées au moment de la résistance clinique au CDV par une technique de PCR en temps réel n'a pas permis la définition d'une valeur seuil de concentration inhibitrice 50% ($CI50_{CDV}$) prédictive de cette résistance, les $CI50_{CDV}$ des souches cliniquement résistantes au CDV n'étant pas significativement différentes de celles des souches sensibles. L'étude génotypique par séquençage du gène de l'ADN polymérase virale des différentes souches a révélé la présence d'une part, de mutations de polymorphisme génétique naturel de l'enzyme et d'autre part, de mutations non décrites à ce jour, toutes localisées en dehors des domaines conservés de l'enzyme. Cependant, l'imputabilité de ces mutations dans la résistance au CDV n'a pas pu être mise en évidence, compte tenu des résultats non discriminants de l'étude phénotypique. Une seconde étude phénotypique réalisée en utilisant une méthode de réduction de plages de lyse, plus globale que la mesure de l'ADN viral par PCR en temps réel, n'a pas apporté de résultats plus contributifs. En revanche, cette technique a clairement montré une modification du phénotype des plages de lyse en présence de CDV, caractérisée par une diminution de la taille des plages aux concentrations les plus élevées, et dont la mécanistique reste à élucider. Des études complémentaires sont nécessaires pour identifier les mécanismes probablement complexes de la résistance de l'HSV-2 au CDV.

367/67A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Involvement of tryptophan catabolism during HIV-1 infection in human macrophages: implications of kynurenine and serotonin pathways

B. Maneglier[4-5], G.J. Guillemin[1], P. Clayette[3], P. Therond[4], P. Devillier[5], D. Dormont[2], O. Spreux-Varoquaux[4]
[1]Department of pharmacology, University of New South Wales, Sidney, Australie [2]Service de Neurovirologie, CEA [3]Laboratoire de Neurovirologie, SPI-BIO, Fontenay-aux-Roses [4]Pharmacologie, CHU de Versailles, Le Chesnay [5]UPRES EA 220, Hôpital Foch, Suresnes, France

Background and purpose: L-tryptophan (Trp) is an essential amino acid and an abundant protein component. Trp is principally catabolized in mammals in 2 pathways: biosynthesis of neurotransmitter 5-HT and the kynurenine pathway (with the first and limited enzyme : indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO)). 5-HT is a common neurotransmitter that mainly regulates platelet aggregation and leukocyte motility at the periphery. 5-HT is known to be involved in neuroinflammation and in immunoregulation. HIV target cells such as monocytes/macrophages co-localize with 5-HT releasing cell types, mostly platelets. HIV infection activates indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO). IDO activation leads to modulation of the immune response and to the formation of several neuroactive metabolites. In this study, we investigated the involvement of Trp catabolism during the *in vitro* HIV-1-infection of monocyte-derived macrophages (MdM).

Experimental approach: Primary cultures of human monocyte-derived macrophages cultured in serum-free medium were treated over 7 days with 5-HT at three concentrations (0.01, 1 and 100 mM) in combination or not with agonist and antagonist of $5\text{-}HT_{1A}$ and $5\text{-}HT_2$ receptors. After 7-days of treatment: 1) macrophages were infected with HIV-1/Ba-L then HIV replication was monitored during 16 days and expression of proviral HIV DNA was investigated by PCR after 24 hours of infection, 2) cell surface expression of HIV-1/Ba-L receptor (CD4) and co-receptor (CCR5) were investigated by flow cytometry, 3) the CCR5 ligand, MIP-1a, was quantified by ELISA in cell culture supernatants, and 4) MIP-1a mRNA expression was assessed by RT-PCR. In parallel, we aimed to dichotomise some of the mechanisms involved in the regulation of IDO during the HIV infection and replication in human MdM.

Key results: We found that *in vitro* 5-HT down-regulates membranous expression of CCR5 and lead to a decrease of HIV-1 infection, likely through its action on the $5\text{-}HT_{1A}$ subtype receptors. 5-HT is also able to induce an over-expression of MIP-1a mRNA, suggesting a transcriptional mechanism, leading to an increase production of MIP-1a secretion by human macrophages.

HIV-1 effects on IDO can be dichotomised in three main steps: 1) between 0 to 3 day post infection (dpi), both HIV replication and IDO activity became detectable and associated with an increase of intracellular IDO protein without modulation of IDO mRNA; 2) between day 3 to 10 dpi, HIV replication strongly increased while IDO activity slowly increased. IDO mRNA expression reached a peak 10 dpi with a slow decrease of intracellular IDO protein: 3) between 10 and 14 dpi, HIV replication reached a plateau and IDO its maximal activity. However, IDO mRNA and IDO protein levels decreased. IFN-g was detectable in cell culture supernatants only at 3 and 7 dpi. Inhibition of HIV replication with AZT (10 mM) led to a strong decrease of IDO activity in supernatants.

Conclusions and Implications: The involvement of Trp catabolism during the pathogenesis of HIV-1 infection seems to be very important. These data provide new evidence for the immune properties of 5-HT in the complex interactions between the immune and central nervous systems, and their possible involvement in the control of viral dissemination in brain.

368/67A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Les papillomavirus et le cancer du col, l'intérêt du génotypage au diagnostic et suivi des patientes infectées au CHU-Hospices Civils de Lyon

Y. Mekki[3], J.S. Casalegno[3], M. Bouscambert-Duchamp[3], G. Lamblin[2], E. Piaton[1], P. Mathevet[2], B. Lina[3], F. Thivolet-Bejui[1]
[1]Centre de Pathologie Est [2]Gynécologie Obstétrique [3]Laboratoire de Virologie Est, CHU-HCL, Lyon, France

La mise en place de la vaccination anti-Papillomavirus (HPV) en France depuis juillet 2007, a favorisé l'essor des techniques de biologie moléculaire et leur application en routine dans les laboratoires de biologie. De nombreuses études ont montré l'intérêt de ces techniques diagnostiques dans le dépistage et le suivi des patientes présentant un cancer du col.

Depuis janvier 2008, notre laboratoire dispose d'une technique de PCR Multiplex : «Clinical Arrays Papillomavirus Humain kits de Genomica-Biotrin» qui permet la détection de 35 types d'HPV.

Nous avons étudié 67 prélèvements cervicaux de patientes âgées de 17 à 77ans, les résultats obtenus montrent une prévalence des HPV de 58.2%, la prévalence des HPV à haut risque oncogène (HPV HR) est de 94.8% et les HPV à bas risque 12.8% (Tableau1), les patientes qui présentent une mono-infection sont majoritaire, chez les patientes qui présentent une co-infection à deux HPV et plus, la prévalence d'un HPV HR est supérieur à 100% (Tableau 2).

Nous concluons que le génotypage des HPV par la PCR Multiplex apporte des données très intéressantes sur le plan clinico-biologique et épidémiologique et son application pour le dépistage du cancer du col et en post thérapeutique devient nécessaire pour la prise en charge et le suivi des patientes.

Tableau1 : Prévalence des HPV

Prévalence	Nombre de Patientes 67
HPV positive	39(58.2%)
HPVHR	37(94.8%)
HPV PHR	15(38.4%)
HPV BR	5(12.8%)

HPV
HR : HPV Haut Risque oncogène

HPV
PHR : Probablement Haut Risque

HPV
BR : HPV Bas Risque

Tableau 2 : La fréquence des mono-infections à HPV

Type d'infection	Nombre des patientes positives	Nombre HPV HR
1HPV	24(61.5%)	12(50%)
2HPV	7(17.4%)	7(100%)
3HPV	6(15.3%)	12
4HPV	1(2.5%)	4
5HPV	1(2.5%)	2

369/67A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Intégration clonale d'un nouveau Polyomavirus dans les carcinomes de Merkel

H. Laude[2], M. Peter[4], M.F. Avril[3], A. Carlotti[1], B. Radenen-Bussière[1], X. Sastre-Garau[4], M.C. Vacher-Lavenu[1], P. Lebon[2], N. Dupin[3], F. Rozenberg[2]
[1]Laboratoire d'Anatomopathologie [2]Laboratoire de Virologie [3]Service de Dermatologie, Groupe hospitalier Cochin-Saint-Vincent de Paul [4]Laboratoire d'Anatomopathologie, Institut Curie, Paris, France

Le pouvoir oncogène expérimental des Polyomaviridae chez l'animal est à l'origine de leur découverte. En dépit de recherches intensives, leur implication dans les cancers humains n'avait jamais été objectivée. Récemment, une équipe américaine (1) a identifié le génome d'un nouveau virus dans des carcinomes neuro-endocrines de la peau, dits de Merkel (ou Merkel Cell Carcinoma, MCC). Quatre équipes ont depuis confirmé la présence du génome de ce virus, dénommé Polyomavirus de Merkel (ou Merkel Cell Virus, MCV), dans des MCC. Dans l'étude princeps, des séquences virales du MCV étaient intégrées de manière monoclonale au sein de plusieurs tumeurs. Cette première description de l'intégration in vivo chez l'homme d'un Polyomavirus n'a pas encore été confirmée.

Nous avons recherché la présence du MCV dans une cohorte française de patients atteints de MCC. Nous avons analysé quinze prélèvements tumoraux de neuf patients et mis en évidence des séquences nucléotidiques virales chez sept d'entre eux. Celles-ci, correspondant au mieux à 20% du génome viral, présentaient une homologie d'au moins 99% avec les deux souches virales actuellement référencées. L'une des séquences présentait une délétion de deux paires de bases responsable d'un décalage du cadre de lecture de la région codant l'antigène T des Polyomavirus. Nous avons également décelé des séquences virales dans des tissus non tumoraux, sanguins et cutanés, de deux patients de la cohorte. Enfin, chez l'un des patients, nous avons démontré l'intégration monoclonale, dans les cellules métastatiques et tumorales primaires, d'une région contenant le gène codant l'antigène T de MCV, et caractérisé un nouveau site d'intégration au sein du génome cellulaire.

Nous avons donc mis en évidence des séquences génomiques du MCV dans 75% des MCC étudiés, ce qui est cohérent avec les données publiées (43 à 88% selon les auteurs), ainsi qu'au sein de prélèvements non tumoraux de deux patients. Nous avons de plus confirmé l'intégration monoclonale du génome viral et défini un nouveau site d'intégration. Ce travail sera approfondi par la caractérisation de l'intégration du virus chez un nombre supérieur de patients, ainsi que par le criblage de lésions apparentées au MCC.

(1) Feng *et al*, 2008

370/67A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Relevance of HPV mRNA detection in a population of ASCUS/LSIL/HSIL women using the NucliSENS EasyQ HPV assay

A. Agostini[3], D. Benmoura[2], B. Blanc[4], H. Khiri[4], G. Pénaranda[1], P. Halfon[4]
[1]Biostatistiques, CDL Pharma [2]Hôpital Ambroise Paré [3]Hôpital La Conception [4]Laboratoire Alphabio, Marseille, France

Background: DNA and mRNA-based assays are the main tool to detect the HPV nucleic acid in clinical samples. Recently, a new tool NucliSENS EasyQ HPV uses a new concept to directly detect the expression of the HPV oncogenic (E6 and E7 mRNA) and risk factors discriminate between the more prevalent HPV genotypes in cervical cancer (16, 18, 31, 33, and 45).

Aims: The aim of the study was to assess the accuracy of NucliSENS EasyQ HPV to detect HPV-HR in a population of ASCUS/LSIL/HSIL patients using a clinical cut-off of an histology of CIN2+. The secondary aim was to compare this mRNA-based assay with the DNA-based HC-2 assay.

Patients and Methods: 147 among 187 "high-risk population" patients screened by pap smear (ThinPrep, Cytic) were included in the study. A colposcopy with histological examination was performed for all these patients. The NucliSENS EasyQ HPV allows to detect the expression of the HPV oncogenic (E6 and E7 mRNA) of the more prevalent HPV genotypes in cervical cancer (16, 18, 31, 33 and 45). HPV-HR determination using HC-2 (Digene) was also performed for the 147 patients. All the tests were performed on the samples collected in PreservCyt liquid media for liquid-based cytology (ThinPrep).

Results: The overall clinical sensitivity of the NucliSENS EasyQ HPV was 70% for the detection of CIN2+, specificity of 68%, NPV 78%, and PPV 60%. The compared diagnostic values of the HC-2 was respectively (sensitivity: 90%, specificity 63%, NPV:91%, and PPV:61%). The distribution of the HPV types using the NucliSENS EasyQ was : HPV 16 (34%), HPV 18 (11%), HPV 31 (20%), HPV 33 (6%), HPV 45 (9%), and mixed : 20%.

Conclusions: The NucliSENS EasyQ HPV assay has interesting clinical sensitivity and specificity to detect HPV types in CIN2+ patients with comparable diagnostic values with the HC-2 DNA assay. This assay allows in the same experiment to detect the mRNA and determine the type of the main prevalent oncogenic virus.

371/68A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Faut-il rechercher une hépatite B occulte chez les patients infectés par le virus VIH ?

S. Marque Juillet[3], K. Benghalia[1], S. Monnier[2], C. Fernand-Laurent[3], M.C. Mazeron[4], M. Harzic[3]
[1]Hépato-Gastroentérologie [2]Médecine Interne [3]Microbiologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay [4]Microbiologie, CHU Lariboisière, Paris, France

La fréquence des hépatites B occultes (présence de l'ADN viral en l'absence de détection de l'antigène s du virus de l'hépatite B (VHB)) est variable selon les études et le recrutement des patients, plus élevée chez les patients immuno-déprimés et en cas de co-infection, par le VHC en particulier. La prévalence de l'infection occulte chez les patients co-infectés par le VIH est mal établie, variant de 0% à 89%. Les conséquences cliniques en sont mal connues. Objectif : Evaluer la prévalence des hépatites B occultes chez des patients infectés par VIH.

Méthodes : Etude rétrospective réalisée chez 32 patients infectés par le VIH et suivis dans le laboratoire, pour lesquels au moins un échantillon de plasma était disponible en l'absence de traitement actif vis-à-vis du VHB (3TC, FTC, TDF). Tous avaient des anticorps anti HBc isolés (absence d'Ac HBs et d'AgHBs). 8 d'entres eux étaient également infectés par le VHC. La quantification de l'ADN-VHB a été réalisée par PCR en temps réel (HBV PCR kit ; QIAGEN) sur 50 échantillons prélevés chez ces patients entre 2000 et 2008 (1 à 3 échantillons testés par patient). Le seuil de détection du kit est de 4UI/ml. Toutefois un signal peut être détecté de façon aléatoire pour un titre plus faible.

Résultats : La recherche d'ADN du VHB s'est avérée positive chez 7 patients (soit une prévalence de 22%). Quatre étaient infectés par le VHC (soit une prévalence de 50%), 3 étaient VHC-séronégatifs (soit une prévalence de 12.5% ; test exact de Fisher : p=0,047). Pour chacun de ces patients, 2 échantillons ont été testés. Chez 4 patients le titre d'ADN était faible (inférieur au seuil de 4UI/ml) avec une détection sur 1 seul des échantillons testés. Chez 3 patients le titre était supérieur à 4UI/ml et de façon répétée chez 2 d'entre eux.

Conclusion : La prévalence des hépatites B occultes apparaît élevée chez les patients VIH+ et porteurs d'anticorps anti HBc isolés, en particulier en cas de co-infection par le virus VHC. Les titres d'ADN viral sont faibles (<20UI/ml). Ces résultats nécessitent d'être confirmés sur un effectif plus important et sont en faveur de la recherche d'ADN VHB chez ces patients.

372/68A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Génotypage du virus de l'hépatite B dans la région du Centre Tunisien

N. Hannachi[1], N. Ben Fredj[1], O. Bahri[2], M. Marzouk[1], A. Ferjani[1], H. Triki[2], J. Boukadida[1]
[1]Laboratoire de microbiologie et d'immunologie, UR02SP13, CHU Farhat Hached, Sousse [2]Laboratoire de virologie clinique, Institut Pasteur, Tunis, Tunisie

Objectif : Le but de ce travail est d'identifier les génotypes du virus de l'hépatite virale B (VHB) circulant dans la région du centre Tunisien ainsi que l'étude d'une éventuelle corrélation avec la forme clinique.

Méthodes : Une population constituée de 112 patients a été étudiée, 65 porteurs chroniques inactifs de l'antigène HBs (AgHBs), 28 porteurs d'une hépatite B chronique active, 13 cirrhotiques, 2 cas d'hépatite aigue et 4 cas d'hépatite fulminante (aigue ou chronique). Les marqueurs sérologiques ont été testés par technique immuno-enzymatique automatisée. La charge virale a été réalisée par technique de PCR en temps réel commercialisée. Le génotypage des souches de VHB a été réalisé par restriction enzymatique des fragments d'ADN amplifiés dans la région pré-S du génome viral (PCR–RFLP), les enzymes de restriction étant Ava II et Dpn II. Les analyses statistiques ont été réalisées par test Chi2 et test exact de fisher.

Résultats : La détection du génome a été notée pour 68 patients parmi les 112 sujets étudiés (60.7%). La sensibilité de la PCR était de 10^3copies/ml. La PCR était positive pour 96.1% des sujet AgHBe+ et 50% des sujets AgHBe-. Trois profils de restriction correspondant aux génotypes D, B et A ont été obtenus dans des proportions respectives de 83,5%, 10,5% et 6% des cas. Une corrélation a été notée entre le profil génotypique B et cirrhose ($p<10^{-4}$). Aucune association n'a été notée entre génotype et statut AgHBe.

Conclusion : La prédominance du génotype D ainsi que la présence des mutants viraux répliquant en l'absence d'AgHBe sont habituels en région méditerranéenne et ont déjà été rapportées en Tunisie. La présence du génotype B dans nos régions et sa corrélation avec la sévérité de la maladie sont des données peu décrites qui méritent une analyse épidémiologique et moléculaire approfondies.

373/68A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Réactivation d'une infection par le virus de l'hépatite C, 44 mois après l'arrêt du traitement

Y. Baazia[2], C. Allouí[2], S. Brichler[2], M. Bentata[1], E. Gordien[2]
[1]Service des maladies infectieuses, unité Sida, Hôpital Avicenne, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris [2]Laboratoire de bactériologie, virologie, hygiène, Hôpital Avicenne, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris ; Université Paris 13, Bobigny ; Laboratoire associé au centre national de référence des hépatites B, C et Delta, Bobigny, France

Introduction : nous présentons ici, le cas d'un patient co-infecté par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH-1) et le virus de l'hépatite C (VHC) qui a présenté une réactivation de son hépatite C, 44 mois après l'arrêt de la bi thérapie interféron pegylé (Peg IFN) / ribavirine.

Patient : il s'agit d'un patient de 36 ans, toxicomane (par voie intraveineuse), infecté par le VIH-1 en 2000, puis par le VHC en 2001. Le bilan initial montrait des transaminases à deux fois la normale; une charge virale à 109615 UI/ml ; un score METAVIR A1F1 à la ponction biopsie hépatique. La souche infectante était de génotype 3a (séquençage de la région NS5B). En 2002, une bi thérapie IFN pegylé /ribavirine est instituée pendant 12 mois, entraînant la normalisation des transaminases et la négativité de la charge virale VHC, qui durera jusqu'au mois d'octobre 2007.

Suivi : À cette date, les transaminases remontent à trois fois la normale et la charge virale VHC est de nouveau positive, à 29762 UI/ml. Le génotype de la souche infectante est 3a. Le clonage et le séquençage (région NS5B) des souches VHC sont réalisés sur trois prélèvements : l'un au moment du diagnostic VHC en 2001 à partir de notre sérothèque et les deux autres contemporains de la réactivation en 2007. Dix clones sont obtenus pour chaque prélèvement. L'analyse phylogénétique des séquences obtenues ne montre que 3% de divergence entre les souches de 2001 et de 2007.

Conclusion : Ces résultats suggèrent une réactivation de l'infection VHC, 44 mois après, par la même souche initiale de génotype 3a, à partir d'un réservoir hépatique ou des cellules mononuclées du sang, très vraisemblablement en rapport avec l'immunodépression liée à l'infection VIH concomitante.

374/68A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Séroprévalence des hépatites virales C chez les populations à risque dans l'Est Algérien

H. Mahdjoub[1-3], B. Larouzé[3], A. Segueni[2], D.E. Abdennour[2], S. Tebbal[1]
[1]Maladies Infectieuses, Batna [2]Maladies Infectieuses, Université-CHU, Constantine, Algérie [3]Unité 13, Inserm-IMEA, Paris, France

Introduction : Les hépatites virales sont un problème de santé publique en Algérie et dans les pays en développement.

La découverte et la mise sur le marché d'un vaccin actif contre le virus B ont relégué au 2ème plan le problème des hépatites B plaçant les hépatites virales C au 1er plan des préoccupations du fait de leur gravité et de leur passage plus fréquent à la chronicité et à la cirrhose (80% des cas).

Objectifs : Actuellement en Algérie les données disponibles concernant ces hépatites sont fragmentaires ou ont reposé sur des tests sérologiques non performants, il nous a alors paru important de réaliser une étude de séroprévalence chez les populations à risque de l'Est algérien.

Les objectifs de notre étude sont de déterminer la séroprévalence de l'hépatite virale C dans les populations à risque de l'est algérien : hémodialysés, hémophiles, opérés du cœur sous circulation extra- corporelle et les patients atteints d'hémoglobinopathie ainsi que d'identifier les facteurs de risque inhérents à cette infection.

Méthodes : Il s'agit d'un travail prospectif qui a concerné 294 hémodialysés, 74 hémophiles, 50 patients atteints d'hémoglobinopathie et 170 patients opérés cardiaques sous circulation extracorporelle tous recrutés dans des centres hospitalo-universitaires de l'Est algérien.

Chaque malade a été soumis à un questionnaire standardisé reposant sur des données concernant l'âge, le sexe, des données démographiques générales et des facteurs de risque d'infection par le virus de l'hépatite C.

La recherche du VHC s'est faite par un test ELISA de 3ème génération associé à un test de confirmation type LIA. L'analyse des données a été réalisée par le logiciel EPI INFO 5.

Résultats : La séroprévalence de l'hépatite virale C est de 76,6% chez les hémodialysés ; La dialyse et les transfusions ont été retrouvés comme étant des facteurs de risque; elle est de 44,6% chez les hémophiles avec comme facteurs de risque les hospitalisations répétées et la quantité de facteurs anti-hémophiliques reçue ; elle est de 10% chez les patients ayant une hémoglobinopathie avec la transfusion comme important facteur de risque enfin elle est de 11,8% chez les patients ayant reçu une intervention chirurgicale cardio-vasculaire sous circulation extracorporelle avec les hospitalisations répétées pour principal facteur de risque.

Conclusion : Notre travail a porté sur la prévalence de l'hépatite C car elle constitue un problème de santé connu de manière parcellaire en Algérie et encore mal étudié.

A travers ce constat, la prévention du risque VHC chez les populations à risque devient impérative en matière d'actes sanitaires dispensés dans les structures de soins durant les actes de routine.

375/68A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Génotypage du virus de l'hépatite C : comparaison du test Abbott RealTime HCV Genotype II au séquençage de la région NS5B

A.M. Roque-Afonso, E. Marchadier, P. Vaghefi, E. Dussaix
Virologie, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

Le test Abbott RealTime HCV genotype II permet la détermination automatisée des génotypes 1 à 6 du VHC par 3 réactions de RT-PCR ciblant la région 5'NC et la région NS5B (discrimination des sous-types 1a et 1b). Nous avons comparé ses résultats à ceux obtenus par séquençage et analyse phylogénique de la région NS5B considérés comme la méthode de référence.

Méthodes : 102 échantillons ont été analysés : 43 génotypes 1 (18 1a, 21 1b, 4 autres); 6 génotypes 2 (2a, 2c, 2f); 33 génotypes 3a ; 16 génotypes 4 (4a, 4d, 4e, 4h); 3 génotypes 5 et 1 génotype 6. Un volume de 0,2 ml de plasma a été utilisé, la limite de détection affichée par le fabricant pour ce volume est de 3,1 log UI/ml. En cas de discordance, le séquençage des régions NS5B et 5'NC a été réalisé.

Résultats : La charge virale des échantillons variait de 1,64 à 7,11 logUI/ml. Les résultats ont été concordants pour 98 des 102 cas (95%). Cette concordance était de 100% pour les 43 génotypes 1 ; 100% pour le sous-type 1a et 81% pour le 1b. Sur les 6 génotypes 2, 5 (83,3%) étaient correctement typés. L´échantillon discordant était un sous-type 2f typé comme 5 par le test Abbott, discordance reconnue par le fabriquant, vérifiée sur un second prélèvement et confirmée par séquençage NS5B et 5NC. Sur les 33 génotypes 3, 32 (97%) étaient concordants: le test Abbott a détecté dans un cas une co-infection 3-4. Les séquençages 5NC et NS5B n'ont retrouvé que du type 3 ; ce patient a été répondeur-rechuteur à un traitement de 6 mois. Sur les 16 génotypes 4, 15 (93,8%) étaient concordants : un échantillon 4a a été considéré comme une coinfection 1-4 par Abbott : le séquencage NS5B a confirmé le génotype 4, en revanche l'analyse 5'NC a trouvé un 3. Aucune séquence de type 1 n'a été détectée. L'hypothèse d'un recombinant n'est pas exclue. Le plasma de génotype 6 a été typé en 1, problème reconnu par le fabriquant.

Conclusion : Le test Abbott RealTime HCV Genotype II permet la détermination rapide et entièrement automatisée du génotype viral y compris sur des échantillons faiblement titrés. L'hybridation Abbott permet de détecter de possibles co-infections virales pouvant avoir un impact négatif sur la réponse au traitement. Les discordances retrouvées sur cette petite série doivent être étudiées de manière plus approfondie.

376/68A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Etiopathologie du carcinome hépatocellulaire en République Centrafricaine

C. Bekondi[3], T. Mobima[2], J.O. Ouavènè[1], B. Koffi[4], X. Konamna[3], A. Le Faou[3]
[1]Service de Gastroentérologie [2]Service de Radiologie et d'Imagerie Médicale, Hôpital de l'Amitié [3]Laboratoire des Hépatites virales, Institut Pasteur de Bangui [4]Service d'Anatomie et de Cytologie Pathologique, Laboratoire de Biologie Clinique et de Santé Publique, Bangui, République centrafricaine

Contexte : Le carcinome hépatocellulaire (CHC) se développe, le plus souvent sur une atteinte préexistante infectieuse (comme une hépatite chronique B) ou métabolique (Cirrhose éthylique). Le risque de développer un CHC est nettement plus élevé chez les porteurs chroniques du virus de l'hépatite B (VHB) que dans le reste de la population; on estime que 60% des cas de CHC dans le monde et 67% des cas en Afrique Sub-saharienne et en Asie du Sud-Est sont liés à une infection chronique par le VHB. Dans ces régions, d'autres facteurs comme l'infection chronique par le virus de l'hépatite C (VHC), l'alcoolisme, le tabagisme ou encore une hémochromatose peuvent être associés à un CHC. Parmi les co-facteurs qui contribuent au développement d'un CHC, l'exposition à l'aflatoxine B1 a montré une synergie avec l'hépatite B.

Objectif : Dans le but de mieux estimer l'implication du VHB dans le développement du CHC en République Centrafricaine, une étude pilote a été menée sur 133 patients suspectés de CHC.

Patients et méthode : Les patients ont été inclus dans l'étude du 03 Novembre 2006 au 02 Juillet 2008. 133 sérums ont été collectés de 73 hommes et 60 femmes (sex ratio = 1,21) âgés en moyenne de 47 ans [extrêmes : 17 - 71]. Le CHC était suspecté sur des critères cliniques. Un bilan biologique et virologique [VHB, virus de l'hépatite D (agent Delta) VHD] a été systématiquement pratiqué. L'échographie recherchait des images suspectes et permettait ensuite la réalisation d'une cytoponction hépatique dirigée de la masse tumorale (sauf en cas de contre-indication : i.e. taux de prothrombine < 50%) afin de réaliser le diagnostic cytologique de certitude du CHC. La recherche de l'ADN du VHB circulant a été réalisée par PCR.

Résultats : La répartition du CHC en fonction du sexe montre une atteinte plus important des hommes (58,5%) que des femmes (41,5%). Les taux d'infection par le VHB et le virus de l'hépatite C (VHC) parmi les patients étaient respectivement de 95,5% (127/133) et 2,3% (3/133). La co-infection VHB/VHD a été observée chez 28 patients parmi les 52 patients atteints d'hépatite B chronique.

· 53 patients étaient hospitalisés pour suspicion de CHC après échographie. Tous étaient porteurs d'anticorps (Ac) anti-HBc (avec ou sans Ac anti-HBs). L'Ag-HBs était présent chez 24 d'entre eux (45%), dont 14 avec une co-infection VHB/VHD. L'ADN viral était détectable chez 10 patients. La moyenne du taux de l'alphafœtoprotéine (AFP) sérique chez ces 53 patients était de 16133 (variant de 200 à 80000) UI/mL. La cytopathologie de 14 cytoponctions

était en faveur d'un CHC.

· 28 patients (21%) étaient atteints d'hépatite chronique (Ag-HBs et anti-HBc positifs). L'ADN du VHB a été détecté chez 14 d'entre eux. Quatorze patients étaient co-infectés par le VHD. La moyenne du dosage de l'AFP était de 5,3 (0,5 – 34,5) UI/mL.

· 46 patients (35%) ne présentaient que des anti-HBc isolés. Douze (12) d'entre eux avaient des anti-HBs à un titre > 10UI/l. L'ADN viral n'a pas été détecté chez ces patients et le taux de l'AFP était normal.

· 6 patients (5%) n'avaient aucun marqueur du VHB. Trois d'entre eux avaient des anticorps anti-VHC dont un avec un taux élevé de l'AFP (5410UI/ml).

Conclusion et perspectives : Le CHC est un problème sérieux en Afrique Sub-saharienne, les patients consultent tardivement et leur espérance de vie au moment du diagnostic ne dépasse pas quelques mois. La prévalence exacte de cette atteinte est difficile à estimer car seule une partie des patients vient à l'hôpital. Cette atteinte reste fréquente et elle est directement liée à l'hépatite B avec une prévalence de l'AgHBs (+) d'environ 15% dans la population. La co-infection VHB/VHD présente chez un patient sur 4 avec une hépatite B est un facteur aggravant. La banque d'ADN ainsi constituée sera utilisée pour rechercher des différences entre les souches de virus circulantes et celles *in situ* et d'estimer une éventuelle inactivité ou une absence de la protéine p53 par la recherche de la mutation 249^{SER}, fréquemment observée dans les CHC.

377/68A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Influence of insulin resistance on hepatic fibrosis and steatosis in HIV-HCV co-infected compared to HCV monoinfected patients

P. Halfon[7], G. Pénaranda[5], F. Carrat[9], P. Bédossa[2], M. Bourlière[6], D. Ouzan[11], C. Renou[4], A. Tran[8], E. Rosenthal[8], C. Wartelle[1], P. Delasalle[3], P. Cacoub[10]
[1]Hépato-Gastroentérologie, Hôpital du Pays d'Aix, Aix-en-Provence [2]Anatomopathologie, Hôpital Beaujon, Clichy [3]Cabinet d'Hepato-Gastro, Grasse [4]Hépato-Gastroentérologie, Hôpital d'Hyères, Hyères [5]Biostatistiques, CDL Pharma [6]Hépato-Gastroentérologie, Hôpital Saint-Joseph [7]Laboratoire Alphabio, Marseille [8]Hépato-Gastroentérologie, Hôpital de l'Archet, Nice [9]UMR-S707, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris [10]Médecine interne, Hôpital Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris [11]Hépato-Gastroentérologie, Institut Arnault Tzanck, Saint-Laurent-du-Var, France

Aim: To test the association between insulin resistance (IR), liver fibrosis, and liver steatosis in HIV-HCV and HCV-infected patients.

Patients and Methods: 170 HIV-HCV infected patients matched by age, gender, and genotype with 170 HCV mono-infected patients were included. Patients were considered to be IR when HOMA-IR>2. Significant fibrosis was considered if METAVIR ≥F2, and significant steatosis if ≥10%.

Results: IR was independently associated in HCV-infected patients with fibrosis (OR=2.04 [95% CI 1.02-4]), a BMI>25 kg/m² (OR=3.33 [1.47-7.69]), and steatosis (OR=3.33 [1.67-6.67]). Significant fibrosis was associated in HCV-infected patients with high liver activity grade (≥A2) (OR=8.33 [3.85-16.67]), male gender (OR=3.03 [1.33-7.14]), and IR (OR=2.44 [1.15-5]). In HIV-HCV-infected patients, a high liver activity grade (OR=5.56 [1.64-20]) was associated with fibrosis. Significant liver steatosis was associated in HCV-infected patients with IR (OR=3.13 [1.59-6.25], and fibrosis (OR=2.22 [1.15-4.17]). In HIV-HCV, a BMI>25 kg/m² (OR=3.85 [1.64-9.10]) were associated with liver steatosis.

Conclusion: IR is associated with liver fibrosis and steatosis in HCV mono-infected but not in HIV-HCV co-infected patients. Significant liver fibrosis is associated with IR independent of liver steatosis only in HCV mono-infected patients.

378/68A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Insulin resistance impairs sustained response rate to Peginterferon plus Ribavirin in HIV-HCV co-infected patients: HOMAVIC-ANRS HC-02 study

P. Cacoub[6], F. Carrat[7], P. Bédossa[1], J. Lambert[7], G. Pénaranda[3], C. Perronne[2], S. Pol[5], P. Halfon[4]
[1]Anatomopathologie, Hôpital Beaujon, Clichy [2]Maladies Infectieuses, Hôpital Raymond Poincaré, Garches [3]Biostatistiques, CDL Pharma [4]Laboratoire Alphabio, Marseille [5]Hépato-Gastroentérologie, Hôpital Cochin [6]UMR 7087, Hôpital Pitié-Salpêtrière AP-HP [7]UMR-S707, Université Paris 6 - AP-HP, Paris, France

Aim: To assess the impact of insulin resistance (IR) on the response to HCV therapy in HIV-HCV co-infected patients.

Patients and Methods: 238 HIV-HCV co-infected patients (74% male, 40 ± 5 years, alcohol intake <50g/day, 38% HCV genotype 2 or 3), treated by Peg Interferon alpha-2b plus Ribavirin during 48 weeks were studied. Liver biopsies were assessed before treatment. Patients were considered to be IR when the Homeostasis Model Assessment of IR (HOMA-IR) was >2.5. Multiple logistic regression with stepwise selection was used to estimate independent factors associated with sustained virological response (SVR).

Results: IR was present in 32% and significant liver fibrosis (Metavir≥F2) in 74% of patients. Patients with SVR (96/238=40%) were more likely to be infected with HCV genotype 2 or 3 (54% vs. 27%; P<0.0001), and had more severe liver fibrosis (≥F3) (45% vs. 30%; P=0.03). By multivariate analysis, SVR was independently associated with HOMA-IR>2.5 [OR=0.49 (95% CI 0.26-0.92); P=0.0], age [OR=0.90 (0.85-0.96); P=0.0006], genotype 2 and 3 [OR=3.39 (1.88-6.12); P<.0001], and a Metavir ≥F3 [OR=2.04 (1.12-3.72); P = 0.04]).

Conclusion: A high HOMA-IR level is frequently found in HIV-HCV coinfected patients and is associated with a reduced SVR rate. Improving insulin sensitivity may be a useful adjunct to HCV therapy in HIV-HCV co-infected patients.

379/68A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Caractérisation de l'efficacité du Ténofovir disoproxyl fumarate sur l'hépatite B dans la co-infection VIH-VHB

H. Stitou[1], V. Thibault[2], M.A. Valantin[1], A. Canestri[1], S. Dominguez[1], R. Tubiana[1], C. Katlama[1]
[1]Maladies infectieuses et tropicales [2]Virologie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Objet de l'étude : Le ténofovir disoproxyl fumarate (TDF) est privilégié chez le patient co-infecté par le VIH et l'hépatite B du fait de son action sur ces deux virus. Le but de notre étude était de rechercher les mutations du VHB liées au TDF chez les patients bien contrôlés pour le VIH et présentant une réplication persistante du VHB.

Méthodes : Inclusion des patients recevant une thérapeutique antirétrovirale comprenant du TDF depuis plus de 2 ans, ayant une CV VIH indétectable et un CV VHB supérieure au seuil de détection.

Les charges virales VIH et VHB ont été mesurées par les techniques Cobas Amplicor Taqman (CAP/CTM, Roche) et l'étude des résistances du VHB par séquençage de la polymérase virale.

Résultats : Parmi les 203 patients co-infectés par le VIH et le VHB régulièrement suivis dans notre service, 88 patients reçoivent un régime antirétroviral comprenant du TDF depuis au moins 2ans.

75 sur ces 88 patients ont une CV VIH indétectable et 6 sur les 75 présentent une réplication du VHB supérieure à 12UI/ml.

Il s'agit de 6 hommes, d'âge médian 44ans [39-48], avec une médiane de CD4 à 385/mm3 [284 à 612]. La médiane d'exposition au TDF était de 3.3 ans [3.1 à 4.4]. Leur charge virale du VIH est indétectable (< 40copies/ml) depuis une durée médiane de 2,3ans [1.2 à 11.5]. Leur médiane de charge virale VHB est de 1772UI/ml [28 à 25888]. Il s'agit de Génotype A et G du VHB (respectivement 3 et 3 patients). Tous ont déjà reçu de la lamivudine en monothérapie sur le VHB et 3 d'entre eux ont également reçu de l'adéfovir auparavant.

L'analyse des séquences de la polymérase VHB indique l'absence d'émergence d'un motif particulier mais la persistance de certaines mutations classiquement associées à la résistance à la lamivudine (V173L/ L180M/ M204V) ou à l'adéfovir (A181T). On notera chez un patient l'apparition d'un changement rtY245N dont la signification devra être étudiée.

Conclusion : Parmi les 88 patients traités par TDF depuis plus de 2ans, on observe la persistance d'une réplication du VHB pour 6 patients indétectables pour le VIH chez qui, malgré la cinétique lente de décroissance du VHB, il n'est pas mis en évidence d'émergence de mutations spécifique au TDF ni de remontée significative de la réplication virale.

380/69A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Attitude des parents en cas de fièvre du nourrisson et de l'enfant : étude prospective nationale sur 6598 épisodes (étude FEBRIKID)

M. Chalumeau[3-4], E. Fournier Charrière[1], N. Mourdi[4], G. Pons[4-2]
[1]Pédiatrie Générale, Hôpital de Bicêtre, APHP, Le Kremlin Bicêtre [2]Pharmacologie Clinique, GH Cochin-Saint-Vincent-de-Paul, APHP [3]Laboratoire d'Epidémiologie Clinique, Pédiatrie Générale, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, APHP [4]Université Paris Descartes, Paris, France

Objet de l'étude : Etudier les connaissances et les pratiques des parents concernant la fièvre du nourrisson et de l'enfant, et les comparer aux recommandations de l'AFSSAPS émises en 2005.

Méthodologie : Nous avons réalisé une étude observationnelle, nationale, prospective d'octobre 2007 à mars 2008. Un panel (TVF) de 4156 médecins généralistes à ''forte activité pédiatrique'', 2262 pédiatres libéraux et de 4946 pharmaciens a été sollicité pour inclure chacun 5 patients consécutifs âgés de 1 mois à 12 ans, amenés par leur parents lors d'une 1ère consultation ou demande de conseil pour une fièvre de moins de 48h. Les parents devaient remplir un questionnaire ouvert et fermé sur leur attitude pour l'épisode fébrile en cours et plus généralement sur leur connaissance sur la fièvre chez l'enfant.

Résultats obtenus : 761 médecins généralistes, 373 pédiatres et 410 pharmaciens ont inclus au moins un patient et au total 6598 enfants. Pour l'épisode en cours, les pratiques des parents étaient conformes aux recommandations de l'AFSSAPS dans 88% des cas pour les modalités de la prise de température [rectale (64%), auriculaire (18%), axillaire (6%) ou buccale (2%)], et dans 10% des cas pour l'application de l'ensemble des 3 mesures physiques pour faire baisser la fièvre [découvrir (60%), faire boire (75%), ne pas trop chauffer la pièce (19%)]. Plus généralement, les parents déclaraient utiliser des seuils de définition de la fièvre (38°C) et de recours à un traitement médicamenteux pour lutter contre celle-ci (38,5°C) conformes aux recommandations de l'AFSSAPS dans respectivement 61% et 32% des cas.

Conclusion : Il s'agit de la plus importante étude réalisée pour évaluer les connaissances et les pratiques des parents français en cas de fièvre du

nourrisson et de l'enfant. Le degré d'accord avec les recommandations de l'AFSSAPS était variable. Des analyses sont en cours pour étudier le degré de concordance entre ces recommandations, l'automédication par les parents, les pratiques médicales et les conseils des pharmaciens.

381/69A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Infections urinaires communautaires de l'enfant : étude AFORCOPI-BIO 2007

D. De Mouy[1], A. Mérens[3-2], J.D. Cavallo[3-2], J.L. Galinier[1], R. Fabre[1], M. Simon[1], I. Naepels[1], G. Payro[1], N. Courtiols[1], M. Baynat[1], D. Gontier[1], J. Pfeffer[1]
[1]Réseau, AFORCOPI-BIO [2]Ecole du Val-de-Grâce, Paris [3]Biologie médicale, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

Objectifs : Répartition des espèces bactériennes isolées au cours des infections urinaires communautaires (IUC) de l'enfant en France en 2007 et surveillance de leur sensibilité aux antibiotiques.

Méthodologie : étude multicentrique menée en 2007 au sein de 8 laboratoires de ville du réseau AFORCOPI-BIO. Inclusion prospective sur 3 mois de tous les examens cyto-bactériologiques des urines (ECBU) positifs chez les enfants (moins de 15 ans), selon les critères de positivité recommandés par l'AFSSAPS en 2007. Un questionnaire standardisé était complété. Envoi des souches bactériennes dans un centre coordinateur pour détermination des CMI par microdilution en milieu liquide.

Résultats : 117 dossiers d'IUC de l'enfant ont été collectés et analysés (ratio H/F à 0,4, âge moyen de 4 ans et 6 mois). L'échantillon urinaire avait été recueilli par prélèvement au milieu du jet dans 73% des cas et par poche de recueil dans 27% des cas. Une fièvre était présente dans 27% des cas. La notion d'infection urinaire dans les 3 mois précédents était retrouvée dans 18,8% des cas. Dans 112 cas (95,7%), l'infection urinaire était monomicrobienne et dans 5 cas, 2 bactéries étaient associées. Les espèces les plus fréquemment rencontrées étaient *E.coli* (72%), *Klebsiella sp.* (7,9%), *E. faecalis* (6,6%), *P. mirabilis* (4,9%). La sensibilité d'*E.coli* était de 53,6% pour l'amoxicilline, 66,4% pour l'amoxicilline-acide clavulanique, 95.4% pour le cefixime, 97,7% pour le cefotaxime, 78,2% pour le cotrimoxazole, 96,6% pour la furadoïne, 96,6% pour la gentamicine. Les résistances au céfotaxime étaient liées à une hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique (1 souche) et à la production d'une BLSE (1 souche). Pour les quinolones, antibiotiques non utilisés chez l'enfant de moins de 15 ans, la sensibilité était de 88,5% à NAL et 93% à CIP, ce qui illustre l'impact écologique de la pression de sélection antibiotique sur les flores commensales.

Conclusion : Le taux de résistance chez *E.coli* au cotrimoxazole, antibiotique recommandé en première intention par l'AFSSAPS en 2007 pour le traitement de la cystite de l'enfant, est de 21,8%, ce qui souligne l'intérêt d'un ECBU avec antibiogramme chez l'enfant. Les taux de résistance aux C3G orales ou parentérales restent inférieurs à 3%.

382/69A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

L'incidence de l'otite moyenne aiguë en France chez les enfants de 0-6 ans

M. François[2], O. Romain[3], T. Lery[1], F. Nachit-Ouinekh[1]
[1]Laboratoire GSK, Marly-le-Roi [2]Service ORL, Hôpital Robert Debré [3]Pédiatre, Paris, France

Objet de l'étude : Cette étude rétrospective a souhaité évaluer l'incidence des otites moyennes aigues (OMA) chez des enfants de 0 à 6 ans sur l'année 2007 en France

Méthodes : Les diagnostics de nouveaux cas d'OMA ont été recueillis rétrospectivement auprès des 1200 médecins généralistes (MG) et des 100 pédiatres utilisant la base Thalès sur l'année 2007. Aucune définition a priori du diagnostic n'était exigée. Pour les MG, il fallait OMA ou otite plus fièvre et/ou douleur. Les incidences au niveau national (France métropolitaine) ont été extrapolées à partir des taux d'incidence de l'OMA chez les pédiatres ou les MG du réseau Thalès (nombre de cas d'OMA/nombre d'enfants vus).

Résultats obtenus : Les 1200 MG et 100 pédiatres ont noté respectivement 34460 épisodes d'OMA pour 147400 enfants de 0 à 6 ans vus et 11325 épisodes d'OMA pour 68355 enfants vus. En extrapolant les données à l'échelle nationale, les MG auraient vu 1 5000 000 OMA (2,9 OMA/MG) et les pédiatres 350 000 OMA (100 OMA/pédiatre) soit au total environ 1 800 000 consultations avec un pic d'incidence pendant les mois d'hiver. Le taux d'incidence annuel d'OMA diagnostiquée était de 29,22% IC 95%[28,98-29,45] chez les MG et de 15,49% IC95%[15,21-15,75] chez les pédiatres.

Les cas de récidives d'OMA représentaient 7% des cas, ceux d'échec au traitement 2,5% des cas, et 18% des enfants avaient des otites à répétition.

Chez 81% des patients, les MG et les pédiatres avaient prescrit une antibiothérapie : Cefpodoxime+proxétil dans 56% des cas, amoxicilline + acide clavulanique dans 20% environ, Céfixime par 7% des MG et 2% des pédiatres.

Conclusion : Cette étude rétrospective a mis en évidence un taux d'incidence estimé d'OMA diagnostiquée de 29% chez les MG et 15,5% chez les pédiatres représentant 1 5000 000 OMA chez les MG (2,9 OMA/MG) et 350 000 OMA chez les pédiatres (100 OMA/pédiatre) soit au total environ 1 800 000 consultations annuelles pour OMA chez les enfants de moins de 6 ans.

383/69A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Surveillance of *Haemophilus influenzae* isolated in Portuguese children (2000-2007)

M.P. Bajanca, M.D. Louro, M.M. Caniça, et Arsip (Antibiotic Resistance Surveillance Programme In Portugal)
Department of Infectious Diseases, National Institute of Health, Dr Ricardo Jorge, Lisbon, Portugal

Introduction: Invasive disease due to Haemophilus influenzae (Hi) in the era before the development of conjugate vaccine was most often associated with Hi serotype b (Hib). Since the introduction of the Hib conjugate vaccine in Portugal, in the year 2000, infections due to Hib have been uncommon, and the possibility exists that Hib disease can be eliminated. However, reports of invasive infections due to other serotypes including non-capsulated strains (NC) have increased.

The aim of this study is to present results of 1170 Hi strains isolated from children ≤5 years old from several Hospitals in Portugal and collected in Antibiotic Resistance Unit from National Institute of Health, Lisbon.

Methods: Isolates from all kind of infections were included: respiratory infections (55.8%), conjunctivitis (26.6%) and otitis (11.1%). Only 2.3% of the strains were of invasive origin.

Nitrocefin was used to detect beta-lactamase production. Antibiotic susceptibility was determined by microdilution, according to CLSI. A PCR technique was used to determine capsular serotype using primers capsule specific.

Results: Thirteen percent of the strains were beta-lactamase producers. Possible Beta-lactamase Negative Ampicillin Resistant strains (BLNAR) accounted for 0.7%. Other resistances rates were as follow: 0.4% for rifampin; 0.6% for chloramphenicol; 1.5% for tetracycline; and 25.6% for trimethoprim/sulfamethoxazole. The PCR of 1111 strains gave the following results: one strain Hia, six Hib, four Hie and 1100 NC.

Conclusion: Ampicillin resistance by beta-lactamase production is higher in children (13%), comparing with data from all age groups (around 10%). We also should be aware of ampicillin non-enzymatic mechanism with an increase of BLNAR strains.

After the introduction of Hib immunization in children, invasive Hi disease have been decreasing in this age group, but seems to be increasing in adults, being most infections now caused by NC strains. Non-b serotype is emerging as significant pathogens.

These results shows that an adequate epidemiological surveillance system should be continued to detect the possible change of Hi infections, since we expect a higher virulence of Hib strains, as well as in non-b type and NC, in order to develop invasive disease.

384/69A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de l'impact des gastro-entérites à rotavirus en médecine de ville chez l'enfant de moins de 5 ans (étude SPRIK)

N. Parez[2], O. Mory[4], N. Texier[3], C. Philippe[3], B. Tehard[1]
[1]Laboratoire GlaxoSmithKline, Etudes en Economie de la Santé, Marly-le-Roi [2]Urgences pédiatriques, Hôpital d'enfants Armand Trousseau [3]Service d'épidémiologie, Kappa Santé, Paris [4]Service de Pédiatrie, Hôpital Nord-CHU, Saint-Etienne, France

Objectif : Le rotavirus est la cause la plus courante de gastroentérite (GE) aiguë et de déshydratation sévère chez les jeunes enfants, conduisant parfois au décès. En population générale, un enfant sur 5 consulte un médecin avant l'âge de 5 ans pour gastroentérite à rotavirus (GERV). L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact des GERV chez les enfants de moins de 5 ans en médecine de ville.

Méthodes : Etude observationnelle, nationale, prospective, menée auprès de 41 généralistes et 36 pédiatres (tirés au sort au sein du réseau Thalès), de décembre 2005 à avril 2007. Tout enfant consultant pour une GE est inclus dans un registre, avec réalisation d'un test rapide Rotastrip® (Se 97% ; Sp 97%) pour déterminer la positivité des selles au RV, et d'un entretien à l'inclusion et à 14 jours si prélèvement positif (transmis au laboratoire central pour génotypage par PCR). La sévérité des GERV est mesurée à l'aide de l'échelle de Vesikari.

Résultats : 1463 patients ont été inclus dans le registre pour 1648 épisodes de GE. 1302 GE ont eu un résultat de test rapide : la proportion de GERV parmi les GE est de 21%, et diminue significativement avec l'âge des enfants (24% chez les moins de 2 ans, 12% chez les plus de 2 ans, p<0.0001). Plus de 40% de GERV ont été observées pendant le pic de l'épidémie de l'hiver 2005/2006 (mars – avril 2006). Le taux d'incidence des GERV est de 1357 pour 100 000 patients-année (PA), IC 95% [1345 – 1368] et diminue avec l'âge. Il est plus important chez les moins de 2 ans : respectivement 2931 et 2222 pour 100 000 PA chez les moins de 12 mois et chez les 12-24 mois. 80% des épisodes de GERV sont classés en stade sévère selon le score de Vesikari (augmentation de la sévérité avec l'âge). Les 4 génotypes qui prédominent sont : G1P[8] (43%), G9P[8] (35%), G3P[8] (6%), et G2P[4] (5%).

Conclusion : Cette étude souligne un taux d'incidence élevé des GERV particulièrement avant 2 ans, avec une sévérité importante des épisodes, témoignant d'un impact important en médecine de ville. Au cours de cette étude, l'évaluation de la sévérité des GERV sur la totalité de l'épisode a permis l'utilisation conforme de l'échelle Vesikari.

385/69A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Enquête sur la perception des gastro-entérites et la vaccination des gastro-entérites à rotavirus auprès des mères en France

H. Haas[2], B. Virey[1], J.P. Olives[4], P. Klein[3]
[1]Pédiatre, Dijon [2]Urgences Pédiatriques, CHU de Nice, Hôpital L'Archet 2, Nice [3]Ipsos, Paris [4]Service de Pédiatrie, CHU de Toulouse, Hôpital des Enfants, Toulouse, France

Objectif : décrire la perception de la gastro-entérite et l'intérêt pour la vaccination des gastro-entérites aigües à Rotavirus.

Méthode : enquête d'opinion conduite par téléphone en janvier 2008 auprès d'un échantillon de 1002 mères, représentatives des mères d'enfants de moins de 2 ans.

Résultats : La gastro-entérite est majoritairement considérée par les mères interrogées comme une pathologie grave (43,1%) ou très grave (51,3%) pour les enfants de moins de deux ans. Cette gravitée perçue est liée aux symptômes et aux complications connues de la maladie. Pour les mères interrogées, la gastro-entérite s'accompagne très souvent ou souvent de diarrhées (97,2% des mères), de vomissements (94,3%) ou d'une déshydratation (94%). Les hospitalisations pour gastro-entérites sont également perçues comme fréquentes. La quasi-totalité des femmes interrogées (98,3%) estime enfin qu'il s'agit d'une maladie très contagieuse (75,4%) ou assez contagieuse (22,8%).

La gastro-entérite chez l'enfant de moins de deux ans entraîne très fréquemment une consultation médicale (91,8%), lors de laquelle des solutés d'hydration orale (SRO) sont prescrits dans environ 6 cas sur 10 (62%).

Les mères interrogées se déclarent en majorité favorables (86,3%) à un vaccin buvable pour prévenir les gastro-entérites à Rotavirus, et 88,1% disent qu'elles auraient l'intention de faire vacciner leur enfant avec ce vaccin.

Conclusion: Les mères interrogées appréhendent la gravité potentielle de la gastro-entérite et une très large majorité d'entre elles (86,3%) se déclare favorable à la prévention des gastro-entérites à rotavirus par la vaccination.

386/69A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de l'impact des gastro-entérites à rotavirus en médecine de ville chez l'enfant de moins de 5 ans (étude SPRIK). Focus chez les nourrissons de 0 à 6 mois

N. Parez[2], O. Mory[4], N. Texier[3], C. Philippe[3], B. Tehard[1]
[1]Laboratoire GlaxoSmithKline, Etudes en Economie de la Santé, Marly-le-Roi [2]Urgences pédiatriques, Hôpital d'enfants Armand Trousseau [3]Service d'épidémiologie, Kappa Santé, Paris [4]Service de Pédiatrie, Hôpital Nord-CHU, Saint-Etienne, France

Objectif : Les gastro-entérites liées au rotavirus (GERV) surviennent principalement chez les nourrissons de 6 à 24 mois. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'impact des GERV chez l'enfant de moins de 6 mois en médecine de ville.

Méthodes : Etude observationnelle, nationale, prospective, menée auprès de 41 généralistes et 36 pédiatres (tirés au sort au sein du réseau Thalès), de décembre 2005 à avril 2007. Tout enfant de moins de 5 ans consultant pour une gastroéntérite (GE) est inclus dans un registre, avec réalisation d'un test rapide Rotastrip® (Se 97% ; Sp 97%) pour déterminer la positivité des selles au RV, et d'un entretien à l'inclusion et à 14 jours si prélèvement positif. La sévérité des GERV est mesurée à l'aide de l'échelle de Vesikari.

Résultats : Parmi les 1463 enfants de moins de 5 ans inclus dans le registre, représentant 1648 épisodes de GE, 256 épisodes de GE ont été diagnostiqués chez des enfants de moins de 6 mois (73 chez les 0 à 3 mois et 183 chez les 3 à 6 mois). Chez les 0 à 6 mois le taux d'incidence des GERV est de 2315 pour 100 000 patients-année (PA), IC à 95% [2268-2363], vs 1357 [1345-1368] pour 100 000 PA sur la population totale (moins de 5 ans). Sur l'ensemble des patients de l'étude, 21% des cas de GE étaient des GERV. Cette proportion diminue avec l'âge des enfants ($p<0.0001$) : 26% chez les 0 à 3 mois et 23% chez les 3 à 6 mois. Parmi les GERV diagnostiquées avant l'âge de 6 mois (N=50), 30% concernaient des enfants de moins de 3 mois. 80% de l'ensemble des épisodes de GERV sont classés en stade sévère selon le score de Vesikari, contre 62% chez les moins de 6 mois.

Conclusion : Cette étude qui décrit pour la première fois l'incidence des GERV chez les enfants de moins de 6 mois met en avant l'existence du fardeau lié à l'infection au rotavirus chez les nourrissons : le taux d'incidence en médecine de ville est plus élevé chez les enfants de moins de 6 mois qu'au-delà de 24 mois. L'étude met en évidence un fardeau non négligeable des GERV avant 3 mois (30% des GERV observés entre 0 et 6 mois). Le tableau clinique est considéré sévère dans deux tiers des cas.

387/69A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Neonatal *Citrobacter koseri meningitis* with brain abscess

M.F. Prère[1], J.B. Rieu[1], O. Baron[1], E. Cheuret[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Unité de neurologie, infectiologie, CHU de Toulouse, Hôpital des Enfants, Toulouse, France

Citrobacter koseri (previously *C. diversus*), Gram-negative bacilli of the family of Enterobacteriaceae, may be found as commensal in the gastrointestinal tract and in the female genitourinary tract. Among *Citrobacter species*, *C.koseri* is less commonly isolated from human clinical specimens and associated with infection *than C. freundii*.

Citrobacter meningitis in neonates is very rare and carries a very high mortality (30%) and morbidity.

We describe a case of a newborn with *C. koseri* meningitis with a brain abscess, with a successful outcome following an aspiration and prolonged antibiotic therapy.

A male baby born after 39 weeks gestation was admitted at 13 days of life when he manifested poor feeding and moderate fever (38°C). Investigations were remarkable: urine, blood, and cerebrospinal fluid cultures were obtained. All cultures were positive for *C. koseri*, very sensitive to antibiotics.

Four days after hospitalization the head circumference was increasing to 36.5 cm. CT head with contrast was suggestive of frontal abscess. Aspiration of the frontal abscess was carried out and yielded frank pus in which grew *C. koseri* with the same sensitivity to antibiotics than the strain previously isolated. Intravenous cefotaxime therapy for 40 days associated with surgical aspiration /drainage approach allowed to control the infection.

It is likely that, in that case considered sporadic, the disease was acquired vertically because rupture of membranes occurred prior to delivery.

Little information is available regarding the vertical transmission risks of *Citrobacter*. However, some cases of brain abscess have been previously reported in vertically transmitted *Citrobacte*r meningitis especially caused by *C.koseri* species. Unluckily the possibility of prevention of vertical transmission seems difficult.

388/69A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Quand les résistances bactériennes retardent la bonne prise en charge thérapeutique : à propos d'un cas de méningite néonatale à *E.coli* producteur de Bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE)

C. Hippy-Muller[4], B. Pigeon[3], S. Enchery[3], S. Caudrelier[3], M. Glowacki[3], S. Delahaye[2], C. Bonenfant[4], R. Parsy[1]
[1]Equipe Opérationnelle d'Hygiène [2]Laboratoire [3]Pédiatrie [4]Pharmacie, Centre Hospitalier d'Armentières, Armentières, France

E.coli est un pathogène souvent retrouvé dans les méningites bactériennes du nouveau-né. L'antibiothérapie probabiliste permet souvent une bonne prise en charge. Néanmoins, lors de cas de résistance bactérienne aux antibiotiques, l'inadéquation de l'antibiothérapie probabiliste entraîne des séquelles irréversibles.

Le 28/04 Mig (3,5 kg), 14 jours, est admis aux urgences devant la persistance de fièvre et d'une altération de l'état général. A l'auscultation, l'enfant présente des signes caractéristiques de méningite bactérienne. Une ponction lombaire (PL) est réalisée immédiatement.

Au vu de l'examen clinique, un traitement par amoxicilline (250mg x 3/j), amikacine (50mg/j) et céfotaxime (250mg x3/j) est instauré ce qui permet une amélioration clinique momentanée. A J2 les résultats de l'antibiogramme font suspecter une βLSE, l'antibiothérapie est réévaluée. L'instauration d'une tri-thérapie comprenant de l'imipénème n'est pas retenue, seuls ciprofloxacine (35mg x2/j) et amikacine (75mg/j) sont prescrits. Cependant un état de mal convulsif (lié à une encéphalolyse) survient à J4 obligeant son transfert vers le service de réanimation néonatale du Centre Hospitalier de Lille. La poursuite de l'antibiothérapie associée à un traitement anti-épileptique a permis une évolution favorable malgré une surdité profonde à droite et la persistance d'une hypotonie axiale.

Dates des PL	28/04	02/05
Aspect	trouble	clair
Examen direct	Nombreux bacilles à Gram négatif	Absence de germes visibles
GB /mm^3	1600	340
polynucléaires neutrophiles %	85	69
glycorachie (g/L)	< 0,1	< 0.1
proteinorachie (g/L)	5,54	3.04

Les souches isolées lors de la PL, des hémocultures et de l'ECBU sont en cours d'analyse par le Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques de Paris pour nous aider à en déterminer l'origine. En effet, la maman a eu une infection urinaire à *E.coli* hyperproducteur de céphalosporinase la semaine précédant la méningite de Mig et les antibiotypes sont totalement différents.

L'émergence constatée des souches *E.coli* βLSE expose à un plus grand risque d'échec des antibiothérapies probabilistes avec des conséquences plus importantes lors des méningites. Ce cas nous a fait prendre conscience de cette problématique et nous amènera probablement à réévaluer nos protocoles d'antibiothérapie.

389/69A — 4 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Cas clinique : infection néonatale à *Herpes simplex* de type 1 suite à une contamination intra-utérine

G. Billaud[2], V. Escuret[2], M. Bouscambert-Duchamp[2], Y. Mekki[2], R. Bouvier[1], C. Clamadieu[3], O. Claris[3], B. Lina[2]
[1]Laboratoire d'Anatomie et Cytologie Pathologique, CBPE [2]Laboratoire de Virologie, CBPE [3]Servie de Néonatologie, HFME, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Objectif : Les infections néonatales à Herpes Simplex Virus (HSV) sont rares,

associées à une forte morbidité et mortalité. La contamination est essentiellement périnatale, au moment de l'accouchement, mais parfois aussi post-natale et, de façon exceptionnelle, acquise *in utero*. Nous décrivons le cas exceptionnel d'une infection néonatale à HSV1 contractée *in utero*.

Patients et Méthodes : Mme R, primipare de 19 ans a accouché prématurément par césarienne à 25 semaines d'aménorrhée. La grossesse était jusque là normale. A la naissance, le bébé pesait 850g. Il présentait une détresse respiratoire, une conjonctivite, et sa peau était érythémateuse avec de nombreuses lésions à types de croûtes blanchâtres. Des prélèvements périphériques ont été adressés à J2 au laboratoire de virologie. L'enfant est rapidement décédé (J2) et une autopsie a été réalisée afin de rechercher une étiologie infectieuse.

Les prélèvements périphériques (écouvillons de gorge et oculaires) et les nécropsies ont été mis en culture et analysés par PCR. Aucun prélèvement de la mère n'était disponible en dehors de sérums.

Résultats : Tous les prélèvements ont été positifs pour HSV1 en PCR (HSV Typing ASR, Cepheid ®) mais négatifs en culture. La sérologie Herpes simplex de la mère au moment de l'accouchement a montré la présence d'IgG et d'IgM. Trois sérums antérieurs (fin du 1er trimestre et courant du 2ème trimestre) ont révélé la présence d'IgM et d'IgG anti-HSV dès la fin du premier trimestre de grossesse. La PCR réalisée sur ces 3 sérums s'est avérée également positive pour HSV1.

Après le décès, l'examen anatomopathologique réalisé sur l'enfant a objectivé des lésions cutanéo-muqueuses, hépatiques, spléniques et encéphaliques. De même, l'analyse du placenta a montré des lésions évocatrices d'une atteinte infectieuse.

Conclusion : La présentation clinique du nouveau-né était caractéristique d'une infection herpétique. La présence d'IgM dans les sérums ainsi que la virémie maternelle prolongée sont fortement évocateurs d'une primo-infection herpétique maternelle. La transmission de l'infection au fœtus a probablement eu lieu au cours du 2ème trimestre. La voie de transmission a pu être soit hématogène soit ascendante.

