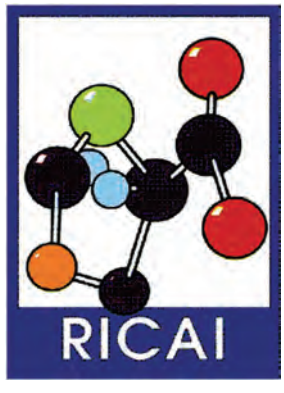
SESSIONS ORALES
ORAL SESSIONS

Jeudi 3 décembre
Thursday December 3



Jeudi 3 décembre
Thursday December 3

Heure	Réf	Session	Salle
09:00-10:30	**1O**	INFECTIONS COMMUNAUTAIRES, ANTIBIOTHÉRAPIE	**341**
09:00-10:30	**2O**	CARBAPÉNÉMASE ET ÉPIDÉMIOLOGIE	**342A**
09:00-10:30	**3O**	MYCOLOGIE : BIOLOGIE ET CLINIQUE	**342B**
09:00-10:30	**4O**	ANTIBIOTIQUES ET INFECTIONS EXPÉRIMENTALES	**343**
09:00-10:30	**5O**	DIAGNOSTIC RAPIDE CHEZ LES STAPHYLOCOQUES	**351**
09:00-10:30	**6O**	VIRUS ET ÉPIDÉMIES	**352A**
09:00-10:30	**7FMC**	PRISE EN CHARGE D'UN PATIENT GRIPPÉ ET DE SON ENTOURAGE : CONTRAINTES, DIFFICULTÉS	**352B**
09:00-10:30	**8O**	INFECTIONS PNEUMOCOCCIQUES DE L'ENFANT	**353**
11:00-12:30	**9S**	LA LUTTE CONTRE LES INFECTIONS À BACTÉRIES MULTI-RÉSISTANTES	**HAVANE**
11:00-12:30	**10O**	VIRUS ET HÉPATITES	**341**
11:00-12:30	**11SEP**	ÉVALUATION ET ENREGISTREMENT DES ANTI-INFECTIEUX : QUOI DE NEUF CETTE ANNÉE ?	**342A**
11:00-12:30	**12S**	INFECTIONS DE SURFACE : ANTIBIOTIQUES OU ANTISEPTIQUES ?	**342B**
11:00-12:30	**13O**	PRÉVENTION DES INFECTIONS LIÉES AUX SOINS	**343**
11:00-12:30	**14S**	LES TECHNOLOGIES INNOVANTES APPLIQUÉES À LA VIROLOGIE MÉDICALE	**351**
11:00-12:30	**15O**	PHARMACO-THÉRAPEUTIQUE	**352A**
11:00-12:30	**16FMC**	ANTIBIOGRAMMES POUR « LES NULS »	**352B**
13:00-14:30	**17PL**	TOUTES LES QUESTIONS QUE VOUS VOULEZ POSER SUR LA PANDÉMIE	**BORDEAUX**
14:30-16:00	**18SEP**	EMERGENCE DU VIRUS A (H1N1) V ET RIPOSTE VACCINALE	**BORDEAUX**
14:30-16:00	**19O**	IDENTIFICATION BACTÉRIENNE PAR SPECTROMÉTRIE (MALDI-TOF)	**HAVANE**
14:30-16:00	**20S**	DONNÉES RÉCENTES SUR LES CANCERS VIRO-INDUITS	**341**
14:30-16:00	**21S**	NOS AMIES LES BÊTES	**342A**
14:30-16:00	**22O**	LEUCOCIDINE DE PANTON-VALENTINE	**342B**
14:30-16:00	**23O**	CTX M TOUJOURS PLUS, ÉPIDÉMIOLOGIE	**343**
14:30-16:00	**24S**	DE L'OUTIL À LA DÉCISION MÉDICALE	**351**
14:30-16:00	**25O**	MODÈLES EXPÉRIMENTAUX *IN VIVO* ET *EX VIVO*	**352A**
14:30-16:00	**26FMC**	QUEL EST VOTRE DIAGNOSTIC ?	**352B**
14:30-16:00	**27S**	INTERPRÉTATION DES GRANDS ESSAIS CLINIQUES RÉCENTS SUR LES ANTI-INFECTIEUX	**353**
16:30-18:00	**28SEP**	DES HAUTS ET DES BAS DANS LA MULTIRÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES À L'HÔPITAL	**BORDEAUX**
16:30-16:45	**29D**	PRIX ACAI	**HAVANE**
16:45-17:45	**30C**	LES MACROLIDES ONT-ILS UNE PLACE EN ASSOCIATION POUR LE TRAITEMENT DES PNEUMONIES COMMUNAUTAIRES À PNEUMOCOQUE ?	**HAVANE**
16:30-18:00	**31O**	INFECTIONS HUMAINES ET ANIMALES	**341**
16:30-18:00	**32S**	INFECTIONS CHEZ LE SUJET HANDICAPÉ MOTEUR	**342A**
16:30-18:00	**33S**	PHYSIOPATHOLOGIE DES INFECTIONS DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL	**342B**
16:30-18:00	**34SEP**	QUELLES PRÉCAUTIONS D'HYGIÈNE EN 2009 POUR PRÉVENIR LA TRANSMISSION CROISÉE ET ÉVITER L'ÉMERGENCE DE BACTÉRIES MULTI RÉSISTANTES AUX ANTIBIOTIQUES ?	**343**
16:30-18:00	**35O**	DIFFUSION INTERNATIONALE DES BACTÉRIES MULTIRÉSISTANTES	**351**
16:30-18:00	**36O**	INFECTION NÉONATALE	**352A**
16:30-18:00	**37FMC**	ASPECTS THÉRAPEUTIQUES DES INFECTIONS À BACTÉRIES MULTIRÉSISTANTES EN PÉDIATRIE	**352B**
16:30-18:00	**38O**	INFECTIONS RESPIRATOIRES VIRALES	**353**

INFECTIONS COMMUNAUTAIRES, ANTIBIOTHÉRAPIE
COMMUNITY ACQUIRED INFECTIONS, ANTIBIOTHERAPY

Présidents/Chairpersons : A. SOTTO, P. LONGUET

1 09:00 **Perception de la résistance aux antibiotiques par les médecins du CHU de Nice**

C. Pulcini[1], A. Naqvi[1], F. Gardella[2], P. Dellamonica[1]
[1]Infectiologie, CHU [2]Conseil Général, Nice, France

2 09:15 **Impact de la mise en œuvre des recommandations internationales sur la prise en charge des infections des plaies du pied chez le diabétique : étude prospective (2003-2007)**

A. Sotto[3-5], J.L. Richard[1], N. Jourdan[4], N. Bouziges[5-2], J.P. Lavigne[5-2]
[1]Maladies de la Nutrition et Diabétologie, CHU de Nîmes, Grau du Roi [2]Bactériologie [3]Maladies Infectieuses et Tropicales [4]Maladies Métaboliques et Endocriniennes, CHU Caremeau [5]Espri 26, INSERM, Nîmes, France

3 09:30 **Inadéquation de l'antibiothérapie au cours des dermo-hypodermites aiguës en infectiologie**

P.M. Roger, E. Cua, R. Farhad, F. De Salvador, C. Pulcini, E. Bernard
Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

4 09:45 **Prise en charge des infections urinaires fébriles en médecine générale : une enquête de pratique**

F. Hervieux[4], E. Berthonnaud[2], M.A. Le Pogam[1], G. David[3]
[1]Pôle IMER, Hospices civils, Lyon [2]Département d'information médicale [3]Infectiologie [4]Médecine interne, Centre Hospitalier, Villefranche/Saône, France

5 10:00 **Chimiothérapies anti-infectieuses des méningites de l'adulte au CHU de Rouen en 2008 : prescriptions probabilistes et devenir**

M. Coppola[2], M. Pestel-Caron[2-8], L.M. Joly[6], M. Etienne[1-8], D. Hannequin[4], P. Fréger[3], G. Bonmarchand[5], J.C. Plantier[7-8], F. Caron[1-8]
[1]Infectiologie [2]Microbiologie [3]Neurochirurgie [4]Neurologie [5]Réanimation médicale [6]Urgences [7]Virologie, CHU [8]Groupe de recherche sur les Anti-microbiens, Faculté de médecine, Rouen, France

6 10:15 **Qui sont les porteurs de SARM en milieu communautaire ? Une étude prospective dans la Région des Pays de la Loire**

S. Thibaut[3], J. Caillon[2-3], F. Ollivier[3-1], D. Lepelletier[1], P. Lombrail[3], G. Potel[3-1], F. Ballereau[3-1], et les laboratoires d'analyses médicales du Réseau Medqual[3]
[1]EA3826, UFR Médecine [2]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène [3]MedQual, Centre d'information pour le bon usage des produits de santé, Nantes, France

CARBAPÉNÉMASE ET ÉPIDÉMIOLOGIE
CARBAPENEMASE AND EPIDEMIOLOGY

Présidents/Chairpersons : T. NAAS, E. CAMBAU

7 09:00 **Puces à ADN et détection rapide des souches productrices de BLSE de type TEM, SHV, et CTX-M et de carbapénémases de type KPC**

T. Naas, G. Cuzon, H.V. Truong, S. Barnabeu, P. Nordmann
CHU de Bicêtre, Service de Bactériologie, INSERM U914, Emerging Resistance to Antibiotics, Le Kremlin-Bicêtre, France

8 09:15 ***Pseudomonas aeruginosa* résistants à l'imipénème dans un Centre de brûlés en Tunisie : superposition d'épidémies et d'infections croisées de souches présentant des mécanismes de résistance variés, dont la production de VIM-2**

L. Thabet[2], V. Dubois[1], C. André[1], A. Messadi[2], C. Quentin[1]

[1]UMR 5234, CNRS, Université Bordeaux 2, Bordeaux, France [2]Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

9 09:30 **Dissemination of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* producing carbapenemases in a University Hospital in Tunisia**

W. Mansour[2-1], O. Bouallègue-Godet[2], L. Poirel[1], S. Dahmen[2], P. Nordmann[1], N. Boujaafar[2]

[1]Microbiologie, Hôpital Universitaire Le Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France [2]Microbiologie, Hôpital Universitaire Sahloul, Sousse, Tunisie

10 09:45 **Spread of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* co-producing OXA-23 carbapenemase and PER-like beta-lactamase in Belgian hospitals**

P. Bogaerts[3], T.D. Huang[1], A. Deplano[2], C. Berhin[3], A. Guisset[3], E. Sel[3], Y. Glupczynski[3]

[1]Laboratoire de Bactériologie, Cliniques Universitaires UCL-Saint-Luc [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Universtaire ULB-Erasme, Bruxelles [3]Laboratoire de Bactériologie, Cliniques Universitaires UCL-Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

11 10:00 **Phenotypic and biochemical comparison of the carbapenem hydrolyzing activity of five main plasmid-borne AmpC beta-lactamases**

H. Mammeri[1], H. Guillon[1], F. Eb[1], P. Nordmann[2]

[1]Bactériologie, CHU d'Amiens, Amiens [2]Bactériologie-Virologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

12 10:15 **BIC-1, une nouvelle carbapénémase de classe A isolée chez un *Pseudomonas fluorescens* de la Seine**

D. Girlich, L. Poirel, P. Nordmann

Bactériologie, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

3O | SESSION LIBRE *Oral Papers* | SALLE *Room* 342B | **09:00 10:30** | jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

MYCOLOGIE : BIOLOGIE ET CLINIQUE
BIOLOGY AND CLINICAL MYCOLOGY

Présidents/Chairpersons : O. LORTHOLARY, M.E. BOUGNOUX

13 09:00 **MALDI-TOF MS based drug susceptibility testing of pathogens: the example of *Candida albicans* and fluconazole**

C. Marinach[4-5-1], A. Alanio[4-5-2-1], M. Palous[2], S. Kwasek[4-5], A. Fekkar[4-5-2], J.Y. Brossas[4-5], S. Brun[4-5-2], G. Snounou[4-5], C. Hennequin[4-5], D. Sanglard[6], A. Datry[4-5-2], J.L. Golmard[3-1], D. Mazier[4-5-2-1]

[1]Ces auteurs ont contribué équitablement au travail [2]Parasitologie Mycologie, APHP Pitié-Salpêtrière [3]Modélisation en recherche clinique, EA3974 [4]INSERM U511 [5]UPMC Paris6, Paris, France [6]Microbiology, University of Lausanne, Lausanne, Suisse

14 09:15 **MALDI-TOF Mass Spectrometry as efficient as multi-locus sequencing for Aspergilli identification**

A. Alanio[2], J.L. Beretti[2], B. Dauphin[2], E. Mellado[1], G. Quesnes[2], A. Amara[2], X. Nassif[2], M.E. Bougnoux[2]

[1]Servicio de Mycologia, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Espagne [2]Microbiologie, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France

15 09:30 **Efficacité comparée de la technique Sensititre YeastOne® et de la technique de référence de dilution en milieu liquide du CLSI (M27-A3) dans la détermination de la sensibilité de 102 souches de *Candida* sp. et *Cryptococcus* sp. à 8 antifongiques**

S. Bertout[2], P. Drakulovski[2], C. Dunyach-Remy[2], J. Reynes[1], M. Mallié[2]

[1]Maladies infectieuses et Tropicales, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», CHU Gui de Chauliac [2]Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», Faculté de Pharmacie, Montpellier, France

16 **Résistance de *C. albicans* à la caspofungine : rôle de la chitine ?**
09:45 P. Drakulovski[2], S. Bertout[2], C. Dunyach-Remy[2], J. Reynes[1], M. Mallié[2]
[1]Maladies infectieuses et Tropicales, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», CHU Gui de Chauliac [2]Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», Faculté de Pharmacie, Montpellier, France

17 **Consommation des antifongiques dans les hôpitaux de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris**
10:00 R. Mas, A. Lagniel, E. Maupu, S. Fournier
Direction de la Politique Médicale, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

18 **Survenue de carcinomes cutanés sous voriconazole au long cours : vigilance du prescripteur, vigilance du patient**
10:15 O. Epaulard[2], C. Saint Raymond[4], C. Villier[3], M.T. Leccia[1]
[1]Dermatologie [2]Infectiologie [3]Pharmacovigilance [4]Pneumologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France

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

ANTIBIOTIQUES ET INFECTIONS EXPÉRIMENTALES
ANTIBIOTICS AND EXPERIMENTAL INFECTIONS

Présidents/Chairpersons : M. WOLFF, J.M. DECAZES

19 **Pneumonie expérimentale à *Pseudomonas aeruginosa* : efficacité du doripénème *versus* imipénème et méropénème**
09:00 C. Bretonnière[2-1], C. Jacqueline[2], V. Le Mabecque[2], A.F. Miegeville[2], J. Caillon[2], G. Potel[2], D. Boutoille[2]
[1]Réanimation médicale, CHU de Nantes [2]EA 3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, UFR Médecine Pharmacie, Nantes, France

20 **Activity of Ceftaroline (CPT) *Versus* Daptomycin (DAP) and Tigecycline (TGC) against methicillin-susceptible, methicillin-**
09:15 **resistant, and glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus: a*n experimental rabbit endocarditis study**
C. Jacqueline[2], G. Amador[2], V. le Mabecque[2], M. Lefebvre[2], D. Biek[1], J. Caillon[2], G. Potel[2]
[1]Cerexa, Inc., Oakland, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

21 **50% Effective dose (ED_{50}) determination of CXA-101 (CXA) alone or in combination with Tazobactam (TAZ) for treating**
09:30 **experimental peritonitis in mice due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* (EC) strains: comparison with Ceftazidime (CAZ) and Piperacillin/Tazobactam (TZP)**
C. Jacqueline[2], C. Desessard[2], A. Roquilly[2], A.F. Miegeville[2], Y. Ge[1], J. Caillon[2], G. Potel[2], E. Batard[2]
[1]Calixa Therapeutics Inc, San Diego, CA, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

22 **Étude de l'activité d'antibiotiques vis-à-vis des formes intracellulaires de *Staphylococcus aureus* et *Legionella pneumophila***
09:45 S. Lemaire, F. Van Bambeke, P. Tulkens
Unité de pharmacologie cellulaire et moléculaire et Louvain Drug Research Institute, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

23 **Influence of daptomycin and rifampicin on the survival of *Staphylococcus aureus*-infected osteoblast-like MG-63 cells**
10:00 J.P. Rasigade[5-1-3], S. Trouillet[5-1-3], T. Ferry[5-1-4], S. Tigaud[3], F. Vandenesch[5-1-2], J. Etienne[5-1-2], F. Laurent[5-1-3]
[1]Centre National de Référence des Staphylocoques [2]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Est [3]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Nord [4]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon [5]INSERM U851, Université Lyon 1, Lyon, France

24 **Effet neuroprotecteur de la Ciprofloxacine sur la substance blanche en développement dans un modèle de sepsis à *Escherichia***
10:15 ***coli* chez le rat nouveau-né**
G. Loron[2], H. See[2-1], L. Angulo[2-1], Y. Aujard[2], E. Bingen[1], O. Baud[2], S. Bonacorsi[1]
[1]Microbiologie [2]Réanimation Néonatologie, Hôpital Robert-Debré, Paris, France

DIAGNOSTIC RAPIDE CHEZ LES STAPHYLOCOQUES
STAPHYLOCOCCAL FAST DIAGNOSIS

Présidents/Chairpersons : R. RUIMY, S. TIGAUD

25 09:00 **Evaluation of the Xpert MRSA assay for rapid detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in patients hospitalized in a geriatric unit**

A. Grimmelprez[2], C. Laurent[1], P. Bogaerts[2], D. Schoevardts[3], O. Denis[1], Y. Glupczynski[2]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Universitaire ULB-Erasme, Bruxelles [2]Laboratoire de Microbiologie [3]Service de Gériatrie, Cliniques universitaires UCL de Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

26 09:15 **Evaluation of the VITEK2 system AST-P551 card (VK2), for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing low-level methicillin resistance (LLR-MRSA)**

M. Al Nakib[2], H. Poupet[2], J.M. Adam[2], M. Longo[2], J. Raymond[2], A. Tazi[2], G. Zambardi[1], C. Poyart[2]
[1]Département antibiotiques, bioMérieux, La Balme-Les-Grottes [2]Service de Bactériologie, Hôpital Cochin, APHP, Université Paris Descartes, Paris, France

27 09:30 **Dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) par biologie moléculaire (Cepheid GeneXpert IL, GeneOhm BD, LightCycler Roche, Evigene I2A) *Versus* dépistage par culture : stratégie économico-pratique pour le laboratoire**

E. Demondion[2], C. Jouannet[2], J. Charron[2], C. Chillou[2], V. Salaun[1], B. Mankikian[1], P. Laudat[2-1]
[1]Hygiène-EOH, Clinique Saint Gatien [2]Microbiologie, Laboratoire Arnaud, Tours, France

28 09:45 **Performance de la technique de PCR en temps réel BD geneOhm MRSA comparée au milieu chromogène MRSA pour le dépistage nasal des souches de *Staphylococcus aureus* méticillino-résistants**

V. Vernet-Garnier, J. Madoux, C. De Champs, S. Leone, L. Brasme, T. Guillard, V. Duval, O. Bajolet
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Robert Debré, UFR Médecine, Reims, France

29 10:00 **Comparaison de deux méthodes phénotypiques à la PCR pour la recherche de la méticillino-résistance chez des souches de staphylocoques à coagulase négative isolées d'hémocultures**

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

30 10:15 **La résistance à la méticilline en 5 minutes : nouveau test immunochromatographique sur isolement primaire de *Staphylococcus spp***

O. Raulin[3-1], J.P. Rasigade[3-1], L. Parmeland[3], A.M. Freydiere[2], C. Roure Sobas[3], H. Salord[3], J. Etienne[2-1], S. Tigaud[3], F. Laurent[3-1]
[1]Centre National de Référence des Staphylocoques, INSERM 851, Hospices Civils de Lyon [2]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon [3]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

VIRUS ET ÉPIDÉMIES
VIRUSES AND EPIDEMICS

Présidents/Chairpersons : O. LESENS, L. ANDREOLETTI

31 09:00 **Diversité génotypique des infections à rotavirus chez l'enfant de moins de 5 ans aux urgences pédiatriques en France**

A. de Rougemont[2-3], J. Kaplon[2], C. Fontana[2], P. Lebon[11], J.L. Stephan[14], S. Pillet[14], B. Pozzetto[14], A. Gagneur[1], A. Tran[1], M. Lorrot[10], E. Bingen[10], M. Coste-Burel[8], D. Floret[6], B. Lina[6], M. Rodière[7], V. Foulongne[7], D. Oriot[12], G. Agius[12], R. Colimon[13], D. Hober[4], A. Martinot[4], N. Parez[9], A. Garbag-Chenon[9], L. Fourcade[5], S. Alain[5], F. Huet[3], D. Gendrel[11], P. Pothier[2-3]

[1]CHU de Brest, Brest [2]Centre National de Référence des virus entériques [3]CHU de Dijon, Dijon [4]CHU de Lille, Lille [5]CHU de Limoges, Limoges [6]Hôpital Femme-Mère-Enfant, HCL, Lyon-Bron [7]CHU de Montpellier, Montpellier [8]CHU de Nantes, Nantes [9]Hôpital Armand-Trousseau [10]Hôpital Robert-Debré [11]Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP, Paris [12]CHU de Poitiers, Poitiers [13]CHU de Rennes, Rennes [14]CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

32 09:15 **Sévérité des gastroentérites aiguës chez les enfants infectés par rotavirus G1 ou G9**

C. Aupiais[3-4], A. de Rougemont[1-2], C. Ménager[3], C. Vallet[3], J.F. Brasme[3], J. Kaplon[1], P. Pothier[1-2], D. Gendrel[3-4]

[1]Centre National de Référence des virus entériques, Laboratoire de Virologie, CHU de Dijon [2]Université de Bourgogne, Dijon [3]Service de Pédiatrie, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP [4]Université Paris Descartes, Paris, France

33 09:30 **Impact d'une campagne de vaccination des nourrissons sur les hospitalisations pour gastroentérite aiguës à rotavirus : étude prospective sur la communauté urbaine de Brest. Étude IVANHOE**

A. Gagneur[1-4], T. Lemaitre[2], J.F. Segura[4], N. Delaperriere[4], L. Abalea[4], E. Poulhazan[2], A. Jossens[4], L. Auzanneau[2], A. Tran[3], C.H. Payan[3], N. Jay[4], E. Nowak[2], E. Oger[2], et le groupe d'investigateurs[4]

[1]Département de Pédiatrie, CHUS de Fleurimont, Sherbrooke, Canada [2]Centre d'investigation clinique, INSERM 0502 [3]Département de Microbiologie, EA 3882, Laboratoire de Biodiversité et Ecologie Microbienne [4]Pôle de la femme, de la mère et de l'enfant, CHU de Brest, Brest, France

34 09:45 **Investigation entomologique autour d'un cas d'infection par virus Toscana**

J.M. Bérenger[1], S. Plumet[4], A. Armengaud[2], E. Orlandi[3], I. Leparc-Goffart[4], N. Resseguier[2], F. Florence[5], B. Davoust[6], H. Chardon[1], O. Bellon[1], F. Pages[3]

[1]Service de diagnostic des maladies infectieuses, Centre Hospitalier du pays d'Aix, Aix-en-Provence [2]Région Sud-Est, CIRE [3]Unité d'entomologie IRBA, Institut de médecine tropicale du service de santé des Armées [4]CNR des arbovirus, Service de santé des armées, Marseille [5]Institut Pasteur, Paris [6]Bureau vétérinaire, DRSSA, Toulon, France

35 10:00 **Devant une épidémie de rougeole, le personnel hospitalier est-il protégé ?**
D'après une enquête effectuée en Auvergne

L. Gibold[2], O. Lesens[2], A. Fouilhoux[3], M. Chambon[1], F. Gourdon[2], J. Beytout[2]

[1]Laboratoire de virologie, Centre de Biologie [2]Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand [3]Médecine Polyvalente, CH Guy Thomas, Riom, France

36 10:15 **Analyse phylogénétique des virus de la rubéole impliqués dans des infections congénitales en France entre 1995 et 2009**

C. Vauloup-Fellous[2], J. Hübschen[4], E. Abernathy[1], J. Icenogle[1], N. Gaidot[2], I. Parent du Châtelet[3], L. Grangeot-Keros[2], C. Muller[4]

[1]Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Etats-Unis [2]INSERM U764, Université Paris-Sud, AP-HP, service de Microbiologie-Immunologie biologique, hôpital Antoine Béclère, Clamart [3]Institut national de veille sanitaire, Saint-Maurice, France [4]Institute of Immunology, Laboratoire National de Santé/Centre de Recherche Public-Santé, Luxembourg, Luxembourg

7FMC	ATELIERS FMC *Cme Workshop*	SALLE *Room*	352B	**09:00 10:30**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

PRISE EN CHARGE D'UN PATIENT GRIPPÉ ET DE SON ENTOURAGE : CONTRAINTES, DIFFICULTÉS

FLU PATIENT AND CIRCLE OF ACQUAINTANCES TREATMENT : CONSTRAINTS AND DIFFICULTIES

Animateurs/Moderators : C. CHIDIAC, G. BEAUCAIRE

Objectifs :

Rappeler les principes
- Du diagnostic clinique
- Du diagnostic virologique
- Des modes de transmission dans les établissements de soins
- Du traitement spécifique
- De la conduite à tenir :
- Définition cas groupés
- Mesures d'isolement, mesures d'hygiène
- Utilisation des antiviraux en prophylaxie
- De la mise à jour des vaccinations pour les non vaccinés, le personnel…
- De la prévention « primaire » vaccination annuelle des sujets à risque, des patients, des personnels,

Auditoire :

Médecins, virologues, gériatres, hygiénistes

8O	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	353	**09:00 10:30**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

INFECTIONS PNEUMOCOCCIQUES DE L'ENFANT

PNEUMOCOCCAL INFECTIONS IN CHILDREN

Présidents/Chairpersons : E. VARON, Y. GILLET

37 09:00 **Modification des caractéristiques des méningites à pneumocoque depuis l'introduction du vaccin pneumococcique conjugué heptvalent (PCV7) en France**

C. Levy[3-1], E. Varon[2], E. Bingen[3], A. Lécuyer[3-1], Y. Aujard[3], R. Cohen[3-1], Groupe des Pédiatres et Microbiologistes de l'Observartoire des Méningites[3]

[1]ACTIV [2]CNRP, HEGP [3]GPIP de la SFP, Paris, France

38 09:15 **Méningites à pneumocoque chez l'enfant en Haute-Normandie entre 2000 et 2009 : étude de l'influence de la vaccination par le vaccin conjugué heptavalent**

M. Caseris[2], E. Mallet[2], S. Boyer-Mariotte[1]

[1]Laboratoire de Microbiologie [2]Service de Pédiatrie Générale, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

39 09:30 ***S. pneumoniae* de sérotype 19A : facteurs de risque de portage rhinopharyngé chez l'enfant après introduction du vaccin pneumococcique conjugué 7-valent**

R. Cohen[1-6], C. Levy[6], P. d'Athis[2], E. Bonnet[3], M. Boucherat[6], B. Fritzell[3], V. Derkx[6], E. Bingen[5], E. Varon[4]

[1]Service de microbiologie, CHI, Créteil [2]Université, Département de Biostatistique, Dijon [3]Laboratoire Wyeth Pharmaceuticals, La Défense [4]CNRP, APHP, HEGP [5]Service de microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris [6]ACTIV, Saint-Maur des Fossés, France

40 09:45 **Pediatric osteo-articular infections caused by *Streptococcus pneumoniae***

C. Lemaître[6], C. Doit[5], A. Ferroni[4], B. Ilharreborde[7], H. Vu-Thien[8], C. Glorion[3], J. Raymond[1], A. Faye[6], P. Mary[9], R. Seringe[2], E. Bingen[5], G. Penneçot[7], M. Lorrot[6]

[1]Microbiologie [2]Orthopédie, Hôpital Cochin-Saint Vincent de Paul, Paris V [3]Orthopédie, Hôpital Necker, Faculté Paris V [4]Microbiologie, Hôpital Necker; Faculté Paris V [5]Microbiologie [6]Pédiatrie Générale, Hôpital Robert Debré, Faculté Denis Diderot, Paris VII [7]Orthopédie, Hôpital Robert Debré; Faculté Denis Diderot, Paris VII [8]Microbiologie [9]Orthopédie, Hôpital Trousseau, Paris, France

41 10:00 **Portage rhinopharyngé du pneumocoque : quels sont les sérotypes émergents depuis l'introduction du vaccin pneumococcique conjugué heptvalent (PCV7) ?**

R. Cohen[1-5], C. Levy[5], E. Bonnet[2], A. Lécuyer[5], M. Boucherat[5], B. Fritzell[2], E. Bingen[4], E. Varon[3]

[1]Service de microbiologie, CHI, Créteil [2]Laboratoire Wyeth Pharmaceuticals, La Défense [3]CNRP, APHP, HEGP [4]Service de microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris [5]ACTIV, Saint-Maur des Fossés, France

LA LUTTE CONTRE LES INFECTIONS À BACTÉRIES MULTI-RÉSISTANTES

THE FIGHT AGAINST MULTIRESISTANT BACTERIA INFECTIONS

Organisé par SANOFI-AVENTIS

Président/Chairperson : J.P. SOLLET

42 **Comment échapper aux BMR ?**

11:00 **Quel niveau de précautions pour limiter la dissémination ?**

J.C. Lucet

UHLIN GH Bichat-Claude Bernard, Paris, France

43 **Comment échapper aux BMR ?**

11:20 **Quel plan d'actions pour réduire la consommation d'antibiotiques ?**

B. Schlemmer

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

44 **Les BMR d'aujourd'hui et de demain**

11:40 V. Jarlier

Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

45 **Comment traiter les infections à BMR**

12:00 R. Gauzit

Service de Réanimation, Hôtel Dieu, Paris, France

VIRUS ET HÉPATITES

VIRUSES AND HEPATITIS

Présidents/Chairpersons : S. ALAIN, P. POTHIER

Mini-Conférence

46 **Florilèges des avis du Haut Conseil de Santé Publique**

11:00 C. Perronne

Au nom de la Commission Maladies transmissibles. Haut Conseil de Santé Publique, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France

Communications libres

47 **Prévalence de la mutation G1896A du virus de l'hépatite B (VHB) chez 100 donneurs de sang français**

11:30 A. Ducancelle[1], A. Servant-Delmas[3], T. Beuvelet[1], A. Pivert[1], M.M. Pierre[1], E. Dupuits[1], M. Maniez[2], Groupe Gatt de la Société Française de Transfusion Sanguine[2], S. Laperche[3], F. Lunel-Fabiani[1]

[1]Laboratoire de Virologie et UPRES 3859, CHU d'Angers, Angers [2]EFS Nord de la France, Lille [3]Centre National de Référence des Hépatites B et C en Transfusion Sanguine, INTS, Paris, France

48 **Génotypes du virus de l'hépatite B et mutations de résistance chez des patients soumis à une thérapie au long cours par la**

11:45 **lamivudine en Tunisie**

I. Mathlouthi[3], V. Thiers[2], A. Trabelsi[3], I. Fodha[3], N. Boujaafar[3], A. Graube[1], E. Dussaix[2-1], A.M. Roque-Afonso[2-1]

[1]Virologie, AP-HP, Hôpital Paul Brousse [2]U785, INSERM, Villejuif, France [3]UR06SP20, Microbiologie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie

49 **Co-infection par le VHB de génotype G : développement, validation et application d'une technique de quantification spécifique**

12:00 **et relative du VHB de génotype G par rapport aux autres génotypes**

N. Desire, F. Ben Moussa, T. Sanchis, V. Thibault

Virologie, GH Pitié-Salpêtrière, AP-HP-UPMC, Paris, France

50 12:15 **Quantification *in vitro* de l'activité kinase de la protéine UL97 du cytomégalovirus, enzyme-clé de la résistance au ganciclovir et cible de nouveaux antiviraux**

T. Mazar[2-1], K.L. Asmani[1-2], F. Saade[1-2], S. Alain[1-2]

[1]CNR Cytomégalovirus [2]EA3175, Université de Limoges, Limoges, France

11SEP	SESSION EN PARTENARIAT *Joint Session*	SALLE *Room*	342A	**11:00 12:30**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

ÉVALUATION ET ENREGISTREMENT DES ANTI-INFECTIEUX : QUOI DE NEUF CETTE ANNÉE ?