390/70A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

HFME : un nouvel hôpital à Lyon
Prévenir le risque de légionelloses nosocomiales

M. Reyrolle[1], S. Jarraud[1], F. Vandenesch[1], J. Etienne[1], J. Grando[2], R. Beron[3], J. Droguet[3]
[1]Centre National de Référence des Légionelles [2]Equipe d'hygiène, Bron [3]Direction des services techniques, Lyon, France

Les légionelloses nosocomiales représentent près de 11% des cas annuels 2007 répertoriés par l'INVS (Beh 2008 n°30-31). L'eau chaude sanitaire (ECS) de l'établissement de soins est la source de contamination dans la majorité des cas. La circulaire DGS 2002/243 relative à la prévention du risque lié aux légionelles dans les établissements de soins préconise la surveillance du réseau d'eau une fois par an, mais aucune surveillance n'est conseillée pour les nouveaux bâtiments avant l'admission des premiers patients. Les cas de légionelloses survenus à l'ouverture de certains hôpitaux en France, nous ont amené à prévenir le risque pour le nouvel Hôpital Femme Mère Enfant (HFME) qui a ouvert à Lyon en mars 2008.

Méthodes : HFME (452 lits) est un bâtiment de 6 étages avec 4 sous-stations et 12 circuits ECS, 1900 points d'usage et 23 km de réseaux. Une procédure a été rédigée et appliquée : Conduite A Tenir lors de la (re)mise en service des Réseaux d'Eau actions pour prévenir le risque bactérien dont les Légionelles :CATREL. Elle définit un inventaire d'actions et des suivis techniques et analytiques à réaliser dès la mise en eau du bâtiment (juillet 2007). Pour les *Legionella* : 98 échantillons d'eau ont été analysés par culture NFT90-431 et PCR XPT 90-471.

Résultats : Grâce au suivi de température (ECS 53-55°C) et aux soutirages hebdomadaires aux points d'usages (50), seulement 8/98 cultures ont été positives. Un point d'usage colonisé avec 1500 UFC/L (de *Legionella pneumophila* sérogroupe 4) nous a conduit à effectuer des chocs thermiques hebdomadaires pour éviter l'extension de la colonisation. Les résultats de PCR *Legionella* spp toujours élevés (10^4 à 10^6 UG/L) étaient difficilement interprétables quand ils concernaient une valeur unique. La PCR *Legionella pneumophila* (Lp) avait une valeur prédictive négative de 100% : toutes les PCR Lp< à la limite de quantification correspondaient à des cultures négatives. La valeur prédictive positive > 50% de la PCR Lp nous a permis d'avoir une réactivité technique en 48 h.

Nous avons donc réussi avec la procédure CATREL à obtenir un réseau sécurisé à l'ouverture de HFME.

Conclusion : La technique PCR Lp apparaît d'un très grand intérêt pour anticiper rapidement la gestion du risque lié à l'ECS. La procédure CATREL est applicable pour les hôpitaux, cliniques, maisons de retraite neufs ou en rénovation ; elle permet pour d'éviter la colonisation des réseaux dès la mise en eau donc de prévenir les légionelloses nosocomiales pour des patients à risque à leur admission dans les établissements de soins.

391/70A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Quelle alimentation choisir pour les patients greffés médullaires ? L'expérience des Hôpitaux Universitaires de Strasbourg (HUS)

T. Mutel, J. Foeglé, C. Hernandez, O. Bourneton, A. Freyd, T. Lavigne
Equipe Opérationnelle d'Hygiène, Hopitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

L'alimentation conventionnelle constitue un risque infectieux potentiel non négligeable pour les patients fortement immunodéprimés (greffe médullaire). Les seuils de contamination alimentaire acceptables en fonction du degré d'immunosuppression du patient ne sont pas connus. En l'absence de consensus, les pratiques sont extrêmement hétérogènes entre les différents centres hospitaliers. Les Hôpitaux Universitaires de Strasbourg ont opté depuis 1996 pour une stérilisation des aliments par appertisation avec des contrôles microbiologiques sur chaque lot de verrines produites. Les modalités de préparation des verrines ont été modifiées suite à une première étude réalisée en 2002.

L'objectif de cette étude est de vérifier que les modalités actuelles de préparation des verrines assurent une qualité microbiologique suffisante des plats servis.

Matériels et méthodes : Nous décrirons les résultats des analyses microbiologiques réalisées depuis 1996 en comparant les taux de conformité obtenus sur différentes périodes de temps choisis en fonction des améliorations mises en œuvre entre 1996 et 2008. Nous justifions le choix des seuils microbiologiques retenus par une analyse de la littérature.

Résultats : Sur la période de septembre 2002 à mai 2008, 3248 plats ont été analysés. Le taux de contamination des verrines régresse fortement après 2006, date des dernières améliorations apportées au procédé d'appertisation, puisque ce taux passe de 32,9% en 2002 à 6,3% en 2007. Les micro-organismes les plus fréquemment isolés dans les plats sont des bactéries appartenant au genre *Bacillus* (12,19%) ainsi que des moisissures environnementales *non fructifiantes en culture* (2,25%), les aliments les plus souvent contaminés étant les aliments secs comme les biscuits sucrés (proportion de contamination de 43,8%), les céréales (38,7%) et les biscuits salés (38,0%).

Conclusion : L'étude de ces résultats a permis d'apprécier l'efficacité des différentes mesures mises en place qui concilient aujourd'hui qualité gustative et sécurité microbiologique.

392/70A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prescription, consommation et coût de l'antibiothérapie au CHU Annaba en 2007

A. Trima[1], F. Boussaha[3], F. Belhani[2]
[1]Maladies Infectieuses [2]Pharmacie Centrale [3]Pharmacie Ibn Sina, CHU Annaba, Annaba, Algérie

Il s'agit d'une enquête rétrospective sur la prescription, la consommation et le coût des ATB au niveau du CHU d'Annaba en 2007.

Les données concernant la consommation Annuelle d'Antibiotiques par famille et par molécule ont été tirées des fichiers informatiques de la pharmacie centrale du CHU.

L'évaluation financière de la consommation ATB est comparée à la dotation budgétaire (Chapitre médicament) de chaque service.

L'enquête sur la prescription n'a pu être faite que dans 5 services (4 de médecine et 1 de chirurgie).

Les résultats montrent une importante consommation des Aminopénicilines, des pénicillines M et des Aminosides.

On note aussi une montée considérable de la consommation des CG3, des Nitro-imidozolés et des quinolones mais aussi de Molécules de recours telles l'imipenem, la vancomycine et la ceftazidine par rapport à une précédente enquête dans le même CHU.

La part des ATB dans le budget médicament du CHU d'Annaba en 2007 est de 21,3% alors qu'elle était de 35,2% en 1996.

L'enveloppe financière consacrée aux antibiotiques est passée de 1,350 Milliard de centimes en 1996 à 8,1 Milliards de centimes en 2007.

L'enquête sur la prescription a montré un pourcentage de traitement incorrect variant de 24% à 39%. Alors que le pourcentage de traitement approprié variait de 26% à 51,7%

En milieu chirurgical, le pourcentage de traitement prophylactique est élevé (50%)

Cette enquête montre que les ATB sont trop et souvent mal prescrits. Leur consommation grève lourdement le budget médicament des hôpitaux.

Cette dérive de la consommation s'accompagne souvent d'une aggravation des résistances d'où la tentation d'employer des molécules de dernier recours.

Il est donc urgent de mettre en place une politique antibiotique a l'hôpital pour favoriser les prescriptions raisonnées, diminuer les couts et agir sur la résistance bactérienne.

393/70A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Incidence des infections nosocomiales liées aux cathéters centraux dans un service de néonatologie

B. Salauze[2-1], A. Wallet[3], D. Mitanchez[3], F. Gold[3], H. Vu-Thien[2]
[1]Equipe Opérationnelle d'Hygiène [2]Service de Microbiologie [3]Service de Néonatologie, Hôpital Trousseau (APHP), Paris, France

Les bactériémies liées aux cathéters centraux (BLC) représentent les principales infections nosocomiales (IN) dans les unités de néonatologie. La surveillance des IN réalisée en continu depuis 2003 dans notre service a mis en évidence une augmentation du taux des bactériémies depuis 2006.

Méthode : Notre objectif était d'évaluer la densité d'incidence des bactériémies sur les cathéters centraux posés dans le service. Une enquête rétrospective sur l'année 2007 a été réalisée. Tous les cathéters veineux centraux (CVC) posés dans le service ont été inclus : cathéter ombilical (CVO) et cathéter épicutanéocave (KTJ).

Les données ont été recueillies à partir de la liste des cathéters posés, de la liste des prélèvements positifs du laboratoire de microbiologie, des résultats du suivi des infections nosocomiales.

Résultats : 58 nouveaux nés (NN) porteurs de CVC ont été inclus représentant 72 CVC (53 KTJ et 19 CVO). Pour 10 NN ont été posés dans le service 1 CVO puis un KTJ ; pour quatre 2 KTJ et pour 9 un CVO. Il s'agissait de 30 garçons et 28 filles. L'âge à l'admission était en moyenne de 5.63 jours (médiane à 0), l'âge gestationnel de 31.84 semaines et le poids de naissance de 1675 g.

Tous les CVC ont été utilisés pour une alimentation parentérale. La durée moyenne de maintien était de 3.7 jours pour les CVO et 16.5 jours pour les KTJ.

10 infections ont été identifiées : 9 BLC et une infection locale, toutes liées au KTJ. Le délai moyen de survenue des BLC est de 12.2 jours (médiane = 9 jours). L'infection locale est survenue au 18 ^{ème} jour. Les micro- organismes isolés sont tous des staphylocoques à coagulase négative. Pour les 9 BLC, la culture du CVC était 8 fois sur 9 stérile.

L'incidence des BLC est de 12.5%, la densité d'incidence est de 10.2 pour 1000 jours CVC. En ne tenant compte que des KTJ, l'incidence des BLC est de 16.9% et la densité d'incidence de 11.18 pour 1000 jours cathéter.

Conclusion : L'incidence des BLC dans notre service est plus importante que celle rapportée par le réseau NEOCAT (1 semestre 2007) : incidence 8.83%, densité d'incidence 6.62 pour 1000 jour CVC. En 2008 le service participe à l'enquête du réseau NEOCAT, ce qui permettra à terme de pouvoir se situer par rapport aux autres services

394/70A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Etude des facteurs prédictifs d'acquisition d'une souche épidémique d'*Escherichia coli* productrice de Bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE)

C. Barbe[2], A. Fusellier[2], F. Vitry[1], V. Vernet-Garnier[2], F. Bureau-Chalot[2], C. De Champs[2], O. Bajolet[2]
[1]Centre de Recherche, d'Investigation Clinique et d'Aide Méthodologique [2]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Reims, Reims, France

Objectifs : Recherche des facteurs prédictifs d'acquisition d'une souche épidémique d'*E.coli* BLSE par comparaison des patients porteurs d'une souche épidémique à ceux porteurs d'une souche non épidémique.

Méthodes : Inclusion prospective des patients hospitalisés, porteurs (colonisés ou infectés) d'une souche d'*E.coli* BLSE entre le 01/11/06 et le 31/10/07. Consultation des dossiers médicaux et recueil de données administratives et cliniques. Réalisation des parcours hospitaliers depuis l'année 2000. Classification des cas en **épidémique** : patient porteur d'une souche clonale (même enzyme BLSE, même antibiotype et génotype identique par PCR-RAPD et/ou électrophorèse d'ADN en champ pulsé) ayant un séjour hospitalier commun (séjour commun dans le même service) ou un parcours de soins commun (séjour commun dans des services différents partageant la même patientèle ou le même personnel de soins) avec un autre patient porteur de la même souche et **non épidémique**. Analyse statistique univariée par le logiciel Epi Info® et multivariée par SAS®.

Résultats : 158 patients inclus, 60 cas épidémiques et 88 non épidémiques. Différences entre cas épidémiques et non épidémiques : délai d'acquisition plus long (p<0,0001), infections plus fréquentes (p=0,015), cas plus souvent acquis après 48h d'hospitalisation ($p=10^{-5}$). Facteurs prédictifs d'acquisition d'une souche épidémique **(i) par l'analyse univariée :** âge élevé ($p<10^{-4}$), existence de comorbidités (p=0,015) : hypertension artérielle (p=0,045) et démence (p=0,03), antibiothérapie par pénicillines (p=0,05) : amoxicilline (p=0,02) et ticarcilline-acide clavulanique (p=0,05), hospitalisation dans un contexte d'urgence (p=0,05), nombre élevé de services fréquentés (p=0,0002) et **(ii) par l'analyse multivariée :** sexe féminin (p=0,04), âge (p=0,003), score de Charlson élevé (p=0,02), antibiothérapie par ticarcilline+ acide clavulanique (p=0,06) et nombre élevé de services fréquentés (p=0,02).

Conclusion : Face à l'émergence mondiale des souches d'*E.coli* BLSE, limiter leur diffusion dans les établissements de santé est une priorité. L'identification de facteurs prédictifs d'acquisition des souches épidémiques permet d'envisager un dépistage ciblé afin de mettre en évidence les réservoirs et de prévenir la transmission croisée.

395/70A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Contamination microbienne d'une salle de kinésithérapie respiratoire accueillant des patients atteints de mucoviscidose

C. Jansen, N. Breton, O. Roth, P.Y. Allouch
Hygiène Hospitalière, Centre Hospitalier de Versailles, Versailles, France

Dans le cadre d'une démarche d'amélioration de la qualité des soins apportés aux enfants suivis pour mucoviscidose, nous avons voulu mesurer le rôle de l'air d'une salle de kinésithérapie respiratoire (KR) dans la transmission croisée des bactéries.

Matériels et méthodes : Des prélèvements d'air ont été réalisés dans la salle de KR, la salle d'EFR, des chambres de pédiatrie et le hall d'accueil de l'hôpital. Les souches de *Staphylococcus aureus* (SA) isolées dans l'environnement ont été comparées aux souches isolées dans les expectorations des patients, par électrophorèse en champ pulsé (PFGE). Par ailleurs, nous avons comparé par PFGE les souches de SA correspondant aux isolats de SA chez les patients atteints de mucoviscidose et établi un tableau synoptique du passage de ces patients en consultation et/ou en hospitalisation.

Trente-quatre prélèvements d'air ont été effectués dans la salle de KR au cours de 12 consultations, 15 dans la salle d'EFR, 4 en chambre de pédiatrie et 4 dans le hall d'accueil de l'hôpital. La charge microbienne moyenne de la salle de KR était de 365 UFC/m^3, significativement plus élevée que dans les autres sites : respectivement 175, 177 et 297 UFC/m^3 (p<0,05, Student). Dans la salle de KR, 41% des prélèvements étaient positifs à SA (14/34). Huit souches ont été identifiées dont un SA résistant à la méthicilline. Cinq souches étaient identiques à celles isolées dans les expectorations des patients (63%).

Sur les 25 isolats de SA étudiés en PFGE, 4 pulsotypes principaux ont été identifiés. Les tableaux synoptiques des consultations de KR montrent qu'avant d'être eux-mêmes colonisés, 6 patients ont croisé 1 à 3 patients déjà colonisés par une souche de même génotype.

Nous avons examiné les trajets de ces patients au sein de l'hôpital. Les patients ne se sont croisés qu'en salle de KR.

Conclusion : La charge microbienne en salle de KR est importante. Des souches de SA émises lors de la KR persistent suffisamment de temps dans l'air de ces salles pour y être inhalées par des enfants jusque-là non porteurs. Notre étude prouve que la salle de KR constitue pour la prévention de la transmission un point critique. L'air de ces salles devrait être microbiologiquement contrôlé.

Remerciements : M. Borel, Dr Foucaud, Dr Pangon, pour leur aide.

396/71A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Impact de la méthode de surveillance sur le taux d'infection du site opératoire (ISO) après pontages coronariens (PC)

C. Leprince[2], C. Bourigault[2], S. Corvec[2-4], M. Picard[2], P. Despins[3], D. Duveau[3], Y. Blanloeil[1], A. Reynaud[2-4], D. Lepelletier[2-4]
[1]Anesthésie-Réanimation [2]Bactériologie-Hygiène [3]Institut du Thorax, CHU de Nantes [4]Université de Nantes -Thérapeutiques Cliniques et Expérimentales des Infections, EA3826, UFR de Médecine., Nantes, France

Objet : L'un des objectifs de la surveillance des ISO est de mesurer un taux d'infection pour 100 interventions. Les PC représentent l'acte dont le risque infectieux est le plus élevé en chirurgie cardiaque. L'objectif de cette étude était de comparer les taux d'infection après PC et de décrire les avantages et inconvénients de chacune des méthodes de surveillance.

Méthodes : Les deux méthodes de surveillance utilisées entre 2005 et 2007 étaient (1) Surveillance continue annuelle (SCA) des patients infectés, (2) Surveillance périodique (SP) de trois mois selon un protocole RAISIN de l'ensemble des patients opérés. Saisie des données sur les logiciels Excel et Epi Info. Comparaison des proportions par test *t* de Student.

Résultats : Les taux d'ISO étaient de 3,3% (SCA) et de 4,9% (SP) (*P*<0,3). La surveillance identifiait 35 (SCA) et 11 (SP) ISO : respectivement 25 (2,4%) et 9 (4,0%) superficielles, et 10 (0,9%) et 2 (0,9%) profondes. La proportion de *S. aureus* responsables d'ISO ne variait pas selon la méthode (44% et 42%). La SP permettait la comparaison des caractéristiques des patients infectés et non infectés inclus dans le protocole national sans différence significative sur la période d'étude (3 fois 3 mois). La SCA permettait de calculer pour les infections profondes la proportion de patients diabétiques (48%), de patients avec un index de masse corporelle > 30 (39%), le taux de reprise chirurgicale précoce (22%), la proportion de PC avec utilisation de deux artères mammaires internes (39%), et la traçabilité de la préparation cutanée de l'opéré (100%).

Conclusion : La SP demande un temps de recueil et de saisie important et ne permet pas toujours l'identification de différence entre infectés et non infectés probablement par manque de puissance statistique. Les données issues de cette surveillance sont adressées au C-CLIN et participent à la base de données nationale. La SCA cible uniquement les patients infectés. Elle permet de lisser le taux d'ISO sur l'année entière et de construire des scores de risque différents du NNIS intégrant d'autres variables pertinentes. Le temps épargné au recueil et à la saisie des données permet d'augmenter le temps consacré à la prévention au bloc opératoire et dans les services d'hospitalisation.

397/71A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Optimisation de la détection des infections de site opératoire dans le service d'orthopédie traumatologie de l'hôpital BonSecours (CHR de Metz-Thionville)

M. Llorens[1], J. Sellies[1], M.B. Irrazi[2], C. Cuny[2]
[1]Service d'hygiène hospitalière [2]Service d'orthopédie traumatologie, CHR Metz Thionville, Metz, France

Objet : « Optimiser le recueil et l'utilisation des données de surveillance et du signalement des infections nosocomiales » constitue une des 5 orientations du programme national de lutte contre les infections nosocomiales 2005-2008. Dans le service d'orthopédie traumatologie de l'hôpital Bon Secours (CHR de Metz-Thionville), la surveillance des Infections de Site Opératoire (ISO) est assurée depuis 1999 par le remplissage d'une fiche papier pour chaque patient opéré (méthode RAISIN). Le but de ce travail est de décrire et d'évaluer la sensibilité d'une nouvelle méthode de détection des ISO.

Méthodes : Cette nouvelle méthode est basée sur le croisement de différentes données par le praticien en hygiène afin de générer une suspicion d'ISO. Il s'agit :

- des événements indésirables signalés par les référents du service (réadmissions, ré interventions)

- des prescriptions d'antibiotiques à visée ostéoarticulaire (glycopeptides, rifampicine…)

- des données d'activités du bloc opératoire (BO) : reprises chirurgicales

- des prélèvements bactériologiques réalisés (prélèvements profonds per opératoire)

La suspicion d'ISO est validée par le référent médical du service et le praticien en hygiène après analyse approfondie du dossier. Cette méthode a été comparée à la méthode RAISIN entre janvier et juillet 2008.

Résultats : Sur cette période, 3 ISO ont été validées par la méthode RAISIN. La nouvelle méthode a permis de détecter 4 ISO supplémentaires. Parmi ces 4 ISO :

- 4 avaient fait l'objet d'une antibiothérapie et de prélèvements bactériologiques positifs

- 3 avaient été enregistrées comme une reprise dans les données du BO -2 avaient fait l'objet d'un signalement.

Conclusion : Selon ces résultats préliminaires, cette nouvelle méthodologie apporte :

- une meilleure sensibilité dans la détection des ISO,

- un gain de temps lié à la suppression du remplissage et à la saisie des fiches,

- un investissement supérieur des référents dans le signalement d'évènements indésirables puis dans l'analyse approfondie de chaque dossier,

- une mise en évidence de dysfonctionnements inattendus (antibiothérapies inappropriées). La prescription d'antibiotiques semble être le signal d'alerte le plus sensible pour identifier une ISO. Ces résultats sont à confirmer par une étude prospective sur un an.

398/71A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Le dépistage en ambulatoire des patients porteurs de *Staphylococcus aureus* ou présentant une colonisation urinaire devant bénéficier d'une chirurgie orthopédique réglée en ambulatoire est-il réaliste ?

O. Bajolet[1], E. Toussaint[1], S. Diallo[2], V. Vernet-Garnier[1], B. Cambresy[2], N. Oud[1], S. Rieger[2], E. Dehoux[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Service d'Orthopédie-Traumatologie, CHU de Reims, Reims, France

Objectif : Evaluer la faisabilité de la réalisation en externe d'une recherche de *Staphylococcus aureus* (SA) au niveau nasal et d'un examen cyto-bactériologique des urines (ECBU) dans une population de patients devant bénéficier d'une chirurgie réglée orthopédique dans le but de réaliser une chimio-décontamination nasale et cutanée en cas de colonisation à SA et un traitement des bactériuries en amont de l'hospitalisation.

Matériel et Méthodes : Inclusion des patients devant bénéficier d'une chirurgie orthopédique réglée de type prothèse de hanche, prothèse de genou, chirurgie du rachis avec mise en place de matériel, entre le 01/10/07 et le 30/06/08 dans un service d'orthopédie-traumatologie d'un hôpital universitaire de 1800 lits. Réalisation des examens biologiques en externe. Procédure de chimio-décontamination remise au patient et communiquée au médecin traitant en cas de résultat positif : 5 jours avant l'intervention chirurgicale application de mupirocine au niveau nasal et de chlorhexidine aqueuse à 0,05% sur le corps après la douche.

Résultats : Les résultats des examens biologiques pour au moins un des deux examens ont été obtenus pour 240 patients sur 263 inclus. La répartition des interventions chirurgicales était la suivante : 122 prothèses de hanche, 86 prothèses de genou, 32 chirurgies du rachis. 21,4% des patients (48 positifs/224 recherches) étaient colonisés à SA (3 *S. aureus* résistant à la méticilline, 45 *S. aureus* sensible à la méticilline). 70,8% (n=34) des patients colonisés à SA ont bénéficié d'une chimio-décontamination nasale et cutanée. 8,9% des patients (20/225) présentaient une bactériurie, le micro-organisme le plus fréquemment isolé étant *E.coli* (n=16).

Conclusion : Le traitement des bactériuries en amont des hospitalisations programmées a permis d'éviter de différer les interventions chirurgicales. Le dépistage du portage de SAMS et de SAMR nécessite que les laboratoires de biologie effectuent les deux recherches ce qui dans notre expérience n'a pas toujours été le cas malgré la prescription médicale. La mise en place de la chimio-décontamination nasale et cutanée avant l'intervention chirurgicale nécessite d'établir un réseau ville-hôpital pour qu'elle soit réalisée dans de bonnes conditions.

399/71A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Les infections du site opératoire en orthopédie et traumatologie au CHU d'Annaba: aspects épidémio-cliniques et thérapeutiques

N. Messalhi, A. Mammeri, K. Amoura, R. Atia, M. Laouar
Maladies Infectieuses, CHU, Annaba, Algérie

Introduction : La chirurgie orthopédique et traumatologique peut être à l'instar de toutes les chirurgies greffée d'infection du site opératoire qui évolue souvent vers l'ostéite en raison de la proximité de la plaie opératoire des os et des articulations superficiels. L'ostéite constituée a souvent une évolution chronique en raison du comportement particulier de certaines bactéries responsables de l'infection au niveau de l'os en présence de matériel et des modifications de l'action et de la diffusion de la plupart des antibiotiques au niveau d'un os infecté et en présence de matériel. Notre étude se propose dévaluer cet aspect au niveau du CHU dAnnaba.

Objectifs :

1 - Déterminer l'incidence des infections du site opératoire durant la période d'étude

2 - Déterminer les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques de ces infections

3 - Déterminer des taux spécifiques des ISO en fonction de certains facteurs de risque

4 - Evaluer l'évolution et les séquelles des ISO

5 - Rechercher les facteurs favorisant ces ISO

6 - Dégager des propositions et une stratégie de prévention

Résultats : Durant la période allant du 01/05/2003 au 31 /05/2004 nous avons réalisé une étude transversale prospective sur les infections du site opératoire en orthopédie et traumatologie du CHU d'Annaba incluant tout patient opéré au niveau d'un des deux blocs opératoires et appartenant à la classe 1 ou la classe 2 ou la classe 3 selon la classification d'Altmeier (68). Ce patient n'a pas été opéré dans le mois précédent et ne possède pas de matériel d'osthéo synthèse ou d'implant et excluant tout patient appartenant à la classe 4 d'Altmeier qui est considéré déjà infecté, tout patient opéré dans le mois précédent ou porteur d'un matériel d'ostéosynthèse ou d'un implant et tout patient transféré d'un autre hôpital présentant une fracture ouverte manipulée avant son arrivée au CHU d'Annaba. Nous avons colligé 1251 patients. 75% sont de sexe masculin. la moyenne d'age est de 33 ans. 90% sont opérés en urgence et 90% des patients ont bénéficié d'un matériel d'ostéosynthèse. 85% de notre population a un index NNIS=0.19% de nos patients sont perdus de vue à une année. L'incidence globale des ISO est de 11% Prédominance masculine, le maximum de cas touche les patients entre 10 et 50 ans. 21% des ISO seulement sont révélées pendant l'hospitalisation. 70% des patients infectés ont un index NNIS0 et 77% ont un matériel d'ostéosynthèse. L'infection est profonde dans 63% des cas dont 13% osseuse. Le staphylocoque aureus est le germe le plus fréquent. Le traitement associe une antibiothérapie à une reprise chirurgicale dans 66% des cas. L'index NNIS et l'age ne sont pas des facteurs de risque dans notre étude, mais la présence de matériel, le contexte d'urgence, le bloc opératoire du service des urgences et une durée d'intervention supérieure à 2 heures apparaissent comme des facteurs de risque. L'évolution s'est faite vers l'ostéite chronique dans 37% des cas dominée par l'atteinte de la jambe sur ECM. 18% de nos patients ont des séquelles à type de raideur articulaire, de raccourcissement du membre atteint, nous déplorons une amputation mais aucun décès par ISO.

400/71A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Incidence des complications infectieuses des gastrostomies percutanées endoscopiques au centre hospitalier de Pontoise

P. Martres[2], A. Fleury[1], G. Blanchard[2], M. Thibault[2]
[1]Endoscopies Digestives [2]Microbiologie, Centre Hospitalier René Dubos, Pontoise, France

Objet de l'étude : La gastrostomie percutanée endoscopique (GPE) est la technique de choix pour l'alimentation entérale prolongée. L'incidence des infections après GPE varie de 3 à 30% selon les publications. L'objectif de cette étude est d'estimer le taux de complications infectieuses au CH de Pontoise.

Méthodes : En juin 2004, le protocole «Pose et entretien d'une sonde de gastrostomie» a été validé au CLIN. Il recommande 3 désinfections bucco-pharyngées (1 la veille et 2 le jour de la pose de sonde), une préparation cutanée type « préparation de l'opéré » et l'administration d'une antibioprophylaxie. Une surveillance rétrospective des infections à partir des dossiers des patients et des données du Laboratoire de Bactériologie a été effectuée pour des malades dont les GPE ont été posées en 2006 et en 2007. Les items recueillis sont l'âge, les principaux antécédents médicaux et infectieux, les étapes clés de la préparation cutanée et oropharyngée du patient et les caractéristiques des infections survenant dans les 20 jours suivant la pose.

Résultats : Sur 92 gastrostomies posées (54 en 2006 et 38 en 2007), 11 se

sont infectées (11.9%). Sept infections étaient superficielles et 4 profondes. Toutes ont fait l'objet de prélèvements bactériologiques. Les germes isolés ont été : 2 *S. aureus* sensibles à la methicilline, 8 enterobactéries, 2 *P.aeruginosa*, 1 Streptocoque alpha hémolytique, 1 *E. faecalis*. Dans 6 infections sur 11, on retrouvait 2 germes. Les infections sont survenues en moyenne 8 jours après la pose (1-17 jours). Six patients infectés sur 11 avaient un score ASA supérieur ou égal à 3. Parmi 19 patients issus de Neurologie, 4 (21%) ont présenté une infection, versus 3 (15%) sur 20 patients d'ORL, 2 (15%) sur 13 patients de Gastroentérologie et 2 (10%) sur 20 patients de Réanimation. L'administration d'une antibioprophylaxie a toujours été réalisée. La traçabilité de la préparation cutanée et buccale n'est retrouvée que dans 50% des dossiers.

Conclusion : Cette étude a permis d'estimer le taux des complications infectieuses après pose de GPE au CH de Pontoise. L'axe de progrès est de mettre en place une surveillance prospective avec une fiche de liaison permettant d'augmenter la traçabilité des étapes clés de la pose et de l'entretien d'une GPE.

401/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Du bon usage de l'intervention pharmaceutique en Infectiologie

S. Diallo[3], C. Fournel[3], M. Chaumont[3], A. Therby[2], B. Pangon[1], B. Maneglier[4-5], C. Billon[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Médecine Interne et Maladies Infectieuses [3]Pharmacie [4]Unité de Pharmacologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay [5]UFR Médicale Paris Ile-de-France Ouest, Paris, France

La dispensation contrôlée des antibiotiques permet au pharmacien hospitalier de participer au bon usage de ces molécules. Cette étude a pour objet de déterminer pour le pharmacien comment intervenir de façon pertinente auprès des prescripteurs.

Au Centre Hospitalier de Versailles, parmi les 58 molécules antibiotiques référencées, 24 sont soumises à prescription nominative sur ordonnance spécifique, dans 14 services de chirurgie et médecine. Pour 2 de ces services, les antibiothérapies sont discutées lors de réunions de concertation pluridisciplinaires (RCP) hebdomadaires, auxquelles le pharmacien participe.

Toutes les prescriptions font l'objet d'une analyse pharmaceutique avant dispensation. En cas d'anomalie, le pharmacien contacte le prescripteur par téléphone pour un complément d'information. Le cas échéant, il propose une modification de la prescription. Ces interventions ont été recueillies de façon prospective de février à août 2008 selon la codification standardisée de la Société Française de Pharmacie Clinique.

En Réanimation et Chirurgie Septique (services avec RCP), 659 ordonnances ont été analysées, le taux moyen d'interventions est de 1,7%. Pour les 12 autres services (2194 ordonnances), il est significativement supérieur (5,5%). Les principales interventions (131 en tout) sont : adaptation posologique (40%), modification de l'antibiothérapie en fonction de l'antibiogramme (22%), optimisation des modalités d'administration (18%). La totalité des modifications en fonction de l'antibiogramme concernent les services sans RCP. Le taux d'acceptation (75%) ne varie pas significativement selon le type de services. Les interventions n'entraînant pas de modification de la prescription correspondent majoritairement à une information clinique manquante pour le pharmacien (allergie, insuffisance rénale) ou à un prescripteur non joignable.

Les RCP permettent au pharmacien de prendre connaissance des données cliniques et biologiques justifiant l'antibiothérapie. Elles évitent des interventions au moment de la dispensation, tout en garantissant une bonne transmission de l'information pharmaceutique. L'élaboration des prescriptions en RCP fait l'objet d'un consensus auquel le pharmacien contribue. La prise en charge thérapeutique des patients est ainsi optimisée.

402/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Le bon usage des aminosides : évaluation des pratiques professionnelles appliquée au champ pharmaceutique

C. Fournier[4], H. Lanquetot[5], M. Paccalin[1], M. Renaud[3], F. Roblot[2], A. Veinstein[6], A. Dupuis[4]
[1]Service gériatrie [2]Service maladies infectieuses [3]Service oncologie-hématologie [4]Service pharmacie [5]Service réanimation cardio-thoracique [6]Service réanimation médicale, CHU la Milétrie, Poitiers, France

Si l'évaluation des pratiques professionnelles (EPP) est obligatoire pour les médecins (loi du 13 août 2004), elle reste facultative pour les pharmaciens. Cette démarche a pourtant les avantages de faire reconnaître et d'améliorer la qualité d'une pratique professionnelle. Nous avons donc souhaité l'appliquer à la pratique pharmaceutique en évaluant le bon usage des aminosides.

Une étude de pratique par comparaison à un référentiel de toutes les prescriptions initiales de gentamicine et d'amikacine a été réalisée dans 5 services de soins du CHU de Poitiers (réanimations, maladies infectieuses, gériatrie et hématologie), pendant 2 mois. Les items étudiés portent sur les critères suivants : fractionnement de la dose journalière, posologie journalière et dosage plasmatique.Tout d'abord notre première action a été de réaliser l'analyse par rapport au seul référentiel national pertinent retrouvé (conférence d'actualisation 1999 : « *Place des aminoglycosides en anesthésie réanimation* » = référentiel 1), puis suite aux résultats, par rapport à un référentiel élaboré avec le référent anti-infectieux de chacun des services concernés (référentiel 2).

Au total, 69 initiations de traitement ont été analysées. Globalement, le taux de non-conformité au regard du référentiel 2 est plus faible qu'au regard du référentiel 1 (71% vs 58%). La posologie journalière est le critère présentant le plus de non conformité 51% (référentiel 1) vs 30% (référentiel 2), principalement dû à un défaut d'adaptation au poids. Le fractionnement de la dose journalière est non conforme dans 17% des cas (référentiel 1) vs 16% des cas (référentiel 2), essentiellement pour les services de maladies infectieuses et de gériatrie. En ce qui concerne le dosage plasmatique, sa réalisation ou non est conforme dans 78% des cas quel que soit le référentiel.

Cette étude révèle une hétérogénéité des pratiques ainsi que des écarts par rapport au référentiel national. De plus, même après l'élaboration d'un référentiel spécifique des écarts subsistent. C'est pourquoi nous allons maintenant nous attacher à améliorer la qualité de la diffusion des recommandations de bon usage des aminosides et à évaluer son impact respectant ainsi la démarche d'EPP.

403/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Bon usage des antibiotiques : impact de l'évaluation des pratiques professionnelles dans la prise en charge des pneumopathies aiguës communautaires

A. Minchella[3-2], C. Lechiche[3], H. Poujol[2], N. Molinari[1], A. Sotto[3]
[1]Département de Biostatistiques [2]Pharmacie [3]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Caremeau, Nîmes, France

Objet : Devant l'émergence inquiétante de la multirésistance bactérienne, la maîtrise de l'usage des antibiotiques est une priorité de santé publique. Dans une démarche d'évaluation des pratiques professionnelles (EPP), nous avons évalué l'usage des antibiotiques dans la prise en charge des pneumopathies aiguës communautaires (PAC) dans notre centre hospitalier universitaire (1800 lits) en se référent au référentiel local d'antibiothérapie.

Méthode : Il s'agissait d'un audit clinique rétrospectif (méthode proposée par l'HAS), évaluant la pertinence des prescriptions avant et après la diffusion du référentiel. Les patients, adultes, hospitalisés entre le 01/01/2005 et le 30/04/2005 (A) et entre le 01/01/2006 et le 30/04/2006 (B), dont le diagnostic de PAC a été confirmé, ont été tirés au sort. L'évaluation a été réalisée par 3 experts, indépendamment, à l'aide d'un Index d'adéquation thérapeutique (IAT) constitué de 10 items pondérés selon l'importance accordée à chacun d'eux. L'adéquation était d'autant meilleure que l'IAT était faible.

Résultats : 124 patients ont été inclus (A : 64; B : 60), 69 étaient des hommes, la moyenne d'âge était de 75 ans (ET : 15,16).

Selon les experts, le choix de l'antibiothérapie probabiliste était conforme au référentiel dans 77,4% des cas, les posologies adaptées dans 90% et la voie d'administration dans 35,5%. La durée médiane de l'antibiothérapie initiale était de 4 jours. La prescription était cohérente avec une adaptation à 72 heures dans 70,2% des cas. La durée du traitement était conforme dans 73,4% des cas (médiane : 12 jours).

Le score de l'IAT était significativement plus élevé en période A (3,938) qu'en période B (2,767) (p = 0,01177). Il n'y avait pas de corrélation entre l'IAT et la gravité, l'IAT et la durée de séjour, ni entre l'IAT et le devenir du patient.

Conclusion : Ainsi, la diffusion des recommandations locales a permis d'améliorer les pratiques mais les résultats restent limités. Les recommandations locales sont peu connues des professionnels de santé. Il est indispensable d'améliorer leur diffusion en développant les moyens appropriés. Cependant, la diffusion des résultats de cette EPP a permis de resensibiliser les professionnels de santé au bon usage des antibiotiques dans le domaine des PAC.

404/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Intérêt de l'association des macrolides aux Bêta-lactamines pour le traitement des pneumonies communautaires de l'adulte à *Streptococcus pneumoniae* avec bactériémie

F. Afarni[5], A. Rabbat[2], J.R. Zahar[4-3], J. Loubinoux[1], A. Ben Ali[5]
[1]Microbiologie [2]Pneumologie, CHU Hôtel Dieu [3]Equipe Mobile d'infectiologie [4]Microbiologie Hygiène Hospitalière, CHU Necker-Enfants Malades [5]Microbiologie, Hôpital Saint Joseph, Paris, France

Introduction et objectif : Malgré la résistance fréquente de *Streptococcus pneumoniae* (Sp) aux macrolides, leur activité anti-inflammatoire a été mise en avant pour proposer leur association aux b -lactamines dans les pneumonies à pneumocoque. Dans ce travail, l'objectif était d'évaluer l'intérêt des macrolides en association pour le traitement des pneumonies bactériémiques à Sp hospitalisées hors réanimation.

Matériels et méthodes : Etude rétrospective comparative, incluant les patients admis de 1998 à 2008 pour pneumonies communautaires à Sp ayant bénéficié d'un traitement par b-lactamines seules (M-) ou associées avec des macrolides (spiramycine) pendant au moins 48 heures (M+). L'évolution clinique pendant l'hospitalisation a été évaluée en analyse univariée.

Résultats : 78 patients ont été inclus. La moyenne d'âge était de 60 ± 21 ans. 13 (17%) présentaient un score de FINE à 5 à l'admission. 37 (47%) présentaient des comorbidités. Parmi les 78 patients étudiés, 24 (31%) ont bénéficié d'une association d'antibiotiques dont 22 pendant au moins 48 heures (M+). 21 (27%) ont présenté des complications dont 3 Chocs septique, 9 épanchements pleuraux et 3 insuffisances rénales aiguës.

En analyse univariée, la survenue de complications n'était pas statistiquement différente entre les deux groupes M+ et M- (27%). De même, nous n'avons pas observé de différence significative entre les deux groupes pour le délai

d'obtention de l'apyrexie, la durée moyenne d'hospitalisation, la mortalité (9% vs 11%).

Conclusion : Dans ce travail, les macrolides ne montrent pas d'intérêt pour le traitement des pneumonies bactériémiques à Sp admises hors réanimation. Toutefois les faibles effectifs et la rareté des complications sont les deux biais majeurs. Seule une étude prospective devrait permettre de confirmer ou infirmer ce résultat.

405/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Antibiothérapie (ABT) des pneumopathies aiguës communautaires (PAC) en médecine au CHU de Caen : évaluation de la conformité au référentiel et du risque cardio-toxique

M. Pakenham[1], G. Gras[1-5], E. Bergot[4], B. Le Chevalier[3], D. Cohen[2], R. Verdon[1]
[1]Maladies Infectieuses et Tropicales [2]Médecine Générale [3]Médecine Polyvalente [4]Pneumologie, CHU, Caen [5]Médecine Interne, CHG, Lisieux, France

Objet : a) évaluer la qualité de l'ABT des PAC hospitalisées en médecine ; b) évaluer le risque cardiotoxique de l'ABT prescrite

Méthodes : étude rétrospective des cas de PAC dans 4 services de médecine polyvalente, pneumologie et infectiologie. Ont été exclus les patients immunodéprimés. Le choix et les modalités d'utilisation et de suivi de l'ABT ont été confrontées au référentiel local; l'ECG et les facteurs de risque de torsades de pointe (TdP) avant et après initiation de l'ABT ont été analysés.

Résultats : Les 64 derniers épisodes ont été inclus ; l'âge médian était de 80,5 ans [19 ;99], le sex ratio H/F de 1,28. Une allergie aux bétalactamines était signalée chez 17 patients (27%). Une ABT ou la prise de fluoroquinolones dans les 3 derniers mois était renseignée chez 15 (23%) et 6 (9%) patients. Les molécules les plus prescrites étaient l'amoxicilline-ac.clavulanique (544 j de traitement), les macrolides (362) et la lévofloxacine (117). La durée moyenne de traitement était de 13 jours dont 4,8 jours en IV. L'ensemble de la séquence d'ABT était évaluable dans 56 cas : la ou les molécule(s) et la posologie étaient conformes dans 40 cas (71%) et dans 50 cas (89%). Seuls 15 patients (27%) avaient une ABT conforme à l'ensemble des recommandations (molécule, posologie, modalité de prescription, relais per os à 48 h si apyrexie, ABT de 2ème intention et durée du traitement). Dans 4 cas, l'ABT était contre-indiquée avec le reste du traitement (spiramycine-amiodarone) et relevait de précautions d'emploi dans 19 cas. La valeur du QT corrigée préthérapeutique était augmentée chez 11 / 58 patients (19%), dont 7 ont reçu de la spiramycine. Deux patients sont décédés pendant l'hospitalisation sans lien apparent avec la PAC ou une TdP.

Conclusion : le choix et la posologie de l'ABT ont un bon taux de conformité au référentiel, mais des améliorations significatives pourraient être obtenues pour le relais per os, la durée de traitement et le choix de seconde intention. Les interactions médicamenteuses à risque cardiotoxique devraient davantage être prises en compte dans une population âgée avec de nombreux facteurs de risque de QT allongé.

406/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Les antibiothérapies prescrites pour bactériémie : évaluation des pratiques et de la désescalade thérapeutique

M. Lelieur, S. Hendricx
Laboratoire, Centre Hospitalier, Douai, France

Objectifs : Nous avons observé les prescriptions faites dans l'indication de bactériémie, en probabiliste à J1 puis après documentation à J4, afin de mettre en évidence les points à améliorer dans nos pratiques et d'évaluer la réalisation de la désescalade.

Méthode : Tous les patients du Centre Hospitalier de Douai ayant une hémoculture positive ont été observés pendant trois mois : recueil des données microbiologiques, cliniques et des traitements prescrits grâce aux logiciels de l'hôpital et à une visite systématique dans le service d'hospitalisation.

Résultats : pour 60 patients, de tous les services de l'hôpital mais principalement médecine polyvalente et chirurgie, qui présentaient une épidémiologie classique (42% Cocci Gram Positif, 48% Bacilles Gram Négatif, 5% anaérobies, 5% levures ; 8% de Bactéries Multi-Résistantes), nous avons pu expertiser 48 traitements (car certains patients étaient sortis ou transférés).

A J1, 71% des traitements prescrits étaient des associations, comprenant céphalosporines de troisième Génération (C3G), fluoroquinolones (FQ) et amoxicilline-acide clavulanique en majorité. Les posologies et intervalles d'administration sont corrects. La diversité des prescriptions, à porte d'entrée et morphologie identique, est très importante. La couverture n'est pas adaptée à 22% des germes retrouvés a posteriori. 33% des prescriptions n'étaient pas adéquates (spectre trop large, association inutile).

A J4, seuls 67% des traitements ont été modifiés. 47% étaient des associations, avec utilisation des carbapénèmes et glycopeptides mais persistance des C3G et des FQ. Dans 63% des cas, une désescalade était réalisable. Elle n'a été faite que dans 64% de ces cas.

Conclusion : cette étude nous a permis d'établir un dialogue entre le laboratoire et les cliniciens et de communiquer autour des référentiels existant à disposition des médecins et internes, qui étaient peu connus. Nous avons pu identifier les points faibles de nos pratiques afin d'adapter les recommandations locales qui seront bientôt diffusées : nous mettrons l'accent sur la nécessité d'une ré-évaluation des prescriptions probabilistes à 72h, ainsi que sur la désescalade.

407/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Utilité du conseil en antibiothérapie dans un hôpital général

L. El Hajj[4], P. Foliot[3], M. Ngouffi Penka[2], J.L. Saraux[2], et tout le Groupe de la Comai[1]
[1]Commission des Anti-Infectieux [2]Service de Médecine Interne [3]Service de Pharmacie [4]Unité de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Simone Veil, Eaubonne, France

Objets : La France étant le premier pays européen dans les résistances et la consommation en antibiotiques, un accord-cadre ministériel a été réalisé en mars 2007 pour le bon usage des antibiotiques afin de diminuer de 10% en 3 ans la consommation des antibiotiques dans les établissements. A l'hôpital Simone Veil, établissement de plus de 300 lits, nous avons décidé avec la commission des anti-infectieux et après accord de la commission médicale de l'établissement, de pratiquer une étude prospective sur 5 mois afin de justifier la nécessité d'une activité d'infectiologie mobile pour améliorer la qualité de prescription des antibiotiques en curatif.

Méthodes : L'infectiologue passe une demi-journée/semaine dans les services prescripteurs pour un conseil en antibiothérapie. En début de journée, le passage par le laboratoire de microbiologie est nécessaire pour lire les hémocultures et urocultures avec la technicienne. Puis muni des prescriptions d'antibiotiques reçues de la pharmacie, il passe dans les différents services. Un staff est organisé à 14h30.

Résultats : Le passage par le service de microbiologie n'a pas été réalisé du fait d'une mauvaise concordance de temps. Ainsi, 101 interventions furent réalisées de mars à octobre 2007. Les difficultés rencontrées étaient administratives et médicales. Certains médecins ou services n'acceptaient pas les conseils donnés, d'autres n'étaient pas présents au moment du passage. Cependant, 85% des interventions ont été acceptées, 5% non appliquées, 9% refusées et 1% non renseignées. Les problèmes médicaux rencontrés sont une antibiothérapie non indiquée (54), une voie d'administration inadaptée (19), une antibiothérapie non adaptée (15), un avis d'expert indispensable (12), une absence de désescalade (10), et une association non justifiée (10). L'impact des interventions sur l'économie a été chiffré à 1363 euros avec une diminution de la consommation des antibiotiques de plus de 50% en 5 mois.

Conclusion : Le passage d'un expert clinique en infectiologie semble indispensable mais il serait intéressant de voir l'impact de cette politique sur l'écologie bactérienne et la durée d'hospitalisation. Reste à trouver les moyens afin de financer le temps médical nécessaire, l'enjeu de santé publique étant majeur.

408/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de l'utilisation de la lévofloxacine au CHU de Nîmes

A. Minchella[2], F. Lafaille[1], C. Lechiche[2], A. Sotto[2]
[1]Service de Pharmacie [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Caremeau, Nîmes, France

Introduction : L'utilisation de la lévofloxacine doit être évaluée en raison des risques de sélection de résistance bactérienne. Nous avons analysé les pratiques dans notre établissement par rapport au référentiel local de bon usage des antibiotiques.

Méthode : L'analyse des ordonnances d'« antibiotique protégé » de lévofloxacine prescrites du 01/09/07 au 30/11/07 a concerné le renseignement de l'ordonnance (« données patients »), la conformité d'utilisation avec le référentiel.

Résultats : 140 patients (âge moyen : 70 ans (et : 17), hommes : 55%) ont été traités par lévofloxacine durant cette période (182 ordonnances). Les items « Indication », « Insuffisance rénale » (IR), « Antibiothérapie antérieure » et « Infection nosocomiale » étaient renseignés dans respectivement 91, 87, 84 et 70% des cas. Une IR était indiquée pour 35 patients. Dans 10 cas nous avons estimé (MDRD) une clairance rénale <20 ml/min.

L'antibiothérapie était probabiliste dans 93% des cas, de 2nde ligne dans 31%. Les indications étaient : 98 pneumopathies, 2 tuberculoses pulmonaires, 9 surinfections de BPCO, 6 bronchites, 1 surinfection d'asthme, 3 cystites, 2 pyélonéphrites, 5 prostatites, 1 angiocholite, 1 fièvre Q, 2 septicémies. L'infection était nosocomiale dans 15% des cas.

Dans 54% des cas la voie d'administration était orale. Les posologies étaient de 500 (84%), 125 (1,7%), 250 (4,5%), 750 (0,6%) et 1000 mg/j (9,6%).

L'indication a été jugée conforme au référentiel dans 36,5% des cas et la posologie adaptée à la fonction rénale dans 90% des cas. En cas d'IR, il existait un surdosage dans 60% des cas.

Conclusion : Les recommandations sont très peu suivies par les cliniciens. Les posologies sont rarement adaptées à l'IR. La voie orale n'est pas privilégiée malgré une biodisponibilité proche de 100%. Cette évaluation des pratiques professionnelles va permettre de mener des actions correctives dans le cadre du bon usage des antibiotiques.

409/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Mise en place d'outils d'aide à la prescription des antibiotiques dans les établissements de santé (ES) des Pays de la Loire : création d'un thésaurus régional de protocoles d'antibiothérapie

F. Ollivier[3-5], D. Feldman[2], M.L. Joly-Guillou[1], P. Abgueguen[1], G. Potel[3-2-5], F. Ballereau[3-5-4]
[1]CHU Angers, Angers [2]CRMDM, ARH Pays de la Loire [3]MedQual, CHU Nantes [4]Département de Phamacie clinique et Santé Publique [5]UPRES EA 3826, Université Nantes, Nantes, France

Objectifs : La Région comporte 54 ES MCO dont un tiers (27%) ne dispose pas de référentiels d'antibiothérapie. Dans le cadre du Projet Régional de Bon Usage des antibiotiques, les objectifs du Comité Régional du Médicament et des Dispositifs Médicaux (CRMDM) sont :

-améliorer la pertinence des thérapeutiques antibiotiques et réduire la résistance bactérienne

-doter tous les ES de la Région de recommandations locales d'antibiothérapie validées et adaptées à leurs pratiques médicales et chirurgicales

Méthodes : Le thésaurus régional de protocoles d'antibiothérapie a été élaboré en deux temps :

- centralisation des protocoles des ES au Centre MedQual, maître d'œuvre du projet

- validation de ces référentiels locaux par les référents en infectiologie membres de la Commission Antibiotiques du CRMDM pour les protocoles n'ayant pas reçu une validation interne par un médecin référent en antibiothérapie (au sens de la circulaire du 2 Mai 2002).

Résultats : En septembre 2008, 100 protocoles ont été collectés, émanant de 13 ES dont 60 protocoles d'antibiothérapie curative et 40 d'antibioprophylaxie chirurgicale et médicale. Parmi les situations cliniques traitées, on retrouve principalement les infections urinaires (18%), intra abdominales (15%) et cutanées (13%). Les prophylaxies des chirurgies gynécologique (15%), ostéoarticulaire (13%), ORL (13%) et digestive (13%) sont les plus représentées.

27 protocoles n'avaient pas reçu de validation, faute de référent local: parmi ceux-ci 10 ont été validés, 2 modifiés par la Commission, 8 refusés par manque d'information (posologie, durée de traitement) et 7 sont en cours de validation.

Conclusion : La démarche de mutualisation des protocoles d'antibiothérapie a été bien acceptée par les professionnels de santé. L'accès en ligne à un large éventail de protocoles validés permettra aux médecins, pharmaciens et bactériologistes des ES d'adapter la thérapeutique antibiotique à leur situation locale et si besoin, de créer leurs propres recommandations d'antibiothérapie, afin d'encourager des prescriptions de qualité.

410/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Concentrations de minocycline dans l'os infecté

V. Zeller[1], M.D. Kitzis[3], W. Graff[1], L. Lhotellier[1], P. Leclerc[1], F. Ducroquet[1], P. Mamoudy[1], N. Desplaces[2-1]
[1]Service d'Orthopédie et de Traumatologie, GH Diaconnesses Croix Saint Simon [2]Laboratoire de Biologie Médicale, GH Diaconnesses-Croix Saint Simon [3]Service de Microbiologie Médicale, GH Paris Saint Joseph, Paris, France

Objectif : Nous utilisons la minocycline, en association avec la vancomycine, pour le traitement de certaines infections osseuses à staphylocoques multi-résistants. Cet antibiotique garde en général une bonne activité *in vitro* sur ces souches (CMI 0.25mg/ml) (1-5). L'objectif de cette étude était de déterminer les concentrations osseuses de minocycline chez des patients traités pour une infection ostéo-articulaire. Aucune donnée sur ce sujet est actuellement disponible dans la littérature.

Méthodes : Etude prospective incluant les patients hospitalisés pour une infection ostéo-articulaire et recevant une antibiothérapie préopératoire d'au moins 48 heures par minocycline (100mg, 3 fois par jour per os). Lors de l'intervention, des prélèvements osseux ont été réalisés dans le site infecté, ainsi qu'un prélèvement sanguin concomitant. La détermination des concentrations osseuses et sériques a été effectuée par méthode microbiologique.

Résultats

Nombre patients inclus/Sexe	6 patients/3 femmes, 3 hommes
Age médian	58 ans (28-75)
Poids médian	80 kgs (50-104)
Clearance creatinine médiane	95 ml/min (55-130)
Site de l'infection (n)	Prothèse de hanche (3), genou (2) Pied (1)
Nombre de prélèvements osseux par patient (n)	1 (2), 2 (2), 5 (2)
Germes responsables (n)	*S. aureus* MR (2) *S. epidermidis* MR (3 dont 1 GISE)
Durée médiane de l'antibiothérapie préopératoire	24 jours (8-120)
Antibiotiques associés	vancomycine (6), rifampicine (3)
Concentration sérique médiane	1.5 mg/ml (0.3-3.6)
Concentration osseuse médiane	7.85 mg/g) (2.2-46.3)

Aucun patient n'avait d'hépatopathie chronique.

Conclusion : La diffusion osseuse de la minocycline est importante avec des concentrations osseuses nettement au-dessus des concentrations sériques (1.4-43 fois supérieures). Les concentrations d'antibiotique dans le site infecté sont dans tous les cas largement au-dessus de la CMI des germes déterminées *in vitro*. Mais la bonne diffusion osseuse ne permet pas a elle seule de prédire l'efficacité de cet antibiotique dans les infections osseuses. Des données cliniques complémentaires sont nécessaires pour affirmer son efficacité dans ce type d'infection.

Références

1. Diekema DJ, Pfaller MA, Schmitz FJ, and al. Survey of infections due to Staphylococcus species: frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility of isolates collected in the United States, Canada, Latin America, Europe, and the Western Pacific region for the Sentry Antimicrobial Surveillance Program, 1997-1999. Clin Infect Dis 2001 ; 32: S114-S132.
2. Ruhe JJ, Monson T, Bradsher RW, and Menon A. Use of long-acting tetracyclines for methicillin-resistant S. aureus infections: case series and review of the literature. Clin Infect Dis 2005; 40: 1429-1434.
3. Yourassowsky E, Van der Linden MP, Lismont MJ, Crokaert F. Combination of minocycline and rifampicin against methicillin-and gentamicin-resistant S. aureus. J Clin Pathol 1981; 34: 559-563.
4. Yuk JH, Dignani C, Harris RL and al. Minocycline as an alternative antistaphylococcal agent. Rev Infect Dis 1991; 13: 1024-1025
5. Minuth JN, Holmes TM and Musher DM. Activity of tetracycline, doxycyclin and minocycline against methicillin-susceptible and methicillin-resistant staphylococci. Agents Antimicrob Chemother. 1974, 6: 411-414.

411/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Pharmacocinétiques du linézolide (LZD) chez des patients avec brûlures sévères

R. Le Floch, C. Vinsonneau, A.M. Lovering, J. Stephanazi, L. Hovsepian, G. Birraux, P. Bret
Brûlés, CHU de Nantes, Nantes, France

Objet : les brûlures thermiques majeures, entrainent des modifications de la pharmacocinétique (PK) de nombreux produits, traduites généralement par une augmentation de la clairance des médicaments, nécessitant d'augmenter la posologie de nombreux antibiotiques. Le linezolide peut être un traitement efficace chez le grand brûlé, néanmoins la PK n'a pas été étudiée chez ce groupe.

Méthode : la PK du LZD a été étudiée chez 8 patients avec brûlures sévères vs 8 volontaires sains appariés pour le sexe et le poids. Les facteurs démographiques moyens (ET) pour les patients et les volontaires étaient : âge 37,0(11,1) ans vs 37,6(9,0) poids 64,0(10,7) kg vs 68,5(9,4) surface brûlée totale 41,0(20,7)% vs 0(0). Une dose de 600 mg de LZD a été administrée en perfusion d'1 heure; des échantillons sang et urine ont été recueillis jusqu'à 72 h après administration et dosés par HPLC. Les paramètres PK ont été déterminés en analyse non compartimentale.

Résultats : les paramètres PK moyens (ET) déterminés pour le LZD chez les patients et chez les volontaires sains ont été respectivement: Cmax : (12.5 ± 4.4 mg/L) vs (14.4 ±1.6 mg/L), Kel: 0.4 ± 0.1 l/h vs 0.2 ± 0.1 l/h, $t_{1/2}$ b: 2.1 ± 1.0 h vs 4.8 ± 2.0 h, MRT: 3.1 ±1.2 h vs 6.6 ±2.6 h, $AUC_{0-\infty}$: 42.5 ± 24.0 mg.h/L vs 98.1 ±29.2 mg.h/L, AUC_{0-t} : 41.7 ± 23.6 mg.h/L vs 95.7 ± 27.9 mg.h/L.

VDSS(L) : 50.8(16.8) vs 39.6(5.7), clairance total (ml/min) : 347.6(206.4) vs 111.0(35.5), clairance rénale(ml/min) : 24.7(23.0) vs 30.6(14.3), clairance non rénale(ml/min) : 323.0(190.9) vs 80.4(27.5)

Conclusion : la PK du LZD a été significativement modifiée chez les patients avec brûlures majeures comparativement aux volontaires sains. L'exposition au médicament, évaluée par l'ASC, a été réduite d'environ 50% chez les brûlés, suggérant un schéma posologique différent. L'élimination du LZD a été principalement par voie non rénale, la clairance rénale étant identique dans les deux groupes alors que la clairance non rénale était supérieure chez le patient brûlé.

412/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Traitements récents par phagothérapie de trois infections en échec après antibiothérapie

J. Garnier[3], A. Khawaldeh[2], O. Patey[3], S. Morales[1], J. Iredell[2], A. Dublanchet[3]
[1]Special Phage Service, Brookval [2]Center of Infectious Diseases and Microbiology, Westmead Hospital, Sydney, Australie [3]Maladies Infectieuses et Tropicales, Centre Hospitalier, Villeneuve St Georges, France

Objet de l'étude : Exposer trois traitements par des bactériophages et leur résultat.

Méthodes : Prise en charge d'infections après échec de l'antibiothérapie.

Traitement conventionnel associé à l'utilisation de sources diverses de suspensions phagiques.

Résultats obtenus : Avant l'ère des antibiotiques, la phagothérapie (traitement par les bactériophages ou phages) a été très largement utilisé pour combattre certaines infections. Aujourd'hui, les résistantes bactériennes sont une cause croissante d'échec de l'antibiothérapie. La recherche de solutions nouvelles, alternatives et/ou complémentaires, est donc nécessaire. Nous avions pratiqué la phagothérapie au cours de la décennie 80 avec l'aide des Instituts Pasteur de Paris et Lyon qui préparaient, à la demande après envoi des souches bactériennes, des suspensions adaptées à des infections chroniques rebelles à l'antibiothérapie. Fort de cette expérience, nous avons cherché à nouveau des phages thérapeutiques, provenant de trois sources différentes : l'Institut de Virologie de Tbilissi (Géorgie), une firme russe (Biomed –Omsk) et l'environnement (région parisienne). Trois malades informés et consentants ont été traités selon la thérapeutique consensuelle en vigueur indiquée pour leur cas, à laquelle ont été associées en application locale des suspensions spécifiques de phages lytiques de l'agent bactérien responsable de leur infection. Le suivi clinique et thérapeutique a été très étroit. Nous rapportons ici le mode opératoire utilisé pour chaque cas et l'évolution de chaque infection.

Conclusion : Devant trois infections préoccupantes en échec thérapeutique (otite externe, ostéite du pied et infection urinaire), nous avons appliqué (en association avec les traitements consensuels) des bactériophages thérapeutiques d'origines variées. Les résultats ont été positifs. Nous ne sommes pas dans des situations expérimentales et on pourra nous avancer que le rôle des traitements associés a été sans doute primordial. Chaque cas sera discuté et le rôle respectif de chaque traitement sera envisagé.

413/72A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Entérocoque résistant aux glycopeptides : peut-on gérer la sortie de crise ?

O. Bajolet[1], A. Wynckel[2], O. Remiet[1], V. Duval[1], T. Guillard[1], V. Vernet-Garnier[1], C. De Champs[1], P. Rieu[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Service de Néphrologie, CHU de Reims, Reims, France

Objectifs : Décrire la gestion, le suivi et la prise en charge des patients colonisés lors d'une épidémie d'*Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides *van* A (ERG) dans un service de néphrologie.

Matériel et Méthodes : Suite à la découverte d'une infection à ERG le 18/12/2007, dans l'unité d'hospitalisation, les mesures recommandées par l'InVS ont été appliquées. En l'absence de connaissance du cas index, tous les patients hospitalisés ou hémodialysés chroniques (HDC) dans le centre depuis le 01/09/07 ont bénéficié de 3 dépistages hebdomadaires.

Face aux difficultés de prise en charge des patients identifiés «colonisés à ERG», des critères de levée du statut «ERG» ont été établis : dépistage(s) rectal(ux) négatif(s) alors que le patient recevait une antibiothérapie, dépistages rectaux mensuels négatifs pendant 6 mois après la découverte du statut ERG.

Résultats : *Bilan et gestion de l'épidémie :*

Du 18/12/2007 au 04/02/2008, 20 patients ont été découverts colonisés à ERG sur 410 patients «contacts» (6,8% perdus de vue). Deux patients ont présenté une infection intra-abdominale. L'ouverture d'une unité de « cohorting » s'est avérée indispensable pour maîtriser rapidement la diffusion de l'ERG, en raison de l'impossibilité de faire travailler dans les mêmes locaux 3 équipes de soins dédiées. Les dialyses séquentielles des patients HDC « colonisés à ERG » ont été réalisées de façon simultanée dans le secteur d'hémodialyse.

Gestion des patients porteurs d'une souche d'ERG : Sur les 20 patients colonisés à ERG : 5 patients sont décédés (de cause non liée à l'ERG). Onze patients sont considérés comme indemnes : 6 patients avec 4 à 6 dépistages rectaux négatifs dont au moins 1 sous antibiothérapie, 5 patients avec 6 dépistages négatifs à 1 mois d'intervalle; parmi ceux-ci, les patients HDC bénéficient encore d'un dépistage mensuel pendant 3 mois. 4 patients sont encore considérés comme colonisés à ERG. Seuls 4 patients sont toujours considérés «colonisés à ERG».