ASSESSMENT AND REGISTRATION OF ANTI-INFECTIVE DRUGS: WHAT'S NEW THIS YEAR?

En partenariat avec l'AFSSAPS

Présidents/Chairpersons : J.M. DECAZES, B. ROUVEIX

51 11:00 **Harmonisation européennes des RCP**

R. Gauzit

Service de Réanimation, Hôtel Dieu, Paris, France

52 11:20 **Vaccins ; actualités**

R. Cohen

Service de Microbiologie, ACTIV, Saint-Maur des Fossés, France

53 11:40 **AMM et génériques**

C. Chidiac

Service des Maladies Infectieuses, Hôpital de la Croix Rousse, France

12S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	342B	**11:00 12:30**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

INFECTIONS DE SURFACE : ANTIBIOTIQUES OU ANTISEPTIQUES ?

INFECTIONS OF SURFACE: ANTIBIOTICS OR ANTISEPTICS?

Présidents/Chairpersons : I. COCHEREAU, D. LEPELLETIER

54 11:00 **Les différentes classes d'antiseptiques, modes d'action, résistance**

C. Dumartin

CCLIN Sud-Ouest, Bordeaux, France

55 11:20 **Indications et règles de bon usage des antiseptiques**

D. Lepelletier

Hygiène Hospitalière, CHU de Nantes, Nantes, France

56 11:40 **Antibiotiques locaux ou antiseptiques dans les dermatoses primitivement infectieuses ou les dermatoses surinfectées**

L. Machet

Service de Dermatologie, CHRU de Tours, Inserm U930, Université François Rabelais, Tours, France

57 12:00 **Quels antiseptiques pour les soins de cathéter ?**

J.C. Lucet

UHLIN GH Bichat-Claude Bernard, Paris, France

PRÉVENTION DES INFECTIONS LIÉES AUX SOINS
PREVENTION OF THE INFECTIONS CONNECTED TO THE CARE

Président/Chairperson : M. WOLFF

58 11:00 **Impact bactériologique de l'utilisation d'un pansement antimicrobien imprégné de chlorhexidine (CHX) pour la prévention des infections de cathéters en réanimation**

B. Gestin[1], C. Schwebel[2-5], M.C. Hérault[3], C. Recule[1], S. Calvino-Gunther[2-5], A. Lagier[1], M.R. Mallaret[4], M. Maurin[1], J.F. Timsit[2-5], J. Croizé[1], Groupe Dressing[6]

[1]Laboratoire de Bactériologie-Microbiovigilance [2]Réanimation Médicale [3]Réanimation Polyvalente Chirurgicale [4]Unité d'Hygiène Hospitalière, CHU de Grenoble, Grenoble [5]UJF, INSERM U823, Institut A. Bonniot, La Tronche [6]APHP (Beaujon, Bichat, Saint Denis, Saint Joseph), Paris, France

59 11:15 **Protection et désinfection des sondes endocavitaires : état des lieux dans les hôpitaux de l'AP-HP**

V. Gobaux[4], G. Kac[2], C. Monteil[4], M. Michel[4], M. Huang[4], V. Jarlier[4-3], C. Brun-Buisson[4-1], S. Fournier[4]

[1]Réanimation médicale, Hôpital Henri Mondor, Créteil [2]EOH, Hôpital HEGP [3]Bactériologie-Hygiène, Hôpital Pitié-Salpêtrière [4]DPM-EOH, Siège AP-HP, Paris, France

60 11:30 **Épidémiologie des infections nosocomiales à SARM au CHU de Brest du 1er janvier 2004 au 31 décembre 2007: impact des consommations de produits hydro-alcooliques et d'antibiotiques**

N. Rouzic[3-2], D. Tande[1], B. Garo[3], C.H. Payan[1], M. Garré[3], B. Lejeune[2]

[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service de Santé Publique et Hygiène Hospitalière [3]Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Universitaire, Brest, France

61 11:45 **Utilisation de l'analyse de séries chronologiques dans l'évaluation des stratégies de contrôle de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline**

L. Jochault, H. Gbaguidi-Haore, D. Talon, X. Bertrand

Hygiène hospitalière, CHU de Besançon, Besançon, France

62 12:00 **Accueil de patients porteurs d'entérocoque résistant aux glycopeptides (ERG) en soins de suite et de réadaptation (SSR) au Centre Hospitalier (CH) de Béthune : une adaptation des recommandations nationales**

E. Beclin[4], S. Dekeyser[1], S. Nguyen[5], M. Brelinski[3], J. Lepine[3], P. Moity[3], M.H. Tournoys[1], K. Blanckaert[6], D. Descamps[1-2]

[1]Laboratoire [2]Présidente du Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales [3]Soins de Suite et de Réadaptation [4]Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales [5]Unité d'Infectiologie, CH Germon et Gauthier, Béthune [6]Antenne Régionale de Lutte Contre les Infections Nosocomiales du Nord-Pas de Calais, CHRU, Lille, France

63 12:15 **Évaluation des pratiques professionnelles et des connaissances théoriques sur la prévention des infections associées aux soins en réanimation adulte**

G. Gosse[2-3], M. Miquet[3], M. Levast[1], M.G. Demange[2-3], M.F. Rousse[3], B. Zerr[3], F.O. Mallaval[2], A. Fourneret-Vivier[2]

[1]Bactériologie [2]EOH [3]Réanimation, CH de Chambéry, Chambéry, France

14S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	351	**11:00 12:30**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

LES TECHNOLOGIES INNOVANTES APPLIQUÉES À LA VIROLOGIE MÉDICALE

THE INNOVATIVE TECHNOLOGIES APPLIED TO THE MEDICAL VIROLOGY

Avec le soutien d'Abbott Molecular France

Présidents/Chairpersons : L. ANDREOLETTI, B. GUERY

64 11:00 **Utilisation des nouvelles technologies pour la détection et le typage de virus émergents**

J.C. Manuguerra

CIBU, Institut Pasteur de Paris, France

65 11:20 **Détection et identification des pathogènes viraux par spectrométrie de masse couplée à la PCR (IBIS T6000 system)**

S. Schaffer

Business Development Manager Clinical Diagnostics, Abbott, Allemagne

66 11:40 **Utilisation en virologie médicale des systèmes PCR-DNA *microarrays***

N. Lévêque[1-2], F. Renois[1-2], L. Andréoletti[1-2]

[1]Laboratoire de Virologie médicale et moléculaire, CHU Robert Debré [2]EA 4303/IFR53, Faculté de médecine de Reims, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

67 12:00 **Impact des nouvelles techniques virologiques sur la décision médicale**

B. Guéry

Service d'Infectiologie, CHRU de Lille, France

15O	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	352A	**11:00 12:30**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

PHARMACO-THÉRAPEUTIQUE

PHARMACOTHERAPY

Président/Chairperson : F. JEHL

68 11:00 **Détermination de la dose de proanthocyanidines issues de la cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) nécessaire pour une activité anti-adhérentielle optimale sur les souches *d'Escherichia coli* uropathogènes: étude multicentrique internationale en double-aveugle, randomisée contre placebo**

A.B. Howell[2], H. Botto[4], C. Combescure[7], A.B. Blanc-Potard[3], L. Gausa[1], T. Matsumoto[6], P. Tenke[5], A. Sotto[3], J.P. Lavigne[3]

[1]Fundació Puigvert, Barcelona, Espagne [2]Marucci Center for Blueberry and Cranberry Research and Extension, University of New Jersey, Chatsworth, Etats-Unis [3]Espri 26, INSERM, Nîmes [4]Service d'Urologie, Hôpital Foch, Suresnes, France [5]Department of Urology, South-Pest Hospital, Budapest, Hongrie [6]Department of Urology, Kyushu University, Kyushu, Japon [7]Faculté de Médecine, Université de Genève, Genève, Suisse

69 11:15 **Activité du linézolide sur des souches de *Staphylococcus aureus* et *d'Enterococcus faecalis* possédant un phénotype hypermutateur ou non, dans un modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique *in vitro***

B.B. Ba[2], C. Arpin[1], B. Bikie Bi Nso[2], V. Dubois[1], M.C. Saux[2], C. Quentin[1]

[1]CNRS UMR 5234 [2]Laboratoire de Pharmacocinétique et de Pharmacie Clinique, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France

70 11:30 **Pharmacokinetics of secnidazole after single oral dose in healthy volunteers**

B. Diquet[1], B. Lelièvre[1], C. Abbara[1], A. Turcant[1], J.F. Bergman[2], G. Simoneau[2], M. Brauman[3]

[1]Pharmacologie clinique et toxicologie, CHU d'Angers, Angers [2]Médecine Interne, Hôpital Lariboisière [3]IPRAD, Paris, France

71 **Immunochromatography strip for the detection of a toxic gentamicin plasma concentration threshold in patients**

11:45 H. Benech[1], H. Volland[1], F. Bruneel[3], C. Palette[2], C. Roucairol[1]

[1]Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse, CEA, iBiTecS, Gif-Sur-Yvette [2]Service de Pharmacologie/Biochimie [3]Service de Réanimation, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

72 **Prédiction *a priori* des concentrations de gentamicine au pic : utilisation d'un outil simple et pratique**

12:00 F. Lemaitre[4], V. Javaugue[3], M. Rousselot[3], C. Nowak[4], N. Venisse[1], C. Garandeau[2], A. Riché[3], D. Cancel[4]

[1]Laboratoire de Toxicologie et Pharmacocinétique, CHU de Poitiers, Poitiers [2]Laboratoire de Microbiologie [3]Médecine Interne [4]Pharmacie, CH d'Angoulême, St Michel, France

73 **Diffusion tissulaire de la ceftazidime administrée en perfusion continue dans les pneumonies hypoxémiantes**

12:15 J. Cousson[3], T. Floch[3], F. Nicolas[3], T. Guillard[1], A. Leon[3], G. Hoizey[2], V. Vernet-Garnier[1]

[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Laboratoire de Pharmacologie [3]Service de Réanimation, CHU Robert Debré, Reims, France

jeudi *Thursday*	3	décembre *December*	**11:00** **12:30**	SALLE *Room*	352B	ATELIERS FMC *Cme Workshop*	16FMC

ANTIBIOGRAMMES POUR « LES NULS »

THE "IDIOT" ANTIBIOGRAMS

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

Intervenants:
M.H Nicolas Chanoine, P. Plésiat, H. Chardon, J.D. Cavallo
T. Lambert, P. Weber, C. Quentin

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

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

17PL	PLENIERE *Plenary*	SALLE *Room*	BORDEAUX	**13:00** **14:30**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

TOUTES LES QUESTIONS QUE VOUS VOULEZ POSER SUR LA PANDÉMIE
ALL THE QUESTIONS THAT YOU SETTLE ON THE PANDEMIC

Président/Chairperson : C. PERRONNE

Public : Cliniciens, microbiologistes, épidémiologistes, hygiénistes

Objectif :
Répondre aux interrogations du public en matière:
- D'épidémiologie
- De clinique (adultes, enfants)
- De virologie
- De diagnostic
- De thérapeutique
- De chimiothérapie antivirale
- De mesures d'hygiène
- De prévention vaccinale
- De complications (bactériennes et autres)

Introduction :
J.F. Delfraissy, C. Perronne

Experts :
C. Chidiac, D. Floret, G. Gavazzi, O. Launay, C. Leport, B. Lina, D. Luton, C. Mayaud, B. Régnier, F. Vandenesch, P. Vanhems

Session organisée par la Comité Scientifique
Soutien de Roche

18SEP	SESSION EN PARTENARIAT *Joint Session*	SALLE *Room*	BORDEAUX	**14:30** **16:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

EMERGENCE DU VIRUS A (H1N1) V ET RIPOSTE VACCINALE
EMERGENCE OF THE VIRUS A (H1N1) AND THE VACCINAL RETORT
En partenariat avec le GEIG

Présidents/Chairpersons : C. CHIDIAC, B. LINA

74 **Émergence et évolution d'un nouveau virus Influenza**
14:30 B. Lina
Groupement hospitalier Est, Centre de biologie et pathologie, institut de microbiologie, Bron, France

75 **Production et mise à disposition du vaccin**
15:00 L. Hessel
Policy Affairs, Europe - Sanofi Pasteur MSD, Lyon, France

76 **Stratégie d'utilisation des vaccins pandémique et saisonnier**
15:30 O. Launay
Hôpital Cochin, Paris, France

IDENTIFICATION BACTÉRIENNE PAR SPECTROMÉTRIE (MALDI-TOF)
SPECTROMETRY (MALDI-TOF) BACTERIAL TYPING

Présidents/Chairpersons : X. NASSIF, M. ROUSSEL-DELVALLEZ

77 14:30 **Identification d'isolats de *Streptococcus agalactiae* appartenant à différentes lignées phylogénétiques par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF**

M.F. Lartigue[3-2], G. Héry-Arnaud[3], E. Haguenoer[3], A.S. Domelier[3-2], P.O. Schmit[4], N. Van Der Mee-Marquet[3-2], P. Lanotte[3], L. Mereghetti[3], M. Kostrzewa[1], R. Quentin[3-2]

[1]Bruker Daltonik, Leipzig, Allemagne [2]Service de Bactériologie et Hygiène hospitalière, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours [3]EA3854 Bactéries et risque materno-foetal, IFR136, Université François-Rabelais de Tours, UFR de Médecine, Tours [4]Bruker Daltonique, Wissembourg, France

78 14:45 **Identification des staphylocoques par spectrométrie de masse MALDI-TOF (AXIMA SARAMIS SIRWEB-MALDI-TOF) : comparaison aux identifications du Centre National de Référence des Staphylocoques**

S. Boisset[3-2-1], A.M. Freydiere[3], H. Meugnier[3-2-1], M. Bes[3-2-1], M. Bergeron[3], C. Gardon[3-2], C. Courtier[3-2], C. Spinelli[3-2], C. Bouveyron[3-2], N. Baida[4], Y. Benito[3-2-1], J. Etienne[3-2-1], G. Lina[3-2-1], F. Vandenesch[3-2-1], O. Dauwalder[3-2-1]

[1]INSERM U851, IFR128, Faculté de Médecine Laennec [2]Centre National de Référence des Staphylocoques, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon [3]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon-Bron [4]I2A, Perols, France

79 15:00 **Étude multicentrique prospective des prélèvements positifs à bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGN-NF) : données microbiologiques**

H. Jacquier[6], S. Corvec[5], A. Le Monnier[4], E. Bille[8], F. Jauréguy[1], E. Carbonnelle[7], V. Fihman[3], J. Tankovic[9], V. Cattoir[2]

[1]Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital Avicenne, Bobigny [2]Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen [3]Microbiologie-Hygiène, Hôpital Louis Mourier, Colombes [4]Microbiologie, CH de Versailles, Le Chesnay [5]Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes, Nantes [6]Bactériologie-Virologie, Groupe Hospitalier Lariboisière-Fernand Widal [7]Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou [8]Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital Necker [9]Bactériologie-Virologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

80 15:15 **Étude comparative de systèmes d'identification bactérienne par spectrométrie de masse MALDI-TOF**

P. Grohs[2], I. Podglajen[2], E. Carbonnelle[2], M. Rottman[1], J.L. Herrmann[1], A. Dewailly[2], S. Boucher[2], S. Tenza[3], H. Jacquier[3], A. Buu-Hoï[3], L. Gutmann[3], M.J. Sanson Le Pors[3], L. Raskine[3]

[1]Service de Microbiologie, Hôpital R. Poincaré, Garches [2]Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou [3]Service de Microbiologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France

81 15:30 **Utilisation de tubes munis de gel séparateur pour l'identification bactérienne en MALDI-TOF des hémocultures positives**

W. Moussaoui[2], B. Jaulhac[2], A.M. Hoffmann[2], B. Ludes[2], M. Kostrzewa[1], P. Riegel[2], G. Prévost[2]

[1]R & D, Bruker Daltonik, Bremen, Allemagne [2]EA-4438 Bactériologie, Faculté de Médecine - CHRU, Strasbourg, France

82 15:45 **Identification en routine des micro-organismes dans les bouillons d'hémoculture par spectrométrie MALDI-TOF-MS**

A. Ferroni, S. Suarez, J.L. Beretti, B. Dauphin, E. Bille, H. Lecuyer, P. Berche, X. Nassif

Microbiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

20S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	341	**14:30 16:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

DONNÉES RÉCENTES SUR LES CANCERS VIRO-INDUITS
RECENT DATA ON THE RADIO-INFERRED CANCERS

Présidents/Chairpersons : M.c. MEYOHAS, F. SIMON

83 **Cancers et infection à VIH**
14:30 D. Costagliola
U943 INSERM et Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

84 **Le carcinome à cellules de Merkel : un nouveau type de tumeur humaine viro-induite**
14:50 X. Sastre-Garau
Service de Pathologie, Institut Curie, Paris, France

85 **Virus Epstein-Barr et lymphomes**
15:10 C. Besson
CHU de Bicêtre-INSERM U802, Le Kremlin-Bicêtre, France

86 **Carcinogenèse hépatique liée au virus de l'hépatite C**
15:30 H. Lerat
INSERM, Paris, France

21S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	342A	**14:30 16:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

NOS AMIES LES BÊTES
OUR PET FRIENDS

Présidents/Chairpersons : H. PEIGUE-LAFEUILLE, F. MOUTOU

87 **Animaux de compagnie non conventionnels et zoonoses, vive la biodiversité !**
14:30 A. Mailles
Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

88 **Les risques zoonotiques à la manipulation des primates ou on n'apprend pas à un vieux singe à se laver les mains**
14:50 F. Wanert
Centre de primatologie, Université de Strasbourg, France

89 **Langue bleue et mouton noir, les derniers avatars de la fièvre catarrhale ovine**
15:10 F. Moutou
AFSSA LERPAZ, Maison-Alfort, France

90 **Les leishmanioses en France : zoonoses autochtones et cas importés. Épidémiologie et surveillance**
15:30 J.P. Dedet
Laboratoire de Parasitologie, Centre National de Référence des Leishmania, Montpellier, France

LEUCOCIDINE DE PANTON-VALENTINE
PANTON-VALENTINE LEUKOCIDIN

Présidents/Chairpersons : F. VANDENESCH, F. BARBIER

91 14:30 **Panton-Valentine leukocidin enhances the severity of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* rabbit osteomyelitis**

A. Saleh-Mghir[2], O. Dimitrescu[3], G. Lina[3], C. Vallee[2], J.F. Coté[1], M. Muffat-Joly[5], T. Lilin[4], J. Etienne[3], F. Vandenesch[3], A.C. Crémieux[2]
[1]Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt [2]Hôpital R. Poincaré, EA 3647, Faculté de Médecine Paris Ile-de-France Ouest, Garches [3]INSERM U851, Centre National de référence des Staphylocoques, Lyon [4]Centre de Recherches Biomédicales, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons Alfort [5]INSERM IFR2-Centre d'Explorations Fonctionnelles Intégré, UFR de Médecine Paris 7, site Bichat, Paris, France

92 14:45 **Détection rapide de la leucocidine de Panton Valentine de *Staphylococcus aureus* dans des échantillons cliniques par test ELISA et immuno-chromatographique**

C. Badiou[6-5], O. Dumitrescu[6-5], G. Nimmo[2], N. Ramdani-Bouguessa[1], K. Hulten[3], I. Spiliopoulou[8], L.Y. Hsu[9], C. Ratat[7], M. Bes[6-5-4], H. Meugnier[4], F. Vandenesch[6-5-4], J. Etienne[6-5-4], G. Lina[6-5-4]
[1]Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha Bacha, Alger, Algérie [2]Pathology Queensland Central Laboratory, Herston Hospitals Complex, Brisbane, Australie [3]Department Pediatrics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis [4]Hospices Civils de Lyon [5]INSERM U851, IFR128 [6]Centre National de Référence des Staphylocoques, Université Lyon 1, Lyon [7]Département R&D, BioMérieux, Marcy L'étoile, France [8]Department Microbiology, University of Patras, Patras, Grèce [9]Department Medicine, National University of Singapore, Singapore, Singapour

93 15:00 **Spectrométrie de masse et détection de la leucocidine de Panton-Valentine de *Staphylococcus aureus***

O. Dauwalder[3-2-1], Y. Benito[3-2-1], E. Carbonnelle[5-6], M. Bes[3-2-1], H. Meugnier[3-2-1], J. Etienne[3-2-1], G. Lina[3-2-1], X. Nassif[4-6], F. Vandenesch[3-2-1]
[1]INSERM 851, Faculté de Médecine Lyon Est, Université de Lyon, Lyon [2]Centre National de référence des Staphylocoques [3]Laboratoire de Bactériologie–Centre de Biologie et Pathologie Est-Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon-Bron [4]Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris [5]Hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris [6]Faculté De Médecine, Université Paris Descartes, Paris, France

94 15:15 **Production, characterization and inhibition properties of humanized heavy chain only antibodies against *S. aureus* Panton-Valentine leukocidin S and F components**

B.J. Laventie[1], G. Prévost[1], T. Chen[2], R. Rademaker[2], R. Girardot[1], F. Grosveld[2], D. Drabek[2]
[1]EA-4438 Physiopathologie et Médecine Translationnelle, Institut de Bactériologie de la faculté de médecine, Strasbourg, France [2]Departement of Cell Biology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, Pays-Bas

95 15:30 **Détection rapide de la leucocidine de Panton-Valentine de *Staphylococcus aureus* à partir de colonies à l'aide d'un test immuno-chromatographique**

G. Perrier[2-1], C. Ratat[4], M. Bes[2-3], C. Badiou[2-3], F. Vandenesch[2-1-3], J. Etienne[2-1], G. Lina[2-1], A.M. Freydiere[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron [2]Université Lyon 1, Centre National de Référence des Staphylocoques [3]IFR128, INSERM U851, Lyon [4]R&D, BioMérieux, Marcy L'Etoile, France

96 15:45 **Prévalence des gènes des toxines TSST et PVL de *S. aureus* en fonction de leur antibiotype**

L. Cavalié, F. Bertin, M. Ducos, S. Malacan, N. Marty, M.F. Prère
Bactériologie-Hygiène, CHU, Toulouse, France

23O	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	343	**14:30 16:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

CTX M TOUJOURS PLUS, ÉPIDÉMIOLOGIE
CTX M, ALWAYS MORE, EPIDEMIOLOGY

Présidents/Chairpersons : S. BOYER-MARIOTTE, M.H. NICOLAS-CHANOINE

97 14:30 **Portage digestif d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3e génération dans une population d'adultes jeunes asymptomatiques : évolution entre 1999 et 2009**

F. Janvier[1], A. Mérens[1], D. Delaune[1], G. Marcadé[1], C. Rapp[2], J.D. Cavallo[1]

[1]Service de biologie médicale [2]Service de maladies infectieuses et tropicales, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France

98 14:45 ***Escherichia coli* producteurs de BLSE en pédiatrie : le royaume des CTX-M**

F. Crampon[1], M. Caseris[1], J.L. Pons[1-2], S. Boyer-Mariotte[1-2]

[1]Laboratoire de Microbiologie, CHU Charles Nicolle, Rouen [2]EA2656 GRAM, IHURBM, Université De Rouen, France

99 15:00 **Dissémination du plasmide porteur de CTX-M-15 dans des souches de *Proteus, Morganella* et *Providencia* sp. dans un hôpital militaire tunisien : étude rétrospective de 2005-2007**

S. Mahrouki[1-2], L. Vidal[1], A. Sotto[1], N. Bouziges[1], O. Belhadj[2], J.P. Lavigne[1]

[1]Espri 26, INSERM, Nîmes, France [2]Laboratoire de biochimie et de technobiologie, Faculté des Sciences, Tunis, Tunisie

100 15:15 **Épidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu à l'hôpital du point G à Bamako (Mali)**

I. Maiga[2], S.A. Dioma[2], A. Maiga[2], T. Guillard[1], V. Duval[1], L. Brasme[1], V. Vernet-Garnier[1], C. De Champs[1]

[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène Hospitalière, CHU de Reims, UFR Médecine Reims Champagne-Ardenne, Reims, France [2]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital du Point G, BP 333, Bamako, Mali

101 15:30 **Évolution des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE) à l'hôpital Saint-Antoine: 2003-2008**

D. Decré, M.C. Barbut, H. Lagny, D. Geneste, G. Arlet, J.C. Petit, F. Barbut

Bactériologie - EA n°2392, CHU Saint-Antoine, Paris, France

102 15:45 ***Enterobacter cloacae* producteurs de BLSE en 2007 au CHU de Rouen : anciens et modernes ?**

P. Etancelin[1], J.L. Pons[1-2], S. Boyer[1-2]

[1]Service de Microbiologie, CHU de Rouen [2]EA 2656 GRAM, IHURBM, Université de Rouen, Rouen, France

24S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	351	**14:30 16:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

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

Présidents/Chairpersons : M. WOLFF, V. JARLIER

103 14:30 **Utilité de la procalcitonine sérique pour réduire la consommation des antibiotiques**

M. Wolff

Service de Réanimation, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

104 14:50 **Le dépistage des SARM à l'admission : oui/non**

J.C. Lucet

UHLIN GH Bichat-Claude Bernard, Paris, France

105 **Utilisation des tests interféron gamma (quantiféron) pour la prise de décision médicale individuelle**
15:10 V. Jarlier
Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

106 **Tests urinaires antigéniques de pneumocoque (BINAX) chez l'enfant et l'adulte**
15:30 J. Raymond[1], D. Gendrel[2]
[1]Bactériologie, Hôpital Cochin [2]Pédiatrie, Hôpital St Vincent de Paul, Paris, France

jeudi *Thursday* 3 décembre *December* | **14:30 16:00** | SALLE *Room* 352A | SESSION LIBRE *Oral Papers* | 25O

MODÈLES EXPÉRIMENTAUX *IN VIVO* ET *EX VIVO*
IN VIVO AND EX VIVO EXPERIMENTAL MODELS

Présidents/Chairpersons : A.C. CREMIEUX, C. JACQUELINE

107 **Effet de la salive de tique sur l'inflammation cutanée lors de la borréliose de Lyme : étude expérimentale sur modèle murin**
14:30 A. Kern, C. Marchal, E. Collin, C. Barthel, S. De Martino, B. Jaulhac, N. Boulanger
Institut de bactériologie, Facultés de Médecine et Pharmacie, Strasbourg, France

108 **Altérations fonctionnelles des cellules dendritiques au cours d'une pneumopathie à *Staphylococcus aureus* dans un modèle murin d'immunodépression post-hémorragique**
14:45 A. Roquilly[2-1], L. Gautreau[4], J.P. Segain[3], G. Auger[2], C. Jacqueline[2], J. Caillon[2], G. Potel[2], R. Josien[4], K. Asehnoune[2-1]
[1]Anesthésie réanimation, CHU de Nantes [2]UPRES EA 3826, Faculté de médecine [3]UMR 1280 PhAN, INRA [4]UMR 643, INSERM, Nantes, France

109 **Infra-red microspectroscopy of the endocarditis vegetation**
15:00 E. Batard[1-2], F. Jamme[2], M.F. De La Cochetière[1], J. Caillon[1], G. Potel[1], P. Dumas[2]
[1]EA3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Nantes [2]Smis Beamline, Synchrotron Soleil, Saint Aubin, France

110 **Transfert de gènes de résistance de souches digestives vers une souche de *E. coli* pathogène respiratoire chez le poulet**
15:15 A. Dheilly, A. Bouder, G. Hellard, I. Kempf
LERAPP, AFSSA, Ploufragan, France

jeudi *Thursday* 3 décembre *December* | **14:30 16:00** | SALLE *Room* 352B | ATELIERS FMC *Cme Workshop* | 26FMC

QUEL EST VOTRE DIAGNOSTIC ?
WHAT IS YOUR DIAGNOSIS?

Animateurs/Moderators : F. LUCHT, A. CARRICAJO, E. BOTHELO, L. NINOVE

Auditoire :
Cliniciens, infcetiologues, médecine interne, neurologues, urgentistes

27S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	353	**14:30 16:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

INTERPRÉTATION DES GRANDS ESSAIS CLINIQUES RÉCENTS SUR LES ANTI-INFECTIEUX

RECENT BIG CLINICAL TRIALS ON ANTI-INFECTIVE DRUGS INTERPRETATION

Présidents/Chairpersons : J.F. TIMSIT, R. GAUZIT

111 14:30 **La décontamination digestive sélective avec ou sans antibiothérapie intraveineuse diminue la mortalité des patients de réanimation – A partir de l'analyse de l'article : Decontamination of the digestive tract and oropharynx in ICU patients – de Smet *et al.* – *NEJM* 2009**

B. Giraudeau

INSERM U738, Paris, INSERM CIC 0202, Tours, France

112 15:00 **Les échinocandines, traitement de première intention des candidoses systémiques du non neutropéniques ?**

C. Alberti

Unité d'Epidémiologie Clinique, Inserm CIE 5, Hôpital Robert Debré, Paris, France

113 15:30 **Peut-on faire confiance aux analyses intermédiaires dans les essais randomisés sur le sepsis ?**

D. Annane

Hôpital Raymond-Poincaré, Garches, France

28SEP	SESSION EN PARTENARIAT *Joint Session*	SALLE *Room*	BORDEAUX	**16:30 18:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

DES HAUTS ET DES BAS DANS LA MULTIRÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES À L'HÔPITAL

HOSPITAL ANTIBIOTICS MULTIRESISTANCE : UP AND DOWN

En partenariat avec l'ONERBA

Présidents/Chairpersons : M.H. NICOLAS-CHANOINE, J.D. CAVALLO

114 16:30 **Les céphalosporinases plasmidiques**

G. Arlet

Hôpital Tenon, Paris, France

115 16:50 **Enquête ONERBA trans-réseaux 2009 : « Céphalosporinases plasmidiques »**

C. Verdet[1-2], G. Arlet[1-2], A. Mérens[5], S. Laouira[3-2], A. Vachée[4], J. Robert[3-2], CS de l'ONERBA et les microbiologistes participants

[1]Bactériologie, CHU Tenon-APHP [2]Université Pierre et Marie Curie [3]Bactériologie-Hygiène, UPMC PARIS 6 - Site Pitié-Salpêtrière, Paris [4]Laboratoire de Biologie, CH de Roubaix, Roubaix [5]Microbiologie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

116 17:10 **Les nouvelles résistances aux fluoroquinolones chez les entérobactéries non productrices de BLSE**

A. Mérens

Service de Bilogie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

117 17:30 **La France change de couleurs**

V. Jarlier

Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

jeudi *Thursday*	3	décembre *December*	**16:30** **16:45**	SALLE *Room*	HAVANE	REMISE DE PRIX *Awards Reception*	29D

PRIX ACAI
ACAI AWARDS RECEPTION

jeudi *Thursday*	3	décembre *December*	**16:45** **17:45**	SALLE *Room*	HAVANE	CONTROVERSE *Controversy*	30C

LES MACROLIDES ONT-ILS UNE PLACE EN ASSOCIATION POUR LE TRAITEMENT DES PNEUMONIES COMMUNAUTAIRES À PNEUMOCOQUE ?
HAS MACROLIDES A PLACE IN ASSOCIATION FOR THE TREATMENT OF PNEUMOCOCCAL COMMUNITY ACQUIRED INFECTIONS?

Présidents/Chairpersons : F. LUCHT, L. GUTMANN

118 **Oui**
16:45 H. Georges
Service de Réanimation Médicale, Hôpital Chatilliez, Tourcoing, France

119 **Non**
17:15 C. Chidiac
Service des Maladies Infectieuses, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France

jeudi *Thursday*	3	décembre *December*	**16:30** **18:00**	SALLE *Room*	341	SESSION LIBRE *Oral Papers*	31O

INFECTIONS HUMAINES ET ANIMALES
HUMAN AND ANIMAL INFECTIONS

Présidents/Chairpersons : J.Y. MADEC, S. GRANIER

120 **Les staphylocoques des chiens et chats sont-ils inquiétants ?**
16:30 M. Haenni, L. Bréchard, J.Y. Madec
Antibiorésistance et Virulence Bactériennes, AFSSA, Lyon, France

121 **Prévalence et antibiorésistance des germes issus de mammites bovines**
16:45 M. Haenni[1], M.A. Botrel[3], P. Sulpice[2], J.Y. Madec[1], D. Calavas[1]
[1]Antibiorésistance et Virulence Bactériennes, AFSSA, Lyon [2]FEVEC-Fédération d'Eleveurs et de Vétérinaires en Convention, Saint Martin en Haut [3]InVS, Saint-Maurice, France

122 **Surveillance de la sensibilité aux antibioques des salmonelles isolées de la chaîne agro-alimentaire : année 2007**
17:00 S.A. Granier, C. Danan, S. Fremy, J. Grout, C. Oudart, C. Piquet, C. Pires-Gomes, A. Brisabois
Lerqap, unité CEB, AFSSA, Maisons-Alfort, France

123 **Phage types distribution of human and non-human *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* isolates in Belgium: trends in 2007 and 2008**
17:15 C. Wildemauwe, S. Bertrand, C. Godard, R. Vanhoof
Scientific Institute of Public Health, Brussels, Belgique

124 **Gastroentérite fébrile et septicémique à *Listeria monocytogenes***

17:30 H. Dieye[1-2], A. Leclercq[1-2], T. Cantinelli[1-2], S. Grayo[1-2], M. Lecuit[1-2-3]

[1]CNR Listeria et CC-OMS Listeria [2]Groupe Micro-organismes et Barrières de l'Hôte, INSERM Avenir U604, Institut Pasteur [3]Centre d'infectiologie Necker-Pasteur, Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes, Paris, France

125 **Évolution de la listériose materno-néonatale en France de 1984 à 2006**

17:45 A. Le Monnier[3], A. Leymarie[1], M. Ragon[3], E. Laurent[5], A. Leclercq[3], M. Lecuit[3-4-2], V. Goulet[5]

[1]Service de Gynécologie-Obstétrique, Groupe Hospitalier Cochin-Saint Vincent de Paul - Assistance Publique-Hôpiatux de Paris [2]Hôpital Necker-Enfants Malades - Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes [3]Centre National de Référence des Listeria, Centre Collaborateur de l'OMS pour la listériose d'origine alimentaire [4]Groupe Micro-organismes et Barrières de l'Hôte, INSERM Avenir U604, Institut Pasteur, Paris [5]Département des maladies infectieuses, Institut national de Veille Sanitaire, Saint Maurice, France

32s	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	342A	**16:30** **18:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

INFECTIONS CHEZ LE SUJET HANDICAPÉ MOTEUR
INFECTION IN MOTOR DISABILITIES

Présidents/Chairpersons : L. BERNARD, J. KERDRAON

126 **Handicap-BMR et vie hospitalière**

16:30 J. Salomon

CHU R. Poincaré, INSERM, Institut Pasteur, Garches, France

127 **Fièvre chez la personne para-tétraplégique**

16:50 B. Perrouin Verbe

CHU de Nantes, France

128 **Vessie neurologique/colonisation/infection**

17:10 P. Denys

CHU Raymond Poincaré, Garches, France

129 **Infections respiratoires chez le handicapé moteur.**

17:30 D. Orlikowski

Service de réanimation et unité de ventilation à domicile, Centre de référence des maladies neuromusculaires, CHU Raymond Poincaré, Garches, France

33s	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	342B	**16:30** **18:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

PHYSIOPATHOLOGIE DES INFECTIONS DU SYSTÈME NERVEUX CENTRAL
PATHOPHYSIOLOGY OF CENTRAL NERVOUS SYSTEM INFECTIONS

Présidents/Chairpersons : M. LECUIT, C. POYART

130 ***Neisseria meningitidis* pathogenesis**

16:30 G. Dumenil[1-2], Equipe Avenir[1-2]

[1]Hôpital Européen Georges Pompidou [2]PARCC, Paris Cardiovascular Research Center, Paris, France

131 **Méningites à streptocoque du groupe B**

16:45 C. Poyart

Groupe Hospitalier Cochin, Faculté de Médecine René Descartes, Université Paris 5, Paris, France

132 **Physiopathologie de la neurolistériose**

17:00 O. Disson[4-2], M. Lecuit[1-2-3-4]

[1]Université Paris Descartes, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Necker-Enfants malades [2]Inserm Avenir U604 [3]Centre de Référence des Listeria [4]Groupe Microorganismes et Barrières de l'Hôte, Institut Pasteur, Paris, France

133 **Encéphalites herpétiques, facteurs de l'hôte**

17:15 V. Sancho-Shimizu

INSERM, Paris, France

134 **Bilan de l'Étude Encéphalites 2007**

17:30 J.P. Stahl

Infectiologie, CHU de Grenoble, France

jeudi *Thursday* 3 décembre *December* | **16:30 18:00** | SALLE *Room* 343 | SESSION EN PARTENARIAT *Joint Session* | 34 SEP

QUELLES PRÉCAUTIONS D'HYGIÈNE EN 2009 POUR PRÉVENIR LA TRANSMISSION CROISÉE ET ÉVITER L'ÉMERGENCE DE BACTÉRIES MULTI RÉSISTANTES AUX ANTIBIOTIQUES ?

WHICH PRECAUTIONS OF HYGIENE TO PREVENT THE CROSSED TRANSMISSION AND AVOID MULTIRESISTANT ANTIBIOTICS BACTERIA EMERGENCE?

En partenariat avec la SFHH

Présidents/Chairpersons : P. BERTHELOT, P. VANHEMS

135 **Plaidoyer pour la friction des mains avec les produits hydro-alcooliques**

16:30 O. Keita-Perse

Service d'Epidémiologie et d'Hygiène Hospitalière, Centre Hospitalier Princesse Grace, Monaco

136 **Plaidoyer pour le lavage des mains**

16:50 J. Hajjar

Service d'hygiène et d'épidémiologie, Centre hospitalier général, Valence, France

137 **Place des précautions complémentaires d'hygiène pour maîtriser le risque d'émergence de bactéries sélectionnées par**

17:10 **l'antibiothérapie : exemples de l'entérocoque résistant à la vancomycine et du *Clostridium difficile***

B. Grandbastien

CHRU de Lille, France

138 **Précautions standard d'hygiène en 2009 : intérêts et limites**

17:30 J.C. Lucet

UHLIN GH Bichat-Claude Bernard, Paris, France

35O	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	351	**16:30 18:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

DIFFUSION INTERNATIONALE DES BACTÉRIES MULTIRÉSISTANTES
INTERNATIONAL DISTRIBUTION OF MULTIRESISTANT BACTERIA

Présidents/Chairpersons : P. NORDMANN, C. QUENTIN

Mini-Conférence

139 **Diffusion internationale de bactéries multirésistantes**
16:30 P. Nordmann
Département de Bactériologie, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Communications libres

140 **Dissemination of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in different hospitals of Antananarivo, Madagascar**
17:00 T.S. Andriamanantena, E. Ratsima, H.C. Rakotonirina, F. Randrianirina, J.F. Carod, V. Richard, A. Talarmin
Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo, Madagascar

141 **Circulation des CTX-M au sein de deux clones de *Escherichia coli* issus d'infections urinaires communautaires au Cambodge**
17:15 E. Ruppé[2-3], P.L. Woerther[2-3], O. Clermont[4], H. Jacquier[4], M. Phillips-Houlbracq[2-3], F. Azzahra Mastari[2-3], D. Monchy[1], S. Hem[1], J.L. Sarthou[1], A. Andremont[2-3], E. Denamur[4]
[1]Institut Pasteur du Cambodge, Phnom Penh, Cambodge [2]Centre National de Référence associé « Résistance dans les flores commensales », Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP [3]EA3964 [4]INSERM U722, Université Paris 7, Site Bichat, Paris, France

142 **Diversité des souches de *Klebsiella pneumoniae* exprimant le gène bla_{KPC-2}**
17:30 G. Cuzon[4], T. Naas[4], H.V. Truong[4], M.V. Villegas[2], K. Tegmark-Wisell[6], A.C. Gales[1], J.P. Quinn[3], Y. Carmeli[5], P. Nordmann[4]
[1]Laboratorio ALERTA, Universidade Federal de Sao Paul, Sao Paulo, Brésil [2]CIDEIM, Cali, Colombie [3]Infectious Disease Research Institute, Stroger Hospital of Cook County, Chicago, Etats-Unis [4]Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU du Kremlin-Bicêtre, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France [5]Division of Epidemiology, Sourasky Medical Center, Tel Aviv, Israël [6]Antibiotikaresistens, Solna, Suède

143 **Quadruplement du taux de portage fécal d'entérobactéries productrices de b-lactamases à spectre étendu au cours du séjour en centre de renutrition pédiatrique (Maradi, Niger)**
17:45 P.L. Woerther[2], H.C. Hugede[2], A.C. Janssens[3], E. Ruppé[2], S. Sayadi[1], N. Derekeneire[1], A. Andremont[2]
[1]Epicentre-Paris [2]Service de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France [3]Epicentre-Maradi, Maradi, Niger

36O	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	352A	**16:30 18:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

INFECTION NÉONATALE
NEONATE INFECTION

Président/Chairperson : J.W. DECOUSSER, Y. AUJARD

144 **Évaluation qualitative et quantitative du microbiote intestinal des grands nouveau-nés prématurés : étude prospective**
16:30 C. Guillet-Caruba[1-3], B. Richard[2], J.W. Decousser[1], M.J. Butel[3], P. Boileau[2], F. Doucet-Populaire[1-3]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène [2]Service de réanimation néonatale, Hôpital Antoine Béclère, AP-HP, Clamart [3]Bactériologie EA4065, Université Paris Descartes, Paris, France

145 **Caractérisation des souches de staphylocoques à coagulase négative isolées du microbiote intestinal de grands prématurés**
16:45 C. Guillet-Caruba[1-4], B. Richard[2], G. Manat[1], A. Ferroni[3], N. Bourgeois-Nicolaos[1-4], J.W. Decousser[1], P. Boileau[2], F. Doucet-Populaire[1-4]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béclère AP-HP [2]Service de réanimation néonatale, Hôpital Antoine Béclère, AP-HP, Clamart [3]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP [4]EA4065, Université Paris Descartes, Paris, France

146 **Surveillance des bactériémies liées aux cathéters dans un service de réanimation néonatale**
17:00 S. Ducki[3], F. Cneude[2], C. Marey[2], T. Debillon[2], M.R. Mallaret[3], J. Croizé[1]
[1]Service de Microbiologie [2]Service de Néonatalogie [3]Unité d'Hygiène Hospitalière, CHU de Grenoble, Grenoble, France

147 **Endémo-épidémie à *Staphylococcus capitis* résistants à la méticilline dans les services de néonatologie en France**
17:15 O. Raulin[2-1], D. Fournier[2], M. Bonfils[3], M. Bes[1], H. Meugnier[1], H. Salord[2], C. Roure Sobas[2], J. Grando[4], J.C. Picaud[3], F. Vandenesch[1], S. Tigaud[2], F. Laurent[2-1]
[1]Centre National de référence des Staphylocoques [2]Laboratoire de bactériologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon [3]Service de Néonatologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon [4]Unité d'Hygiène Hospitalière, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

148 **Staphylocoques à coagulase négative responsables de bactériémie sur cathéter central chez les grands prématurés : identification, sensibilité aux antibiotiques et prévalence des facteurs de virulence**
17:30 J.W. Decousser[1], F. Hassen[2], C. Ménard[1-3], C. Guillet-Caruba[1-3], P. Boileau[2], F. Doucet-Populaire[1-3]
[1]Bactériologie-Hygiène [2]Réanimation néonatale, CHU Antoine Béclère, AP-HP, Clamart [3]EA4065, Université Paris Descartes, Paris, France

149 **A propos de deux cas de botulisme infantile de type A diagnostiqués au CHU de Grenoble**
17:45 I. Pelloux[1], I. Wroblewski[2], G. Emeriaud[2], I. Reynaud-Davin[2], C. Perot[2], A. Gayot[2], B. Gestin[1], M. Maurin[1], C. Recule[1], M.R. Popoff[3], J.P.P. Carlier[3], J. Croizé[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Réanimation Pédiatrique, CHU de Grenoble, Grenoble [3]CNR Anaérobies et Botulisme, Institut Pasteur, Paris, France

jeudi *Thursday* 3 décembre *December* | **16:30 18:00** | SALLE *Room* 352B | ATELIERS FMC *Cme Workshop* | 37 FMC

ASPECTS THÉRAPEUTIQUES DES INFECTIONS À BACTÉRIES MULTIRÉSISTANTES EN PÉDIATRIE
THERAPEUTIC ASPECTS OF PAEDIATRIC MULTIRESISTANT BACTERIAL INFECTIONS

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

Objectifs :
Actualisation des connaissances des maladies infectieuses en pédiatrie

Auditoire :
Tout public de pédiatres ou de Microbiologistes s'intéressant à la pédiatrie

INFECTIONS RESPIRATOIRES VIRALES
VIRAL RESPIRATORY TRACT INFECTIONS

Présidents/Chairpersons : B. LINA, S. JAUREGUIBERRY

150 16:30 **Efficacité et tolérance de la bithérapie oseltamivir-zanamivir par rapport aux monothérapies oseltamivir ou zanamivir dans le traitement de la grippe saisonnière : essai randomisé en double aveugle**

T. Blanchon[6], M. Bouscambert-Duchamp[2], C. Charlois-Ou[9], A. Mosnier[10], V. Enouf[8], A. Tibi[3], F. Tubach[13], Q. Dornic[4], B. Lina[1], X. Duval[5], S. van der Werf[7], F. Mentré[12], C. Leport[11]

[1]CBPE, CNR du virus influenzae, Laboratoire de Virologie, CBPE [2]National Influenza Centre (South of France), GHE, Hospices Civils de Lyon, Bron [3]AGEPS, Pharmacie Centrale des Hôpitaux, Assistance Publique Hôpitaux de Paris [4]UF de Biostatistiques, APHP, Hôpital Bichat, INSERM U738 [5]CIC Hôpital Bichat [6]INSERM UPMC UMR S 707, Faculté de médecine Pierre et Marie Curie [7]CNR du virus influenzae, Institut Pasteur [8]Unité de Génétique Moléculaire des Virus à ARN, Institut Pasteur, Centre National de Référence des virus influenzae (Région-Nord) [9]LRPI, UFR de Médecine, Site Bichat [10]Réseau des Grog [11]Laboratoire de Recherche en pathologie infectieuse [12]UMR738 - INSERM, Université Paris Diderot [13]URC Paris Nord, Département d'Epidémiologie, de Biostatistique et de Recherche Clinique CHU Bichat-Claude Bernard, Paris, France

151 16:45 **Impact des recommandations sur la prise en charge de la grippe A/H1N1 chez l'adulte : expérience du CHU Ambroise Paré**

A. Blaise Stevens[3], S. Oozer[6], C. Guyot[6], A. Abgessi[6], M. Leruez[8], M. Ben M'rad[7], D. Cobarzan[4], J. Leporrier[3], F. Espinasse[2], B. Page[5], P. Aegerter[1], C. Dupont[3], E. Rouveix[3]

[1]Service de Santé Publique et d'Information Médicale, Boulogne Billancourt [2]Equipe Opérationnelle d'Hygiène [3]Médecine Interne 2 [4]Pneumologie [5]Réanimation [6]Service d'Accueil des Urgences, Boulogne-Billancourt [7]Médecine Interne 3, CHU Ambroise Paré [8]Virologie, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France

152 17:00 **Évolution des propriétés enzymatiques de la neuraminidase des virus influenza A (H1N1) : la clef de l'émergence des virus H1N1 résistants à l'oseltamivir ?**

J.S. Casalegno[1-2], O. Ferraris[2], M. Sabatier[2], M. Valette[1], B. Lina[1], V. Escuret[1-2]

[1]Laboratoire de Virologie, Centre de Biologie Est, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron [2]Virologie et Pathologie Humaine, CNRS FRE 3011, Université Lyon 1, Lyon, France

153 17:15 **Évaluation d'un nouveau test permettant la détection simultanée de 17 virus respiratoires par PCR-ADN *microarray* chez des nourrissons hospitalisés pour bronchiolite aiguë**

F. Renois[4-2], A. Huguenin[4-2], L. Moutte[4-2], M. Abely[3], K. Bessaci[3], T. Nenninger[4-2], N. Lévêque[4-2], F. Carrat[1], L. Andréoletti[4-2]

[1]Service de Santé publique, Hôpital Saint-Antoine, AP/HP, Université Pierre et Marie Curie ; INSERM U707, Paris [2]Laboratoire de Virologie Médicale et Moléculaire [3]Service Pédiatrique, Centre Hospitalier Universitaire [4]EA 4303/IFR53, Faculté de Médecine de Reims, Reims, France

154 17:30 **Évaluation des puces à ADN Clart® Pneumovir pour la détection de virus respiratoires en réanimation pédiatrique**

V. Escuret[1-3], E. Frobert[1-3], E. Javouhey[2], M. Bouscambert-Duchamp[1-3], C. Moulinier[1], 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]Service de Pédiatrie, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon [3]Virologie et Pathologie Humaine, CNRS FRE 3011, Université Lyon 1, Lyon, France

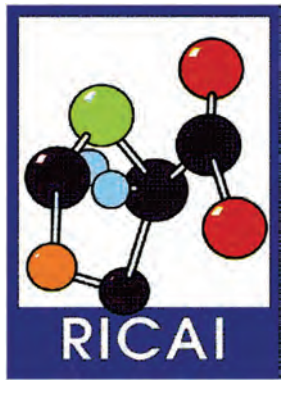
155 17:45 **Niveau de couverture vaccinale des soignants de l'hôpital Necker en 2008**

M. Burgard[4], E. Lancien-Mainot[3-2-1], X. Nassif[3-2-1], J.R. Zahar[3-2-1]

[1]CLIN [2]Equipe Opérationnelle d'Hygiène [3]Laboratoire de Bactériologie [4]Laboratoire de Virologie, Hôpital Necker, Paris, France

SESSIONS ORALES
ORAL SESSIONS

Vendredi 4 décembre
Friday December 4



Vendredi 4 décembre
Friday December 4

Heure	Réf	Session	Salle
09:00-10:30	39S	L'ÉMERGENCE DES CTX-MS	BORDEAUX
09:00-10:30	40SEP	DIAGNOSTIC DE L'INFECTION SUR PROTHÈSES ARTICULAIRES	HAVANE
09:00-10:00	41C	PATIENTS MULTICOLONISÉS AVEC DES SIGNES INFECTIEUX	341
09:00-10:30	42S	ACTUALITÉS SUR LES INFECTIONS SÉVÈRES À GRAM+	342A
09:00-10:30	43O	PRÉVENTION DE LA TRANSMISSION AÉRIENNE	342B
09:00-10:30	44O	MÉTHODOLOGIE EN BACTÉRIOLOGIE	343
09:00-10:30	45O	ACTUALITÉ DANS LE DOMAINE DU VIH	351
09:00-10:30	46SEP	NOUVEAUX VACCINS ANTIMÉNINGOCOCCIQUES (ACYW135 ET B)	352A
09:00-10:30	47FMC	ANTIBIOGRAMMES POUR « CEUX QUI CROIENT SAVOIR »	352B
11:00-12:30	48SEP	L'ANTIBIOGRAMME : WHAT ELSE ?	HAVANE
11:00-12:30	49SEP	LA LÈPRE, UNE MALADIE À ÉRADIQUER…AUSSI EN FRANCE !	341
11:00-12:30	50O	DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE BACTÉRIEN	342A
11:00-12:30	51S	ANTIVIRAUX ET SYSTÈME NERVEUX CENTRAL	342B
11:00-12:30	52O	INFECTIONS EN PÉDIATRIE	343
11:00-12:30	53S	RELATIONS PK/PD POUR TOUS	351
11:00-12:30	54S	ACTUALITÉ DU DIAGNOSTIC ÉTIOLOGIQUE DES INFECTIONS RESPIRATOIRES COMMUNAUTAIRES GRAVES	352A
11:00-12:30	55FMC	INFECTION À VIH : CAS CLINIQUES	352B
11:00-12:30	56O	MÉCANISMES DE RÉSISTANCE DES BACTÉRIES AUX ANTIBIOTIQUES	353
14:00-15:30	57S	DES ß-LACTAMASES DE SPECTRE TOUJOURS PLUS ÉTENDUS	BORDEAUX
14:00-15:30	58S	ACTUALITÉS DANS LE SEPSIS	HAVANE
14:00-15:30	59S	ÉVOLUTION BACTÉRIENNE ET VIRALE ET MIGRATION DES POPULATIONS	341
14:00-15:30	60S	ACTUALITÉS SUR LES INFECTIONS BACTÉRIENNES SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES	342A
14:00-15:30	61O	NOUVELLES ASSOCIATIONS DE MOLÉCULES ANTIBACTIÉRIENNES	342B
14:00-15:30	62SEP	INFLAMMATION CHRONIQUE ET SES CONSÉQUENCES LORS DE L'INFECTION À VIH	351
14:00-15:30	63S	LA RÉSISTANCE CHEZ LES CHAMPIGNONS EXISTE-T-ELLE?	352A
14:00-15:30	64FMC	INFECTIONS DU PIED DIABÉTIQUE	

L'ÉMERGENCE DES CTX-MS
EMERGENCE OF CTX-MS

Présidents/Chairpersons : P. NORDMANN, A. ANDREMONT

156 **Plate-formes génétiques et diffusion interespèces des CTX-Ms**
09:00 T. Naas
Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

157 **Pandémie des CTX-Ms (colonisation/infection)**
09:20 E. Ruppé
Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, EA3964, Paris, France

158 **Traitement des infections à entérobactéries CTX-Ms**
09:40 J. Garau
Hôpital Mutua de Terrassa, University of Barcelona, Barcelone, Espagne

159 **Facteurs de risque, mesure d'hygiène et de prévention**
10:00 J.R. Zahar
Service de Microbiologie, CHU Necker Enfants Malades, Paris, France

DIAGNOSTIC DE L'INFECTION SUR PROTHÈSES ARTICULAIRES
DIAGNOSIS OF INFECTED ARTICULAR PROSTHESIS
En partenariat avec le groupe TIRESIAS

Présidents/Chairpersons : A. LORTAT-JACOB, M. ARCHAMBAUD

160 **Diagnostic clinique, biologie et imagerie**
09:00 T. Bauer
Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique, Hôpital Ambroise-Paré, Boulogne, France

161 **Diagnostic microbiologique conventionnel**
09:20 N. Desplaces
Laboratoire de Biologie Médicale, Groupe Hospitalier Diaconesses Croix Saint-Simon, Paris, France

162 **Les doutes des thérapeutes**
09:40 S. Marmor[1], A. Lortat Jacob[2]
[1]Service de Chirurgie Orthopédique, Groupe Hospitalier Diaconesses Croix Saint-Simon [2]Service de Chirurgie Orthopédique, Hôpital Raymond Poincaré, Paris, France

163 **Les approches nouvelles : sérologie, biologie moléculaire**
10:00 M. Rottman
Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Paris, Université de Versailles-St Quentin en Yvelines, Versailles, France

41C	CONTROVERSE *Controversy*	SALLE *Room*	341	**09:00** **10:00**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

PATIENTS MULTICOLONISÉS AVEC DES SIGNES INFECTIEUX
MULTI-COLONIZED PATIENTS WITH INFECTIOUS SIGNS

Présidents/Chairpersons : J.F. TIMSIT, O. LORTHOLARY

164 **Il faut traiter**
09:00 S. Alfandari
Réanimation et Maladies Infectieuses, CH de Tourcoing, Tourcoing, France

165 **Il ne faut pas traiter**
09:30 E. Azoulay
Service de Réanimation Médicale, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

42S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	342A	**09:00** **10:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

ACTUALITÉS SUR LES INFECTIONS SÉVÈRES À GRAM+
NEWS ON SEVERE GRAM POSITIVE INFECTIONS
Organisé par NOVARTIS

Présidents/Chairpersons : F. LUCHT, E. SENNEVILLE

09:00 **Introduction**

166 **Bactériémie et matériel infecté**
09:05 E. Senneville
CH de Tourcoing, Tourcoing, France

167 **Point sur le Biofilm**
09:30 F. Laurent
Laboratoire de Bactériologie, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France

168 **Cas clinique**
09:55 F. Roblot
CHU de Poitiers, Poitiers, France

10:20 **Conclusion**

43O	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	342B	**09:00** **10:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

PRÉVENTION DE LA TRANSMISSION AÉRIENNE
PREVENTION OF AIRLINE TRANSPORTATION

Présidents/Chairpersons : J.P. SOLLET, M. WOLFF

Mini-Conférence

169 **Prévention de la transmission aérienne**
09:00 P. Berthelot
Service des Maladies Infectieuses, CHU de Saint-Etienne, France

170 09:15 **Précautions aériennes au cours des tuberculoses (Tb) pulmonaires bacillifères (ED+). Bilan de 7 années de surveillance dans un hôpital universitaire**

S. Diamantis, R. Ruimy, C. Deblangy, S. Belorgey, I. Lolom, E. Bouvet, J.C. Lucet
GH Bichat-Cl. Bernard, Paris, France

171 09:30 **Risque aspergillaire et travaux : que retiennent les soignants de nos formations ? Expérience du CHU Necker Enfants Malades**

I. Le-Guinche[1], P. Husson[1], S. Zornoza[1], I. Alaabouche[1], X. Nassif[2], J.R. Zahar[2-1]
[1]Equipe opérationnelle d'Hygiène Hospitalière [2]Microbiologie-Hygiène hospitalière, APHP, CHU Necker Enfants Malades, Paris, France

172 09:45 **Impact d'un système de traitement d'air sur la contamination aérienne en réanimation médicale**

C. Bonnal[4], M. Maison[4], I. Lolom[4], C. Deblangy[4], M. Pairault[2], W. Guerinot[4], C. Chochillon[1], F. Gosso[3], M. Wolff[2], B. Regnier[2], J.C. Lucet[4]
[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [2]Réanimation Médicale et Infectieuse [3]Service Biomédical [4]Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

173 10:00 **Intérêt de la désinfection des surfaces par voie aérienne dans un secteur protégé d'hématologie**

F. Delfosse[1], E. Ostojski[1], E. Fréal[2], C. Wolf[3], J.P. Jouet[3], B. Grandbastien[1], I. Yakoub-Agha[3], N. Henoun Loukili[1]
[1]Gestion du Risque Infectieux et des Vigilances [2]Parasitologie Mycologie [3]Service d'Hématologie, CHRU, Lille, France

vendredi *Friday* 4 décembre *December* | **09:00 10:30** | SALLE *Room* 343 | SESSION LIBRE *Oral Papers* 44O

MÉTHODOLOGIE EN BACTÉRIOLOGIE
BACTERIOLOGY METHODS

Présidents/Chairpersons : E. CARBONNELLE, C. BEBEAR

174 09:00 **Comparison of ETEST® and Disc Diffusion for anaerobic susceptibility testing**

I. Wybo, K. Vandoorslaer, C. Barquero Godinho, D. Pierard, S. Lauwers
Microbiology and Infection Control, UZ Brussel, Brussels, Belgique

175 09:15 **Détection of CTX-M type ESBLs by testing with MicroScan ESBL confirmation panels**

J. Jorgensen[1], M. Mc Elmeel[1], L. Fulcher[1], B. Zimmer[2]
[1]University of Texas Health Sciences Centre, San Antonio [2]Siemens Healthcare Diagnostics, W. Sacramento, Etats-Unis

176 09:30 **Augmentation de la résistance de *Mycoplasma pneumoniae* aux macrolides en France mise en évidence par une nouvelle technique de PCR en temps réel**

O. Peuchant[2], A. Ménard[1], H. Renaudin[2], M. Morozumi[3], K. Ubukata[3], C. Bébéar[2], S. Pereyre[2]
[1]INSERM U853, Laboratoire de Bactériologie, Université Victor Ségalen Bordeaux 2 [2]Laboratoire de Bactériologie, EA 3671, Université Victor Ségalen Bordeaux 2 et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France [3]Laboratory of Molecular Epidemiology for Infectious Agents, Kitasato Institute for Life Sciences, Kitasato University, Tokyo, Japon

177 09:45 **Dépistage en routine des bêta-lactamases à spectre étendu chez *Pseudomonas aeruginosa* (PA) : la méthode universelle ?**

D. Hocquet, B. Dehecq, X. Bertrand, P. Plésiat
CNR Résistance chez Pseudomonas, CHU, Besançon, France

178 10:00 **Évaluation du milieu de culture SM2i spécifique de *Stenotrophomonas maltophilia* sur des prélèvements broncho-pulmonaires**

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

179 10:15 **Suivi macroépidémiologique des infections a *Clostridium Difficile* par Multilocus Sequence Typing (MLST) : développement et mise en ligne d'une base de données sur le site de l'institut Pasteur**

L. Lemee[4], S. Brisse[1], B. Dupuy[2], F. Barbut[3], E. Bernard[4], C. Tran[1], J.M. Thiberge[1], C. Eckert[3], J.L. Pons[4]

[1]Genotyping of Pathogens and Public Health (PF8) [2]Unité Toxines et Pathogénie Bactérienne, Institut Pasteur [3]EA 2392, Université Pierre et Marie Curie, Paris [4]Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale, GRAM EA2656, Rouen, France

45O	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	351	**09:00 10:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

ACTUALITÉ DANS LE DOMAINE DU VIH

NEWS IN HIV FIELD

Avec le soutien de ABBOTT

Présidents/Chairpersons : C. KATLAMA, J. IZOPET

Mini-Conférence

180 09:00 **Actualités dans le VIH**

C. Katlama

Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Communications libres

181 09:30 **Tuberculose associée au VIH et immigration en France : incidence et facteurs de risque dans les années récentes**

S. Abgrall[5-6-1], P. Del Giudice[3], G. Melica[2], D. Costagliola[5-6-4]

[1]SMIT, Hôpital Avicenne, Bobigny [2]Immunologie clinique, hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil [3]SMIT, CHI Fréjus-Saint Raphaël, Fréjus [4]SMIT, GH Pitié-Salpêtrière, AP-HP [5]U943, INSERM [6]UMR-S 943, UPMC Université Paris VI, Paris, France

182 09:45 **Lower respiratory tract infections (LRTI) in HIV-infected patients : Interest of extensive virological evaluation**

J. Dina[3], M. Pakenham[1], E. Bergot[2], S. Dargere[1], A. Vabret[3], R. Verdon[1]

[1]Department of Infectious Diseases [2]Department of Pneumology [3]Department of Virology, University Hospital of Caen, Caen, France

183 10:00 **Conséquences de la non-observance au Norvir® sur la réponse virologique**

S. Lacassie[1], M.A. Vandenhende[2], S. Pédeboscq[1], P. Mercier[3], I. Louis[2], F. Bonnet[2], P. Morlat[2], J.P. Pometan[1]

[1]Pharmacie [2]Service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses [3]Service de Médecine Interne et Maladies Tropicales, Hôpital Saint-André, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

184 10:15 **Évaluation de la tolérance de l'association Ténofovir/Emtricitabine + Lopinavir/Ritonavir comprimés (Truvada® + Kaletra®) utilisée dans le cadre de la prophylaxie post-exposition au risque de transmission du VIH (TPE)**

W. Tosini[4-6], Y. Quertainmont[5], B. Christian[2], E. Peyrouse[1], G. Benabdelmoumen[6], T. Prazuck[3], P. Muller[2], E. Bouvet[4-6], C. Rabaud[4-2]

[1]Hôpital Sainte Marguerite, Marseille [2]COREVIH Lorraine Champagne Ardenne, CHU, Nancy [3]Centre Hospitalier Régional, Orléans [4]GERES [5]Hôpital Bicêtre [6]Hôpital Bichat Claude-Bernard, Paris, France

46SEP	SESSION EN PARTENARIAT *Joint Session*	SALLE *Room*	352A	**09:00 10:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

NOUVEAUX VACCINS ANTIMÉNINGOCOCCIQUES (ACYW135 ET B)

NEW ANTI-MENINGOCOCCAL VACCINE (ACYW135 ET B)

En partenariat avec le GPIP

Présidents/Chairpersons : J. RAYMOND, R. COHEN

185 09:00 **Les défis épidémiologiques et bactériologiques de la vaccination contre le méningocoque**

M. Taha

Unité Infections Bactériennes Invasives, Centre National de Référence des méningocoques, Institut Pasteur, Paris, France

186 **Mise en place d'une stratégie vaccinale par le vaccin antiméningocoque C conjugué en France**
09:20 D. Floret
Université Claude Bernard Lyon1-Hôpital Femme Mère Enfant, Paris, France

187 **Vaccins conjugués antiméningococciques ACYW135**
09:40 R. Cohen
Service de Microbiologie, ACTIV, Saint-Maur des Fossés, France

188 **Vaccins antiméningococciques du groupe B : état des lieux**
10:00 E. Grimprel
Service de Pédiatrie, Hôpital Trousseau, Paris, France

vendredi *Friday* 4 décembre *December* | **09:00** **10:30** | SALLE *Room* 352B | ATELIERS FMC *Cme Workshop* | 47FMC

ANTIBIOGRAMMES POUR « CEUX QUI CROIENT SAVOIR »
ANTIBIOGRAMS FOR THOSE WHO BELIEVE TO KNOW

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

Intervenants:
M.H Nicolas Chanoine, P. Plésiat, H. Chardon, H. Drugeon, J.D. Cavallo
T. Lambert, P. Weber, C. Quentin, V. Jarlier

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.