Conclusion : Le suivi des patients colonisés à ERG est indispensable pour éviter leur mise à l'écart dans les établissements de soins. Il doit être personnalisé mais nécessite un investissement important. Dans notre expérience, la maîtrise de l'épidémie a été un préalable à la réalisation de ce suivi.

414/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Distribution among genetic clusters of the *Enterobacter cloacae* complex of strains isolated from infected orthopaedic implanted material

P.C. Morand[3], A. Billoet[3], V. Sivadon-Tardy[1], M. Rottman[2], A. Tazi[3], L. Eyrolle[5], L. Jeanne[5], P. Anract[4], J.P. Courpied[4], C. Poyart[3], V. Dumaine[4]
[1]Microbiologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt [2]Microbiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches [3]Bactériologie [4]Chirurgie Orthopédique [5]Département d'anesthésiologie, GH Cochin Saint Vincent de Paul, Paris, France

Objectives: Bacteria belonging to the *Enterobacter* genus are unusual causative agents of orthopaedic implant infections but can have devastating effects, often involving implant removal and antibiotic treatment for extended periods. The taxonomy of the *Enterobacter* genus has been recently revisited. *hsp60* sequencing showed that the *Enterobacter cloacae* nomenspecies could be divided into 12 genetic clusters (I to XII) and one sequence crowd (xiii). This work aimed at analysing the distribution of "*E. cloacae*" strains isolated from infected orthopaedic implants among the recently identified *E. cloacae* genetic clusters.

Methods: Unrelated clinical isolates identified as *E. cloacae* using routine phenotypic identification methods (API20E, Vitek2) were collected from infected orthopaedic implants (n=21), or from randomly selected clinical samples of various anatomical origins (n=52), over the period 2004-07. *hsp60* sequencing was performed on all strains, and data were compared with reference strains.

Results: All strains identified as "*E. cloacae*" using phenotypical methods could be associated to one of the clusters forming the *E. cloacae* complex. However, cluster XI, to which belongs the *E. cloacae* subsp. *cloacae* type strain, was poorly represented (n=1). Genetic clusters III, VI and VIII were the most frequently encountered, whereas other clusters were rarely (I, II, IV, V, IX, XI) or not (VII, X, XII, xiii) observed. Strain distribution was different for orthopaedic implant isolates and control clinical strains: cluster III is poorly represented (n=2/21) in orthopaedic implant isolates (p=0.006), and there is a statistically significant association of hip infected material with the *E. hormaechei* species (cluster VI n=3/9, and VIII n=6/9) (p=0.018).

Conclusion: These data confirm that clusters III, VI and VIII account for most of the clinical isolates of the *E. cloacae* complex in routine clinical microbiology. Moreover, we show a statistical association between hip prosthetic implants and the *E. hormaechei* species (genetic clusters VI and VIII).

415/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Sensibilité aux antibiotiques des *Eschericia coli* isolés d'infections urinaires communautaires à Elbeuf et son agglomération (Normandie)

R. Fabre, B. Maurer, G. Epifanoff, F. Cerutti, H. Pupin, D. Tardif, I. Ternois
Label Bio, Elbeuf, France

Objectifs : Evaluation et surveillance de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'Escherichia coli isolées d'infections urinaires communautaires au niveau d'Elbeuf et de son agglomération (40000 habitants).

Méthodes : étude prospective de novembre 2007 à octobre 2008, à partir de trois laboratoires de ville, colligeant les infections urinaires communautaires (patients ambulatoires non sondés) à E.coli avec suivi trimestriel et global de la sensibilité de E.coli aux principaux antibiotiques utilisables en ville : ampicilline (AM), amoxicilline + Ac. Clavulanique (AMC), Cefixime (CFM), Ceftriaxone (CRO), gentamicine (GM), acide nalidixique (NAL), ciprofloxacine (CIP), fosfomycine (FOS), nitrofurantoines (FT), cotrimoxazole (SXT). Antibiogramme par méthode autoamatisée (VITEK 2 Compact). Critères d'interprétation : CASFM (2007).

Résultats obtenus : 1169 infections urinaires à E.coli sont collectées les 9 premiers mois de l'étude. Globalement les taux de sensibilité sont : AM, 54% ; AMC, 73% ; CFM, 96% ; CRO, 98% ; GM, 95% ; NAL, 81% ; CIP, 88% ; FOS, 98% ; FT, 95% ; SXT, 81%. Chez les femmes de 15 à 65 ans (526 souches) AM, 59% ; AMC, 76% ; CFM, 97% ; CRO, 99% ; GM, 97% ; NAL, 88% ; CIP, 93% ; FOS, 99% ; FT, 97% ; SXT, 86%. Chez les femmes de plus de 65 ans (388 souches) AM, 51% ; AMC, 71% ; CFM, 96% ; CRO, 98% ; GM, 95% ; NAL, 73% ; CIP, 84% ; FOS, 97% ; FT, 95% ; SXT, 78%. Chez les hommes (184 souches) AM, 51% ; AMC, 67% ; CFM, 90% ; CRO, 95% ; GM, 89% ; NAL, 72% ; CIP, 78% ; FOS, 98% ; FT, 90% ; SXT, 74%. Chez les enfants (70 souches) AM, 53% ; AMC, 79% ; CFM, 97% ; CRO, 99% ; GM, 97% ; NAL, 99% ; CIP, 100% ; FOS, 100% ; FT, 100% ; SXT, 81%.

Conclusion : A Elbeuf et son agglomération, les céphalosporines de troisième génération, la gentamicine, la fosfomycine et les furanes ont une excellente activité sur les E.coli isolés d'infection urinaire. Les fluoroquinolones conservent pour l'instant une bonne activité dans les infections urinaires de la femme de 15 à 65 ans contrairement à celles contractées chez l'homme et chez la femme de plus de 65 ans.

416/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Multidrug-resistant *Salmonella enterica* serotype Senftenberg, Kentucky and Ohio isolates producing CTX-M-3 â-lactamases from Constantine, Algeria

T. Naas[2], C. Bentchouala[1], S. Lima[2], A. Lezzar[1], F. Smati[1], J.M. Scheftel[3], P. Nordmann[2]
[1]Service de Microbiologie, CHU Constantine, Constantine, Algérie [2]Hôpital de Bicêtre, Faculté de Médecine Paris-Sud, Inserm U914, Emerging Resistance to Antibiotics, Le Kremlin-Bicêtre [3]Laboratoire de Bactériologie, CHU de Strasbourg, Strasbourg, France

Background: Extended-spectrum-β-lactamases (ESBLs) are uncommon in Salmonella enterica. Gastro-enteritidis due to CTX-M-3-producing S. enterica serotype Senftenberg have been reported in 2004 from the Neonatology ward of the hospital of Constantine, Algeria, where it represented major infectious and therapeutic problems. The aim of the work was to further investigate the presence of blaCTX-M genes in other S. enterica serotypes isolated in this same unit between 1987 to 2006.

Methods: A collection of 20 ESBL-producing Salmonella strains representing four major serogroups Senftenberg, Kedougou, Ohio and Kentucky were studied by disc diffusion antibiograms, plasmid extractions, conjugations, PCR and sequencing.

Results: ESBL-producing Salmonella isolates were increasingly recovered over the study period, reaching, a prevalence in 2006 of almost 100% in the Neonatology ward. The serotype Senftenberg was the most prevalent, whereas serotypes Kedougou, Ohio and Kentucky were only periodically isolated. These isolates were multi-drug resistant and remained susceptible to imipenem, cefoxitin, and quinolones.

After initial detection of CTX-M-3 (in S. Senftenberg in 1998, in S. Ohio in 1999 and in S. Kentucky in 2001) subsequently only CTX-M3-producing isolates were recovered. A similar sized self-transferable plasmid (ca 130-kb) was detected in all the CTX-M3-producing-Salmonella strains. Insertion sequence ISEcp1 was identified upstream of the blaCTX-M-3 genes.

Conclusion: Further identification of CTX-M-ESBLs in Salmonella in hospital-acquired infections further underlines that this genus may be a reservoir for ESBL genes in the community, but also in hospital settings in specific geographical areas.

417/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prévalence des souches de *Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* productrices de β-lactamases à spectre étendu de type CTX-M à l'hôpital Bretonneau, CHRU de Tours

A. Grillon, L. Yzon, V. Morange, A. Holstein, G. Baty, M.F. Lartigue, L. Mereghetti, A. Goudeau, P. Lanotte
Service de Bactériologie-Virologie, CHRU de Tours, Hôpital Bretonneau, Tours, France

Objectif : L'objectif de ce travail a été d'évaluer la prévalence des souches de *Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE) de type CTX-M isolées en 2007 dans le service de Bactériologie-Virologie de l'hôpital Bretonneau du CHRU de Tours.

Matériel et méthodes : En 2007, 1017 souches de *E.coli* et 99 *K. pneumoniae* ont été isolées dans un but diagnostique et testées pour leur sensibilité aux antibiotiques. Trente trois souches de *E.coli* (3,2%) étaient résistantes aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) et 25 d'entre elles (76%) produisaient une BLSE. Quatre souches de *K. pneumoniae* (4%) étaient résistantes aux C3G et ces 4 souches produisaient une BLSE. Par ailleurs, des souches de *E.coli* et de *K. pneumoniae* productrices de BLSE de 2 laboratoires de biologie de la région ont également été testées. Parmi l'ensemble des isolats producteurs de BLSE, 28 ont pu être étudiés (21 *E.coli* et de 7 *K. pneumoniae*). Ces isolats provenaient de 21 échantillons d'urine, de 6 d'hémocultures et d'une biopsie osseuse. La recherche des gènes bla_{CTX-M} a été effectuée par PCR en temps réel (SmartCycler®, Cepheid) à l'aide d'amorces dégénérées (1).

Résultats : Pour les souches de *E.coli* productrices de BLSE, 8 des 10 souches (80%) isolées dans notre laboratoire possédaient un gène bla_{CTX-M}. Pour les souches de *K. pneumoniae* productrices de BLSE isolées dans notre laboratoire, 3 des 4 souches possédaient un gène bla_{CTX-M}. Cette proportion est équivalente pour les souches transmises par les laboratoires extérieurs au CHU (8 souches de *E.coli* sur 11 et 2 des 3 souches de *K. pneumoniae* possédaient un gène bla_{CTX-M}).

Conclusion : Cette étude est la première à notre connaissance qui porte sur la prévalence des souches productrices de BLSE de type CTX-M dans notre région. Nos résultats sont sensiblement supérieurs à ceux des récentes études menées en France faisant état de 58% de *E.coli* porteur de CTX-M parmi les souches BLSE (2). La distribution des différents types de CTX-M est actuellement en cours d'étude.

(1) Lartigue *et al.*. Extended-spectrum beta-lactamases of the CTX-M type now in Switzerland. *Antimicrob Agents Chemother*, 2007 ; 51 : 2855-60

(2) Lavigne *et al.*. CTX-M beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in French hospitals : prévalence, molecular epidemiology, and risk factors. *J Clin Microbiol*, 2007 ; 45 :620-6

418/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prévalence des 16S rRNA méthylases parmi les entérobactéries productrices de Bêta-lactamase à spectre étendu

B. Berçot[1-2], L. Poirel[1], P. Nordmann[1]
[1]*Service de Bactériologie-Virologie, Inserm U914 « Résistances émergentes aux antibiotiques », Hôpital de Bicêtre, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Faculté de Médecine et Université Paris XI, Le Kremlin-Bicêtre* [2]*Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris VII, Paris, France*

Objet de l'étude : Les 16S rRNA méthylases (Met) confèrent une résistance de haut niveau à tous les aminoglycosides utilisés pour traiter les infections graves à bacilles à gram négatif. Le but de notre étude est d'évaluer leur prévalence parmi les entérobactéries productrices de béta-lactamases à spectre étendu (BLSE).

Méthodes : La détection des gènes codant les Met a été effectuée par PCR. Les plasmides ont été extraits par la technique de Kieser, électroporés dans *Escherichia coli* TOP10 et typés par PCR. Les transformants ont été sélectionnés sur gélose trypticase-soja contenant amikacine 50 µg/ml +/- céfotaxime 8 µg/ml.

Résultats : De janvier 2005 à décembre 2007, 373 souches cliniques non répétitives d'entérobactéries productrices de BLSE ont été isolées à l'hôpital Bicêtre et 19 (5.1%) étaient résistantes à haut niveau aux aminoglycosides. Parmis ces souches candidates pour la production de Met, 4 ArmA-positive (2 en 2005, 2 en 2007) et une souche RmtB-positive (2006) ont été détectées. La recherche des gènes codant les Met RmtA, RmtC, RmtD et NpmA était négative. Les souches ArmA-positive co-produisaient les BLSEs CTX-M-3 (n=3) et CTX-M-14 (n=1) et la souche RmtB-positive co-produisait CTX-M-14.

Les transformants Met+ exprimaient une résistance à haut niveau aux aminoglycosides. Pour trois isolats, les gènes *armA* et *bla*CTX-M-3 étaient situés sur un même plasmide conjugatif appartenant au groupe d'incompatibilité IncL/M. Par contre, l'association Met et BLSE n'était pas retrouvée pour les deux isolats produisant le gène *bla*CTX-M-14. Le gène *armA* était toujours associé à la séquence IS*CR1* et à un intégron complexe de type *sul1* alors que le gène *rmtB* était situé dans une région flanquée de deux séquences d'insertion IS*26* portant également le gène d'efflux aux quinolones, *qepA*. L'analyse des séquences encadrant le gène *armA* a permis l'identification de deux nouvelles séquences d'insertion, IS*Ec28* et IS*Ec29*, appartenant respectivement aux groupes IS*5* et IS*4*.

Conclusion : Notre étude rapporte une faible prévalence (1.3%) des 16S rRNA méthylases parmi les bactéries productrices de BLSEs à l'hôpital Bicêtre, proche de celle rapportée à Taiwan et en Belgique. Cette étude souligne que l'association des enzymes de type CTX-Ms et Met n'est pas systématique.

419/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Etude épidémiologique comparative de souches de *Escherichia coli* productrices de BLSE de type CTX-M et non CTX-M

P. Duboc, J.L. Pons, S. Boyer
Service de Bactériologie, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

Objectifs : Nous avons observé une augmentation significative ($p < 10^{-4}$) des souches de

E.coli productrices de béta-lactamase à spectre étendu (BLSE) au CHU de Rouen de 2000 à 2006 (10 à 100 souches) et voulu savoir si elle était liée au phénomène des BLSE de type CTX-M. Notre étude rétrospective a porté sur 131 souches pour les caractériser en termes d'enzymes, de clonalité et comparer les souches CTX-M aux non CTX-M.

Méthodes : 131 souches originales de *E.coli* BLSE (56 en 2005, 75 en 2006) ont été caractérisées par méthodes biochimiques classiques, antibiogramme par diffusion, PCR suivie de séquençage pour identification des BLSE et techniques RAPD pour comparaison des souches. Les groupes de souches ont été comparés par tests de Chi2 et test exact de Fischer

Résultats : La majorité des souches (78) exprimaient une BLSE de type CTX-M (34 CTX-M-15, 30 CTX-M-1, 6 CTX-M-14, 4 CTX-M-2, 2 CTX-M-9 et un variant nouveau). Les souches productrices d'enzymes CTX-M provenaient de façon significative d'urines et les non CTX-M de selles. Les souches non CTX-M sont isolées significativement plus chez des sujets de 40 à 60 ans de réanimation. Les souches CTX-M étaient elles majoritairement isolées chez des femmes de plus de 60 ans dans des services de médecine et de façon significative chez des enfants de moins de 5 ans. Plus de la moitié des souches des 2 groupes sont sensibles aux aminosides. Les souches CTX-M sont plus résistantes aux aminosides, à la ciprofloxacine et au triméthoprime/sulfamétoxazole que les non CTX-M majoritairement sensibles aux quinolones. Une résistance isolée à l'acide nalidixique est retrouvée significativement chez les souches CTX-M. La comparaison des groupes CTX-M-15 et CTX-M-1 montre que les souches CTX-M-15 sont significativement plus résistantes aux aminosides, à la ciprofloxacine et plus sensibles au triméthoprime/sulfamétoxazole que les souches CTX-M-1.

Conclusion : L'épidémiologie des *E.coli* BLSE diffère entre les groupes CTX-M et non CTX-M en termes de prélèvements, services et co-marqueurs de résistance. Notre étude confirme l'émergence de souches de *E.coli* CTX-M en particulier CTX-M-15. Celle ci n'est pas liée à la diffusion d'une souche épidémique mais à l'émergence de souches non reliées dans la population y compris pédiatrique.

420/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

L'hôpital participe-t-il à la diffusion des souches de *E.coli* BLSE ?

P. Grohs[2], G. Kac[1], I. Frazier[1], A. Castano[2], G. Meyer[3], I. Podglajen[2]
[1]*Hygiène hospitalière* [2]*Microbiologie* [3]*Pneumologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France*

Depuis plusieurs années, la densité d'incidence des cas de colonisations et d'infections à *Escherichia coli* producteurs de béta-lactamase à spectre étendu (BLSE) est croissante dans notre hôpital (0,10 pour 1000j en 2001 versus 0,35 en 2008) et plus globalement au sein de l'AP-HP. Afin d'améliorer la politique de prévention de la diffusion des bactéries multi-résistantes sur notre établissement, un suivi prospectif quotidien des transmissions croisées potentielles (TCP) des Entérobactéries BLSE a été initié en janvier 2008.

Le but de cette étude était de quantifier le nombre de transmissions croisées à *E.coli* BLSE au sein de notre établissement.

Du 1er janvier au 30 juin 2008, les mouvements de tous les patients porteurs de *E.coli* BLSE (nouveaux cas et anciens porteurs réadmis détectés par une alerte informatisée) présents sur le groupe hospitalier, ont été colligés sur un même tableau synoptique afin de détecter des TCP. Une TCP a été définie par la présence d'un séjour commun dans le même service d'hospitalisation de deux patients pendant au moins une journée. Lorsqu'une TCP était identifiée, les antibiogrammes des souches correspondantes ont été comparés. Le typage moléculaire par électrophorèse en champ pulsé a été effectué sur les

souches de phénotype similaire.

Sur 14466 patients admis pendant le 1er semestre 2008, les mouvements de tous les porteurs de *E.coli* BLSE (71 patients répartis en 52 nouveaux cas et 19 anciens porteurs réadmis) ont été analysés. Les deux sites anatomiques préférentiels d'isolement étaient urinaire (43%) et digestif (26%). Pour 36 des 52 nouveaux cas (69%), le premier isolat de BLSE a été identifié plus de 48h après l'admission du patient. Sur 38 séjours communs identifiés entre 2 patients porteurs, une seule TCP a été mise en évidence. Le typage moléculaire effectué sur les 2 souches a conclu à l'absence de similarité. Sur 18 autres souches de phénotype similaire sans mise en évidence de TCP, le typage moléculaire n'a mis en évidence aucune similitude des souches.

Ces résultats suggèrent que la transmission croisée nosocomiale participe peu à l'augmentation de l'incidence des souche de *E.coli* BLSE sur notre établissement.

421/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evolution de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3e génération de 2000 à 2007 au Centre Hospitalier de Perpignan

M. Ferreyra, A. Eden, C. Miquel, P. Gueudet, E. Lecaillon
Pôle infectiologie, Hôpital Saint Jean, Perpignan, France

Le but de ce travail a été de suivre l'évolution de l'incidence de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3e génération (C3G) de 2000 à 2007 au Centre Hospitalier de Perpignan.

Les souches ont été dédoublonnées suivant les recommandations de l'Onerba.

Ont été calculés les pourcentages de souches d'origine communautaire, le pourcentage de souches isolées de patients en médecine, chirurgie, obstétrique (MCO), en réanimation et en moyen et long séjour (MLS). Le pourcentage de souches isolées de prélèvements urinaires, de suppurations, de prélèvements respiratoires et d'hémocultures ont été évalués ainsi que la proportion des souches d'*Escherichia coli* parmi les souches d'entérobactéries (ETB)intermédiaires (I) ou résistantes (R) aux C3G.

	2000	2002	2003	2005	2007
Nombre d'entérobactéries isolées	2300	3089	3292	2680	3520
Nombre d'entérobactéries I ou R aux C3G	66	157	235	105	194
% de souches I ou R aux C3g	2,9	5,1	7,1	3,9	5,5
% de souches d'origine communautaire	43	38	40	38	40
% de souches isolées de patients en MCO	79	52	50	80	79
% de souches isolées de patients en réanimation	4	18	22	8	8
% de souches isolées de patients en MLS	17	30	28	12	13
% de souches isolées d'urines	71	62	52	62	66
% de souches isolées de suppurations	17	18	13	24	11
% de souches isolées de prélèvements respiratoires	5	16	19	9	10
% de souches isolées d'hémocultures	6	4	8	5	4
% de *Escherichia coli* I ou R /ETB I ou R aux C3G	17	18	13	22	25

La proportion de souches d'origine communautaire a peu varié au cours de ces années passant de 43 à 40%. Le pourcentage de souches I ou R aux C3G a augmenté et atteint son maximum en 2003 ou elles représentaient 7,1% des souches, et la proportion des *Escherichia coli* était au plus bas représentant 13% des souches les *Enterobacter* étant largement majoritaires, puis a diminué pour réamorcer une courbe ascendante à 5,5% en 2007 les *Escherichia coli* représentant 25% des souches. Au cours du 1e semestre 2008 ce phénomène s'est poursuivi les souches I ou R aux C3G représentant 6,8% dont 35% de *Escherichia coli.*

Ce phénomène ne peut s'expliquer par un relâchement des mesures d'hygiène puisque dans le même temps nous avons constaté une baisse importante du pourcentage de *Staphylococcus aureus* Méticilline Résistant qui est passé de 43 à 30,7%. Des politiques différentes devront être adoptées.

422/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Facteurs de risques de portage d'entérobactéries sécrétrices de Bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE) chez les anciens porteurs

J.R. Zahar[3-1], F. Filley[4-3-1], D. Schnell[3-2], F. Mechai[2-1], E. Lancien Mainot[3], F. Lanternier[2-1], P. Descamps[3], N. Degand[3], O. Corriol[4], X. Nassif[3-1], O. Lortholary[2-1]
[1]Equipe Mobile d'Infectiologie [2]Maladies Infectieuses et tropicales [3]Microbiologie Hygiène Hospitalière [4]Pharmacie Hospitalière, CHU Necker Enfants Malades, Paris, France

Introduction et objectifs : Le dépistage et l'isolement des patients porteurs de bactéries multi résistantes semblent être la pierre angulaire de la lutte contre leur diffusion. Ces 5 dernières années nous assistons a une augmentation des cas de patients porteurs d'EBLSE dans nos établissement. Afin de mieux définir le réservoir, notre objectif dans ce travail était de définir les facteurs de risque de portage d'EBLSE lors de la réadmission d'anciens porteurs.

Matériels et méthodes : Etude rétrospective incluant sur une période de 6 mois, tous les patients anciens porteurs réadmis dans notre établissement et ayant bénéficié d'un dépistage, par écouvillonage anal, dans les 24 heures suivant leur admission. Les facteurs démographiques et les antécédents ont été comparés en analyse multivariée.

Résultats : 62 patients anciens porteurs d'EBLSE admis dans notre établissement pendant la période ont bénéficié d'un dépistage par écouvillonage rectal dans les 24 heures suivant leur admission. 31 (50%) d'entres eux étaient porteurs d'EBLSE. Les deux espèces les plus fréquemment rencontrés étaient *E.coli* et *K pneumoniae*. Parmi les facteurs analysés seuls, le retour d'un centre de convalescence (RR=3,7, IC95% 1,13-12,5) et le temps écoulés entre le dernier prélèvement positif et la réadmission (RR= 5,34, IC 95% 1-1,09), étaient associés à un prélèvement anal positif.

Conclusion : Dans notre expérience, le dépistage anal systématique d'EBLSE semble nécessaire lors de la réadmission de patients anciens porteurs d'autant qu'ils sont transférés de centre de convalescence ou que le délai entre le dernier prélèvement et la réadmission est inférieur à 6 mois.

423/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Epidémiologie des patients porteurs d'Entérobactéries sécrétrices de Bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE) isolée dans les 48 heures premières heures après l'admission

N. Lage-Ryk[3], E. Lancien Mainot[3], F. Taieb[3-1], F. Lanternier[2-1], A. Talbi[3], V. Masse[3-1], N. Degand[3], X. Nassif[3-1], O. Lortholary[2-1], J.R. Zahar[3-1]
[1]Equipe Mobile d'infectiologie [2]Maladies infectieuses et tropicales, CHU Necker Enfants Malades [3]Microbiologie-Hygiène Hospitalière, CHU Necker enfants Malades, Paris, France

Introduction : L'incidence des EBLSE a régulièrement augmenté dans les hôpitaux français ces dernières années. Toutefois l'épidémiologie des patients porteurs d'EBLSE reste mal connue en France. Notre objectif était de déterminer le profil des patients porteurs ou infectés identifiés dans les 48 premières heures après leur admission dans notre établissement.

Matériel et méthode : Etude rétrospective incluant tous les patients admis en 2006 et 2007 au CHU Necker Enfants Malades, porteurs ou infectés par une EBLSE isolée dans les 48 premières heures suivant leur admission.

Résultats : Des 114 patients admis porteurs d'EBLSE identifiés dans les 48 premières heures, 56 (49%) étaient des enfants. Dans 64(56%) cas, il s'agissait de prélèvements de dépistage. Les examens cytobactériologique des urines représentaient 39(78%) des 50 prélèvements cliniques. Les deux espèces les plus fréquemment isolées étaient : *E.coli* dans 68 (60%) cas et *K pneumoniae* dans 24 (21%) des cas.

Des 114 observations analysées, 24 (21%) patients étaient connus porteurs d'EBLSE, 36 (32%) étaient transférés à partir d'une structure hospitalière dont 16 venant de l'étranger. Des 54 (47%) autres patients, 5(4%) étaient étrangers venant de pays à haute prévalence, et 44 (39%) étaient suivis pour une pathologie chronique dans notre établissement ayant nécessité une hospitalisation traditionnelle dans l'année précédente pour 37 d'entre eux. Seuls 5 (4%) patients admis porteurs d'EBLSE dans notre établissement ne possédaient pas de facteur de risque portage de bactéries multi résistantes (BMR).

Conclusion : Dans notre expérience 4% des patients admis, à Necker Enfants Malades, porteurs d'EBLSE ne possèdent aucun facteur de risque de portage de BMR. La mise en place d'un dépistage ciblé incluant, les anciens porteurs, les patients suivis pour une pathologie chronique, les patients transférés ou en provenance de pays à haute prévalence permettrait de contrôler à l'admission le réservoir d'EBLSE

424/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) chez les entérobactéries commensales des amérindiens du village isolé de Trois-Sauts (Sud-Guyane)

P.L. Woerther[2], F. Djossou[1], E. Ruppé[2], A. El Mniai[2], D. Skurnik[2], C. Angebault[2], M. Renard[7], R. Bettenger[7], M. Lescat[3], L. Epelboin[1], C. Dupont[4], D. Guillemot[4], E. Denamur[3], G. Arlet[5-6], A. Andremont[2]
[1]Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Général de Cayenne, Cayenne [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard [3]Inserm U722 et Université Paris 7 Denis Diderot, UFR de Médecine Site Xavier Bichat [4]Pharmacoépidémiologie et Maladies Infectieuses, Institut Pasteur [5]Service de Bactériologie et Inserm, U702, Hôpital Tenon [6]Université Paris 6–Pierre et Marie Curie, Site St-Antoine, Paris [7]Dispensaire de Trois-Sauts, Trois-Sauts, France

Contexte : Une étude réalisée en 2001 chez les Wayampis vivant à Trois-sauts avait montré une prévalence de portage intestinal d'entérobactéries BLSE de 3,2% (3/93) du à un clone unique d'*E.coli* portant le gène bla_{TEM-52} alors que la consommation d'antibiotiques y était faible (0,6 tt/hab/an sans aucune céphalosporines de troisième génération (C3G)). Nous avons réétudié ce portage dans la même population cinq ans plus tard.

Méthodes : Les selles, de 164 habitants (octobre 2006), ont été cultivées sur milieux BLSE (AES®). Les souches productrices de BLSE ont été criblées pour les gènes bla_{CTX-M} (groupes 1, 2, 8, 9 et 25), bla_{SHV}, bla_{TEM}, bla_{OXA-1}, bla_{BES}, bla_{GES}, bla_{VEB} et bla_{PER} et leur clonalité déterminée. Les intégrons de classe 1, 2 et 3 ont été caractérisés si présents et les plasmides transférés chez *E.coli J53*. La consommation d'antibiotiques durant l'année précédente était enregistrée.

Résultats : Le portage de BLSE était de 7,9% (13/164) pour une consommation de C3G de 2 traitements seulement durant l'année précédente. Quatorze *E.coli* (13 sujets) se répartissaient en 7 clones. Le clone C ($bla_{CTX-M-2}$) était présent chez 7 individus. Trois autres clones $bla_{CTX-M-2}$ ont été isolés (B : 2 individus, E et F: un individu). 2 souches bla_{SHV-2} (D et G) étaient chacune

présente chez 2 individus et une $bla_{CTX-M-8}$ chez un seul.

Conclusion : En cinq ans, la prévalence de portage de BLSE a plus que doublé et les dérivés bla_{TEM} ont été remplacés par deux bla_{CTX-M} et un dérivé bla_{SHV} alors que que la pression de sélection par C3G restait faible.

425/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Présence concomitante des gènes $bla_{CTX-M-15}$, bla_{OXA-1} et *aac(6')-Ib-cr* chez des entérobactéries fécales de deux enfants sains d'un village sénégalais isolé

E. Ruppé[2-3], P.L. Woerther[2-3], A. Diop[6-1], A.M. Sene[6-1], L.L. Pham[2], A. Da Costa[5], G. Arlet[5], A. Andremont[2-3], B. Rouveix[4-1]
[1]Association Kinkeliba [2]Centre National de Référence associé, Hôpital Bichat [3]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat, AP-HP [4]Pharmacologie Clinique, Hôpital Cochin [5]Faculté de Médecine St-Antoine, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France [6]Maison de Santé Pierre Fabre, Wassadou, Sénégal

Contexte : La dissémination rapide et mondiale des béta-lactamases de type CTX-M est avérée chez les entérobactéries responsables d'infections. Leur dissémination dans le réservoir intestinal d'entérobactéries commensales est moins étudiée. Nous avons recherché leur présence dans les selles d'enfants sains d'un village sénégalais très isolé.

Matériels et méthodes : Kagnoubé est un village l'Est du Sénégal d'une centaine d'habitants sans route carrossable ni structure de santé permanente. Les selles de 20 enfants (dont 9 garçons) âgés de 1 à 11 ans et n'ayant, selon leurs mères, jamais reçu d'antibiotiques, ont été recueillies et rapportés en France sur gélose de conservation. Le phénotype de résistance de 5 souches de *E.coli* choisies au hasard après culture sur Drigalski sans antibiotique a été déterminé, de même que celui de tous les clones isolés après culture sur milieu de Drigalski additionné de 1 mg/L de céfotaxime. Le groupe phylogénétique, le contenu en béta-lactamases et la clonalité (Rep-PCR) de toutes les souches identifiées comme productrices de béta-lactamases à spectre élargi (BLSE) ont été déterminés.

Résultats : Aucune souche productrice de BLSE n'a été isolée chez les souches de la flore dominante qui comportait cependant des *E.coli* résistants aux pénicillines, à la tétracycline et au cotrimoxazole avec des prévalences respectives de 55%, 60% et 75%. Deux enfants (10%) étaient porteurs de *E.coli* producteurs de BLSE, identifiés comme un seul clone par Rep-PCR. Cette souche du groupe phylogénétique A1 portait les gènes $bla_{CTX-M-15}$, bla_{OXA-1} et *aac(6')-Ib-cr* qui transféraient en bloc par conjugaison, suggérant un support génétique commun.

Conclusion : Cette observation montre que la diffusion des gènes transférables de résistance aux céphalosporines de troisième génération et aux aminosides a déjà atteint des individus jeunes vivant pourtant de façon isolée et n'ayant encore jamais été soumis directement à une pression de sélection antibiotique.

426/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Epidémiologie des entérobactéries productrices de Bêta-lactamase à spectre élargi à l'hôpital La Rabta de Tunis

S. Sammoud[2], H. Sakka[2], L. Ammari[1-1], N. Lassoued[2], M. Zribi[2], A. Masmoudi[2], C. Fendri[2]
[1]Maladies infectieuses [2]Microbiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

L'évolution de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3ème génération est liée à l'émergence et la à diffusion de certains mécanismes de résistance dont le plus important est la production d'une ß-lactamase à spectre élargi (BLSE).

L'objectif de notre étude a été de déterminer l'épidémiologie des entérobactéries productrices de BLSE à l'hôpital la Rabta de Tunis, les facteurs de risque et l'origine nosocomiale ou communautaire.

Il s'agit d'une étude prospective réalisée entre Mars 2007 et Juin 2008. Tous les patients porteurs d'une BLSE ont été inclus. La sensibilité des souches aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion sur gélose selon les normes CA SFM et la détection de BLSE par la mise en évidence d'une synergie entre l'amoxicilline-acide clavulanique et les céphalosporines de 3ème génération.

261 patients (267 souches non répétitives) ont été colligés. Le sexe ratio H/F est de 1,15. La répartition des BLSE selon les unités de soins est de 49% en médecine, 17% en néonatologie, 14,5% en réanimation médicale, 10,5% en chirurgie et 9% chez les consultants en externe. Ces souches ont été isolées d'ECBU dans 44,5%, d'hémocultures dans 24,3%, de suppurations dans 15,3% de prélèvements pulmonaires dans 6,3%, de cathéters dans 5,9% et d'autres prélèvements dans 3,7%. *K pneumoniae* et *E.coli* sont les germes les plus fréquentes respectivement 71,5% et 19,8%.Les facteurs de risque les plus fréquemment retrouvés sont l'immunodépression 42%, le sondage vésical 24,7%, le cathétérisme 20,2%, la chirurgie 17,6% et la ventilation-intubation 11,1%. Ces souches sont résistantes à la gentamicine dans 66,6%, l'amikacine dans 39,3%, la gentamicine et l'amikacine 27,7%, les fluoroquinolones 54,8% et sulfaméthoxazole-trimétoprime 52,8%. L'origine nosocomiale a été retrouvée dans 82,5%. 14 patients sont décédés soit 5,2%.

Une surveillance épidémiologique régulière des entérobactéries productrices de ß-lactamase à spectre élargi (BLSE) est nécessaire. En effet l'alternative thérapeutique est souvent difficile et la résistance est d'autant plus grave lorsqu'il s'agit d'infections systémiques. Une étude moléculaire est en cours afin de confirmer le caractère nosocomial et les mécanismes de résistance impliqués.

427/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Caractérisation des souches de *Serratia marcescens* responsables d'infections nosocomiales dans un CHU tunisien

C. Harchay[2], H. Ben Abdallah[1], A. Ben Othman[3], R. Harrath[2], M. Aouni[2], M. Mastouri[2-1]
[1]Laboratoire de microbiologie, CHU Fattouma Bourguiba de Monastir [2]Laboratoire des substances biologiquement actives et des maladies transmissibles, Faculté de Pharmacie de Monastir, Monastir [3]Unité de recherche d'Helicobacter pylori, Hôpital la Rabta de Tunis, Tunis, Tunisie

L'objectif : de ce travail est de caractériser les souches de *Serratia marcescens* impliquées dans la recrudescence des infections nosocomiales dans le CHU de Monastir – Tunisie entre mars 2005 et décembre 2006.

Matériel et méthodes : Cinquante souches de *S. marcescens* dont 49 souches cliniques non redondantes et une souche d'un prélèvement d'hygiène ont été isolées au laboratoire de microbiologie du CHU Fattouma Bourguiba de Monastir. Elles ont été identifiées par galerie Api 20 E (bio-Mérieux France) et testés à une gamme d'antibiotiques selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Les souches ont été soumises par la suite à un typage moléculaire par électrophorèse en champs pulsés en utilisant le kit Gene Path Group 3 (Biorad France). La lecture et l'interprétation des pulsotypes ont été réalisées par le logiciel « Fingerprinting-II » selon la méthode UPGMA (Unweighted Pair Group Method Average) en tenant compte d'un coefficient de tolérance de 1,5%.

Résultats : la majorité des souches de *S. marcescens* a été isolé des services de pédiatrie (33%) et de réanimation (15%). Plus de la moitié des souches (54%) ont été isolées à partir d'hémocultures. L'étude de la sensibilité aux bétalactamines a permis d'identifier 16 antibiotypes, le phénotype céphalosporinase de haut niveau a été le phénotype le plus fréquent (50%). L'étude génotypique a permis d'individualiser 9 génotypes et a permis également de mettre en évidence la compléxité épidémiologique associée aux infections nosocomiales à *S. marcescens* avec une variété des génotypes circulants dans un même service d'hospitalisation et avec une aptitude d'évoluer en situation endémique.

Conclusion : l'utilisation des méthodes moléculaires est nécessaire afin de tracer la transmission entre patients des bactéries nosocomiales et de déterminer ainsi les mesures nécessaires et les stratégies de contrôle.

428/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Epidémie de *Klebsiella pneumoniae* productrices de la ß-lactamase CTX-M-15 dans un service de réanimation

A. Carrer[1], N. Fortineau[1], L. Lassel[1], M. Mansouri[1], N. Anguel[2], C. Richard[2], P. Nordmann[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie [2]Réanimation Médicale, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objet de l'étude : Ce travail a pour objet de décrire la survenue d'une épidémie de Klebsiella pneumoniae produisant la β-lactamase à spectre étendue CTX-M-15 dans le service de réanimation médicale de l'hôpital de Bicêtre.

Méthode : Les souches de Klebsiella pneumoniae isolées entre décembre 2006 et novembre 2007 chez les patients hospitalisés en réanimation et caractérisées par une résistance aux β-lactamines ont été étudiées. La présence d'une β-lactamase à spectre étendu a été mise en évidence par un test de synergie entre la ticarcilline/acide clavulanique et le cefotaxime ou la ceftazidime. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par diffusion sur gélose et par bandelette E-test. L'identification des β-lactamases et des gènes plasmidiques de résistance aux quinolones a été réalisée par PCR puis séquençage. La clonalité des souches a été étudiée par champ pulsé. Les plasmides ont été analysés par la méthode de Kieser et la présence de la séquence d'insertion ISEcp1 a été mise en évidence par PCR.

Résultats : Trente six isolats de Klebsiella.pneumoniae BLSE non redondants ont été isolés sur la période de l'étude. Ces derniers provenaient de prélèvements cliniques ou de dépistage de routine. Trois isolats ont été incriminés dans des infections documentées. Trente deux isolats ont été acquis dans le service et 4 ont été considérés comme importés. La totalité des isolats présentait une résistance à toutes les β-lactamines, à l'exception des carbapénèmes, et aux quinolones mais une résistance variable aux aminosides. Tous les isolats exprimaient le gène bla CTX-M-15 associé ou non aux gènes des β-lactamases bla TEM-1 et bla OXA-1. D'autre part, certaines souches exprimaient le gène plasmidique de résistance aux quinolones aac6'-Ib-cr. Aucune souche ne possédait les gènes de résistance aux quinolones de type Qnr. Les gènes bla CTX-M-15 bla TEM-1 et bla OX-1 ainsi que le gène aac6'-Ib-cr.étaient localisés principalement sur un plasmide conjugatif de 160-kb. Dans tous les cas, le gène gène bla CTX-M-15 était localisé en aval de la séquence d'insertion ISEcp1. Les résultats des études génotypiques montraient que 32 isolats étaient génétiquement reliés, les 4 isolats de pulsotype différent correspondant aux souches importées.

Conclusion : Ce travail décrit une épidémie de K. pneumoniae produisant la BLSE CTX-M-15. Cette enzyme a été initialement décrite chez *E.coli* essentiellement dans des infections urinaires communautaires. Cette étude illustre la dissémination de CTX-M-15 chez d'autres espèces d'Entérobactéries à fort potentiel épidémique, notamment K. pneumoniae. Cette espèce

lorsqu'exprimant des marqueurs BLSE a été en effet très largement rapportée à l'origine d'épidémies nosocomiales de 1990 à 2000.

429/73A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Epidémiologie des entérobactéries sécrétrices de Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) au Centre Hospitalier de Grasse : évolution du 1er semestre 2005 au 1er semestre 2008

S. Léotard[2], N. Négrin[1]
[1]Hygiène [2]Laboratoire, Centre Hospitalier, Grasse, France

Nous avons constaté dans les recommandations du CASFM 2008 la disparition de la phrase « Etant donné l'épidémiologie actuelle, quand une entérobactérie est R à la tobramycine, la nétilmicine et l'amikacine, mais S à la gentamicine, il est conseillé de rechercher la présence d'une BLSE associée, surtout chez les espèces où ce type d'enzyme est faiblement exprimé (*Proteus* spp, *Providencia* spp) ». Cela nous a incité à étudier l'épidémiologie et l'évolution des entérobactéries à BLSE (espèces, résistances associées) dans notre établissement.

Méthode : Nous avons répertorié les entérobactéries à BLSE isolées dans notre laboratoire (patients hospitalisés, externes, SSR) du 1er semestre 2005 au 1er semestre 2008. Les souches (prélèvements cliniques, dépistages) ont été dédoublonnées (1 patient 1souche). Les sensibilités aux antibiotiques sont testées en milieu gélosé et interprétées selon les recommandations du CASFM. Nous avons étudié les aminosides et les fluoroquinolones FQ (Acide Nalidixique NA, Ciprofloxacine CIP)

Résultats : 124 entérobactéries BLSE ont été comptabilisées : *Escherichia coli* augmente (12% à 86%), *Enterobacter spp* diminue (33% à 5%). Les résistances associées sont en diminution. Celles aux FQ sont les plus courantes (CIP : 88% à 68%). En ce qui concerne les aminosides il y a presque toujours association avec une résistance à NA (59% à 36%). On note une augmentation des souches sensibles aux aminosides et à l'acide nalidixique (6% à 23%). Parmi les mécanismes de résistance aux aminosides, il y a une diminution de la présence d'AAC 6' (29% à 1%)

Conclusion : L'augmentation importante *d'Escherichia coli* parmi les entérobactéries à BLSE est conforme à ce qui est décrit dans la littérature. La présence de résistances associées (aminosides et/ou fluoroquinolones) varie et aurait tendance à baisser depuis 2005. On note une augmentation de souches sensibles à la fois aux aminosides et aux fluoroquinolones. Notre étude nous permet de montrer la diminution de la relation AAC 6'-BLSE et nous incite à chercher une BLSE même en absence de résistances associées. Ces variations phénotypiques sont-elles rattachées à une modification du type de BLSE (CTX-M) ? Ces résultats sont à confirmer sur échantillonnage plus important.

430/73A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Sensibilité des entérobactéries aux antibiotiques à La Réunion : quelle évolution pour les entérobactéries multi-résistantes (EMR) en 10 ans au Centre Hospitalier Félix Guyon (CHFG) ?

O. Belmonte[1], D. Drouet[3], M.P. Moiton[4], Y. Lefort[3], J. Alba[2], M.C. Jaffar-Bandjee[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie et d'Hématologie [2]Pharmacie [3]Réanimation Polyvalente [4]Unité de Médecine Interne, CH Felix Guyon, Saint-Denis, France

Objectif : Cette étude vise à décrire et comprendre l'évolution de la résistance des entérobactéries aux antibiotiques afin de proposer des mesures adaptées pour la gestion du risque lié à l'emergence des EMR au CHFG.

Méthode : Les souches d'entérobactéries retenues ont été isolées entre 1997-98 (n=3683) puis entre 2006-07 (n=4131) chez des patients hospitalisés au CHFG au sein de prélèvements à visée diagnostique.

Résultats : La prévalence des EMR est passée de 7% pour la période 1997/98 à 11% pour 2006/07. L'analyse de l'augmentation des EMR en 10 ans au CHFG révèle une relative stabilité de la résistance par hyper expression d'une céphalosporinase (CasHP) (prévalence passant de 5 à 5,2%) et une très importante augmentation de la résistance par présence d'une BLSE (prévalence mulipliée par 2,9 : 2% vs 5,8%). Les BLSE représentaient 28% des EMR en 97/98 contre 56% aujourd'hui.

- EMR avec CasHP :

E. cloacae est le 1er germe impliqué avec une situation renforcée en 10 ans (42% vs 52%). Il faut noter l'émergence des *E.coli* CasHP (passage 0,1% à 7%) et l'apparition des *K.pneumoniae* "Ampc".

- EMR de type BLSE (EBLSE) :

L'augmentation de la présence des EBLSE au CHFG s'appuie sur l'émergence et la diffusion d'*Enterobacter cloacae* BLSE+ (1ère position, 39% des BLSE en 2006/07 vs 21% en 1997/98) et d'*E.coli* BLSE+ (désormais 27% des BLSE vs 3% en 1997/98). La prévalence des BLSE est désormais de 9,5% chez *K. pneumoniae* (taux X1,9 en 10 ans), 23% chez *E. cloacae* (taux X5,2) et 3% chez *E.coli* (taux X30).

Les résistances associées au sein des autres familles d'antibiotiques (aminosides, fluoroquinolones, sulfamides…) posent de sérieux problèmes de prise en charge thérapeutique notamment pour les EBLSE.

Il n'a pas été mis en évidence parmi ces EMR de souches résistantes à l'imipénème.

Conclusion : La nette augmentation en 10 ans de la prévalence des EMR au CHFG essentiellement liée à l'émergence des EBLSE expose à un problème croissant de prise en charge thérapeutique. L'absence actuelle de maîtrise du phénomène impose une implication particulière pluri-disciplinaire (cliniciens, soignants hygiénistes, pharmaciens, biologistes…).

431/73A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Emergence des métallo-Bêta-lactamases chez *Pseudomonas aeruginosa* dans un hôpital tunisien (Sfax, 2007)

M. Rekik-Meziou, A. Znazen, M. Rekik, B. Mnif, S. Mezghani Maalej, F. Mahjoubi, A. Hammami
Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

Les metallo-ß-lactamases (MBL), enzymes conférant une résistance à l'imipenème (IMP), sont en augmentation ces dernières années dans le monde. Quatre types majeurs de MBL ont été décrits : SPM, GIM, IMP et VIM. Ces deux dernières sont les plus rapportées. Dans notre hôpital, en 2005, le screening des souches de Pseudomonas aeruginosa résistantes à l'IMP a montré la présence d'une MBL de type VIM chez seulement une souche parmi 70.

Dans ce travail, notre objectif était d'évaluer la prévalence des MBL de type VIM chez les souches de P.aeruginosa isolées dans notre laboratoire en 2007.

Nous avons inclus dans notre étude toutes les souches de P.aeruginosa isolées en 2007 et ayant un phénotype de résistance aux β-lactamines évoquant la production d'une MBL. Un test à l'EDTA et une PCR amplifiant les gènes blaIMP et blaVIM ont été réalisés pour toutes les souches.

Au total 59 souches de P.aeruginosa résistantes à l'imipenème étaient testées. Les souches provenaient de différents types de prélèvements: prélèvements respiratoires (55%), pus (27%), hémocultures (10%) et ECBU (8%). La PCR amplifiant le gène blaVIM était positive pour 40 souches (67%), parmi lesquelles 39 ont montré un test à l'EDTA positif. Ces souches productrices de MBL provenaient essentiellement des services de soins intensifs (69%). Pour deux souches, le test à l'EDTA était positif mais la PCR était négative. La PCR amplifiant le gène blaIMP était négative pour toutes les souches.

En comparaison avec l'année 2005, les MBL de type VIM sont en extension alarmante chez les souches de P.aeruginosa. Un génotypage des ces souches est nécessaire pour évaluer leur clonalité. La mise en place d'un système de surveillance et l'application de mesures d'hygiène strictes dans notre hôpital est assez urgente surtout que la diffusion de ces MBL entre les différents types de bacilles à Gram négatif essentiellement les entérobactéries est possible.

432/73A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* en pratique de ville : enquête de 4 mois sur le territoire national

C. Quentin[2], V. Dubois[2], P. Coquet[2], C. André[2], les membres du Réseau Epiville-France[1]
[1]Les laboratoires d'Analyses Médicales du Réseau [2]UMR 5234, CNRS, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France

La résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* est bien connue dans les hôpitaux universitaires et généraux français, mais pas dans les autres secteurs de santé à l'échelle nationale.

Sur une période de 4 mois (janvier à avril 2008), 22 plateaux techniques du Réseau de laboratoires privés Epiville-France ont collecté toutes les souches de *P.aeruginosa* et *A. baumannii* isolées en situation pathogène (~3% des antibiogrammes), et les renseignements épidémio-cliniques correspondants. Le laboratoire coordonnateur a contrôlé l'identification et la sensibilité aux antibiotiques (méthode de diffusion, 22 disques Oxoïd), et informatisé les données. Après élimination des doublons, 658 souches ont été retenues, issues de 616 patients.

Les 629 *P.aeruginosa* provenaient principalement d'urines (45%), de pus (37%) et de prélèvements respiratoires (12%), de patients résidant à leur domicile (39%) ou en maisons de retraite (9%), ou hospitalisés dans des cliniques (46%) ou des hôpitaux locaux (6%). Les pourcentages de souches sensibles en ville/institutions étaient : ticarcilline (TIC), 77/74% ; pipéracilline, 92/85% ; ceftazidime (CAZ), 95/90% ; aztréonam, 65/64% ; imipénème (IPM), 80/83% ; méropénème, 90/88% ; tobramycine (TM), 88/82% ; amikacine (AN), 89/89% ; ciprofloxacine, 72/68%. Les 29 *A. baumannii* provenaient principalement de pus et d'urines (79%) de patients hospitalisés en cliniques (66%). Le pourcentage de souches sensibles était : TIC, 96% ; CAZ, 54% ; IPM, 100% ; TM, 86% ; AN, 89% ; ofloxacine, 54% ; cotrimoxazole, 79%. Ces résultats devront être confirmés par la détermination des CMI. Chez les 2 espèces, ~50% des souches étaient d'antibiotype sauvage. Les patients de ville présentaient inconstamment des facteurs de risque de bactéries multirésistantes : âge >60 ans (66%), affection de longue durée (62%), antécédents récents d'hospitalisation (39%) ou d'antibiothérapie (61%), soins (39%) ou hospitalisation (8%) à domicile.

En conclusion, la sensibilité de *P.aeruginosa* en pratique de ville parait stable voire en augmentation par rapport à une enquête régionale de 2000, comme à l'hôpital (ONERBA), mais la proportion des souches communautaires et les valeurs critiques ont évolué. Aucun *A. baumannii* multirésistant n'a été trouvé.

433/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evolution de la résistance de *Pseudomonas aeruginosa* aux antibiotiques : 2002-2006

A. Minchella[3], L. Molinari[1], S. Alonso[1], J.P. Lavigne[2], A. Sotto[3], N. Bouziges[2]
[1]Département de Biostatistiques [2]Service de Bactériologie [3]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Caremeau, Nîmes, France

Objectif : surveiller l'évolution de la résistance (R) aux antibiotiques de *P.aeruginosa* dans notre établissement afin d'optimiser la thérapeutique antibactérienne.

Méthode : le dénombrement d'infections/colonisations à *P.aeruginosa* a été obtenu à partir de la base informatique du CHU. Les cas étaient considérés nosocomiaux lorsque le prélèvement était réalisé plus de 48 heures après l'admission du patient. Un test de Cochrane-Armitage a été réalisé pour évaluer l'évolution de la R.

Résultats : Sur 2051 infections/colonisations, 69% étaient d'origine nosocomiale. Les β-lactamines les plus actives étaient la ceftazidime (CAZ) et l'imipénème (IPM) avec 17 et 15% de R. La pipéracilline (PIP) et la PIP-tazobactam (TZP) (25 et 19% de R) avaient une meilleure activité que la ticarcilline (TIC) et la TIC-acide clavulanique (TCC) (54 et 45% de R). L'amikacine (AN) et la tobramycine (TM) étaient plus actives que la gentamycine (GM), respectivement 20%, 22% et 41% de R. La ciprofloxacine (CIP) était la fluoroquinolone la plus active avec 29% de R.

Les souches nosocomiales étaient significativement plus résistantes que les souches communautaires, notamment vis-à-vis de la CAZ (18 vs 14%) et de la CIP (30 vs 25%).

Le test de Cochrane-Armitage a mis en évidence une augmentation significative de la R des souches nosocomiales pour la CAZ, TCC et TZP. La R à la GM a diminué. La R des souches communautaires à la CIP, GM, TM, CAZ, PIP, et TCC a baissé significativement. Globalement, il a été noté une baisse significative de la R pour l'AN, la GM et la CIP.

Conclusion : *P.aeruginosa* reste majoritairement nosocomial. Bien que les taux de R aient diminué depuis 2002 en milieu communautaire, l'augmentation de la R des souches nosocomiales vis-à-vis de la CAZ, TCC et TZP est inquiétante, ces antibiotiques étant largement prescrits en milieu hospitalier.

434/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Epidémiologie et sensibilité aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa* dans les hôpitaux du Nord-Pas-de-Calais

C. Cattoen[4], D. Descamps[1], M. Roussel-Delvallez[2], A. Vachée[3]
[1]Biologie, Centre Hospitalier, Béthune [2]Bactériologie-Hygiène, CHRU, Lille [3]Biologie, Roubaix [4]Microbiologie, Centre Hospitalier, Valenciennes, France

Un observatoire régional de Pseudomonas aeruginosa (P.a) a été mis en place par le réseau des microbiologistes du Nord-Pas de Calais en 1996, il vise à surveiller l'incidence d'isolement de P.a au niveau des prélèvements diagnostiques et la sensibilité aux antibiotiques de cette bactérie. Cette surveillance a été instaurée de manière régulière de 1996 à 2001 et reprise en 2007 du fait du signalement de souches épidémiques produisant une métalloenzyme VIM-2 dans des hôpitaux belges.

Les 20 centres participant à ce travail ont recueilli de mars à avril 2007 les données relatives aux souches isolées de prélèvements diagnostiques et les données d'activité de leurs établissements. Par ailleurs de mars à décembre, les souches résistantes aux bêtalactamines et aux carbapénèmes ont été collectées afin de caractériser une éventuelle carbapénémase.

Les résultats sont les suivants :
Activité des établissements durant la période de surveillance (mars – avril 07) :
Nombre d'établissements 20
Nombre d'admissions 124099 (dont 121296 en MCO)
Nombre de journées d'hospitalisation 820220 (dont 492154 en MCO)
Incidence d'isolement de P.a :
Nombre de souches 1127
Incidence P.a pour 100 admissions 0.97
Incidence P.a pour 1000 journées 1.49
Sensibilité de P.a :
Molécule Sensible Intermédiaire Résistant
Ticarcilline 37.8% 33% 29.2%
Ceftazidime 76% 16.4% 7.6%
Imipénème 80.3% 5.8% 13.9%
Amikacine 72.5% 14% 13.5%
Ciprofloxacine 68.4% 4% 27.6%
Ce travail confirme l'incidence élevée d'isolement de P.a dans les hôpitaux du Nord – Pas de Calais. Concernant la sensibilité aux antibiotiques, les taux de résistance comparés à ceux de 2001 sont stables pour la ceftazidime et l'amikacine, moins élevés pour l'imipénème et la ciprofloxacine, mais plus élevés pour la ticarcilline. Les niveaux de résistance sont cependant très différents selon les établissements. Sur la période d'étude de 9 mois, une seule souche productrice de métalloenzyme de type VIM-2 a été caractérisée ce qui démontre l'absence de diffusion de ce clone en France, fait également confirmé par l'enquête trans-réseaux menée la même année par l'ONERBA.

435/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Profil bactériologique de la colonisation infection des voies respiratoires en milieu de réanimation

H. Ben Abdallah[1], M.A. Essaadi[1], A. El Argoubi[1], Y. Kaadri[1], S. Noomen[1], M. Guahbiche[2], F. Abroug[3], M. Mastouri[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie [2]Service de réanimation anesthésie [3]Service de réanimation polyvalente, CHU Fattouma Bourguiba de Monastir, Monastir, Tunisie

Objectif : Le but de notre étude est de déterminer la nature et la sensibilité aux antibiotiques des germes incriminés dans la colonisation/infection des voies aériennes des patients hospitalisés dans les services de réanimation de notre hôpital.

Matériel et Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective allant du 1er janvier 2006 au 31 décembre 2007, portant sur toutes les souches isolées des différents prélèvements pulmonaires provenant de malades hospitalisés dans les services de réanimation polyvalente et de réanimation-anesthésie du CHU Fattouma Bourguiba de Monastir-Tunisie.

Seules les espèces qui ont donné, en culture, plus de 10^7 UFC/ml pour les expectorations, plus de 10^5 UFC/ml pour les aspirations endotrachéales (AT), plus de 10^4 UFC/ml dans les lavages broncho-alvéolaires (LBA) et plus de 10^3 UFC/ml pour les prélèvements trachéales protégés (PTP) ont été retenues.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été effectuée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Résultats : Au total, 440 souches ont été isolées. Il s'agit dans la plupart des cas d'une aspiration trachéale (63%) et de prélèvement trachéal protégé (30%). *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* ont été les germes les plus souvent isolés (26,4% et 23,6% respectivement) suivis de *Staphylococcus aureus* (9%). Soixante-trois pourcents des souches de *P.aeruginosa* ont été résistantes à la ticarcilline, 59% à la ciprofloxacine, 53% à la céftazidime, 39% à l'imipénème et 25% à la fosfomycine. Les pourcentages d'*A. baumannii* résistants à l'imipénème, à la ticarcilline et à la ciprofloxacine ont été de 59%, 91% et de 94% respectivement. La résistance à la méticilline a été notée chez 11% des souches de *S. aureus*.

Conclusion : *A. baumannii* et *P.aeruginosa* sont les principales espèces isolées dans les services de réanimation de notre hôpital. Leurs capacités à développer des résistances acquises justifient amplement leur prise en charge dans la politique de prévention des infections nosocomiales.

436/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Transmission de salmonelles productrices de Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) au sein de deux familles ayant adopté un enfant à l'étranger

D. Tandé[1-3], S. Boirasmé[2], S. Gouriou[3], T. Naas[4]
[1]Laboratoire de Microbiologie [2]Service d'Odontologie, CHU Brest [3]EA 3882, Université Bretagne Occidentale, Brest [4]Laboratoire de Microbiologie, CHU Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Depuis une vingtaine d'années, l'adoption internationale ne cesse d'augmenter dans le monde avec en France plus de 3000 enfants en 2007. Ces enfants adoptés à l'étranger sont exposés à diverses pathologies infectieuses acquises dans les pays d'origine. Bien que la présence de salmonelle ait déjà été signalée chez les enfants adoptés, la transmission intra-familliale au sein de la famille d'adoption n'a quasiment jamais été documentée. Au sein du CHU de Brest, de 2003 à 2005 nous avons surveillé 23 familles d'enfants adoptés au Mali et en Ethiopie. Une coproculture était réalisée à l'arrivée en France chez l'enfant et chez tous les membres de la famille, puis ensuite une fois par mois. Les salmonelles isolées ont été identifiées, et étudiées par antibiogramme, électrophorèse en champ pulsé (ECP), étude des plasmides, isoélectrofocalisation (IEF) et PCR-séquençage des gènes de résistances.13 enfants étaient porteurs de salmonelles à leur arrivée : 17 souches dont 9 étaient productrice de BLSE. Dans 2 familles un autre membre a été identifié porteur de la salmonelle isolée chez l'enfant (Tableau).

Famille	pays	membre	type	phénotype	enzymes
1	Mali	mère	Babelsberg	BLSE	SHV12, TEM1
2	Ethiopie	frère	Concord	BLSE/Quinolones	SHV12, CTX-M15, TEM1, QNR-A1

Pour ces 2 familles seul l'enfant était positif lors de l'arrivée. La mère et le frère n'avaient pas participés au voyage et dans les 2 cas la présence de ces salmonelles s'est accompagnée d'un syndrome infectieux. La mère a présenté une diarrhée et le frère a été hospitalisé pour syndrome fébrile accompagné d'une diarrhée.

Ces 2 cas illustrent le risque de transmission au sein des familles adoptant un enfant à l'étranger, de bactéries présentant non seulement un fort potentiel pathogène mais aussi une résistance à la plupart des antibiotiques. C'est pourquoi au CHU de Brest, nous avons choisi de surveiller les enfants adoptés et leur famille arrivant dans la région Brestoise.

437/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Infections urinaires à *Salmonella* non *typhi* : rapport de 6 cas

L. Jaouadi[3], S. Ketata[3], M. Mastouri[1], R. Ben Nsir[2], N. Zouari[4], J. Chemli[4], N. Boujaafar[3]
[1]Service de Microbiologie, CHU Fattouma Bourguiba, Monastir [2]Service d'Urologie [3]Service de Microbiologie [4]Service de Pédiatrie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie

Introduction : Les infections urinaires à salmonella non typhi sont exceptionnelles. Leur fréquence est estimée à moins de 0,05%, ce qui correspond à 5% des infections extra-digestives. Elles surviennent en général sur un terrain prédisposant qui doit systématiquement être recherché : il peut s'agir d'immunodépression ou d'une pathologie urologique acquise ou congénitale. Le but de ce travail était de montrer la fréquence, les caractéristiques cliniques et les modalités de prise en charge de ces infections du tractus urinaire causées par les Salmonelles non thyphoïdiques.

Patients et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective des cas d'infections urinaires à salmonella non typhi diagnostiqués au Laboratoire de Microbiologie du CHU Sahloul (Sousse, Tunisie) entre janvier 2003 et juillet 2008.

Résultats : Six patients ayant une bactériurie à salmonella non typhi ont été diagnostiqués pendant la période d'étude, soit une fréquence de détection d'infections urinaires à salmonella non typhi de 0,064% parmi l'ensemble des ECBU positifs. La moyenne d'âge des patients concernés était de 33,8 ans. Le sex-ratio (M/F) était de 2/6. L'ensemble des patients positifs à Salmonella non typhi étaient symptomatiques : 2 cas de cystite et 4 cas de pyélonéphrite. Un facteur prédisposant a été retrouvé chez 5 des patients à type de diabète (2 cas), traitement corticoïde et immunosuppresseur (2 cas), uropathie malformative (1 cas) et pathologie tumorale maligne (2 cas). Salmonella Enteritidis était le sérotype le plus communément retrouvé chez les patients (5 cas). Un traitement antibiotique à base de céphalosporines de troisième génération associé ou non à une fluoroquinolone a été instauré chez tous les patients pendant une durée moyenne de 2 semaines. L'évolution était favorable chez 5 patients, avec un recul moyen de 22 mois.

Conclusion : Les manifestations extra-digestives des salmonelloses sont rares, survenant plus volontiers chez des sujets à risque. Le tableau clinique de la localisation urinaire peut varier du portage asymptomatique à la pyélonéphrite, en passant par la cystite sans aucune spécificité par rapport aux infections à entérobactéries. Le traitement antibiotique doit être d'une durée minimale de deux semaines. Le pronostic à long terme reste malgré tout péjoratif du fait de la fréquence des rechutes et du taux élevé de mortalité lié essentiellement au terrain.

438/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Surveillance de la résistance aux céphalosporines de troisième génération chez les salmonelles d'origine non humaine en France : données 2007

S.A. Granier, J. Grout, S. Fremy, C. Oudart, C. Piquet, C. Pires-Gomes, C. Danan, A. Brisabois
Unité CEB, AFSSA-Lerqap, Maisons-Alfort, France

En 2007, le Réseau *Salmonella* de l'AFSSA a collecté, par l'intermédiaire d'environ 150 laboratoires privés ou publics partenaires, des informations sur 14332 données relatives à l'isolement de *Salmonella* spp en santé animale, hygiène des aliments et dans l'environnement. Une partie de ces souches ont été collectées à l'AFSSA et, après dédoublonnage, 3736 souches ont été testées en antibiogramme en milieu gélosé.