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

vendredi *Friday* 4 décembre *December* | **11:00** **12:30** | SALLE *Room* HAVANE | SESSION EN PARTENARIAT *Joint Session* | 48SEP

L'ANTIBIOGRAMME : WHAT ELSE ?
ANTIBIOGRAM: WHAT ELSE?
En partenariat avec le CA SFM

Présidents/Chairpersons : C. QUENTIN, P. COURVALIN

189 **L'harmonisation des concentrations critiques en Europe est-elle possible et suffisante ?**
11:00 P. Tulkens
Représentant de l'International Society of Chemotherapy (ISC) auprès de l'European Committee for Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST), Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

190 **Tests opportuns chez les bactéries opportunistes**
11:20 P. Plésiat
Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques (Pseudomonas aeruginosa), CHU Jean Minjoz, Besançon, France

191 **Quoi de plus chez les Gram +**
11:40 V. Cattoir
Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France

49SEP	SESSION EN PARTENARIAT *Joint Session*	SALLE *Room*	341	**11:00 12:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

LA LÈPRE, UNE MALADIE À ÉRADIQUER…AUSSI EN FRANCE !

THE LEPROSY, A DISEASE TO BE ALSO ERADICATED IN FRANCE

En partenariat avec l'INVS

Présidents/Chairpersons : B. FLAGEUL, S. COLE

192 11:00 **Situation épidémiologique de la lèpre en France métropolitaine et d'outre-mer**

G. La Ruche

Département international et tropical, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

193 11:20 **La Lèpre : Le cas de Mayotte**

G.Y. de Carsalade

DASS Mayotte, France

194 11:40 **Biologie d'aujourd'hui et de demain dans les laboratoires de France**

E. Cambau

Bactériologie, Centre National de référence des mycobactéries et de la résistance aux antibiotiques, Hôpital Saint Louis, Paris, France

195 12:00 **Quel avenir pour la lèpre en France ?**

D. Daumerie

Neglected Tropical Diseases, OMS, Genève, Suisse

50O	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	342A	**11:00 12:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE BACTÉRIEN

MOLECULAR BACTERIAL DIAGNOSIS

Présidents/Chairpersons : M.C. PLOY, S. BONACORSI

196 11:00 **Quantification des *Legionella* viables dans les échantillons d'eau par PCR : développement d'un pré-traitement des bactéries au propidium monoazide (PMA) directement sur la membrane de filtration**

S. Slimani[2], C. Ginevra[2], M. Molmeret[2], E. Dusserre[2], C. Mazure[3], M. Vialette[1], M. Reyrolle[2], J. Etienne[2], S. Jarraud[2]

[1]Institut Pasteur, Lille [2]Centre National de Référence des Légionelles, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon - Université Lyon1, Lyon [3]Bio-Rad, Marnes-La-Coquette, France

197 11:15 **Molecular diagnosis of bone and joint infections (BJIs) : New approach using microarray assay directly on clinical samples**

E. Allais[3-2], S. Boisset[2-1], A.M. Freydiere[2], T. Ferry[5], S. Lustig[4], J. Etienne[2-1], S. Tigaud[3], F. Vandenesch[2-1], F. Laurent[3-1]

[1]INSERM U851, Faculté de Médecine Laënnec [2]Laboratoire de bactériologie, Groupement Hospitalier Est [3]Laboratoire de bactériologie, Groupement Hospitalier Nord [4]Service d'Orthopédie, Groupement Hospitalier Nord [5]Service des Maladies infectieuses, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

198 11:30 **Real-time PCR assay for detection of *Nocardia* directly from human clinical specimens**

H. Salord[1], M. Laurent[1], C. Filipelli[1], M. Pérouse de Montclos[2], V. Rodriguez-Nava[3], C. Roure Sobas[1], P. Boiron[3], S. Tigaud[1], F. Laurent[1]

[1]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon [2]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Sud [3]Observatoire Français des Nocardioses, Laboratoire de mycologie Fondamentale et Appliquée, UMR 5557, ISBPL, Lyon, France

199 11:45 **Développement d'une PCR quantitative en temps réel ciblant le gène *yid*C pour la détection de *Mycoplasma hominis***

C. Férandon[2], O. Peuchant[2-1], C. Janis[2], A. Bénard[1-3], H. Renaudin[1], S. Pereyre[2-1], C. Bébéar[2-1]

[1]CHU de Bordeaux [2]Bactériologie EA 3671 [3]INSERM U897, CIC-EC 7, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France

200 12:00 **Étude de prévalence de portage fécal d'entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) au décours d'une épidémie hospitalière à l'aide du Xpert vanA/vanB sur le système GeneXpert®**

N. Bourdon[1], R. Bérenger[1], R. Lepoultier[1], A. Mouet[3], C. Lesteven[3], F. Borgey[2], M. Fines[1], V. Cattoir[1], R. Leclercq[1]

[1]Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, Laboratoire associé entérocoques et résistances particulières des streptocoques [2]Réseau régional d'hygiène-Antenne régionale de lutte contre les infections nosocomiales de Basse-Normandie [3]Service d'Hygiène hospitalière, CHU Côte de Nacre, Caen, France

201 12:15 **Mise au point et application d'une technique de dépistage par PCR quantitative de *Blastocystis* dans des échantillons de selles**

P. Poirier[1-3], A. Albert[1], I. Wawrzyniak[2], F. Delbac[2], V. Livrelli[1-3]

[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Gabriel Montpied [2]Laboratoire Micro-organismes : Génome et Environnement, UMR CNRS 6023, Université Blaise Pascal [3]JE2526, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

vendredi *Friday* 4 décembre *December* | **11:00 12:30** | SALLE *Room* 342B | SYMPOSIUM *Symposium* | 51S

ANTIVIRAUX ET SYSTÈME NERVEUX CENTRAL
ANTIVIRAL DRUGS AND CENTRAL NERVOUS SYSTEM

Présidents/Chairpersons : Y. YAZDANPANAH, F. CARON

202 11:00 **Antiviraux : que sait-on vraiment de leur pharmacocinétique dans le système nerveux central ?**

B. Diquet

Service de pharmacologie clinique et toxicologie, Université d'Angers, Angers, France

203 11:20 **Antirétroviraux : faut-il privilégier ceux qui franchissent bien la barrière hémato-méningée ?**

L. Piroth

Université de Bourgogne, CHU de Dijon, Dijon, France

204 11:40 **Aciclovir, méningites et méningo-encéphalites à herpesviridae : quels critères d'instauration et d'arrêt, quelles posologies et durées optimales ?**

M. Wolff

Service de Réanimation, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

205 12:00 **Pathogénicité de l'HHV6 ? Quand et comment traiter ?**

H. Agut

ER1 DETIV UPMC, Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

vendredi *Friday* 4 décembre *December* | **11:00 12:30** | SALLE *Room* 343 | SESSION LIBRE *Oral Papers* | 52O

INFECTIONS EN PÉDIATRIE
PAEDIATRIC INFECTIONS

Présidents/Chairpersons : D. GENDREL, R. COHEN

206 11:00 **Diversification des clones de *Pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidose**

L. Vettoretti[2], P. Cholley[3], T. Köhler[4], C. Llanes[2], C. Bailly[1], X. Bertrand[3], P. Plésiat[2-1]

[1]CHU Jean Minjoz - CNR "Résistance bactérienne aux antibiotiques", Laboratoire associé Pseudomonas aeruginosa [2]CHU Jean Minjoz - Laboratoire de Bactériologie [3]CHU Jean Minjoz - Service d'Hygiène Hospitalière, Besançon, France [4]Centre Médical Universitaire, Genève, Suisse

207 **SARM et mucoviscidose : acquisition communautaire ou intra-hospitalière ?**

11:15 J. Gorret[3], C. Beloncle[2], B. Branger[1], E. Deneuville[2], C. Belleguic[4], G. Jouve[3], M. Roussey[2], P.Y. Donnio[3-5]

[1]Réseau Périnatalité, Nantes [2]Département de Médecine de l'Enfant et de l'Adolescent [3]Service de Bactériologie-Virologie et Hygiène Hospitalière [4]Service de Pneumologie, CHU [5]EA1254 Risques Infectieux, Université Rennes 1, Rennes, France

208 **Effets indésirables du vaccin BCG SSI® : suivi d'une cohorte d'enfants pendant 1 an**

11:30 M.A. Dommergues[7-3], F. De La Rocque[6], C. Guy[5], A. Lécuyer[6], A. Jacquet[4], N. Guérin[7], J.P. Fagot[4], M. Boucherat[6], P. d'Athis[2], R. Cohen[1-7]

[1]Bactériologie, CHIC, Créteil [2]Biostatistique, Université de Dijon, Dijon [3]Hôpital de Versailles, Le Chesnay [4]Afssaps, Saint Denis [5]Pharmacovigilance, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne [6]ACTIV [7]Infovac France, Saint-Maur des Fossés, France

209 **Épidémiologie prospective des infections ostéoarticulaires aiguës dans un service de chirurgie orthopédique pédiatrique**

11:45 A. Ferroni[2], Z. Péjin[1], H. Al Khoury Salem[1], E. Bille[2], H. Lecuyer[2], T. Odent[1], C. Cadilhac[1], P. Berche[2], C. Glorion[1]

[1]Chirurgie Orthopédique Pédiatrique [2]Microbiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

210 **Épidémie de gale en pouponnière - Retard de diagnostic et coûts associés à sa maîtrise**

12:00 S. Ducki[1], D. Machecourt[3], P. Hugel[3], G. Noblot[3], L. Deroudille[2]

[1]Unité d'Hygiène - RIPIN, CHU [2]DDASS, Grenoble [3]Foyer Charmeyran, La Tronche, France

53S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	351	**11:00** **12:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

RELATIONS PK/PD POUR TOUS

PK/PD CONNECTION FOR EVERYBODY

Présidents/Chairpersons : F. JEHL, J.P. BEDOS

211 **Impact des BLSE sur la PK/PD des céphalosporines : que pourrait apporter la mesure des CMI ?**

11:00 F. Jehl

Laboratoire de bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

212 **La pharmacodynamie au service des carbapénèmes : la perfusion continue est-elle réellement justifiée ?**

11:20 O. Petitjean

CHU Avicenne, Bobigny, France

213 **Pourquoi les données PK/PD s'appliquent bien aux fluoroquinolones ?**

11:40 P. Chavanet

Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital du Bocage, Dijon, France

214 **Dosages d'anti-infectieux en réanimation, Pour qui, pourquoi comment ?**

12:00 J.F. Timsit

Réanimation médicale polyvalente, Hôpital A. Michallon-Inserm U 823, Grenoble, France

vendredi *Friday*	4	décembre *December*	**11:00** **12:30**	SALLE *Room*	352A	SYMPOSIUM *Symposium*	54S

ACTUALITÉ DU DIAGNOSTIC ÉTIOLOGIQUE DES INFECTIONS RESPIRATOIRES COMMUNAUTAIRES GRAVES

CURRENT EVENTS ON AETIOLOGICAL DIAGNOSIS OF SERIOUS RESPIRATORY TRACT COMMUNITY ACQUIRED INFECTIONS

Présidents/Chairpersons : B. MAITRE, E. AZOULAY

215 **Stratégie diagnostique non invasive**

11:00 A. Kouatchet

CHU d'Angers, Angers, France

216 **Apport du diagnostic microbiologique moléculaire**

11:20 D. Raoult

CH de Marseille, Marseille, France

217 **Alternatives à la fibroscopie et au LBA dans le diagnostic des infections respiratoires communautaire**

11:40 **« quelles stratégies à l'avenir ? »**

A. Rabbat

Service de Pneumologie et Réanimation Médicale, Hôtel-Dieu de Paris, GHU Ouest, AP-HP, Université René Descartes, Paris 5, France

218 **La stratégie clinique : expérience chez le patient immunodéprimé**

12:00 J. Mayaux

CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

vendredi *Friday*	4	décembre *December*	**11:00** **12:30**	SALLE *Room*	352B	ATELIERS FMC *Cme Workshop*	55FMC

INFECTION À VIH : CAS CLINIQUES

HIV INFECTION: CLINICAL CASES

Avec le soutien de ABBOTT

Animateurs/Moderators : C. KATLAMA, S. MATHERON

Panel discussion :
V. Calvez, G. Peytavin, P. Leclercq

Intervenants:

1. Atteinte neurologique et VIH
   A. Moulignier, Fondation Rothschild, Paris
   A. Canestri, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm U 943, Paris
2. Greffe chez un patient VIH
   E. Teicher, Hôpital Paul Brousse, Villejuif
   M.A. Valantin, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm U 943, Paris
   A.M. Taburet, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre
3. Coinfection : hépatites et VIH
   P. Bonnard, Hôpital Tenon, Paris
   K. Lacombe, Hôpital Saint-Antoine, Paris
4. Changer un traitement antirétroviral
   J. Ghosn, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre
   M. Wirden, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris

Objectifs :
Formation post-universitaire

Auditoire :
Médecins spécialisés dans la prise en charge VIH

MÉCANISMES DE RÉSISTANCE DES BACTÉRIES AUX ANTIBIOTIQUES
MECHANISMS OF ANTIBIOTICS BACTERIAL RESISTANCE

Président/Chairperson : T. LAMBERT

219 11:00 **Mécanismes de résistance et synergie des antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa***

K. Jeannot, B. Dehecq, P. Plésiat
Service de Bactériologie, CNR Associé Résistance aux Antibiotiques, Besançon, France

220 11:15 **ISCR20, une nouvelle séquence d'insertion impliquée dans l'acquisition et l'expression d'un gène codant la bêta-lactamase à spectre étendu, TLA-1**

B. Berçot[1-2], L. Poirel[1], J. Silva[3], 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 [3]Departamento de Resistencia Bacteriana, Instituto Nacional de Salud Publica, Centro de Investigaciones Sobre Enfermedades Infecciosas, Cuernavaca, Mexique

221 11:30 **Régulation de l'expression des bêta-lactamases naturelles de *Ralstonia pickettii***

D. Girlich[1], A. Kolb[2], T. Naas[1], P. Nordmann[1]
[1]Bactériologie, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre [2]Unité de Génétique Moléculaire, CNRS URA2172, Institut Pasteur, Paris, France

222 11:45 **A single patient colonized by five distinct imipenem resistant (Ip-R) Gram-negative bacilli producing VIM-1 or KPC-2**

L. Drieux[3], C. Lawrence[2], F. Brossier[3], J. Cremniter[1], B. Heym[1], J.L. Gaillard[1], V. Jarlier[3], W. Sougakoff[3]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt [2]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches [3]Laboratoire de Bactériologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

223 12:00 **Résistance à la pénicilline G des streptocoques animaux : *S. uberis* est-il semblable à *S. pyogenes* ou à *S. pneumoniae* ?**

M. Haenni[1], L. Galofaro[1], M. Ythier[2], P. Majcherczyk[2], M. Giddey[2], P. Moreillon[2], J.Y. Madec[1]
[1]Antibiorésistance et Virulence Bactériennes, AFSSA, Lyon, France [2]Département de Microbiologie Fondamentale, Université de Lausanne, Suisse

224 12:15 **Impact du traitement par linézolide sur les microbiotes intestinal, cutané, oropharyngé et nasal de patients hospitalisés**

G. Defrance[6], N. Bourgeois-Nicolaos[6-1], A. Lefort[2-7], V. Noel[8], E. Senneville[9], B. Fantin[2-7], T.T. Nguyen[5], F. Mentré[5], X. Duval[4], A. Andremont[3-7], F. Doucet-Populaire[6-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béclère, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris-Sud XI, Clamart [2]Médecine Interne, Hôpital Beaujon, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Clichy [3]Laboratoire de Bactériologie, Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard Assistance Publique-Hôpitaux de Paris [4]CIC [5]INSERM EMI E 0357, Groupe Hospitalier Bichat-Claude, Bernard Assistance Publique-Hôpitaux de Paris [6]EA 4065, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes [7]EA 3964, Université Paris 7, Paris [8]Médecine interne, CHU Robert Debré, Reims [9]Maladies infectieuses et du Voyageur, CH Dron, Tourcoing, France

DES ß-LACTAMASES DE SPECTRE TOUJOURS PLUS ÉTENDUS
AN ALWAYS MORE EXTENDED SPECTRUM BETA-LACTAMASES

Présidents/Chairpersons : P. NORDMANN, G. ARLET

225 ***Klebsiella pneumoniae*** **et carbapénèmases**
14:00 P. Nordmann
Département de Bactériologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

226 ***Pseudomonas aeruginosa*****, BLSE et carbapénèmases**
14:20 V. Dubois
UMR 5234, CNRS, Université de Bordeaux 2, France

227 ***Acinetobacter baumannii*** **et ses carbapénèmases**
14:40 Y. Glupczynski
Laboratoire de bactériologie, Cliniques Universitaires UCL de Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

ACTUALITÉS DANS LE SEPSIS
CURRENT EVENTS ON SEPSIS

Présidents/Chairpersons : G. LINA, J.F. TIMSIT

228 **Epidémiologie des états septiques graves**
14:00 C. Brun-Buisson
Service de Réanimation Médicale, CHU Henri Mondor, Créteil, France

229 **Réponse inflammatoire et anti-inflammatoire de l'hôte dans le sepsis**
14:20 M. Adib-Conquy
Unité Cytokines et Inflammation, Institut Pasteur, Paris, France

230 **Altération du système immunitaire au cours du sepsis**
14:40 G. Monneret
Laboratoire d'Immunologie, Hôpital E. Herriot - Hospices Civils de Lyon, France

231 **Des nouveaux outils de diagnostic rapide dans le sepsis**
15:00 R. Courcol
CHU de Lille, France

ÉVOLUTION BACTÉRIENNE ET VIRALE ET MIGRATION DES POPULATIONS
BACTERIAL/VIRAL EVOLUTION AND IGRATION OF THE POPULATIONS

Présidents/Chairpersons : S. ALAIN, F. DENIS

232 **Les virus de l'immunodéficience humaine (VIH): évolution et migration des populations**
14:00 F. Barin
CNR VIH, Laboratoire de Virologie, CHU Bretonneau, UMR Inserm 966, Université François Rabelais, Tours, France

233 **Génomique et l'origine de la lèpre**
14:20 S. Cole
Global Health Institute, EPFL, Lausanne, Suisse

234 ***Helicobacter pylori*, un marqueur des grandes migrations humaines**
14:40 J. Raymond[1-2], S. Breurec[3], H. de Reuse[2], C. Dauga[2]
[1]Bactériologie, Hôpital Cochin [2]Paris, France [3]Institut Pasteur, Dakar, Sénégal

235 **Virus de l'hépatite delta**
15:00 P. Dény
INSERM, Paris, France

60S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	342A	**14:00 15:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

ACTUALITÉS SUR LES INFECTIONS BACTÉRIENNES SEXUELLEMENT TRANSMISSIBLES
CURRENT EVENTS ON SEXUALLY TRANSMITTED BACTERIAL INFECTIONS

Présidents/Chairpersons : C. BEBEAR, E. CAUMES

236 **Épidémiologie des infections sexuellement transmissibles bactériennes en France en 2009**
14:00 A. Gallay[4], A. Bouyssou-Michel[4], V. Goulet[4], B. de Barbeyrac[1], B. Basselier[4], E. Laurent[4], A. Bianchi[3], P. Sednaoui[2], C. Semaille[4]
[1]Centre National de Référence des infections à Chlamydiae, Université Victor Segalen, Bordeaux [2]Centre National de Référence des infections à gonocoques, Institut Alfred Fournier, Paris [3]Centre National de Référence de la syphilis, Saint Denis [4]Unité VIH-IST-Hépatite B et C, Département des maladies infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

237 **Chlamydia et mycoplasmes en pathologie urogénitale : données actuelles**
14:20 C. Bébéar, B. de Barbeyrac
Laboratoire de Bactériologie EA 3671, Infections humaines à mycoplasmes et à chlamydiae, CNR des infections à chlamydiae, Université Victor Segalen Bordeaux 2, France

238 **Gonocoque : quelle peut être la place des méthodes d'amplification génique ? Evolution de la résistance aux antibiotiques.**
14:40 P. Sednaoui
CNR des gonocoques, Institut Alfred Fournier, Paris, France

239 **Syphilis : diagnostic et prise en charge en 2009**
15:00 N. Dupin
Service de Dermatologie et CIDDIST, Hôpital Cochin, APHP, UPRES EA 1833, Université René Descartes, Paris, France

61O	SESSION LIBRE *Oral Papers*	SALLE *Room*	342B	**14:00 15:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

NOUVELLES ASSOCIATIONS DE MOLÉCULES ANTIBACTIÉRIENNES
NEW ASSOSCIATIONS OF ANTIBACTERIAL PRODUCTS

Présidents/Chairpersons : H. DRUGEON, L. RASKINE

240 **Évaluation de l'activité antibactérienne de l'association AZT-gentamicine**
14:00 A. Doléans-Jordheim[1], E. Bergeron[1], F. Bereyziat[1], O. Dumitrescu[3], J. André[1], F. Morfin[4], C. Dumontet[2], L.P. Jordheim[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Faculté de Pharmacie, ISPB, UCBL [2]INSERM 590, UCBL [3]INSERM U851 & Centre National de Références des Staphylocoques, UCBL [4]Laboratoire de Virologie et Pathogénèse humaine, FRE 3011, CNRS, UCBL, Lyon, France

241 14:15 ***In Vitro* Assessment Using Time-kill Curves of CXA-101 (CXA)/Tazobactam (TAZ), against *Escherichia Coli* (EC), Klebsiella pneumoniae (KP), and Pseudomonas aeruginosa (PA) Strains**

C. Jacqueline[2], C. Desessard[2], V. Le Mabecque[2], A.F. Miegeville[2], Y. Ge[1], G. Potel[2], J. Caillon[2]

[1]Calixa Therapeutics Inc., San Diego, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

242 14:30 **Souches productrices d'IRT et de CMT: l'association pipéracilline tazobactam est-elle toujours bactéricide?**

M. Krebs[2-1], F. Robin[2-1], J. Delmas[2-1], D. Dubois[2-1], R. Bonnet[2-1]

[1]Laboratoire de Bactériologie Clinique, CHU Clermont-Ferrand [2]Laboratoire de Bactériologie Clinique, Université d'Auvergne, JE2526, USC INRA2018, Clermont-Ferrand, France

243 14:45 **Activité bactéricide de la Colistine, de la Tigecycline et de leur association vis-à-vis de Bacilles à Gram Négatif fermentant et non fermentant**

H.B. Drugeon[2], A. Michaud-Nerard[1]

[1]Drug R&D, Angers Technopole, Beaucouzé [2]Faculté de Médecine, Nantes, France

244 15:00 **Évaluation de l'activité intracellulaire d'antibiotiques seuls et en association sur *Legionella pneumophila* par PCR quantitative, sur la lignée cellulaire U-937**

G. Descours, C. Ginevra, F. Forey, M. Molmeret, S. Jarraud, J. Etienne

Centre National de Référence des légionelles, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon – Université Lyon1, Lyon, France

vendredi *Friday* 4 décembre *December* | **14:00 15:30** | SALLE *Room* 351 | SESSION EN PARTENARIAT *Joint Session* | 62 SEP

INFLAMMATION CHRONIQUE ET SES CONSÉQUENCES LORS DE L'INFECTION À VIH

CHRONIC INFLAMMATION AND ITS CONSEQUENCES DURING HIV INFECTION

En partenariat avec l'ANRS

Présidents/Chairpersons : J.F. DELFRAISSY, C. KATLAMA

245 14:00 **Inflammation et VIH**

B. Autran

Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm U945, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

246 14:20 **Vieillissement et VIH**

J. Capeau

Inserm CDR Saint-Antoine U938, UPMC UMR_S938, Hôpital Tenon APHP, Paris, France

247 14:40 **VIH et SNC**

J. Gasnault

USR Médecine Interne, Hôpital du Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, France

248 15:00 **Inflammation and immune aging in HIV infection**

V. Appay

Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm U945, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

63S	SYMPOSIUM *Symposium*	SALLE *Room*	352A	**14:00 15:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

LA RÉSISTANCE CHEZ LES CHAMPIGNONS EXISTE-T-ELLE?
DOES THE RESISTANCE TO MUSHROOMS EXIST?

Présidents/Chairpersons : S. BRETAGNE, O. LORTHOLARY

249 **Méthodes d'étude de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques : what else ?**
14:00 A.L. Bienvenu, S. Picot
Service Paludisme et Mycologie Médicale, Hospices Civils de Lyon, France

250 **Résistance des levures aux azolés : état des lieux**
14:20 M.E. Bougnoux
Laboratoire de parasitologie et mycologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

251 **La résistance des levures aux échinocandines existe-t-elle ?**
14:40 E. Dannaoui
Unité de Mycologie Moléculaire, Institut Pasteur, Paris, France

252 **Résistance des Aspergillus aux azolés : mythe ou réalité ?**
15:00 S. Bretagne
Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

64FMC	ATELIERS FMC *Cme Workshop*	SALLE *Room*	352B	**14:00 15:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

INFECTIONS DU PIED DIABÉTIQUE
INFECTIONS OF THE DIABETIC FOOT

Animateurs/Moderators : A. HARTEMANN, J.P. LAVIGNE, E. SENNEVILLE

Objectifs :
- modalités des prélèvements microbiologiques
- rationnel pour l'emploi des antibiotiques dans les infections du pied diabétique y compris les ostéites
- controverse : traitement médical ou chirurgical pour les ostéites du pied diabétique ?

Auditoire :
Médecins et biologistes ayant une expérience dans le domaine des infections ostéo-articulaires

SESSIONS D'AFFICHES
POSTER SESSIONS

Jeudi 3 décembre
Thursday December 3

RICAI

Jeudi 3 décembre
Thursday December 3

Heure	Réf	Session	Salle
09:00-18:00	65A	BON USAGE DES ANTIBIOTIQUES	HALL BORDEAUX
09:00-18:00	66A	HELICOBACTER - CAMPYLOBACTER	HALL BORDEAUX
09:00-18:00	67A	DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE BACTÉRIEN	HALL BORDEAUX
09:00-18:00	68A	STREPTOCOQUES	HALL BORDEAUX
09:00-18:00	69A	DIVERS	HALL BORDEAUX
09:00-18:00	70A	MYCOLOGIE	HALL BORDEAUX
09:00-18:00	71A	PHARMACO-THÉRAPEUTIQUE	HALL BORDEAUX
09:00-18:00	72A	STAPHYLOCOQUE ET ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA RÉSISTANCE DES BACTÉRIES GRAM POSITIF	HALL BORDEAUX
09:00-18:00	73A	ACTIVITÉ ANTI-BACTÉRIENNE ET MÉCANISME DE RÉSISTANCE	HALL BORDEAUX
09:00-18:00	74A	TECHNIQUES MICROBIOLOGIQUES	HALL BORDEAUX
09:00-18:00	75A	VIROLOGIE 1	HALL BORDEAUX

BON USAGE DES ANTIBIOTIQUES
RULES FOR ANTIBIOTIC PRESCRIPTION

253 Pratiques de prescription des antifongiques systémiques : enquête un jour donné à l'hôpital Saint-Louis

C. Jansen[3], M. Lafaurie[4], E. Raffoux[2], P. Ribaud[1], S. Touratier[3]

[1]Greffe de Moelle [2]Hématologie Adultes [3]Pharmacie [4]Référent anti-infectieux, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

254 Pratiques de la prescription des antibiotiques

A. Akpabie[6-7], H. Naga[3], A. Droulers[2], K. Giraud[4], J. Verdavainne[1], E. Etienne[1], C. Duche[5], L. Lakroun[3], J.C. Delacour[1], V. Routon[1], T. Haine[4]

[1]Gérontologie 1 [2]Gérontologie 2 [3]Gérontologie 3 [4]Gérontologie 4 [5]Laboratoire [6]Microbiologie [7]UHLIN, Hôpital Emile Roux, Limeil-Brévannes, France

255 La prescription antibiotique à l'hôpital : connaissances, opinions et perception des médecins

J.C. Lucet[2], M.H. Nicolas-Chanoine[1], C. Roy[2], O. Riveros[2], S. Diamantis[2], J. Le Grand[1], E. Papy[2], A. Lefort[1], B. Fantin[1], C. Rioux[2], P. Ravaud[2]

[1]Hôpital Beaujon, Clichy [2]GH Bichat Claude Bernard, Paris, France

256 Référent en antibiotiques et politique de bon usage : état des lieux dans 258 établissements de santé du Sud-Ouest de la France en 2008

C. Dumartin[2-1], M. Péfau[1], B. Amadeo[2], A.G. Venier[2-1], P. Parneix[2-1], A.M. Rogues[2-1]

[1]CCLIN Sud-Ouest [2]INSERM U657, Université Bordeaux 2, Bordeaux, France

257 Évaluation de la prescription antibiotique dans un centre hospitalier universitaire français

X. Bertrand[2], I. Patry[1], C. Slekovec[2], M. Thouverez[2], E. Curlier[3], J. Leroy[3]

[1]Bactériologie [2]Hygiène hospitalière, CHU Besançon [3]Maladies Infectieuses, CHU de Besançon, Besançon, France

258 Analyse de la prescription des antibiotiques dans deux CHU de l'Est algérien

A. Trima[1], F. Bousaha[2], F. Belhani[2], A. Aouati[3], M. Laouar[1]

[1]Maladies infectieuses [2]Pharmacie centrale, Annaba [3]Maladies infectieuses, CHU, Constantine, Algérie

259 Pertinence et réévaluation de l'antibiothérapie à l'hôpital Louis Mourier

V. Fihman[3], V. Manceron[2], A. Courpon[3], G. Barnaud[3], B. Mesples[4], F. Bertrand[5], F. Benselama[1], L. Salomon[6], C. Branger[3], et les Membres de la Comission des Anti-Infectieux[3]

[1]Gérontologie [2]Médecine Interne [3]Microbiologie [4]Pédiatrie [5]Réanimation Médico-Chirurgicale [6]Santé Publique, CHU Louis Mourier, APHP, Colombes, France

260 Qualité des prescriptions antibiotiques (fluoroquinolones, aminosides et amoxicilline-acide clavulanique) ; évaluation dans les secteurs de médecine d'un CHRU

S. Mechkour[2], A. Vinat[2], M. Yilmaz[1], K. Faure[3], B. Grandbastien[2]

[1]Pharmacie centrale [2]Service de gestion du risque infectieux et des vigilances [3]Service des maladies infectieuses, CHRU, Lille, France

261 Analyse de la prescription des antibiotiques en médecine interne : bilan sur 5 ans d'audits

A. Le Bris[3], C. Billon[3], A. Greder-Belan[2], B. Pangon[1], A. Therby[2], F. Samdjee[3]

[1]Bactériologie [2]Médecine Interne [3]Pharmacie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

262 **Surveillance des consommations d'antibiotiques (CAB) dans un centre régional de lutte contre le cancer (CRLCC) sur une période de 4 ans**

M. Dupon[1-2], C. Donamaria[2], F. Chomy[2], A. Laschéras-Bauduin[2], F. Dauchy[1], C. Cazanave[1]

[1]CHU Pellegrin [2]Institut Bergognié, Bordeaux, France

263 **Incidence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes aux antibiotiques (SARM et SASM) dans 43 Centres Hospitaliers et corrélation avec la consommation antibiotique**

A.V. Apery[3], P.Y. Donnio[3-4-1], A. Gaschet[3-4], A. Le Coustumier[2], Col BVH[1]

[1]Collège de Bactériologie-Virologie-Hygiène des Hôpitaux de France [2]Laboratoire de Biologie, CH, Cahors [3]Service de Bactériologie-Virologie et Hygiène Hospitalière, CHU [4]EA124 Risques Infectieux, Université Rennes1, Rennes, France

264 **Utilisation des antibiotiques par secteur d'activité clinique dans 357 établissements de santé : données 2007 du réseau de surveillance inter-CCLIN**

C. Dumartin[2-1], F. L'hériteau[5], M. Péfau[1], X. Bertrand[4], S. Boussat[4], P. Jarno[6], P. Angora[6], L. Lacavé[5], K. Saby[4], A. Savey[3], F. Nguyen[3], A. Carbonne[5], A.M. Rogues[2-1]

[1]CCLIN Sud-Ouest [2]Unité INSERM 657, Université Bordeaux 2, Bordeaux [3]CCLIN Sud-Est, Lyon [4]CCLIN Est, Nancy [5]CCLIN Paris-Nord, Paris [6]CCLIN Ouest, Rennes, France

66A | AFFICHE *Poster* | **HALL BORDEAUX** | **09:00 18:00** | jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

HELICOBACTER - CAMPYLOBACTER
HELICOBACTER - CAMPYLOBACTER

265 **Culture d'*helicobacter pylori* : étude rétrospective de 2004 à 2009**

S. Trombert-Paolantoni, P. Figarella, L. Maury

Microbiologie, Laboratoire Cerba, Cergy Pontoise, France

266 **Évaluation de 3 tests de diagnostic rapide de *Campylobacter jejuni* et *C. coli* à partir d'échantillons fécaux**

L. Keller, S. Cohen-Bacrie, C. Valmary, M.F. Prère

Laboratoire de Bacteriologie - Unité de Pédiatrie, CHU de Toulouse, Toulouse, France

267 **Performance of GenoType® HelicoDR, a novel molecular assay for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens and the determination of clarithromycin and fluoroquinolone resistance**

C. Roure Sobas[2], M. Pérouse de Montclos[1], O. Raulin[2], L. Boulet[2], A. Baudouin[2], H. Salord[2], J.P. Rasigade[2], F. Laurent[2], S. Tigaud[2]

[1]Bactériologie, Groupe Hospitalier Sud [2]Bactériologie, Hôpital Croix Rousse, Lyon, France

268 **Séquencage du génome de deux souches de *Helicobacter pylori* à l'aide de la technologie Roche FLX Titanium : nouvelles données sur la diversité génétique et la virulence de cette bactérie**

P. Lehours[2-1-3], A. Anderson[4-3], M. Bjursell[5], R. Advani[3], O. Melefors[3], S. Glavas[3], F. Mégraud[2-1], L. Engstrand[3-4]

[1]Centre National de Référence des Campylobacters et des Helicobacters, CHU Pellegrin [2]Laboratoire de Bactériologie, INSERM U853, Université Victor Ségalen Bordeaux 2, Bordeaux, France [3]Swedish Institute for Infectious Disease Control, Solna [4]Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institute [5]KTH Royal Institute of Technology, Stockholm, Suède

269 **Evaluation of reverse hybridisation strip for the detection of *Helicobater pylori* and of the mutations associated with fluoroquinolones and macrolides resistance**

P. Bogaerts, W. Bouchahrouf, H. Nizet, Y. Glupczynski

Service de Bactériologie, Cliniques Universitaires UCL de Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

270 **Polycolonization and distribution of virulence factors of *Helicobacter pylori* among Tunisian subjects**

K. Ben Mansour[5], C. Burucoa[1], M. Zribi[5], A. Masmoudi[5], M. Labbène[3], A. Meherzi[8], A. Filali[6], N. Ben Memi[7], T. Najjar[4], T. Sfar[2], C. Fendri[5]

[1]EA,3807 Diversité génétique et antigénique, Hp, Pôle Biologique et Santé, Poitiers, France [2]Pédiatrie, Hôpital Tahar Sfar, Mahdia [3]Unité de gastroentérologie, Hôpital Menzel Bourguiba, Menzel Bourguiba [4]Unité de gastroentérologie, Hôpital Charles Nicolle [5]Laboratoire de Microbiologie [6]Unité de gastroentérologie A [7]Unité de gastroentérologie B, Hôpital la Rabta [8]Pédiatrie, Hôpital Mongi Slim, Tunis, Tunisie

271 **Détection rapide par culture de *Streptococcus agalactiae* dans les prélèvements vaginaux sur un nouveau milieu chromogène : CHROMagar StrepB**

J. Charron, E. Demondion, P. Laudat

Microbiologie, Laboratoire Arnaud, Tours, France

jeudi *Thursday* 3 décembre *December* | **09:00 18:00** | **HALL BORDEAUX** | AFFICHE *Poster* | 67 A

DIAGNOSTIC MOLÉCULAIRE BACTÉRIEN
BACTERIAL MOLECULAR DIAGNOSIS

272 **Intérêt de la mise en place de la recherche des gènes *Van A* et *Van B* par technique de PCR en temps réel en système clos (Xpert *Van A/Van B* Cepheid®) dans un laboratoire de microbiologie dans le cadre de la gestion d'une épidémie à *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine (EfRV)**

S. Dekeyser[1], E. Beclin[3], D. Descamps[1-2]

[1]CH Béthune, Laboratoire [2]CH Béthune, Présidente du Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales [3]CH Béthune, Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales, Béthune, France

273 **Intérêt de la PCR en temps réel GeneXpert (Cepheid) dans la gestion d'une épidémie à ERV**

L. Cavalié[1], D. Clavé[1], M.F. Prère[1], S. Malavaud[4], M. Metais[4], J.M. Conil[2], N. Kamar[3], L. Lavayssiere[3], L. Rostaing[3], N. Marty[1]

[1]Bactériologie-Hygiène [2]CLIN [3]Néphrologie-Transplantation [4]UOH, CHU, Toulouse, France

274 **Utilisation du système GenXpert® pour la détection de *Staphylococcus aureus* (SA) et des SA résistants à la méticilline (SARM) dans des prélèvements cliniques**

F. Garnier[2], O. Barraud[2], D. Chainier[2], S. Blot[2], J. Vignaud[2], C. Duchiron[1], B. François[1], F. Denis[2], M.C. Ploy[2]

[1]Centre d'Investigation Clinique [2]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

275 **Utilisation du kit Xpert MRSA/SA BC® sur des hémocultures positives à cocci à Gram positif en amas : nécessité d'une dilution au 1/1 000 ?**

F. Garnier, O. Barraud, N. Hidri, C. Martin, F. Denis, M.C. Ploy

Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

276 **Evaluation of the new ATB STAPH EU (08) devices for oxacillin resistance detection in *Staphylococci***

V. Vernet-Garnier[2], J. Madoux[2], O. Bajolet[2], T. Guillard[2], C. De Champs[2], L. Bridon[1], E. Pillon[1], R. Martelin[1], G. Zambardi[1]

[1]Biomérieux, La Balme Les Grottes [2]Laboratoire de Bactériologie, CHU Robert Debré, UFR Médecine, Reims, France

277 **Évaluation du kit Génotype® BC (BIOCENTRIC) pour le diagnostic moléculaire des endophtalmies post-opératoires**

M. Chartres[3], Y. Benito[1], H. Meugnier[1], S. Boisset[1], P.L. Cornut[2], F. Vandenesch[1]

[1]Bactériologie, Centre de Biologie Est [2]Service d'Ophtalmologie, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon [3]IUT, Département de Génie Biologique, Université Claude Bernard, Lyon I, Lyon, France

278 **Deletion of resistance genes amongst clonal populations of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* : A pitfall for microbiological testing?**

D. Dupont, C. Doit, P. Mariani-Kurkdjian, P. Bidet, S. Bonacorsi, E. Bingen
Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

279 **Identification d'antigènes protéiques pour le sérodiagnostic d'infections sur prothèses articulaires à *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis***

H. Nuyttens[1], D. Thomas[1], J. Rogé[1], N. Desplaces[2], C. Cyncynatus[1]
[1]InGen Biosciences, Chilly Mazarin [2]Hôpital de la Croix Saint-Simon, Paris, France

280 **Développement d'une méthode de PCR Multiplex pour la détection des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE), des céphalosporinases plasmidiques, et des carbapénémases**

C. Dallenne, A. Da Costa, D. Decré, C. Favier, G. Arlet
Bactériologie, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

281 **Importance de la PCR dans la gestion d'une épidémie à *Mycoplasma pneumoniae* au CH de Béthune (Pas-de-Calais)**

S. Dekeyser[1], C. Bonnel[2], A. Martinet[2], D. Descamps[1]
[1]CH Béthune, Laboratoire [2]CH Béthune, Service de Pédiatrie, Béthune, France

282 **Comparaison de différentes PCR en temps réel pour l'identification de *Neisseria meningitidis***

F. Garnier[1], P. Lanotte[3], C. Burucoa[2], M.C. Ploy[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges [2]Laboratoire de Bactériologie, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, Poitiers [3]Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Bretonneau - Centre Hospitalier Universitaire de Tours, Tours, France

283 **Multiplex PCR for fast and easy o Serogroup determination in Stec in Hus patients**

P. Mariani-Kurkdjian[2-1], S. Ait-Ifrane[1], P. Bidet[2], C. Courroux[2], S. Bonacorsi[1-2], E. Bingen[2-1]
[1]Centre National de Référence E. coli [2]Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

284 **Mise en place d'un étalon primaire d'ADN pour la détection de *Legionella* par PCR quantitative dans les prélèvements environnementaux**

M. Baume[3], L. Garrelly[5], P. Guarini[2], H. Host[2], H. Frenkiel[4], S. Bouton[1], C. Yardin[6], M. Reyrolle[3], S. Jarraud[3]
[1]Pall-GeneSystems, Bruz [2]AGLAE, Lille [3]Centre National de Référence des légionelles - Centre de Biologie Est - Hospices civils de Lyon - Université Lyon 1, Lyon [4]Bio-Rad, Marnes-La-Coquette [5]GL Biocontrol, Parc Scientifique et technique Georges Besse, Nimes [6]LNE, Paris, France

285 **Évaluation bi-centrique du système Xpert® *C.difficile* (Cepheid) pour le diagnostic des infections à *Clostridium difficile (ICD)***

V. Lalande[3-2], C. Eckert[2], H. Huang[4], A. Weintraub[4], J.P. Canonne[1], C.E. Nord[4], D. Chassaing[2], F. Barbut[3-2]
[1]Service de Microbiologie, Hôpital de Lens, Lens [2]Laboratoire Clostridium difficile associé, CNR des bactéries anaérobies et du botulisme [3]Service de Microbiologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France [4]Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institute, Stockholm, Suède

286 **Comparaison d'une méthode semi-automatisée de rep-PCR avec le PCR-ribotypage pour la caractérisation des souches de *Clostridium difficile***

C. Eckert[3-2], J. Van Broeck[1], P. Spigaglia[4], B. Burghoffer[3], M. Delmée[1], P. Mastrantonio[4], F. Barbut[3-2]
[1]Unité de microbiologie, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique [2]Laboratoire associé C. difficile, Hôpital Saint-Antoine, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris [3]UPRES n°EA2392, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France [4]Department of Infectious, Parasitic and Immune-mediated Diseases, Instituto Superiore di Sanità, Rome, Italie

287 **Génotypage des souches de *Clostridium difficile* par MLVA**

F. Vromman[4], C. Eckert[4-3], A. Halkovich[4], D. Trivier[1], F. Barbut[3-2]

[1]Hygiène hospitalière, CH Lens, Lens [2]UHLIN, Hôpital Saint Antoine [3]Laboratoire Clostridium difficile associé au Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme, Hôpital Saint-Antoine [4]UPRES n°EA2392, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

288 **Comparaison des performances du test PCR Xpert *C. difficile*, du test immuno-enzymatique Immuno*Card* et de la culture pour la détection de *C. difficile* dans les selles**

Z. Ould Hocine, N. Launay, F. Maillebuau, J.M. Le Glaunec, L. Deforges, P. Legrand

Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Henri Mondor, Créteil, France

289 **Hétérogénéité intraspécifique et intragénomique du gène de l'ARN ribosomal 16S chez des souches bactériennes isolées des voies respiratoires de patients atteints de mucoviscidose**

A.L. Michon[3], A. Imbert[3], H. Marchandin[3-2], L. Aleyrangues[2], R. Chiron[1], F. Counil[1], E. Jumas-Bilak[3]

[1]Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose (CRCM) [2]Laboratoire de Bactériologie, CHU [3]EA 3755 - Laboratoire de Bactériologie-virologie, UFR de pharmacie, Montpellier, France

290 **Biological diagnosis of *Bordetella* species by Real-Time PCR**

A. Zouari[2], H. Smaoui[2], E. Njamkepo[1], N. Guiso[1], A. Kechrid[2]

[1]Unité des Bordetella, Institut Pasteur, Paris, France [2]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunis, Tunisie

291 **Développement d'un test de détection rapide de *Legionella pneumophila* à l'échelle du sérogroupe dans l'eau**

N. Merault[3-1], C. Rusniok[3], S. Jarraud[2], E. Brachet[3], M. Marin[3], C. Cazalet[3], L. Gomez-Valero[3], J.L. Gaillard[1], J.L. Herrmann[1], J. Etienne[2], C. Lawrence[1], C. Buchrieser[3]

[1]Laboratoire de Microbiologie EA 3647, APHP, CHU R. Poincaré, Garches [2]Centre National des Légionelles, INSERM U851, Faculte de médecine, IFR128, Lyon [3]Biologie des bactéries intracellulaires, CNRS URA 2171, Institut Pasteur, Paris, France

292 **Dépistage préopératoire du SARM en CCV par RT PCR, évaluation sur 8 mois des infections à SARM**

J.L. Galinier

Microbiologie, Clinique Pasteur, Toulouse, France

jeudi *Thursday* 3 décembre *December* | **09:00 18:00** | **HALL BORDEAUX** | AFFICHE *Poster* | 68A

STREPTOCOQUES
STREPTOCOCCI

293 **Comparison of the Diversilab System and multi-locus sequence typing for the characterization of invasive strains of *Streptococcus agalactiae***

M. Alnakib[2-1], M. Longo[2-1], A. Tazi[2-1], N. Dmytruk[2-1], A. Billoët[2-1], J. Raymond[2], P. Trieu-Cuot[1-3], C. Poyart[2-1-3]

[1]Centre national de référence des Streptocoques [2]Service de Bactériologie, Hôpital Cochin, APHP, Université Paris Descartes [3]Institut Pasteur, Paris, France

294 **Évaluation préliminaire du test ATB® Norfloxacine chez *Streptococcus pneumoniae***

M. Chomarat[2], R. Martelin[1], F. Breysse[2], M.T. Albertini[1], G. Zambardi[1]

[1]Biomérieux, La-Balme-Les-Grottes [2]Bactériologie, CHU Lyon-Sud, Pierre-Bénite, France

295 **Évaluation de la formation du biofilm chez *Streptococcus agalactiae* par la méthode du BioFilm *Ring Test*®**

L. Mereghetti[1-2], M. André[1], G. Baty[1], P. Lanotte[1-2], V. Morange[1], A. Goudeau[1]

[1]Laboratoire de Bactériologie, CHU de Tours [2]EA 3854, Bactéries et risque materno-foetal, Université François Rabelais de Tours, Tours, France

296 ***Helicobacter pylori*** **IgG - Évaluation comparative de vingt neuf dispositifs médicaux de diagnostic *In Vitro* disponibles en France en 2008**

N. Charlier-Bret[5], B. Boucher[5], M. Duran Cordobes[5], M. Fromage[5], F. Poisson[5], T.D. Ly[3], C.J. Soussy[2], F. Zerbib[1], A. Courillon Mallet[4], J.D. De Korwin[4], J.L. Fauchère[4], F. Mégraud[4], J. Raymond[4], J.C. Delchier[4]

[1]Hépatogastroentérologie, Hôpital Saint André, Bordeaux [2]Bactériologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil [3]Laboratoire Biomnis, Ivry-sur-Seine [4]Groupe d'étude français des Helicobacter (GEFH), Paris [5]Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS/DEDIM), Saint Denis, France

297 ***Enterococcus faecium*** **résistant à l'ampicilline au CHU Mustapha Bacha d'Alger**

F. Djennane, H. Ziane, H. Tachet, S. Ouzani, R. Khelifa, M. Neggazi, N. Ramdani-Bougessa, M. Tazir

Microbiologie médicale, CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie

298 **Activité *in vitro* des antibiotiques vis-à-vis des souches de *Streptococcus pneumoniae* (SP) isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine en 2008/2009 : analyses globale et régionale**

H.B. Drugeon[2], A. Michaud-Nerard[1]

[1]Drug R&D, Angers Technopole, Beaucouzé [2]Faculté de Médecine, Nantes, France

69A AFFICHE *Poster* **HALL BORDEAUX** **09:00 18:00** jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

DIVERS
MISCELLANEOUS

299 **Les Isolats pathogènes opportunistes d'*Agrobacterium radiobacter/Agrobacterium tumefaciens* forment une sous-population distincte des isolats environnementaux**

F. Aujoulat[3], F. Salle[3], C. Teyssier[3], D. Faure[1], C. Segonds[4], A. Masnou[3], H. Marchandin[3-2], E. Jumas-Bilak[3]

[1]ISV-CNRS, Gif-Sur-Yvette [2]Laboratoire de Bactériologie, CHRU de Montpellier [3]EA3755-DIBOP – Université Montpellier 1, Montpellier [4]Laboratoire de Bactériologie, CHU de Toulouse, Toulouse, France

300 **Comparaison des profils antigéniques de quatre *immunoblots* commercialisés pour la confirmation sérologique de la borréliose de Lyme**

K. Barrial[1], C. Roure Sobas[1], O. Raulin[1], A. Carricajo[2], H. Salord[1], F. Laurent[1], S. Tigaud[1]

[1]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

301 **Clonalité et profil de virulence des souches d'*Escherichia coli* responsables d'infections invasives chez le cirrhotique**

B. Ouattara[2], F. Bert[2], J.R. Johnson[1], E. Marcon[2], M.H. Nicolas-Chanoine[2]

[1]Minneapolis VA Medical Center, Minneapolis, Etats-Unis [2]Microbiologie, Hôpital Beaujon, Clichy, France

302 **Distribution of Subtilase cytotoxin among clinical verocytotoxin-producing *Escherichia coli* isolates**

G. Buvens, D. Pierard, S. Lauwers

Department of Microbiology, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels, Belgique

303 **Production d'une génotoxine, la Colibactine, par des isolats cliniques de *Citrobacter koseri***

O. Baron[3-4-5], J.P. Nougayrede[4], U. Dobrindt[1], L. Armand-Lefèvre[2], M.F. Prère[3-5], A. Andremont[2], N. Marty[3-5], E. Oswald[3-4-5]

[1]Institut für Molekulare Infektionsbiologie, Universität Würzburg, Würzburg, Allemagne [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris [3]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU de Toulouse [4]INRA, UMR1225, F-31076 Toulouse, Université de Toulouse, ENVT, UMR1225, F-31076 Toulouse [5]Université Paul Sabatier, Toulouse, France

MYCOLOGIE
MYCOLOGY

304 Epidemiology and molecular typing of *Candida* spp in Morocco
K. Sdoudi[3], N. Chaib[2], M. Hassar[3], D. Diogo[1], C. D'enfert[1], M.E. Bougnoux[1], A. Razki[3]
[1]Unité Biologie et Pathogénicité Fongiques, Institut Pasteur, Paris, France [2]Mycologie, Faculté des Sciences Ben M'Sik [3]Pathologie Fongique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

305 Émergence de candidémies à *Candida parapsilosis* à l'hôpital Cochin. Recherche de facteurs de risque et caractérisation des isolats
C. Champagnac, M.T. Baixench, J. Dupouy-Camet, A. Paugam
Parasitologie-Mycologie, Hôpital Cochin, Paris, France

306 Prévalence de *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* et de *C. metapsilosis* au sein des candidémies depuis 2004 au CHU de Nantes et profil de sensibilité à trois échinocandines (caspofungine, micafungine et anidulafungine) par la méthode E-test
G. Thierry[1], F. Morio[1], F. Gay-Andrieu[1], P. Le Pape[1], O. Barre[2], M. Miegeville[1]
[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [2]Laboratoire de Virologie, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

307 Rôle potentiel de CRH11 dans les mécanismes de résistance à la caspofungine chez *Candida albicans*
C. Dunyach-Remy[2], S. Bertout[2], P. Drakulovski[2], J. Reynes[1], M. Mallié[2]
[1]Maladies infectieuses et Tropicales, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», CHU Gui de Chauliac [2]Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», Faculté de Pharmacie, Montpellier, France

308 Analyse épidémiologique des scabioses diagnostiquées à l'hôpital Henri Mondor : étude prospective sur 2 ans
P.M. Collin, F. Foulet, C. Dichamp, G. Cremer, A. Perignon, A. Benammar, M. Bagot, S. Bretagne, F. Botterel
Parasitologie-Mycologie, APHP, Créteil, France

309 Stratégies thérapeutiques face aux infections mycosiques de la cornée
E.N.N. Borsali, P. Goldschmidt, C. Chaumeil, L. Battellier
Laboratoire, Hôpital des Quinze-Vingts, Paris, France

310 Endocardite à *Histoplasma capsulatum var. capsulatum* chez un homme immunocompétent âgé de 80 ans
A.S. Ibara[2], M.C. Receveur[1], T. Pistone[1], D. Malvy[1]
[1]Service de médecine tropicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux [2]Laboratoire, Centre hospitalier de Morlaix, Morlaix, France

311 Mucormycose et infection rénale, rare mais possible. A propos d'un cas
P. Honderlick[2], P. Charles[2], F. Thaler[2], P. Cahen[2], J. Gravisse[2], F. Dromer[1], O. Lortholary[1]
[1]Institut Pasteur, Centre National de Référence Mycoses et Antifongiques, Paris [2]Microbiologie, Médecine Interne, Réanimation, Chirurgie Cardiaque, Hôpital Foch, Suresnes, France

312 Ostéo-arthrite à *Pseudallescheria boydii (Scedosporium apiospermum)* : à propos d'un cas
D. Fasquelle[1], P. Romand[3], P. Gioghi[2], S. Jacquier[1]
[1]Biologie Médicale [2]Chirurgie Orthopédique et Traumatologique [3]Pneumologie-Infectiologie, Hôpitaux du Léman, Thonon-Les-Bains, France

313 Otomycose invasive à *Aspergillus niger* : à propos d'un cas
C. Martinaud[1], T. Gaillard[1], L. Allali[2], S. Pons[1], P. Brisou[1]
[1]Fédération des Laboratoires [2]Fédération Face et Cou, HIA Sainte Anne, Toulon, France

314 A propos d'un cas de bactériémie à *Cryptococcus neoformans* chez une patiente diabétique

M. Joncquel[1], S. Dekeyser[1], S. Nguyen[2], D. Descamps[1]

[1]Laboratoire [2]Unité d'infectiologie, CH Béthune, Béthune, France

71A | AFFICHE *Poster* | **HALL BORDEAUX** | **09:00 18:00** | jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

PHARMACO-THÉRAPEUTIQUE
PHARMACOTHERAPY

315 Vancomycine : comparaison des administrations par perfusion continue et discontinue dans une population pédiatrique

T. Tritz[3], B. Cassard[3], R. Clément[3], J.R. Zahar[2-1], P. Bourget[3]

[1]Equipe Mobile d'infectiologie [2]Microbiologie-Hygiène [3]Pharmacie, CHU Necker Enfants malades, Paris, France

316 Relation dose/concentration de pristinamycine : résultats d'une étude de phase I avec administration de doses uniques croissantes de pristinamycine chez 20 volontaires sains

O. Petitjean[1], H.B. Drugeon[2]

[1]Hôpital Avicenne, Bobigny [2]Faculté de Médecine, Nantes, France

317 Intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique de la ceftriaxone prescrite à forte dose ?

D. Navas[4-3], C. Fontenoy[1], E. Dailly[2], G. Deslandes[2], N. Asseray[4], G. Potel[4]

[1]Centre Régional de Pharmacovigilance [2]Laboratoire de Pharmacologie Clinique [3]Pharmacie Hôtel-Dieu, CHU Hôtel-Dieu [4]UPRES EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Faculté de Médecine, Nantes, France

318 Effets secondaires liés aux antibiotiques au sein d'une cohorte de patients d'Infectiologie

P.M. Roger, E. Cua, R.M. Chichmanian, R. Farhad, E. Bernard, C. Pulcini, F. De Salvador

Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

319 Étude rétrospective de l'utilisation du linézolide en association à la rifampicine au CHU de Nantes

C. Lebland[1], J. Caillon[2], D. Navas[1-2], N. Asseray[2]

[1]Pharmacie Hôtel Dieu, CHU de Nantes [2]EA 3826. Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Faculté de Médecine, Nantes, France

72A | AFFICHE *Poster* | **HALL BORDEAUX** | **09:00 18:00** | jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

STAPHYLOCOQUE ET ÉPIDÉMIOLOGIE DE LA RÉSISTANCE DES BACTÉRIES GRAM POSITIF
STAPHYLOCOCCI AND EPIDEMIOLOGY OF GRAM POSITIVE BACTERIAL RESISTANCE

320 Species distribution, genomic diversity and antibiotic susceptibility patterns among staphylococci causing infective endocarditis: Analysis of a one-year survey in France (EI2008)

F. Laurent[2-3-1], O. Dumitrescu[2-3-1], M. Celard[2], M. Bes[2-1], P. Tatevin[4], M.E. Reverdy[2-1], A. Tristan[2-3-1], T. Doco-Lecompte[5], H. Meugnier[2-1], G. Lina[2-3-1], J. Etienne[2-3-1], F. Vandenesch[2-3-1], The French Aepei Study Group on Infective Endocarditis[2]

[1]INSERM U851 [2]National Reference Centre for Staphylococci, Hospices Civils de Lyon [3]Université de Lyon, Lyon [4]Service des Maladies Infectieuses et Réanimation Médicale, CHU Pontchaillou, Rennes [5]Maladies infectieuses et tropicales, Hôpitaux de Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

321 Étude phénotypique et génotypique de 9 souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides, isolées chez des enfants atteints de mucoviscidose

O. Dumitrescu[3-2-4], M.E. Reverdy[3-2], M. Bes[2-4], H. Meugnier[3-2-4], C. Ploton[3], A.M. Freydiere[3], P. Reix[1], G. Bellon[1], F. Vandenesch[3-2-4], J. Etienne[3-2-4]

[1]Service de Pneumologie, HFME, Hospices Civils de Lyon, Bron [2]Centre National de Référence des Staphylocoques [3]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon [4]U851, INSERM, Lyon, France

322 Détection de la première souche de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides à l'hôpital la Rabta de Tunis

M. Zribi[3], J. Etienne[1], D. El Euch[2], H. Zribi[2], M. Bes[1], H. Meugnier[1], A. Masmoudi[3], A. B Osman[2], C. Fendri[3]

[1]Centre de Biologie Est, INSERM, U851, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France [2]Dermatologie [3]Microbiologie UR04SP08, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

323 Des souches de *S. aureus* hébergeant la SCCmec V isolées dans un hôpital de Constantine/Algérie

Z. Ouchenane

Bactériologie, Hôpital Militaire Universitaire de Constantine, Constantine, Algérie

324 Comparaison génétique entre souches de *S. aureus* résistant à la méticilline isolées des sites d'infection et du portage au CHU Ibn Rochd Casablanca - Maroc

S. Bouhali Zriouil[1-3], K. Zerouali[1], M. Timinouni[2], M. Bekkali[3], J.D. Perrier-Gros Claude[2], S. Breurec[4], B. Garin[4], N. El Mdaghri[1]

[1]Microbiologie, CHU Ibn Rochd [2]Institut Pasteur [3]Université Hassan II, Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc [4]Institut Pasteur, Dakar, Sénégal

325 Évolution du portage nasal de staphylocoques à coagulase négative résistants à la méticilline dans une population isolée de Sud-Guyane

D. Lebeaux[3-2], F. Barbier[3-2], E. Ruppé[3-2], B. Felix[1], A. Andremont[3-2], R. Ruimy[3-2]

[1]Institut National de Recherche en Agronomie, Jouy-en-Josas [2]EA3964, Université Paris 7-Diderot [3]Bactériologie, Laboratoire Associé CNR Résistance dans les Flores Commensales, Hôpital Bichat-Claude Bernard (AP-HP), Paris, France

326 Caractérisation des souches de *S. aureus* isolées lors d'un épisode de toxi-infection alimentaire

L. Cavalié[3], N. Constantin[1], C. Pottier[1], F. Jandot[1], L. Lamarque[2], E. Oswald[3], M.F. Prère[3], N. Marty[3]

[1]Laboratoire de biologie [2]UOH, CH, Lourdes [3]Bactériologie-Hygiène, CHU, Toulouse, France

327 Sensibilité d'isolats récents de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) vis-à-vis de la vancomycine (VAN), de la quinupristine/dalfopristine (Q-D), et du ceftobiprole (BPR) dans un Centre hospitalo-universitaire belge

S. Lemaire[2], F. Van Bambeke[2], P. Tulkens[2], D. Pierard[1]

[1]Laboratorium voor microbiologie, Universitair Ziekenhuis Brussel [2]Unité de pharmacologie cellulaire et moléculaire, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

328 Infections de stimulateurs cardiaques : place des staphylocoques et sensibilité aux antibiotiques

E. Jan[3], F. Camou[1], J.L. Pellegrin[5-2], J. Texier-Maugein[4-2]

[1]Réanimation médicale, CHU de Bordeaux, Hôpital Saint-André [2]Université Victor Ségalen Bordeaux II, Bordeaux [3]Cardiologie [4]Laboratoire de bactériologie [5]Médecine interne et maladies infectieuses, CHU de Bordeaux, Hôpital Haut-Lévêque, Pessac, France

329 Surveillance of antibiotic resistance and report of the increasing presence of the *mef*A gene in non-invasive clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* collected in Belgium during winter 2008-2009

R. Vanhoof[1], S. De Craeye[1], F. Fux[1], J. Van Eldere[3], J. Verhaegen[3], T.H.H. Belgian Sp Study Group[2]

[1]Unit of Antibiotics, Institute Public Health [2]Microbiology, SP Study Group, Brussels [3]Microbiology, University Hospital Gasthuisberg KUL, Leuven, Belgique

330 **Évolution des sérotypes de souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine : comparaison entre 2006/2007, 2007/2008 et 2008/2009**

H.B. Drugeon[2], A. Michaud-Nerard[1]

[1]Drug R&D, Angers Technopole [2]Faculté de Médecine, Nantes, France

331 **Activité des nouveaux antibiotiques sur les souches d'entérocoques résistants aux glycopeptides isolées en France**

R. Bérenger, N. Bourdon, M. Auzou, R. Leclercq, V. Cattoir

CHU Côte de Nacre, Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, Laboratoire associé entérocoques et résistances particulières des streptocoques, Caen, France

332 **La combinaison du séquençage du gène *sic* et du profil toxinique permet d'identifier les cas groupés d'infections invasives à streptocoques du groupe A de sérotype M1**

P. Bidet[2-1], E. Lesteven[1], C. Doit[1-2], S. Liguori[2], P. Mariani-Kurkdjian[1-2], S. Bonacorsi[1], E. Bingen[1-2]

[1]Microbiologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Robert Debré [2]CNR-Strep, Laboratoire associé au CNR des Streptocoques – Infections à Streptocoque du groupe A de l'enfant, Paris, France

333 **A cluster of invasive and non-invasive infections caused by an *emm*-type 44 clone of *Streptococcus pyogenes***

C. Plainvert[1-2], A. Cady[4], P.Y. Donnio[4], D. Huguenet[6], R. Demillac[3], M. Revest[5], C. Poyart[1], A. Bouvet[1-2]

[1]Centre National de Référence des Streptocoques, Université Paris Descartes [2]Hôtel Dieu, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris [3]Cellule interrégionale d'Epidémiologie Ouest [4]Laboratoire de Bactériologie, CHU Pontchaillou [5]Service des Maladies Infectieuses, CHU Pontchaillou [6]Veille sanitaire DDASS d'Ille-et-Vilaine, Rennes, France