Dans le cadre de la surveillance de la résistance aux antibiotiques, la détection de résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G), représente un intérêt majeur en santé publique Cette détection est basée sur un premier critère de résistance à la céfalotine. En 2007, Un total de 25 souches présentant ce phénotype a été analysé par un deuxième antibiogramme spécifique suivi d'une détection de bêta-lactamases par PCR.

Les gènes, bla_{VEB}, bla_{CMY}, bla_{DHA}, bla_{PER}, bla_{ACT}, bla_{ACC}, et bla_{LCR} n'ont pas été détectés alors que 24 des 25 souches testées portaient un gène de type *blaTEM*. Aucune céphalosporinase n'a été détectée.Quatre souches étaient porteuses de BLSE de types CTX-M, TEM ou SHV. Elles provenaient d'une part d'élevages de volaille : *S.* Virchow dans des faeces de cailles et *S.* Napoli en environnement d'élevage de poulet ; et d'autre part d'aliments destinés à l'homme : *S.* ParatyphiB dans de la viande de poulet et *S.* Ohio dans de la viande de porc.

Depuis, la première description de *Salmonella* BLSE en filière volaille en 2003 (Weill et al., JCM, 2004), la présence de BLSE chez *Salmonella* reste un événement rare mais régulier qui nécessite une vigilance continue compte tenu de l'impact de ce type de résistance en santé publique.

439/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Characters, virulence and clonality of *Shigella* strains isolated in the centre of Tunisia

A. Ferjani, S. Mhalla, N. Ben Saida, M. Marzouk, J. Boukadida
Laboratoire de microbiologie et d'immunologie UR02SP13, Hôpital Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Objectives: Shigellosis is a major public health problem in developing countries, especially among children. The aim of this study is to establish epidemiological and bacteriological patterns, to study genetic relatedness and the distribution of some virulence genes among *Shigella* strains.

Methods: A total of 29 stool specimens were studied between 2004 and 2006. *Shigella* strains were identified at the serogroup level, characterized by biochemical tests. Susceptibility to antibiotics was based on CA-SFM recommendations. Molecular typing was performed on 17 strains by pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) after macrorestriction of DNA by XbaI. The detection of invasive plasmid encoded *ial*, genes for *Shigella* enterotoxin: *set1A*, *set1B*, *sen*, secreted auto-transporter toxin *sat,* and the *ipaH* gene was realized by multiplex polymerase chain reaction.

Results: Over the 29 studied strains, 14 strains were *S. sonnei*, 12 *S. flexneri*, 2 *S. dysenteriae* and 1 *S. boydi*. Sixty percent of patients have less than 15 years old and the sex ratio was 0.61. The strains were isolated essentially from paediatric department (51%) followed by internal-medicine department (34%). These strains were mostly isolated in autumn period (44% of cases). Nearly 50% of all *Shigella* strains were resistant to amoxicillin and 45% were resistant to cotrimoxazole, while only 3.5% were resitant to cefotaxim. No resistance was noticed either to fluoroquinolones or to colimycin.

PFGE was performed on 9 *S. sonnei* and 8 *S. flexneri*. Seven of 8 strains of *S. flexneri* have close related PFGE patterns according to the Tenover criteria. For the 9 strains of *S. sonnei*, there were 5 different clones (A, B, C, D and E).

Distribution of *Shigella* virulence genes among the 17 isolates showed the presence of the *ial* gene in 15 strains, *set 1A* in 10 strains, *set1B* in 2 strains, *sen* gene in 7 strains and *sat* gene in only 3 strains. However the *ipaH* gene wasn't present in any strain.

Conclusion: For shigellosis, fluoroquinolones are the antibiotics of choice. There are multiples sources for *S. sonnei* and two sources for *S. flexneri* with predominance of one. The virulence of *Shigella* strains is based on toxinogenesis and the invasion of the intestinal mucous membrane.

440/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Dix ans de tuberculose XDR en France : incidence et facteurs de risque

E. Kanitz[2], N. Veziris[2], V. Jarlier[2], M.C. Gutierrez[1], J. Robert[2], pour le Réseau du CNR-Myrma[2]
[1]Département Infection et Epidémiologie, Institut Pasteur [2]Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux, Bactériologie-Hygiène, Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, APHP, Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Objectif : La tuberculose à bacilles ultrarésistants (XDR) est définie comme une tuberculose à bacilles multirésistants (résistance à isoniazide+rifampicine, MDR), et résistants aux fluoroquinolones (FQ) et à >1 des 3 antibiotiques (ATB) injectables suivants : kanamycine, amikacine, capréomycine. L'objectif a été d'évaluer l'incidence de la tuberculose XDR en France et d'en rechercher les facteurs de risque.

Méthode : Analyse rétrospective des antibiogrammes des souches des 517 cas MDR signalés au moins une fois entre 1998 et 2007 au CNR-MyRMA. Une étude cas-témoin a été effectuée pour comparer les caractéristiques démographiques et cliniques des cas XDR à celles des cas MDR non XDR.

Résultats : Au total 17 cas XDR ont été signalés en 10 ans au CNR (1 à 2 cas/an) mais 4 ont été signalés plusieurs années, ce qui fait que le nombre de nouveaux cas XDR était de 13 et l'incidence annuelle de 0 à 4% parmi les MDR. Aucune tendance évolutive n'a été observée. Parmi les 13 cas, 5 sont nés en France, 3 en Europe de l'est, 2 en Algérie, 2 en Afrique sub-saharienne et 1 en Asie. Il y avait 10 hommes (77%), d'âge médian de 32 ans, tous avaient une tuberculose pulmonaire et 9 (69%) un examen microscopique positif. Ces caractéristiques n'étaient pas différentes de celles des cas MDR. Les cas XDR étaient plus souvent déjà traités auparavant que les cas MDR (85% vs 39%, p<0,01) et aucun n'était VIH positif alors que 16% des MDR l'étaient (p=0,02). Le nombre médian d'ATB actifs était de 3 pour les souches XDR et de 6 pour les souches MDR (p<0,01). Les souches XDR étaient plus souvent résistantes à l'éthambutol (77% vs 34%, p<0,01), au pyrazinamide (69% vs 34%, p=0,02) et à la cyclosérine (54% vs 22%, p=0,01). La résistance à la streptomycine et à l'éthionamide n'était pas statistiquement différente entre les souches XDR et les souches MDR. Parmi les 504 cas non XDR, 101 (20%) avaient une souche résistante soit à une FQ soit à un des 3 ATB injectables. En analyse multivariée, seuls les antécédents de traitement étaient associés au risque de tuberculose XDR (OR 8,3, IC 2,6-26,7).

Conclusion : La tuberculose XDR est très rare en France et se voit essentiellement chez des patients déjà traités. L'accumulation de résistances par ces souches laisse peu de possibilités thérapeutiques.

441/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Emergence d'infections à *Clostridium difficile* de PCR-ribotype 027 et consommation de certains antibiotiques : un lien dans les établissements de santé de l'interrégion Nord ?

G. Birgand[1], C. Carbonne[1], L. Lacave[1], B. Coignard[3], K. Blanckaert[1], F. L'heriteau[1], F. Barbut[2], P. Astagneau[1]
[1]CCLIN Paris-Nord [2]Laboratoire Clostridium difficile associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme, Hôpital Saint Antoine [3]Institut de veille sanitaire, Paris, France

Introduction : La pression de sélection des antibiotiques (ATB) est rapportée comme facteur de survenue d'infection à *Clostridium difficile* (ICD). Les ATB fréquemment décrits comme favorisant les ICD sont les fluoroquinolones (FQ),

les céphalosporines de 3ème génération, l'association amoxicilline acide-clavulanique (AMC) et la clindamycine. Afin d'étayer l'hypothèse d'une pression de sélection par ces ATB, notre étude avait pour but de démontrer s'il existait une relation entre les consommations d'ATB et la survenue d'une épidémie d'ICD de PCR-ribotype 027 dans les établissements de santé (ES) de l'inter-région Nord.

Méthodes : L'analyse a porté sur les données du réseau de surveillance des consommations d'antibiotiques coordonnée par le CCLIN Nord en 2005, année précédant la survenue de l'épidémie ICD 027 (2006-2007). Les consommations moyennes d'ATB (dose définies journalières DDJ/1000 JH) par molécules ont été comparées entre les ES ICD 027+ et ICD 027- par les tests statistiques usuels. Une stratification par taille, type d'ES (publics/privés) et pourcentage de lits SSR-SLD-psychiatrie a été effectuée. Une régression logistique analysait le lien entre les consommations et la survenue d'ICD.

Résultats : Parmi les 102 ES participants au réseau ATB, 10 étaient ICD027+ et 92 ICD 027-. La proportion de lits de court séjour, la taille de l'ES (< ou ≥ 400 lits), la répartition publics/privés étaient similaires entre les 2 groupes. La moyenne de consommation totale d'ATB et d'AMC n'était pas significativement différente entre les ES ICD 027+ et ICD 027-. Les consommations de ceftriaxone, imipénème (IMP), lévofloxacine (LVX) et amikacine étaient significativement plus élevées dans les ES ICD 027+ vs. ICD 027- ($p < 0,01$). La consommation globales de FQ étaient à la limite de la significativité ($p=0,06$). La régression logistique établissait un lien entre les ICD et les consommations d'IMP (OR=6,9 ; IC= [1,5-31,9]) et de LVX (OR=6,4 ; IC= [1,4-29,4]).

Conclusion : Nos résultats suggèrent que l'émergence d'ICD 027 pourrait être liée à une consommation moyenne plus élevée de certains antibiotiques, en particulier certaines FQ. Les efforts pour un meilleur usage des antibiotiques à l'hôpital doivent être poursuivis dans cette région, associés aux précautions standard d'hygiène.

442/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evolution des souches de *Clostridium difficile* en France, 2006-2008 : diminution du clone épidémique 027 et émergence des souches de toxinotype V

C. Eckert[5], D. Chassaing[5], P. Boquet[3], L. Lemée[6], P. Bouvet[4], H. Marchandin[1], F. Mory[2], N. Marty[8], B. Burghoffer[5], B. Coignard[7], F. Barbut[5]
[1]Hôpital A. De Villeneuve, Montpellier [2]Hôpital Central, Nancy [3]Hôpital de l'Archet, Nice [4]CNR des bactéries anaérobies et du botulisme [5]Laboratoire associé Clostridium difficile, Paris [6]CHU Charles Nicolle, Rouen [7]Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice [8]CHU de Toulouse, Toulouse, France

Objectif : La surveillance des infections à *C. difficile* (ICD) repose sur le signalement à la DDASS et au CCLIN des infections sévères et des épidémies. Depuis 2006, les souches isolées des cas signalés sont caractérisées par un ensemble de laboratoires experts. Nous rapportons ici les résultats concernant l'évolution de la souche épidémique 027 et l'émergence des souches de toxinotype V.

Méthodes : Les souches reçues ont été caractérisées par des méthodes phénotypiques (antibiogramme) et par des méthodes moléculaires (toxinotypage par PCR-restriction, détection des gènes codant pour la toxine binaire par PCR, recherche de délétions dans le gène *tcdC*, PCR-ribotypage).

Résultats : Depuis juillet 2006, 1256 souches toxinogènes ont été reçues par les différents laboratoires, essentiellement des régions Ile de France, Nord pas de Calais, Picardie, Haute Normandie, PACA, Rhône-Alpes, Corse, Bretagne, Centre, Basse Normandie et Pays de Loire. Nous avons comparé les tendances évolutives entre juillet-décembre 2006 (S1, n=349), janvier-juin 2007 (S2, n=390), juillet-décembre 2007 (S3, n=211) et janvier-juin 2008 (S4, n=306). La fréquence des souches épidémique 027 a significativement diminuée entre S1 et S4 (53,3% vs 20,9%, $p<0.001$). En revanche, les souches de toxinotype V semblent émerger, représentant 9,2% des isolats en S1 et 16,7% en S4 ($p<0.001$). Ces souches sont caractérisées par la présence de la toxine binaire et d'une délétion de 39 pb dans le gène *tcdC*. Elles sont fréquemment associées à une résistance à la tétracycline. La majorité de ces souches appartiennent au PCR-ribotype 078.

Conclusion : Depuis 2006 nous avons observé une diminution des souches de PCR-ribotype 027 ; en revanche un nouveau clone épidémique (toxinotype V, PCR-ribotype 078) semble émerger. Cette évolution est constatée dans d'autres pays.

443/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Recherche de toxines de *Clostridium difficile* : outil d'alerte et de surveillance au CHU de Limoges

N. Pestourie, H. Bachellerie, O. Barraud, F. Garnier, N. Hidri, C. Martin, M.C. Ploy, F. Denis, M. Mounier
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

Objet de l'étude : Clostridium difficile est un germe émergent qui est responsable d'épidémies graves y compris en France. Au CHU de Limoges, depuis 2005, a été mis en place une information systématique des services de soins par le CLIN de l'établissement et une procédure d'alerte définie par le laboratoire de bactériologie et l'unité d'hygiène.

Méthodes : Le laboratoire de bactériologie effectue quotidiennement la recherche de toxines (Immunocard Toxins A+B, Meridian) directement dans les selles. Tout résultat positif est communiqué immédiatement dans le service prescripteur et à l'unité d'hygiène qui se déplace systématiquement dans le service concerné pour s'assurer de la mise en place de mesures d'isolement. La recherche de toxines est ensuite complétée par la culture mais le délai de résultat n'en fait pas un outil d'alerte efficace (une semaine). Dans cette étude, seuls les patients positifs pour les toxines ont été pris en compte. Les données, extraites du système de gestion de laboratoire « Bactério » (Info Partner, Nancy) ont été analysées à l'aide du logiciel EpiInfo 6.0.

Résultats obtenus : Au cours de la période de surveillance (1er janvier 2005 au 15 août 2008), plus de 1000 demandes de coprocultures avec recherche de *Clostridium difficile* ont été reçues pour 930 patients. Parmi eux, 340 étaient positifs pour la recherche de toxines. Le nombre de demandes a augmenté régulièrement, mais le pourcentage de prélèvements pour lesquels la recherche de toxines était positive a diminué de 50% en 2005 à 14% en 2008. La moyenne d'âge des patients positifs était de 65,5 ans (médiane 71 ans). Le délai de diagnostic par rapport à la date d'admission était inférieur à une semaine dans la moitié des cas; ce qui indique une origine nosocomiale pour l'autre moitié. Au cours de cette période, aucune souche "épidémique" O27 n'a été isolée. En revanche, en juin 2007, 4 cas groupés ont été recensés dans un service de moyen séjour. Les mesures d'isolement ont été mises en place immédiatement. Après analyse par électrophorèse en champs pulsés, il s'est avéré que les souches isolées chez ces patients avaient des profils génétiques différents et qu'il n'y avait donc pas eu de transmission interpatients.

Conclusion : L'augmentation régulière des demandes montre l'impact de l'information sur les équipes de soins. La diminution du pourcentage de patients positifs montre la validité de la procédure mise en place qui doit être maintenue.

444/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Détection rapide au laboratoire des souches de *C.difficile* (CD) productrices de la toxine binaire

M. Thibault[2], A.S. Goetgheluck[1]
[1]Bactériologie, CH d'Abbeville, Abbeville [2]Bactériologie, CH René Dubos, Pontoise, France

Objet de l'étude : Faciliter la détection au laboratoire des souches de C.difficile (C.D) émergeantes productrices de la toxine binaire et repérer au plus vite les clones épidémiques connus.

Méthode : Les souches émergentes produisent la toxine binaire, décrite pour la première fois en 1988 par l'équipe de M.Popoff (Institut Pasteur Paris), elle est codée par l'opéron CDT qui peut être entier ou tronqué, en utilisant des amorces dérivées de celles du CNR au niveau d'un fragment de cdtB présent à la fois dans l'opéron entier et tronché nous réalisons au laboratoire une PCR temps réel (taille du produit d'amplification environ 300pb) suivi d'une courbe de fusion pour l'identifier.

Les clones épidémiques connus seront repérés avec le gène tcdC.

C'est un gène régulateur pour la sécrétion des toxines A et B de C.D, il peut présenter 4 types de délétion de tailles 18pb, 36pb, 39pb et 54 pb. 2 souches épidémiques sont décrites :

La souche épidémique (toxinotypeIII, PCR –Ribotype 027) possède dans le gène tcdC une délétion de 18pb,

Un nouveau clone épidémique (toxinotypeV, PCR-Ribotype 078) présente dans le même gène une délétion de 39pb.

Cette délétion peut être mise en évidence par PCR en utilisant les amorces P1367 et P1368, avec révélation par électrophorèse sur un gel RESOPHOR à 2%, taille du produit d'amplification environ 300pb, nous testons au laboratoire ce couple d'amorces modifié et 2 autres couples amorces en PCR temps réel (produit d'amplification à 100pb / 80 pb) suivi d'une courbe de fusion.

Les 2 PCR temps réel décrites ci-dessus sont réalisées dans un même cycle avec un même programme.

L'extraction de l'ADN se fait à partir des colonies en utilisant le kit InstaGene Matrix (billes de chelex) de Bio-Rad.

Résultats obtenus : Une fois la souche isolée il est possible d'avoir le résultat des PCR dans la journée, en cas de positivité pour la toxine binaire la souche sera adressée au CNR rapidement pour confirmation et typage précis, parallèlement nous analyserons le produit d'amplification du gène tcdC par électrophorèse sur un gel RESOPHOR à 2% avec un marqueur de poids moléculaire 50pb pour voir s'il s'agit d'un clone épidémique connu.

Conclusion : Cette technique simple à partir du moment ou l'on est équipé en PCR temps réel permet de prendre les mesures nécessaires pour juguler ces souches émergentes dans de meilleures conditions.

445/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Observatoire de la résistance des micro-organismes aux anti-infectieux en Côte d'Ivoire (ORMICI) : prévalence des bactéries multi-résistantes en 2007

V.C. Gbonon[2], N. Guessennd[2], A. Kacou-N'douba[3], C. Boni-Cissé[1], H. Faye-ketté[1], M. Dosso[4]
[1]Laboratoire central, CHU Yopougon [2]CNR Résistance aux antibiotiques [3]Unité de Biologie Clinique, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire [4]Président, ORMICI, Abidjan, Côte d ivoire

Objectif : L'Observatoire de la Résistance des Micro-organismes aux anti Infectieux en Côte d'Ivoire (ORMICI) s'est donné pour objectif d'évaluer la fréquence des bactéries multi résistantes dans les prélèvements à visée

diagnostique.

Matériel et Méthodes : Sur une période de un an (1er janvier 2007 au 31 décembre 2007), les souches bactériennes étudiées provenaient du laboratoire central du CHU de Yopougon Abidjan et de l'unité de biologie clinique de l'Institut Pasteur de côte d'Ivoire, faisant office de laboratoire du CHU de Cocody Abidjan. Ces souches ont été isolées de tous types de prélèvements de patients hospitalisés ou non. Chaque souche était accompagnée d'une fiche de renseignements épidémiologiques et a fait l'objet d'une confirmation d'identification et d'un antibiogramme selon les recommandations du CASFM 2007. La lecture interprétative a été faite avec l'automate Osiris de Biorad. Les bactéries sentinelles multi résistantes aux antibiotiques définies étaient les suivantes: *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM), *Pseudomonas aeruginosa* avec céphalosporinase hyperproduite, entérobactéries productrices de betalactamases à spectre élargi (EBLSE), entérobactéries avec résistance croisée à toutes les quinolones (ERCQ). Les entérobactéries identifiées pour cette étude étaient *Escherichia coli, Klebsiella pneumoniae et Enterobacter cloacae*.

Résultats : Sur la période d'étude, 589 germes ont été colligés et étaient répartis comme suit: 26,7% (157/589) de *Staphylococcus aureus*, 11,5% (68/589) de *Pseudomonas aeruginosa* et 61,8% (364/589) d'entérobactéries. La résistance au sein de chaque espèce bactérienne a montré une fréquence de SARM de 19,7% (31/157), de EBLSE de 17,8% (65/364), de ERCQ de 48,9% (178/364). Concernant *Pseudomonas aeruginosa,* 32,3% (22/68) des souches étaient hyperproductrices de céphalosporinases.

Conclusion : La présente étude a montré des taux élevés de bactéries multi résistantes (BMR). Cette observation doit amener les autorités de notre pays à définir une politique de lutte contre les BMR passant d'une part par la sensibilisation de la population et la formation des prescripteurs à l'usage rationnel des antibiotiques et d'autre part par une surveillance active de ces BMR dans hôpitaux et dans la communauté.

446/73A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

MedQual, centre régional d'information et de ressources pour le bon usage des produits de santé. Action « anti-infectieux »

S. Thibaut[1], M. Pajot[1], F. Ollivier[1], P. Lombrail[1-2], G. Potel[1-3-5], F. Ballereau[1-2-5-4]
[1]MedQual [2]PIMESP [3]Urgences, CHU [4]Département de Pharmacie Clinique et Santé Publique [5]UPRES EA 3826, Université, Nantes, France

Objectif : MedQual, réseau ressource dont la création fait suite au plan national pour préserver l'efficacité des antibiotiques (AB), repose sur deux grands principes de la politique de santé en France : promouvoir la démarche qualité pour l'offre de soins et développer la gestion des risques liés aux soins dans les établissements de santé et en milieu communautaire.

Méthode : Création de MedQual en 2004 pour décliner les grands axes du Plan, en particulier l'axe 4, en offrant aux professionnels de santé un accès facilité à des conseils thérapeutiques et en développant un réseau épidémiologique de surveillance de la sensibilité aux AB de «bactéries sentinelles».

Résultats :

Cible : professionnels de santé des Pays de la Loire

Outils : un site internet (www.medqual.fr) et un conseil en ligne

Actions : Promouvoir le bon usage des anti-infectieux

- aide à la pratique professionnelle : liens vers les conférences de consensus et recommandations, synthèse des référentiels nationaux de prise en charge des pathologies infectieuses courantes, fiches synthétiques sur les anti-infectieux et les vaccins, actualités (lettre électronique mensuelle)

- veille épidémiologique régionale reposant sur un réseau de biologistes de ville pour assurer une surveillance de la sensibilité aux AB de *S.aureus* et *E.coli* en milieu communautaire. MedQual représente l'Ouest de la France au sein de l'ONERBA pour surveiller l'émergence des BMR (SARM et EBLSE) en ville dans l'inter-région Ouest.

- **cellule opérationnelle de la commission des AB du CRMDM pour la mise en œuvre d'une politique commune de bon usage des AB dans l'ensemble des établissements MCO des Pays de la Loire**

Conclusion : Le bon usage des antibiotiques et la surveillance des résistances bactériennes restent une priorité de santé publique en France. MedQual a acquis une expertise qui constitue un atout majeur pour la région des Pays de la Loire dans ce domaine très sensible.

447/74A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de 4 tests de diagnostic rapide du VIH chez les patients suivis en consultation à l'hôpital Robert Ballanger d'Aulnay-sous-Bois

C. Visseaux[1], J.L. Delassus[2], R. Sablé[2], D. Malbec[2], H. Porcheret[1], L. Maisonneuve[1]
[1]Service de Biologie Médicale [2]Service de Médecine Interne-Infectiologie-Endocrinologie, CH Robert Ballanger, Aulnay-Sous-Bois, France

Outre de leur utilisation sur plasma et sur sang total, trois tests de dépistage du VIH, marqués CE sont conçus pour pouvoir être utilisés sur sang capillaire : **Determine HIV 1/2 ®** (Abbott/Inverness), **Vikia 1 /2®** (Biomérieux), INSTI **HIV-1/HIV-2 Rapid antibody Test®** (Orgentec) et un test est marqué CE pour son utilisation sur cellules gingivales **VIH 1/2 OraQuick Advance®** (OraSure Technologies).

Contrairement aux USA où ces tests sont largement diffusés, en France, ils ne sont pas encore utilisés comme tels. Nous avons comparé ces quatre tests de diagnostic rapide dans une population de 100 patients infectés par le VIH, ayant donné leur consentement signé, et suivis en consultation de Médecine Interne à l'Hôpital Robert Ballanger. Pour chacun d'eux nous avons relevé leur charge virale, leur taux de CD4 et, le cas échéant leur génotype.

Les prélèvements capillaires et ou gingivaux ont été effectués en même temps que le bilan sanguin préscrit pour leur suivi habituel. Tous les tests ont été réalisés extemporanément par un membre du Service de Biologie médicale sur sang total et plasma, sang capillaire ou frottis gingival. Les résultats ont été photographiés.

Aucun résultat faussement négatif n'a été constaté pour ces quatre réactifs dans la population étudiée. Une variabilité d'intensité des bandes tests est visible pour cetains patients, quelque soit la nature du prélèvement réalisé.

Pour les 4 réactifs utilisés, les résultats sur sang capillaire ou frottis gingival sont comparables à ceux obtenus sur plasma ou sur sang total

Cette étude préliminaire donne des résultats satisfaisants, indépendamment du génotype, de la charge virale ou du stade d'immunodépresssion.

L'ensemble de ces tests présente une facilité d'utilisation et de réalisation respectant strictement les recommandations techniques Leur avantage majeur est de pouvoir être réalisé sans délai, afin d'optimiser la prise en charge médicale.

448/74A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Intérêt de la PCR dans le diagnostic de l'oesophagite herpétique

N. Leveque[4], E. Frobert[1], R. Guedec[2], A. Lukaszewiez[2], G. Thiéfin[3], L. Andreoletti[4], V. Brodard[4], M.D. Diebold[2]
[1]Laboratoire de Virologie, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon [2]Laboratoire d'anatomopathologie [3]Service de Gastro-entérologie, Centre Hospitalier Universitaire de Reims [4]Laboratoire de virologie médicale et moléculaire/EA infection et immunité de l'épithélium respiratoire, Centre Hospitalier Universitaire de Reims, IFR 53, Faculté de médecine de Reims, Reims, France

Objectifs : L'oesophagite due à l'*Herpes Simplex* de type 1 (HSV1) est la seconde oesophagite infectieuse après l'oesophagite à *Candida*. Elle survient le plus souvent chez le sujet immunodéprimé provoquant odynophagie, douleurs rétrosternales ou dysphagie. Son diagnostic repose actuellement sur l'examen histologique d'ulcérations prélevées au cours d'une endoscopie. La place de la PCR Herpes dans le diagnostic de l'oesophagite herpétique reste à définir.

Patients et méthodes : Dix-neuf biopsies présentant des lésions cellulaires évocatrices d'oesophagite herpétique (présence de cellules malpighiennes superficielles plurinucléées avec aspect vitreux des noyaux) confirmées par une immuno-histochimie positive utilisant l'anticorps anti-herpès 1 (Dako®) et dix-sept biopsies d'œsophagite d'autre étiologie sans aspect histologique d'infection herpétique ont été sélectionnées. Après déparaffinage, l'ADN total a été extrait grâce à la trousse DNA Blood de chez Qiagen puis dosé sur spectrophotomètre. Une PCR GAPDH a permis de vérifier la bonne qualité de l'ADN extrait avant détection de l'HSV1 grâce à la trousse « Herpes consensus » (Argène®) intégrant la recherche d'inhibiteurs de PCR. Enfin, la charge virale HSV1 a été mesurée dans tous les prélèvements positifs et les résultats exprimés en nombre de copie/µg d'ADN extrait (Frobert et al., Antiviral Res., 2008).

Résultats : Dix-huit des dix-neuf oesophagites herpétiques diagnostiquées histologiquement ont été confirmées par la PCR herpes avec un nombre de copies de génome compris entre 11 et 3.42 $x10^6$ copies/µg d'ADN extrait (médiane = 29280 ; écart type = 1108483). Deux biopsies négatives à l'examen histologique se sont révélées positives en PCR herpes. Les charges virales mesurées étaient alors respectivement de 197 et 146 copies/µg d'ADN extrait. La faiblesse des effectifs étudiés n'a pas permis de comparer statistiquement les résultats obtenus.

Conclusion : Ce travail démontre la bonne corrélation entre le diagnostic histologique et le diagnostic moléculaire virologique de l'oesophagite herpétique. Cependant, l'apport de la PCR herpes dans les cas histologiquement prouvés reste limité. En revanche, la quantification de l'HSV1 à partir de biopsies d'œsophage avec diagnostic anatomopathologique positif pourrait permettre à terme d'établir un seuil de charge viral, pouvant être estimé ici à 1000 copies de génome/µg d'ADN extrait, au delà duquel toute oesophagite pourrait être considérée comme herpétique même en l'absence de preuves histologiques concordantes. Reste à valider cette valeur seuil grâce à de futures études portant sur un plus grand nombre de prélèvements.

449/74A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de la quantification du cytomégalovirus dans le sang par le test de PCR en temps réel CMV R-gene® (Argene, France)

S. Marque Juillet[3], A. Touzart[3], C. Fernand-Laurent[3], A. Therby[2], S. Rigaudeau[1], M. Harzic[3]
[1]Hématologie-oncologie [2]Médecine Interne [3]Microbiologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

Le diagnostic de maladie à cytomégalovirus (CMV) chez les patients immunodéprimés est de plus en plus réalisé par PCR quantitative (Q-PCR) dans le sang bien que la méthode de référence reste l'antigénémie pp65 (Ag pp65). Cependant les résultats obtenus par les différentes techniques de Q-

PCR (« maison » ou commerciales) sont discordants.

Les objectifs de notre étude sont :

Définir la valeur prédictive de la Q-PCR par le test CMV R-gene® pour le diagnostic de maladie CMV et le suivi de l'efficacité du traitement.

Comparer les résultats de la Q-PCR à ceux de l'Ag-pp65 et la faisabilité des 2 techniques.

Matériel et méthodes : La Q-PCR a été réalisée sur tous les prélèvements de sang total congelés à -80°C (n=36 soit 4 à 7 échantillons par patient) de cinq patients (dont trois VIH séropositifs) avec un diagnostic de maladie à CMV, entre janvier 2007 et juin 2008, définie par la présence de signes cliniques évocateurs et une Ag pp65 supérieure à 3 noyaux ou une rétinite caractéristique.

Après extraction de l'ADN CMV (« EZ1® DNA blood 350 µl kit », extracteur EZ1, Qiagen), l'ADN a été quantifié dans chaque échantillon par la Q-PCR quantitative CMV R-gene® selon les recommandations du fabricant. L'Ag pp65 CMV a été réalisée avec le réactif CINAkit® (Argene) lors de la réception du prélèvement sur 23 des 36 échantillons.

Résultats : Tous les échantillons positifs en Ag pp65 sont positifs en PCR (n=15). Deux échantillons négatifs en Ag pp65 sont positifs en PCR au seuil de 500 copies/ml. Les 6 autres échantillons sont négatifs par les deux techniques.

Pour un patient (rétinite), la PCR aurait permis un diagnostic plus précoce (5 jours).

Les cinétiques des deux marqueurs sous traitement sont superposables.

Conclusion : Le test CMV R-gene® a une aussi bonne valeur prédictive que l'Ag-pp65 tout en étant une technique rapide et plus facile d'utilisation.

Une étude prospective sur un plus grand nombre de patients est nécessaire pour définir le seuil de prédiction de maladie à CMV par la PCR quantitative, et d'instauration d'un traitement, en fonction des différentes pathologies sous jacentes des patients.

450/74A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de la plate-forme de PCR en temps réel LightCycler (LC) 480 pour la mesure des charges virales CMV, EBV, HHV-6 et BKV dans le sang total

C. Deback[1-2], J. Geli[1-2], Z. Ait Arkoub[1], F. Angleraud[1], A. Gautheret-Dejean[1-2-3], H. Agut[1-2], D. Boutolleau[1-2]
[1]Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, APHP [2]UPRES EA 2387, Université Pierre et Marie Curie, Paris 6 [3]Laboratoire de Microbiologie, UPRES EA 4065, Université René Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Paris, France

Objet de l'étude : chez les patients greffés, certains virus peuvent se réactiver et être à l'origine de pathologies mettant en jeu le pronostic de la greffe : le cytomégalovirus humain (CMV), le virus Epstein-Barr (EBV), le 6ème herpèsvirus humain (HHV-6), le virus BK (BKV). La mesure de la charge virale dans le sang des patients permet le suivi de ces infections opportunistes et la prévention de la survenue de maladies associées. Il est donc important pour un service de virologie de disposer de méthodes rapides, sensibles et spécifiques pour la mesure des charges virales sanguines. Nous avons effectué une évaluation de la plateforme de PCR en temps réel LC 480 (Roche) pour la mesure des charges virales sanguines CMV, EBV, HHV-6 et BKV.

Méthodes : au total, 253 prélèvements de sang total ont été testés : CMV (n=62), EBV (n=104), HHV-6 (n=53), BKV (n=34), ainsi que les contrôles de qualité européens (QCMD) 2008 correspondants. L'extraction de l'ADN a été réalisée à l'aide de la trousse «MagNA Pure Compact Nucleic Acid Isolation Kit I» sur l'automate «MagNA Pure Compact» (Roche). Les charges virales mesurées avec l'automate LC 480 ont été comparées à celles obtenues avec les protocoles du laboratoire pour l'activité diagnostique sur les automates ABI 7500 (Applied Biosystems) (CMV, HHV-6) ou LightCycler 1.5 (Roche) (EBV, BKV).

Résultats : pour les 174 prélèvements positifs avec les deux méthodes (69%), les coefficients de corrélation entre les charges virales étaient compris entre 0,85 et 0,98 (p<0,0001 ; test de Spearman), et la moyenne des variations de charge virale (Dlog) était inférieure à 0,20 log, quel que soit le virus. Cinquante-cinq prélèvements (22%) étaient négatifs avec les deux méthodes. Les charges virales des 24 prélèvements discordants (9%) étaient faibles, comprises entre 25 et 450 copies/mL. Les résultats pour les contrôles de qualité européens ont confirmé ces bons résultats avec 100% de concordance et une moyenne de Dlog comprise entre 0,04 et 0,33.

Conclusion : les résultats de cette évaluation montrent que l'automate de PCR en temps réel LC480 est tout à fait adapté à la mesure des charges virales CMV, EBV, HHV-6 et BKV dans le sang des patients recevant une greffe pour le diagnostic et le suivi des infections virales opportunistes.

451/74A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Comparaison de la trousse LightCycler® CMV Quant Kit (Roche Diagnostics) avec une PCR « maison » standardisée pour la quantification du CMV sur sang total

S. Alain[2-1], V. Lachaise[1], S. Hantz[2-1], F. Denis[2-1]
[1]CNR CMV, Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU [2]JE Avenir Inserm, Faculté de Médecine, Limoges, France

Objectifs : L'intérêt de la quantification du génome du cytomégalovirus (CMV) par PCR en temps réel pour la surveillance de l'infection à CMV chez les immunodéprimés justifie le développement de trousses standardisées. La multiplicité des techniques de quantification rend difficile la comparaison des résultats d'un laboratoire à l'autre. Le sang total (ST) est un prélèvement de choix du fait de la simplicité du traitement préanalytique et du stockage. Nous avons donc souhaité évaluer les performances de la trousse LightCycler® CMV Quant Kit (Roche Diagnostics) actuellement proposée pour la quantification du CMV dans le plasma pour la quantification du CMV dans le ST couplée à une extraction manuelle (High Pure viral nucleic acid kit, Roche Diagnostics) en référence à la technique Taqman artisanale sur Light cycler 1.0 ayant bénéficié d'une standardisation inter-laboratoires, dite PCR LC1 (Mengelle et al., 2003).

Méthodes : Une gamme de surnageant de culture de CMV (virions de la souche AD169) diluée en ST CMV séronégatif, 47 échantillons de ST provenant de patients transplantés et un Contrôle de Qualité plasmatique pur ou dilué en ST avant extraction ont été testés simultanément en triplicate dans les deux techniques avec la même prise d'essai de 200µL.

Résultats : Contrôles de qualité : Les résultats des deux méthodes sont bien corrélés aux valeurs attendues pour le Contrôle de qualité plasmatique, avec un coefficient R2 de 0,88. Sur ST, la corrélation globale est médiocre (R2 0,45) : on observe une sous-quantification en dessous de 3 logs et une sur-quantification au delà avec la PCR LC1. Au dessus de 3 logs la corrélation devient excellente R2 0,93, avec un écart de 1,2 log de sur-quantification avec la PCR LC1. Les résultats de CMV Quant sont proches des valeurs attendues pour les contrôles de qualité. Echantillons cliniques : Une différence moyenne de quantification de 0,76 log copies/ml est observée sur ces échantillons. Les résultats sont comparables à ceux du contrôle de qualité.

Conclusion : Les résultats des contrôles de qualité soulignent la nécessité d'établir une gamme standard, en particulier pour le ST, permettant de comparer les techniques. Les écarts observés justifient de suivre un patient avec la même technique tout au long de son histoire clinique.

452/74A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Utilisation du papier buvard pour le diagnostic sérologique et moléculaire du virus de l'hépatite A

D. Desbois, A.M. Roque-Afonso, P. Lebraud, E. Dussaix
Laboratoire de Virologie, Centre National de Référence pour les Virus à Transmission Entérique, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

Le papier buvard est utilisé comme support d'échantillon sanguin pour le diagnostic biologique d'un certain nombre de virus comme le cytomégalovirus, le virus de l'immunodéficience humaine, le virus de l'hépatite C ou le virus de la rubéole. Son utilisation facilite et sécurise la conservation et l'acheminement de l'échantillon biologique, et peut se révéler particulièrement intéressante dans les études épidémiologiques et pour les pays en voie de développement. Nous avons étudié la faisabilité de l'utilisation du papier buvard comme support pour les techniques de diagnostic sérologique et moléculaire du virus de l'hépatite A (VHA).

Méthodes : 168 sérums ont été déposés sur papier buvard S&S903® (Whatman) et testés pour la détection des immunoglobulines M (IgM) et des anticorps totaux spécifiques du VHA par les trousses ETI-HA-IGMK PLUS et ETI-AB-HAVK-PLUS (DiaSorin). Les papiers buvards ont été conservés jusqu'à 30 jours à température ambiante, +4°C et +37°C avant d'être traités.

L'ARN du VHA a été recherché par amplification sélective des régions VP1/2A et 5' non codante du génome viral dans 18 sérums déposés sur FTA cards® (Whatman). La sensibilité des techniques et l'effet de la durée de conservation ont été déterminés en utilisant des dilutions croissantes de VHA obtenu en culture (souche HM175).

Résultats : Les IgM et anticorps totaux spécifiques du VHA ont été détectés dans les éluats avec une sensibilité et une spécificité de 100%, quelque soit la durée de conservation à température ambiante et +4°C. Après une conservation de 15 et 30 jours à +37°C, la spécificité de la détection des IgM n'était que de 97.0% et 94.1%. L'ARN viral a été détecté dans l'éluat de 8/9 échantillons positifs et dans aucun de ceux des sérums négatifs. Les sensibilités de l'amplification des régions VP1/2A et 5' non codante sont respectivement de 100 et 1000 copies/mL. Les papiers buvards ont été conservés jusqu'à un mois à température ambiante sans perte d'ARN viral dans l'éluat.

Conclusion : Le papier buvard est un support fiable pour la recherche de l'ARN du VHA et des anticorps spécifiques. Une sensibilité à 100 copies/mL pour la détection qualitative de la région VP1/2A, sur laquelle est basée le typage moléculaire, est tout à fait suffisante pour les enquêtes épidémiologiques.

453/74A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Dépistage et typage des infections à HPV par technique INNO-LIPA sur milieu liquide Labonord après extraction QIAamp DNA Blood Mini Kit Qiagen et Nuclisens easyMAG Biomérieux

S. Hantz[3], M. Goudard[3], J. Renaudie[4], C. Dussartre[2], D. Bakeland[1], F. Denis[3], S. Alain[3]
[1]Cabinet d'anatomie pathologique Bakeland, Guéret [2]Cabinet d'anatomie pathologique Dussartre Gilquin [3]Laboratoire de Bactériologie-Virologie, EA3175, CHU [4]Service de Gynécologie, Clinique du Colombier, Limoges, France

Objectifs : Devant la stratégie actuelle de dépistage et de vaccination qui se met en place afin de prévenir le cancer du col et les lésions précancéreuses dues aux HPV, le typage des infections à HPV est essentiel. Nous avons donc souhaité valider l'utilisation du test INNO-LIPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics) sur les milieux de cytologie liquide Labonord en comparant une extraction avec le kit QIAamp DNA Blood Mini Kit (Qiagen) et une méthode automatisée, Nuclisens easyMAG (Biomérieux).

Méthodes : Trente-deux prélèvements (cytologie ASCUS ou LSIL) ont été typés par la technique Hybrid Capture 2 (HC2, Digene). Ces prélèvements ont ensuite été extraits de façon manuelle ou à l'aide de l'automate d'extraction. La présence d'ADN dans les extraits a été contrôlée par une PCR « HLA ». Les échantillons ont ensuite été typés par le test INNO-LIPA HPV Genotyping Extra (Innogenetics). Une PCR nichée suivi d'un séquençage a permis de comparer les différents résultats.

Résultats : Parmi les 9 patientes présentant un résultat négatif avec le test HC2, 7 ont un résultat négatif en INNO-LIPA et 2 un résultat positif (1 non typable et 1 HPV66) quelle que soit l'extraction effectuée. Concernant les 23 patientes avec un résultat positif avec le test HC2, 22 résultats sont identiques quelque soit le type d'extraction. Après séquençage, on retrouve 15 HPV Haut Risque concordants avec le résultat du test HC2 et 7 résultats discordants (1 négatif, 1 HPV54 Bas Risque, 2 HPV non typables, 2 HPV53 et 1 HPV66 considérés comme probablement à haut risque). Un échantillon positif en HC2 est considéré comme non valide par le test INNO-LIPA après extraction Nuclisens easyMAG mais un HPV16 est détecté après extraction Qiagen. La PCR HLA sur cet échantillon témoigne cependant d'une extraction d'ADN satisfaisante et la PCR nichée HPV suivie d'un séquençage retrouve un HPV 16 dans ce prélèvement.

Conclusion : Des résultats comparables sont retrouvés pour les 2 types d'extraction, avec un gain de sensibilité en terme de nombre de génotypes d'HPV détectés après extraction automatisée. Concernant le test INNO-LIPA, le typage des échantillons par PCR et séquençage a confirmé sa très bonne sensibilité à détecter la présence d'HPV dans les milieux Labonord et à effectuer un typage précis même en présence de multiples génotypes.

454/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Variabilité de la sensibilité aux antibiotiques et intérêt d'une identification moléculaire rapide des *Nocardia* : à propos de 5 cas de nocardioses systémiques

L. Merabet, P. Legrand, Y. Hicheri, V. Cattoir
Bactériologie et Hématologie Clinique, CHU Henri Mondor, AP-HP et Université Paris XII, Créteil, France

Les infections systémiques à *Nocardia*, survenant chez les patients immunodéprimés, sont en fait dues à des espèces variées autrefois regroupées dans le complexe *Nocardia asteroïdes* auxquelles correspondent différents profils de sensibilité aux antibiotiques. Ceci est illustré par l'étude des souches correspondant à 5 cas récents de nocardioses pulmonaires (dont 1 avec localisation cérébrale et 2 avec bactériémie) survenus dans notre hôpital de 2003 à 2007 chez des patients immunodéprimés (2 lymphomes, 1 leucémie, 1 greffé rénal et 1 greffé cardiaque). Le séquençage du gène de l'ARNr 16S et du gène *hsp65* a permis d'identifier 4 espèces différentes : *N. abscessus* (2), *N. farcinica*, *N. nova* et *N. veterana*. Par la méthode du E-test, les souches étaient toutes sensibles au cotrimoxazole (CMI : 0,25-1 mg/L), à l'amikacine (0,125-1 mg/L) et au linézolide (0,5-1,5 mg/L) et résistantes à la ciprofloxacine (≥4 mg/L). *N. abcessus* était plus sensible à amoxicilline+acide clavulanique et au céfotaxime que les autres espèces (0,125 vs ≥2 mg/L et 0,50-0,75 vs ≥8 mg/L) et moins sensible à l'imipénème (1,5-4 vs 0,06-1,5 mg/L). De plus *N. abscessus* était très sensible à la minocycline (0,125-0,38 mg/L), et *N. nova* et *N. veterana* à la clarithromycine (<0,125 mg/L). Bien que le cotrimoxazole reste l'antibiotique de référence pour le traitement des nocardioses systémiques permettant un relais *per os*, l'efficacité d'autres antibiotiques tels linézolide ou clarithromycine et minocycline (actifs *in vitro* sur certaines espèces), mériterait d'être évaluée en cas d'intolérance au cotrimoxazole. Etant donnée la variabilité inter-espèce de la sensibilité aux antibiotiques et l'antibiogramme « standard » étant difficile à interpréter, une identification moléculaire précise et rapide des espèces de *Nocardia* peut venir en aide à la détermination de la sensibilité aux antibiotiques et au choix des molécules à tester par détermination de la CMI.

455/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Activité de la colistine et de la rifampicine sur des souches multirésistantes d'*Acinetobacter baumannii* isolées de bactériémies

A. Ghariani, E. Mehiri-Zghal, L. Essalah, H. Gharbi, N.L. Slim-Saidi
Laboratoire de Microbiologie, Hôpital A.Mami de Pneumologie, Ariana, Tunisie

Introduction : La dissémination de souches multirésistantes d'Acinetobacter baumannii pose des problèmes dans de nombreux services hospitaliers. Face à cette multirésistance, la colistine et la rifampicine bénéficient d'un regain d'intérêt à la recherche d'associations potentiellement synergiques. Cependant, une absence de corrélation entre la sensibilité sur antibiogramme et les CMI de ces molécules a été rapportée chez des souches multirésistantes.

But : Le but de ce travail est de déterminer les CMI de la Colistine et de la Rifampicine sur des souches cliniques multirésistantes d'A.baumannii isolées d'hémocultures ainsi que l'association entre ces deux antibiotiques.

Matériel et Méthodes : 28 souches non répétitives d'Acinetobacter baumannii multirésistantes isolées sur 2 années (2006-2007) chez des patients hospitalisés aux services de réanimation de l'Hôpital A. Mami.

La détermination des CMI est réalisée selon la méthode de dilution en milieu solide de Mueller Hinton. L'interprétation est faite selon les normes du CA-SFM.

L'étude de la synergie entre les 2 antibiotiques est réalisée par la méthode de dilution en milieu liquide.

Résultats : Les souches étudiées sont sensibles à l'imipénème dans 34,6% des cas, aux aminosides dans 15,4% et aux fluoroquinolones dans 11,5% des cas.

Toutes les souches sont catégorisées sensibles à la colistine et 72% sensibles à la rifampicine sur l'antibiogramme.

Après la détermination des CMI, une seule souche est retrouvée sensible à la colistine avec une CMI= 2 mg/l. Les souches résistantes ont des CMI allant de 4 à 32 mg/l. Concernant la rifampicine, 20 souches sont sensibles (71,4%) CMI = 4mg/l, 4 souches intermédiaires (14,3%) avec une CMI de 8 à 16 mg / l et 4 résistantes ayant une CMI ≥32 mg/l.

Une synergie d'action des deux molécules étudiées est observée dans 90% des cas.

Conclusion : Ce travail confirme l'absence de corrélation entre les diamètres critiques et le résultat des CMI de la colistine pour des souches multirésistantes d'Acinetobacter baumannii contrairement à la rifampicine où les résultats concordent. Ceci souligne l'importance de la détermination des CMI en cas d'infections sévères à germes multirésistants, quand l'utilisation de ces molécules est envisagée.

456/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

***In vitro* antibacterial activity of ceftobiprole (BPR) against hospital isolates. Proposal for zone diameter breakpoints: a French multicenter study**

C. Lascols[2], H.B. Drugeon[6], M.D. Kitzis[9], R. Leclercq[1], A. Mérens[10], C. Muller-Serieys[7], M.E. Reverdy[5], M. Roussel-Delvallez[4], S. Brémont[8], M. Marmiesse[3], C.J. Soussy[2]
[1]Côte de Nacre Hospital, Caen [2]Henri Mondor Hospital, Créteil [3]Janssen-Cilag, Issy-les-Moulineaux [4]Calmette Hospital, Lille [5]Edouard Herriot Hospital, Lyon [6]Laennec Hospital, Nantes [7]Bichat Hospital [8]Pasteur [9]Saint Joseph Hospital, Paris [10]Bégin Hospital, Saint-Mandé, France

Background: The aim of the study was to determine the *in vitro* activity profile of BPR, a pyrrolidinone cephalosporin, against a large number of bacterial pathogens and to propose zone diameter breakpoints for clinical categorization according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) MIC breakpoints when they are available.

Methods: MICs of BPR were determined by broth microdilution, and disk diffusion test was performed with 30-µg disks according to the Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) method, against 1554 clinical isolates collected in 8 French university hospitals. An internal quality control was carried out with genetically defined strains, susceptible or resistant.

Results:

Bacterial species (No strains)	Range	MIC50 (mg/L)	MIC90 (mg/L)
Enterobacteriaceae (674)	≤0.008->128	0.06	4
P.aeruginosa (99)	0.5->128	4	16
A. baumannii (71)	0.12-128	0.5	64
S. maltophilia (31)	64->128	64	128
B. cepacia (7)	2-128	16	128
MSSA (90) MRSA (84)	≤0.008-1 0.06-4	0.25 1	0.5 2
MSCoNS (50) MRCoNS (54)	≤0.008-1 0.06-4	0.12 1	0.5 2
E. faecalis (63)	≤0.008-2	0.25	1
E. faecium (40)	1->128	64	128
Streptococcus pyogenes (41)	≤0.008	≤0.008	≤0.008
Other streptococci (41)	≤0.008-16	0.016	0.5
PSSP (48) PRSP (35)	≤0.008-0.25 ≤0.008-0.5	≤0.008 0.12	0.03 0.5
H. influenzae (71)	≤0.008-0.5	0.03	0.25

H. parainfluenzae (19)	≤0.008-0.25	0.06	0.25
B. catarrhalis (36)	≤0.008-1	0.25	0.5

According to the regression curve, zone diameter breakpoints (mm) could be 26, 24 and 22 for MICs of 1, 2 or 4 mg/L respectively.

Conclusions: This study, performed on 1554 strains, confirms the potent *in vitro* activity of BPR against MRSA and key Gram-negative bacteria (*Enterobacteriaceae* and non-fermentative bacilli). Given this broad spectrum of activity, BPR appears well suited for use in the treatment of a variety of healthcare-associated infections.

457/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

In vitro* antibacterial activity of a new Bêta-lactam: Ceftobiprole (BPR) against *Haemophilus influenzae

C. Lascols[1], C.J. Soussy[1], H. Dabernat[2]
[1]*Henri Mondor Hospital, Créteil* [2]*Purpan Hospital, Toulouse, France*

Background: The aim of the study was to determine the *in vitro* activity of BPR, a broad-spectrum pyrrolidinone cephalosporin, against genetically characterized strains of *Haemophilus influenzae* and to propose zone diameter breakpoints for clinical categorization according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) MIC breakpoints when they are available.

Methods: A total of 150 strains of *H. influenzae* were surveyed: 52 of them were ß-lactamase negative (BLNAS), 45 were ß-lactamase negative ampicillin-resistant (BLNAR), 49 were ß-lactamase positive (BLPAR), and four displayed both resistance mechanisms (BLPACR). MICs were determined by broth microdilution using Haemophilus Test Medium (HTM) broth. Disk diffusion, using 30-µg BPR disks, was performed according to the recommendations of the Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Results:

Resistance class (No strains)	**Ceftobiprole**		
H. influenzae	**Range**	**MIC50 (mg/L)**	**MIC90 (mg/L)**
BLNAS (52)	≤ 0.008-0.12	0.06	0.06
BLPAR (49)	0.03-0.25	0.06	0.06
BLNAR (45)	0.06-0.25	0.12	0.25
BLPACR (4)	0.12-0.25	nd	nd

BPR have potent activity against *H. influenzae*, in particular against BLNAS and BLPAR strains. Indeed, no significant change in MIC_{50} and MIC_{90} was observed for strains with or without ß-lactamase production. Compared to the 51 BLNAS, BLNAR isolates showed, for BPR, a 2 to 4-fold increases of MIC values, respectively.

According to the regression curve, zone diameter breakpoints (mm) for ceftobiprole could be: 23, 21 and 19 for MICs (mg/L) of 1, 2 and 4, respectively.

Conclusions: This study confirms the potent activity of BPR against *H. influenzae* regardless of ß-lactamase production and makes this new antimicrobial a very promising drug for treatment of respiratory tract infections.

458/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

***In vitro* antibacterial activity of doripenem (DOR) against hospital isolates: Proposal for zone diameter breakpoints: a French multicenter study**

C. Lascols[2], L. Armand-Lefèvre[7], H.B. Drugeon[6], M.D. Kitzis[9], R. Leclercq[1], A. Mérens[10], M.E. Reverdy[5], M. Roussel-Delvallez[4], A. Lemire[8], A. Miara[3], C.J. Soussy[2]
[1]*Côte de Nacre Hospital, Caen* [2]*Henri Mondor Hospital, Créteil* [3]*Janssen-Cilag, Issy-les-Moulineaux* [4]*Calmette Hospital, Lille* [5]*Edouard Herriot Hospital, Lyon* [6]*Laennec Hospital, Nantes* [7]*Bichat Hospital* [8]*Pasteur* [9]*Saint-Joseph Hospital, Paris* [10]*Bégin Hospital, Saint-Mandé, France*

Background: The aim of the study was to determine the *in vitro* activity profile of DOR, a new carbapenem, against a large number of bacterial pathogens and to propose zone diameter breakpoints for clinical categorization according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) MIC breakpoints when they are available.

Methods: MICs of DOR were determined by broth microdilution, and disk diffusion test was performed with 10-µg disks according to the Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) method against 1554 clinical isolates collected in 8 French university hospitals. An internal quality control was carried out with genetically defined strains, susceptible or resistant.

Results:

Bacterial species (No strains)	**Range**	**MIC50 (mg/L)**	**MIC90 (mg/L)**
Enterobacteriaceae (674)	≤ 0.008-64	0.06	0.25
A. baumannii (71)	0.03-32	0.25	2
S. maltophilia (31)	64->128	>128	>128
B. cepacia (7)	1-128	2	8
MSSA (90) MRSA (84)	≤ 0.008-0.5 0.03-32	0.03 1	0.25 2
MSCoNS (50) MRCoNS (54)	≤ 0.008-0.5 0.016-64	0.03 2	0.12 8
E. faecalis (63)	0.06-8	2	4
E. faecium (40)	4->128	128	>128
Streptococcus pyogenes (41)	≤ 0.008-0.03	≤0.008	≤0.008
Other streptococci (41)	≤ 0.008-8	0.016	2
PSSP (48) PRSP (35)	≤ 0.008-0.25 ≤ 0.008-0.5	≤0.008 0.25	0.03 0.5
H. influenzae (71)	≤ 0.008-1	0.12	0.25
H. parainfluenzae (19)	≤ 0.008-0.12	0.06	0.12
B. catarrhalis (36)	≤ 0.008-0.06	0.03	0.06

According to the regression curve, zone diameter breakpoints (mm) could be: 24, 22 and 19 for MICs of 1, 2 and 4 mg/L, respectively.

Conclusion: This study, performed on 1554 strains, confirms the potent *in vitro* activity of DOR against clinically relevant pathogens, in particular *P.aeruginosa*, *Acinetobacter*, *Enterobacteriaceae*, MSSA, MSCoNS and respiratory pathogens.

459/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

In vitro* antibacterial activity of a new Bêta-lactam: Doripenem (DOR) against *Haemophilus Influenzae

C. Lascols[1], C.J. Soussy[1], H. Dabernat[2]
[1]*Henri Mondor Hospital, Créteil* [2]*Purpan Hospital, Toulouse, France*

Background: The aim of the study was to determine the *in vitro* activity of DOR, a new carbapenem, against genetically characterized strains of *Haemophilus influenzae* and to propose zone diameter breakpoints for clinical categorization according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) MIC breakpoints when they are available.

Methods: A total of 150 strains of *H. influenzae* were surveyed: 52 of them were ß-lactamase negative (BLNAS), 45 were ß-lactamase negative ampicillin-resistant (BLNAR), 49 were ß-lactamase positive (BLPAR), and four displayed both resistance mechanisms (BLPACR). MICs were determined by broth microdilution using Haemophilus Test Medium (HTM) broth. Disk diffusion, using 10-µg DOR disks, was performed according to the recommendations of the Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Results:

Resistance class (No strains)	**Doripenem**		
H. influenzae	**Range**	**MIC50 (mg/L)**	**MIC90 (mg/L)**
BLNAS (52)	≤ 0.008-0.25	0.12	0.25
BLPAR (49)	0.03-0.5	0.12	0.12
BLNAR (45)	0.12-1	0.5	1
BLPACR (4)	0.25-0.5	nd	nd

DOR have excellent activity against *H. influenzae*, in particular against BLNAS and BLPAR strains. Indeed, no significant change in MIC_{50} and MIC_{90} was observed for strains with or without ß-lactamase production. Compared to the 51 BLNAS, BLNAR isolates showed 4 to 8-fold increases of MIC values. Zone diameter breakpoints were determined according to the regression curve.

Conclusion: This study confirms the excellent activity of DOR against *H. influenzae* regardless of ß-lactamase production and makes this new antimicrobial a very promising drug for treatment of respiratory tract infections. According to the regression curve, zone diameter breakpoints (mm) for doripenem could be 23, 21 and 19 for MICs (mg/L) of 1, 2 and 4, respectively for *Haemophilus*.

460/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Sensibilité aux quinolones des entérobactéries isolées d'infections urinaires au CHU de Monastir

H. Ben Abdallah, O. Sohnoun, A. El Argoubi, Y. Kadri, S. Noomen, M. Mastouri
Laboratoire de Microbiologie, CHU Fattouma Bourguiba de Monastir, Monastir, Tunisie

Introduction : L'acide nalidixique, chef de file des quinolones classiques, a été longtemps indiqué dans le traitement des infections urinaires puis remplacé par les fluoroquinolones. Ces dernières sont plus actives mais posent un problème d'émergence et d'augmentation de la prévalence des résistances acquises particulièrement chez les entérobactéries.

L'objectif de ce travail est d'évaluer la sensibilité à l'acide nalidixique et aux fluoroquinolones les plus souvent prescrites dans les infections urinaires dans la région de Monastir durant les huit dernières années.

Materiel et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective portant sur la période allant du 1er Janvier 2000 au 30 Novembre 2007, période au cours de laquelle nous avons collecté toutes les souches isolées d'urines provenant de malades hospitalisés ou consultants dans les différents services de l'hôpital Fattouma Bourguiba de Monastir–Tunisie et des structures sanitaires de la région. L'identification des bactéries a été réalisée selon les caractères bactériologiques usuels. L'étude de la sensibilité aux quinolones a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Résultats : Au total, 16207 souches d'entérobactéries ont été isolées de prélèvements urinaires (68% des isolats). Les pourcentages d'entérobactéries résistantes à l'acide nalidixique, à l'ofloxacine et à la ciprofloxacine ont été respectivement de 22%, de 17% et de 12%. Parmi les entérobactéries résistantes à l'acide nalidixique, 35% des souches sont restées sensibles à la ciprofloxacine et 23,2% à l'ofloxacine.

Conclusion : Une surveillance régulière de la résistance des entérobactéries aux quinolones est ainsi nécessaire afin d'adapter les schémas thérapeutiques et d'assurer la réussite du traitement.

461/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Activité *in vitro* des antibiotiques vis-à-vis de souches de *Streptococcus pneumoniae* (SP) isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine en 2007/2008. Analyses globale et régionale

H.B. Drugeon[3], E. Leput[2], et le Groupe d'étude[1]
[1]Services de bactériologie hospitaliers, Groupe d'étude [2]Laboratoire de bactériologie, Drug R&D, Angers Technopole, Angers [3]Service de Bactériologie, Faculté de médecine, Nantes, France

Objet : Le réseau de suivi des résistances du pneumocoque a pour objectif d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques usuellement prescrits, de souches de SP isolées au cours d'infections respiratoires de l'adulte dans 41 laboratoires de microbiologie hospitaliers français répartis en 6 régions administratives. Nous rapportons ici les données 2007/2008.

Méthode : Les CMI des souches ont été réalisées par un laboratoire central (Drug R&D, Beaucouzé), selon la technique de microdilution aux antibiotiques suivants : pénicilline (PEN), érythromycine (ERY), amoxicilline (AMX), céfuroxime (CXM), clarithromycine (CLA), télithromycine (TEL), pristinamycine (PRI) et lévofloxacine (LVX). Les taux de souches sensibles (S), intermédiaires (I) et résistantes (R) ont été calculés selon les recommandations 2008 du CA-SFM.

Résultats : Parmi les 1025 souches isolées d'octobre 2007 à mars 2008, 41.4% sont de sensibilité diminuée à PEN dont 22.7% sont résistantes et 43.3% sont non sensibles à ERY. Concernant l'amoxicilline, 2.5% des souches sont résistantes (CMI >2mg/L). La co-résistance PEN et ERY est présente dans 35.2% des souches.

Les pourcentages de S/R nationaux et régionaux sont les suivants:

	PEN	AMX	CFM	ERY	CLA	TEL	PRI	LVX
Total (n=1025)	58.6/22.7	72.8/2.5	65.2/32.9	58.3/38.4	59.6/35.5	96.1/0.5	99.8/0	99.5/0.5
Nord-Est (n=177)	65.5/18.6	76.8/3.4	72.3/28	62.7/35	64.4/34.5	97.7/0	100/0	100/0
IDF (n=218)	55.5/24.8	68.3/2.3	61.9/37.2	54.6/40.8	55.5/37.6	95.9/0.9	100/0	98.8/1.2
Nord-Ouest (n=172)	54.1/27.9	69.8/1.7	62.8/35.5	56.4/38.4	58.7/34.3	97.1/0	100/0	98.8/1.2
Centre (n=133)	53.4/21.1	71.4/2.3	60.9/36.8	56.4/39.8	60.2/35.3	97/0	100/0	99.2/08
Sud-Ouest (n=188)	58/20.7	77.1/2.7	64.4/32.4	55.3/43.6	54.8/39.9	94.7/0.5	99.5/0	99.5/0.5
Sud-Est (n=137)	66.4/22.6	73.7/2.9	69.3/28.5	67.2/30.7	67.2/29.2	94.2/2.2	99.3/0	100/0

Conclusion : Les niveaux de résistance à la PEN (I+R) et aux macrolides diminuent légèrement mais restent élevés en France. LVX, PRI et TEL conservent une bonne activité sur SP en 2007/08.

462/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Activité *in vitro* de la tigécycline sur les entérobactéries multirésistantes, *Stenotrophomonas maltophilia* et *Acinetobacter spp.* isolés à l'Hôpital de la Croix-Rousse à Lyon

O. Raulin, F. Laurent, D. Fournier, E. Chanard, T. Pierre, C. Roure-Sobas, H. Salord, S. Tigaud
Laboratoire de bactériologie, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

Objectif : Le large spectre d'activité de la tigécycline lui confère une activité antibactérienne potentielle vis-à-vis de la plupart des bactéries multirésistantes (BMR) isolées à l'hôpital. Cette étude avait pour but de déterminer le niveau de résistance à cette molécule des BMR les plus fréquemment isolées (*Staphylococcus aureus* exclus) au laboratoire de bactériologie de l'Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon.

Méthode : La concentration minimale inhibitrice (CMI) de la tigécycline a été déterminée par la technique E-test® i) sur l'ensemble des entérobactéries résistantes à au moins une céphalosporine de 3ème génération (C3G) isolées au laboratoire sur la période de juin à septembre 2008 ; ii) sur un panel représentatif de *Stenotrophomonas maltophilia* et d'*Acinetobacter spp.* isolés sur la période 2007-2008. Les CMI ont été interprétées selon les recommandations du CA-SFM 2008.