334 ***Clostridium difficile* chez le nourrisson : caractéristiques des souches de portage intestinal**

C. Rousseau[2-1], A. Le Monnier[2-3], I. Poilane[1], A. Collignon[2-1]

[1]Microbiologie, CHU Jean Verdier, AP-HP, Bondy [2]EA4043, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Sud-11, Châtenay-Malabry [3]Microbiologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

73A	AFFICHE *Poster*	**HALL BORDEAUX**	**09:00 18:00**	jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

ACTIVITÉ ANTI-BACTÉRIENNE ET MÉCANISME DE RÉSISTANCE
ANTI-BACTERIAL ACTIVITY AND MECHANISMS OF RESISTANCE

335 **L'effet modulateur des antibiotiques actifs sur *S. aureus* résistant à la méticilline sur l'expression des exotoxines staphylococciques**

O. Dumitrescu[1-2-3], C. Badiou[2-3], M. Bes[1-2-3], M.E. Reverdy[1-2-3], J. Etienne[1-2-3], F. Vandenesch[1-2-3], G. Lina[1-2-3]

[1]Centre National de Référence des staphylocoques [2]U851, INSERM [3]Université de Lyon, Lyon, France

336 **Rôle des autolysines dans l'activité bactéricide de l'association d'amoxicilline et de gentamicine**

V. Dubée[1], A. Lefort[1], F. Chau[1], M. Arthur[2], B. Fantin[1]

[1]EA 3964, Université Paris VII [2]INSERM U872, Université Paris VI, Paris, France

337 **Analyse par cytométrie de flux (CMF) de l'impact de l'exposition à la vancomycine (Vm), la daptomycine (D), la télavancine (T), et d'une vancomyquine PA1409 sur la paroi bactérienne chez *Enterococcus faecalis***

F. Chau[3], A. Lefort[3], V. Dubée[3], S. Benadda[2], M. Sanchez[1], B. Meunier[1], B. Fantin[3]

[1]Palumed, Castanet-Tolosan [2]IFR02, INSERM [3]EA3964, Université Paris 7, Paris, France

338 **Characterization of CSP-1, a novel extended-spectrum beta-lactamase produced by a clinical isolate of *Capnocytophaga sputigena***

H. Guillon, F. Eb, H. Mammeri

Bactériologie, CHU d'Amiens, Amiens, France

339 Dominance of CTX-M-type extended spectrum beta-lactamases and detection of the *qnr* genes in *Escherichia coli* isolates from children

S. Réjiba[3-4], P.S. Mercuri[1], E. Cambau[2], A. Kechrid[4]

[1]Laboratoire de Macromolécules Biologiques, Centre d'Ingénierie des Protéines, Institut de Chimie B6a, Universié de Liège, Liège, Belgique [2]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France [3]Département des Sciences Biologiques, Faculté de Sciences [4]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie

340 Épidémie de *Providencia stuartii* productrices de CMY-16 et QnrA6 dans un service de Brûlés d'un Hôpital de Tunis

C. Arpin[1], L. Thabet[3], A. Messadi[4], J. Boukadida[2], V. Dubois[1], L. Coulange[1], C. André[1], C. Quentin[1]

[1]CNRS UMR 5234, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France [2]Laboratoire de Microbiologie et Immunologie, CHU Farhat-Hached, Sousse [3]Laboratoire de Biologie [4]Unité de Brûlés, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

341 Presence of *qnr* genes in *Enterobacteriaceae* strains resistant to third generation cephalosporin isolated from patients in Tunisia

N.H. Jlili[3], S. Réjiba[2], H. Smaoui[3], E. Cambau[1], A. Kechrid[3]

[1]Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Médecine de Bichat, Paris, France [2]Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences [3]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie

342 Prevalence of plasmid- mediated quinolone resistance determinants Qnr A, Qnr B and Qnr S among extra-intestinal *Escherichia Coli* at Charles Nicolle University Hospital of Tunisia

S. Ferjani, M. Saïdani, I. Boutiba-Ben Boubaker, A. Kamoun, S. Ben Redjeb

Faculté de Médecine de Tunis, Laboratoire de Recherche "Résistance aux anti-microbiens", Tunis, Tunisie

343 Prévalence des gènes de résistance plasmidique aux quinolones chez des entérobactéries communautaires isolées au Maroc

L. Jamali[3-2], F. Haouzane[3-4], K. Zerouali[1], A. Soukri[2], J.D. Perrier-Gros Claude[3], M. Timinouni[3]

[1]Laboratoire de Microbiologie, Faculté de médecine et pharmacie [2]Laboratoire de Physiologie et Biologie Moléculaire, faculté des Sciences Ain Chock [3]Laboratoire de Bactériologie Moléculaire, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca [4]Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences d'El Jadida, El Jadida, Maroc

344 Recherche des gènes *qnr* de résistance aux fluoroquinolones chez des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu, isolées au Centre national de greffe de moelle osseuse de Tunis

A. Mannai, A. Touati, A. Mechergui, R. Baaboura, A. Ben Hassen

Laboratoires, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis, Tunisie

345 Activité *in vitro* de la tigécycline vis-à vis des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3e génération, d'*Acinetobacter baumannii* et des *Bacteroides* du groupe *fragilis* : expérience au CHRU de Montpellier

S. Godreuil[3-1], M.N. Rousseau-Didelot[3], B. Compan[3], H. Darbas[3], H. Marchandin[3-2], M. Brun[3], C. Carriere[3], H. Jean-Pierre[3-2]

[1]GEMI, UMR CNRS-IRD 2724, Centre IRD de Montpellier [2]Faculté de Pharmacie, Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Université Montpellier 1, EA3755 [3]Laboratoire de Bactériologie, hôpital Arnaud de Villeneuve, Université Montpellier 1, EA4205, Montpellier, France

346 Comparaison de l'activité du doripénème, imipénème et méropénème sur 145 souches de *Pseudomonas aeruginosa*

J. Caillon[2-1], A. Maitte[1], C. Bretonnière[2], D. Boutoille[2]

[1]Bactériologie, CHU de Nantes [2]UPRES EA 3826, Université Nantes Atlantique, Nantes, France

347 *In vitro* activity of meropenem, colistin and tigecycline against *Achromobacter xylosoxidans* isolated from cystic fibrosis (CF) patients

J. Caillon[2-3], V. Le Mabecque[3], J. Carrere[1], M.P. Pelletier[4], E. Batard[3], C. Jacqueline[3]

[1]CRCM Giens, Giens, Hyères [2]CRCM-CHU de Nantes [3]UPRES EA 3826, Université de Nantes, Nantes [4]CRCM Roscoff, Roscoff, France

348 **Étude comparative de la sensibilité au doripénème (DOR), à l'imipénème (IPM) et au méropénème (MEM) de souches de *Pseudomonas aeruginosa* collectées chez des patients souffrants de pneumonie nosocomiale dans 5 hôpitaux belges (2004-2008)**

M. Riou[1], F. Van Bambeke[1], P. Tulkens[1], J. Broughall[2]

[1]Unité de pharmacologie cellulaire et moléculaire, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique [2]Janssen-Cilag Ltd, High Wycombe, Royaume-Uni

349 **Antianaerobic activity of doripenem against anaerobic bacteria**

L.J. Dubreuil[5], S. Mahieux[5], C. Muller-Serieys[4], H. Jean-Pierre[3], H. Marchandin[3], C.J. Soussy[1], A. Miara[2]

[1]Henri-Mondor Hospital, Créteil [2]Janssen-Cilag, Issy-Les Moulineaux [3]CHU, Montpellier [4]Bichat hospital, Paris [5]Hospital, Tourcoing, France

350 **FIC index determination of CXA-101 (CXA)/tazobactam (TAZ) in combination with amikacin (AMK), aztreonam (ATM), meropenem (MEM), levofloxacin (LVX), and tigecycline (TGC) against *Escherichia coli* (EC), *Klebsiella pneumoniae* (KP), and *Pseudomonas aeruginosa* (PA) strains**

C. Jacqueline[2], C. Desessard[2], Y. Ge[1], G. Potel[2], J. Caillon[2]

[1]Calixa Therapeutics Inc., San Diego, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

351 **Étude de la sensibilité de bactéries isolées d'infections hospitalières vis-a-vis des composés JCA 250 et JCA 251 issus de la recherche Aromatechnologies**

M. Kempf[1], F. Kowalczyk[1], E. Rossines[2], G. Panhelleux[2], M.L. Joly-Guillou[1]

[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU d'Angers, Angers [2]Aromatechnologies, Romorantin Lanthenay, France

74A | AFFICHE *Poster* | **HALL BORDEAUX** | **09:00 18:00** | jeudi *Thursday* 3 décembre *December*

TECHNIQUES MICROBIOLOGIQUES
MICROBIOLOGY TECHNIQUES

352 **Performance of flow-cytometry to quantify microorganisms and cells for UTI diagnosis**

N. Blondiaux[1], A. Aubry[3], O. Baron[5], R. Courcol[1], V. Jarlier[4], N. Marty[5], M.H. Nicolas-Chanoine[3], H. Aldebert[2]

[1]Pôle de Microbiologie, CHU de Lille, Lille [2]Biomérieux, Marcy l'Etoile [3]Laboratoire de Bactériologie, CHU Beaujon [4]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris [5]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU de Toulouse, Toulouse, France

353 **Évaluation des performances analytiques de l'automate urinaire IQ200® Elite (Iris Diagnostics)**

D. Harrois, G. Dewulf, E. Mazars, C. Cattoen, F. Canis

Laboratoire de microbiologie, CH de Valenciennes, Valenciennes, France

354 **Comparaison de trois automates de cytologie urinaire au sein d'un laboratoire de bactériologie : évaluation des caractéristiques analytiques et de la capacité à détecter une infection urinaire**

O. Dauwalder, A.M. Freydiere, D. Fournier, L. Selman, J. Corbasson, T. Pierre, P. Girardo, J. Etienne, G. Lina, F. Vandenesch

Laboratoire de bactériologie – Institut de microbiologie – Centre de Biologie et Pathologie Est – Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon-Bron, France

355 **Routine evaluation of an automated streaking system: the Previ-Isola**

K. Despretz, S. Lepoutre, L. Lerat, V. Montois, R. Courcol

Pôle de Microbiologie, CHU Lille, Lille, France

356 **Peut-on standardiser l'ensemencement en bactériologie ?**
A propos de l'automate PREVI™ Isola (bioMerieux®)

J.M. Rousée, C. Rieder-Monch, T. Gueudet

Microbiologie, Laboratoire Schuh Bio 67, Strasbourg, France

357 Évaluation du nouveau milieu chromogène chrom-ID pour l'identification directe de *Pseudomonas aeruginosa* dans les expectorations des patients atteints de mucoviscidose

D. Fournier, C. Bailly, D. Hocquet, K. Jeannot, P. Plésiat
Laboratoire de Bactériologie, CHU de Besançon, Besançon, France

358 Utilisation de la sonication à faible énergie pour comparer des comptes bactériens chez des souches de *Enterococcus faecalis* formant des chaînes de longueur différente

V. Dubée, F. Chau, B. Fantin, A. Lefort
EA 3964, Université Paris VII, Paris, France

359 Évaluation du nouvel automate WalkAway® *plus* (Siemens) pour l'identification et l'antibiogramme des bacilles à Gram négatif (BGN) isolés en routine

L. Armand-Lefèvre, C. Moreau, M. Perrot, A. Andremont, C. Muller-Serieys
Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

360 Évaluation d'un nouveau système de bandelettes (Cica-Beta-Test) permettant la détection rapide des entérobactéries productrices de bêta-lactamases

J.P. Lavigne[2-1], C. Pfeiffer[2], A. Sotto[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie, CHU Caremeau [2]Espri 26, INSERM, Nîmes, France

361 Serotyping, antibiotic susceptibility and surface protein gene determination of *Streptococcus agalactiae* isolated from neonate infections and vaginal carriage at Charles Nicolle Hospital of Tunis

W. Klai, M. Saïdani, S. Ferjani, A. Kamoun, S. Ben Redjeb
Laboratoire de Recherche "Résistance aux anti-microbiens", Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie

362 Précision de la lecture automatique des CMI en milieu gélosé chez *Streptococccus pneumoniae* par le SIRSCAN

P. Grohs[2], C. Janoir[1], S. Grondin[1], S. Simon[1], G. Bonnet[1], L. Gutmann[2-1], E. Varon[2-1]
[1]Centre National de Référence des Pneumocoques [2]Microbiologie, HEGP, Paris, France

363 Intérêt de l'utilisation de flacons d'hémoculture pour l'analyse bactériologique des prélèvements tissulaires en chirurgie orthopédique

A. Velay[2], J. Gaudias[1], F. Schramm[2], B. Jaulhac[2], P. Riegel[2]
[1]Centre de chirurgie orthopédique et de la main [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

364 Corrélation de la capacité de bactéries à former des biofilms avec leur impact clinique

M. Thouvenin[2], G. Fumagalli[3], P. Mayer[1], T. Bernardi[1], G. Dine[3], V. Genty[3]
[1]BioFilm Control, Saint-Beauzire [2]Microbiologie, Centre Hospitalier [3]Institut Biotechnologique de Troyes, Troyes, France

365 Que faire des urines limpides envoyées au laboratoire pour ECBU ?

Y. Péan[3], N. Desplaces[1], N. Pradier[1], L. Gutmann[2], M.D. Kitzis[2]
[1]Laboratoire de Biologie Médicale, GH Diaconnesses-Croix Saint Simon [2]Service de Microbiologie Médicale, GH Paris Saint Joseph [3]Laboratoire de Biologie Médicale, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France

366 Évaluation de l'intérêt de réaliser identifications bactériennes et antibiogrammes pendant les horaires de nuit dans le laboratoire de bactériologie d'un centre hospitalier universitaire

M. Eveillard, C. Lemarié, J. Cottin, H. Hitoto, C. Mahaza, M. Kempf, M.L. Joly-Guillou
Bactériologie-hygiène, CHU d'Angers, Angers, France

367 **Multicenter evaluation of a MicroScan dried overnight panel for susceptibility testing of tigecycline against *Enterobacteriaceae* using EUCAST breakpoint criteria**

J. Hindler[1], M. Lewinski[1], J. Tjhio[2], P. Schreckenberger[2], J. Rothberg[3], M. Weinstein[3], M. Bacsafra[4], J. Johnston[4], B. Zimmer[4], L. Mann[4]
[1]UCLA Medical Center, Los Angeles [2]Loyola University Medical Center, Maywood [3]Robert Wood Johnson Medical School, New Brunswick [4]Siemens Healthcare Diagnostics, W. Sacramento, Etats-Unis

368 **Activité *in vitro* de la tigécycline vis-à-vis de 340 souches d'entérobactéries isolées au CHU d'Angers - Le programme TEST 2006-2009**

C. Bris, M. Kempf, F. Kowalczyk, M. Eveillard, M.L. Joly-Guillou
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU d'Angers, Angers, France

369 **Évaluation en pratique quotidienne de la concentration urinaire sur la performance de trois tests de détection de l'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* de sérogroupe 1**

E. Sauter, C. Plainvert, J.C. Nguyen Van
Microbiologie Médicale, Groupe Hospitalier Paris Saint Joseph, Paris, France

370 **Spermocultures : bilan et intérêt dans la prise en charge des couples consultant en centre d'Assistance Médicale à la Procréation, au CHU de Nantes**

M. Leterrier[1], T. Freour[2], M.E. Juvin[1], P. Barriere[2], A. Reynaud[1-3], D. Lepelletier[1-3], S. Corvec[1-3]
[1]Service de Bactériologie-Hygiène [2]Service de Médecine de la Reproduction, CHU de Nantes [3]EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Faculté de Médecine, Nantes, France

VIROLOGIE 1
VIROLOGY (1)

371 **Évaluation d'une nouvelle trousse commerciale permettant la détection simultanée de 7 virus neurotropes par PCR-DNA *microarrays***

A. Van Haecke[1-2], A. Sandré[1-2], L. Moutte[1-2], A. Huguenin[1-2], F. Renois[1-2], V. Brodard[1], L. Andréoletti[1-2], N. Lévêque[1-2]
[1]Laboratoire de Virologie médicale et moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire [2]EA 4303/IFR53, Faculté de médecine, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

372 **Comparaison entre deux techniques de Génotypage du virus de l'hépatite B**

N. Hannachi[1], O. Bahri[2], N. Ben Fredj[1], S. Mhalla[1], H. Triki[2], J. Boukadida[1]
[1]Laboratoire de microbiologie-immunologie, Unité de recherche UR 02SP13, CHU F. Hached, Sousse [2]Laboratoire de virologie clinique, Laboratoire de Recherche « Hépatites et maladies virales épidémiques », Institut Pasteur, Tunis, Tunisie

373 **Évaluation de la linéarité, de la répétabilité et de la reproductibilité de la trousse de quantification de l'antigène HBs Architect Abbott pour des échantillons dépassant le domaine initial de linéarité**

V. Mackiewicz[3], R. Moucari[2], A. Dauvergne[1], M. Vidaud[1], P. Marcellin[2], M.H. Nicolas-Chanoine[3]
[1]Biochimie [2]Hépatologie [3]Microbiologie, Hôpital Beaujon - AP-HP, Clichy, France

374 **Développement et utilisation d'une RT-PCR quantitative pour la détection et la quantification du virus *Influenza A* à partir d'un écouvillon nasal dans le cadre de l'essai GripMask**

F. Renois[4-3], A. Sandré[4-3], A. Van Haecke[4-3], L. Moutte[4-3], A. Huguenin[4-3], M. Bouscambert-Duchamp[1], N. Lévêque[4-3], P. Ferrari[2], F. Carrat[2], L. Andréoletti[4-3]
[1]Laboratoire de Virologie, Hospices Civils, Lyon [2]Service de Santé Publique, Hôpital Saint-Antoine, AP/HP Paris ; Université Pierre et Marie Curie ; INSERM U707, Paris [3]Laboratoire de Virologie Médicale et Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire [4]EA 4303/IFR53, Faculté de Médecine de Reims, Reims, France

375 Évaluation d'une technique d'extraction et d'amplification de l'ARN viral Delta à partir des taches de sang et de sérums séchés sur papiers buvards

C.T. Hamed[1-3], W. Mansour[1], E. Ahmed-Tijani[3], S. Amadou-Mody[3], F. Le Gal[2], E. Gordien[2], A. Ducancelle[1], M.A. Bollahi[3], F. Lunel-Fabiani[1]

[1]Laboratoire de Virologie, Laboratoire HIFIH UPRES EA 3859, CHU d'Angers, Angers [2]Laboratoire de virologie, associé au CNR des hépatites B, C et Delta, CHU Avicenne, Bobigny, France [3]Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS), Nouakchott, Mauritanie

376 Vers un test de diagnostic rapide (TDR) et spécifique de la mononucléose infectieuse

M. Baccard Longère[1], T. Paper[3], S. Charles[3], C. Blin[3], R. Germi[1-2], M. Habib[2], E. Drouet[2], J.M. Seigneurin[1-2], P. Morand[1-2]

[1]Laboratoire de Virologie, CHU de Grenoble [2]UMI 3265 UJF-EMBL-CNRS, Grenoble [3]Biosynex, Strasbourg, France

377 Développement d'une méthode de quantification de la transcription du gène tardif *U100* de l'HHV6 par PCR temps réel

V.A. N'Guyen[2], B.M. Imbert-Marcille[2-1], E. André-Garnier[2-1], C. Bressollette-Bodin[2-1]

[1]Service de Virologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes [2]EA4271, UFR de Pharmacie, Université de Nantes, Nantes, France

378 Quantification du cytomégalovirus dans le liquide céphalo-rachidien sur l'automate SmartCycler

J. Grosjean, M. Goudard, B. Boyer, S. Hantz, S. Alain

Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Hygiène, CHU de Limoges, Centre National de Référence du Cytomégalovirus, Limoges, France

379 Évaluation de l'extraction du système VERSAN™T kPCR (Siemens Healthcare Diagnostics) pour réaliser le génotypages HIV-1 (TRUGENE™ HIV1)

C. Chaplain, F. Fleury, S. Mene, I. Gros

Microbiologie, Hôpitaux de Saint-Denis, Saint Denis, France

380 Comparaison de deux extractions automatisées, Easy mag (Biomérieux) et QiaSymphony (Qiagen) pour la recherche de virus dans le liquide céphalo-rachidien

B. Boyer[2], I. Traccard[1], S. Grosse[1], J. Grosjean[2-1], S. Hantz[2-1], S. Alain[2-1]

[1]Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]CNR Cytomégalovirus, CHU, Limoges, France

381 Surveillance épidémiologique de la grippe dans les armées : comparaison de la RT-PCR et d'une technique de diagnostic rapide par immunochromatographie

P. Dubrous, X. Roux, A. Chemoul, P. Leroy, B. Soullié, J.L. Koeck

Biologie clinique, HIA Robert Picqué, Villenave d'Ornon, France

382 Quantification du génome du cytomégalovirus dans le sang total avec les trousses CMV Artus et CMV R-gene après extraction sur l'automate QiaSymphony. Effet de la conservation des prélèvements sur la quantification

B. Boyer[2], M. Goudard[2], M.C. Ploy[1], S. Alain[2-1]

[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren [2]CNR Cytomégalovirus, Limoges, France

383 Évaluation de l'extracteur QIAcube et du test Artus EBV RG PCR kit (Qiagen) pour la mesure de la charge virale EBV dans le sang total

R. Germi[1-2], T. Semenova[1], N. Magnat[1], J.M. Seigneurin[1-2], P. Morand[1-2]

[1]Laboratoire de virologie, CHU de Grenoble [2]UMI UJF-CNRS-EMBL 3265, Grenoble, France

384 Intérêt de la PCR temps réel Cepheid Xpert SARM/SA sur GeneXpert DX System dans la prise en charge de la bactériémie à staphylocoque

A. Scanvic[1], J.P. Sollet[2], L. Courdavault[1], F. Le Turdu[1]

[1]Biologie [2]Unité d'antibiothérapie, CH V. Dupouy, Argenteuil, France

385 Place de la PCR quantitative dans le diagnostic et le suivi d'une infection à Parvovirus B19

A. Paquin, S. Ranarijaona, M. Coste-Burel
Service de Virologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France

386 Relevance of a predictive rule in the management of acute common adult meningitis

C. Rapp[2], L. Bochu[2], C. Ficko[2], S. Duron[1], F. Méchaï[2], M. Billhot[2], C. De Moreuil[2], P. Imbert[2], D. Delarbre[2]
[1]Ecole du Val de Grâce, DESP Nord, Paris [2]Maladies infectieuses, HIA Bégin, Saint Mandé, France

387 Prévalence du CMV au cours des phases d'exacerbation des maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin. Intérêt de la quantification virale à partir des biopsies coliques

T. Reig[3-4], H. Brixi-Benmansour[2], F. Renois[3-4], A. Lukaszewiez[1], C. De Champs[3], V. Brodard[3], L. Andréoletti[3-4], M.D. Diebold[1], N. Lévêque[3-4]
[1]Laboratoire d'Anatomopathologie [2]Service de Gastro-entérologie [3]Unité de Virologie Médicale et Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire [4]EA4303/IFR53, Faculté de Médecine, Reims, France

388 Évolution de la séroprévalence de la rubéole chez la femme en âge de procréer de 1995 à 2009 : analyse rétrospective des données du laboratoire de virologie de Lyon

J.S. Casalegno, Y. Mekki, V. Escuret, M. Bouscambert-Duchamp, E. Frobert, B. Lina
Laboratoire de Virologie, Centre de Biologie Est, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

389 Intérêt du diagnostic moléculaire dans le domaine des infections respiratoires à entérovirus. Apport de la PCR et du génotypage pour une meilleure approche de la circulation des souches en Basse-Normandie au cours de l'année 2008

J. Petitjean Lecherbonnier, A. Ancelle, J. Dina, S. Gouarin, A. Vabret
Laboratoire de Virologie humaine et moléculaire, CHU, Caen, France

390 Épidémiologie des infections virales dans les atteintes neuroméningées chez les immunocompétents en Tunisie

I. Nahdi[5], B.M. Imbert-Marcille[2-1], S. Hammami[3], F. Ben Romdane[4], M. Aouni[5], C. Bressollette-Bodin[2-1]
[1]Service de Virologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes [2]EA 4271, UFR de Pharmacie, Université de Nantes, Nantes, France [3]Service de Pédiatrie [4]Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Universitaire Fattouma Bourguiba [5]Laboratoire des Maladies Transmissibles et substances Biologiquement Actives, LR99-ES 27, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir, Monastir, Tunisie

391 Clinical features of rotavirus infection and relation with the RNA electropherotypes and genotypes detected between 2000 and 2007 in Tunisian children

A. Chouikha, I. Fodha, M. Ben Hadj Fredj, I. Methlouthi, I. Brini, F. Messadi, M. Hachicha, M. Zribi, A. Bouaziz, S. Bousnina, A. Harbi, T. Sfar, S. Chouchène, N. Boujaafar, A. Trabelsi
Virologie, Hôpital Sahloul, Sousse, Tunisie

392 L'HHV7 : co-facteur des infections méningées à entérovirus ?

A. Van Haecke[1-2], A. Sandré[1-2], L. Moutte[1-2], A. Huguenin[1-2], F. Renois[1-2], V. Brodard[1], L. Andréoletti[1-2], N. Lévêque[1-2]
[1]Unité de Virologie médicale et moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire [2]EA4303/IFR53, Faculté de médecine, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

393 Séroprévalence des infections à HSV-1 et HSV-2 en France métropolitaine

J. Le Goff[3], Y. Le Strat[4], P. Morand[1], Y. Mekki[2], M. Baccard Longère[1], A. Gallay[4], F. Barin[5], C. Semaille[4]
[1]Laboratoire de virologie, CHU, Grenoble [2]Laboratoire de virologie Est, Hôpitaux civils de Lyon, Lyon [3]Laboratoire de microbiologie, Hôpital Saint-Louis, Paris [4]Insititut de veille sanitaire, Saint Maurice [5]Laboratoire de virologie, CHU Bretonneau, Centre National Référence du VIH et INSERM U966, Tours, France

394 Rougeole, oreillon, rubéole : nous sommes tous exposés mais sommes-nous protégés ?

J.S. Casalegno, Y. Mekki, G. Billaud, F. Morphin-Sherpa, B. Lina
Laboratoire de virologie, Centre de Biologie Est, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

SESSIONS D'AFFICHES
POSTER SESSIONS

Vendredi 4 décembre
Friday December 4

RICAI

Vendredi 4 décembre
Friday December 4

Heure	Réf	Session	Salle
09:00-15:30	76A	INFECTION À VIH	HALL BORDEAUX
09:00-15:30	77A	RÉSISTANCE BACTÉRIENNE	HALL BORDEAUX
09:00-15:30	78A	IDENTIFICATION BACTÉRIENNE PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE (MALDI-TOF)	HALL BORDEAUX
09:00-15:30	79A	INFECTIONS ASSOCIÉES AUX SOINS (EPIDÉMIOLOGIE, POLITIQUE ANTIBIOTHÉRAPIE, PRÉVENTION)	HALL BORDEAUX
09:00-15:30	80A	VIROLOGIE 2	HALL BORDEAUX
09:00-15:30	81A	INFECTIONS COMMUNAUTAIRES	HALL BORDEAUX
09:00-15:30	82A	TROP PIQUE - TROPIQUES	HALL BORDEAUX
09:00-15:30	83A	EPIDÉMIOLOGIE DES GRAM NÉGATIF	HALL BORDEAUX
09:00-15:30	84A	MYCOBACTÉRIES	HALL BORDEAUX
09:00-15:30	85A	INFECTIONS PÉDIATRIQUES	HALL BORDEAUX

INFECTION À VIH
HIV INFECTION

395 Émergence de l'infection à VIH/sida chez l'enfant dans l'Ouest algérien

F. Razik, F. Bensaadoune, S. Kouid Belkadi, K. Erouane, C. Abderahim, N. Mouffok, A. Bouabdellah, S. Abidi
Maladies Infectieuses, Centre Hospitalo-Universitaire d'Oran, Oran, Algérie

396 Prise en charge tardive de l'infection par le VIH : comment progresser ?

E. Libbrecht[5], C. Rouger[3], D. Rey[4], B. Christian[1], T. May[2]
[1]CHR, Metz [2]Nancy [3]Reims [4]CHU, Strasbourg [5]Médecine Interne, CH, Troyes, France

397 Risk factors for hepatotoxicity of ARV in HIV/HCV co-infected patients with a 6 years follow-up after a completion of a full course anti-HCV treatment

E. Krastinova[3], F. Bani-Sadr[3], S. Pol[5], P. Cacoub[4], E. Rosenthal[2], C. Perronne[1], F. Carrat[3]
[1]Versailles University, Raymond Poincaré University Hospital, Garches [2]Archet Hospital, Nice [3]INSERM U 707, Pierre and Marie Curie University [4]University Paris 6, East Hospital Group University [5]INSERM U370, West Hospital Group University, Paris, France

398 Séro-surveillance sentinelle chez les consultants IST de la commune de Tizi-Ouzou 2007-2008

F. Toudeft[4], F. Bélatèche[1], B. Arridj[4], N. Bekri[4], N. Halli[4], L. Ainas[3], M. Ardjoun[2], L. Taleb[6], H. Saheb[5], A. Beddek[6], F. Dahmoun[3], N. Ouar[3]
[1]Epidémiologie et Médecine Préventive, CHU Hussein Dey [2]Centre de transfusion sanguine, Hôpital Central de l'Armée, Alger [3]Centre de transfusion sanguine [4]Epidémiologie et Médecine Préventive, CHU Tizi-Ouzou [5]Dermatologie [6]Gynécologie, Médecine libérale, Tizi-Ouzou, Algérie

RÉSISTANCE BACTÉRIENNE
BACTERIAL RESISTANCE

399 Identification de PER-6 chez *Aeromonas allosaccharophila* isolé de la Seine

D. Girlich, L. Poirel, P. Nordmann
Bactériologie, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

400 Sélection de *Klebsiella pneumoniae* (Kp) de sensibilité diminuée aux β-lactamines sous l'action de fluoroquinolones

S. Bialek-Davenet, V. Leflon-Guibout, E. Marcon, M.H. Nicolas-Chanoine
Service de Microbiologie, AP-HP, Hôpital Beaujon, Clichy, France

401 Amoxicillin-clavulanate as a useful marker for the detection of extended-spectrum beta-lactamase producing *E. coli* and *K. pneumoniae* by the BD Phoenix System

M.P. Lebitasy, A. Simon, T.D. Huang
Laboratoire de microbiologie, Cliniques universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique

402 Comparaison du Vitek-2™ AIX (V2-AIX) *versus* Vitek-2™ PC (V2-PC) par l'étude des phénotypes de résistance (R) des entérobactéries (E) aux bêta-lactamines (bêta-lac)

S. Lefevre, V. Cocquerelle, P. Riegel, J.M. Scheftel, B. Jaulhac, F. Jehl
Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Laboratoire de bactériologie, Strasbourg, France

403 **Evolution and molecular epidemiology of CTX-M- bêta-lactamases producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in pediatrics**

K. Mamlouk, I. Boutiba-Ben Boubaker, A. Kamoun, S. Ben Redjeb

Bactériologie, Laboratoire de Recherche "Résistance aux Antimicrobiens" - Faculté de Médecine, Tunis, Tunisie

404 **Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing *bla*$_{OXA-23}$ gene in Tunisia**

R. Ghozzi, S. Hammami, A. Abid Kamoun, S. Ben Redjeb

Microbiologie, Faculté de Médecine, Tunis, Tunisie

405 **Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing *bla*$_{OXA-23}$ gene in Tunisia**

R. Ghozzi, S. Hammami, A. Abid Kamoun, S. Ben Redjeb

Microbiologie, Faculté de Médecine, Tunis, Tunisie

406 **Interactions moléculaires des céphalosporines avec les CTX-M**

J. Delmas, D. Leyssène, F. Robin, D. Dubois, E. Vazeille, R. Bonnet

Bactériologie, JE 2526 USC INRA, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France

407 **Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Enterobacteriaceae* from Tunisia**

S. Dahmen[1-2], L. Poirel[1], W. Mansour[2], N. Boujaafar[2], P. Nordmann[1], O. Bouallègue-Godet[2]

[1]Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, Paris, France [2]Laboratoire de Microbiologie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie

408 **Detection of plasmid-mediated AMP C bêta-lactamases in *Escherichia coli, Klebsiella et Proteus mirabilis* at Charles Nicolle Hospital of Tunis-Tunisia**

T. Cherif, M. Saïdani, S. Ben Redjeb

Faculté de Médecine de Tunis, Laboratoire de recherche "Résitance aux anti-microbiens", Tunis, Tunisie

409 **Augmentation de la prévalence des souches cliniques de *Escherichia Coli* produisant une céphalosporinase chromosomique AmpC à spectre élargi (ESAC), isolées au CHU de Nantes**

L. Crémet[1], N. Caroff[2], A. Guillouzouic[1-2], C. Giraudeau[1], S. Dauvergne[2], D. Lepelletier[1-2], A. Reynaud[1-2], S. Corvec[1-2]

[1]Service de bactériologie-hygiène hospitalière, CHU de Nantes [2]EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Nantes, France

410 **Epidemiology of *Escherichia coli* clinical isolates producing AmpC plasmidic bêta-lactamase over a 5-year period in a French teaching hospital**

S. Corvec[1-2], L. Crémet[1], S. Dauvergne[2], A. Reynaud[1-2], D. Lepelletier[1-2], N. Caroff[2]

[1]Service de Bacteriologie-Hygiène Hospitalière, CHU de Nantes [2]EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Nantes, France

411 **International spread of plasmid-mediated *blaOXA-48* carbapenemase gene**

A. Carrer[1], L. Poirel[1], M. Disbay[4], G. Cuzon[1], G. Matar[3], P. Honderlick[2], P. Nordmann[1]

[1]Laboratoire de bactériologie, CHU de Bicêtre, INSERM U914, Le Kremlin Bicêtre [2]Hôpital Foch, Suresnes, France [3]American University of Beirut, Beirut, Liban [4]Department of Infectious Diseases, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul, Turquie

412 **Défaut de porine F chez *Bacteroides thetaiotaomicron* résistant à l'association amoxicilline/acide clavulanique**

A.C. Hochart-Behra[2-1-4], M. Leprince[2-4], H. Drobecq[3-4], M.L. Reynaert[2-4], L. Dubreuil[2-4], J. Behra-Miellet[2-4]

[1]Centre Hospitalier, Armentières [2]Laboratoire de Bactériologie Clinique, Faculté de Pharmacie [3]Institut de Biologie [4]Université Lille Nord de France, Lille, France

IDENTIFICATION BACTÉRIENNE PAR SPECTROMÉTRIE DE MASSE (MALDI-TOF)
BACTERIAL TYPING AND MASS SPECTROMETRY (MALDI-TOF)

413 Spectrométrie de masse MALDI-TOF et identification des *Aeromonas*
B. Lamy[4], A. Kodjo[3], C.O.O. Bvh[1], F. Laurent[2]
[1]Collège de Bactériologie Virologie et Hygiène des Hôpitaux, Le Chesnay [2]Bactériologie, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon [3]Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Marcy L'Etoile [4]Laboratoire, CH du Bassin de Thau, Sète, France

414 Utilisation de la spectrométrie de masse dans un laboratoire hospitalier de microbiologie : l'expérience mulhousienne
A. Gravet, C. Lohmann, F. Schmitt, J.M. Delarbre
Laboratoire de Microbiologie, CH de Mulhouse - Hôpital Emile Muller, Mulhouse, France

415 Évaluation de la spectrométrie de masse MALDI-TOF en routine. L'expérience bordelaise
E. Bessède[1-2], M. Angla-Gre[1], Y. Delagarde[1], S. Sep Hieng[1], A. Ménard[1-2], F. Mégraud[1-2]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Pellegrin [2]Laboratoire de Bactériologie, Université Victor Ségalen Bordeaux 2, Bordeaux, France

416 Microbial identification by MALDI-TOF MS : Challenges and perspectives
M. Kostrzewa
MALDI Biotyper Research and Development team, Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Allemagne

417 Analyse de mélanges de cultures par spectrométrie de masse MALDI-TOF
T. Wenzel[1], S. Klepel[1], S. Stumpf[1], T. Maier[1], M. Kostrzewa[1], P. Mogabure[2]
[1]Bruker daltonik GmbH, Bremen, Allemagne [2]Bruker Daltonique, Wissembourg, France

418 Analyse épidémiologique par spectrométrie de masse MALDI-TOF, potentiel et limites : perspectives
I. Burckhardt[2], S. Schütt[2], T. Maier[1], S. Zimmermann[2], C. Wendt[2], P. Mogabure[3]
[1]Bruker Daltonik GmbH, Bremen [2]University Hospital of Heidelberg, Institute of Hygiene, Department of Medical microbology and Hygiene, Heidelberg, Allemagne [3]Bruker Daltonique, Wissembourg, France

419 Optimization of the acceptance criteria for identification results of Gram negative rods obtained with matrix-assisted laser description ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)
A. De Bel, I. Wybo, K. Vandoorslaer, P. Rosseel, S. Lauwers
Department of Microbiology and Infection Control, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels, Belgique

420 Évaluation du spectromètre de masse AXIMA SARAMIS SIRWEB-MALDI-TOF pour l'identification d'espèce des légionelles par MALDI-TOF-MS
C. Ginevra[1], O. Dauwalder[1], N. Baida[2], H. Meugnier[1], A.M. Freydiere[1], F. Vandenesch[1], J. Etienne[1], S. Jarraud[1]
[1]Hospices civils de Lyon, Centre National de Référence des Légionelles, Groupement Hospitalier Est, Lyon [2]I2A, Perols, France

421 Identification bactérienne par spectrométrie de masse AXIMA SARAMIS SIRWEB-MALDI-TOF : application à un laboratoire hospitalier de bactériologie médicale
H. Meugnier[1], A.M. Freydiere[1], N. Baida[2], Y. Benito[1], M. Badoz[1], M. Chomarat[3], S. Boisset[1], P. Girardo[1], M.E. Reverdy[1], J. Etienne[1], G. Lina[1], F. Vandenesch[1], O. Dauwalder[1]
[1]Laboratoire de bactériologie – Institut de microbiologie – Centre de Biologie et Pathologie Est – Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon-Bron [2]I2A, Parc de la Méditerranée – Agglomération de Montpellier, Perols [3]Laboratoire de bactériologie – Centre de Biologie de Pathologie Sud – Groupement Hospitalier Sud, Hospices Civils de Lyon, Pierre Bénite, France

422 Identification des bactéries par MALDI-TOF-MS au laboratoire de microbiologie : état des lieux après une utilisation de 6 mois en routine

A. Ferroni, B. Dauphin, J.L. Beretti, J. Meyer, P. Descamps, E. Bille, H. Lecuyer, P. Berche, X. Nassif
Microbiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

423 Identification de l'espèce *S. aureus* par spectrométrie de masse : comparaison avec d'autres techniques

Z. Ouchenane, F. Smati, J.M. Rolain, D. Raoult
Bactériologie, Hôpital Militaire Universitaire de Constantine, Constantine, Algérie

424 Performances de la spectrométrie de masse pour l'identification des staphylocoques à coagulase négative isolées d'hémocultures

J.L. Donay[2], R. Lepeule[2], L. Raskine[1], M. Lafaurie[2], E. Cambau[2]
[1]Microbiologie, Hôpital Lariboisière [2]Microbiologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

INFECTIONS ASSOCIÉES AUX SOINS (EPIDÉMIOLOGIE, POLITIQUE ANTIBIOTHÉRAPIE, PRÉVENTION)
CARE-ASSOCIATED INFECTIONS (EPIDEMIOLOGY, ANTIBIOTHERAPY POLICY, PREVENTION)

425 Faut-il procéder à un dépistage du portage de *Pseudomonas aeruginosa* dans les services de réanimation ?

C. Slekovec, M. Thouverez, X. Bertrand, D. Talon
Hygiène hospitalière, CHU de Besançon, Besançon, France

426 Risque infectieux à *Pseudomonas aeruginosa* associé aux soins : 3 années de suivi au CHU d'Amiens

C.C. Adjidé[2], M. Biendo[2-1], S. Abraham[2], R. Weiss[2], O. Obin[2], F. Lamory[2], C. Lesueur[1], L. Trouillet[2], H. Mammeri[1], F. Eb[1], J. Merlin[2], O. Ganry[2]
[1]Laboratoire de bactériologie [2]Unité d'hygiène et épidémiologie hospitalière, service d'hygiène hospitalière, d'épidémiologie et de santé publique, CHU, Amiens, France

427 Impact du traitement antibiotique sur le niveau de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* (P.a.) collectées par paires sur des patients souffrant d'une pneumonie nosocomiale dans cinq hôpitaux belges

M. Riou[7], S. Carbonnelle[7], L. Avrain[8], Y. Glupczynski[9], J. Pirnay[5], D. De Vos[5-1], A. Simon[3], S. Pierard[6], F. Jacobs[4], A. Dediste[2], P. Tulkens[7], F. Van Bambeke[7]
[1]Vrije Universiteit Brussel, Brussel [2]Laboratoire de microbiologie, Centre hospitalo-universitaire Saint-Pierre [3]Laboratoire de microbiologie, Cliniques universitaires St-Luc [4]Service des maladies infectieuses, Hôpital Erasme [5]Queen Astrid Military Hospital [6]Laboratorium voor microbiologie, Universitair Ziekenhuis Brussel [7]Unité de pharmacologie cellulaire et moléculaire, Université catholique de Louvain, Bruxelles [8]Coris Biococept s.a., Gembloux [9]Laboratoire de microbiologie, Cliniques universitaires UCL de Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

428 Facteurs individuels et collectifs associés à la prévalence des patients infectés par *Pseudomonas aeruginosa* dans les établissements de santé de l'inter-région Est : une approche multiniveau

H. Gbaguidi-Haore[1-2], P. Cholley[1-2], X. Bertrand[1-2], C. Rabaud[3], D. Talon[3-1-2]
[1]Service d'Hygiène Hospitalière, CHU de Besançon [2]UMR CNRS 6249, Université de Franche-Comté, Besançon [3]CCLIN-EST, Nancy, France

429 Étude multicentrique prospective des prélèvements positifs à bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGN-NF) : données cliniques

H. Jacquier[9], S. Corvec[5], A. Le Monnier[4], J.R. Zahar[7], F. Jauréguy[1], E. Carbonnelle[6], V. Finhman[3], J. Tankovic[8], V. Cattoir[2]

[1]Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Avicenne, AP-HP, Bobigny [2]Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen [3]Microbiologie-Hygiène, CHU Louis Mourier, AP-HP, Colombes [4]Laboratoire de Microbiologie, CH Versailles, Le Chesnay [5]Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes, Nantes [6]Microbiologie, CHU Européen Georges Pompidou [7]Microbiologie-Hygiène, CHU Necker-Enfants Malades, AP-HP [8]Bactériologie-Virologie, CHU Saint-Antoine, AP-HP, [9]Bactériologie-Virologie, Groupe Hospitalier Lariboisière-Fernand Widal, AP-HP, Paris, Paris, France

430 Évaluation du risque infectieux associé aux *Stenotrophomonas maltophilia* isolés de prélèvements à visée diagnostique : *étude rétrospective sur 4 ans au CHU d'Amiens*

C.C. Adjidé[2], S. Abraham[2], M. Biendo[2-1], R. Weiss[2], O. Obin[2], F. Lamory[2], C. Lesueur[1], L. Trouillet[2], F. Eb[1], O. Ganry[2]

[1]Laboratoire de bactériologie [2]Unité d'hygiène et épidémiologie hospitalière, service d'hygiène hospitalière, d'épidémiologie et de santé publique, CHU, Amiens, France

431 *Pseudomonas* (anciennement *Flavimonas*) *oryzihabitans*, à propos de 5 cas d'infection sur cathéter

V. Fihman[2], M.H. Odièvre[3], C. Deschamps[2], E. Sanni[3], A. Courpon[2], G. Barnaud[2], B. Mesples[3], B. Coffin[1], N. Parez[3], C. Branger[2]

[1]Hépato-Gastro-Entérologie [2]Microbiologie [3]Pédiatrie, CHU Louis Mourier, APHP, Colombes, France

432 Impact of *Acinetobacter baumannii* infection on mortality of burn patients

L. Thabet[2], K. Bousselmi[1], R. Ghanem[2], A. Messadi[1]

[1]Burn Intensive Care, Tunis [2]Laboratory, Traumatology and Burn Center, Tunisia, Tunisie

433 Intérêt de la tigécycline dans le traitement des infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus epidermidis* résistant à la méticilline (SERM)

N. Asseray[2], P. Bemer[1], S. Corvec[1], D. Boutoille[2], S. Touchais[3], D. Navas[4]

[1]Bactériologie [2]Maladies Infectieuses [3]Orthopédie-Traumatologie [4]Pharmacie Hospitalière, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

434 High-dose vancomycin continuous infusion for methicillin-resistant staphylococcal Pprosthetic hip infection : A prospective study

V. Dubée[3], V. Zeller[2], L. Lhotellier[2], M.D. Kitzis[1], S. Klouche[2], P. Leclerc[2], P. Mamoudy[2], J.M. Ziza[3], N. Desplaces[4]

[1]Service de Bactériologie, Fondation Hôpital Saint Joseph [2]Service de chirurgie osseuse et traumatologie [3]Service de médecine interne et rhumatologie [4]Service de microbiologie, Groupe Hospitalier Diaconesses Croix Saint Simon, Paris, France

435 Optimisation de la prescription d'antibiotiques liée aux hémocultures positives à staphylocoques à coagulase négative : intérêt d'une équipe mobile

R. Lepeule, M. Lafaurie, J.L. Donay, E. Cambau

Microbiologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France

436 Infections à *Clostridium difficile* (ICD) : étude de l'impact de l'antibiothérapie par approche comparative prospective de type cas-témoins

C. Leprince, C. Bourigault, M.E. Juvin, A. Reynaud, S. Corvec, D. Lepelletier

Bactériologie-Hygiène, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France

437 Cas groupés d'infections nosocomiales à *Escherichia coli* producteur de bêta-lactamase à spectre étendu (*E. coli* BLSE) suite à un cathétérisme rétrograde des voies biliaires : importance de la collaboration entre infectiologue, équipe opérationnelle d'hygiène et laboratoire

E. Beclin[5], S. Dekeyser[3], S. Nguyen[2], B. Quesnel[1], C. Plane[1], D. Descamps[3-4]

[1]Hépato-Gastroentérologie [2]Infectiologie [3]Laboratoire [4]Présidente du Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales [5]Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales, CH Germon et Gauthier, Béthune, France

438 Contrôle microbilogique des endoscopes au CHU de Brest : bilan de janvier 2007 à mai 2009

P. Saliou[1], R. Baron[1], M. Cosse[1], B. Lejeune[1-2]

[1]Laboratoire d'Hygiène Hospitalière, CHRU de Brest [2]Santé Publique, CS 93837, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France

439 Bactériologie des prélèvements trachéaux au service de soins intensifs au CHU Constantine, 2007-2008

Y. Atia, C. Bentchouala, A. Bendjama, H. Laouar, A. Lezzar, K. Benlabed, F. Smati

Service de Microbiologie, CHU Constantine, Constantine, Algérie

440 Épidémiologie et traitement antibiotique des bactériémies à entérocoques au CHU de Brest

M. Guillouët[2], R. Le Berre[3], G. Héry-Arnaud[1]

[1]Laboratoire de microbiologie [2]Service d'anesthésie réanimation [3]Service de maladies infectieuses, Brest, France

441 Méningite à *E. coli* produisant une bêta-lactamase à spectre étendu dans un contexte de portage digestif épidémique dans un service de néonatalogie

B. Salauze[1], D. Moissenet[1], D. Mitanchez[2], E. Bingen[3], G. Arlet[4], A. Mérens[5], H. Vu-Thien[1]

[1]Service de Microbiologie [2]Service de Néonatologie, Hôpital Armand Trousseau [3]Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré [4]Service de Microbiologie, Hôpital Tenon, Paris [5]Laboratoire de Biologie, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France

442 Infections de pontages vasculaires : étude rétrospective sur 7 ans au CHU de Rouen

C. Tabone Ledan, J.L. Pons, N. Frebourg

Laboratoire de Bactériologie, CHU, Rouen, France

443 Enquête de prévalence des infections nosocomiales au CHU de Tizi-Ouzou : évaluation au cours de l'année 2008

F. Toudeft[1], N. Bekri[1], D. Haouchine[2], A. Azzam[2], M. Saadi[1], N. Zahem[1], S. Khati[1], N. Halli[1], B. Arridj[1], L. Bellil[1]

[1]Epidémiologie et Médecine Préventive [2]Microbiologie, Centre Hospitalo-Universitaire, Tizi-Ouzou, Algérie

444 Aérosol d'eau colonisée généré par les lavabos : risque de légionellose nosocomiale

M. Reyrolle[1], C. Landelle[2], C. Mazure[3], M.C. Nicolle[2], C. Ginevra[1], S. Jarraud[1], J. Etienne[1], P. Vanhems[2]

[1]Centre de référence des légionelles GHE, institut de microbiologie INSERM U851 HCL, Bron [2]Unité d'épidémiologie HEH, UMR CNRS 5558, Lyon [3]RD, Bio rad, Marnes La Coquette, France

445 Évaluation du risque tuberculeux chez le personnel soignant du service des Urgences du CH de Meaux grâce au dosage de l'interféron gamma

F. Faibis[3], D. Castelain[4], M.C. Moreau[4], J. Tellier[4], A. Dekimeche[1], H. Ittah-Desmeulles[2], A. Fiacre[3], M.C. Demachy[3]

[1]Centre de Lutte Anti-Tuberculeuse [2]Equipe Opérationnelle d'Hygiène Hospitalière [3]Laboratoire de Microbiologie [4]Service de Santé au Travail, CH de Meaux, Meaux, France

446 Entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) : nos messages sont-ils audibles ? Expérience de l'Equipe Opérationnelle (EOH) du CHU Necker-Enfants Malades

L. Letourneur[1-2], H. Lecuyer[1], A. Talbi[1], I. Alaabouche[2], S. Zornoza[2], P. Husson[2], P. Descamps[1], X. Nassif[1], J.R. Zahar[1-2]

[1]Bactériologie-Hygiène Hospitalière [2]Equipe Opérationnelle d'hygiène, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France

447 Impacts de la rétro-information de l'épidémiologie des bactéries multi résistantes et d'un audit sur l'implication du personnel dans la lutte contre la transmission croisée dans une réanimation médicale

D. Lecointe[4-2], R. Beauvais[4-2], C. Théodora[4], S. Kubab[2-1], C. Malbrunot[2-1], D. Caen[3]

[1]Bactériologie Clinique [2]Service de Microbiologie-Hygiène [3]Service de Réanimation [4]UF d'hygiène hospitalière et de lutte contre les infections nosocomiales, Centre Hospitalier Sud-Francilien, Corbeil-Essonnes, France

448 **Comparaison de l'intradermoréaction (IDR) et du Quantiferon Gold-in Tube (QFT) chez des sujets âgés institutionnalisés exposés à un cas de tuberculose pulmonaire bacillifère**

E. Haustraete[3], B. Malbruny[2], H. Pitre[4], M.A. Salaün[1], G. Zalcman[3], E. Bergot[3-1]

[1]Centre de Prévention des maladies infectieiuses [2]Microbiologie [3]Pneumologie, CHU, Caen [4]Résidence des Costils, Vire, France

vendredi *Friday* 4 décembre *December* | **09:00 15:30** | **HALL BORDEAUX** | AFFICHE *Poster* | 80A

VIROLOGIE 2
VIROLOGY (2)

449 **Étude longitudinale des infections à virus BK chez les patients adultes recevant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques**

J. Corneille[2-3], N. Dhédin[1], C. Deback[2-3], J.P. Vernant[1], H. Agut[2-3], D. Boutolleau[2-3]

[1]Service d'Hématologie Clinique [2]Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière [3]ER1 DETIV, Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Paris, France

450 **Détection du cytomégalovirus dans les paillettes de sperme de donneurs séropositfs en IgM vis-à-vis du cytomégalovirus**

M.C. Mazeron[7], J.L. Bresson[1], M. Chalet[5], J.M. Grillo[4], S. Hennebicq[3], P. Jouannet[6], A. Sauvalle[2], M.J. Sanson Le Pors[8]

[1]CECOS Besançon Franche Comté, Besançon [2]CECOS Caen, Caen [3]CECOS Grenoble, La Tronche [4]CECOS Marseille, Marseille [5]CECOS Montpellier, Montpellier [6]CECOS Paris Cochin [7]Laboratoire associé au CNR Cytomégalovirus, service de Bactériologie-Virologie [8]Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France

451 **HIV-1 modulates the activity and the expression of Indoleamine, 2-3, dioxygenase activity in primary culture of human monocytes-derived macrophages**

B. Maneglier[5-2], B. Malleret[2], G.J. Guillemin[1], O. Spreux-Varoquaux[5], P. Therond[4], C. Rogez-Kreuz[3], P. Clayette[3]

[1]Neuroinflammation Unit, Faculty of medicine, University of New South Wales, Sydney, Australie [2]Service de neurovirologie, CEA de Fontenay-aux-Roses [3]Laboratoire de neurovirologie, SPI-BIO, Fontenay-aux-Roses [4]Service de biologie, CH de Versailles [5]Unité de pharmacologie, UFR médicale Paris Ile-de-France ouest, Le Chesnay, France

452 **Carcinome épidermoïde du rectum et restauration immunitaire, à propos d'un cas**

C. Sattler, J. Leporrier, S. Greffe, C. Dupont, I. Bourgault, E. Rouveix

Médecine interne 5, AP-HP, Boulogne, France

453 **Traitement de l'hépatite C : entre efficacité virologique et entraves au traitement**

A. Mammeri, N. Messalhi, F. Drardja, Z. Boudiaf, M. Aidaoui, Z. Boumaza, A. Trima, M. Laouar

Maladies Infectieuses, CHU d'Annaba, Annaba, Algérie

454 **Prévalence et épidémiologie moléculaire de l'infection par les virus de l'hépatite B (VHB) et de l'hépatite Delta (VHD) en Mauritanie**

W. Mansour[1], M. Abdou-Chekaraou[2], E. Ishagh[3], P. Veillon[1], F. Le Gal[2], B. Lô[4], M. Aye[3], E. Gordien[2], F. Lunel-Fabiani[1]

[1]Laboratoire de Virologie, CHU d'Angers, France. Laboratoire HIFIH UPRES EA 3859, Faculté de Médecine d'Angers, Angers [2]Laboratoire de Virologie, Associé au CNR des Hépatites B, C et Delta, Hôpital Avicenne, Bobigny, France [3]Médecine Interne, Centre Hospitalier National (CHN) [4]Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), Nouakchott, Mauritanie

455 **Risque transfusionnel de l'hépatite E dans le centre Tunisien**

N. Hannachi[1], M. Marzouk[1], S. Mhalla[1], R. Hassen[1], H. Skouri[2], J. Boukadida[1]

[1]Laboratoire de microbiologie-immunologie, Unité de recherche UR 02SP13, CHU F. Hached [2]Laboratoire d'hématologie et banque du sang, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie

456 Hépatite B : présence de l'antigène HBs sans anticorps anti-HBc chez un couple

V. Nègre[1], C. Léonnet[1], L. Villeneuve[1], S. De Montigny[1], S. Gallet[1], J.D. Poveda[2], P. Stolidi[1]

[1]Centre Hospitalier Edmond Garcin, Aubagne [2]Laboratoire Cerba, Cergy-Pontoise, France

457 Hépatite E chez le patient immunodéprimé : à propos de deux cas à Angers

F. Oca[2], H. Le Guillou-Guillemette[2], N. Dib[1], A. Ducancelle[2], E. Nicand[3], S. Tessé[3], P. Calès[1], F. Lunel-Fabiani[2]

[1]Service d'hépato-gastroentérologie-UPRES EA 3859, CHU Angers [2]Laboratoire de virologie-UPRES EA 3859, CHU d'Angers, Angers [3]Service de biologie, CNR VHE, Hôpital Instruction des armées du Val de Grâce, Paris, France

458 Portage de l'antigène HBs : étude de 172 cas

A. Mustapha[2], B. Hammami[2], M. Attar[2], I. Maaloul[2], C.H. Marrakchi[2], D. Lahiani[2], H. Karray[1], M. Ben Jemâa[2]

[1]Laboratoire de microbiologie [2]Service des maladies infectieuses, Sfax, Tunisie

459 Les hépatites fulminantes observées en infectiologie : étude de 12 cas

A. Mustapha[2], B. Hammami[2], D. Lahiani[2], I. Maaloul[2], C.H. Marrakchi[2], H. Karray[1], M. Ben Jemâa[2]

[1]Laboratoire de microbiologie [2]Service des maladies infectieuses, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

460 Diversité génétique d'un génotype rare du virus de l'hépatite A

D. Desbois, E. Couturier, A. Graube, E. Dussaix, A.M. Roque-Afonso

Laboratoire de Virologie, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

461 Étude de l'expression et l'antigénicité des petites protéines S-HDAg du virus de l'hépatite delta de clade 1, 6 et 8

B. Bloquel[5], J.C. Cortay[3-6], M.B. Villiers[2], S. Cortès[2], C. Sureau[7], C. Marquette[4-6], P.N. Marche[2], B. Lina[3-6], F. Zoulim[5-6], P. Dény[5-1]

[1]LACNR Hépatites B, C et delta, Hôpital Avicenne, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris 13, Bobigny [2]U823, INSERM, Grenoble [3]FRE3011 [4]UMR 5246, CNRS [5]U871, INSERM [6]Université Lyon-I, Lyon [7]INTS, Paris, France

462 Recherche et identification des *adénovirus*, *entérovirus, astrovirus et norovirus* dans des eaux usées épurées au Maroc : études de cas de deux stations d'épuration marocaines

H. Amdiouni[1-2], N. Oubrim[1], N. Fariat[1], L. Benabbes[1], N. Cohen[1], A. Soukri[2], J. Nourlil[1]

[1]Institut Pasteur du Maroc [2]Faculté des sciences Ain Choc, Université Hassan II, Casablanca, Maroc

463 Activité vis-à-vis du cytomégalovirus du ganciclovir et de l'artésunate dans des cellules astrocytaires humaines

N. Schnepf, J. Corvo, M.J. Sanson Le Pors, M.C. Mazeron

Laboratoire associé au CNR Cytomégalovirus, service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France

464 Vaccination contre l'hépatite B chez les adultes sains : effet du sexe et de l'âge. Deux protocoles de rappel pour les non répondeurs

J. Choucair, Z. Sleiman

Maladies infectieuses, Hôtel Dieu, Beyrouth, Liban

465 Protection des souris contre le virus Influenza (H1N1) après stimulation du récepteur PAR2

K. Khoufache[3], F. Lebouder[3], E. Morello[3], N. Lejal[3], F. Laurent[6], S. Riffault[3], P. Andrade-Gordon[2], S. Boullier[4], P. Rousset[5], N. Vergnolle[5-1], B. Riteau[3]

[1]Department of Pharmacology and Therapeutics, University of Calgary, Alberta, Canada [2]Johnson Pharmaceutical Research and Development, Laboratory, Spring House, Etats-Unis [3]Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires, INRA, Jouy-en-Josas [4]UMR1225, Ecole Nationale Vétérinaire [5]Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan, INSERM, Toulouse [6]Unité d'Infectiologie Animale et Santé Publique (UR1282), INRA, Tours, France

466 Évaluation de pratique vaccinale : immunogénicité du vaccin Repevax (dTPca) administré 1 mois après un vaccin Revaxis (dTP) chez des adultes sans antécédents vaccinaux connus

S. Larnaudie[3], N. Guiso[6], C. Baptiste[2], C. Desaint[4], L. Deforges[1], P. Lebon[5], B. Soubeyrand[2], O. Launay[4]

[1]Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital Henri Mondor, Créteil [2]Direction Médicale, Sanofi Pasteur MSD, Lyon [3]Service de vaccination, DASES [4]CIC de Vaccinologie Cochin Pasteur, Groupe Hospitalier Cochin Saint Vincent de Paul, Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, INSERM [5]Service de Virologie, Hôpital Saint Vincent de Paul [6]Unité de Prévention et Thérapies Moléculaires des Maladies Humaines, URA-CNRS 3012 - Institut Pasteur, Paris, France

INFECTIONS COMMUNAUTAIRES
COMMUNITY ACQUIRED INFECTIONS

467 Sensibilité aux antibiotiques des *E. coli* isolés d'infections urinaires communautaires à Elbeuf et son agglomération (Normandie), novembre 2008 - octobre 2009

R. Fabre[1], F. Lefebvre[2], B. Maurer[1], G. Epifanoff[1], F. Cerutti[1], D. Tardif[1], H. Pupin[1], I. Ternois[1]

[1]Label Bio, Elbeuf [2]DRASS, Haute Normandie, France

468 *Staphylococcus saprophyticus* dans les infections urinaires communautaires : épidémiologie et sensibilité aux antibiotiques (Étude Label Bio Elbeuf/novembre 2007- juillet 2009)

R. Fabre[1], A. Mérens[2], L. Sagaert[1], G. Epifanoff[1], F. Cerutti[1], D. Tardif[1], J.D. Cavallo[2], I. Ternois[1]

[1]LABEL BIO, Elbeuf [2]Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France

469 Évaluation de la prise en charge des infections urinaires de l'adulte au service d'accueil et traitement des urgences (SAU) du centre hospitalier de Dreux

P. Dubosq[3], E. Revue[4], P. Fombeur[2], J. Miranda[4], F. Coulomb[1]

[1]Hygiène [2]Pharmacie [3]Réanimation [4]SAU, Centre Hospitalier de Dreux, Dreux, France

470 Évaluation des pratiques cliniques au CH de Béthune : surveillance des bactériémies communautaires et associées aux soins sur une période de 7 mois

S. Nguyen[4], S. Dekeyser[1], E. Beclin[3], D. Descamps[1-2]

[1]Laboratoire [2]Présidente du comité de lutte contre les infections nososcomiales [3]Unité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales [4]Unité d'infectiologie, CH Béthune, Béthune, France

471 Bactériémies dans un CHG : de la qualité du diagnostic à la qualité du traitement

J. Marchandot[1], L. Giraudon[2], B. Lamy[1]

[1]Laboratoire [2]Pharmacie, CH du Bassin de Thau, Sète, France

472 Les endocardites infectieuses à staphylocoques : à propos de 34 cas

L. Ammari[2], H. Tiouiri Benaissa[2], I. Belaiba[2], A. Ghoubantini[2], B. Kilani[2], F. Kanoun[2], C. Fendri[1], T. Ben Chaabane[2]

[1]Laboratoire de microbiologie [2]Maladies infectieuses, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

473 Pneumonies nécrosantes à *S. aureus* producteurs de PVL : à propos de 3 cas et de l'intérêt d'une antibiothérapie anti-toxinique précoce

N. Rouzic[1], F. Janvier[3], N. Libert[4], E. Javouhey[2], G. Lina[1], J.Y. Nizou[3], D. Stamm[2], L. Brinquin[4], F. Vandenesch[1], D. Floret[2], J. Etienne[1], Y. Gillet[1-2]

[1]Centre National de Référence des staphylocoques [2]Service d'Urgences et de Réanimation Pédiatriques, Centre Hospitalier Universitaire, Lyon [3]Service de Biologie Médicale [4]Service de Réanimation, Hôpital d'Instruction des Armées du Val de Grâce, Paris, France

474 PVL-Positive *S. aureus* strongly associated with pyomyositis

T. Ahoyo[1], L. Baba-Moussa[2], W. Moussaoui[4], M. Atindehou[2], K. Dramane[3], A. Sanni[2], G. Prévost[4]

[1]EPAC-University of Abomey-Calavi [2]LBBM-FAST- University of Abomey-Calavi [3]LHP-FAST- University of Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin [4]Bacteriology Institute- UdS-HUS Strasbourg, Strasbourg, France

475 The emerging threat of livestock-associated *Staphylococcus aureus* : First case report of lethal necrotizing pneumonia caused by a Panton-Valentine leukocidin-positive ST398 strain

J.P. Rasigade[4-1-3], M. Bes[4-1-2], Y. Gillet[1], P. Hubert[5], G. Lina[4-1-2], F. Vandenesch[4-1-2], J. Etienne[4-1-2], F. Laurent[4-1-3]

[1]Centre National de Référence des Staphylocoques [2]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Est [3]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon [4]INSERM U851, Université Lyon1, Lyon [5]Service de Réanimation Pédiatrique, Groupe Hospitalier Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

476 Variabilité des souches de *Staphylococcus epidermidis* (SE) isolées d'infections ostéo-articulaires (IOA) chroniques

B. Henry[1], C. Corvec[1], S. Touchais[3], D. Boutoille[2], M.E. Juvin[1], L. Crémet[1], C. Bourigault[1], A. Reynaud[1], P. Bemer[1]

[1]Bactériologie-Hygiène [2]Maladies infectieuses [3]Orthopédie-Traumatologie, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France

477 Diffusion communautaire des *Escherichia coli* uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi

A. Ferjani, M. Marzouk, N. Hannachi, J. Boukadida

Laboratoire de microbiologie, UR02SP13, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

478 Dermohypodermite nécrosante à *Staphylococcus sciuri*

N. Rouzic[3], G. Héry-Arnaud[1-4], M. Bes[5], G. Le Lay[1], R. Gérard[2], M. Garré[3]

[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service d'Orthopédie-Traumatologie [3]Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Universitaire [4]Université de Bretagne Occidentale, Brest [5]Centre National de Référence des Staphylocoques, Centre Hospitalier Universitaire, Lyon, France

479 Caractéristiques épidémiologiques des souches de streptocoque du groupe A responsables d'angines aiguës chez l'enfant dans la région de Sfax (Tunisie)

S. Mezghani Maalej[1], N. Boujelbène[1], M. Rekik[1], M. Boudaouara[2], F. Mahjoubi[1], A. Hammami[1]

[1]Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba [2]Policlinique CNSS, Sfax, Tunisie

480 Serological follow-up of pertussis cases in Belgium in the period 1990-2008

R. Vanhoof, R. Eylenbosch, Y. Mans, C. Rodeghiero, J. Swalus-Steenhouwer

Bacterial Serology, Institute Public Health, Bruxelles, Belgique

481 Écologie bactérienne des gastroentérites communautaires : étude rétrospective sur 1 an à Strasbourg (1 854 coprocultures)

T. Gueudet, C. Rieder-Monch, J.M. Rousée

Laboratoire Schuh Bio67, Strasbourg, France

482 Place des bactéries anaérobies dans les infections ostéo-articulaires (IOA) : étude rétrospective 2007-2008

M. Illiaquer[1], C. Corvec[1], S. Touchais[3], N. Asseray[2], M.E. Juvin[1], L. Crémet[1], C. Bourigault[1], A. Reynaud[1], P. Bemer[1]

[1]Bactériologie-Hygiène [2]Maladies infectieuses [3]Orthopédie-Traumatologie, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France

483 Infection ostéo-articulaire à *Pasteurella bettyae*

C. Le Brun[2], A. Rameh[1], P. Antoun[1], P. Riegel[4], O. Gaillot[3]

[1]Chirurgie orthopédique [2]Microbiologie, CH de Cholet, Cholet [3]Bactériologie, CNR Haemophilus, Lille [4]Bactériologie, HUS, Strasbourg, France

484 La vaginose bactérienne chez la femme enceinte au CHRU de Tours en 2006 et 2007

V. Morange[1], A. Jouanneau[2], G. Baty[1], A. Holstein[1], P. Lanotte[1], L. Mereghetti[1], A. Goudeau[1]

[1]Service de Bactériologie-Virologie, CHRU Bretonneau [2]Ecole de sage-femme, Tours, France

485 Gonococcie disséminée chez un patient porteur d'un déficit en complément : de la suspicion clinique à la détection génomique

R. Le Berre[4], N. Rouzic[4], B. Sassolas[2], G. Héry-Arnaud[1], D. Ponard[5], S. Ansart[4], S. Jousse-Joulin[3], B. Garo[4], M. Garré[4]

[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service de Dermatologie [3]Service de Rhumatologie [4]Service des Maladies Infectieuses, Brest [5]Laboratoire d'Immunologie, Centre Hospitalier Universitaire, Grenoble, France

486 Échec de la doxycycline lors du traitement d'une lymphogranulomatose vénérienne

F. Méchaï[3], M. Billhot[3], B. de Barbeyrac[1], A. Mérens[2], P. Imbert[3], C. Rapp[3]

[1]Laboratoire de bactériologie, Centre National de Référence des Chlamydiae, Université Victor Ségalen, Bordeaux [2]Fédération de biologie clinique [3]Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital d'instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France

487 Abcès hépatiques à *Klebsiella pneumoniae* compliqués de métastase septique oculaire : une maladie émergente en France ?