Résultats :

		CMI 50 (mg/L)	CMI 90 (mg/L)	Nb S (%)	Nb I (%)	Nb R (%)
Entérobactéries	n = 61	1	3	34 (56)	16 (26)	11 (18)
BLSE	n = 30	1	3	15 (50)	9 (30)	6 (20)
HRcase	n = 31	1	3	19 (61)	7 (23)	5 (16)
E.coli	n = 23	0,75	1	21 (91)	2 (9)	0
K. pneumoniae	n = 10	2	4	1 (10)	4 (40)	5 (50)
E.cloacae	n = 11	1,5	24	1 (9)	6 (55)	4 (36)
S. maltophilia	n = 34	1,5	6	1(3)	5 (15)	28 (82)
Acinetobacter spp.	n = 8	1	12	1 (12,5)	1 (12,5)	

Conclusion : La tigécycline montre une bonne activité *in vitro* vis-à-vis des entérobactéries résistantes aux C3G isolées au sein de l'Hôpital de la Croix-Rousse, notamment vis-à-vis des *Escherichia coli* testés quel que soit leur mécanisme de résistance (hypercase ou BLSE). Les S. *maltophilia* et les *Acinetobacter spp.* apparaissent peu sensibles si l'on considère les concentrations critiques actuelles du CA-SFM.

La tigécycline apparaît comme une alternative thérapeutique possible dont il est important de tester la sensibilité lors d'infections impliquant des BMR.

463/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Activité *in vitro* de la daptomycine vis-à-vis de souches cliniques isolées de plaies du pied chez le diabétique

J.P. Lavigne[3-1], D. Laouini[3], N. Bouziges[3-1], J.L. Richard[2], A. Sotto[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Maladies Métaboliques et Endocriniennes, CHU Carémeau [3]ESPRI 26, Inserm, Nîmes, France

Objet de l'étude : Evaluer la sensibilité (S) *in vitro* de la daptomycine (DAP) vis à vis de bactéries isolées d'infections de plaies du pied chez des diabétiques.

Méthodes : Des patients diabétiques de type 1 et 2 ayant une plaie infectée du pied grades 2 à 4 (consensus de l'IWGDF 2003) ont été inclus du 1/01/06 au 30/08/07. Les CMI de la DAP et des principaux antibiotiques actifs ont été évaluées par E-tests et microdilutions selon les recommandations du CLSI et du CA-SFM vis à vis de cocci à Gram positif isolés à partir d'un prélèvement local de la plaie.

Résultats : 200 souches ont été étudiées : 130 *S. aureus* (dont 50 SARM), 20 staphylocoques à coagulase négative, 25 *Enterococcus* spp. et 25 streptocoques beta-hémolytiques. Vis à vis de la DAP : 99,2% de *S. aureus* (n = 129) étaient sensibles (S) avec des CMI variant de 0.032-2 µg/ml. Seule une souche de SARM était résistance (CMI 2 µg/ml). Tous les streptocoques (CMI 0,032-0,25 µg/ml), les entérocoques (CMI 0,5-2 µg/ml) et les staphylocoques à coagulase négative (CMI 0,12-1 µg/ml) étaient S. Parmi les autres antibiotiques, *S. aureus* étaient S aux glycopeptides (100%) et cotrimoxazole (95,4%) et les entérocoques aux glycopeptides (100%), à l'amoxicilline (96%) et à la pristinamycine (64%). Les staphylocoques à coagulase négative étaient S aux glycopeptides (100%) et à la gentamycine (85%).

Conclusion : Par son action sur les cocci à Gram +, bactéries les plus fréquemment isolées au cours d'infections du pied chez le diabétique, la DAP représente dans l'avenir une alternative thérapeutique dans les infections de la peau et des tissus mous dans ces situations.

464/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Comparative assessment of daptomycin and vancomycin efficacy with or without rifampin in experimental methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* osteomyelitis in rabbits

M. Lefebvre, C. Jacqueline, J. Caillon, G. Amador, V. Le Mabecque, A.F. Miègeville, G. Potel, N. Asseray
EA 3826, UPRES, Nantes, France

Background: Vancomycin (VA) remains the first-line therapy of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) osteomyelitis despite the slow bactericidal activity and loss of susceptibility to MRSA strains. Daptomycin (DAP) new lipopeptide exhibits highly bactericidal activity against MRSA. DAP showed similar efficacy to VA in previous experimental osteomyelitis studies, but has not been evaluated in combination with rifampin (RA).

Methods: Experimental osteomyelitis was induced by femoral trepanation and inoculation of 10^9 CFU MRSA in knee joint. At day 3, surgical debridement/lavage was performed. Rabbits were then randomized to receive no treatment, VA (constant IV infusion to reach a 20xMIC trough level), VA plus RA (intramuscular injection of 20 mg/kg/12h), DAP (simulating human-equivalent dose of 6 mg/kg/24h), and DAP plus RA for 4 days. At day 3 and 7, surviving bacteria in bone, bone marrow, and joint fluid were counted. The results are expressed as the mean difference ± standard deviation (SD) $\log_{10}$ CFU per gram of infected tissues between day 3 and day 7.

Results: Efficacy of the 5 regimens are detailed in table. Mutants resistant to RA were detected in 1 of 8 rabbits treated with VA plus RA versus 0 of 6 rabbits treated with DAP plus RA.

Treatment	Mean difference ± SD $\log_{10}$ CFU/g of tissue (day 7 – day 3)		
	Bone	Bone Marrow	Joint Fluid
Control	0.11±0.80	0.20±0.59	0.10±0.60
VA	-0.75±0.81	-0.61±1.50	-0.72±1.39
DAP	-0.60±1.15	-0.75±0.71	-1.02±1.13
VA+RA	-3.85±1.83[ab]	-4.24±1.98[ab]	-2.46±1.34[ac]
DAP+RA	-4.79±0.35[ab]	-5.33±0.56[ab]	-4.20±1.13[abd]

[a] p<0.01 versus untreated controls; [b] p< 0.001, and [c] p<0.05 versus corresponding monotherapy; [d] p<0.05 versus VA+RA.

Conclusion: (1) VA and DAP alone were ineffective in treating osteomyelitis but combinations were significantly more effective than corresponding monotherapies. (2) DAP plus RA was more active than VA plus RA in reducing bacterial load in JF and could prevent *S. aureus* from developing resistance to RA. (3) Combination of DAP plus RA could be a useful alternative to non optimal-VA-based therapy to treat MRSA osteomyelitis.

465/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Efficacité et tolérance du linézolide *versus* vancomycine dans le traitement des infections compliquées de la peau et des tissus mous dues au SARM

K.M.M. Itani[2], J. Weigelt[3], D.L. Stevens[1], M.S. Dryden[5], H. Bhattacharyya[4], M. Kunkel[4], A. Baruch[4]
[1]Boise VA Medical Center, Boise [2]VA Boston Healthcare System, Boston [3]Medical College of Wisconsin, Milwaukee [4]Pfizer Inc, New York, Etats-Unis [5]Royal Hampshire County Hospital, Winchester, Royaume-Uni

Objet de l'étude : Etude randomisée, en ouvert, versus comparateur, multicentrique, dans le traitement des infections compliquées de la peau et des tissus mous (ICPTM), documentées à SARM.

Méthodes : 1052 patients âgés d'au moins 18 ans, dont 16% en Europe et 61% recrutés aux Etats-Unis, avec des ICPTM ont été randomisés pour recevoir soit linézolide (LNZ) 600mg IV/PO q12, ou vancomycine (VAN) 15mg/kg IV q12, ajustée à la ClCr, pendant 7 à 14 jours; 640 ont été documentés à SARM. Aztréonam et métronidazole ont été associés si besoin. Le critère primaire d'évaluation était l'efficacité clinique en fin d'étude (EOS, 7-10 j après dernière prise), chez les patients remplissant les critères d'inclusion/exclusion (per protocol PP). Les critères secondaires incluaient le succès clinique en fin de traitement (EOT), l'efficacité microbiologique à l'EOS et l'EOT, en les analysant dans la population en intention de traiter modifiée (mITT). La non-infériorité était évaluée par un IC95 bilatéral pour la différence dans le taux de succès à l'EOS (delta = 10%).

Résultats obtenus :

	LNZ N (%)	VAN N (%)	*P*	IC95
Succès clinique EOT Sujets	246 (100)	227 (100)		
Success	224 (91.1)	199 (87.7)		
Echec	22 (8.4)	28 (12.3)	0.231	(–0.022, 0.090)
EOS Sujets	232 (100)	215 (100)	0.321	(–0.036, 0.109)
Succès	193 (83.2)	171 (79.5)		
Echec	39 (16.8)	44 (20.5)		
Succès µbiologique EOT Sujets	246 (100)	228 (100)		
Succès	211 (85.8)	158 (69.3)		
Echec	35 (14.2)	70 (30.7)	0.000	(0.091, 0.239)
EOS Sujets	234 (100)	215 (100)	0.160	(–0.024, 0.143)
Succès	174 (74.4)	147 (68.4)		
Echec	60 (25.6)	68 (31.6)		

Il n'y a pas eu de différence majeure entre les régions concernant le critère d'efficacité. Les 3 effets indésirables lies aux traitements les plus fréquents étaient: gastro-intestinaux (65 LNZ [12.1%], 23 VAN [4.5%]), infection/infestation (26 LNZ [4.8%], 10 VAN [1.9%]), et cutanées/sous-cutanées (10 LNZ [1.9%], 35 VAN [6.8%]). 18 décès sont survenus: 11 LNZ (2.0%), 7 VAN (1.4%), aucun attribuable aux traitements.

Conclusion : LNZ est aussi efficace que VAN pour le traitement des ICPTM documentés à SARM, avec un rapport bénéfice risque positif.

466/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evolution de la résistance à la ciprofloxacine des souches d'*E.coli* isolées de prélèvements cliniques au laboratoire du CH de Dourdan

O. Gallon[3], C. Hajjar[2], S. Rouvière[2], X. Palette[1], A. Sarran[1], P. Pina[1]
[1]Biologie-Hygiène [2]Gériatrie [3]Pharmacie, CH de Dourdan, Dourdan, France

Introduction : Les fluoroquinolones sont des antibiotiques majeurs dans l'arsenal thérapeutique des infections bactériennes, notamment à Entérobactéries. On constate une diminution de la sensibilité de ces bactéries à cette famille, parallèlement à l'émergence de souches résistantes aux céphalosporines de 3ème génération.

Objectif : Mesurer l'évolution des résistances aux fluoroquinolones et aux C3G des E.coli.

Matériel et méthodes : Nous avons mesuré l'évolution de la sensibilité à la ciprofloxacine des E.coli isolés au laboratoire du C.H. de Dourdan. Ces souches provenaient de prélèvements à visée diagnostique de patients vus en consultation externe, aux urgences ou hospitalisés en unité de soins dans la période du 01/01/1996 au 30/06/2008. Nous avons comparé l'évolution de la sensibilité à la ciprofloxacine en fonction de l'origine des patients et mesuré la consommation des fluoroquinolones dans cette période à l'hôpital. La corésistance à la ciprofloxacine et aux C3G a été étudiée.

Résultats : 8516 souches ont été étudiées, 4149 de patients vus aux urgences ou en consultation externe, 4367 de patients hospitalisés. La sensibilité à la ciprofloxacine décroît de 1996 (96% pour les hospitalisés, 99% pour les urgences et les consultations externes) à 2008 (75% pour les hospitalisés, 94% pour les urgences et les consultations externes). La diminution, plus nette chez les patients hospitalisés, est majeure chez les patients en soins de suite et en soins de longue durée (89% en 1996 versus 46% en 2008) comparée à ceux de court séjour (98% en 1996 versus 89% en 2008). Dans la même période, la consommation en fluoroquinolone est restée stable dans ces secteurs d'activité.

Concernant la corésistance, la probabilité qu'une souche soit sensible aux C3G passe de 99% si elle est sensible à la ciprofloxacine à 84% si elle est intermédiaire ou résistante. Inversement, la probabilité qu'une souche soit sensible à la ciprofloxacine passe de 87% si elle est sensible aux C3G à 25% si elle est intermédiaire ou résistante.

Discussion - conclusion : L'évolution de la résistance aux fluoroquinolones est un phénomène préoccupant qui mérite d'être surveillé. Ce problème est majoré par celui de la corésistance aux C3G qui rend le choix d'une antibiothérapie probabiliste difficile.

467/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de l'activité *in vitro* des antibiotiques vis-à-vis de différentes souches de *Francisella* sp (méthode CLSI)

B. Gestin, M. Maurin
CNR Francisella, Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble, Université Joseph Fourier, Grenoble, France

F. tularensis subsp tularensis, sous-espèce limitée à l'Amérique du Nord, et F. tularensis subsp holarctica, sous-espèce présente dans tout l'hémisphère nord, sont les deux agents responsables de la tularémie. F. tularensis subsp novicida et F. philomiragia, sont plus rarement responsable d'infections opportunistes sur terrains débilités. Certains aminosides (streptomycine, gentamicine), les tétracyclines et les fluoroquinolones sont les antibiotiques de choix dans le traitement de la tularémie, mais de maniement parfois difficile chez l'enfant et la femme enceinte. Les nouveaux macrolides, notamment les kétolides, pourraient être une alternative pour ces catégories de patients. L'évaluation de la sensibilité des Francisella aux différents antibiotiques étant rarement réalisée en routine, les profils de sensibilité des souches isolées en France sont mal connus.

L'objectif de ce travail était de caractériser les profils de sensibilité aux antibiotiques de différentes souches de F. tularensis subsp holarctica d'origine animale ou clinique, identifiées au CNR des Francisella mais aussi de souches de référence, par la méthode en milieu liquide récemment validée par le Clinical and Laboratory Standard Institute aux Etats-Unis. Nous avons testé l'activité de 18 antibiotiques : béta-lactamines, aminosides, cyclines, cotrimoxazole, ciprofloxacine, rifampicine, macrolides dont l'érythromycine et la

télithromycine.

Toutes les souches testées sont sensibles aux différents traitements actuellement préconisés. Une relative sensibilité à l'érythromycine est retrouvée chez l'ensemble des souches testées; il s'agit donc du biovar I de la sous-espèce holarctica. On observe une hétérogénéité de sensibilité parmi les macrolides et apparentés en fonction des molécules, la télithromycine étant la molécule la plus active.

En conclusion, les antibiotiques les plus actifs in vitro sont la ciprofloxacine, la gentamicine, la doxycycline, la rifampicine et la télithromycine. Aucune résistance acquise n'a été détecté chez les différentes souches étudiées. Dans le contexte actuel du bioterrorisme il est nécessaire de suivre la sensibilité des souches isolées afin de détecter l'apparition de résistance.

468/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Activité *in vitro* de NXL104 sur CTX-M-15 et KPC-2 : un nouvel inhibiteur des Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)

M.C. Péchereau, M. Claudon, M. Black, P. Levasseur, A.M. Girard, J.M. Bruneau, C. Miossec, T. Stachyra
Biologie-Pharmacologie, Novexel SA, Romainville, France

Le composé NXL104, actuellement en développement clinique, est issu d'une nouvelle série chimique distincte des beta-lactamines ; il inhibe les beta-lactamases de classe A et de classe C. NXL104 n'a pas d'activité antibactérienne intrinsèque, mais, il protège efficacement les beta-lactamines de l'hydrolyse par les beta-lactamases dans des souches productrices d'enzymes de classe A ou de classe C.

Objectif : Evaluer l'activité *in vitro* du NXL104 sur les enzymes purifiées CTX-M-15 et KPC-2. Déterminer l'activité antibactérienne de l'association ceftazidime/NXL104 vis à vis de souches exprimant ces 2 enzymes.

Méthodes : Détermination de l'inhibition des enzymes CTX-M-15 et KPC-2 purifiées par mesure de l'IC_{50} (substrat nitrocéfine) par NXL104, acide clavulanique (CLA) et tazobactame (TAZ). Mesure des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour évaluer la sensibilité d'isolats cliniques d'entérobacteries (9 souches KPC et 10 souches CTX-M) à différentes beta-lactamines et à l'association ceftazidime/NXL104.

Résultats : NXL104 a une excellente activité inhibitrice sur les 2 enzymes purifiées CTX-M-15 et KPC-2 (IC_{50} de l'ordre du nM). CLA et TAZ sont également actifs sur CTX-M-15 avec des valeurs d'IC_{50} équivalentes à celle du NXL104. En revanche sur KPC-2, les IC_{50} de CLA et TAZ sont bien plus élevées que celle du NXL104.

Les souches productrices d'enzymes CTX-M sont résistantes aux céphalosporines testées et à la pipéracilline, alors que l'association ceftazidime/NXL104 est très active (CMI de 0.25 à 4 µg/mL). Les souches productrices d'enzymes KPC sont résistantes à toutes les beta-lactamines testées, mais sont sensibles à la combinaison ceftazidime/NXL104 (CMI de 0.25 à 8 µg/mL).

Conclusion : Cette étude confirme la capacité du NXL104 à inhiber puissamment différentes familles de BLSE de classe A, protégeant ainsi la ceftazidime de l'hydrolyse dans les entérobactéries. C'est le seul composé actif à la fois contre les beta-lactamases de classe A et de classe C, et le seul inhibiteur des carbapénèmases KPC.

469/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Bénéfices de l'association *in vitro* du para-guanidinoéthylcalix[4]arène avec d'autres antibiotiques

M. Grare[2], S. Fontanay[2], J.B. Regnouf-de-Vains[1], H. Massimba Dibama[1], C. Finance[2], R.E. Duval[2]
[1]Chimie Thérapeutique [2]Microbiologie Moléculaire, SRSMC Nancy-Université, CNRS, Nancy, France

Objet de l'étude : Du fait de la dissémination des bactéries multirésistantes, utiliser les antibiotiques en association devient indispensable, afin d'être efficace rapidement, durablement, et d'éviter la sélection de mutants résistants. L'objectif de notre étude est d'évaluer le bénéfice de l'association d'un nouvel antibactérien, le para-guanidinoéthylcalix[4]arène (Cx1), avec d'autres antibiotiques, en terme de synergie, ou de restauration de l'activité des antibiotiques pour les isolats résistants.

Méthodes : L'évaluation des interactions in vitro a été réalisée par la technique de l'échiquier, en microplaque de 96 puits, en bouillon Mueller Hinton. Chaque plaque comprend une série de 64 combinaisons antibiotique/Cx1 (concentrations 0,125 à 16 x CMI). Cette évaluation a été réalisée sur 3 souches de référence (*E.coli* ATCC 25922, *S. aureus* ATCC 29213, *P.aeruginosa* ATCC 27853) et 9 isolats cliniques présentant divers profils de résistance aux antibiotiques.

Résultats : Concernant les 4 souches de *E.coli*, nous avons obtenu une synergie avec la gentamicine et la rifampicine, ainsi qu'une restauration de l'activité du céfotaxime pour une souche porteuse de BLSE. Pour *S. aureus*, une synergie a été observée avec la tigécycline, la fosfomycine, l'acide fusidique, et la gentamicine, ainsi qu'une restauration de l'activité de la pénicilline G et de l'imipénème pour deux souches de SARM. Enfin, pour *P.aeruginosa*, une synergie a été obtenue avec la rifampicine et la colimycine.

Conclusion : Les antibiotiques pour lesquels nous avons obtenu une synergie agissent au niveau de la paroi, de la synthèse des protéines ou des acides nucléiques. Notre hypothèse est que le Cx1, composé polycationique, agirait au niveau de la paroi bactérienne. La pénétration des antibiotiques serait plus facile, et l'accès à leur cible intracellulaire plus rapide. Cela est en cours d'évaluation. L'étude comparative par technique « time-kill curve » est en cours.

470/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Cinétique d'action du para-guanidinoéthylcalix[4]arène, et évolution de la perméabilité membranaire

M. Grare[1], S. Fontanay[1], H. Massimba Dibama[2], J.B. Regnouf-de-Vains[2], C. Finance[1], R.E. Duval[1]
[1]Microbiologie Moléculaire, SRSMC Nancy-Université, CNRS [2]Chimie Thérapeutique, SRSMC Nancy-Université, CNRS, Nancy, Nancy, France

Objet de l'étude : L'émergence de bactéries multirésistantes a mis en évidence la nécessité toujours plus pressante de découvrir de nouveaux antibactériens. Dans de précédentes études, nous avons montré l'intérêt d'un nouveau composé, le para-guanidinoéthylcalix[4]arène (Cx1) : large spectre (Gram + et -), absence de toxicité sur cellules eucaryotes, absence de génération de mutants résistants, synergie avec certains antibiotiques. L'objectif de cette étude est d'évaluer la cinétique d'action du Cx1 sur diverses souches bactériennes, tout en suivant l'évolution de l'altération de la perméabilité membranaire.

Méthodes : Les courbes de cinétique ont été réalisées en milieu Mueller Hinton, dans un incubateur agité (35°C, 150 rpm), sur 3 souches : E.coli ATCC 25922, S. aureus ATCC 29213 & P.aeruginosa ATCC 27853, ainsi que divers isolats cliniques. Chaque série comprend un témoin non traité, et des concentrations en Cx1 allant de 0,5 à 8 fois la CMI. Les prélèvements sont effectués à 0/2/4/8/12/24/48h ; après dilution en eau distillée stérile, les dilutions 10-3 à 10-8 sont ensemencées en double sur gélose Mueller Hinton. Les dénombrements sont effectués après 24 h d'incubation à 35°C. A chaque temps, les bactéries prélevées sont marquées par deux fluorochromes, SYTO-9 et IP (kit LIVE-DEAD BaclightÒ, Invitrogen), et observées au microscope à fluorescence.

Résultats : Pour les 3 souches de référence testées, une diminution > 3 log est obtenu pour pour les concentrations correspondant à 2x ou 4x CMI, avec une action rapide, dès 2h d'incubation. L'effet persiste jusqu'à 24h et même au-delà (48h) (effet bactéricide). En deçà de ces concentrations, le Cx1 entraîne un ralentissement transitoire de la croissance : inhibition jusqu'à 4, 8 ou 12 h, puis reprise de la croissance (effet bactériostatique). Dès 2h d'incubation, E.coli est marqué par les deux fluorochromes, SYTO-9 et IP. Cela témoigne d'une altération rapide de la perméabilité membranaire en présence de Cx1. Pour P.aeruginosa, seul un marquage SYTO-9 est obtenu.

Conclusion : Le Cx1 semble donc avoir au delà de la CMI une action bactéricide rapide (dès 2h), et prolongée (au delà de 24h) ; l'altération de la perméabilité membranaire semble quasi-immédiate, et nous oriente vers une cible pariétale de notre molécule.

471/75A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Longueur de la chaîne alkyl et activité antibactérienne/cytotoxicité chez une famille de composés bis-amidino-alkanes

M. Grare[2], A.S. Michel[2], A. Lesnard[1], J.C. Lancelot[1], S. Rault[1], C. Finance[2], R.E. Duval[2]
[1]UFR Sciences Pharmaceutiques, CERMN, Caen [2]Microbiologie moléculaire, SRSMC, Nancy Université, CNRS, Nancy, France

Objet de l'étude : Au sein des antibiotiques et surtout des antiseptiques, les molécules cationiques occupent une place importante ; l'idée à l'origine de leur mécanisme d'action étant une interaction entre charges positives et charge globalement négative de la paroi bactérienne. Diverses structures existent, parmi lesquelles, l'hexamidine et la chlorhexidine, avec comme point commun une chaîne alkyl centrale à 6 carbones. Les objectifs de notre étude sont d'évaluer l'influence de la longueur de la chaîne alkyl à la fois sur l'activité antibactérienne, et sur la toxicité sur cellules eucaryotes d'une famille de composés bis-amidino-alkanes, dérivés de l'hexamidine.

Méthodes : Les CMI ont été déterminées sur 5 souches de référence (*E.coli* ATCC 25922, *S.aureus* ATCC 25923 & ATCC 29213, *E. faecalis* ATCC 29212 et *P.aeruginosa* ATCC 27853). L'effet sur cellules eucaryotes (HaCaT), a été aussi évalué, par un test de viabilité MTT et un test de cytotoxicité Rouge Neutre.

Résultats : Pour les molécules possédant une chaîne alkyl courte (n=2 à 5), les CMI s'échelonnent de 32 à >256 mg/L selon les souches, avec une activité moindre sur *E. faecalis* et *P.aeruginosa*. De meilleures activités sont obtenues lorsque la longueur de la chaîne augmente, avec une activité optimale pour n=8 (CMI 2-4 mg/L pour *E.coli* et *E. faecalis,* 16 pour *P.aeruginosa* et <1 mg/L pour les 2 souches de *S.aureus*). Au delà de n=8, l'activité diminue sensiblement. Concernant la toxicité sur cellules eucaryotes, elle croît avec la longueur de la chaîne. Déjà importante pour les composés n=2 à 6, la toxicité est bien supérieure à l'activité pour les composés n > 6 (IC_{50} et CC_{50} 4 à 8 mg/L dès 24 h d'exposition). La toxicité augmente avec le temps d'exposition, quelque soit la molécule considérée. Les index de sélectivité sont faibles pour toutes les molécules.

Conclusion : La longueur de la chaîne alkyl joue non seulement sur l'activité antibactérienne mais aussi sur la toxicité. Une étude a déjà été menée une famille de composés bis-guanidino-alkanes (RICAI 2007, résumé 498/71). L'ensemble de ces données nous permet de conclure à l'importance de la longueur de la chaîne mais aussi du groupement amidine, dans les relations activité/toxicité.

472/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Comparaison des E-test® et MICE® pour la détermination de la concentration minimale inhibitrice de bêta-lactamines vi-à-vis de *Streptococcus pneumoniae* par les Observatoires Régionaux du Pneumocoque

A. Gravet[19], C. Grélaud[1], G. Camdessoucens-Miehe[19], R. Baraduc[4], H. Bonnabau[1], M. Brun[9], H. Chardon[17], J. Croizé[3], T. Fosse[8], B. Grignon[16], F. Hamdad[15], M. Kempf[14], J.L. Koeck[2], P. Lanotte[6], J. Maugein[2], A. Péchinot[5], J. Raymond[13], A. Ros[18], M. Roussel-Delvallez[11], C. Segonds[10], M. Vergnaud[12], V. Vernet-Garnier[7], M.C. Ploy[1], E. Varon[20]
[1]ORP Limousin, CHU de Limoges [2]ORP Aquitaine [3]ORP Arc Alpin [4]ORP Auvergne [5]ORP Bourgogne [6]ORP Centre [7]ORP Champagne Ardenne [8]ORP Côte d'Azur [9]ORP Languedoc Roussillon [10]ORP Midi-Pyrénées [11]ORP Nord-Pas-de-Calais [12]ORP Normandie [13]ORP Paris-Ouest [14]ORP Pays de Loire [15]ORP Picardie [16]ORP Poitou-Charentes [17]ORP Provence [18]ORP Rhône Forez [19]Laboratoire de Microbiologie, CH de Mulhouse - ORP Alsace, Mulhouse [20]CNR des Pneumocoques, Hôpital G. Pompidou, Paris, France

Les Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP) ont comparé les performances des dispositifs MICE® (Oxoid) et avec celles des E-test® (AES) pour la détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de pénicilline (PEN), amoxicilline (AMX) et céfotaxime (CTX) sur Streptococcus pneumoniae.

Chaque ORP a étudié, parmi les pneumocoques isolés en 2007, 17 à 18 souches catégorisées (CA-SFM) selon leurs CMI agar : 6 souches PEN S et 12 souches de sensibilité diminuée à PEN (PEN I/R), avec PEN R ($n \leq 6$) et PEN I ($6 \leq n \leq 12$). Les souches ATCC 49619 (PEN I) et ORP 32475 (PEN R) ont été utilisées comme contrôle de qualité. Pour chaque souche, trois boîtes de gélose Mueller Hinton au sang ont été ensemencées par écouvillonnage avec un inoculum de 0,5 McF. Un dispositif E-Test® et un dispositif MICE® du même antibiotique ont été déposés sur chaque boîte. Les boites ont été incubées à 37°C pendant 18 heures en atmosphère enrichie de 5% de CO2. Les CMI ont été lues selon les recommandations des fabricants respectifs. En outre, chaque participant a rempli un questionnaire d'évaluation pratique.

Au total, 353 isolats (PEN S = 122, I = 132, R = 99) ont été étudiés par 20 ORP. Aucune erreur très majeure ou majeure n'a été relevée. Les erreurs mineures ont été observées dans 77 cas (21, 8%) pour PEN, 47 (13,3%) pour AMX et 63 (17,8%) pour CTX avec les E-Test® vs. 67 (19,0%), 46 (13,0%) et 63 (17,8%) avec les MICE®. L'erreur la plus fréquente concernait des souches PEN-R en agar, catégorisées PEN-I par l'un ou l'autre dispositif, et des souches AMX-I en agar, catégorisées AMX-S. Les E-Test® et les MICE® ont détecté respectivement 219 (94,8%) et 220 (95,2%) des souches PEN I/R, 113 (80,1%) et 116 (82,6%) des souches AMX I/R et 62 (62,0%) et 85 (85,0%) des souches CTX I/R. Pour les pneumocoques PENI/R, les CMI obtenues étaient égales à une dilution près à la CMI de référence dans 91,6% des cas pour E-Test® et 89,8% pour MICE®.

Les deux dispositifs ont des performances équivalentes pour la détermination des CMI des bêtalactamines sur pneumocoque. L'évaluation pratique a toutefois noté un avantage pour le délais de conservation et la lecture directe des valeurs de CMI pour E-test® et un avantage pour le conditionnement et la manipulation des dispositifs MICE®.

473/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Etude des souc de *Staphylococcus aureus de* bas niveau de résistance à l'oxacilline (Borsa) isolées à Sfax, Tunisie

S. Mezghani Maalej[2], F. Mahjoubi[2], M. Fines[1], R. Leclercq[1], A. Hammami[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie, CHU Caen, Caen, France [2]Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

La résistance des staphylococques à l'oxacilline est souvent due à l'acquisition d'une PLP additionnelle, PLP 2a codée par le gène *mec A.* Depuis quelques années, le test à la céfoxitine est recommandé par le CA-SFM comme marqueur de détection de cette résistance. La résistance à l'oxacilline en dehors de celle due à l'acquisition du gène *mec A* est rare. Elle est souvent de bas niveau et due à une hyperproduction de β lactamase (BORSA) ou à une modification des PLP (MODSA).

Nous rapportons dans ce travail les caractéristiques de 5 souches de *Staphylococcus aureus* résistantes de bas niveau à l'oxacilline isolées au CHU Habib Bourguiba de Sfax (Tunisie) entre 2006 et 2007.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA- SFM. La détection de la résistance à l'oxacilline a été déterminée par la mesure du diamètre de la zone d'inhibition autour des disques de céfoxitine à 30 µg incubée à 37° et d'oxacilline à 5 µg incubée a 30°. La détermination des CMI à l'oxacilline et oxacilline + acide clavulanique a été faite par méthode de dilution en milieu gélosé. La recherche de PLP 2a a été réalisée par technique d'agglutination et la recherche du gène mec A par PCR. L'étude de la clonalité des souches a été faite par électrophorèse en champ pulsé.

Les 5 souches de *Staphylococcus aureus* étudiées étaient productrices de β lactamase et résistantes de bas niveau à l'oxacilline (diamètre d'inhibition entre 17 et 20 ; CMI à l'oxacilline entre 1 et 4), mais sensibles à la céfoxitine et aux autres β lactamines. La recherche de PLP 2a et du gène *mec A* étaient négative. L'activité de l'oxaciline augmente en présence d'acide clavulanique (diamètre d'inhibition augmente d'au moins 6 mm et les CMI diminuent de plus de 4 dilutions). Ces données suggèrent qu'il s'agit de souches hyperproductrices de β lactamase (BORSA). L'électrophorèse en champ pulsé a montré la présence de 2 pulsotypes.

Les données de la littérature sur les BORSA sont limitées. Bien que l'isolement de ces souches est rare, certains ont décrit la diffusion clonale de souches BORSA dans des services de dermatologie. L'utilisation de la céfoxitine seule ne permet pas de détecter ces souches. D'où l'intérêt de maintenir l'oxacilline.

474/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Portage des enterobactéries productrices de Bêta-lactamase à spectre étendu : évaluation d'une méthode de dépistage

T. Guillard, M. Dangin, A. Charlier, V. Duval, L. Brasme, V. Vernet-Garnier, J. Madoux, O. Bajolet, C. De Champs
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Reims, UFR de Médecine, Université de Reims, Champagne-Ardennes, Reims, France

Objectif : Evaluer l'apport d'un bouillon sélectif d'enrichissement préalable à l'ensemencement d'une gélose sélective pour le dépistage des Entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE).

Matériel et Méthodes :

Méthode A : décharge des écouvillons rectaux adressés au laboratoire pour dépistage de BLSE dans un bouillon de 9 ml d'eau peptonée contenant un disque de 30µg de ceftazidime. Incubation 18 h à 37°C. Ensemencement à l'öse d'un milieu de détection des BLSE (gélose ChromID ESBL, bioMérieux France).

Méthode B : ensemencement direct de la gélose sans bouillon préalable.

Ecouvillons :

Les selles de 10 patients prises au hasard ont été contaminées artificiellement au laboratoire par des souches d'EBLSE identifiées et isolées en région Champagne Ardenne en 2004. Une suspension homogène réalisée à partir de 1g de selles dans 2 ml de sérum physiologique qui contenait 10^3 et 10^5 bactéries productrices de BLSE a été réalisée. Des écouvillons ont été inoculés et mis en culture selon chacune des 2 méthodes A et B.

Souches	Espèces	BLSE	CMI ceftazidime (µg/ml)	CMI cefotaxime (µg/ml)
EY4001	*E.coli*	CTX-M-14	0.25	3
GI4010	*E.coli*	CTX-M-61	0.38	0.098
CM4119	*E.coli*	TEM-52	2	1
TR4095	*E.coli*	CTX-M-16	12	> 32
RS4003	*P. mirabilis*	TEM-21	0.38	0.047

Résultats : Moyennes (écart-type) du nombre de colonies observées sur gélose ChromID ESBL / concentration (cfu/g) des EBLSE dans les selles

	Méthodes	A		B	
Souches	Concentrations	10^3	10^5	10^3	10^5
EY4001	*E.coli*	0 (0)	0 (0)	2 (2)	92 (63)
GI4010	*E.coli*	0 (0)	2 (6)	2 (2)	38 (31)
CM4119	*E.coli*	0 (0)	60 (71)	2 (2)	132 (49)
TR4095	*E.coli*	3 (5)	565 (200)	9 (10)	202 (110)
RS4003	*P. mirabilis*	0 (0)	0 (0)	0 (0)	0 (0)

Conclusion : L'amélioration du dépistage est un élément de réponse à l'augmentation de l'incidence des EBLSE. Cependant les bouillons contenant de la ceftazidime inhibent la croissance de certaines souches productrices de BLSE, et le seuil de 10^3 cfu/g constitue la concentration minimum détectable.

475/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de la carte AST-P551 du système VITEK2 (VK2) pour la détection de la résistance à la méticilline chez *Staphylococcus aureus*

P. Bemer, M.E. Juvin, G. Le Gargasson, S. Corvec
Bactériologie-Hygiène, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France

Objet de l'étude : Evaluer l'efficacité des tests proposés par la carte AST-P551 du VK2 (CMI de l'oxacilline et test FOX screen) pour la détection de la résistance à la méticilline chez *S. aureus*, en la comparant à celle du test céfoxitine par diffusion en gélose (FOX dif).

Méthodes : Une carte AST-P551 et un test FOX dif sont réalisés pour 2107 souches non redondantes isolées en 2007. Les résultats expertisés du VK2 et du test FOX dif sont comparés. Les tests sont répétés pour chaque souche discordante. En cas de discordance persistante, la PLP2a et/ou le gène *mecA* sont recherchés.

Résultats obtenus : 2037 souches, 1684 sensibles et 353 résistantes, sont concordantes (96.7% d'agrément). 70 souches présentent des discordances, 64 mineures (Dm, 3%), 4 majeures (DM, VK2 R et FOX dif S, 0.2%), 2 très majeures (DTM, VK2 S et FOX dif R, 0.1%).

Les 64 Dm intermédiaires en diffusion sont des souches sensibles pour 44 et résistantes pour 20 avec le système VK2 ; après résolution des discordances, 41 des 44 Dm sont concordantes sensibles (VK2 S, FOX dif S, PLP2a négative) et 3 résistantes (PLP2a et mecA positifs, VK2 R, FOX dif I ou R; les 23 Dm restantes sont résistantes par le VK2 et la PLP2a mais restent intermédiaires pour 10 d'entre elles par le test FOX dif. Les 4 DM sont résistantes après réalisation des tests complémentaires (VK2 R, FOX dif R, PLP2a positive). Des 2 DTM, la première est une souche sensible (VK2 S, FOX dif S, PLP2a négative), et la deuxième est une souche résistante (gène *mecA* présent avec PLP2a positive) qui reste sensible avec le VK2 et intermédiaire avec le test FOX dif.

Après réalisation des tests complémentaires, 2096 souches (99.5% d'agrément) sont concordantes, 1726 sensibles et 370 résistantes ; 11 souches résistantes à la méticilline restent intermédiaires en diffusion, dont 1

détectée uniquement par la recherche de la PLP2a et du gène *mecA* (DTM du VK2).

Conclusion : Il existe une très bonne concordance entre le VK2 et le test FOX par diffusion en gélose grâce notamment au test FOX screen permettant l'induction des souches de SARM hétérogènes de classes 1 et 2. Quatre souches de SARM non détectées par le VK2 présentaient des résistances associées (aminosides, fluoroquinolones) devant faire rechercher la présence de la PLP2a ou du gène *mecA*.

476/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation du Vitek2 pour la détection des différentes Bêta-lactamases à spectre élargi de type CTX-M

A. Carricajo[2], P. Farce[2], F. Latour[2], A.C. Vautrin[2], A. Ros[2], G. Aubert[1]
[1]Laboratoire d'Antibiologie [2]Laboratoire de Bactériologie, CHU Hôpital Nord, Saint-Etienne, France

Objectif : Evaluer la carte Vitek2 AST-EXN5 (bioMérieux) pour la détection de ß-lactamases à spectre élargi (BLSE) de 8 types différents de CTX-M.

Méthodes : Cent vingt deux souches non redondantes d'entérobactéries sécrétant une BLSE de type CTX-M ont été isolées, majoritairement à partir de prélèvements urinaires (65.6%), au CHU de Saint-Étienne (60 souches) et dans 10 laboratoires d'analyses médicales de la région stéphanoise (62 souches) : 113 *E.coli* (40 CTX-M15, 34 CTX-M1, 22 CTX-M14, 4 CTX-M57, 3 CTX-M2, 3 CTX-M27, 3 CTX-M32, 1 CTX-M8 et 3 souches non séquencées), 8 *Klebsiella pneumoniae* (6 CTX-M 15 et 2 CTX-M2) et 1 *Proteus vulgaris* CTX-M15. Le séquençage du gène *blaCTX-M* a été réalisé après amplification par PCR. La présence de BLSE a été recherchée avec la carte Vitek2 AST-EXN5® et 1 test de synergie réalisé sur milieu Mueller Hinton avec et sans cloxacilline (200 mg/L).

Résultats : Le test BLSE de la carte Vitek2 AST-EXN5® était positif dans 118 cas sur 122 (96.7%). Les 4 cas avec un test BLSE négatif correspondaient à 4 entérobactéries de type CTX-M15 : le *Proteus vulgaris* et 1 *E.coli* pour lesquels le test de synergie était positif et 2 *Klebsiella pneumoniae* pour lesquels le test de synergie n'était positif que si on rapprochait les disques d'antibiotiques. Par ailleurs, dans cette étude, 3 souches ont été détectées en Vitek2 résistantes aux carbapénèmes, cette résistante a été confirmée par E-Test (AB Biodisk) pour 2 d'entre elles.

Conclusion : Devant l'émergence de BLSE de type CTX-M à l'hôpital ainsi qu'en ville, il est important de bien dépister ce type de souches. Le test BLSE de la carte Vitek2 AST-EXN5® détecte correctement les entérobactéries sécrétrices de BLSE de type CTX-M dans 96.7% des cas.

477/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Apport du test GeneOhm™ StaphSR (Becton Dickinson) pour la prise en charge des patients infectés par *Staphylococcus aureus*

A. Maulard, A. Le Monnier, T. Godard, I. Masson, A. Sornet Davoust, B. Pangon
Microbiologie, CH de Versailles, Le Chesnay, France

Le traitement probabiliste des infections à *S. aureus* repose habituellement sur la vancomycine jusqu'au résultat de la sensibilité à la méticilline. Nous avons évalué l'impact de l'identification en 2 heures directement sur le prélèvement de *S. aureus* associée à la détection du gène *mecA* à l'aide du test GeneOhm™ StaphSR (GOSSR) sur le délai d'instauration d'une antibiothérapie adaptée et la mise en isolement septique du patient en cas de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM).

Matériel et méthodes : 18 prélèvements avec staphylocoques à l'examen direct chez 12 patients infectés. Ont été réalisés : GOSSR, culture avec identification et antibiogramme. Les résultats du portage de SARM ont été recueillis.

Résultats

Pt[1]	Prélèvements	Portage SARM	Résultat GOSSR	Résultat ATBg[2]	Antibiothérapie préalable	Adaptation antibiothérapie
1	Hémoculture X 2	-	SASM[3]	SASM	Pipéracilline+tazobactam	Non : décédé
2	Hémoculture	+	SASM	SARM [4]	Vancomycine (Vanco)	Déjà adapté
3	Hémoculture	-	SASM	SASM	AMC[5]+Gentamicine	Oxacilline+Gentamicine
4	Hémoculture	NR[6]	SARM	SARM	Ceftriaxone+Métronidazole	Vanco+Imipénème
5	Hémoculture	+	SARM	SARM	Vanco+Gentamicine	Déjà adapté
6	Hémoculture et Biopsies X 2	NR	SASM SASM	SASM SASM	Pipéracilline+ tazobactam+Vanco+Genta	Arrêt Vanco et poursuite de l'antibiothérapie
7	Hémoculture	NR	SARM	SARM	Pas d'antibiotique	Vancomycine
8	Hémoculture	-	SASM	SASM	Vanco+Imipénème+Genta	Vanco+Genta[7]
9	Hémoculture	NR	SASM	SASM	Pas d'antibiotique	Oxacilline+Gentamicine
10	Ostéoarticulaire	-	SASM	SASM	Amoxilline+ac.clavulanique	Oxacilline+Gentamicine
11	Ostéoarticulaire X 4	+	SARM	SARM	Vancomycine	Vancomycine
12	Hémoculture	NR	SASM	SASM	Ceftriaxone+Amikacine	Oxacilline+Ciprofloxacine

[1]patient [2]antibiogramme [3]*S. aureus* sensible à la méticilline [4]résistance confirmée par la présence du gène *mecA* [5]amoxicilline+ac. clavulanique [6]Non réalisé [7]Allergie aux bêtalactamines

Discussion : Malgré un cas discordant dont la souche est en cours d'étude, ce test a permis : d'éviter l'administration de vancomycine pour 4 patients, de mettre rapidement en isolement septique 2 patients dont le portage de SARM était inconnu et de mettre en évidence *S.aureus* dans un prélèvement ostéoarticulaire à culture négative.

Conclusion : La connaissance rapide de la sensibilité à la méticilline a permis d'optimiser l'antibiothérapie en évitant l'utilisation systématique de glycopeptides.

478/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

A comparison of broth microdilution and agar dilution methods for *In vitro* testing of ceftobiprole

C. Lascols[2], C. Moubareck[4], H.B. Drugeon[3], R. Leclercq[1], C.J. Soussy[2]
[1]Côte de Nacre Hospital, Caen [2]Henri Mondor Hospital, Créteil [3]Laennec Hospital, Nantes [4]Pasteur, CRAB, Paris, France

Background: The aim of the study was to compare the most commonly used methods for antimicrobial susceptibility testing: broth microdilution (B) and agar dilution (A) according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and to the Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) guidelines. This comparison was carried out with ceftobiprole (BPR), a novel broad-spectrum cephalosporin.

Methods: MICs of ceftobiprole were determined ten times independently by broth microdilution and by agar dilution on the same set of reference Quality Control (QC) strains in four French university hospitals: four American Type Culture Collection (ATCC) strains: *S. aureus* 29213, *E. faecalis* 29212, *E.coli* 25922, *P.aeruginosa* 27853 and four strains with various susceptibility levels to BPR: Methicillin-resistant *S. aureus* U2A1593, methicillin-susceptible *S. aureus* U2A1825, *E.coli* U2A1278 and *E.coli* U2A1764 from the French National Reference Center of Antibiotics (CRAB).

Results:

They were analyzed in terms of Essential Agreement (EA) (± 1 doubling dilution)

B/A	-3	-2	-1	Same	+1	+2	%EA
BPR	1	-	63	165	61	2	98.9

The mean MIC (0.56) of all strains for ceftobiprole was exactly the same for both methods.

Conclusions: MICs of ceftobiprole against Gram-positive and Gram-negative bacteria of various susceptibility levels appeared identical with an excellent correlation when measured by broth microdilution or agar dilution. Thus, the same MIC breakpoints can be proposed in Europe irrespectively of the method used.

479/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

A comparison of broth microdilution and agar dilution methods for *In vitro* testing of doripenem

C. Lascols[2], C. Moubareck[4], H.B. Drugeon[3], R. Leclercq[1], C.J. Soussy[2]
[1]Côte de Nacre Hospital, Caen [2]Henri Mondor Hospital, Créteil [3]Laennec Hospital, Nantes [4]Pasteur, CRAB, Paris, France

Background: The aim of the study was to compare the most commonly used methods for antimicrobial susceptibility testing: broth microdilution (B) and agar dilution (A) according to the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and to the Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) guidelines. This comparison was carried out with doripenem (DOR), a novel broad-spectrum carbapenem.

Methods: MICs of doripenem were determined ten times independently by broth microdilution and by agar dilution on the same set of reference Quality Control (QC) strains in four French university hospitals: four American Type Culture Collection (ATCC) strains: *S. aureus* 29213, *E. faecalis* 29212, *E.coli* 25922, *P.aeruginosa* 27853 and four strains with various susceptibility levels to DOR: *K. pneumoniae* U2A2189, *K. pneumoniae* U2A2190, *P.aeruginosa* U2A2320 and *P.aeruginosa* U2A2321 from the French National Reference Center of Antibiotics (CRAB).

Results:

They were analyzed in terms of Essential Agreement (EA) (± 1 doubling dilution)

B/A	-3	-2	-1	Same	+1	+2	%EA
DOR	-	2	86	132	67	5	97.6

The mean MIC of all strains for doripenem was the same for both methods: 0.29 for CLSI broth microdilution and 0.30 for CA-SFM agar dilution.

Conclusions: MICs of doripenem against Gram-positive and Gram-negative bacteria of various susceptibility levels appeared identical with an excellent correlation when measured by broth microdilution or agar dilution. Thus, the same MIC breakpoints can be proposed in Europe irrespectively of the method used.

480/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

***In Vitro* selection of strains with reduced susceptibility to daptomycin by the continuous antibiotic gradient method: A new method for studying the risk of resistant mutant selection**

H.B. Drugeon[2], E. Bigeard[1]
[1]Drug R&D, Beaucouzé [2]Bactériologie, Faculté de Médecine, Nantes, France

With Daptomycin, resistant mutants were relatively difficult to obtain in vitro but in vivo failures were observed with selection of "reduced susceptibility" strains.

Gram positive bacteria strains were studied with a new method, able to get an antibiotic continuous and logarithmic gradient. The antibiotic gradients were prepared on Mueller Hinton agar plates (12x12 cm) by applying filter paper strips containing different concentrations of antibiotic at regular intervals onto the surface of the plate. After two hours, the paper strips are removed and the plates are stocked at 4°C during a night for diffusion; the gradient was verified by using a set of 10 strains with different MIC in order to calculate the relation between the length of growth and the antibiotic concentration. Each studied strain was used at six different inocula, from 105 to 1011 CFU/mL., 600µl of inocula were spread on the gradient plates and two reference strains (at 105 CFU/mL) in order to verify the gradient. 71 strains (18 S. aureus, 15 S.epidermidis, 12 S. haemolyticus, 12 E. faecium, 13 E. faecalis) were studied against a daptomycin gradient. Because of a big inoculum effect, the high inoculum from 109 to 1011 CFU/ml cannot be used: mutant colonies overlapped by the homogenous growth. With the 108 inoculum, we selected isolated colonies (IC) in order to determine MIC with the dilution agar method by using a 1.5 fold antibiotic dilution steps. Ratio (R) MIC of IC versus MIC of parental strains were >1.5 for mutant strains. 36 strains (7 S. aureus, 7 S. epidermidis, 4 S. haemolyticus, 7 E. faecium, 11 E. faecalis) had R ≥ 2.3 (from 2.3 to 26) with a mutation frequency of 10-6-10-7. MIC vary from 1.1 to 43 mg/L. For 25 strains (3 S. aureus, 4 S. epidermidis, 7 E. faecium, 11 E. faecalis), MIC were > 4 mg/L. The risk of resistant mutant selection is high for daptomycin and this antibiotic must be used in association.

481/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Calcul et validation d'une charge discriminante pour le disque de daptomycine

H.B. Drugeon[2], E. Bigeard[1]
[1]Drug R&D, Beaucouzé [2]Bactériologie, Faculté de Médecine, Nantes, France

La daptomycine est un antibiotique dont l'activité est principalement dirigée sur les bactéries à gram positif (Staphylocoques, Entérocoques et Streptocoques). C'est un lipoglycopeptide caractérisé par un poids moléculaire élevé et la présence d'une longue chaîne lipidique greffée sur un noyau cyclique volumineux. Cette structure entraîne des difficultés de diffusion de la molécule dans la gélose. Pour ces raisons, la charge de 15µg actuellement utilisée n'est pas discriminante. En utilisant la formule de Vesterdal qui relie le Log(MIC) avec le carré du rayon une charge discriminante est calculée théoriquement puis validée par la méthode de diffusion. 168 souches ont été utilisées : 110 souches cliniques (20 S. aureus, 60 SCN, 10 E. faecalis, 10 E. faecium, 10 S. agalactiae), 55 souches mutantes de sensibilité diminué obtenues par la méthode du gradient continu d'antibiotiques et 3 souches de référence ATCC. Les CMI ont été réalisées par la méthode de dilution en gélose. Le paramètre (1/4DT) [D: constante de diffusion ; T : temps critique] a été calculé pour l'ensemble des souches en utilisant 9 charges de disque (de 0.5 à 32 µg). 1/4DT varie de 0.020 à 0.093 avec une moyenne à 0.051 soit une constante de diffusion 3 fois plus lente que celles des bêta-lactamines et des fluoroquinolones. Après simulation, les charges les plus discriminantes sont comprises entre 4 et 8 µg. Le calcul de la charge a été réalisé en comparant sur l'ensemble des souches, des disques avec 4, 5, 6, 7, et 8 µg de daptomycine associée ou non à 0.1 et 1% de Brij 35. La charge à 4 µg avec 0.1% de Brij 35 présente les pourcentages de concordance les plus élevés en considérant S >11 mm et R ≤9 mm pour des MIC respectivement S ≤ 2mg/L et R > 4mg/L.

482/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Typage par MLST de souches de *Escherichia coli* hyperproductrices de céphalosporinase chromosomique AmpC

A. Guillouzouic[2-3], N. Caroff[2-3], S. Dauvergne[3], D. Lepelletier[2-3], A. Perrin Guyomard[1], H. Hamidou[1], A. Reynaud[2-3], S. Corvec[2-3]
[1]Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Fougères [2]Service de Bactériologie-Hygiène hospitalière, CHU de Nantes [3]Université de Nantes, EA 3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Nantes, France

Objet de l'étude : Ce travail avait pour objectif la caractérisation par MLST des souches humaines et animales hyperproductrices de b-lactamase AmpC, afin de mieux comprendre leur émergence et leur dissémination. Ce mécanisme de résistance chez E.coli est essentiellement lié à des mutations en position -42 (mais également -32 et -11) dans le promoteur du gène ampC. Ces mutations sont généralement observées chez des souches de groupe phylogénétique A présentant des polymorphismes particuliers au niveau du promoteur en positions -88, -82, -18, -1 et +58.

Méthodes : Nous avons typé par MLST 28 souches de E.coli : 10 souches sensibles aux b-lactamines et 18 souches hyperproductrices de céphalosporinase : 12 souches cliniques humaines et 6 souches animales. Pour ces 28 souches, 7 gènes domestiques ont été amplifiés par PCR et séquencés (adk, fumC, gyrB, icd, mdh, purA et recA). Les résultats ont été analysés sur la base de donnée http://www.mlst.net. Pour tous ces isolats, le groupage phylogénétique a été réalisé par PCR multiplex et la séquence du promoteur du gène ampC a été déterminée.

Résultats : Bien qu'isolées dans des contextes totalement différents 16 des 18 souches hyperproductrices de céphalosporinase appartenaient au complexe clonal ST23 et au groupe phylogénétique A. Elles présentaient toutes les mêmes polymorphismes génétiques du promoteur ampC. Toutefois les mutations responsables de l'hyperproduction de la céphalosporinase étaient différentes (14 mutées en position -42, 2 en -32 et 2 en -11). Deux souches animales de groupe phylogénétique B1 n'appartenaient pas au complexe ST23 (ST86 et ST155).

Parmi les souches sensibles aux b-lactamines, une seule appartenait au ST23. Cette souche de groupe phylogénétique A présentait les polymorphismes en position -88, -82, -18, -1 et +58.

Conclusion : Ces résultats montrent que les souches de E.coli hyperproductrices de leur b-lactamase naturelle AmpC appartiennent majoritairement au même complexe clonal. Chez l'homme, ces souches pourraient coloniser le tube digestif à partir des souches résistantes d'origine alimentaire ou être sélectionnées, sous l'effet de l'antibiothérapie, à partir des souches sensibles présentant les mêmes polymorphismes.

483/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Détection de la résistance à l'oxacilline chez *Staphylococcus* sp. : sensibilité des plaques microscan Positive Combo 27® (Siemens) et apport du nouveau test à la céfoxitine

O. Gallon[2], P. Pina[2], X. Palette[2], F. Doucet-Populaire[1-3], J.W. Decousser[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Antoine Béclère, Clamart [2]Pôle de Biologie-Hygiène, CH de Dourdan, Dourdan [3]Faculté de Pharmacie EA4065, Université René Descartes, Paris, France

Introduction : La détection de la résistance à l'oxacilline chez *Staphylococcus aureus* et les Staphylocoques à Coagulase Négative (SCN) peut parfois être difficile. L'utilisation de la céfoxitine ou du moxalactam améliore cette détection.

Objectif : Etudier la sensibilité de la détection de la résistance à l'oxacilline chez le staphylocoque par la méthode automatisée par dilution en milieu liquide Microscan Walk Away® (Siemens) et évaluer l'apport du nouveau test à la céfoxitine.

Méthodes : Dans le cadre du ColBVH 88 souches de *S. aureus* et 33 SCN, toutes résistantes à l'oxacilline, ont été isolées de bactériémies (*S. aureus* et SCN, 2007) et d'infections de la peau et des tissus mous (*S. aureus*, 2006). La résistance à l'oxacilline a été identifiée par la méthode de diffusion à l'aide de disques de céfoxitine et de moxalactam selon les recommandations 2008 du CA SFM. Ces souches ont été testées par les plaques Microscan Positive Combo 27® et l'automate Walk Away actuellement commercialisés qui incluent la détermination de la CMI de l'oxacilline à 37°C. En cas de discordance, les souches ont été testées avec les nouvelle plaques contenant un test supplémentaire à la céfoxitine. En parallèle, une recherche de la plp2a a été réalisée (Slidex MRSA®, Biomérieux).

Résultats : Le panel actuellement commercialisé a permis de détecter la résistance à l'oxacilline chez 31 sur 33 SCN (93.9%) et chez 82 sur 88 *S. aureus* testés (93.2%). L'utilisation du nouveau panel contenant le test à la céfoxitine a permis d'identifier la résistance à l'oxacilline chez 2/2 SCN et 5/6 souches de *S. aureus*, résistance initialement non détectée. En final, sur 121 souches de staphylocoques résistantes à l'oxacilline testées, seule une souche présentant un diamètre d'inhibition autour du disque de céfoxitine de 12 mm, de 10 mm autour du disque de moxalactam et une recherche positive de la plp2a n'a pas été détectée (sensibilité supérieure à 99%).

Discussion et Conclusion : Cette étude utilisant un échantillon de souches cliniquement significatives provenant de toute la France souligne (i) la bonne sensibilité des plaques Microscan® actuellement disponibles, (ii) l'intérêt du test supplémentaire à la céfoxitine inclus dans les nouvelles plaques Pos Staph Combo PC 30 et Pos CMI 27.

484/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Intérêts de l'utilisation des Etests® dans la détermination de la sensibilité aux antibiotiques de *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*

E. Valade[1], J. Vaissaire[2], A. Mérens[3], F.M. Thibault[1], D.R. Vidal[1], J.D. Cavallo[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Recherches du Service de Santé des Armées, La Tronche [2]Lerpaz, Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments, Maisons-Alfort [3]Biologie médicale, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint-Mandé, France

Francisella tularensis est l'agent étiologique de la tularémie. Cette bactérie est responsable de zoonoses en recrudescence en France depuis le début de l'année 2008 et fait partie des agents potentiellement utilisables en cas d'attaque bioterroriste ou militaire. Dans ce contexte, la surveillance de la sensibilité aux antibiotiques de cette espèce peut permettre d'adapter si nécessaire les recommandations prophylactiques et thérapeutiques.

La sensibilité aux antibiotiques de *F. tularensis* a été évaluée par mesure des CMI par la méthode de dilution en gélose et comparée avec la technique de mesure de la CMI par gradient de diffusion en gélose (Etest®) pour 7 antibiotiques (doxycycline, acide nalidixique, ciprofloxacine, gentamicine, streptomycine, rifampicine, chloramphénicol) sur une sélection de 87 souches de *F. tularensis* subsp. *holarctica*, isolées en France. Des essais préliminaires ont permis de déterminer que la gélose Mueller Hinton II (MHII) enrichie en Isovitalex™, avec une lecture des CMI à 48h après incubation en air ambiant, donne dans notre expérience les meilleurs résultats par la méthode de dilution en gélose. Les souches de *F. tularensis* subsp. *holarctica* sont sensibles aux antibiotiques testés sauf deux souches résistantes à l'érythromycine correspondant au biovar II, beaucoup plus rare en France que le biovar I. Les CMI obtenues par Etest® sur MHII étaient bien corrélées (+/- 1 $\log_{10}$) à celles mesurées par dilution en gélose pour la doxycycline, la ciprofloxacine et la streptomycine (respectivement 86%, 93% et 94%) mais pas pour les autres antibiotiques dont la gentamicine (43%). La corrélation pour les CMI obtenues par Etest® sur gélose au sang cuit supplémentée en Isovitalex™ (GSI) était

respectivement de 83%, 95% et 77% pour la doxycycline, la ciprofloxacine et la gentamicine. L'utilisation du Etest® sur GSI est bien adaptée à la détermination des CMI pour la ciprofloxacine, la doxycycline et la gentamicine dans un laboratoire non spécialisé.

485/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Rapid detection of KPC-producing bacteria in clinical samples

T. Naas, G. Cuzon, L. Le Hong, S. Lima, P. Nordmann
Hôpital de Bicêtre, Faculté de Médecine Paris-Sud, Inserm U914, Emerging Resistance to Antibiotics, Le Kremlin-Bicêtre, France

Background: Emergence and dissemination of Enterobacteriaceae isolates harboring carbapenemases is a significant threat to the management of nosocomial infections. The Ambler class A carbapenem-hydrolyzing KPC ß-lactamase, which hydrolyze all ß-lactams except cephamycins, are increasingly reported in enterobacterial species, mostly in Klebsiella pneumoniae initially from the US (especially from New York City hospitals) but now worldwide, and in other enterobacterial species and recently from Pseudomonas aeruginosa. Fast and reliable technique for detection and identification of KPC enzymes is a prerequisite for treating and for isolating infected patients.

Method: A real-time PCR amplification system (LightCycler, Roche), using primers specific for the all blaKPC alleles associated with KPC specific hybridization probes was developed. Ten well-characterized KPC producers were used as controls. Several clinical samples (urines, blood, blood culture, and cerebrospinal fluid) were spiked with decreasing amount of these bacterial isolates. DNA was extracted either with boiling method or with qiagen DNA mini kit.

Results: Real-time PCR technique, allowed blaKPC detection in all bacterial isolates tested: 5 K. pneumoniae, 2 Serratia marcescens, 1 E. cloacae, 1 E.coli and in 1 P.aeruginosa isolates from different part of the world. The detection limit of this assay was 10-100 copies par µl. Similar detection limits were obtained when clinical samples were spiked with blaKPC expressing bacteria. Up to 102 bacteria could be reproducibly detected. For blood cultures, the extracted DNA required a 1/10 dilution to eliminate PCR inhibitors, in order the PCR to be reproducibly positive.

Conclusion: The LightCycler KPC-PCR technique represents a powerful tool for rapid identification of KPC-producers in all the clinical samples tested. It may have the potential to be used in routine microbiology laboratory especially in endemic regions since up to 32 clinical samples may be processed within 2h, allowing rapid implementation of isolation measures and appropriate treatment.

486/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Mise au point d'une PCR en temps réel multiplex pour la détection des 3 classes d'intégrons de résistance aux antibiotiques

O. Barraud[1-3-2], M.C. Baclet[2], F. Denis[1-3-2], M.C. Ploy[1-3-2]
[1]Avenir Inserm [2]CHU Dupuytren [3]Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire des Micro-organismes EA3175, Université de Limoges, Faculté de médecine, Limoges, France

Objet de l'étude : Les intégrons sont des éléments génétiques capables de capturer et d'exprimer des gènes de résistances aux antibiotiques. Différentes études menées chez les bactéries à Gram négatif ont montré qu'il existait une forte corrélation entre multirésistance aux antibiotiques et présence d'intégrons. Généralement, leur détection sur des souches bactériennes repose sur une technique de PCR en point final. L'objet de l'étude était de développer une technique de PCR en temps réel permettant la détection simultanée des 3 principales classes d'intégrons de résistance non seulement sur des souches, mais aussi à partir d'environnements génétiques plus complexes.

Méthodes : Nous avons dessiné 3 couples d'amorces et 3 sondes Taqman® ciblant les gènes d'intégrases *intI1*, *intI2* et *intI3*. La sensibilité et l'efficacité des réactions de PCR ont été déterminées avec des gammes témoins de plasmides, la spécificité avec des souches témoins hébergeant ou non un intégron. Des gammes croisées de chacun des 3 gènes *intI* ont été testées. La technique a ensuite été appliquée sur des souches cliniques et sur des échantillons biologiques (urine, sérum, selles…).

Résultats obtenus : Pour chacun des 3 gènes, et quelle que soit la quantité des autres gènes présents, la sensibilité de la réaction était de 10^2 copies. Dans les différentes conditions expérimentales, les amplifications étaient spécifiques et la technique s'est révélée quantitative de 10^3 à 10^7 copies pour chacun des gènes *intI*. Les efficacités globales d'amplification étaient de 99% pour *intI1*, 102% pour *intI2* et 98% pour *intI3*, avec un coefficient de variation inférieur à 2%. La technique a permis la détection d'intégrons aussi bien à partir d'ADN extrait de souches cliniques qu'à partir d'ADN extrait d'échantillons biologiques sans culture préalable.

Conclusion : La PCR développée est une technique facile, spécifique et sensible de détection des intégrons de résistance. Elle permet de cribler rapidement des centaines d'échantillons et d'envisager ainsi des études épidémiologiques à grande échelle. Son application avec succès directement sur des prélèvements biologiques constitue une approche intéressante de détection précoce des résistances.

487/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Real-time allele specific PCR assay for detection of G2576T mutation conferring linezolid resistance in enterococci

N. Bourgeois Nicolaos[2-1], E. Salomon[2], C. Labatte[2], P. Kharrat[2], K. Ben Zekri[2], M.J. Butel[2], F. Doucet-Populaire[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Service de microbiologie-immunologie biologique, Hôpital Antoine Béclère, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris-Sud XI, Clamart [2]EA 4065, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes, Paris, France

Background: In clinical *Enterococcus* isolates, linezolid (LZ) resistance is mediated by a single nucleotide polymorphism (SNP) of guanine to thymidine at bp 2576 (G2576T) in the multiple genes encoding 23S rRNA synthesis. The proportion of 23S rRNA genes (*rrl*) with this SNP correlates with the level of resistance to LZ. A rapid test based on Allele Specific PCR (AS-PCR) was designed to detect the SNP at position 2576 of the 23S rRNA genes of *Enterococcus.*

Methods: The assay was evaluated on 52 enterococcal isolates (*Enterococcus faecalis* (n=40) or *Enterococcus faecium* (n=12)) and 4 non enterococcal isolates. Thirty isolates were susceptible to linezolid (MICs £ 4 mg/L); 26 isolates were linezolid resistant (MIC of linezolid > 4 mg/L) known to contain by sequencing analysis either the G2576T SNP (n= 23) or the G2505A SNP(n=3). Real time PCR was performed using a specific primer in which the second nucleotide from the 3' end was designed to match site of the point mutation (T) and the second nucleotide was designed to produce a mismatch in order to yield AS-PCR amplification. DNA melting analysis with fluorescent SYBR Green afforded detection of the PCR products on a Smart Cycler®.

Results: Identical genotyping results were obtained with AS-PCR as with reference sequencing method. All non enterococcal isolates, LZ susceptible enterococcal isolates and LZ resistant isolates containing a mutation at position 2505 were negative with our AS-PCR assay. The G2576T mutation responsible to LZ resistance could be detected successfully by this method in enterococcal isolates. A good correlation was found between linezolid MICs and the number of 23S rRNA genes carrying mutation.

Conclusion: The AS-PCR method for detection of G2576T mutation in *Enterococcus* allows an easy and rapid detection of LZ resistant strains of *E. faecalis* and *E. faecium.* This method is even able to identify a single mutated 23S rRNA genes witch is known to increase the selection of LZ resistant enterococci under LZ pressure.

488/76A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation du kit EVIGENE® pour la mise en évidence des gènes *nuc*A, *mec*A, *luk*S-PV/*luk*F-PV, *tst*, *van*AB et *mup*A chez *Staphylococcus aureus*

H. Meugnier, O. Dauwalder, M. Mounier, M. Bes, M.E. Reverdy, G. Lina, F. Vandenesch, J. Etienne
Centre de Biologie Est, CNR staphylocoques, Bron, France

Une nouvelle méthode de détection (EVIGENE®) des gènes *nuc*A, *mec*A, *luk*S-PV/*luk*F-PV, *tst*, *van*AB et *mup*A chez *S. aureus* a été mise au point aux Etats-Unis par le laboratoire AdvanDx. Ces gènes sont recherchés par hybridation moléculaire sur microplaques en trois heures. Deux sondes sont utilisées dans ce kit : une sonde de capture qui est coatée dans des puits sécables et une sonde de détection qui est rajoutée dans le puits en même temps que le lysat bactérien. Dans un premier temps, l'objectif de ce travail a été d'évaluer cette technique directement à partir de souches bactériennes. Dans un second temps, nous nous sommes intéressés à l'application de cet outil sur des prélèvements cliniques de pus.

Cinquante et une souches (*S. aureus, S. epidermidis, E. faecium, E. faecalis, L. rhamnosus, GISA*) représentant différentes combinaisons de gènes de résistances et de gènes de virulence (détectés préalablement par PCR) ont été testées. Treize pus, cultivés au laboratoire (cultures monomicrobiennes à *S. aureus*) ont également été analysés.

Le kit EVIGENE® utilisé directement sur les souches a montré 100% de concordance avec les résultats obtenus par PCR pour la détection des gènes *nuc*A, *mec*A, *luk*S-PV/*luk*F-PV, *tst*, *van*AB et *mup*A. Par ailleurs, il a montré d'excellents résultats lorsqu'il est utilisé sur des prélèvements cliniques de pus.

Au regard de sa simplicité d'usage, du nombre très limité d'équipements spécifiques requis, de sa rapidité et de sa souplesse d'utilisation, cette trousse d'hybridation moléculaire apparaît comme extrêmement novatrice. En effet, elle rend accessible à des laboratoires de biologie tant polyvalents que spécialisés, la détection du gène *mecA*, permettant le dépistage précoce des SARM. Elle permet également la détection de deux facteurs de virulence staphylococciques majeurs que sont la TSST-1 et la PVL permettant ainsi la mise en route de thérapeutiques antibiotiques antitoxiniques dont la précocité d'administration est inversement proportionnelle à la mortalité. Elle permet également la détection de la résistance à la mupirocine, molécule de choix dans le traitement de décontamination au cours d'épidémies staphylococciques cutanées. Enfin, elle permet la détection des gènes *van*A et B, gènes codant la résistance aux glycopeptides chez *S. aureus* et surtout chez les entérocoques. Leur acquisition par des *E. faecium* a été à l'origine d'épidémies graves dont seul le dépistage précoce permet leur résolution.

L'utilisation de telles trousses de diagnostic moléculaire rapide s'inscrit dans l'amélioration du diagnostic de pathologies graves dont les thérapeutiques spécifiques nécessitent une grande précocité d'administration.

489/77A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prévention et gestion des épisodes de cas groupés d'infections respiratoires aiguës basses dans les collectivités de personnes âgées de la région Provence-Alpes-Côte d'Azur

S. Rasson[2], C. Six[2], J. Deniau[2], L. Calatayud[2], J.C. Delarozière[1], F. Charlet[3], J.L. Duponchel[3], A. Lory[1], S. Vaux[4], P. Malfait[2]
[1]Antenne Régionale du Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales (CCLIN) de la région Provence-Alpes-Côte-d'Azur [2]Cellule Inter-Régionale d'Epidémiologie (CIRE) Sud [3]Direction Départementale des Affaires Sanitaires et Sociales, Marseille [4]Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Objectifs : Les infections respiratoires aiguës (IRA) sont fréquentes dans les établissements d'hébergement pour personnes âgées (EHPA) et leurs conséquences sont potentiellement graves, alors que bon nombre de cas pourraient être évités par un dispositif de prévention et de surveillance performant. Ce dispositif vise à réduire la morbi-mortalité des IRA chez les résidents en EHPA, par l'identification et le signalement précoces des cas groupés, l'investigation des épisodes si nécessaire et la mise en œuvre de mesures de contrôle appropriées (mesures barrières, prescription de Tamiflu®).

Méthodes : Pour la troisième saison consécutive, des outils de prévention, surveillance, signalement et contrôle ont été proposés par la Direction Régionale des Affaires Sanitaires et Sociales (Drass) aux EHPA de la région. Un questionnaire leur a ensuite été adressé par courrier afin d'évaluer l'efficacité du dispositif de surveillance et de contrôle des épidémies auxquelles certains EHPA ont été confrontés.

Résultats : En 2007-08, 58% des EHPA ont participé à l'enquête. Parmi ceux-ci, 69% disposaient d'un médecin coordinateur sur place et 70% avaient signé une convention tripartite (contre 49% en 2005-06 et 54% en 2006-07). Un dispositif de surveillance était en place dans 57% des EHPA, et des tests de diagnostic rapide de la grippe étaient à disposition dans 47% des établissements. Le taux de couverture vaccinale antigrippale des résidents (87%) et du personnel (38%) était identique aux années précédentes.

En 2007-08, 47 épisodes de cas groupés ont été notifiés rétrospectivement dans 38 EHPA, dont 19 signalés en temps réel aux Ddass (soit cinq fois plus de signalements qu'en 2006-07). Dans ces 38 établissements, le taux d'attaque moyen chez les résidents était de 16%, avec 46 hospitalisations et 13 décès (respectivement 7 et 3 en 2006-07). La grippe n'a été recherchée que dans 9 épisodes, et du Tamiflu® a été prescrit à visée prophylactique et/ou curative à 6 reprises seulement.

Conclusion : Si les EHPA sont aujourd'hui mieux préparés à faire face aux épidémies d'IRA et signalent plus fréquemment les épisodes de cas groupés, la couverture vaccinale du personnel doit encore être améliorée. L'utilisation systématique de tests diagnostiques et la prescription adéquate de Tamiflu® doivent être plus largement encouragés.

490/77A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Bilan à 18 mois d'une enquête autour d'un personnel hospitalier atteint de tuberculose bacillifère

S. Djebbour-Lévy[2], H. Vrolyk-Vergeron[2], M. Porcheron[2], C. Métais[2], M.L. Bruyère[2], C. Brunot[3], A.H. Ngo[3], S. Maignot[1], D. Baronnet[1]
[1]Direction [2]Equipe Opérationnelle d'Hygiène [3]Médecine Préventive, Centre Hospitalier, Nemours, France

En janvier 2007, la découverte fortuite, chez un brancardier de l'hôpital de Nemours, établissement de 300 lits à faible risque de tuberculose, a déclenché une enquête auprès des personnels et des patients contacts.

Méthodologie : Une cellule de crise a été constituée avec la participation du Centre de Lutte AntiTuberculeuse (CLAT), du CCLIN Paris Nord et de la DDASS. Le CLAT a proposé une consultation d'accueil pour les malades et les personnels. Les critères de rappel des patients ont été définis en fonction de la durée du contact possible avec le brancardier et du statut immunitaire connu du patient. La direction de l'établissement a dédié une ligne téléphonique ouverte aux patients. Un communiqué de presse a été diffusé par la préfecture. La communication interne a été réalisée en communication étroite avec le Comité d'Hygiène, de Sécurité et des Conditions de Travail. Le dépistage a consisté en une radiographie pulmonaire et un test tuberculinique, selon le référentiel en cours à l'époque.

Résultats avec un recul de plus de 18 mois : *Concernant les patients*, trois cent trente malades ont été concernés et informés par courrier, leur médecin traitant étant parallèlement informé des modalités de suivi. Aucun cas secondaire ne nous a été signalé. *Concernant les personnels*, le service de médecine préventive a suivi 361 personnes, par rappel ou à leur demande, chez qui il a été diagnostiqué une tuberculose maladie (péricardite) et 26 tuberculoses latentes, pour lesquels 24 personnes ont accepté de recevoir un traitement.

Conclusions : Cette crise a permis de mesurer la méconnaissance de la tuberculose parmi les personnels dans une zone à faible risque, de constater l'efficacité de la médecine préventive dans le dépistage des personnels, et les limites de ce dépistage chez les malades, pour qui la mesure essentielle a été une information.

491/77A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prévention des risques de transmission de la tuberculose lors de la conception d'un nouveau service de microbiologie

C. Berlie, Equipe De Microbiologie
Microbiologie, CHIC Alençon - Mamers, Alençon, France

Introduction : La transmission de la tuberculose en laboratoire reste un sujet d'actualité, les mycobactéries tuberculeuses sont parmi les agents pathogènes les plus dangereux couramment travaillés en bactériologie. Elles font partie du groupe 3 de la liste des agents biologiques pathogènes, selon l'arrêté du 18 juillet 1994 et des mesures minimales doivent être mises en place pour assurer la prévention des risques infectieux pour les personnels et l'environnement.

Lors de la conception du nouveau service de microbiologie du Centre Hospitalier d'Alençon, nous avons apporté une attention toute particulière à la conception de l' « unité BK » en tenant en compte de ces données.

Conception de l' « Unité BK » : Les mesures architecturales sont essentielles et ont été prises dès la phase de « programmation » du projet : localisation et éloignement des services de soin pour assurer l'isolement ; confinement avec limitation de l'accès; traitement d'air, climatisation et maintien en pression négative, mise en place de volets à commande électrique pouvant obturer les bouches d'extraction et de soufflage en cas de bris de tube ; circuits personnel, prélèvements, déchets à risque infectieux, implantation des équipements, ergonomie.

L'unité comprend une salle de travail spacieuse avec poste de sécurité microbiologique central, une chambre noire intégrée et tous les équipements nécessaires à la réalisation sur place de l'enregistrement aux derniers examens.

Les mesures de protection individuelle (tenue de travail, revêtue systématiquement lors du passage par les vestiaires SAS, port de gants) complètent ces dispositions.

Après huit ans d'activités, aucun cas de contamination aérienne professionnelle n'a été déclaré.

Conclusion : Conçue et validée en 1996, construite entre 1999 et 2000, l' « Unité BK » du nouveau service de microbiologie, est à ce jour conforme aux normes du Décret de Juillet 2007, démontrant la pertinence de nos attentions d'alors. En revanche, n'oubliant pas que bon nombre de prélèvements respiratoires arrivent au laboratoire sans diagnostic, les mesures de prévention des risques de transmission de la tuberculose et autres infections transmissibles par voie aérienne, ont également mises en place dans les autres unités techniques.

492/77A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Bon Usage des Antibiotiques : de l'état des lieux au développement d'un Plan Régional de Bon Usage des antibiotiques dans les établissements de santé MCO des Pays de la Loire

F. Ollivier[2-4], D. Feldman[1], S. Thibaut[2], M. Pajot[2], G. Potel[2-4-1], F. Ballereau[2-4-3]
[1]CRMDM [2]MedQual, CHU Nantes [3]Département de Pharmacie Clinique et Santé Publique [4]UPRES EA 3826, Université de Nantes, Nantes, France

Objet de l'étude : Dresser un état des lieux des politiques d'utilisation des antibiotiques dans les établissements de santé (ES) court séjour de la Région.

Concourir à la réflexion régionale sur l'amélioration du Bon Usage des antibiotiques.

Méthodes : Analyse d'un questionnaire complété par les ES MCO de la Région, évaluant la mise en place des principales recommandations de la circulaire du 2 mai 2002 relative au Bon Usage des antibiotiques.

Elaboration d'un plan d'action régional validé par la Commission Antibiotiques du CRMDM.

Résultats : Sur 54 ES MCO en Pays de la Loire, 49 ont répondu au questionnaire. La fréquence des actions menées varie en fonction de la taille de l'ES.

Cet état des lieux présenté au CRMDM en décembre 2007 a permis d'identifier les actions prioritaires à mettre en œuvre :
2007 : Création d'un Comité de Pilotage Régional dont la composition respecte un équilibre géographique, public/privé et médecin/pharmacien.
2008 : Création d'une bibliothèque régionale des référentiels d'antibiothérapie des ES de la Région accessible sur internet.
Mise en place d'un outil commun de suivi prospectif des consommations d'antibiotiques, en collaboration avec le Ministère de la Santé.
Diffusion de messages de bon usage des antibiotiques dans les ES de la Région.
2009 : Organisation d'un suivi commun de couples « bactéries-antibiotiques » identifiés.
Création d'une base de données régionales : consommations antibiotiques / résistances bactériennes.
Mise en place d'audits ciblés sur le bon usage des antibiotiques
Organisation d'une journée régionale sur le Bon usage des antibiotiques.
Conclusion : La mobilisation des médecins et pharmaciens des ES MCO de la Région autour de ce projet, coordonné par le centre MedQual en soutien au CRMDM, permet de respecter le calendrier engagé auprès de l'ARH en décembre 2007 et dynamise la politique d'amélioration de la qualité des soins en matière de lutte contre les résistances bactériennes et le bon usage des antibiotiques.

493/77A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Evaluation de la prescription des fluoroquinolones (FQ) dans les établissements hospitaliers de Lorraine par le Réseau Antibiolor

T. Doco-Lecompte, Réseau Antibiolor
Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU, Nancy, France

Objet de l'étude : Dans le cadre du bon usage des antibiotiques Antibiolor a proposé aux établissements de santé lorrains une évaluation de leurs prescriptions de fluroquinolones.

Méthodes : Les médecins et pharmaciens des établissements de Lorraine volontaires ont rempli une fiche type mentionnant l'indication, le nom de la FQ, sa voie et sa durée d'utilisation.sur les prescriptions des 3 derniers mois. Des binômes ont analysé chaque fiche et vérifié la pertinence de la prescription par rapport au référentiel lorrain. Un index d'adéquation thérapeutique a été établi pour chaque fiche.

Résultats : 124 services (61 de médecine, 33 de chirurgie, 17 de réanimation, 2 urgences, 11 SSR) de 28 établissements ont participé (CHU, CHR, CHG, SSR) et ont complété 1538 fiches. Cinq fiches ont été exclues (pas de prescription de FQ).

Les indications les plus fréquentes étaient : pulmonaires (632 dont 468 pneumonies et 71 exacerbations aiguës de BPCO), urinaires (445 dont 162 cystites et 80 pyélonéphrites), digestives (130 infections majoritairement des voies biliaires), 63 infections cutanées et sous-cutanées, et 54 osseuses. L'ofloxacine (696 prescriptions) était prescrite majoritairement dans les infections urinaires (n=251), pulmonaires (n=197) et digestives (n=67) ; les indications de la lévofloxacine (n=412) étaient essentiellement pulmonaires (n=331) ; les prescriptions de ciprofloxacine (n=316) se répartissaient entre les infections pulmonaires (n=114), urinaires (n=56), digestives (n=42), et les chocs septiques (n=15). L'indication des FQ a été jugée non conforme pour 36% des fiches (n=556), (30% en médecine, 44% en chirurgie, 21% en réanimation, 42% dans les SSR et 49% aux urgences).Lorsque l'indication des FQ est justifiée, l'analyse a jugé non-conformes le type de molécule dans 222 cas (23%), la posologie dans 105 cas (12%), la durée dans 195 cas (21%) ; la voie d'administration était non appropriée dans 63 cas (7%) seulement. Les prescriptions étaient entièrement conformes pour 425 fiches (28%).

Conclusion : Conscients des enjeux liés aux prescriptions de FQ, les établissements lorrains ont massivement participé à cette étude. Les prescriptions de FQ étaient injustifiées dans plus d'un tiers des cas. Le rendu des résultats sera détaillé par établissement et sera suivi de mesures correctives. Un 2ème tour est prévu en 2009.

494/77A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Évaluation des risques microbiologiques associés à *Stenotrophomonas maltophilia* et *Pseudomonas aeruginosa* dans un centre hospitalier universitaire français

C.C. Adjidé[2], A. De Meyer[2], M. Weyer[2], O. Obin[2], F. Lamory[2], C. Lesueur[1], L. Trouillet[2], M. Biendo[2-1], O. Ganry[2]
[1]Laboratoire de bactériologie [2]Unité d'hygiène et d'épidémiologie hospitalière, Service d'hygiène, d'épidémiologie et de santé publique, CHU, Amiens, France

Objectifs : Évaluer, au CHU d'Amiens, le risque microbiologique (RM) associé à *Stenotrophomonas maltophilia* (Smalto) et/ou *Pseudomonas aeruginosas* (Psa) dans l'eau froide et l'apport de l'association prélèvements d'eau et écouvillons.

Matériel et méthode : Recherche, dans 122 prélèvements d'eau froide et sur 122 écouvillons au niveau des mêmes robinets, de Smalto sur milieu SM2i (*Stenotrophomonas maltophilia* Selective Medium) et de Psa sur Cétrimide, de mars à juin 2008, dans des services et secteurs du CHU d'Amiens tirés au sort de façon à assurer leur représentativité. Par point d'eau, 3 fois 1 litre d'eau en flacons stériles contenant du thiosulfate et 1 écouvillon du col de cygne ont été prélevés, transportés en glacière au laboratoire. L'eau a été filtrée sur une membrane en acétate de cellulose de porosité 0.45µ et écouvillon mis en subculture 24 h dans un bouillon nutritif. La culture bactériologique a été réalisée sur SM2i, cétrimide et gélose Mueller Hinton utilisée comme milieu de référence, tous incubés 48 h à 30°C.

L'analyse des données a été effectuée sur Épi-Info 6.04dFr et les comparaisons faites à l'aide du test du chi-carré; jugé significatif à $p<0,05$.

Résultats : Les taux de biocontamination par Psa et Smalto étaient de 28% et 21,3% d'eau puis 14,8% et 10,7% d'écouvillons respectivement. Psa et Smalto étaient retrouvés associés dans 11,5% d'eau et sur 5% d'écouvillons. Psa était seul dans 13,1% d'eau et 7,4% d'écouvillons et Smalto dans 6,6% d'eau et sur 2,5% d'écouvillons. Psa et Smalto étaient retrouvés dans l'eau et sur l'écouvillon correspondant dans 14,8% et 8,2% des cas respectivement. Au total, 35,2% et 17,6% des points d'eau étaient contaminés par Psa et Smalto respectivement. Ces résultats fait apparaître un RM associé à l'eau deux fois plus élevé pour Psa que pour Smalto. Ce RM ne semble pas varier selon le secteur de soins.

Conclusion : L'utilisation de SM2i et de cétrimide a permis une mise en évidence spécifique et facile de Psa et Smalto. Psa est deux fois plus fréquents dans nos robinets d'eau que Smalto. L'association des prélèvements d'eau et d'écouvillons augmentent substantiellement la sensibilité de l'évaluation du RM associé à ces germes dans l'eau. Le RM associé à Smalto mérite d'être plus précisément étudié. De même, il est indispensable de faire le lien entre RM et infections associées aux soins.

495/77A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Le rang de programmation des patients au bloc opératoire est-il facteur de risque d'une infection du site opératoire (ISO) ?

J.C. Séguier[4], F. Chrétien[4], S. Bourreau[4], C. Trinquier[1], T. Montariol[3], P. Sinda[2]
[1]Bloc opératoire [2]Service d'anesthésie [3]Service de chirurgie viscérale [4]Unité Hygiène Prévention du Risque Infectieux, CH de Poissy St Germain en Laye, St Germain En Laye, France

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'impact de l'ordre de passage au bloc opératoire sur le risque d'ISO.

Matériels Méthode : De 2001 à 2007, une surveillance prospective des hernies pariétales opérées a été réalisée à partir d'une fiche initiée au bloc opératoire, Le patient est revu au moins 25 jours après son intervention. Le diagnostic d'ISO est établi selon les critères validés du réseau INCISO. La saisie et l'exploitation des données sont réalisées à partir du logiciel EPI-info 6fr. Le taux d'incidence cumulative est calculé pour 100 interventions, l'intervalle de confiance [IC95] est choisi à 95%. L'association entre les variables étudiées est évaluée par les tests de Mantel-Haenszel ou de Fisher. Le numéro de programmation du patient dans chaque salle d'intervention fait partie des 33 critères relevés. Les seules recommandations d'ordre de passage intéressent les patients bacillifères qui sont opérés en fin de programme.

Résultats : Le taux d'ISO global est de 1.62% [1.03-2.5] (21 ISO sur 1298 interventions). Les patients sont peu différents d'une année sur l'autre en ce qui concerne l'âge, la proportion d'enfants, la proportion de NNIS 0, les durées d'intervention. La moitié des opérés est âgée de moins de 5 ans. Le risque d'ISO est supérieur pour les opérés du 1er rang (2.79% vs 1.17%, p=0.04). L'évolution du pourcentage d'ISO aux rangs 1, 2, 3 et supérieurs à 3, décroît progressivement de 2,79% à 0,84%. Il n'y a pas de différence concernant l'âge des opérés et entre les chirurgiens.

	% ISO		% ISO	RR IC95%	p
St Germain (hernies)	1.62%	RAISIN (hernies)	1.10%	1.47 [0.96-2.27]	0.07
R1 total CHIR	2,79%	R>1 total CHIR	1,17%	2,38 [1.02-5.55]	**0,04**
R1 CHIR A	3,13%	R1 Autres CHIR	2,40%		0,75
R1 CHIR A	3,13%	R>1 CHIR A	0,66%	4,73 [1.35-16.6]	**0,01**
CHIR A	1,25%	Totalité autres CHIR	2,20%		0,18
Enfants < 5ans	1,56%	Patients ≥ 5ans	1,66%		0.8
R1 Enfants < 5ans	2,89%	R1 Patients ≥ 5ans	2.54%		0.1

Résultats comparatifs (R1=1er opéré dans la salle, R>1= opérés après le 1er, CHIR A = chirurgien opérant 61.5% des hernies)

Conclusions : La diminution progressive du risque d'ISO au cours de la matinée opératoire, permet de rassurer les patients et les professionnels qui, souvent, estiment qu'il serait moins risqué d'être opéré en début de programme opératoire. Plusieurs hypothèses peuvent être proposées.

496/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Manifestations neurologiques au cours de l'infection à VIH

M. Aidaoui, A. Mammeri, Z. Boudiaf, N. Messalhi, Z. Boumaza, A. Trima, M. Laouar
Infectieux, CHU Annaba, Annaba, Algérie

L'infection à VIH est une maladie transmissible grave et malgré un arsenal thérapeutique de plus en plus développé, la guérison est encore lointaine.
L'atteinte neurologique est l'une des manifestations les plus fréquentes au cours de cette infection, c'est pourquoi l'étude des complications neurologiques.
Objectif : étudier le profil épidémio-clinique de l'infection à VIH et des complications neurologiques.
Matériel et méthodes : il s'agit d'une étude déscriptive rétrospective sur 07 ans de Janvier 2000 à Décembre 2007 portant sur 61 cas.
Résultats :
Notre étude à porté sur 61 patients dont 40 cas au stade de SIDA maladie et 21 séropositifs.
Le mode de contamination essentiel est hétérosexuel.
Le nombre de patients ayant présenté des complications neurologiques est de 24 soit 39.34% dont 18 au stade de SIDA maladie et 6 séropositifs.
La toxoplasmose cérébrale, la cryptococcose et la méningite tuberculeuse sont observées ; cependant la neuropathie périphérique reste au premier plan notée dans 37.5% des cas.
Le diagnostic précoce, le traitement antirétroviral et la prophylaxie auront un impact réel sur ces complications.

497/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prévalence de l'infection par le virus de l'hépatite B chez les patients infectés par le VIH : expérience nancéienne

B. Bloquel[1], H. Jeulin[1], C. Burty[2], C. Rabaud[2], V. Venard[1]
[1]Laboratoire Central de Virologie [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU de Nancy Brabois, Vandoeuvre-Les-Nancy, France

L'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) est susceptible d'évoluer vers la chronicité chez 5 à 10% des adultes sains, puis vers la cirrhose ou le carcinome hépatocellulaire. Chez les patients infectés par le VIH, et depuis la généralisation des traitements antirétroviraux hautement actifs (HAART), les études montrent une augmentation de la morbidité-mortalité associée aux

hépatites virales.

Afin de prévenir au mieux ces risques, nous avons voulu refaire un point sur la co-infection VIH/VHB dans la file active de nos patients VIH+, et engager une étude prospective pour savoir si l'évolution de ces hépatites diffère selon leur génotype et leur caractère occulte ou non.

L'antigène HBs (Ag HBs), et les anticorps anti-HBs, et anti-HBc ainsi que l'ADN-VHB par PCR quantitative en temps ont été recherchés de façon systématique dans le sérum de patients infectés par le VIH. Sur les sérums dont la charge virale était détectable, l'ADN du VHB a été séquencé et analysé.

Entre octobre 2007 et mai 2008, 383 patients VIH+, suivis en consultation de Maladies Infectieuses au CHU de Nancy parmi une file active de 720 patients, ont été inclus (âge moyen 45 ans, extrêmes 7-78 ans). A l'inclusion 5% (19/383) des patients présentent un AgHBs. Une cicatrice sérologique de contage par le VHB est mise en évidence chez 39% (151/383) des patients. Parmi les 47 (12%) patients Ac anti-HBc isolé, 7 ont une charge virale sérique détectable (hépatite B occulte) ; 5 souches appartiennent au génotype E et 2 au génotype A.

La prévalence du VHB chez ces patients VIH+ est importante (39%), cependant peu de patients sont virémiques (16/383 soit 4,2%), mais, il est à noter que la plupart des patients inclus dans cette étude bénéficiaient d'un traitement actif sur le VHB (86% de patients traités lamivudine et /ou tenofovir) Les hépatites B occultes ont été essentiellement observées chez des patients d'origine subsaharienne. Notre objectif principal sera donc désormais, en fonction des variations génotypiques et phénotypiques des souches, d'étudier l'impact au long cours de ces hépatites B occultes chez ces patients co-infectés mais aussi d'explorer l'impact sur la réactivation virale de la pression de sélection induite par les HAART intégrant une molécule active sur le VHB.

498/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Safety and efficacy of raltegravir containing regimen in HIV infected transplanted patients cotreated with immunosuppressive drugs

L. Tricot[5], D. Zucman[4], G. Peytavin[1], Y. Calmus[3], F. Conti[3], G. Spiridon[2], C. Fontaine[2], D. Salmon-Céron[2]
[1]Pharmacologie, Hôpital Bichat- Claude Bernard [2]Maladies infectieuses [3]Transplantation hépatique, Hôpital Cochin, Paris [4]Maladies infectieuses [5]Néphrologie, Hôpital Foch, Suresnes, France

Background: Although solid organ transplantations are performed successfully in selected HIV-infected patients, antiretroviral drugs and calcineurin inhibitors (CNI) are both biotransformed via the CYP450 family, leading to multiple and reciprocal drug-drug interactions. Raltegravir (RAL) is a novel HIV-1 integrase strand transfer inhibitor, with potent in vitro and in vivo activity against HIV-1 and HIV-2, and favorable safety profile. RAL is not a substrate of CYP450 enzymes and is eliminated mainly by metabolism via a UGT1A1-mediated glucuronidation pathway.

Methods: pharmacokinetic parameters and tolerance of RAL and tacrolimus, and immunovirological outcome were followed in transplanted patients treated with HAART regimen containing RAL + 2 NRTI to study the occurrence of drug interactions.

Results: 6 patients (median age: 44 years, range: 30-62, 4 females) with kidney (n = 3) or liver (n = 3) transplantations were included in the study. Median CD4 was 300/mm3 (range: 134-780), plasma HIV-RNA (pVL) was <40 cop/ml in 5 out of 6 patients before transplantation. RAL was initiated on the day of transplantation in 2 patients, in a median delay of 21 days (14-28) after transplantation in 3 patients or after 32 months in one patient. Mean trough blood concentration of tacrolimus was 7.5 ng/ml (3.4-10.5) after a mean daily dose of tacrolimus 8 mg QD. Mean trough plasma concentration of RAL was 501 ng/ml (176-890) after the usual daily dose of RAL 400 mg BID. All patients reached the *in vitro* IC_{95} (15 ng/ml) for Wild Type HIV-1 strains and the large inpatient variability of RAL concentration was probably related to proton pump inhibitors use and intestinal absorption. After a median follow-up of 12 months (3-14), all patients are alive with good graft function, undetectable pVL and no opportunistic infection.

Conclusion: RAL can be safely used in HIV- infected transplanted patients co-treated with CNIs.

499/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Efficacy and tolerance of combination of Maraviroc with MK-0518, boosted TMC-114 and TMC-125 in heavily pre-treated CCR5 positive HIV infected patients

F. Almasi[1], A. Krivine[2], A. Compangocci[1], B. Silbermann[1], L. Belarbi[1], D. Salmon[1]
[1]Internal Medicine Department [2]Virology Department, Cochin Hospital, Paris, France

Background: An important problem in treatment experienced HIV positive patients is resistance. It could be difficult to find a suitable regimen for heavily pre-treated patients.

Methods: In heavily treated patients in whom we found detectable viral load under adjusted antiretroviral treatment, according to result of resistance and tropism test, we changed therapeutic line to MK-0518 + Maraviroc + boosted TMC-114 + TMC-125. We measured viral load (Abbott Real time) (less than 40 copies/ml = undetectable) and CD4 count at Day 1, Week 3, Week 8, Week 12 and Week 24.

Results: Among six patients who received this combination there are 3 men and 3 women. Mean age is 48.7 years (R= 46-50). They have already received 8-19 therapeutic lines (M=11), as well as 11-18 (M=14) molecules. Viral load at D1 was 35638 copies/ml (4.55 log) (R=80-87100) which is reduced to 76 copies/ml (1.88 log) at week 3, 166copies/ml (2.22 log) at week 8 and less than 40 copies/ml (1.6 log) at week 12 and remained undetectable at W24. CD4 count which was 330 (R=155-649) at day 1, increased to 390 at week 3, 394 at week 8 and 425 at week 12. We did not find any adverse events in this group of patients.

Conclusions: Combination of TMC-114/R, TMC-125, MK-0518 and Maraviroc can be a good option in heavily treated patients which can reduce viral load 3-4 logs in 3 weeks and reach to undetectable viral load less than 12 weeks.

500/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Thrombose veineuse et infection par le virus de l'immunodéficience humaine : à propos de 3 observations

L. Ammari, S. Ben Aissa, B. Kilani, R. Abdelmalek, H. Tiouiri Benaissa, F. Kanoun, T. Ben Chaabane
Maladies infectieuses, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

Introduction : La survenue de thrombose veineuse profonde (TVP) est fréquemment décrite au cours de l'infection par le virus de l'immunodéficience humaine (VIH). L'incidence varie de 0,26% à 7,6% des cas. Les localisations thrombotiques sont diverses. Cependant l'atteinte cérébrale est rarement rapportée. Le mécanisme physiopathologique reste méconnu et pouvant être lié à un état d'hypercoagulabilité induit par le VIH.

Objectif : Le but de ce travail est de décrire les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, thérapeutiques et évolutives des thromboses veineuses survenants chez les patients infectés par le VIH.

Matériels et méthodes : Nous avons mené une étude rétrospective concernant les patients infectés par le VIH qui ont présenté une thrombose veineuse, et pris en charge au service de maladies infectieuses de l'hôpital la Rabta durant une période de 11 ans (1997- 2008). Le diagnostic de thrombose a été confirmé par l'imagerie. Un bilan de thrombophilie a été réalisé pour tous les patients (anticorps anti-phospholipides, antithrombine III, protéine S, C, et résistance à la protéine C activée).

Résultats : Trois patients ont été inclus. Il s'agit de 2 femmes et 1 homme. L'age moyen est de 39 ans. La transmission du VIH est sexuelle. Les trois patients ont été admis pour la prise en charge d'une tuberculose ganglionnaire et pulmonaire. Tous les malades sont au stade SIDA avec un taux de CD4 moyen de 39 cellules /mm et une CV moyenne de 242 000 copies d'ARN/ml. Deux patients n'ont pas reçu une trithérapie auparavant. Le tableau clinique se résume à : des trouble mnésiques et des hallucinations (1cas), un syndrome d'hypertension intracrânienne (1cas). La ponction lombaire est normale. L'IRM cérébrale révèle une thrombose du sinus veineux cérébral latéral (1cas) et sagittal (1cas). Chez l'autre patient la thrombose est bifocale : fémorale et jugulaire, confirmée par l'échographie doppler veineux. La recherche d'anticorps anti-phospholipides est négative. Un bilan de thrombophilie a noté un déficit en protéine S et C dans 3 cas. Le traitement anticoagulant a été prescrit chez tous les malades. L'évolution est favorable chez deux patients. Une patiente est décédée suite à une cachexie liée à sa maladie.

Conclusion : Au cours de l'infection par le VIH; la maladie thromboembolique veineuse est plus fréquente et de localisations plus rares que dans la population générale. Un diagnostic précoce et une prise en charge adéquate sont nécessaires pour éviter ses complications.

501/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Infection invasive à pneumocoque et déficit immunitaire commun variable (DICV)

M. Martinot[2], M. Mohseni Zadeh[2], L. Federici[2], B. Woehl-Kremer[2], D. De Briel[1], G. Blaison[2]
[1]Laboratoire de microbiologie [2]Médecine Interne et Rhumatologie, Centre Hospitalier de Colmar, Colmar, France

Objet : Intérêt de la recherche d'un déficit en immunoglobulines (Ig) sériques en cas d'infection invasive à pneumocoque.

Nous rapportons 2 cas d'infection invasive à pneumocoque avec découverte d'un déficit en Ig lié à un DICV.

Observation 1 : Patient de 44 ans admis en octobre 2007 pour pneumonie lobaire. Ses antécédents comportent un DNID, une schizophrénie. Pas de notion d'infections à répétition. Quatre hémocultures sur 4 sont positives à *Streptococcus pneumoniae* intermédiaire aux pénicillines et céphalosporines. L'évolution est favorable sous kétolide. En février 2008 un nouvel épisode de pneumonie avec bactériémie à *S. pneumoniae* intermédiaire aux pénicillines et céphalosporines est traité avec succès par moxifloxacine. Un bilan immunitaire réalisé alors montre une NFS normale, une sérologie VIH négative, un complément (CH50, C3, C4) normal mais une diminution isolée des Ig sériques IgG à 2.73 g/l, des IgA à 0.3 g/l et IgM < 0.1.g/l, en rapport avec un DICV.

Observation 2 : Patient de 57 ans admis en été 2008 pour une méningite. Les prélèvements bactériologiques (LCR et hémoculture (1)) permettent d'isoler *S pneumoniae*. Les antécédents de ce patient sont marqués par une cardiopathie ischémique pontée, des infections ORL et pulmonaires traitées en ambulatoire. L'examen clinique d'admission ne trouve pas d'autre foyer infectieux, notamment ORL ou pulmonaire. L'évolution, marquée initialement

par l'apparition de convulsions et de troubles neurologiques, est finalement favorable sous vancomycine et cefotaxime puis amoxicilline seule. Le bilan immunitaire montre un déficit à priori primitif en Ig avec des IgG à 1.31 g/l, des IgA <0.1g/l et des IgM à 1.06 g/l.

Discussion : Les déficits primitifs en Ig, notamment les DICV, déficits immunitaires primitifs les plus fréquents chez l'adulte, sont une cause classique d'infections à pneumocoque. Il est habituel de rechercher un tel déficit en cas d'infections récidivantes. Ces 2 observations illustrent l'intérêt du dosage des Ig sériques devant tout épisode d'infection invasive à pneumocoque (septicémie et méningite notamment). Ces examens, de réalisation facile, permettent une attitude préventive immédiate sous la forme d'une vaccination spécifique et de perfusions d'Ig polyvalentes.

502/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Posaconazole dans le traitement de la cryptococcose neuroméningée du patient VIH+ : intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique

A.S. Brunel[2], C. Eiden[3], Y. Sterkers[1], A. Makinson[2], H. Peyrière[3], S. Bertout[4], D. Hillaire-Buys[3], J. Reynes[2]
[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [2]Maladies Infectieuses et Tropicales [3]Pharmacologie Médicale et Toxicologie, CHU [4]UMR 145, Faculté de Pharmacie, Montpellier, France

Introduction : Une seule étude a évalué l'efficacité du posaconazole (PCZ) dans le traitement des cryptococcoses neuroméningées (CM), chez le patient VIH+. Nous rapportons deux cas de CM, traités par PCZ, pour lesquels un suivi thérapeutique pharmacologique (STP) a été effectué.

Observations : Ces deux hommes (29 et 32 ans), VIH+ (15 et 55 CD4/mm^3), en arrêt thérapeutique, ont été hospitalisés pour une CM confirmée (*Cryptococcus neoformans* dans le LCR). Un traitement initial par amphotéricine B et flucytosine associé à une dérivation lombaire externe (pour une hypertension intracrânienne sévère) a permis une amélioration franche. Dans les deux cas, un relais par fluconazole débuté dès J15 a été remplacé par PCZ (à J30 et J45) devant une aggravation clinique et biologique malgré la sensibilité initiale in vitro des souches au fluconazole. Les CMI des souches vis à vis du PCZ étaient basses (Etest 0,094 µg/ml). Le traitement antirétroviral comprenant du Kaletra® a été réintroduit entre J15-J21.

Les concentrations plasmatiques de PCZ (cpPCZ) dosées à l'état d'équilibre étaient inférieures à 0.7mg/L (0.38 et 0.20 mg/L) pour une posologie de 400mgx2/j. Une augmentation de la posologie à 300mgx3/j a permis une augmentation des cpPCZ (0.98 et 1.4 mg/L). Les concentrations de PCZ dans le LCR ont toujours été inférieures à la limite de quantification (<0.05 mg/L).

Une amélioration clinique et biologique a été observée, mais un des patients a été réhospitalisé pour une rechute de la CM dans un contexte d'inobservance du PCZ à 4 mois.

Discussion/Conclusion : A la lumière de ces deux observations, le PCZ pourrait être une option thérapeutique dans le traitement d'entretien des cryptococcoses neuroméningées des patients VIH, en cas d'échec clinique ou de résistance au fluconazole. Une adaptation posologique du PCZ grâce au STP plasmatique est cependant nécessaire compte tenu de la biodisponibilité variable et des interactions médicamenteuses potentielles.

503/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Traitement de sauvetage chez des patients infectés par le VIH en impasse thérapeutique complète : intérêt de schémas avec les nouveaux antirétroviraux darunavir, étravirine, et/ou raltégravir

S. Boucherit[3-2], O. Mounoury[1], V. Guiyedi[3-2], P. Longuet[2], J.L. Ecobichon[3-2], T. Jovelin[1], F. Raffi[1], C. Leport[3-2]
[1]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Nantes, Hôtel Dieu, Nantes [2]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Xavier Bichat, APHP [3]Laboratoire de Recherche en Pathologie Infectieuse, Université Diderot-Paris 7, Site Xavier Bichat, Paris, France

Introduction : De nouveaux antirétroviraux (ARV), darunavir (D), etravirine (E) et raltégravir (R) ont été mis à disposition récemment. Cette étape pourrait ouvrir de nouvelles perspectives thérapeutiques chez des patients infectés par des souches de VIH multi -résistantes, en impasse thérapeutique.

Patients et Méthodes : Etude rétrospective décrivant la réponse immuno-virologique chez des patients, infectés par le VIH-1, en impasse thérapeutique complète. Celle-ci était définie comme l'impossibilité de proposer un schéma constitué d'au moins trois ARV actifs chez un patient ayant eu des échecs thérapeutiques multiples. Les patients ont été traités par un schéma associant 1, 2 ou 3 de ces nouveaux ARV, avec des ARV restant actifs. Les données ont été recueillies avant l'initiation du traitement (M0), puis à M2, M4, M6 et M12.

Résultats : Entre le 27/06/2006 et le 14/01/2008, vingt trois patients (âge moyen 49 ans), ont été traités avec ces nouveaux ARV. Ils avaient des CD4 médians à 177/mm^3 [0-604] et une charge virale (CV) médiane à 21 000 [96-1 200 000] copies /ml à M0. Quatorze sur vingt trois (61%) étaient au stade SIDA. Après 13 ans [8-17] de traitement, les patients avaient reçu entre 7 et 16 (41% et 88%) des 17 molécules disponibles et les virus étaient résistants aux 3 classes d'ARV. Depuis 1998, le temps cumulé passé avec une CV indétectable était inférieur à 12 mois chez 18/21 (86%) patients, dont 11(52%) n'avaient jamais eu une CV indétectable. Cinq sur vingt trois (22%) patients ont reçu un traitement ARV comportant D+E, 8/23 (35%) D+R, 9/23 (39%) D+E+R et 1/23 (4%) R. Aucun évènement SIDA n'est survenu. La CV était indétectable à M2 chez 14/21(67%) des patients et à M12 chez 11/14 (79%), trois patients étant en échappement. Le nombre médian de CD4 était de 158/mm^3 [5-528] à M2 et de 449/ mm^3 à M12.

Conclusion : Un schéma thérapeutique optimisé utilisant les nouveaux ARV en association, a permis une réponse précoce virologique et immunologique remarquable chez des patients en impasse thérapeutique complète, quoiqu'un échappement puisse apparaître ensuite. Ces observations suggèrent que ces nouveaux schémas devraient être proposés comme alternative de sauvetage pour ces patients, sous réserve d'une observance et d'un suivi appropriés.

504/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Echec de la miltéfosine dans le traitement préventif des rechutes de leishmaniose viscérale : données cliniques et *in vitro* chez un patient co-infecté par le VIH

S. Houzé[4], P.M. Loiseau[2], D. Haouchine[4], S. Lariven[5], S. Cojean[2], F. Michard[5], C. Bories[2], A. Izri[1], F. Pratlong[3], J. Le Bras[4-1], S. Matheron[5]
[1]Laboratoire de Parasitologie, AP-HP Hôpital Avicenne, Bobigny [2]Groupe Chimiothérapie Antiparasitaire, UMR 8076 CNRS, Université Paris Sud 11, Chatenay Malabry [3]CNR des Leishmania, Université Montpellier 1, Montpellier [4]Laboratoire de Parasitologie [5]Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, AP-HP Hôpital Bichat, Paris, France

Objectif : Décrire les données cliniques et les résultats de sensibilité *in vitro* dans un cas de co-infection leishmaniose viscérale/VIH traité depuis 1998 en alternance par amphotéricine B liposomale et miltefosine, en traitement curatif et prophylactique des rechutes.

Méthode : Suivi clinique et biologique, en particulier parasitologique (leucoconcentration, [examen direct et culture], sérologie) trimestriel, et en cas de signes cliniques et biologiques de rechute (myélogramme avec culture) d'une patiente d'origine algérienne infectée par le VIH-1 depuis 1991, et traitée depuis 1998 pour leishmaniose viscérale. Les sensibilités des différents isolats de cette souche ont été étudiées *in vitro* dans un modèle promastigote vis à vis de l'amphotéricine B et de la miltéfosine.

Résultats : La souche isolée par leucoconcentration et myélogramme appartient à l'espèce *Leishmania infantum*, zymodème MON-24. Après le diagnostic initial et un traitement par Ambisome^{O}, en raison d'une contre-indication au Glucantime^{O}, plus de 10 épisodes de rechutes ont été documentés, avec atteinte médiastinale et rénale, traités par cures d'Ambisome^{O} ou de miltéfosine. Ces rechutes sont survenues malgré un bon contrôle immuno-virologique de l'infection par le VIH-1 par une trithérapie antirétrovirale, et un traitement préventif des rechutes de leishmaniose viscérale par Ambisome^{O}, ou miltéfosine. L'étude des CI_{50} montre une évolution de la sensibilité des isolats au cours du temps avec l'apparition d'une diminution de sensibilité à la miltéfosine.

Conclusion : Ces données documentent l'émergence possible d'une diminution de sensibilité *in vivo* et *in vitro* à la miltefosine sous traitement d'entretien, et montrent que l'étude de la sensibilité *in vitro* des leishmanies est un outil précieux à la décision thérapeutique. La place de la miltéfosine dans l'arsenal thérapeutique de la leishmaniose viscérale du sujet co-infecté par le VIH, en traitement d'attaque et d'entretien reste à définir, ainsi que ses modalités d'administration, seule ou en association.

505/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

A propos d'un cas de résistance du VIH à une première ligne de traitement : apparition rapide d'une mutation k65r/k sur la transcriptase inverse virale sous Kivexa et Reyataz/R

M. Macé[1], M.F. Barrault[2], D. Demuez[1], C. Gaudy[4], J.M. Poirier[3], P. Arsac[2]
[1]Pôle de Biopathologie [2]Service de Médecine Interne, CHR, Orléans [3]Service de Pharmacologie, CHU Saint Antoine, Paris [4]Service de Bactériologie et Virologie et Centre National de Référence du VIH, CHRU, Tours, France

Nous rapportons l'émergence rapide d'une mutation M184I/M puis d'une mutation K65R/K sur la reverse transcriptase virale, chez une patiente infectée par une souche VIH-1 sous-type CRF02_AG, sous une trithérapie associant Kivexa® (Abacavir 600mg/Lamivudine 300mg) et Reyataz® (Atazanavir 300 mg) plus Norvir® (Ritonavir 100 mg).

Cette patiente, originaire du Ghana, était à notre connaissance naïve de traitement à la découverte de sa séropositivité en juillet 2005. A l'initiation du traitement en septembre 2007, elle présentait des CD4 à 280 /mm3 à et une charge virale plasmatique à 5.67 log cop/ml. Le séquençage des deux régions reverse transcriptase et protéase du virus ne montrait aucune mutation majeure mais un polymorphisme lié au sous-type CRF02_AG sur la protéase. La cinétique des charges virales a d'abord connu une décroissance puis une stagnation aux alentours de 2,5 log cop/ml. Le séquençage du prélèvement correspondant au 8è mois de traitement (M8) a montré l'apparition de 2 mutations sous forme de double population M184I/M et K65R/K sur la reverse transcriptase, et aucune mutation majeure sur la protéase. Quatre prélèvements intermédiaires disponibles ont alors été rétrospectivement examinés, ce qui a permis de dater l'apparition successive d'une mutation M184I/M à M3 puis d'une K65R/K à M5 et de constater que les doubles populations se sont maintenues jusqu'à M8. Parallèlement, les dosages d'atazanavir et de ritonavir effectués rétrospectivement sur 3 prélèvements à M1, M3 et M5 ont montré des concentrations efficaces. Les séquences obtenues pour les 6 souches correspondant aux prélèvements séquentiels ont étés alignées dans le logiciel BioEdit. Un arbre phylogénétique a été construit grâce au logiciel Méga 4.1 permettant de comparer ces séquences à d'autres séquences de même sous-type circulant dans la même région géographique (région Centre) et à des séquences de référence issues du site

http://www.hiv.lanl.gov/. Les 6 séquences sont regroupées dans le même embranchement. L'hypothèse d'une surinfection par une souche résistante peut donc être exclue. Un clonage réalisé sur les prélèvements séquentiels, avant et pendant le traitement, pourrait être envisagé pour décrire la cinétique d'émergence des variants mutés.

506/78A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Pratiques et facteurs de risques liés à une pathologie du voyageur infecté par le VIH

C. Couzigou[1-2], P. Bourée[1], C. Voyer[2], D. Vittecoq[2]
[1]Maladies Parasitaires et Tropicales, AP-HP, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre [2]Maladies Infectieuses et Tropicales, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

L'objectif de cette étude a été d'identifier, au sein d'une file active hospitalière, les pratiques, les pathologies du voyageur VIH à l'étranger et leurs facteurs de risque. Parmi les 203 sujets inclus, 107 (53%) ont voyagé à l'étranger en 2006. Seul le dernier voyage a été décrit.

Ces sujets étaient surtout des hommes (83%), âgés en moyenne de 48 ans, contaminés le plus souvent par voie homosexuelle (57%) ou hétérosexuelle (28%), et originaires de France (75%) ou d'un pays d'Afrique subsaharienne (14%). La moyenne des CD4 était de 409/mm^3 (déviation standard [DS]±217) et la charge virale souvent indétectable (70%). Les destinations principales ont été un pays d'Europe (38%) ou un pays en zone tropicale (36%) et la durée moyenne de séjour était de 30,8 jours (DS±53). Seuls 30% des sujets ayant voyagé en zone d'endémie palustre ont pris une chimioprophylaxie adéquate. Une moustiquaire ou des répulsifs ont été utilisés dans respectivement 23% et 55% des cas. Des précautions vis-à-vis de la nourriture (toujours cuite et chaude) et de l'eau (ébullition, consommation d'eau en bouteille capsulée ou utilisation de pastilles) ont été prises dans 53% et 63% des cas. Quand il était indiqué, le vaccin antiamaril était à jour dans 71% des cas. Près d'un tiers des voyageurs en zone tropicale a été malade pendant ou au retour. Quelle que soit la destination, 11% des sujets a décrit une pathologie pendant le voyage et 16% au retour.

Les 3 principales pathologies ont été une diarrhée, une affection des voies aériennes, et une fièvre d'origine indéterminée. En analyse univariée, l'âge, le sexe, le mode de contamination, le pays de naissance, le taux de CD4, la charge virale, la durée du séjour et un voyage en zone tropicale étaient associés à une pathologie pendant ou au retour du voyage. En analyse multivariée (régression logistique), seuls une contamination hétérosexuelle (OR=9,3 intervalle de confiance [IC]:1,5-56,7), un séjour en zone tropicale (OR=6,4;IC:1,3-31,9) et une charge virale VIH détectable (OR=6,0, IC:1,3-28,2) étaient associés à une pathologie.

L'information sur les risques liés au voyage et leur prévention doivent être renforcés. Le risque de pathologie liée au voyage chez le sujet VIH dépend du mode de contamination, de la destination et de la charge virale.

507/78A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prévention des risques d'exposition aux infections des praticiens de santé au Burkina Faso : étude à propos de 200 agents de santé

I. Zabsonre, T. Tranh-Minh
Médecine Interne, CHU Yalgado Ouédraogo, Ouagadougou, Burkina Faso

Contexte : Le BURKINA FASO reste un des pays les plus touchés en Afrique de l'Ouest même si la prévalence semble en baisse dans les zones urbaines. Le taux de prévalence actuellement admis est estimé à 2% dans la population adulte de 10 à 49 ans. Des formations en cascade ont été entreprises au bénéfice des agents de santé. Mais qu'en est-il de la réalité sur le terrain dans l'application des consignes ? Notre étude se propose de jeter un regard sur les pratiques et d'étudier les réussites et les points à améliorer afin de réduire l'incidence des infections au sein des agents de santé.

Méthode : L'étude transversale descriptive a consisté à soumettre aux agents de santé rencontrés dans leur lieu de travail une fiche de collecte. Elle s'est déroulée à Ouagadougou et dans deux autres villes du pays à savoir Bobo-Dioulasso et Ouahigouya selon l'échantillonnage établit.

Résultats : L'age moyen des agents est de 33,6 +/- 6,6 ans avec des extrêmes de 23 ans et 58 ans. Nous avons rencontré 83 (41,5%) femmes et 117 (58,5%) hommes. L'expérience professionnelle dans la fonction des agents est en moyenne de 6,7 ans. Les agents rencontrés sont majoritairement des infirmiers (45,5%). Nous retrouvons dans notre étude 181 agents de santé (93,3%) qui sont régulièrement en contact avec le sang ou des liquides biologiques contenant visiblement du sang. Les agents de santé réalisent dans 92,7% (165 agents) des cas des actes invasifs réguliers. Nous remarquons à travers ces résultats que 96 agents de santé portent toujours des gants lors des prélèvements veineux. Dans notre étude, 141 agents de santé (71,60%) n'ont jamais été formés sur les AES. Les agents de santé ne sont pas vaccinés contre le virus de l'hépatite B dans 59,5% des cas. Dans notre étude 92 agents de santé (47,2%) ont été victimes d'un AES. Les agents victimes d'AES l'ont été en moyenne une (01) fois ces 06 derniers mois. Nous remarquons que 56,8% des victimes d'AES ont une expérience professionnelle inférieure à 05 ans. L'étude nous montre que les agents de santé d'age supérieur à 40 ans sont moins victime d'AES. Cependant, les cas d'AES sont plus retrouvés chez les agents qui ont un age entre 30 et 39 ans. L'incidence des AES chez les agents de santé est de 0,92 AES/agent/an. Le taux de piqûre en cas de gestes invasifs dans notre étude est estimé à 47-57 / 100 000 gestes. La majorité des agents de santé (58,4%) n'ont pas consulté un médecin après l'accident. La plupart des services oû travaillaient les agents (63,3%) disposent d'un circuit permettant une prise en charge des accidents. Le traitement dans ces services est facilement disponible en urgence dans chez 90 agents de santé. Pour le VIH, la plupart des agents ne savent pas estimer le risque après piqûre avec une aiguille souillée (85 agents). Notons que 21% des agents estiment que l'identification des prélèvements des patients séropositifs (par une étiquette rouge) est une mesure de prévention des AES.

Conclusion : Les AES sont une réalité chez les agents de santé. Les résultats de cette étude nous montrent qu'il y'a un manque d'information et de formation et des agents. Aussi un dispositif adéquat dans chaque service de prévention et de prise en charge doit être institué.

508/78A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Cost of management *versus* reimbursement cost of the management of patients with solid tumors presenting a febrile neutropenia

I. Borget[2], S. Baillot[2], O. Bogillot[1], S. Antoun[3], D. Vittecoq[4], M. Merad[3]
[1]Amgen France [2]Department of Health Economy [3]Emergency Department, Institut Gustave Roussy [4]Department of infectious Diseases, Paul Brousse Hospital, Villejuif, France

Background: Febrile neutropenia (FN) is a common side effect of cancer chemotherapy, which significantly increases the global cost of management of patients with solid tumors. Standard clinical treatment of FN consists of either immediate hospitalization or ambulatory treatment, depending on the patient's risk of complications and co-morbidities (evaluated by the MASCC (Multinational Association for Supportive Care in Cancer) score). The objective of this study was to evaluate the budgetary impact of inpatient management of patients presenting with FN.

Methods: The study prospectively included 102 consecutive patients with a solid tumor presenting to the emergency department with FN between March and October 2006 at the Institut Gustave Roussy and who were treated in usual clinical practice.

Costs were analyzed from the hospital perspective. The cost of each stay was extracted from the hospital cost accounting system. It was compared to the reimbursement tariff received by the hospital for the management of each stay. The observed length of stay was also compared to the mean length of stay in the Diagnosis Related Group (DRG) where the stay was classified.

Results: The mean age of the 102 patients included was 50.7 ± 14.7 years. 68 patients (66.6%) were women. For all patients, FN followed the administration of chemotherapy. 14 (13.7%) patients were treated as an outpatient and were excluded from this analysis. The mean length of stay of the 88 inpatient was estimated at 6.2 ± 7.2 days. The mean cost per stay was estimated at 6096 €, whereas the mean tariff reimbursement was 5125 €.

Conclusion: On average, the management of inpatients with FN is in deficit by 971 € per stay at Institut Gustave Roussy. Five specific stays were largely responsible for the global deficit, as the length of stay was longer than that specified in the DRG.

509/78A 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Acceptabilité du dépistage rapide du VIH dans un service d'urgence hospitalière d'île-de-France

H. Ichou, A.M. Simonpoli, F. Nikpay, E. Mortier
Hôpital Louis Mourier (APHP), Colombes, France

Introduction : Cette étude vise à évaluer l'acceptabilité par les consultants adultes aux urgences hospitalières d'une proposition systématique de dépistage du VIH à l'aide de tests rapides.

Matériel et méthodes : Proposition systématique à tout patient adulte venant aux urgences et ayant nécessité d'un prélèvement sanguin, de réaliser un dépistage du VIH. Etude prospective monocentrique.

Résultats : Parmi les 579 patients éligibles, 511 (88%) ont accepté le dépistage. Plus de la moitié des consultants n'avaient jamais réalisé de dépistage du VIH antérieurement. Environ 16% des patients qui ont accepté le dépistage rapide avaient au moins une conduite à risque vis à vis du VIH et 43% d'entre eux n'avaient jamais réalisé de test du VIH. Trois tests de dépistage rapide du VIH sont revenus positifs. Pour un patient il s'agissait d'une découverte de l'infection par le VIH et pour les deux autres patients d'une séropositivité niée mais antérieurement connue. Deux sur trois étaient originaires d'Afrique et le troisième avait des pratiques homosexuelles masculines. Tous les patients ont reçu leur résultat oralement avant leur sortie du service des urgences.

Discussion-conclusion : La réalisation du dépistage du VIH par un test rapide est bien acceptée par la population qui consulte aux urgences. La sélection de patients par quelques questions simples permettrait de pouvoir proposer le dépistage à des personnes « à risque » jamais dépistées.

510/78A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Pour une prise en charge ambulatoire des neutropénies fébriles : à partir de l'expérience du service des urgences dans un institut de cancérologie

M. Merad[3], G. Chenuc[1], B. Gachot[3], P. Pautier[3], M. Dipalma[3], S. Antoun[3], D. Vittecoq[2], P. Ruffié[3]
[1]3ES/CSD, Boulogne-Billancourt [2]Services de maladies infectieuses, Hôpital Paul Brousse [3]Institut de cancérologie Gustave Roussy, Villejuif, France

Introduction : Les neutropénies fébriles (NF) post chimiothérapie sont un motif fréquent d'hospitalisation en raison des complications infectieuses quelles engendrent. Pour déterminer le risque de survenue de ces complications, et donc de la nécessité de l'hospitalisation, il existe des scores basés sur des paramètres cliniques simples. Le score le plus utilisé, validé sur le plan international, est celui du MASCC, qui lorsqu'il est > 21 permet d'identifier la population de patients à bas risque de complications, et qui par ce fait pourraient alors être pris en charge en ambulatoire.

Objectif : Analyser la prise en charge des NF au service des urgences d'un institut de cancérologie en tenant compte du risque de complications tel qu'il est donné par le MASCC. L'objectif de cette analyse est de définir des procédures qui tiennent compte des recommandations internationales afin de standardiser la prise en charge et en particulier l'ambulatoire.

Matériels et Méthodes : Etude descriptive prospective des patients consultants aux urgences pour NF, sur une période de 6 mois.

Résultats : 131 patients ont été inclus. La moyenne d'âge était de 52 ans (18%>65) dont 65% de femmes. Les patients vivaient seuls dans 21% des cas. Ils étaient suivis dans 81% des cas pour une tumeur solide et dans 19% il s'agissait d'hémopathie maligne. Le type de cancer le plus fréquemment retrouvé était : cancer du sein 33%, gynéco-urinaire 19%, sarcome 16% et cancer du poumon dans 11% des cas. Les patients recevaient un traitement par G-CSF dans 30% des cas. Un antécédent de neutropénie fébrile est retrouvé dans 25% des cas. La mucite était présente dans 8% des cas. La majorité des patients (88%) ont été hospitalisés et 82% d'entre eux avaient un score de bas risque tel qu'il est défini par le MASCC (>21). La durée moyenne de séjour était de 5 jours. Des complications sans gravité ont été constatées dans 20% des cas, 16% chez les bas risques versus 38% chez les hauts risques de complications. Cinq décès ont été enregistré, tous parmi ceux à haut risque.

Conclusion : La majorité des patients a été hospitalisée alors que 82% d'entres eux présentaient un score de bas risque de complications et par conséquent auraient pu être traités en ambulatoire. Les complications graves sont toutes survenues chez ceux identifiés à haut risque de complications. Le faible taux de complications chez ceux à bas risque nous incite à standardiser la prise en charge ambulatoire.

511/79A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Etat actuel de la brucellose dans une région de l'Ouest Algerien : 415 cas

N.F. Tabet-Derraz[2], N. Mouffok[1]
[1]Maladies Infectieuses, Oran [2]Maladies Infectieuses, CHU, Sidi-Bel-Abbés, Algérie

Introduction : La brucellose est une anthropozoonose qui pose un problème économique et de santé publique mondiale et en particulier en région méditerranéenne. Sévit surtout en milieu rural.

Objectif : Décrire les aspects actuels épidémiologiques et cliniques de la brucellose dans notre région.

Patients et méthodes : Etude rétrospective de 415 cas de brucellose durant la période allant de janvier 2005 à août 2008, hospitalisés au niveau du service des maladies infectieuses du Centre Hospitalo-universitaire de la ville Sidi Bel Abbés, région d'agriculture et d'élevage située à l'ouest algérien à 80 Km d'Oran. Le diagnostic a été évoqué devant une fièvre, la notion de contact avec le bétail ou de consommation de lait cru et dérivés. La confirmation a été obtenue par la sérologie de Wright ≥ 1/80 dans tous les cas et dans un cas par isolement de *Brucella melitensis* à partir des hémocultures.

Résultats : Parmi les 415 cas colligés, 270 cas étaient de sexe masculin, avec un sex-ratio de 1,8 la moyenne d'âge de 40 ans, la profession d'agriculteur et d'éleveur qui ressortait, la consommation de lait de chèvre qui prédominait. L'affection était retrouvé durant tous les mois avec un pic des cas en Avril Mai-Juin et une incidence moyenne annuelle de $15/10^5$ habitants. La symptomatologie clinique était polymorphe allant de la forme pauci symptomatique chez 80 cas (19%), la forme sudoro-algique chez les 300 cas (72%) aux formes trompeuses et compliquées souvent révélatrices de la maladie dominées par les localisations osseuses, 25 cas de spondylodiscites (6,02%) et 10 cas de neurobrucellose (2,5%). La durée moyenne de l'hospitalisation étant de 03 jours ou plus si localisations. Le traitement a été à base de Vibramycine associée soit à la Rifampicine ou Gentamycine.

Conclusion : La brucellose est une infection répandue à Sidi Bel Abbés. La notion de profession exposée, en période printanière a été clairement retrouvée. La possibilité de localisations secondaire est prouvée. La déclaration de la maladie dans un but de faire régresser la pathologie est indispensable vu son impact économique et social.

512/79A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Meningite à *Pasteurella multocida* : à propos d'un cas et revue de la littérature

E. Piednoir, P. Busson, N. Godde, Y. Perier, P. Deprez, G.C. Borderan
Centre Hospitalier d'Avranches-Granville, Granville, France

Objet de l'étude : Les méningites à *P. multocida* sont exceptionelles. Le but de ce travail est de présenter un cas survenu dans notre centre hospitalier.

Méthode : Une description clinico-biologique a été réalisée. Une revue de la littérature a été réalisée sur PubMed en utilisant les mots clés suivants : « meningitidis », *« Pasteurella multocida »*, « central nervous system infection ».

Résultat : Un patient de 69 ans a été admis dans un tableau de céphalée fébrile associée à des nausées, vertiges et douleur épigastrique. Parmis ses antécédents, nous notons une sinusite chronique non traitée et la présence d'un animal de compagnie ; le patient se faisant en effet régulièrement lécher le visage par son chien. Le diagnostic de méningite a été porté sur la clinique et documenté par une ponction lombaire contributive : protéinorachie 2,23g/L, glycorachie à 3,1 mmol/L et leucocytes à $6000/mm^3$. Sur le plan bactériologique, *P. multocida* de phénotype sauvage a été isolée. Le scanner cérébral objectivait une polypose nasosinusienne majeure touchant les sinus maxillaire, ethmoidal et sphénoidal constituant vraissemblablement la porte d'entrée de cette méningite. Le patient a été traité avec succès par du Cefotaxime 2g 4/jour pendant 15 jours. Un traitement de type corticoïde-anti-histaminique a été instauré au long cours et le patient avec un recul de 6 mois a très bien récupéré sans séquelles.

Conclusion : Les méningites à *P.multocida* sont exceptionnelles. En effet, nous dénombrons dans la littérature internationale une trentaine de cas rapportés chez l'adulte. La mortalité de ce type de méningite est élevée puisque de l'ordre de 25%. Parmi les portes d'entrée les plus fréquentes, nous retrouvons la notion de contact rapproché, griffure ou morsure animale. En effet, cette bactérie est commensale des voies respiratoires hautes de nombreux animaux (chien, chat, cochon, rats....). Enfin, les pathologies ORL représentent des rares opportunités de méningites à *P. multocida* puisque nous avons recensé 4 cas publiés. Ce cas serait le premier cas pulbié de méningite à *P.multocida* d'origine sinusienne.

513/79A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Diagnostic de tularémie : de l'importance du dialogue clinico-biologique

J. Exinger[2], P. Hassler[3], B. Jaulhac[4], M. Maurin[1], A. Heidt[2]
[1]Centre National de Référence des Francisella, Centre Hospitalier Universitaire, Grenoble [2]Fédération de Biologie [3]Médecine Interne, Centre Hospitalier, Haguenau [4]Laboratoire de bactériologie, Centre Hospitalier Universitaire, Strasbourg, France

Objectif : La tularémie humaine, infection provoquée par *Francisella tularensis*, est une zoonose peu fréquente en France et de diagnostic délicat. Nous rapportons ici un cas de tularémie de présentation clinique atypique dont le diagnostic a pu être posé après un dialogue clinico-biologique fructueux.

Méthodes : Description clinique et biologique de l'observation

Résultats obtenus : Le cas est survenu chez un homme âgé de 38 ans, hospitalisé pour syndrome infectieux d'origine indéterminée associant une fièvre ondulante à 39,5°C, des sueurs profuses, une asthénie et des arthralgies diffuses, sans adénopathies.

Le patient est en contact fréquent avec des chèvres et relate deux morsures de tiques survenues dix jours avant l'apparition des premiers symptômes ; l'examen cutané est cependant normal. La présentation clinique fait dans un premier temps évoquer une brucellose, exclue par la suite par un sérodiagnostic négatif.
Un traitement par Ofloxacine permet une amélioration rapide de l'état clinique.

Après concertation clinico-biologique, il est décidé de prolonger l'incubation des trois trains d'hémocultures prélevés lors des accès fébriles. Une croissance bactérienne est détectée dans un flacon aérobie au bout de dix jours et met en évidence de petits cocco-bacilles à Gram négatif aérobies ne cultivant que sur gélose enrichie de type chocolat. L'absence d'uréase et le contexte clinique nous font alors suspecter une *Francisella*, dont l'identification est réalisée à l'aide d'une carte Vitek GN puis confirmée par PCR.

Conclusion : Cette observation montre l'importance du dialogue entre cliniciens et biologistes. Ainsi, la connaissance du contexte clinique et épidémiologique a permis le diagnostic de ce cas inhabituel de tularémie, qui correspond à une forme typhoïdique, sans porte d'entrée identifiée. Le patient ne pratiquant pas la chasse, il est vraisemblable en zone d'endémie que les morsures de tiques rapportées par le patient soient à l'origine de sa contamination.

Bien que rare en France, la tularémie reste une pathologie sous-évaluée, dont le diagnostic est primordial notamment pour la détection d'éventuels foyers épidémiques.

514/79A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Infection sous-cutanée à *Aggregatibacter actinomycetemcomitens*

O. Simon[2], A.L. Blanc[2], X. Lemaire[2], L. Dubreuil[2], M. Caillaux[1], E. Senneville[2], Y. Yazdanpanah[2], L. Legout[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Maladies Infectieuses et du Voyageur, CH Dron, Tourcoing, France

Nous rapportons le cas d'un patient âgé de 46 ans, aux antécédents d'intoxication alcoolo-tabagique, dont l'état bucco-dentaire est précaire, sans soin odontologique récent, qui a présenté sept abcès des tissus mous à *Aggregatibacter actinomycetemcomitens* (ex *Actinobacillus*)

Les lésions sont apparues successivement en 10 jours, le patient n'a présenté une hyperthermie que vers les derniers jours, motivant une prise en charge hospitalière.

Les lésions siégeaient au niveau de la face antérieure du quadriceps gauche, triceps brachial gauche, éminence hypothénar gauche avec nécrose cutanée en regard, nucal, deltoïde droit, région péri-ombilicale et muscle jumeau interne gauche.

Il n'existait pas d'autres localisations septiques. (radiographie de thorax sans particularité, absence d'endocardite à l'échocardiographie trans-oesophagienne, normalité du bilan rénal et hépatique, absence de déficit focal et de syndrome pyramidal à l'examen neurologique)

Un traitement par pristinamycine à la posologie de 1gx3 par jour était initié, qui, associé à la prise en charge chirurgicale, permettait d'obtenir l'apyrexie en 48 heures. L'abcès du muscle jumeau interne n'était pas évacué.

L'examen direct du liquide purulent retrouvait de fins bacilles à Gram négatif. Nous avons alors évoqué une infection à *Burkholderia pseudomallei* et débuté un traitement par ceftazidime à la dose de 1gx3 par jour. Cependant, les cultures sur milieux standards sont restées négatives.

Une bactérie du groupe HACCEK, *Eikenella corrodens*, était suspectée devant une croissance lente sur gélose chocolat en atmosphère enrichie en CO2 et une forte adhérence au milieu de culture. La ceftazidime était relayée par l'amoxicilline à la posologie de 1gx3 par jour.

La caractérisation biochimique permettait d'identifier *Aggregatibacter actinomycetemcomitens*. (oxydase -, catalase +, production d'indole -, réduction des nitrates +, hydrolyse de l'esculine -)

A J15, malgré la diminution des signes inflammatoires locaux, il persistait une collection du muscle jumeau interne, non cloisonnée. L'amoxicilline a enfin été relayée par la Lévofloxaxine à la posologie de 500mg par jour.

Le patient doit bénéficier prochainement d'une échographie de contrôle et d'un bilan stomatologique.

Notre observation est originale de par la topographie des multiples lésions des tissus mous sans atteinte viscérale associée, et nous n'avons retrouvé que peu de cas d'infection sous-cutanée à *Aggregatibacter actinomycetemcomitens* décrits dans la littérature.

515/79A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Diagnostic de la tuberculose ganglionnaire en Tunisie

C.H. Marrakchi[1], I. Maâloul[1], D. Lahiani[1], B. Hammami[1], T. Boudawara[2], M. Ben Jemâa[1]
[1]Service des maladies infectieuses, CHU Hedi Chaker [2]Service d'anatomopathologie, CHU La Hbib Bourguiba, Sfax, Tunisie

L'atteinte ganglionnaire occupe dans notre pays le premier rang des localisations tuberculeuses extra pulmonaires. Le caractère pauci bacillaire de cette atteinte donne une place majeure à l'étude cytohistologique dans le diagnostic de cette entité.

Notre but est d'évaluer le rendement de la microbiologie standard, de la cytologie et de l'anatomopathologie dans le diagnostic de la tuberculose ganglionnaire périphérique.

C'est une étude rétrospective, réalisée entre 2002 et 2007. Elle a inclus tous les cas de tuberculose ganglionnaire périphérique. Tous les malades ont bénéficié d'une étude bactériologique et d'une étude cytologique et/ou histologique d'un ganglion atteint. Le diagnostic de tuberculose ganglionnaire a été confirmé par l'isolement du *Mycobacterium* du complexe *tuberculosis* au niveau ganglionnaire ou par la détection à ce niveau d'un granulome tuberculoïde associé à de la nécrose caséeuse. Ce diagnostic à été aussi retenu si la microbiologie était négative et si l'analyse cytologique et/ou histologique montre le granulome tuberculoïde sans nécrose caséeuse, mais avec des signes cliniques d'imprégnation tuberculeuses, une IDR (+) et une évolution favorable sous antituberculeux.

50 patients âgés en moyenne de 37 ans ont été inclus dans cette étude. L'examen direct après coloration de Ziehl et la culture sur milieu de Lowenstein n'ont été positives sur les prélèvements ganglionnaires que respectivement dans 29,7 et 10,8% des cas. Le diagnostic a été confirmé par l'étude cytologique après aspiration à l'aiguille dans 31,3% des cas (10/32) et par l'étude histologique dans 58,6% des cas (27/46). Le rendement de ces deux moyens diagnostique a été de 46,8% (15/32) pour la cytologie et de 76% (35/46) pour l'histologie si on ajoute, aux cas confirmés, les patients pour lesquels seul le granulome tuberculoïde a été objectivé.

Notre étude confirme la faible sensibilité diagnostique de la microbiologie standard dans les adénites tuberculeuses et la nécessité de la PCR comme technique de routine pour cette localisation. La cytologie après aspiration à l'aiguille reste préconisée de 1ère intention dans les pays de forte endémicité surtout du fait de sa facilité et de sa rapidité. Elle sera complétée par la biopsie chirurgicale en cas de doute diagnostique.

516/79A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Infection urinaire à *Actinobaculum schaalii* : à propos d'un cas

J.M. Garnier[2], P. Riegel[4], P. Villena[3], V. Duval[1], V. Vernet-Garnier[1]
[1]Bactériologie, CHU Robert Debré [2]Bactériologie, LABM Gillard [3]Urologie, Polyclinique de Courlancy, Reims [4]Bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

Nous rapportons une description d'infection urinaire à *Actinobaculum schaalii*, rare mais non négligeable, en rappelant les caractéristiques bactériologiques et la sensibilité aux antibiotiques de cette bactérie.

Clinique : Enfant de 13 ans sans antécédents, vu en consultation pour pesanteur pelvienne, pollakiurie modérée, discrètes brûlures mictionnelles, présentant de plus une baisse de l'appétit et du tonus.

L'ECBU révèle une leucocyturie sans bactériurie, avec sur le culot urinaire des bacilles à Gram positif observés au microscope, non isolés sur les cultures standards. Après enrichissement, la culture met en évidence un *A. schaalii* (>10^6 CFU/ml). Un traitement par amoxicilline 2 g/j est prescrit pendant 10 jours. L'évolution clinique est bonne, mais lors d'un ECBU de contrôle 2 mois plus tard, la même bactérie est isolée (10^4 CFU/ml). L'enfant est adressé à un urologue qui au vu de l'uroscan, constate un épaississement notable de la paroi vésicale surtout au niveau du dôme. Un 2ème ECBU de contrôle à J30 isole 5.10^4 *A. schaalii* / ml. Devant cette bactériurie asymptomatique sans leucocyturie, aucune antibiothérapie n'est prescrite et il est prévu de réaliser une cystoscopie avec une biopsie en cas de réapparition des signes cliniques. Après un an de recul, aucune rechute n'a été constatée et le diagnostic clinique de l'infection urinaire de cet enfant reste en suspens.

Bactériologie : Identification bactérienne : l'isolement des colonies n'a été possible qu'après avoir ensemencé l'urine sur un milieu enrichi (gélose au sang cuit). Les colonies ne poussent qu'en 48 à 72 H en anaérobiose avec des bacilles à Gram +, non sporulés, +/- coccoïdes, polymorphes et corynéformes (photos) : bactérie sans catalase, ni uréase (excluant une corynébactérie, dont *C. urealyticum*) très lipophile, sensible au composé O129 et dont le résultat du Camp test est négatif. La galerie d'identification Api Coryne (bioMérieuxâ, France) n'a pas permis de trancher entre *Corynebacterium*, *Gardnerella* et *Arcanobacterium.* Le séquençage de l'ARN 16S identifie une souche d'*A. schaalii.*

Trois espèces sont décrites à l'heure actuelle, toutes isolées dans des cas d'infections urinaires.

Sensibilité aux antibiotiques : cette souche est sensible aux b-lactamines, aminosides, macrolides et apparentés, rifampicine, cotrimoxazole et glycopeptides.

Conclusion : Cette observation montre l'importance capitale de l'examen direct (coloration de Gram) sur les urines en cas de leucocyturie significative sans bactériurie sur les milieux de culture standard : seule sa réalisation a permis d'entreprendre des cultures adaptées avec une durée d'incubation supérieure à 24 heures. La croissance lente associée à une identification délicate font *d'A. schaalii* une bactérie probablement sous-estimée dans les infections du tractus urinaire, en particulier chez l'enfant où son isolement est exceptionnel. Sur le plan clinique, il est à noter la persistance possible de ce type de bactérie, nécessitant un suivi clinico-biologique prolongé même après une antibiothérapie adaptée.

517/79A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Infections à *Mycoplasma pneumoniae* : étude prospective à Tunis de 2005 à 2008

A. Touati[2], W. Achour[2], S. Pereyre[1], N. Ben Jaballah[3], C.M. Bébéar[1], A. Ben Hassen[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie EA3671, Infections humaines à mycoplasmes et Chlamydiae, Université Victor Segalen Bordeaux 2 et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France [2]Service des Laboratoires, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse [3]Service de Réanimation Polyvalente, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunis, Tunisie

Objectif : *Mycoplasma pneumoniae* (Mpn) est responsable de 15 à 20% des pneumopathies communautaires chez l'enfant de plus de 5 ans et chez l'adulte. La difficulté d'une discrimination purement clinique entre les infections à Mpn et les autres infections respiratoires (bactériennes ou virales) nécessite une confirmation bactériologique à un stade précoce de la maladie pour une prise en charge thérapeutique optimale. Notre objectif a été de rapporter l'incidence des infections à Mpn à Tunis.

Matériel et Méthodes : Une étude prospective a été conduite sur une période de 3 ans (2005-2008) et a concerné 399 enfants et nouveaux-nés hospitalisés, pour problèmes respiratoires, dans les services de réanimation polyvalente et de pédiatrie. Quatre cent trente-trois prélèvements (pvts) divers ont été collectés, essentiellement des pvts respiratoires (n = 428), et acheminés à notre laboratoire dans un milieu de transport (2SP). Ces pvts ont été analysés par PCR ciblant l'adhésine P1 et l'ARNr 16S de Mpn et par culture en milieu Hayflick glucosé. Cent cinquante-huit pvts respiratoires ont été vérifiés par PCR en temps réel, ce groupe comporte les pvts reçus pendant les 5 premiers mois de l'étude, ceux positifs à Mpn (diagnostic direct ou indirect) et ceux provenant d'enfants > 3 ans. Les anticorps IgM et IgG ont été recherchés dans les 426 sérums reçus (374 sérums isolés et 26 paires de sérums) par une

méthode ELISA.

Résultats : 67% des pvts analysés étaient des aspirations nasopharyngés. Huit pvts avaient une culture positive à Mpn (dont uniquement 6 détectés par PCR). La séroprévalence s'est chiffrée à 10,54% avec 4,5% signant une infection en cours à Mpn. En prenant la PCR comme seul test diagnostic, 25/433 pvts (5,8%) avaient une amplification Mpn positive. Trente-trois/399 patients étudiés (8,3%) ont pu être diagnostiqués avec une infection active à Mpn par PCR et/ou sérologie et/ou culture.

Conclusion : Notre étude a montré une incidence d'infection en cours à Mpn de 8,3%. La culture, technique de référence, est fastidieuse et donc pas adapté pour un diagnostic de routine. La recherche directe par PCR et la sérologie (IgM) chez l'enfant apparaissent être deux outils complémentaires qu'il est conseillé d'associer pour améliorer la sensibilité de détection.

518/79A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Pandémie grippale : exercice au CHU de Nîmes

A. Minchella[4], O. Onde[2], E. Vernes[2], G. Perrat[3], J. De La Coussaye[2], A. Sotto[4-1]

[1]Comité de Lutte Contre les Infections Nosocomiales [2]Division Anesthésie-Réanimation-Douleur-Urgence. SAMU30 [3]Mission Qualité [4]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Caremeau, Nîmes, France

Objectif : tester l'application des mesures barrière et l'organisation de l'établissement lors d'une pandémie grippale. Cet exercice s'inscrit dans une démarche éducative, en application du programme national de « formations Pandémie Grippale » et de l'annexe « Grippe » du Plan Blanc d'établissement.

Méthode : un exercice de terrain a été réalisé le 18/12/07 de 6 à 11 heures dans un secteur de haute densité virale et deux secteurs de basse densité. L'exercice s'appliquait à toute personne dans ces secteurs, sans perturber l'activité normale de soins.

Résultats : 245 personnes ont été évaluées. 75% du personnel avait suivi la « formation Pandémie » de l'établissement.

Les consignes concernant les mesures barrière ont été comprises par 67% des personnes. L'hygiène des mains était conforme aux procédures dans 32% des cas, correcte dans 44% et insuffisante dans 24%. L'application du masque était incorrecte dans 21% des cas. Ces mesures ont été perçues facilement supportables pour 36% du personnel, supportables mais pénibles pour 54% et difficilement supportables pour 10%.

La mauvaise étanchéité du masque FFP2 (dotation nationale) en rapport avec la morphologie du visage, sa mauvaise tolérance, le manque de points d'eau et le regroupement de personnes (ascenseurs,…) ont été notés.

Conclusion : l'exercice a été satisfaisant, avec une bonne participation des personnels et visiteurs, sans problème majeur dans l'organisation. Cependant, il a mis en évidence des dysfonctionnements inattendus comme l'application des mesures barrière. Par ailleurs, le masque FFP2 (type coque) n'était pas efficace pour l'ensemble du personnel, ce qui posera des difficultés en cas de pandémie. Il ne semble pas exister de masque adapté aux enfants. Enfin, cet exercice a permis d'orienter les actions correctives à mettre en œuvre et complète les différents « exercices sur table » réalisés dans d'autres établissements de soins.

519/79A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Intérêt de la C-réactive protéine dans le suivi thérapeutique des patients infectés

S. Hang[2], E. Cua[2], R. Farhad[2], A. Allieri-Rosenthal[1], P. Dellamonica[2], P.M. Roger[2]

[1]Immunologie [2]Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

La courbe thermique est un élément d'appréciation de l'efficacité thérapeutique chez les patients bénéficiant d'une antibiothérapie, tandis qu'une mesure régulière de la CRP est usuellement effectuée. Cependant aucune étude n'a mesuré l'intérêt du dosage de la CRP pour le suivi thérapeutique : il s'agit de l'objectif de notre étude.

Patients et méthode : Nous avons tiré au sort un échantillon de patients à partir du tableau de bord d'Infectiologie. Tous ont eu un diagnostic appartenant à un des 5 principaux groupes homogènes de malades d'infections communautaires, et ont bénéficié d'au moins 2 dosages de CRP. Les antibiothérapies et les comorbidités ont été répertoriées. La comparaison des courbes de température et de CRP a permis de définir les dissociations clinico-biologiques, l'analyse des dossiers permettant d'en trouver les causes.

Résultats : 392/942 patients (42%) admis de 2005 à 2007 étaient inclus, dont 147 infections respiratoires (37%), 91 infections urinaires (23%), 65 infections cutanées (17%), 70 bactériémies primaires (18%) et 19 infections digestives (5%). Il existait une concordance entre la courbe thermique et la CRP dans 83% des cas. Parmi les 67 patients présentant une dissociation clinico-biologique, 47 présentaient la persistance d'une CRP élevée alors que la température corporelle se normalisait (70%). Cette dissociation était due aux comorbidités dans 40% des cas, à un retard de normalisation de la CRP par rapport à la température dans 34% des cas, une abcédation dans 17% des cas, et à une étiologie virale dans 9% des cas. Chez 20 patients, la fièvre perdurait malgré une CRP normalisée : sa persistance ne trouvait aucune explication dans 35% des cas, était due au retard d'augmentation de la CRP par rapport à la température dans 30% des cas, étaient associées aux comorbidités dans 25% des cas, et à une infection virale dans 10% des cas. Les changements d'antibiothérapie étaient plus fréquents en cas de dissociation clinico-biologique (21% versus 6%, $p < 0.001$), de même que la durée d'hospitalisation tendait à être plus longue (10 versus 12 jours, $p = 0.061$).

Discussion : Chez plus de 80% des patients la température corporelle et la CRP sont 2 informations redondantes. Chez 2% des patients, les dissociations clinico-biologiques contribuent à la mise en évidence de collections nécessitant un drainage, mais elles sont aussi associées à des modifications d'antibiothérapies de bénéfices incertains.

520/80A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Diagnostic et traitement des actinomycoses abdominales : revue de 7 cas

S. Ketata[2], M. Ben Mabrouk[1], I. Fodha[2], F. Derbel[1], N. Boujaafar[2], R. Ben Hadj Hamida[1]

[1]Service de Chirurgie Générale [2]Service de Microbiologie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie

Introduction : L'actinomycose abdominale est une pathologie extrêmement rare et souvent méconnue. Il s'agit d'une maladie chronique suppurative granulomateuse d'origine infectieuse. Elle est due à des bactéries filamenteuses, à Gram positif, anaérobies strictes à facultatives, saprophytes de la cavité buccale et du tractus gastro-intestinal appartenant au genre *Actinomyces*. L'espèce *A. israelii* est responsable de la majorité des cas d'infections humaines.

Objectif : L'objectif de cette étude rétrospective était de mettre en évidence les difficultés diagnostiques de l'actinomycose abdominale, en particulier bactériologique.

Patients et méthodes : Les données concernant 7 patients atteints d'actinomycose abdominale (diagnostiquée sur la base de l'un des deux critères suivants : culture positive avec identification d'un *Actinomyces* et/ou présence de grains ou follicules actinomycosiques sur tissus d'excision chirurgicale), pris en charge au CHU Sahloul (Sousse, Tunisie) entre 1998 et 2007, ont été analysées. La prise en charge thérapeutique comprenait une laparotomie exploratrice avec exérèse des foyers infectieux et des abcès, suivie d'une antibiothérapie à base de pénicilline de longue durée.

Résultats : Le motif de consultation dans les 7 cas était la présence d'une masse abdominale douloureuse d'évolution chronique. Des antécédents chirurgicaux ont été notés dans 5 cas. La fièvre a été objectivée dans 3 cas. Biologiquement, l'hyperleucocytose et l'ascension de la CRP étaient constantes. Le diagnostic d'actinomycose a été retenu sur l'examen anatomopathologique de la pièce opératoire dans 6 cas. Les prélèvements *per*-opératoires réalisés en vue d'une analyse bactériologique ont permis l'isolement de bacilles à gram positif polymorphes, droits ou légèrement incurvés dans deux cas. Les deux souches isolées ont été identifiées par galerie Api 20A (bioMérieux) comme étant des *Actinomyces israelii.* Ces souches étaient sensibles à toutes les bétalactamines testées, ainsi qu'à la rifampicine et aux tétracyclines. Par ailleurs, les deux souches étaient résistantes au métronidazole.

Conclusion : L'actinomycose abdominale est une infection rare dont la présentation clinique est souvent trompeuse. Elle est fréquemment confondue avec une pathologie néoplasique conduisant à une chirurgie mutilante de nécessité. Lorsque le diagnostic d'actinomycose est fait précocement, le traitement est relativement facile, basé sur l'antibiothérapie. Toutefois, ce diagnostic est difficile, et il est souvent porté en post-opératoire par l'histologie ou l'identification de l'*Actinomyces* en cause.

521/80A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Kérato-mycoses à *Bipolaris spicifera*, à propos d'un cas

C. Martinaud[1], T. Gaillard[1], C. Roux[2], J. Maslin[1], P. Verdalle[2], P. Brisou[1]

[1]Fédération des Laboratoires [2]Fédération Face et Cou, HIA Sainte Anne, Toulon, France

Les kérato-mycoses dues à des champignons filamenteux sont rares en France métropolitaine, alors qu'elles représentent un problème de santé publique majeur dans les pays tropicaux. Ce sont des pathologies émergentes dont le pronostic est sévère. Nous rapportons le cas d'un homme de 48 ans, pépiniériste, séropositif pour le VIH et le VHC, souffrant d'un œil rouge et douloureux avec la notion d'un traumatisme par une branche d'arbre, traité, sans résultat, par plusieurs collyres antibiotiques. L'examen ophtalmologique objectivait un abcès cornéen périphérique sans autres anomalies. Les grattages cornéens ont permis d'isoler un champignon filamenteux : *Bipolaris spicifera*. L'identification par séquençage et la détermination des CMI aux antifongiques a été ensuite réalisée par le CNR. Un traitement par un collyre à 0,15% d'Amphotéricine B pendant 15 jours a alors été instauré. L'évolution était favorable avec une opacité cicatricielle séquellaire. Les champignons du genre *Bipolaris* sont des filamenteux cosmopolites vivant à l'état saprophyte sur diverses graminées et dans les sols. Considéré comme pathogène opportuniste, *B spicifera* est responsable de manifestations variées dont les kérato-mycoses. En France, son isolement dans les infections oculaires est exceptionnel. Les principaux facteurs de risques de ces infections sont la notion de traumatisme, de corps étranger végétal, de corticothérapie local et d'immunodépression. Sur le plan biologique, l'isolement est aisé, la co-infection avec une bactérie est fréquente, et la croissance est rapide. L'aspect des colonies et l'examen des conidies permettent une orientation. Etant donnée la fréquence de son isolement à partir de prélèvements cliniques, une confirmation par biologie moléculaire est nécessaire. L'étude de la sensibilité

aux antifongiques, dans un centre spécialisé, est indispensable. On retrouve habituellement une sensibilité aux imidazolés et à l'Amphotéricine B. Les séquelles fonctionnelles sont fréquentes, notamment dues aux cicatrices cornéennes. En conclusion, bien qu'exceptionnelles, ces infections doivent être bien connues pour permettre une prise en charge thérapeutique précoce adaptée dont dépend le pronostic fonctionnel de l'œil.

522/80A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prévalence de la colonisation fongique au cours de la mucoviscidose : étude rétrospective sur 30 mois au CHU de Nantes

J. L'hirondel[2], A. Espern[2], V. David[1], D. Horeau-Langlard[3], M. Besse[2], F. Morio[2]
[1]Centres de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) [2]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [3]Unité de Transplantation Thoracique, CHU Nantes, Nantes, France

Objectifs : Etudier la prévalence et préciser les espèces (levures et / ou filamenteux) impliquées dans la colonisation fongique de l'arbre bronchique chez des patients atteints de mucoviscidose. Evaluer secondairement l'influence de la colonisation aspergillaire sur la réponse sérologique.

Matériels et Méthode : Analyse rétrospective de 416 expectorations provenant de 140 patients atteints de mucoviscidose, non-greffés, âgés de 1 à 47 ans. Ces prélèvements ont été reçus au laboratoire sur une période de 30 mois (janvier 2006 à juin 2008). Les résultats des cultures fongiques ont ensuite été confrontés aux résultats des sérologies aspergillaires.

Résultats : Les espèces les plus fréquemment isolées des expectorations sont *Candida albicans* (n=240, 57.7%) et *Aspergillus fumigatus* (n=223, 53.6%). Seuls 3.6% des patients (n=5) ont présenté des cultures constamment négatives durant la période d'étude. A l'opposé, 68.6% des patients (n=96) ont eu au moins une culture positive à *C. albicans* et 70% (n=98) au moins une culture positive à *A. fumigatus*. L'isolement d'*A. terreus*, *A. flavus* et *A. nidulans* reste moins fréquent, concernant respectivement 8.6% (n=12), 4.3% (n=6) et 2.9% (n=4) des patients. L'isolement de *Scedosporium* spp. a été observé chez 5.7% des patients (n=8). Au total, 19% des patients (n=26) étaient colonisés par plusieurs espèces de champignons filamenteux. Le suivi immunologique aspergillaire a été réalisé pour 127 patients mais le plus souvent à distance de l'analyse mycologique, limitant à 28 sujets la confrontation de ces données. Il apparaît qu'une sérologie négative n'exclue pas une colonisation bronchique à *Aspergillus* spp.. En revanche, une sérologie aspergillaire fortement positive semble être associée à une colonisation par plusieurs espèces d'*Aspergillus*.

Conclusion : La prévalence de la colonisation fongique du tractus respiratoire au cours de la mucoviscidose reste importante, confirmant les données de la littérature. *A. fumigatus* et *C. albicans* demeurent les espèces les plus fréquemment rencontrées, avec une prévalence similaire. L'implication clinique de la colonisation fongique, notamment associée à une sérologie positive, dans l'altération de la fonction respiratoire au cours de la mucoviscidose reste à évaluer.

523/80A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Facteurs de risque (FR) des candidoses chroniques disséminées en hématologie

M.T. Baixench[2], M. Ben M'Rad[1], D. Bouscary[3], F. Dreyfus[3], P. Blanche[1], D. Salmon[1], J. Dupouy-Camet[2], A. Paugam[2]
[1]Médecine Interne [2]Parasitologie-Mycologie, GH Cochin Saint Vincent de Paul [3]Unité d'hématologie, GH Cochin-Saint Vincent de Paul, Paris, France

La candidose chronique disséminée (CCD) ou candidose hépato-splénique est une complication rare mais potentiellement grave observée chez les patients d'hématologie au décours de chimiothérapies profondément aplasiantes.

Patients et méthode : une étude cas-témoins a été conduite devant une augmentation inhabituelle du nombre de cas de CCD observés chez des patients présentant des leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) traités par polychimiothérapie intensive entre janvier et mars 07. Les cas ont été comparés à 14 témoins (11 LAM et 3 leucémies aiguës lymphoblastiques) ayant présenté un épisode de neutropénie supérieur à 10 jours entre novembre 06 et juin 07. Les données cliniques et thérapeutiques ont été étudiées depuis l'admission des patients jusqu'à leur sortie d'aplasie.

Résultats : les deux groupes étaient comparables pour l'âge des patients (61 ans) et les durées moyennes d'hospitalisation (30 jours) et de neutropénie (17 jours). Tous les patients ont présenté au moins 1 épisode fébrile. Aucune candidémie n´a été détectée en cours d'aplasie. Malgré un traitement empirique maximal par antibiotiques et ATF systémiques, la fièvre a persisté en sortie d´aplasie pour les 4 cas et 1 témoin (p=0,001).

Le protocole de décontamination digestive, débuté à l'admission, comportait deux antibiotiques (colistine et tobramycine) et un antifongique (ATF) oral : amphotericine B (AmB). En janvier 07, l'AmB, indisponible à la Pharmacie, a été substitué par la nystatine (Nys).

Les fluoroquinolones (FR déjà rapporté) et la Nys ont été utilisées plus fréquemment chez les cas vs les témoins (p<0,05). La Nys, prescrite en début d´hospitalisation, est apparue comme un FR de CCD (OR=18; p<0,05).

Discussion : L'utilisation de la Nys a été le seul paramètre modifié dans la prise en charge des patients au cours de la période étudiée. Elle apparaît comme un nouveau FR de CCD. Ce résultat est à relier à l'absence d'efficacité de la Nys dans la prévention des infections fongiques invasives déjà rapportée antérieurement (Goetzsche et *al.*; *Cochrane database of systematic Rewiews* 2002).

524/80A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

A prospective survey of air and surfaces fungal contamination in a medical mycology laboratory at a tertiary care university hospital

M. Sautour[3], D. Dalle[3-5], N. Sixt[1], C. Olivieri[3], C. Cachia[4], S. Aho[2], C. Calinon[3-1-2], E. Enderlin[3], E. Salomé[3], O. Vagner[3], B. Cuisenier[3], C. L'ollivier[3-5], A. Bonnin[3-5]
[1]Environmental Microbiology [2]Hospital Hygiene and Epidemiology unit [3]Parasitology and Mycology laboratory, Hôpital du Bocage, CHU de Dijon [4]Groupe d'Évaluation et de Recherche Epidémiologique en Pharmacologie et Thérapeutique [5]Interactions Mucosa -Transmissible Agents Laboratory, IFR Santé-STIC, Université de Bourgogne, Dijon, France

Purpose: Airborne conidia present in the laboratory environment may cause contamination of the cultures, resulting in false-positive diagnosis. Baseline values of fungal contamination in a clinical mycology laboratory have never been determined.

Methods: A one-year prospective survey of air and surfaces contamination was conducted in a clinical mycology laboratory at a period of large construction works in the hospital. Air was sampled with a portable Air System Impactor and surfaces with contact Sabouraud plates. The collected data allowed the elaboration of Shewhart graphic charts.

Results: Mean fungal loads ranging from 2.27 to 4.36 colony forming units (cfu)/m^3 in air and 0.61 to 1.69 cfu/plate in surfaces.

Conclusions: Strict procedures may limit the level of fungal contamination in a clinical mycology laboratory even in the context of large construction works in the hospital site. Our data and the resulting Shewhart graphic charts provide baseline values to detect inappropriate variations of the fungal contamination in a mycology laboratory as part of a quality assurance program. This is critical to the appropriate management of the fungal risk in haematology, cancer and transplant patients.

525/80A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Prophylaxis use of posaconazole (P) in an hemato-oncology unit : a retrospective study

N. Selvy[2], M. Villiet[2], E. Guiller[2], Y. Marhuenda[2], N. Fegueux[1], S. Hansel-Esteller[2]
[1]Hemato-oncology unit [2]Pharmacy Lapeyronie-ADV unit, CHU Montpellier, Montpellier, France

Incidence of Invasive Fungal Infection (IFI) represents nearly 20% of the leucemic patient's infections and mortality can reach 40-60%[1]. P is used as antifungal prophylaxis for these high-risked patients during severe and prolonged neutropenia.

We evaluated the antifungal P prophylaxis notifying the incidence of proven/probable IFI.

We realized a retrospective study of P treatment in 2007 in an hemato-oncology adult unit. The data were collected thanks to a report sheet containing several items on patients, treatments and evolution. Classification of fungal infections was based on the consensus criteria of the EORTC [2].

We included 22 patients (64% men, 46% women) of whom 86% suffer from acute myelogenous leukemia (AML). The median age was 51. P was prescribed in IFI prophylaxis during prolonged and severe neutropenia post-chemotherapy (72%) or post autologous transplant (28%), initiated 7 days before neutropenia in 50% of cases. The mean period treatment was 18 days. Colonization occured in 1/3 of patients (43% of *C.albicans*). Esomeprazole (E) 40mg was associated in 64% of cases.

Antifungal prophylaxis failed[3] in 50% of cases and an empirical treatment with caspofungine was proposed. Different failure's causes were : proven IFI to *Geotrichum capitatum* (n=1), suspected IFI (n=5) witch 2 are possible, and impossible swallowing (n=5). No aspergillosis occured. Patient's hospitalisation were prolonged but no death was reported.

P prophylaxis seems to be efficient among these high risk patients in aspergillosis prophylaxy, but there is apparition of an uncommon fungus. Tardive initiation, E interaction or P resorption difficulties could be important in therapeutic success. It would be interesting to optimize P treatment with plasmatic dosages.

1- Maertens J – Evaluating prophylaxis of invasive fungal infections in patients with haematologic malignancies – Eur J Haematol – 2007 apr – 78 : 546-82.

2-Ascioglu S, Rex JH - Defining opportunistic invasive fungal infections in immunocompromised patients with cancer and hematopoietic stem cell transplants -an international consensus- Clin Infect Dis - 2002; 34:7-14.

3- Cornely OA, Maertens J, Winston DJ – Posaconazole vs. Fluconazole or Itraconazole prophylaxis in patients with neutropenia- N Engl J Med - 2007 Jan 25 – 356 ; 348-59.

526/80A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Etude rétrospective de l'intérêt clinique de la combinaison voriconazole (VCZ)/caspofungine (CSP) dans la prise en charge de l'aspergillose chez des patients transplantés pulmonaires

A. Thomas[2], V. Korb[2], T. Caruba[2], R. Guillemain[1], V. Boussaud[1], E. Billaud[2], P. Prognon[2], D. Begue[2], B. Sabatier[2]
[1]Département de Chirurgie Cardio-Vasculaire [2]Pharmacie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Objet de l'étude : En théorie, la concentration plasmatique efficace (CPE) de VCZ (1mg/L) est atteinte en 24h. En pratique clinique, un délai semble nécessaire chez les patients transplantés pulmonaires colonisés ou infectés par *Aspergillus spp*. pour atteindre la CPE de VCZ. Pendant ce délai, le traitement par VCZ peut être combiné avec de la CSP pour couvrir l'infection.

Les objectifs de cette étude sont d'étudier le temps nécessaire pour atteindre les CPE de VCZ chez les patients transplantés mucoviscidosiques vs les autres patients, l'évolution de l'infection par Aspergillus spp. et la tolérance de l'association antifongique.

Méthodes : Les données cliniques, biologiques et thérapeutiques des patients transplantés pulmonaires ayant reçu la combinaison VCZ / CSP entre 2002 et 2008 en première ligne de traitement ont été extraites rétrospectivement des dossiers patients.

Résultats : Parmi les 15 patients étudiés, *A. fumigatus* (n=12) et *A. flavus* (n=3) ont été isolés. La CPE de VCZ est atteinte en moyenne en 12.3 jours (j) (+/-2.1). Le délai pour les patients mucoviscidosiques (n=9) est de 14.9 j vs 8.3 j pour les autres (p=0.10; NS). Les durées moyennes de traitement sont de 15,1 j pour le VCZ intraveineux et de 18.4 j pour la CSP. Les cultures des 4 patients transplantés traités pour colonisation aspergillaire se sont négativées et tous ceux traités pour aspergillose ont eu une réponse complète à 3 mois de l'infection. Une augmentation de la concentration du tacrolimus est observée pour 67% des patients, 2 patients ont eu des hallucinations et 2 autres une toxicité hépatique.

Conclusion : La combinaison VCZ / CSP n'est pas recommandée dans le traitement de 1ère ligne de l'aspergillose (IDSA Guidelines 2008) mais elle est utilisée en pratique chez des patients transplantés pulmonaires avec une tolérance relativement proche du VCZ seul. Nous avons observé un délai de 12.3 j (vs 24h en théorie) pour atteindre des taux plasmatiques de voriconazole > 1mg/l chez des patients transplantés pulmonaires. Plus qu'une combinaison, l'association VCZ / CSP serait donc un moyen de couvrir l'infection par *Aspergillus spp.* durant les concentrations suboptimales de VCZ.

527/80A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Risque épidémiologique lié à la prise en charge d'un cas d'anguillulose maligne

K.A. Phai Pang[1], C. Hernandez[1], V. Chamouard[5], S. Vinzio[4], D. Christmann[3], E. Candolfi[2], B. Goichot[4], T. Lavigne[1]
[1]Equipe opérationnelle d'hygiène [2]Laboratoire de parasitologie et mycologie médicale [3]Maladies infectieuses et tropicales [4]Médecine interne et nutrition [5]Pathologie professionnelle-médecine du travail, Hôpitaux universitaires de strasbourg, Strasbourg, France

L'anguillulose est une parasitose intestinale due à un helminthe, *Strongyloïdes stercoralis*. Cette infection est endémique dans les régions tropicales. En France, la majorité des cas sont importés, ils concernent surtout les populations immigrantes ou immunodéprimées. En général, cette pathologie est faiblement transmissible et relève des précautions standard. Un patient d'origine marocaine est hospitalisé en médecine interne où il est suivi pour une maladie de Wegener. Il est immunodéprimé suite à un traitement par corticoïdes et cyclophosphamide. Sept jours après sa troisième cure, il est admis aux urgences pour douleur abdominale et hémoptysies. On constate un purpura abdominal et des lésions cutanées atypiques évoquant la maladie de Wegener. *S. stercoralis* est isolé dans les selles, les crachats et un lavage broncho-alvéolaire. Le lendemain, les précautions complémentaires de type Contact et Gouttelettes sont appliquées devant l'importance de l'infestation parasitaire. Après vérification, il n'y a aucun patient contact. Le traitement consiste en deux cures de 9 et 7 jours d'ivermectine (posologie de 200 µg/kg) puis relais par eskazole. Le patient a présenté des douleurs abdominales après la première prise d'ivermectine et des démangeaisons 3 jours après le début du traitement anti-helminthiase. L'évolution après traitement est bonne sur le plan clinique. Cependant, des anguillules vivantes sont retrouvées dans les crachats 17 jours après le début du traitement. La quatrième cure de cyclophosphamide est reportée de 2 semaines, le traitement par corticoïdes est maintenu en diminuant la dose. Le patient rentre à domicile après 1 mois d'hospitalisation. Quatre-vingt membres du personnel ont été exposés, la médecine du travail a réalisé un suivi par numération-formule sanguine et sérologie. Aucune hyperéosinophilie n'a été observée. Quant à la recherche d'anticorps anti-*S. stercoralis*, l'existence de réactions croisées avec d'autres nématodes rend son interprétation délicate. Le suivi a été réalisé sur 6 mois. Les rares cas douteux après la première sérologie ont été recontrôlés par sérologie puis par examen parasitologique des selles.

528/80A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Intérêt de la PCR dans le diagnostic des trichomonoses. Exemple de deux cas cliniques d'intérêt

A.P. Bellanger[2-3], O. Cabaret[3], J.M. Costa[3-1], F. Foulet[3], S. Bretagne[3], F. Botterel[3]
[1]Pasteur Cerba [2]Laboratoire Parasito-Mycologie, CHU Jean Minjoz, Besançon [3]Laboratoire Parasito-Mycologie, CHU Henri Mondor, Créteil, France

Le diagnostic biologique des trichomonoses reste difficile, même pour des biologistes avertis. Les causes principales de la sous-estimation des trichomonoses sont les délais de transport, la conservation à +4°C et la congélation des prélèvements, qui mènent à la perte de mobilité, voire la lyse des *Trichomonas*. D'autre part, bien que des critères d'identification morphologiques détaillés soient disponibles, le parasite peut prendre des formes amiboides et les structures internes peuvent ne pas être visibles. Dans ces conditions, l'identification morphologique est impossible et seule l'identification moléculaire permet le diagnostic d'espèce.

Nous rapportons deux cas cliniques de trichomonoses où la PCR nous a permis d'établir, de manière fiable et rapide, un diagnostic d'espèce: une infection pleurale par *Trichomonas tenax* et une infection urinaire chez un enfant de 3 mois à *Trichomonas vaginalis*.

Le diagnostic des trichomonoses par PCR semble facilement intégrable en routine et son usage systématique permettrait d'améliorer la prévalence de ces infections.

529/80A — 5 décembre 2008 - HALL BORDEAUX

Développement d'une technique de PCR quantitative en temps réel sur RotorGene 6000™ dans le diagnostic de la toxoplasmose chez des patients greffés de moelle osseuse

S. Daval[1], J. Armenaud[1], J. Gagnant[1], M. Cambon[1-2], V. Livrelli[1-3]
[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU Clermont-Ferrand [2]UFR Médecine [3]UFR Pharmacie, EA 2526 Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Des techniques de détection sensibles, rapides et spécifiques sont indispensables au diagnostic de la toxoplasmose chez les patients immunodéprimés ou en cas de suspicion d'atteinte fœtale. L'objectif de ce travail était de mettre au point une technique de diagnostic moléculaire appliquée à *Toxoplasma gondii* par PCR en temps réel sur le RotorGene6000™.

Des amorces et une sonde TaqMan (FAM-BHQ1) spécifiques de la séquence répétée de 529pb ont été sélectionnées. Une optimisation des conditions et des paramètres de la PCR (concentrations d'amorces, de sonde, de $MgCl_2$, utilisation de la technique de TouchDown) a été réalisée. La limite de détection a été évaluée à 0,2 toxoplasme par microlitre de sang. Un contrôle interne d'amplification a été construit par clonage : il s'agit d'un fragment d'ADN d'*Arabidopsis thaliana* flanqué d'amorces spécifiques à la séquence de 529pb de *T. gondii*. Une nouvelle sonde TaqMan, spécifique de ce contrôle interne compétitif, a été choisie et testée (YY-BHQ1).

Afin de valider la technique que nous avons développée sur le RotorGene 6000™, une étude a été entreprise sur des patients greffés de moelle osseuse du service d'Hématologie Clinique de l'Hôtel Dieu de Clermont-Ferrand. Des prélèvements de sang total ont été réalisés de façon hebdomadaire pendant les 6 premiers mois post-greffe. Deux techniques d'extraction ont été comparées (Qiagen™ et Nuclisens Easy MAG™) : les résultats obtenus sont équivalents. Sur les 21 patients et 42 prélèvements testés, 1 seul a été retrouvé positif avec un taux estimé à environ 200 toxoplasmes par mL de sang.

Les techniques de PCR quantitative en temps réel comme celle que nous avons développée, rapides, sensibles et spécifiques constituent une réelle avancée dans le diagnostic et la prise en charge thérapeutique des patients.

INDEX DES AUTEURS
AUTHORS INDEX

A

Auteur présent / Co auteur

Abdelmalek R. 500/78A
Abdennour D.E. 374/68A
Abgueguen P. 409/72A
Abrador J. 354/65A
Abraham V. 355/65A
Abroug F. 435/73A
Achour W. 311/65A, 517/79A
Adam M.N. 111/25O
Adjidé C.C. 71/16O, 356/65A, 494/77A
Afarni F. 404/72A
Agbessi B.T. 26/5O
Agius G. 359/66A
Agostini A. 67/14O, 370/67A
Agut H. 52/12O, 53/12O, 102/22S, 366/67A, 450/74A
Aho S. 524/80A
Aidaoui M. 496/78A
Ainaud P. 298/63A
Aïssa N. 315/65A
Ait Arkoub Z. 450/74A
Ajana F. 147/34O
Akpabie A. 111/25O, 180/43O
Al Rifai S. 180/43O
Alain S. 65/14O, 159/38S, 359/66A, 451/74A, 453/74A
Alba C. 269/63A
Alba J. 292/63A, 430/73A
Albert D. 341/65A
Albertini M.T. 270/63A
Ali M.A. 80/18O
Allegui Z. 137/31O
Allieri-Rosenthal A. 519/79A
Allou N. 12/3O
Allouch P.Y. 73/16O, 395/70A
Alloui C. 373/68A
Almasi F. 177/41O, 499/78A
Alonso J.M. 24/5O, 240/59O
Alonso S. 433/73A
Alsibai S. 364/66A
Amador G. 130/30O, 131/30O, 464/75A
Amarouch H. 11/3O
Amirault P. 273/63A, 274/63A
Amiri S. 15/3O
Ammari L. 426/73A, 500/78A
Amoura K. 15/3O, 399/71A
Amrein C. 22/4O, 66/14O
Amri F. 360/66A
Andonian C. 313/65A
Andorin P. 275/63A
André C. 432/73A
André J. 330/65A
Andremont A. 59/13O, 178/43O, 237/59O, 325/65A, 424/73A, 425/73A
Andreoletti L. 362/66A, 363/66A, 364/66A, 448/74A
Angebault C. 237/59O, 424/73A
Angleraud F. 450/74A
Angora P. 291/63A
Anguel N. 428/73A
Anract P. 414/73A
Antona D. 362/66A
Antoun S. 508/78A, 510/78A
Antri K. 5/2O
Aouni M. 427/73A
Archeny D. 316/65A
Arenas R. 308/64A
Arlet G. 424/73A, 425/73A
Armand-Lefèvre L. 182/43O, 237/59O, 325/65A, 458/75A
Armenaud J. 529/80A
Arnould J.P. 273/63A, 274/63A
Arpin C. 6/2O, 164/39O, 253/62A
Arsac P. 505/78A
Arsip (Antibiotic Resistance Surveillance Programme In Portugal) 383/69A
Arzouni J.P. 61/13O
Asseray N. 464/75A
Astagneau P. 441/73A
Atia R. 399/71A
Aubert G. 476/76A
Aubry A. 317/65A
Audion A. 337/65A
Audo J. 245/60O
Audry-Blanchard A. 73/16O
Aujard Y. 213/50O
Aupée M. 282/63A, 291/63A
Auvray C. 269/63A
Auxenfans C. 299/63A
Avlessi C. 346/65A
Avril M.F. 369/67A
Ayraud-Thevenot S. 357/66A

B

Auteur présent / Co auteur

Baazia Y. 373/68A
Babre F. 349/65A
Bachelier M.N. 273/63A, 274/63A
Bachellerie H. 443/73A
Baclet M.C. 486/76A
Bactériocercle Breton (BCB) . 236/59O
Badiou C. 243/60O
Bahri O. 372/68A
Baillot S. 508/78A
Bailloud L. 328/65A
Baixench M.T. 19/4O, 523/80A
Bajanca M.P. 383/69A
Bajolet O. 59/13O, 394/70A, 398/71A, 413/72A, 474/76A
Bakeland D. 453/74A
Bakir L. 283/63A
Balavoine X. 272/63A
Ballereau F. 409/72A, 446/73A, 492/77A
Banterla-Dadon I. 30/7O
Baptiste C. 79/18O
Baraduc R. 264/63A, 472/76A
Barbe C. 394/70A
Barbier F. 237/59O
Barbut F. 245/60O, 337/65A, 441/73A, 442/73A
Barnich N. 76/17S
Baron A. 354/65A
Baron G. 325/65A
Baron O. 387/69A
Baron R. 203/48O
Baronnet D. 490/77A
Barrand P. 301/63A
Barraud D. 293/63A
Barraud O. 255/62A, 256/62A, 272/63A, 285/63A, 294/63A, 443/73A, 486/76A
Barrault M.F. 505/78A

Bartizel C. 9/2o
Baruch A. 465/75a
Bataille P. 147/34o
Batard E. 129/30o, 130/30o, 131/30o, 252/62a, 331/65a
Baty G. 345/65a, 417/73a
Baudinat I. 269/63a
Bauer T. 88/19sep
Baumert T. 175/41o
Baune B. 182/43o
Bauraing C. 8/2o, 166/39o
Bawa E. 361/66a
Baynat M. 61/13o, 381/69a
Beaucaire G. 78/18o
Beauvais R. 72/16o
Bébéar C.M. 342/65a, 343/65a, 517/79a
Béclin E. 288/63a, 289/63a
Bédossa P. 176/41o, 377/68a, 378/68a
Begue D. 526/80a
Bekondi C. 376/68a
Belarbi L. 499/78a
Belgian Sp Study Group T.H.H. 263/63a
Belhani F. 392/70a
Bellanger A.P. 528/80a
Belliot G. 80/18o
Bellon O. 328/65a
Belmekki M. 71/16o
Belmonte O. 292/63a, 430/73a
Beloufa A. 296/63a
Bemer P. 475/76a
Ben Abdallah H. 427/73a, 435/73a, 460/75a
Ben Aissa S. 500/78a
Ben Ali A. 404/72a
Ben Chaabane T. 500/78a
Ben Fredj N. 372/68a
Ben Hadj Fredj M. 360/66a
Ben Hadj Hamida R. 520/80a
Ben Haj Khalifa A. 333/65a
Ben Hassen A. 311/65a, 343/65a, 517/79a
Ben Jaballah N. 517/79a
Ben Jemâa M. 515/79a
Ben M'Rad M. 523/80a
Ben Mabrouk M. 520/80a
Ben Nsir R. 437/73a
Ben Othman A. 427/73a
Ben Redjeb S. 259/63a, 304/64a
Ben Saida N. 439/73a
Ben Zekri K. 487/76a
Benchikh Z. 270/63a
Benghalia K. 371/68a
Benito Y. 243/60o, 310/65a
Benkerou M. 212/50o
Benmoura D. 67/14o, 370/67a
Benoit C. 111/25o
Benseddik Z. 273/63a, 274/63a, 340/65a
Bentata M. 373/68a
Bentchouala C. 416/73a
Berche P. 210/50o
Berçot B. 201/48o, 418/73a
Berge M. 22/4o, 66/14o
Berger F. 346/65a
Bergeron E. 92/21o, 330/65a
Bergeron M. 310/65a
Bergo C. 14/3o
Bergot E. 405/72a
Bergues B. 344/65a
Berhin C. 8/2o, 166/39o
Berlie C. 491/77a
Bernard C. 247/60o
Bernède C. 128/29s
Bernillon P. 33/7o
Beron R. 390/70a
Bertain-Maghit M. 298/63a
Berthelot G. 24/5o, 240/59o
Berthelot P. 121/27s
Berthou C. 203/48o
Bertin F. 347/65a
Bertine M. 237/59o
Bertout S. 502/78a
Bertrand X. 113/25o, 117/26sep, 200/48o, 280/63a
Bes M. 5/2o, 108/25o, 237/59o, 302/64a, 310/65a, 488/76a
Besnier J.M. 87/19sep
Besse M. 522/80a
Bessede E. 246/60o, 342/65a
Besseyre Des Horts T. 243/60o
Bettenger R. 424/73a
Beytout J. 140/32sep
Bezian M.C. 164/39o
Bhattacharyya H. 465/75a
Bichier E. 275/63a
Bidet P. 74/17s, 206/49sep, 207/49sep, 224/56sep, 257/63a, 258/63a
Biek D. 129/30o, 130/30o, 133/30o
Biendo M. 71/16o, 270/63a, 356/65a, 494/77a
Bifani P. 277/63a
Bigaillon C. 54/12o
Bigeard E. 480/76a, 481/76a
Billard M. 325/65a
Billaud E. 22/4o, 66/14o, 526/80a
Billaud G. 389/69a
Billoet A. 414/73a
Billon C. 401/72a
Bineau P. 269/63a
Bingen E. 74/17s, 206/49sep, 207/49sep, 212/50o, 213/50o, 224/56sep, 257/63a, 258/63a, 359/66a
Bingen M. 293/63a
Birgand G. 441/73a
Birgy A. 46/10o, 186/44s, 321/65a
Birraux G. 411/72a
Bisiau H. 319/65a
Bissery A. 49/11s, 50/11s, 51/11s
Black M. 468/75a
Blaison G. 501/78a
Blanc A.L. 514/79a
Blanc B. 67/14o, 370/67a
Blanchard G. 400/71a
Blanche P. 523/80a
Blanckaert K. 288/63a, 289/63a, 441/73a
Bland S. 271/63a
Blanloeil Y. 396/71a
Blondiaux N. 45/10o, 93/21o
Bloquel B. 497/78a
Bobolis J.D. 327/65a
Boeuf B. 81/18o
Bogaerts P. 8/2o, 166/39o, 250/62a
Bogillot O. 508/78a

Boibieux A. 204/48o
Boirasmé S. 436/73a
Boiron P. 307/64a, 308/64a
Boisset S. 310/65a, 349/65a
Boisson M. 40/9s
Bolzonella S. 14/3o
Bomsel M. 195/47s
Bonacorsi S. 74/17s, 206/49sep, 207/49sep, 224/56sep, 247/60o
Bonenfant C. 388/69a
Boni-Cissé C. 445/73a
Bonmarin I. 100/22s
Bonnabau H. 264/63a, 271/63a, 472/76a
Bonnafous P. 53/12o
Bonnal C. 182/43o
Bonnaudet G. 275/63a
Bonnaure-Mallet M.B. 110/25o
Bonne S. 138/31o
Bonnet E. 23/5o
Bonnet R. 163/39o, 309/65a
Bonnevie F. 147/34o
Bonnin A. 524/80a
Boogen C. 47/10o
Boquet P. 442/73a
Borderan G.C. 512/79a
Bordessoule D. 294/63a
Borget I. 508/78a
Bories C. 504/78a
Bossy G. 316/65a
Botterel F. 528/80a
Bouaziz A. 360/66a
Boubekri I. 5/2o
Bouchakour M. 11/3o
Bouchami O. 311/65a
Boucher B. 352/65a
Boucherit S. 503/78a
Boudawara T. 515/79a
Boudiaf Z. 182/43o, 496/78a
Bougle J. 23/5o
Bougnoux M.E. 18/4o
Boujaafar N. 360/66a, 437/73a, 520/80a
Boukadida J. 278/63a, 365/66a, 372/68a, 439/73a
Boulenc A. 301/63a
Bouler J.M. 131/30o
Boumaza Z. 496/78a
Bounaadja L. 341/65a
Bouniot P.B. 96/21o
Bouquigny M. 270/63a
Bourée P. 506/78a
Bourgeois Nicolaos N. 487/76a
Bourguignon L.B. 96/21o
Bourhy H. 128/29s
Bourigault C. 396/71a
Bourlet T. 197/47s
Bourlière M. 377/68a
Bourneton O. 10/2o, 391/70a
Bourreau S. 495/77a
Bouscambert-Duchamp M. 368/67a, 389/69a
Bouscary D. 523/80a
Bousnina S. 360/66a
Boussaha F. 392/70a
Boussaud V. 22/4o, 66/14o, 526/80a
Bousselmi K. 297/63a
Boussier R. 348/65a
Boutboul D. 18/4o
Boutelier C. 31/7o
Boutiba-Ben Boubaker I. 259/63a
Boutolleau D. 53/12o, 366/67a, 450/74a
Bouvet A. 257/63a, 258/63a, 259/63a, 261/63a
Bouvet E. 178/43o
Bouvet P. 442/73a
Bouvier R. 389/69a
Bouziges N. 249/62a, 305/64a, 433/73a, 463/75a
Boval-Gallet C. 111/25o
Boyer S. 419/73a
Brasme L. 269/63a, 474/76a
Brault J. 313/65a
Brault J.L. 340/65a
Brémont S. 136/31o, 456/75a
Bret L. 273/63a, 274/63a
Bret P. 411/72a
Bretagne S. 4/1sep, 145/34o, 528/80a
Breton D. 72/16o
Breton N. 73/16o, 395/70a
Breuil J. 111/25o
Bricaire F. 191/46s
Brichler S. 373/68a
Bridon M.J. 316/65a
Brini I. 360/66a
Brion J. 273/63a, 274/63a
Brisabois A. 134/31o, 238/59o, 254/62a, 281/63a, 438/73a
Brisou P. 521/80a
Brisse P. 72/16o
Brisse S. 231/57s
Brocard A. 270/63a
Brodard V. 364/66a, 448/74a
Brouqui P. 187/44s
Brousse G. 193/46s
Brun M. 264/63a, 472/76a
Brun-Buisson C. 36/8sep, 49/11s, 50/11s, 51/11s
Bruneau J.M. 468/75a
Brunel A.S. 502/78a
Brunet A. 128/29s
Bruno P. 239/59o
Brunot C. 490/77a
Bruyère M.L. 490/77a
Builles N. 299/63a
Bureau-Chalot F. 364/66a, 394/70a
Burghoffer B. 245/60o, 442/73a
Burty C. 497/78a
Burucoa C. 349/65a
Busson P. 512/79a
Bussy-Malgrange V. 109/25o
Butel M.J. 487/76a
Buyssens P. 277/63a

C

Auteur présent / Co auteur

Cabaret O. 528/80a
Cachia C. 524/80a
Cacoub P. 176/41o, 377/68a, 378/68a
Cahen P. 260/63a
Cahiez M. 273/63a, 274/63a
Caillaux M. 266/63a, 514/79a
Caillon J. 112/25o, 129/30o, 130/30o, 131/30o, 252/62a, 331/65a, 464/75a

Calatayud L. 489/77A
Calinon C. 524/80A
Calmus Y. 18/4O, 498/78A
Calvez V. 234/58S
Cambau E. 12/3O, 111/25O
Cambon M. 529/80A
Cambresy B. 398/71A
Camdessoucens-Miehe G. 301/63A, 472/76A
Campese C. 50/11S, 51/11S
Campèse C. 49/11S
Canarelli B. 270/63A
Candolfi E. 527/80A
Canestri A. 379/68A
Caniça M.M. 383/69A
Canis F. 319/65A
Cannau C. 344/65A
Canonne J.P. 318/65A
Carbonne A. 82/18O
Carbonne C. 441/73A
Carlet J. 152/36S
Carli D.C. 96/21O
Carlotti A. 369/67A
Caro V. 57/12O
Caroff N. 13/3O, 168/39O, 252/62A, 482/76A
Carol A. 212/50O
Caron F. 24/5O, 157/37S, 179/43O, 240/59O
Caron F.M. 56/12O
Carrat F. 176/41O, 189/45SEP, 377/68A, 378/68A
Carrer A. 199/48O, 428/73A
Carricajo A. 476/76A
Carsenti-Dellamonica H. 239/59O, 268/63A
Carsin H. 298/63A
Caruba T. 526/80A
Casalegno J.S. 358/66A, 368/67A
Castano A. 420/73A
Castel O. 357/66A
Catel-Ferreira M. 251/62A
Cattier B. 273/63A, 274/63A
Cattoen C. 266/63A, 319/65A, 434/73A
Cattoir V. 43/10O, 44/10O, 322/65A, 454/75A
Caudrelier S. 388/69A
Caulin E. 27/5O
Caumes E. 158/37S, 192/46S, 366/67A
Causse X. 174/41O
Cavalié L. 354/65A
Cavallaro A. 14/3O
Cavallo J.D. 58/13O, 61/13O, 62/13O, 381/69A, 484/76A
Cazorla C. 121/27S
Ceballos P. 21/4O
Célérier F. 272/63A
Cepisul T. 180/43O
Cerutti F. 415/73A
Chabanon G. 329/65A
Chaby G. 346/65A
Chachaty E. 111/25O
Chacornac J.P. 309/65A
Chagnaud D. 272/63A
Chalumeau M. 380/69A
Chambon P. 272/63A
Chambreuil G. 275/63A
Chami K. 215/52SEP
Chamouard V. 527/80A
Champelovier D. 271/63A
Chanard E. 462/75A
Chandesris C. 273/63A, 274/63A
Chandesris M.O. 18/4O
Chanteperdrix V. 165/39O
Chardon H. 264/63A, 328/65A, 472/76A
Charfi F. 262/63A
Charles P. 146/34O
Charles P.E. 133/30O
Charlet A. 266/63A
Charlet F. 489/77A
Charlier A. 474/76A
Charlier-Bret N. 352/65A
Charpentier C. 66/14O
Chartier A. 340/65A
Chassaing D. 442/73A
Chastre J. 221/53SS
Châtre P. 77/17S, 286/63A
Chau F. 12/3O, 241/59O
Chaud P. 147/34O
Chaumont M. 401/72A
Chauvin C. 238/59O, 281/63A
Chavanet P. 133/30O, 156/37S
Ché D. 48/11S, 49/11S, 50/11S, 51/11S
Cheikhelard A. 210/50O
Chemli J. 437/73A
Chenais B. 341/65A
Chenuc G. 510/78A
Cherif D. 283/63A
Chesneau O. 284/63A
Cheuret E. 387/69A
Cheval J.P. 71/16O
Chevalier P. 22/4O, 66/14O
Cheviet G. 275/63A
Chevrier-Onillon S. 268/63A
Chichemanian R.M. 145/34O
Chidiac C. 30/7O, 49/11S, 50/11S, 51/11S, 104/23S
Chieux V. 266/63A, 273/63A, 274/63A, 340/65A
Cholley P. 280/63A
Chomarat M. 58/13O
Chouikha A. 360/66A
Chrétien F. 495/77A
Christmann D. 527/80A
Clairet V. 353/65A
Clamadieu C. 389/69A
Claris O. 389/69A
Claudel N. 7/2O
Claudon M. 468/75A
Clayette P. 367/67A
Clergeau P. 271/63A
Cloeckaert A. 341/65A
Cochonat K. 147/34O
Cociglio M. 21/4O
Cohen D. 405/72A
Cohen R. 2/1SEP, 23/5O, 56/12O, 143/32SEP, 213/50O
Coignard B. 20/4O, 33/7O, 441/73A, 442/73A
Cojean S. 504/78A
Colaneri C. 134/31O
Collazo C. 308/64A
Collignon A. 335/65A
Collobert G. 257/63A, 259/63A, 261/63A
Combescure C. 242/60O

Comets E. 97/21o
Compangocci A. 499/78A
Conti F. 498/78A
Copie-Bergman C. 246/60o
Coquet P. 432/73A
Cormier P. 111/25o
Cornu P. 32/7o
Corriol O. 422/73A
Corvec S. 13/3o, 32/7o, 112/25o, 168/39o, 396/71A, 475/76A, 482/76A
Cosnuau L. 254/62A
Costa J.M. 528/80A
Costa Y. 111/25o, 293/63A
Cotin S. 159/38s
Cottalorda J. 148/34o
Cotteret R. 182/43o
Couble A. 307/64A, 308/64A
Couderc S. 214/50o
Couet W. 95/21o, 97/21o
Couetdic G. 280/63A
Coulange L. 164/39o
Couloigner V. 214/50o
Couraud P.O. 247/60o
Couray-Targe S. 30/7o
Courbet A. 319/65A
Courcol R.J. 45/10o, 93/21o, 266/63A, 268/63A, 279/63A
Courillon Mallet A. 352/65A
Cournoyer B. 330/65A
Courouble G. 273/63A, 274/63A
Courpied J.P. 414/73A
Courtier C. 310/65A
Courtiols N. 381/69A
Courvalin P. 134/31o, 136/31o
Coussa-Rivière L. 332/65A
Couturier C. 32/7o
Couzigou C. 506/78A
Couzon B. 16/3o
Coyne S. 62/13o
Crémet L. 13/3o
Crémieux A.C. 169/40s
Croisier-Bertin D. 133/30o
Croizé J. 165/39o, 264/63A, 271/63A, 330/65A, 332/65A, 472/76A
Croze M. 302/64A
Cruaud P. 335/65A
Cua E. 519/79A
Cuisenier B. 524/80A
Cuny C. 70/16o, 397/71A
Cuvelier F. 160/38s
Cuzon G. 202/48o, 203/48o, 485/76A

D

Auteur présent / Co auteur

Da Costa A. 425/73A
Dabernat H. 239/59o, 457/75A, 459/75A
Dacheux L. 128/29s
Dailloux M. 25/5o
Dalle D. 524/80A
Damour O. 299/63A
Danan C. 438/73A
Dangin M. 474/76A
Danis M. 170/40s, 192/46s
Dannaoui E. 22/4o
Dao T. 134/31o
Darfeuille-Michaud A. 76/17s
Darreau J.Y. 275/63A
Dauvergne S. 13/3o, 168/39o, 482/76A
Dauwalder O. 5/2o, 334/65A, 488/76A
Daval S. 529/80A
David V. 522/80A
Davin-Regli A. 249/62A
Dé E. 251/62A
De Barbeyrac B. 6/2o
De Beenhouwer H. 250/62A
De Briel D. 301/63A, 501/78A
De Brouwer D. 277/63A
De Buyser M.L. 238/59o, 281/63A
De Champs C. 59/13o, 269/63A, 364/66A, 394/70A, 413/72A, 474/76A
De Craeye S. 263/63A
De Gialluly C. 355/65A
De Korwin J.D. 352/65A
De La Coussaye J. 518/79A
De La Rocque F. 56/12o
de Lastours V. 241/59o
De Lencastre H. 311/65A
De Martino S. 98/22s
De Martino S.J. 321/65A
De Meyer A. 356/65A, 494/77A
De Mones Del Pujol E. 68/14o
De Montclos H. 316/65A
De Mouy D. 61/13o, 381/69A
de Rougemont A. 80/18o, 359/66A
De Visser L. 345/65A
Deback C. 366/67A, 450/74A
Debord T. 103/23s, 192/46s
Dechartres A. 146/34o
Dechelotte P. 81/18o
Decoster A. 266/63A
Decousser J.W. 9/2o, 60/13o, 114/26sep, 276/63A, 483/76A
Decré D. 245/60o
Defrance G. 178/43o, 325/65A
Degand N. 422/73A, 423/73A
Dehem M. 277/63A
Dehoux E. 398/71A
Dekeyser S. 288/63A, 289/63A
Delahaye S. 388/69A
Delalande F. 186/44s
Delarbre J.M. 301/63A
Delarozière J.C. 489/77A
Delasalle P. 377/68A
Delassus J.L. 447/74A
Delaugerre C. 233/58s
Delbos V. 24/5o, 240/59o
Delchier J.C. 246/60o, 352/65A
Dellamonica P. 29/7o, 145/34o, 148/34o, 239/59o, 268/63A, 519/79A
Delmas C. 239/59o
Delmas J. 163/39o, 309/65A
Deloizy C. 43/10o
Dely C. 69/16o
Demachy M.C. 264/63A, 267/63A, 293/63A
Demange M. 270/63A
Deminière C. 68/14o
Demuez D. 505/78A
Denamur E. 424/73A
Deniau J. 489/77A

Denis F. 65/14o, 255/62A, 256/62A, 272/63A, 285/63A, 294/63A, 348/65A, 443/73A, 451/74A, 453/74A, 486/76A
Denoyelle F. 214/50o
Deplano A. 8/2o, 166/39o
Deprez P. 512/79A
Derbel F. 520/80A
Derelle J. 25/5o
Dermoune F. 31/7o
Derrough T. 79/18o
Desbois D. 452/74A
Descamps D. 266/63A, 288/63A, 289/63A, 434/73A
Descamps P. 422/73A
Desenclos J.C. 33/7o, 188/45SEP
Despins P. 396/71A
Desplaces N. 86/19SEP, 410/72A
Desreumaux P. 124/28S
Devillier P. 367/67A
Devos A.C. 71/16o
Dewit J. 277/63A
Dhédin N. 53/12o
Diakité F. 335/65A
Diallo S. 398/71A, 401/72A
Diamantis S. 178/43o
Diancourt L. 57/12o
Diebold M.D. 448/74A
Digol M. 361/66A
Diop A. 425/73A
Dipalma M. 510/78A
Djahmi N. 15/3o
Djahoudi A. 15/3o
Djebbour-Lévy S. 490/77A
Djennane F. 296/63A
Djossou F. 237/59o, 424/73A
Dmytruk N. 294/63A
Doco-Lecompte T. 493/77A
Doffoel M. 175/41o
Doit C. 212/50o
Doléans-Jordheim A. 92/21o, 330/65A, 332/65A
Doloy A. 257/63A, 258/63A, 259/63A, 261/63A, 312/65A
Domelier A.S. 355/65A
Dominguez S. 379/68A
Donnio P.Y. 42/10o, 236/59o, 264/63A
Doré J. 122/28S
Dormont D. 367/67A
Dosso M. 445/73A
Doucet-Populaire F. 9/2o, 60/13o, 276/63A, 483/76A, 487/76A
Doustdar F. 146/34o
Draoui H. 137/31o
Dreyfus F. 523/80A
Droguet J. 390/70A
Drouet D. 292/63A, 430/73A
Droulers A. 180/43o
Drugeon H.B. 39/9S, 265/63A, 456/75A, 458/75A, 461/75A, 478/76A, 479/76A, 480/76A, 481/76A
Drunat O. 182/43o
Dryden M.S. 465/75A
Dubaele J.M. 71/16o
Dublanchet A. 412/72A
Duboc P. 419/73A
Dubois D. 163/39o, 309/65A
Dubois F. 174/41o
Dubois V. 6/2o, 164/39o, 253/62A, 432/73A
Dubreuil L. 58/13o, 514/79A
Dubuisson M. 82/18o
Ducancelle A. 174/41o
Ducrocq X. 287/63A
Ducroquet F. 410/72A
Dufossez F. 288/63A
Dufour M.J. 236/59o
Dumaine V. 414/73A
Dumenil G. 247/60o
Dumitrescu O. 243/60o, 299/63A
Dumontet C. 92/21o
Dumoulard B. 266/63A
Dunais B. 239/59o, 268/63A
Dupin N. 369/67A
Duponchel J.L. 489/77A
Dupont C. 424/73A
Dupont P. 264/63A
Dupouy-Camet J. 19/4o, 523/80A
Dupuis A. 402/72A
Duran Cordobes M. 352/65A
Durand G. 302/64A
Durand P. 211/50o
Durocher A. 93/21o
Dussaix E. 31/7o, 375/68A, 452/74A
Dussartre C. 453/74A
Duval R.E. 469/75A, 470/75A, 471/75A
Duval V. 269/63A, 413/72A, 474/76A, 516/79A
Duval X. 106/23S
Duveau D. 396/71A

E

Auteur présent / Co auteur

Eb F. 71/16o, 270/63A, 344/65A, 346/65A
Eberl G. 123/28S
Eckert C. 245/60o, 442/73A
Ecobichon J.L. 503/78A
Ecochard R. 49/11S, 50/11S
Eden A. 421/73A
Ehrmann E. 110/25o
Eiden C. 21/4o, 502/78A
Eigner U. 47/10o
El Argoubi A. 435/73A, 460/75A
El Hajj L. 407/72A
El Marzouk N. 137/31o
El Mdaghri N. 11/3o
El Mniai A. 424/73A
El Nady H.G. 80/18o
Ellero B. 175/41o
Elmhamdi S. 365/66A
Eloit M. 126/29S
Emilie D. 145/34o
Enchery S. 388/69A
Enderlin E. 524/80A
Enouf V. 160/38S
Epelboin L. 424/73A
Epifanoff G. 415/73A
Equipe De Microbiologie 491/77A
Ergani A. 261/63A
Escuret V. 55/12o, 57/12o, 389/69A
Espern A. 522/80A
Essaadi M.A. 435/73A
Essalah L. 137/31o, 455/75A

Estève V. 293/63A
Etienne J. 5/2O, 49/11S, 50/11S, 51/11S, 108/25O, 242/60O, 243/60O, 302/64A, 310/65A, 334/65A, 390/70A, 488/76A
Etienne M. 179/43O
Etienne S. 180/43O
Eveillard M. 132/30O, 275/63A
Exinger J. 513/79A
Eyoka R.J. 180/43O
Eyrolle L. 414/73A
Ezzedine K. 17/4O

F

Auteur présent / Co auteur

Fabre M. 338/65A
Fabre R. 61/13O, 381/69A, 415/73A
Fafi-Kremer S. 175/41O
Fagundez E. 72/16O
Fahr A.M. 47/10O
Faibis F. 267/63A, 293/63A
Fantin B. 7/2O, 12/3O, 155/37S, 241/59O, 295/63A
Farce P. 476/76A
Farfour E. 54/12O
Farhad R. 29/7O, 519/79A
Fasquelle D. 271/63A
Fauchère J.L. 352/65A
Fauville-Dufaux M. 139/31O
Fave M.H. 71/16O
Favory R. 93/21O
Faye A. 209/50O
Faye-ketté H. 445/73A
Federici L. 501/78A
Feghoul L. 335/65A
Fegueux N. 21/4O, 525/80A
Feldman D. 409/72A, 492/77A
Felten A. 300/63A
Fendri C. 426/73A
Ferjani A. 278/63A, 365/66A, 372/68A, 439/73A
Ferjani S. 304/64A
Fernand-Laurent C. 371/68A, 449/74A
Ferraris O. 57/12O
Ferreyra M. 421/73A
Ferroni A. 210/50O, 211/50O, 349/65A
Fevre C. 72/16O
Fiette H. 111/25O
Filley F. 422/73A
Finance C. 469/75A, 470/75A, 471/75A
Fines M. 473/76A
Fischer A. 20/4O
Fleury A. 400/71A
Fleury H. 68/14O
Flipo J.L. 301/63A
Floret D. 55/12O, 89/20SEP, 141/32SEP, 359/66A
Floret N. 113/25O
Fodha I. 360/66A, 520/80A
Foegle J. 10/2O
Foeglé J. 391/70A
Foliot P. 407/72A
Fontaine C. 498/78A
Fontanay S. 469/75A, 470/75A
Fontenoy A.M. 32/7O, 112/25O
Fontier C. 147/34O
Fortin F. 138/31O
Fortineau N. 300/63A, 428/73A
Fosse T. 110/25O, 264/63A, 472/76A
Fouchard Hubert I. 174/41O
Foucher A. 366/67A
Foulet F. 528/80A
Foulongne V. 359/66A
Fourcade L. 359/66A
Fournel C. 401/72A
Fournier C. 402/72A
Fournier D. 334/65A, 462/75A
Fournier P.E. 227/57S
Fournier Charrière E. 380/69A
François B. 256/62A
François M. 214/50O, 382/69A
Frazier I. 420/73A
Fremy S. 438/73A
Freney J. 92/21O, 330/65A, 332/65A
Freyd A. 391/70A
Freydiere A.M. 349/65A
Freydière A.M. 334/65A
Freymuth F. 364/66A
Fricain J.C. 68/14O
Fritzell B. 23/5O
Frobert E. 448/74A
Fromage M. 352/65A
Fulchiron C. 316/65A
Fusellier A. 394/70A

G

Auteur présent / Co auteur

Gabriel G. 287/63A
Gachot B. 510/78A
Gagnant J. 529/80A
Gagneur A. 359/66A
Gaillard T. 521/80A
Gaillat J. 149/35S
Gajdos V. 27/5O
Galah S. 111/25O
Galinier J.L. 61/13O, 381/69A
Gallais J.L. 79/18O
Galleni M. 167/39O
Gallon O. 9/2O, 60/13O, 276/63A, 466/75A, 483/76A
Gangneux J.P. 152/36S
Gannem H. 365/66A
Ganor Y. 195/47S
Ganry O. 71/16O, 356/65A, 494/77A
Gardon C. 310/65A
Garin-Bastuji B. 127/29S, 341/65A
Garnier F. 65/14O, 255/62A, 272/63A, 285/63A, 294/63A, 348/65A, 443/73A
Garnier J. 412/72A
Garnier J.M. 269/63A, 516/79A
Garraffo R. 148/34O
Garre M. 223/54C
Garreau N. 282/63A, 291/63A
Garry L. 12/3O
Gatermann G. 47/10O
Gaudias J. 85/19SEP
Gauduchon V. 271/63A
Gaudy C. 505/78A
Gautheret-Dejean A. 52/12O, 53/12O, 450/74A
Gautier H. 131/30O
Gautier P. 42/10O, 236/59O
Gauzit R. 3/1SEP, 41/9S

Gavazzi G. 216/52SEP, 218/52SEP
Gbaguidi-Haore H. 280/63A
Gbonon V.C. 445/73A
Ge Y. 129/30O, 130/30O, 133/30O
Geffroy F. 60/13O, 276/63A
Geli J. 450/74A
Gendrel D. 142/32SEP, 359/66A
Gérard-Pipot F. 29/7O
Germain J.M. 82/18O
Gérôme P. 338/65A
Gesbert G. 336/65A
Gestin B. 339/65A, 467/75A
Gharbi H. 137/31O, 455/75A
Ghariani A. 137/31O, 455/75A
Gherardi C. 301/63A
Ghosn J. 162/38S
Gibel L. 264/63A, 271/63A
Gil H. 181/43O
Gilibert A. 322/65A
Gille Y. 313/65A, 351/65A
Gillet Y. 55/12O
Girard A.M. 468/75A
Girardot I. 109/25O
Giraud K. 180/43O
Giraud-Morin C. 110/25O
Girault S. 294/63A
Girlich D. 248/62A
Glowacki M. 388/69A
Glupczynski Y. 8/2O, 166/39O, 250/62A
Gobin P. 95/21O
Godard C. 277/63A
Godard T. 477/76A
Godde N. 512/79A
Goetgheluck A.S. 270/63A, 444/73A
Goichot B. 527/80A
Gold F. 393/70A
Goldschmidt E. 31/7O
Gontier D. 61/13O, 381/69A
Gonzalez A. 186/44S
Gordien E. 373/68A
Gosset M. 71/16O
Gosseye S. 361/66A
Goubard A. 44/10O
Gouby A. 305/64A
Goudal M. 128/29S
Goudard M. 453/74A
Goudeau A. 273/63A, 274/63A, 345/65A, 417/73A
Gouin F. 152/36S
Goulet V. 135/31O
Gourari S. 296/63A
Gouriet F. 184/44S
Gouriou S. 436/73A
Goutelle S.G. 96/21O
Graff W. 410/72A
Grammatico-Guillon L. 33/7O
Grandbastien B. 279/63A
Grando J. 390/70A
Grangeot-Keros L. 214/50O
Granier S.A. 134/31O, 238/59O, 254/62A, 281/63A, 438/73A
Grare M. 25/5O, 469/75A, 470/75A, 471/75A
Gras G. 405/72A
Grassi V. 24/5O, 240/59O
Grattard F. 121/27S
Gravelines N. 266/63A
Graveron J.L. 273/63A, 274/63A
Gravet A. 264/63A, 301/63A, 472/76A
Gravisse J. 260/63A
Grawey I. 301/63A
Greder-Belan A. 73/16O
Green N.M. 244/60O
Grégoire N. 97/21O
Grélaud C. 272/63A, 472/76A
Grenier F. 181/43O
Grésanleux M. 71/16O
Grignon B. 264/63A, 472/76A
Grignon C. 97/21O
Grillet N. 61/13O
Grillon A. 273/63A, 417/73A
Grog I. 57/12O
Grohs P. 420/73A
Groupe d'étude 50/11S
Groupe d'étude 265/63A, 461/75A
Groupe d'étude des liquides de conservation de rein d'Ile-de-France 300/63A
Groupe des Microbiologistes de L'ORP Ile-de-France Est 267/63A
Groupe des Pédiatres et Microbiologistes de l'Observatoire 213/50O
Groupe D'investigateurs 27/5O, 28/5O
Groupe ENP Raisin 20/4O
Grout J. 254/62A, 438/73A
Guahbiche M. 435/73A
Guedec R. 448/74A
Guerroumi H. 147/34O
Guéry B. 37/8SEP
Guessennd N. 445/73A
Guet L. 82/18O
Gueudet P. 421/73A
Gueudet T. 301/63A, 320/65A
Guevard E. 17/4O
Guidasci T. 52/12O
Guiet P. 324/65A
Guigas V. 284/63A
Guillard T. 269/63A, 413/72A, 474/76A
Guille Des Buttes A.C. 32/7O, 112/25O
Guillemain R. 22/4O, 66/14O, 526/80A
Guillemin G.J. 367/67A
Guillemot D. 128/29S, 424/73A
Guiller E. 525/80A
Guillet M. 210/50O, 366/67A
Guillet-Caruba C. 210/50O
Guillot P.Y. 272/63A
Guillouzouic A. 482/76A
Guiyedi V. 503/78A
Gustin B. 70/16O
Gut J.P. 175/41O
Gutierrez M.C. 146/34O, 440/73A
Gutmann L. 264/63A

H

Auteur présent / Co auteur

Haas H. 28/5O, 385/69A
Hachicha M. 360/66A
Haddad J. 297/63A
Hadou T. 264/63A, 315/65A

Haenni M. 286/63A
Hafsaoui C. 181/43O
Hajjar C. 466/75A
Hajjar J. 217/52SEP
Halfon P. 67/14O, 176/41O, 370/67A, 377/68A, 378/68A
Hallier S. 354/65A
Hamdad F. 264/63A, 270/63A, 346/65A, 472/76A
Hamidou H. 482/76A
Hammami A. 431/73A, 473/76A
Hammami B. 515/79A
Handal T. 110/25O
Hang S. 519/79A
Hannachi N. 365/66A, 372/68A
Hansel-Esteller S. 525/80A
Hantz S. 65/14O, 159/38S, 451/74A, 453/74A
Haouchine D. 504/78A
Harbi A. 360/66A
Harchay C. 427/73A
Harf-Monteil C. 253/62A
Harrabi I. 365/66A
Harrath R. 427/73A
Harriau P. 273/63A, 274/63A
Hartemann P. 287/63A
Harzic M. 336/65A, 371/68A, 449/74A
Hassler P. 513/79A
Heidt A. 301/63A, 513/79A
Hello M. 252/62A
Hemet M.E. 312/65A
Hénard S. 109/25O, 287/63A
Henault S. 341/65A
Hendricx S. 266/63A, 406/72A
Henquell C. 53/12O, 81/18O
Hermet F. 353/65A
Hernandez C. 10/2O, 391/70A, 527/80A
Hernandez E. 111/25O
Hernould M. 253/62A
Hervé C. 324/65A
Hervé-Bazin M. 136/31O
Herzig V. 301/63A
Hésèque C. 71/16O
Heurte J. 270/63A
Hicheri Y. 454/75A
Hidar S. 365/66A
Hidri N. 255/62A, 256/62A, 272/63A, 285/63A, 294/63A, 443/73A
Hilaire J.C. 73/16O
Hillaire-Buys D. 21/4O, 502/78A
Hindler J. 326/65A, 327/65A
Hippy-Muller C. 388/69A
Hirsch M.P. 71/16O
Hober D. 359/66A
Hocquet D. 113/25O, 200/48O
Hoen B. 235/58S
Holfelder M. 47/10O
Holstein A. 273/63A, 274/63A, 345/65A, 417/73A
Hommel M. 194/46S
Honderlick P. 260/63A, 300/63A
Horeau-Langlard D. 522/80A
Houdouin V. 206/49SEP
Houzé S. 504/78A
Hovsepian L. 411/72A
Hraoui M. 259/63A
Huet F. 359/66A
Huguon E. 28/5O
Huraux J.M. 52/12O
Husson M.O. 279/63A

I

Auteur présent / Co auteur

Ichou H. 509/78A
Idris S. 245/60O
Imbert P. 209/50O
Iredell J. 412/72A
Irrazi M.B. 70/16O, 397/71A
Itani K.M.M. 465/75A
Izri A. 504/78A

J

Auteur présent / Co auteur

Jacqueline C. 129/30O, 130/30O, 131/30O, 252/62A, 331/65A, 464/75A
Jacques J. 362/66A, 363/66A
Jacquet A. 314/65A
Jacquier H. 201/48O
Jacquot C. 332/65A
Jaffar-Bandjee M.C. 292/63A, 430/73A
Jamonneau J. 17/4O
Jan D. 236/59O, 275/63A
Jansen C. 395/70A
Janvier F. 62/13O
Jaouadi L. 437/73A
Jaouen E. 275/63A
Jarlier V. 105/23S, 317/65A, 440/73A
Jarno P. 282/63A, 291/63A
Jarraud S. 49/11S, 50/11S, 51/11S, 390/70A
Jarrin I. 172/41O
Jaulhac B. 10/2O, 98/22S, 321/65A, 513/79A
Javouhey E. 55/12O
Jeanne L. 414/73A
Jeannin P. 160/38S
Jehl F. 38/9S, 63/13O, 94/21O, 301/63A
Jelili N. 262/63A
Jenny J.Y. 84/19SEP
Jeronimo C. 180/43O
Jeulin H. 497/78A
Join-Lambert O. 300/63A
Joly-Guillou M.L. 58/13O, 132/30O, 275/63A, 409/72A
Jones C.H. 250/62A
Jordheim L.P. 92/21O
Joseph R. 277/63A
Jouble F. 275/63A
Jouenne T. 228/57S, 251/62A
Jouy E. 238/59O, 281/63A
Jouzeau N. 109/25O
Jovelin T. 503/78A
Jullien V. 177/41O
Jurado V. 307/64A
Juvin M.E. 112/25O, 275/63A, 475/76A

K

Auteur présent / Co auteur

Kaadri Y. 435/73A
Kac G. 420/73A
Kacet N. 279/63A
Kacou-N'douba A. 445/73A
Kadri Y. 460/75A
Kamel A.H. 80/18O

Kanitz E. 440/73A
Kanoun F. 500/78A
Kaplon J. 359/66A
Kassis N. 31/7O
Katlama C. 379/68A
Kechrid A. 262/63A
Kempf I. 238/59O
Kempf M. 58/13O, 132/30O, 264/63A, 275/63A, 472/76A
Keren T. 52/12O
Ketata S. 360/66A, 437/73A, 520/80A
Khairi H. 365/66A
Kharrat P. 487/76A
Khawaldeh A. 412/72A
Khedher M. 333/65A
Khelifa F. 173/41O
Khen-Dunlop N. 210/50O
Khiri H. 67/14O, 370/67A
Khosnood B. 33/7O
Kilani B. 500/78A
Kitzis M.D. 212/50O, 410/72A, 456/75A, 458/75A
Klein P. 385/69A
Kleinberg M. 94/21O
Klenk H.P. 307/64A
Klossek J.M. 222/54C
Kobisch M. 238/59O
Koeck J.L. 264/63A, 472/76A
Koffi B. 376/68A
Konamna X. 376/68A
Koné M.C. 271/63A
Korb V. 526/80A
Kostrzewa M. 47/10O
Kostzreva M. 46/10O, 186/44S
Kouakou L. 26/5O
Kowalczyk F. 275/63A
Krivine A. 499/78A
Kroppenstedt R. 307/64A
Kunkel M. 465/75A

L

Auteur présent / Co auteur

L'heriteau F. 441/73A
L'hirondel J. 522/80A
L'ollivier C. 524/80A
Labatte C. 487/76A
Labbe A. 81/18O
Lacave L. 441/73A
Lachaise V. 65/14O, 451/74A
Lacroix C. 300/63A
Lafaille F. 408/72A
Lafaurie C. 269/63A
Lafuente-Lafuente C. 172/41O
Lagathu G. 54/12O
Lage-Ryk N. 423/73A
Lagier E. 328/65A
Lahiani D. 515/79A
Laiz L. 307/64A
Lakroun S. 180/43O
Lalande V. 337/65A
Lamarche I. 95/21O
Lambert J. 176/41O, 378/68A
Lambert T. 230/57S
Lamblin G. 368/67A
Lamory F. 71/16O, 356/65A, 494/77A
Lamy B. 9/2O, 60/13O, 276/63A
Lancelot J.C. 471/75A
Lancien Mainot E. 422/73A, 423/73A
Langeard M. 275/63A
Langue J. 56/12O
Lanotte P. 264/63A, 273/63A, 274/63A, 345/65A, 417/73A, 472/76A
Lanquetot H. 402/72A
Lanternier F. 18/4O, 422/73A, 423/73A
Lantz V. 301/63A
Laouar M. 399/71A, 496/78A
Laouini D. 305/64A, 463/75A
Lardon Z. 128/29S
Lariven S. 504/78A
Larouzé B. 374/68A
Lartigue F. 355/65A
Lartigue M.F. 273/63A, 274/63A, 417/73A
Lascols C. 456/75A, 457/75A, 458/75A, 459/75A, 478/76A, 479/76A
Lassel L. 428/73A
Lassoued N. 426/73A
Lathro J. 26/5O
Latour F. 476/76A
Laudat P. 273/63A, 274/63A
Laude H. 369/67A
Lauer M. 94/21O
Launay N. 43/10O, 44/10O, 322/65A
Laurain C. 25/5O
Laurans G. 264/63A, 270/63A
Laurent C. 166/39O
Laurent F. 171/40S, 204/48O, 302/64A, 308/64A, 313/65A, 323/65A, 351/65A, 462/75A
Laurichesse H. 140/32SEP
Lauwers S. 250/62A
Lavigne J.P. 242/60O, 249/62A, 305/64A, 350/65A, 433/73A, 463/75A
Lavigne T. 10/2O, 391/70A, 527/80A
Lazarian G. 55/12O
Lazizzera C. 77/17S
Le Bihan M.R. 73/16O
Le Bras J. 504/78A
Le Brun C. 275/63A
Le Chevalier B. 405/72A
Le Faou A. 361/66A, 376/68A
Le Floch R. 298/63A, 411/72A
Le Gal S. 160/38S
Le Gargasson G. 475/76A
Le Glaunec J.M. 43/10O, 44/10O, 322/65A
Le Goff A. 329/65A
Le conseil scientifique de l'ONERBA 116/26SEP
Le groupe d'étude AmarCand 152/36S
Le groupe Observatoire de la résistance du CMV aux antiviraux 65/14O
Le Groupe d'Etude et les Centres Participants 49/11S
Le Guen P. 236/59O, 284/63A
Le Hong L. 485/76A
Le Mabecque V. 129/30O, 130/30O, 131/30O, 252/62A, 331/65A, 464/75A
Le Monnier A. 135/31O, 136/31O, 211/50O, 336/65A, 477/76A
Le Poder S. 125/29S
Le Réseau du CNR-Myrma . 440/73A
Le Reste J.Y. 275/63A
Le Roux A. 238/59O
Lebesgue S. 180/43O

Lebon P. 359/66A, 369/67A
Lebraud P. 452/74A
Lebuisson A. 19/4O
Lecaillon E. 421/73A
Lechiche C. 403/72A, 408/72A
Leclerc P. 410/72A
Leclercq A. 135/31O, 136/31O
Leclercq R. 34/8SEP, 456/75A, 458/75A, 473/76A, 478/76A, 479/76A
Lecointe D. 72/16O
Lecuit M. 18/4O, 135/31O, 136/31O, 146/34O, 226/56SEP
Lécuyer A. 23/5O, 213/50O
Ledru S. 318/65A
Lefebvre M. 252/62A, 464/75A
Lefeuvre S. 22/4O, 66/14O
Lefort A. 295/63A
Lefort Y. 292/63A, 430/73A
Legout L. 138/31O, 514/79A
Legrand F. 200/48O
Legrand P. 43/10O, 44/10O, 300/63A, 322/65A, 454/75A
Legras P. 132/30O
Legros F. 191/46S, 209/50O
Lehours P. 246/60O, 349/65A
Lejeune B. 203/48O, 282/63A
Lelieur M. 406/72A
Lelieur-Pierard M. 268/63A
Lemaire C. 272/63A, 289/63A
Lemaire X. 514/79A
Lemaitre F. 95/21O
Lemaitre P. 270/63A
Lemann M. 145/34O
Lemble C. 301/63A
Lemée L. 240/59O, 442/73A
Lemire A. 134/31O, 458/75A
Lenoir I. 272/63A
Léotard S. 290/63A, 429/73A
Lepargneur J.P. 61/13O
Lepelletier A. 32/7O
Lepelletier D. 13/3O, 32/7O, 112/25O, 168/39O, 396/71A, 482/76A
Leport C. 106/23S, 145/34O, 503/78A
Lepoutre A. 257/63A, 264/63A
Leprince C. 32/7O, 112/25O, 168/39O, 396/71A
Leput E. 265/63A, 461/75A
Léquippe B. 32/7O
Leroy J. 181/43O
Leroy J.P.P. 24/5O, 240/59O
Leroy K. 246/60O
Leroy O. 152/36S
Leruez-Ville M. 196/47S, 214/50O
Lery T. 382/69A
Les membres du comité de pilotage 217/52SEP
Les membres du Réseau Epiville-France 432/73A
Les Praticiens et Infirmier(e)s de L'inter-région Ouest 282/63A
Lesage F. 211/50O
Lescat M. 424/73A
Lesnard A. 471/75A
Lesueur C. 356/65A, 494/77A
Levasseur P. 468/75A
Leveque N. 362/66A, 363/66A, 364/66A, 448/74A
Levesque H. 179/43O
Levy C. 23/5O, 56/12O, 213/50O
Leyssene D. 163/39O, 309/65A
Lezzar A. 416/73A
Lhotellier L. 410/72A
Lienhard R. 314/65A
Lima S. 416/73A, 485/76A
Lina B. 55/12O, 57/12O, 101/22S, 358/66A, 359/66A, 362/66A, 368/67A, 389/69A
Lina G. 108/25O, 242/60O, 243/60O, 302/64A, 310/65A, 334/65A, 488/76A
Livrelli V. 529/80A
Lixandru B.E. 237/59O
Llorens M. 70/16O, 397/71A
Loiseau P.M. 504/78A
Lombrail P. 69/16O, 446/73A
Longuet P. 106/23S, 503/78A
Lorrot M. 359/66A
Lortat-Jacob A. 83/19SEP
Lortholary O. 18/4O, 146/34O, 152/36S, 153/36S, 211/50O, 422/73A, 423/73A
Lortholoary O. 145/34O
Lory A. 489/77A
Loubinoux J. 404/72A
Loukou Y.G. 26/5O
Loundon N. 214/50O
Louro M.D. 383/69A
Lovering A.M. 411/72A
Lozniewski A. 25/5O, 315/65A
Lucet J.C. 120/27S, 178/43O, 182/43O
Lucht F. 121/27S
Lukaszewiez A. 448/74A
Lunel Fabiani F. 174/41O
Lupberger J. 175/41O
Lureau B. 275/63A
Ly T.D. 352/65A

M

Auteur présent / Co auteur

Maach-Barbarie S. 272/63A
Maâloul I. 515/79A
Macé M. 505/78A
Madani N. 127/29S
Madec J.Y. 77/17S, 116/26SEP, 286/63A
Madinier I. 110/25O
Madoux J. 269/63A, 474/76A
Magnier J.D. 172/41O
Magny J.F. 214/50O
Magy Bertrand N. 181/43O
Mahdjoub H. 374/68A
Mahfoudh S. 283/63A
Mahjoubi F. 431/73A, 473/76A
Mahoudeau I. 301/63A
Maier T. 47/10O
Maignot S. 490/77A
Mailles A. 127/29S, 339/65A
Mainardi J.L. 35/8SEP
Maire P.M. 96/21O
Mairey E. 247/60O
Maisonneuve L. 447/74A
Majtán J. 306/64A
Majtán T. 303/64A
Majtán V. 303/64A, 306/64A
Majtánová L. 303/64A, 306/64A
Makinson A. 502/78A
Malandain E. 92/21O
Malbec D. 447/74A

Malbrunot C. 72/16O, 111/25O
Malfait P. 489/77A
Mallaret M.R. 332/65A
Malvy D. 17/4O
Mamlouk K. 304/64A
Mammeri A. 399/71A, 496/78A
Mammeri H. 167/39O, 344/65A
Mamoudy P. 410/72A
Mamzer Bruneel M.F. 18/4O
Mandart C. 73/16O
Mandjee A. 271/63A
Maneglier B. 367/67A, 401/72A
Mangein J. 58/13O
Mangue S. 361/66A
Mann L.M. 326/65A, 327/65A
Mansour W. 174/41O
Mansouri M. 428/73A
Marcadal T. 51/11S
Marcelin A.G. 161/38S
Marchadier E. 375/68A
Marchandin H. 442/73A
Marès P. 305/64A
Marhuenda Y. 525/80A
Mariani Kurkdjian P. 212/50O
Mariani-Kurkdjian P. 206/49SEP
Marianni P. 6/2O
Mariette X. 145/34O
Marlin S. 214/50O
Marmiesse M. 456/75A
Marque Juillet S. 336/65A, 371/68A, 449/74A
Marrakchi C.H. 515/79A
Marthelet P. 271/63A
Martin C. 255/62A, 272/63A, 285/63A, 294/63A, 443/73A
Martinaud C. 521/80A
Martinez V. 366/67A
Martinot A. 359/66A
Martinot M. 501/78A
Martres P. 400/71A
Marty N. 354/65A, 442/73A
Marzouk M. 278/63A, 365/66A, 372/68A, 439/73A
Maslin J. 521/80A
Masmoudi A. 426/73A
Masse V. 423/73A
Massé J.M. 195/47S
Massias L. 12/3O
Massimba Dibama H. 469/75A, 470/75A
Masson G. 272/63A, 294/63A
Masson I. 477/76A
Mastouri M. 333/65A, 360/66A, 427/73A, 435/73A, 437/73A, 460/75A
Matanza D.M. 96/21O
Matheron S. 504/78A
Mathevet P. 368/67A
Mathieu D. 93/21O
Maugat S. 20/4O
Maugein J. 264/63A, 472/76A
Maulard A. 477/76A
Maurer B. 415/73A
Maurer C. 77/17S
Maurin M. 127/29S, 339/65A, 340/65A, 467/75A, 513/79A
Maury L. 353/65A
May T. 287/63A
Mazars E. 319/65A
Mazel D. 201/48O
Mazeron M.C. 65/14O, 172/41O, 371/68A
Mazier D. 185/44S
Mazoyer M.A. 330/65A
Mc Gill P. 62/13O
Meaux Ruault N. 181/43O
Mechaï F. 18/4O, 422/73A
Méchain M. 357/66A
Mégraud F. 6/2O, 246/60O, 349/65A, 352/65A
Mehiri-Zghal E. 137/31O, 455/75A
Mekki Y. 358/66A, 368/67A, 389/69A
Menard T. 272/63A
Ménard A. 349/65A
Ménard C. 321/65A
Menotti J. 18/4O
Ménouar M. 266/63A
Merabet L. 454/75A
Merad M. 508/78A, 510/78A
Meradi L. 15/3O
Mereghetti L. 244/60O, 345/65A, 417/73A
Mérens A. 61/13O, 62/13O, 111/25O, 116/26SEP, 381/69A, 456/75A, 458/75A, 484/76A
Meritet J.M. 177/41O
Merle V. 82/18O
Merlin J. 346/65A
Mesmin-Poho S. 52/12O
Messaadi F. 360/66A
Messadi A.A. 297/63A
Messalhi N. 399/71A, 496/78A
Métais C. 490/77A
Meugnier H. 108/25O, 237/59O, 302/64A, 310/65A, 488/76A
Meunier D. 77/17S, 286/63A
Mevius D. 254/62A
Meyer G. 420/73A
Mezghani Maalej S. 431/73A, 473/76A
Mhalla S. 439/73A
Miara A. 458/75A
Michard F. 504/78A
Michel A.S. 471/75A
Michelet C. 145/34O
Mick G. 79/18O
Miègeville A.F. 129/30O, 131/30O, 252/62A, 464/75A
Mihaila L. 31/7O, 111/25O
Millat F. 346/65A
Mimoz O. 40/9S
Minarini L.A.A. 164/39O
Minchella A. 350/65A, 403/72A, 408/72A, 433/73A, 518/79A
Minodier P. 209/50O
Miossec C. 468/75A
Miquel C. 421/73A
Mira J.P. 152/36S
Miragaia M. 311/65A
Mirand A. 81/18O
Mirrett S. 326/65A, 327/65A
Mitanchez D. 393/70A
Mnif B. 431/73A
Mobima T. 376/68A
Moenne-Loccoz R. 175/41O
Mogabure P. 47/10O
Mohseni Zadeh M. 501/78A
Moissenet D. 333/65A
Moiton M.P. 292/63A, 430/73A

Molinari L. 433/73A
Molinari N. 403/72A
Molle V. 251/62A
Mondain V. 29/7O
Monge A.S. 346/65A
Monghal M. 140/32SEP
Monnier S. 371/68A
Montariol T. 495/77A
Montravers P. 152/36S, 220/53SS
Morales S. 412/72A
Morand P.C. 414/73A
Morange V. 345/65A, 417/73A
Morelet L. 272/63A
Moret L. 69/16O
Morfin F. 55/12O
Morio F. 522/80A
Mornand P. 209/50O
Mortier E. 509/78A
Morvan A. 136/31O
Mory F. 442/73A
Mory O. 384/69A, 386/69A
Mosnier A. 56/12O
Moubareck C. 11/3O, 134/31O, 136/31O, 478/76A, 479/76A
Mouffok N. 511/79A
Mouniée D. 307/64A, 308/64A
Mounier M. 285/63A, 443/73A, 488/76A
Mounoury O. 503/78A
Mourdi N. 380/69A
Mousnier F. 53/12O
Moussa B. 180/43O
Moussaoui W. 46/10O, 186/44S
Mozas M. 275/63A
Muller-Serieys C. 58/13O, 59/13O, 456/75A
Munier S. 160/38S
Murbach V. 63/13O, 94/21O, 301/63A
Musser J.M. 244/60O
Musset J.P. 72/16O
Mutel T. 10/2O, 391/70A

N

Auteur présent / Co auteur

N'Guyen Bourgain C. 359/66A
Naas T. 202/48O, 203/48O, 229/57S, 416/73A, 436/73A, 485/76A
Nachit-Ouinekh F. 382/69A
Naepels I. 381/69A
Naffakh N. 160/38S
Naga H. 180/43O
Nakouné E. 361/66A
Nassif X. 247/60O, 422/73A, 423/73A
Ndiaye B. 147/34O
Neggazi M. 296/63A
Négrin N. 290/63A, 429/73A
Ngo A.H. 490/77A
Ngouffi Penka M. 407/72A
Nicand E. 54/12O, 284/63A
Nicolas-Chanoine M.H. 7/2O, 107/23S, 295/63A
Nikpay F. 509/78A
Noomen S. 435/73A, 460/75A
Nordmann P. 164/39O, 165/39O, 167/39O, 199/48O, 202/48O, 203/48O, 204/48O, 208/49SEP, 229/57S, 248/62A, 416/73A, 418/73A, 428/73A, 485/76A
Noulard M.N. 266/63A
Nseir S. 93/21O

O

Auteur présent / Co auteur

Obin O. 71/16O, 356/65A, 494/77A
Ofukaná A. 306/64A
Oksenhendler E. 144/34O
Oliveira D.C. 311/65A
Olives J.P. 385/69A
Olivier M. 282/63A, 291/63A
Olivieri C. 524/80A
Ollivier F. 409/72A, 446/73A, 492/77A
Onde O. 518/79A
Onimus T. 93/21O
Oriot D. 359/66A
Oswald E. 75/17S
Ouassa T. 26/5O
Ouavènè J.O. 376/68A
Oud N. 398/71A
Oudart C. 438/73A
Oudjhani M. 180/43O
Oueslati H. 297/63A
Oueslati S. 297/63A
Ould Aoudia V. 32/7O
Ould-Kaci K. 147/34O
Ousser F. 296/63A
Ouwehand M. 180/43O
Ouzan D. 377/68A

P

Auteur présent / Co auteur

Paccalin M. 402/72A
Pagès J.M. 249/62A
Paille C. 69/16O
Pajot M. 446/73A, 492/77A
Pakenham M. 405/72A
Palette X. 466/75A, 483/76A
Palù G. 14/3O
Pangon B. 16/3O, 336/65A, 401/72A, 477/76A
Pannecouck J.M. 266/63A
Papy E. 178/43O
Parat S. 214/50O
Parent Du Chatelet I. 240/59O
Parez N. 359/66A, 384/69A, 386/69A
Parsy R. 388/69A
Pascal P. 299/63A
Pasquet B. 241/59O
Patey O. 412/72A
Paugam A. 19/4O, 523/80A
Paul J.G. 266/63A
Pautier P. 510/78A
Pavio N. 126/29S
Payen S. 288/63A
Payro G. 61/13O, 381/69A
Péan Y. 293/63A
Pécastaings S. 354/65A
Péchereau M.C. 468/75A
Péchinot A. 264/63A, 472/76A
Pecorella E. 281/63A
Peigue-Lafeuille H. 64/14O, 81/18O
Pelloux I. 339/65A, 340/65A
Peltier M.P. 357/66A
Pénaranda G. 67/14O, 176/41O, 370/67A, 377/68A, 378/68A
Perbost I. 148/34O
Pereyre S. 342/65A, 343/65A, 517/79A

Perier Y. 512/79A
Perrat G. 518/79A
Perrier-Gros-Claude J.D. 11/3O
Perrin Guyomard A. 482/76A
Perro G. 298/63A
Perronne C. 176/41O, 378/68A
Pestel-Caron M. 251/62A
Pestourie N. 285/63A, 443/73A
Peter M. 369/67A
Petit J.C. 337/65A
Peyramond D. 30/7O
Peyrière H. 21/4O, 502/78A
Peytavin G. 498/78A
Pfeffer J. 61/13O, 381/69A
Phai Pang K.A. 527/80A
Pham L.L. 178/43O, 425/73A
Philippe C. 384/69A, 386/69A
Piaton E. 368/67A
Picard M. 396/71A
Pichon N. 256/62A
Piednoir E. 512/79A
Piémont Y. 46/10O, 186/44S, 321/65A
Piérard D. 250/62A
Pierre T. 204/48O, 462/75A
Pierron P. 72/16O
Pierrot P. 301/63A
Pigeon B. 388/69A
Pillet P. 349/65A
Pillet S. 148/34O, 359/66A
Pina P. 205/49SEP, 466/75A, 483/76A
Pinchinat S. 79/18O
Piquet C. 254/62A, 438/73A
Pires-Cronenberger S. 49/11S, 50/11S, 51/11S
Pires-Gomes C. 254/62A, 438/73A
Piroth L. 133/30O
Pistone T. 17/4O
Pitout J. 199/48O
Plainvert C. 16/3O
Plésiat P. 113/25O, 200/48O, 219/53SS
Plessis P. 236/59O
Ploy M.C. 11/3O, 255/62A, 256/62A, 264/63A, 272/63A, 285/63A, 294/63A, 443/73A, 472/76A, 486/76A
Podglajen I. 420/73A
Poilane I. 335/65A
Poirel L. 164/39O, 165/39O, 199/48O, 204/48O, 208/49SEP, 248/62A, 418/73A
Poirier J.M. 505/78A
Poirier R. 49/11S, 51/11S
Poisson D.M. 273/63A, 274/63A
Poisson F. 352/65A
Pol P.H. 177/41O
Pol S. 176/41O, 378/68A
Poliak S. 341/65A
Pollet J. 9/2O, 60/13O, 276/63A
Pons G. 380/69A
Pons J.L. 419/73A
Porcheret H. 293/63A, 447/74A
Porcheron M. 490/77A
Potel G. 129/30O, 130/30O, 131/30O, 252/62A, 409/72A, 446/73A, 464/75A, 492/77A
Pothier P. 80/18O, 359/66A
Potron A. 165/39O
Pouedras P. 236/59O
Poujol H. 403/72A
Pourcel C. 333/65A
Poyart C. 225/56SEP, 257/63A, 258/63A, 261/63A, 312/65A, 414/73A
Pozzetto B. 90/20SEP, 121/27S
Pradel N. 163/39O
Pradier C.H. 239/59O
Pratlong F. 504/78A
Prère M.F. 347/65A, 387/69A
Pressac D. 272/63A
Prévost G. 46/10O, 186/44S
Prevotat A. 138/31O
Prognon P. 526/80A
Pugliese P. 148/34O
Pujol A. 320/65A
Pupin H. 415/73A
Puyhardy J.M. 284/63A

Q

Auteur présent / Co auteur

Quentin C. 6/2O, 164/39O, 253/62A, 432/73A
Quentin R. 355/65A

R

Auteur présent / Co auteur

Rabaud C. 109/25O, 287/63A, 497/78A
Rabbat A. 404/72A
Racinne A. 343/65A
Radenen-Bussière B. 369/67A
Raffi F. 503/78A
Ragon J.J. 324/65A
Rahmani I. 297/63A
Rambur C. 71/16O
Ramdani-Bouguessa N. 5/2O, 296/63A
Rameix-Welti M. 160/38S
Ramírez-Durán N. 308/64A
Rasigade J.P. 108/25O
Rasson S. 489/77A
Raulin O. 204/48O, 302/64A, 313/65A, 323/65A, 351/65A, 462/75A
Rault S. 471/75A
Ravanel N. 339/65A, 340/65A
Ravat R. 298/63A
Ravaud P. 145/34O
Raymond J. 264/63A, 312/65A, 352/65A, 472/76A
Rebeyrotte C. 272/63A
Receveur M.C. 17/4O
Recule C. 165/39O, 271/63A
Régnier B. 152/36S
Regnouf-de-Vains J.B. 469/75A, 470/75A
Rego L. 351/65A
Rekik M. 431/73A
Rekik-Meziou M. 431/73A
Reller L.B. 326/65A, 327/65A
Remiet O. 413/72A
Renard M. 424/73A
Renaud F.N.N. 330/65A
Renaud M. 402/72A
Renaudie J. 453/74A
Renault C. 63/13O
Renois F. 362/66A, 363/66A
Renou C. 126/29S, 377/68A
Réseau Antibiolor 493/77A
Reverdy M.E. 299/63A, 313/65A, 456/75A, 458/75A, 488/76A

Revillion M. 240/59O
Révillon Y. 210/50O
Reynaud A. 13/3O, 112/25O, 168/39O, 396/71A, 482/76A
Reynes J. 152/36S, 502/78A
Reyrolle M. 390/70A
Richard C. 428/73A
Richard J.L. 242/60O, 463/75A
Richer O. 349/65A
Richter S.N. 14/3O
Rieder Monsch C. 301/63A, 320/65A
Riegel P. 46/10O, 186/44S, 516/79A
Rieger S. 398/71A
Rieu J.B. 387/69A
Rieu P. 413/72A
Rigaudeau S. 449/74A
Rioux C. 178/43O
Rivier A. 315/65A
Robaday S. 179/43O
Robert J. 115/26SEP, 440/73A
Robin F. 163/39O
Roblot F. 402/72A
Rodière M. 359/66A
Rodriguez-Nava V. 307/64A, 308/64A
Rodriguez-Villalobos H. 166/39O
Roger P.M. 29/7O, 148/34O, 519/79A
Rogues A.M. 6/2O
Rolain J.M. 183/44S
Rolland C. 266/63A
Romain O. 382/69A
Roncin L. 68/14O
Rondelot G. 70/16O
Roque-Afonso A.M. 82/18O, 375/68A, 452/74A
Roques C. 354/65A
Ros A. 264/63A, 472/76A, 476/76A
Rosenheim M. 152/36S
Rosenthal E. 377/68A
Rosin J. 355/65A
Rosner V. 63/13O
Rosso M.L. 99/22S
Roth G. 42/10O
Roth O. 395/70A
Rotivel Y. 128/29S
Rottman M. 414/73A
Roure-Sobas C. 204/48O, 313/65A, 323/65A, 351/65A, 462/75A
Rousseau C. 7/2O, 295/63A, 335/65A
Rousseau F. 270/63A
Roussel S. 134/31O
Roussel-Delvallez M. 58/13O, 93/21O, 264/63A, 266/63A, 268/63A, 434/73A, 456/75A, 458/75A, 472/76A
Rouveix B. 425/73A
Rouvière S. 466/75A
Roux C. 521/80A
Roux J. 363/66A
Rouzic N. 5/2O
Roy P. 323/65A
Rozenberg F. 369/67A
Ruelle M. 324/65A
Ruffié P. 510/78A
Ruimy R. 237/59O, 325/65A
Ruppé E. 424/73A, 425/73A

S

Auteur présent / Co auteur

Saad S. 182/43O
Sabah M. 239/59O
Sabatier B. 526/80A
Sabatier M. 57/12O
Sablé R. 447/74A
Saby K. 109/25O
Saez M. 320/65A
Saidani M. 304/64A
Saiz-Jimenez C. 307/64A
Sakka H. 426/73A
Salauze B. 393/70A
Salles N. 246/60O
Salmon D. 145/34O, 177/41O, 499/78A, 523/80A
Salmon-Céron D. 498/78A
Salomé E. 524/80A
Salomon E. 487/76A
Salord H. 204/48O, 313/65A, 323/65A, 330/65A, 351/65A, 462/75A
Samaille S. 266/63A
Sammoud S. 426/73A
Sana C. 27/5O
Sanchez-Herrera K. 308/64A
Sanders P. 238/59O
Sandoval H. 308/64A
Sanglier S. 186/44S
Sannier O. 346/65A
Sanson Le Pors M.J. 172/41O, 201/48O
Saras E. 286/63A
Saraux J.L. 407/72A
Sarfati C. 18/4O
Sarnacki S. 210/50O
Sarran A. 466/75A
Sartre J. 271/63A
Sastre-Garau X. 369/67A
Saulnier F. 93/21O
Sautour M. 524/80A
Sayon S. 173/41O
Scanvic A. 293/63A
Schacre D. 180/43O
Scheftel J.M. 46/10O, 186/44S, 321/65A, 416/73A
Schlemmer B. 118/26SEP
Schmit J.L. 71/16O, 346/65A
Schmitt A. 195/47S
Schnell D. 422/73A
Schnepf N. 65/14O, 172/41O
Schreckenberger P. 326/65A, 327/65A
Schvoerer E. 175/41O
Schwarz G. 47/10O
Secher A. 273/63A, 274/63A
Segonds C. 264/63A, 329/65A, 472/76A
Segueni A. 374/68A
Séguier J.C. 495/77A
Sellier P. 172/41O
Sellies J. 70/16O, 397/71A
Selvy N. 525/80A
Sene A.M. 425/73A
Sénéchal H. 282/63A, 291/63A
Sengelin C. 31/7O
Senneville E. 138/31O, 514/79A
Serizer C. 111/25O
Serradell L. 79/18O

Serrano J.A. 308/64A
Settegrana C. 53/12O
Sfar T. 360/66A
Shanen C. 270/63A
Si Ahmed S.N. 174/41O
Siberchicot F. 68/14O
Siegrist H.H. 314/65A
Sifaoui F. 271/63A
Silbermann B. 499/78A
Simeon D. 269/63A
Simon F. 79/18O
Simon L. 109/25O
Simon M. 381/69A
Simon O. 514/79A
Simoneau G. 172/41O
Simonpoli A.M. 509/78A
Sinda P. 495/77A
Siroy A. 251/62A
Sitkiewicz I. 244/60O
Sivadon-Tardy V. 414/73A
Six C. 489/77A
Sixt N. 524/80A
Skinner J. 326/65A
Skurnik D. 424/73A
Slama M. 71/16O
Slimane N. 180/43O
Slim-Saidi N.L. 137/31O, 455/75A
Smaoui H. 262/63A
Smati F. 416/73A
Smoot L.M. 326/65A, 327/65A
Soetens O. 250/62A
Sogni P.H. 177/41O
Sohnoun O. 460/75A
Soler C.P. 284/63A, 338/65A
Soller M. 63/13O
Sollet J.P. 150/35S, 152/36S
Sommabere A. 272/63A
Sommier D. 272/63A
Sornet Davoust A. 477/76A
Sotto A. 242/60O, 249/62A, 305/64A, 350/65A, 403/72A, 408/72A, 433/73A, 463/75A, 518/79A
Soullie B. 284/63A
Soussy C.J. 44/10O, 111/25O, 352/65A, 456/75A, 457/75A, 458/75A, 459/75A, 478/76A, 479/76A
Spiridon G. 177/41O, 498/78A
Spreux-Varoquaux O. 367/67A
Stachyra T. 468/75A
Stahl J.P. 151/35S
Steele A.D. 360/66A
Stephan J.L. 359/66A
Stephanazi J. 411/72A
Sterkers Y. 502/78A
Stevens D.L. 465/75A
Stitou H. 379/68A
Stoffels K. 139/31O
Stoll-Keller F. 175/41O
Storm L. 279/63A
Struelens M. 8/2O, 166/39O
Sueur A. 270/63A
Surer N. 69/16O
Szabados F. 47/10O

T

Auteur présent / Co auteur

Tabet-Derraz N.F. 511/79A
Taha M.K. 24/5O, 240/59O
Taieb F. 423/73A
Talbi A. 423/73A
Talon D. 113/25O, 280/63A
Talon R. 309/65A
Tandé D. 203/48O, 236/59O, 436/73A
Tardif D. 415/73A
Tavani F. 279/63A
Tazi A. 312/65A, 414/73A
Tazir M. 5/2O, 296/63A
Tebbal S. 374/68A
Tehard B. 384/69A, 386/69A
Tehindrazanarivelo A. 340/65A
Templier F. 266/63A
Tequi B. 69/16O
Ternois I. 415/73A
Tessé S. 54/12O, 284/63A
Texier N. 384/69A, 386/69A
Thabet L. 297/63A
Thellier J.P. 270/63A
Thellier M. 170/40S, 192/46S
Theodora C. 72/16O
The RATIO Group 145/34O
Therby A. 73/16O, 401/72A, 449/74A
Therond P. 367/67A
Thibault F.M. 484/76A
Thibault M. 400/71A, 444/73A
Thibault V. 173/41O, 379/68A
Thibaut S. 446/73A, 492/77A
Thiéfin G. 448/74A
Thillard D. 82/18O
Thiolet J.M. 20/4O, 33/7O
Thiounn N. 195/47S
Thivolet-Bejui F. 368/67A
Thomas A. 526/80A
Thomas D. 270/63A
Thomas P. 353/65A
Thouvenin M. 269/63A
Thouverez M. 200/48O, 280/63A
Tiamuna L. 258/63A
Tigaud S. 204/48O, 313/65A, 323/65A, 351/65A, 462/75A
Timinouni M. 11/3O
Tiouiri Benaissa H. 500/78A
Tjhio J. 326/65A, 327/65A
Tocqueville V. 238/59O
Tomasini J. 195/47S
Touati A. 343/65A, 517/79A
Touboul P. 239/59O
Touche S. 364/66A
Touil B. 297/63A
Toulat F. 59/13O
Tous J. 271/63A
Toussaint E. 398/71A
Tout le Groupe de la Comai 407/72A
Touzalin A. 68/14O
Touzart A. 449/74A
Trabelsi A. 360/66A
Tran A. 359/66A, 377/68A
Tranh-Minh T. 507/78A

Traore H. 139/31O
Traore O. 81/18O
Trazit M. 272/63A
Tricot L. 498/78A
Trieu-Cuot P. 258/63A
Triki H. 372/68A
Trima A. 392/70A, 496/78A
Trinquier C. 495/77A
Tristan A. 108/25O, 119/27S
Tritten M.L. 314/65A
Trojani C. 29/7O
Trombert-Paolantoni S. 353/65A
Trouillet L. 71/16O, 356/65A, 494/77A
Trueba F. 284/63A
Trullemans F. 250/62A
Trylesinski A. 172/41O
Trystram D. 317/65A
Tubach F. 145/34O, 241/59O
Tubiana R. 379/68A
Tur B. 71/16O
Turlure P. 294/63A
Tuyindi N. 182/43O
Tytgat F. 301/63A

U

Auteur présent / Co auteur

Uetwiller F. 328/65A
Urano A. 317/65A
Uzcategui M. 308/64A

V

Auteur présent / Co auteur

Vachée A. 266/63A, 434/73A
Vacher-Lavenu M.C. 195/47S, 369/67A
Vaghefi P. 375/68A
Vagner O. 524/80A
Vaissaire J. 484/76A
Valade E. 484/76A
Valantin M.A. 379/68A
Valette M. 57/12O
Vallée E. 293/63A
Van Bossuyt E. 263/63A
Van Der Mee N. 355/65A
van der Werf S. 160/38S
Van Eldere J. 263/63A
Vanceslas C. 212/50O
Vandenesch F. 108/25O, 237/59O, 243/60O, 302/64A, 310/65A, 334/65A, 390/70A, 488/76A
Vanham G. 198/47S
Vanhecke C. 17/4O
Vanhems P. 49/11S, 50/11S, 51/11S
Vanhoof R. 139/31O, 263/63A, 277/63A
Vanjak D. 7/2O, 295/63A
Varache C. 275/63A
Varon E. 23/5O, 213/50O, 264/63A, 267/63A, 270/63A, 271/63A, 472/76A
Vassallo M. 29/7O
Vasseur M. 266/63A
Vaucel J. 236/59O
Vauloup-Fellous C. 214/50O
Vautrin A.C. 476/76A
Vaux S. 489/77A
Veauclin V. 180/43O
Veinstein A. 402/72A
Venard V. 497/78A
Verdalle P. 521/80A
Verdavainne J. 180/43O
Verdon R. 405/72A
Verger-Hirtz P. 271/63A
Vergnaud M. 264/63A, 472/76A
Verhaegen J. 263/63A
Verhaeghe A. 266/63A
Vernes E. 518/79A
Vernet-Garnier V. 59/13O, 264/63A, 269/63A, 394/70A, 398/71A, 413/72A, 472/76A, 474/76A, 516/79A
Verret C. 209/50O
Vetter B. 236/59O
Vettoretti L. 113/25O
Veziris N. 138/31O, 440/73A
Vialette V. 272/63A
Viard J.P. 18/4O, 146/34O
Vidal D.R. 484/76A
Vignon D. 260/63A
Vignot S. 324/65A
Villena P. 516/79A
Villiet M. 525/80A
Vimont S. 300/63A
Vincendeau P. 17/4O
Vinsonneau C. 298/63A, 411/72A
Vinzio S. 527/80A
Virey B. 385/69A
Visseaux C. 447/74A
Vitry F. 394/70A
Vittecoq D. 1/1SEP, 145/34O, 506/78A, 508/78A, 510/78A
Voyer C. 506/78A
Vray I. 271/63A
Vrillon H. 111/25O
Vrolyk-Vergeron H. 490/77A
Vu-Thien H. 333/65A, 393/70A

W

Auteur présent / Co auteur

Waku-Kouomou D. 364/66A
Waller J. 10/2O
Wallet A. 393/70A
Wallet F. 93/21O, 266/63A
Wartelle C. 377/68A
Watier L. 128/29S
Weber M. 264/63A
Weigelt J. 465/75A
Weinbreck P. 49/11S, 51/11S
Weiss L. 63/13O
Weiss P. 131/30O
Weller U. 47/10O
Weyer M. 356/65A, 494/77A
Wildemauwe C. 277/63A
Wirden M. 52/12O
Woehl-Jaegle M.L. 175/41O
Woehl-Kremer B. 501/78A
Woerther P.L. 424/73A, 425/73A
Wolf J.P. 195/47S
Wolf P. 175/41O
Wolff M. 154/36S, 211/50O
Wolmark Y. 182/43O
Wolny D. 71/16O
Wynckel A. 413/72A

Y	Auteur présent / Co auteur
Yazdanpanah Y.	138/31O, 147/34O, 190/45SEP, 232/58S, 514/79A
Yéni P.	178/43O
Ygout J.F.	236/59O
Yzon L.	417/73A

Z	Auteur présent / Co auteur
Zabsonre I.	507/78A
Zahar J.R.	91/20SEP, 211/50O, 404/72A, 422/73A, 423/73A
Zamfir O.	340/65A
Zaoui C.	201/48O
Zekkour R.	66/14O
Zeller V.	410/72A
Zerbib F.	352/65A
Zerouali K.	11/3O
Ziane H.	296/63A
Zimmer B.	326/65A, 327/65A
Zincius C.	7/2O
Zinzendorf N.	26/5O
Znazen A.	431/73A
Zouari N.	437/73A
Zribi M.	360/66A, 426/73A
Zucman D.	498/78A
Zygmunt M.S.	341/65A,

Notes :

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

Notes :

BLOC NOTES