C. Ficko[3], P. Imbert[3], A. Mérens[2], P. Bossi[1], M. Billhot[3], C. De Moreuil[3], F. Méchaï[3], C. Rapp[3]

[1]Maladies infectieuses, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris [2]Biologie [3]Maladies infectieuses, HIA Bégin, Saint Mandé, France

488 Œdème périorbitaire révélateur d'une mononucléose infectieuse de l'adulte

N. Rouzic, S. Ansart, R. Le Berre, B. Garo, M. Garré

Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Universitaire, Brest, France

489 Analyse du liquide céphalo-rachidien (LCR) en cas de méningite tuberculeuse : données collectées par le réseau AZAY-Mycobactéries

P. Bemer, Groupe Azay-Mycobacteries, M.J. Gouzerh, C. Besson, A. Reynaud

Bactériologie-Hygiène, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France

490 Les formes neurologiques de la rickettsiose

M. Koubâa[2], D. Lahiani[2], C.H. Marrakchi[2], A. Mustapha[2], A. Znasen[1], I. Maaloul[2], B. Hammami[2], A. Hammami[1], M. Ben Jemâa[2]

[1]Service de microbiologie, CHU Habib Bourguiba [2]Service des maladies infectieuses, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

491 Méningite à anaérobies de cause rectale : à propos de 2 cas

R. Fuerea[2], C. Ripert[2], E. Salles-Thomasson[2], A. Brachet[1], B. Martha[2], S. Durupt[3]

[1]Chirurgie Viscérale [2]Médecine Interne et Maladies Infectieuses, CH William Morey, Chalon-sur-Saone [3]Médecine Interne, CHU Lyon Sud, Lyon, France

492 Premier cas de méningite à *Streptococcus australis*

G. Héry-Arnaud[1-3], N. Rouzic[2], A. Doloy[4], G. Le Lay[1], M. Garré[2], C. Poyart[4], C.H. Payan[1-3]

[1]Bactériologie [2]Maladies Infectieuses, CHU de Brest [3]EA 3882-IFR 148, Université de Bretagne Occidentale, Brest [4]Bactériologie-CNR des Streptocoques, Hôpital Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France

493 Infection respiratoire à *Pasteurella pneumotropica* chez une patiente présentant un déficit en alpha-1-antitrypsine

M. Martin[2], T. Guillard[2], V. Duval[2], L. Brasme[2], C. David[2], V. Vernet-Garnier[2], F. Lebargy[1], C. De Champs[2]

[1]Service de Maladies respiratoires et allergiques - Oncologie thoracique, CHU, Hôpital Maison Blanche [2]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU, Hôpital Robert Debré, Reims, France

494 Premier cas d'infection respiratoire aiguë à *Rothia aeria* chez un patient sous anti-TNF

J. Michon[2], D. Jeulin[3], J.M. Lang[1], R. Leclercq[2], V. Cattoir[2]

[1]Cabinet de médecine générale, Bretteville-Sur-Odon [2]Microbiologie, CHU Côte de Nacre [3]LABM Beaulieu, Caen, France

495 Émergence de babésioses en Alsace

M. Martinot[1], L. Federici[1], M. Mohseni Zadeh[1], S. Aguillon[1], Y. Hansmann[3], I. Grawey[1], A. Chauvin[2], D. De Briel[1]

[1]Hôpital Pasteur, Colmar [2]Parasitologie/UMR 1300 Ecole nationale vétérinaire, Nantes [3]HUS, Strasbourg, France

496 Épidémiologie de la rage humaine : maladie mythique, toujours d'actualité en Algérie et dans la wilaya de Tizi-Ouzou

N. Achour[3], A. Mouloua[4], N. Kitous[2], A. Boughoufela[1]

[1]INSP, Alger [2]Epidémiologie [3]Maladies infectieuses, CHU Tizi-Ouzou [4]Institut vétérinaire Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou, Algérie

497 Experience during Influenza A H1N1 (IAH1N1) pandemia at a general hospital in Córdoba, Argentina

N. Spitale, M. Montamat, A. Sanchez, S. Arrúa, S. Frola, R. Brito, A. Minguez

Infectious Disease, Hospital Misericordia, Córdoba, Argentine

498 Contrôle d'une hyper-endémie d'infections invasives à méningocoque B en Seine-Maritime

I. Parent du Châtelet[5], M. Taha[2], J.P. Leroy[7-3], V. Delbos[7], M. Blanchard[1], N. Bohic[1], G. Berthelot[6], S. Henry[4], I. Morer[8], F. Caron[7]

[1]Cellule interrégionale d'épidémiologie de Haute-Normandie [2]Centre national de référence des méningocoques [3]Direction Départementale des affaires sanitaires et sociales de Seine-Maritime [4]Direction générale de la santé [5]Institut de veille sanitaire [6]CHG de Dieppe, Dieppe [7]CHU de Rouen, Rouen [8]Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Saint Denis, France

82A	AFFICHE *Poster*	**HALL BORDEAUX**	**09:00 15:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

TROP PIQUE - TROPIQUES
EXCESSIVE STING-TROPICS

499 Punaises de lits : émergence ou méconnaissance

J.M. Bérenger, H. Chardon, L. Maulin, E. Lagier, O. Bellon

Service de diagnostic des maladies infectieuses, Centre Hospitalier du pays d'Aix, Aix-en-Provence, France

500 Prévalence des événements de santé, facteurs de risque et mortalité dans une cohorte prospective de migrants africains retournant au pays pour des vacances

O. Bouchaud[1], J. Bottero[3], S. Genty[1], P. Ralaimazava[1], N. Godineau[4], S. Matheron[2], A. Fontanet[3]

[1]Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Avicenne-APHP et Université Paris 13, Bobigny [2]Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital Bichat-APHP [3]Unité d'épidémiologie des maladies émergentes, Institut Pasteur, Paris [4]Parasitologie, Hôpital Delafontaine, Saint Denis, France

501 Parcours de soins des accès palustres à *Plasmodium falciparum* : évaluation de la qualité de la prise en charge au Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux entre janvier 2004 et décembre 2008

A. Dubrasquet, M.C. Receveur, M. Pillot-Debelleix, T. Pistone, D. Malvy

Service de médecine interne et des maladies tropicales, Hôpital Saint-André, Centre hospitalo-universitaire, Bordeaux, France

83A	AFFICHE *Poster*	**HALL BORDEAUX**	**09:00 15:30**	vendredi *Friday* 4 décembre *December*

EPIDÉMIOLOGIE DES GRAM NÉGATIF
GRAM NEGATIVE EPIDEMIOLOGY

502 Évolution de la résistance des principales espèces bactériennes isolées d'hémocultures de 1996 à 2008 dans les hôpitaux français non universitaires, étude de l'observatoire des résistances du colBVH

P. Pina[2], O. Gallon[2], J.W. Decousser[1], COLBvh[2]

[1]Laboratoire de Bactériologie- Hygiène, AP-HP CHU Antoine Béclère, Clamart [2]Laboratoire Hygiène, CH de Dourdan, Dourdan, France

503 Évolution sur 2 ans de la sensibilité aux antibiotiques (ATB) des souches bactériennes isolées dans l'unité d'oncologie médicale et hématologie de Corse du Sud. Impact économique du suivi

P. Guillet[2], P. Revole[2], N. Khobta[2], V. Orabona[3], D. Berte-Pesquie[4], P. Valayer[4], M.P. Quilichini[1], A. Noble[2]

[1]CLIN [2]Oncologie médicale et hématologie [3]Pharmacie, CH Castelluccio [4]Laboratoire de Bactériologie, CH de la Miséricorde, Ajaccio, France

504 *Acinetobacter baumannii* : fréquence, répartition et résistance des souches isolées à l'hôpital Bologhine Ibn Ziri Bainem, Alger

W. Amhis, L. Benbetka, N. Sahel, S. Benmesbah, L. Badredine

Unité de microbiologie, Laboratoire central de biologie, Hôpital Bologhine Ibn Ziri, Alger, Algérie

505 Comparative *in vitro* activity of Levofloxacin (LEV) against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from intensive care unit

C. Lascols[2], J.D. Cavallo[6], H.B. Drugeon[4], R. Leclercq[1], A. Mérens[6], C. Muller-Serieys[5], M. Roussel-Delvallez[3], C.J. Soussy[2]

[1]CHU Côte de Nacre, Caen [2]CHU Henri Mondor, Créteil [3]CHU A. Calmette, Lille [4]CHU Laennec, Nantes [5]CHU Bichat, Paris [6]HIA Bégin, Saint Mandé, France

506 *Pseudomonas aeruginosa* produisant la métallo-bêta-lactamase VIM-4 en Algérie

T. Naas[2], G. Cuzon[2], A. Stifa[2], A. Wahiba[1], P. Nordmann[2]

[1]Microbiologie, Hôpital Bologhine, Alger, Algérie [2]Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU du Kremlin-Bicêtre - INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

507 Profil de résistance des entérobactéries isolées d'infections urinaires au CHU Hassan II de Fès

N. Benseddik, G. Yahyaoui, M. Mahmoud, A. Amarti

Microbiologie, CHU Hassan II, Fes, Maroc

508 *Escherichia coli* et résistance aux antibiotiques (2002-2006)

F. Sahli

Microbiologie, Faculté de médecine de Sétif, Sétif, Algérie

509 Nitrofuranes et entérobactéries BLSE urinaires : pourquoi pas ?

P. Honderlick, P. Cahen, J. Gravisse, D. Vignon

Microbiologie, Hôpital Foch, Suresnes, France

510 Analyse multi-locus de 131 isolats cliniques et environnementaux du genre *Aeromonas*

F. Roger[4], C. Duval[4], B. Lamy[4-5], A. Kodjo[2], E. Jumas-Bilak[4], Col BVH[1], H. Marchandin[4-3]

[1]Collège de Bactériologie-Virologie et Hygiène des hôpitaux, Le Chesnay [2]Laboratoire de Bactériologie, Ecole Vétérinaire, Lyon [3]Laboratoire de Bactériologie, CHRU de Montpellier [4]EA3755-DIBOP, Université Montpellier 1, Montpellier [5]Laboratoire de Bactériologie, CH du Bassin de Thau, Sète, France

511 Caractérisation des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu communautaires isolées au Maroc

A. Barguigua[1-3], F. Bourjilat[1-2], B. Bouchrif[1], M. Talmi[3], F. El Otmani[3], M. Timinouni[1]

[1]Laboratoire de Bactériologie Moléculaire [2]Laboratoire de Microbiologie, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca [3]Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences d'El Jadida, El Jadida, Maroc

512 Surveillance épidémiologique d'*Escherichia coli* sécréteur de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) dans les établissements de soins de la région Nord-Pas de Calais (NPDC)

C. Cattoen[7], K. Blanckaert[2], P. Cabaret[5], B. Grandbastien[4], I. Joly[1], T. Levent[6], M. Roussel-Delvallez[3]

[1]Hygiène, Centre Hospitalier, Dunkerque [2]Antenne régionale C.CLIN Paris-Nord [3]Bactériologie-Hygiène [4]Service de gestion du risque infectieux et des vigilances, CHRU, Lille [5]Réanimation, GHICL, Lomme [6]Hygiène, Maubeuge [7]Microbiologie, Centre Hospitalier, Valenciennes, France

513 **Épidémie à *Klebsiella pneumoniae* productrice de CTX-M-15 et hétérorésistance à l'imipénème**
S. Rekik, B. Mnif, S. Gargouri, M. Fourati, S. Mezghani Maalej, F. Mahjoubi, A. Hammami
Bactériologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

514 **Extended-spectrum beta-lactamases in ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from children in Tunisia**
N.H. Jlili[3], S. Réjiba[2], A. Novais[1], H. Smaoui[3], R. Canton[1], T. Coque[1], A. Kechrid[3]
[1]Servicio de Microbiologia, Hospital Universitario Ramon y Cajal, Madrid, Espagne [2]Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences [3]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunis, Tunisie

515 **Caractérisation moléculaire des bêta-lactamases à spectre étendu chez des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées à l'hôpital la Rabta de Tunis**
C. Harchay, A. B Othmen, M. Zribi, L. Ammari, A. Masmoudi, C. Fendri
Microbiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

516 **Émergence de souches d'*Enterobacter cloacae* de sensibilité diminuée à l'ertapénème au CHU de Limoges**
N. Hidri, O. Barraud, F. Garnier, C. Martin, F. Denis, M.C. Ploy
Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Limoges, Limoges, France

517 **Sensibilité de *Neisseria gonorrhoeae* aux antibiotiques à La Réunion**
O. Belmonte[1], C. Bencimon[2], C. Denoix[1], J.C. Saly[1], M.C. Jaffar-Bandjee[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie, CHR La Réunion, Site Félix Guyon [2]Laboratoire d'analyses médicales, Laboratoire Bionostic, Saint Denis, France

518 **Sequence-based typing of clinical *Legionella pneumophila* isolates from Belgium (2000-2009)**
W. Achtergael, O. Soetens, I. Wybo, B. De Saeger, L. Eeckhout, D. Pierard, S. Lauwers
Department of Microbiology and Infection Control, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels, Belgique

84A | AFFICHE *Poster* | **HALL BORDEAUX** | **09:00 15:30** | vendredi *Friday* 4 décembre *December*

MYCOBACTÉRIES
MYCOBACTERIA

519 **Détection de la résistance à l'isoniazide chez *Mycobacterium tuberculosis* : comparaison du système BACTEC MGIT960 (MGIT960), de la méthode des proportions en milieu solide (MP) et du test GenoType MTBDR *plus* (MTBDR *plus*)**
P. Bemer[1], M.J. Gouzerh[1], C. Besson[1], N. Veziris[2], W. Sougakoff[2], A. Reynaud[1]
[1]Bactériologie-Hygiène, CHU Hôtel-Dieu, Nantes [2]Centre national de référence des mycobactéries, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

520 **Détection d'ADN de *Mycobacterium tuberculosis* (MT) dans les prélèvements cliniques à l'aide du système Xpert® MTB/RIF : résultats préliminaires**
B. Malbruny, G. Le Marrec, R. Leclercq
Service de Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France

521 **Performances du test *Mycobacterium tuberculosis* Direct sur les échantillons extra-respiratoires (étude sur 1 538 échantillons)**
A. Zrara[1], M. Fabre[1], R. Vong[1], P. Saint-Blancard[1], P. Gérôme[2], A. Boudhas[1], C. Soler[1]
[1]Biologie médicale, HIA Percy, Clamart [2]Biologie médicale, HIA Desgenettes, Lyon, France

522 Évaluation du kit SD BIOLINE TB Ag MPT 64 Rapid, dans le cadre du diagnostic de la tuberculose

M. Fabre[1], R. Vong[1], F. Nouridjan[4], A. Mérens[3], T. Gaillard[4], P. Saint-Blancard[1], P. Gérôme[2], C. Soler[1]

[1]Biologie médicale, HIA Percy, Clamart [2]Biologie médicale, HIA Desgenettes, Lyon [3]Biologie médicale, HIA Bégin, Saint Mandé [4]Biologie médicale, HIA Saint-Anne, Toulon, France

523 Infections à mycobactéries de croissance rapide : caractéristiques cliniques, microbiologiques de 15 cas diagnostiqués au CHU de Montpellier

E. Chastan[6], H. Marchandin[5], H. Jean-Pierre[6], E. Oziol[1], G. Lefalher[3], R. Chiron[2], D. Terru[6], C. Carriere[6], S. Godreuil[6-4]

[1]Service de Médecine Interne, CHG de Béziers, Bézier [2]Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose, Service de Pneumologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve [3]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Gui De Chauliac, CHRU de Montpellier [4]Centre IRD de Montpellier, GEMI, UMR CNRS-IRD 2724 [5]Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Université Montpellier 1, EA3755, Faculté de Pharmacie [6]Laboratoire de Bactériologie-Virologie, hôpital Arnaud de Villeneuve, Université Montpellier 1, EA4205 et CHRU Montpellier, Montpellier, France

524 Le diagnostic de la tuberculose à microscopie négative par PCR. Expérience du CHU de Béni-Messous

H. Ammari, M. Hamidi, R. Djedjik, M. Ghafour

Laboratoire Central de Biologie, Centre Hospitalo-universitaire de Béni Messous, Alger, Algérie

525 Application du système de détection rapide du complexe *M. tuberculosis* et de la résistance à la rifampicine par le test Xpert® MTB/RIF aux prélèvements pulmonaires décontaminés, aux prélèvements non respiratoires et aux cultures

L. Deforges, J.M. Le Glaunec, N. Launay, R. Vergne, A. Minaret, M. Marzouk, P. Legrand

Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Henri Mondor, Créteil, France

526 La culture et l'antibiogramme de mycobactéries sur automate VersaTrek

A. Gravet, C. Lohmann, F. Schmitt, J.M. Delarbre

Laboratoire de Microbiologie, CH de Mulhouse - Hôpital Emile Muller, Mulhouse, France

527 Performances du kit MTBDRplus® dans le cadre de la surveillance de la résistance à la rifampicine chez *Mycobacterium tuberculosis*

M. Fabre[1], Y. Hauck[2], C. Pourcel[2], G. Vergnaud[2], C. Soler[1]

[1]Bactériologie, HIA Percy, Clamart [2]Institut de génétique et microbiologie, Université Paris Sud, CNRS UMR8621, Orsay, France

528 Prevalence of katG315 and mabA 15C→T mutations in *Mycobacterium tuberculosis* isoniazid-resistant clinical strains

A. Soudani[3], S. Hadjfredj[2], M. Zribi[3], F. Messaadi[1], T. Messaoud[2], A. Masmoudi[3], M. Zribi[1], C. Fendri[3]

[1]Laboratoire d'hygiène, Hôpital Hedi Chaker, Sfax [2]Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, Hôpital d'enfants [3]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

529 Application d'une micro-méthode colorimétrique REMA (*resazurin microtiter assay*) pour le test rapide de résistance sur des souches de *Mycobacterium tuberculosis*

F. Nateche[2-1], A. Martin[4], F. Mechouet[2], S. Baraka[2], O. Chabati[3], N. Zidouni[3], J.C. Palomino[4], F. Portaels[4], S. Khaled[2]

[1]Laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire, Faculté de biologie, USTHB [2]Laboratoire central, Hôpital el Hadi Flici Ex El Kettar [3]Matiben, Hôpital Issad Hacene, Alger, Algérie [4]Laboratoire de mycobactériologie, Institut de médecine tropicale, Anvers, Belgique

INFECTIONS PÉDIATRIQUES
PAEDIATRIC INFECTIONS

530 ***Staphylococcus aureus*** **méticillino-résistant en pédiatrie**

A. Filleron[2-1], E. Jeziorski[2], M. Rodière[2], H. Marchandin[1-3]

[1]Laboratoire de Bactériologie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve [2]Service de Pédiatrie III, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, [3]EA3755, Université Montpellier 1, Montpellier, France

531 **High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriacea* carriage in a pediatric unit in Madagascar**

F. Randrianirina[3], T. Andriatahina[2], A. Talarmin[3], H. Raobijaona[2], Y. Buisson[1], V. Richard[3]

[1]Institut de la Francophonie pour la Médecine Tropicale, Ventiane, Laos [2]Hôpital Joseph Ravoahangy Andrianavalona [3]Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo, Madagascar

532 **Multiples abcès cérébraux à *Pseudomonas luteola* chez un jeune garçon immunocompétent**

A. Gaschet[4-1], C. Engrand[3], C. Piau[1], J. Violette[1], P. Bétrémieux[3], P. Tattevin[2], P. Pladys[3], P.Y. Donnio[4-1], A. Jolivet-Gougeon[4-1]

[1]CHU Pontchaillou, Laboratoire de Bactériologie [2]CHU Pontchaillou, Maladies infectieuses [3]CHU Pontchaillou, Réanimation pédiatrique [4]EA1254 Microbiologie, Université de Rennes 1, Rennes, France

533 **Méningite néonatale à *E. coli* K1 producteur de CTX-M-1 : résistance et virulence conciliées**

D. Dubois[2], L. Bret[3], M. Roujou-Gris[3], R. Mittal[1], N.V. Prasadarao[1], R. Bonnet[2]

[1]University of Southern California, Los Angeles, Ca, Etats-Unis [2]Bactériologie, Faculté de Médecine, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand [3]Hôpital La Source, Orléans, France

534 **Infection materno-fœtale précoce à *Neisseria meningitidis* de sérogroupe B**

F. Garnier[1], O. Barraud[1], S. Ketterer[2], A. Bedu[2], F. Denis[1], M.C. Ploy[1]

[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]Service de Réanimation néo natale, CHU Dupuytren, Limoges, France

535 **Phylogenetic groups and virulence factors of pathogenic neonatal *E. coli***

M.F. Prère, O. Fayet

LMGM, UMR5100-CNRS, Université P. Sabatier, Toulouse, France

536 **Méningite néonatale tardive à *Ureaplasma parvum***

Y. Aujard[3], A. Gaudin[3], A.M. Bodiou[3], C.S. Hovannisyan[3], L. Maury[3], C. Farnoux[3], S. Bonacorsi[2], H. Boutignon[1], O. Baud[3]

[1]Pédiatrie, Centre Hospitalier, Compiègne [2]Microbiologie [3]Réanimation et Pédiatrie néonatales, Hôpital Robert Debré, Paris, France

537 **Septicémies récurrentes à *Kocuria rhizophila* chez une enfant de 3 ans**

D. Moissenet[2], B. Pigneur[1], A. Mérens[3], B. Salauze[2], B. Dubern[1], H. Vu-Thien[2]

[1]Service de Gastro-Entérologie-Nutrition [2]Service de Microbiologie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris [3]Laboratoire de Biologie, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France

538 **L'équitation, une pratique à risque… à propos d'un abcès parapharyngé à *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus***

A. Gaschet[3-1], N. Zouggarh[2], C. Piau[1], J. Violette[1], P.Y. Donnio[3-1], G. Le Clech[2], A. Jolivet-Gougeon[3-1]

[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale,, CHU Pontchaillou [3]EA1254 Microbiologie, Université de Rennes 1, Rennes, France

539 Suivi prospectif des cas d'infections fongiques invasives en pédiatrie au CHU de Rennes entre 1998 et 2008 : particularités épidémiologiques

J.P. Gangneux[1], P. Sok[2], A.S. Drogoul[1], S. Chevrier[1], C. Guiguen[1], E. Le Gall[2], V. Gandemer[2]

[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [2]Service de Médecine de l'enfant et de l'adolescent, Centre Hospitalier Universitaire, Rennes, France

540 Trichosporonose disséminée avec localisation cardiaque en oncologie pédiatrique : à propos d'un cas ayant régressé sous posaconazole et revue de la littérature

C. Piau[1], V. Gandemer[2], S. Taque[2], J. Bonneau[2], E. Le Gall[2], C. Guiguen[1], J.P. Gangneux[1]

[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [2]Service de Médecine de l'enfant et de l'adolescent, Centre Hospitalier Universitaire, Rennes, France

541 Infections cutanées à *Staphylococcus aureus* de l'enfant en milieu communautaire à Abidjan : méticillino-résistance et production d'exfoliatine

A. Kacou N'Douba[1-2], E.A. Kazali[1], A. Kouablan[1], S. Koffi[1-2], E. Ekaza[1], M. Dosso[1]

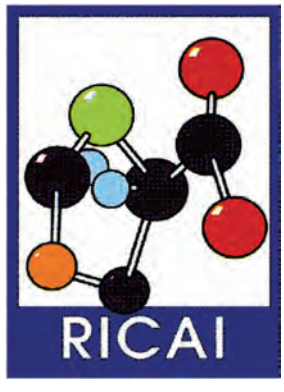
[1]Unité de Bactériologie Clinique, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire [2]UFR des Sciences médicales d'Abidjan, Abidjan, Côte d ivoire

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 125
For free session abstracts please refer to the section starting page 125

46/10o — 3 décembre 2009 - 11:00 - 341

Florilèges des avis du Haut Conseil de Santé Publique

C. Perronne

Au nom de la Commission Maladies transmissibles. Haut Conseil de Santé Publique, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France

La Commission Maladies transmissibles du Haut Conseil de Santé Publique (HCSP) a rendu plusieurs avis au cours de l'année 2009. En dehors des avis sur la grippe pandémique, diverses maladies infectieuses ont fait l'objet de recommandations :

1. Pour les voyageurs, il existe des recommandations pour les nouveaux vaccins (encéphalite japonaise, vaccin quadrivalent antiméningococcique Mencevax*), pour le traitement par primaquine des accès palustres à *Plasmodium vivax ou P. ovale*, et pour la prévention de l'introduction de la fièvre jaune à Mayotte.

2. La prévention de la coqueluche étant insuffisante en France, à l'échelon individuel et pour la gestion de cas groupés dans les collectivités de soins, les modalités de vaccination ont été modifiées et simplifiées avec notamment l'introduction d'un rappel systématique chez les adultes âgés de 26 à 28 ans. Pour le diagnostic, l'importance de l'amplification génique (PCR) a été rappelée.

3. La France, tout comme le continent européen, s'est engagée dans l'élimination de la rougeole et de la rubéole pour 2010. Les mesures de vaccination ont été renforcées avec une deuxième dose de vaccin systématique plus précoce et recommandation de vacciner les adultes non immunisés par la maladie naturelle. L'existence récente d'épidémies de rougeole en France souligne l'enjeu.

4. Des données récentes ont permis de simplifier la vaccination anti-pneumococcique conjuguée (vaccin heptavalent) des nourrissons en supprimant une dose (2 doses au lieu de 3 doses).

5. A l'occasion des foyers d'infections sévères à *Clostridium difficile* dans le nord de la France, les mesures de prévention dans les établissements de santé ont été revues.

6. La vaccination grippale saisonnière pour l'enfant et la femme enceinte a fait l'objet de précisions.

7. De nouvelles recommandations ont été faites pour les hépatites virales A, E et B. Le rattrapage de la vaccination hépatite B en 2 doses est maintenant possible chez l'adolescent. Ceci est d'autant plus important que l'on constate une augmentation de l'épidémie d'hépatite B en France.

8. Le HCSP a aidé à la gestion de l'épidémie de méningite à méningocoque B de type B:14 : P1.7, 16 en Seine Maritime.

9. Une vaccination systématique des nourrissons contre le méningocoque C a été recommandée et devrait être mise en place prochainement.

Référence : Avis du Haut Conseil de la Santé Publique : www.hcsp.fr

56/12s — 3 décembre 2009 - 11:40 - 342B

Antibiotiques locaux ou antiseptiques dans les dermatoses primitivement infectieuses ou les dermatoses surinfectées

L. Machet

Service de Dermatologie, CHRU de Tours, Inserm U930, Université François Rabelais, Tours, France

Les traitements locaux ont une place importante en dermatologie; ils permettent de délivrer localement des quantités suffisantes de principe actif en minimisant les risques de toxicité systémique. Les antiseptiques ou les antibiotiques locaux sont couramment employés dans le traitement des infections cutanées primitives ou des surinfections de plaies chroniques ou de dermatoses, sans toujours bien connaître les indications, le spectre d'action ou les effets indésirables des antiseptiques ou des antibiotiques locaux (1-3).

La flore cutanée : La peau saine est colonisée par de nombreux micro-organismes dont *Staphylococcus epidermidis* (>50% de la flore résidente). *Staphylococcus aureus* n'est pas un hôte normal de la flore cutanée résidente, sauf dans certaines régions. De façon transitoire la peau peut être colonisée par différents germes dont le streptocoque A.

La peau pathologique est colonisée par les constituants de la flore cutanée normale et par d'autres germes (*S. aureus, Pseudomonas aeruginosa*,...). Dans la dermatite atopique, le staphylocoque doré est présent dans 70% prélèvements réalisés sur des lésions d'eczéma (et ce d'autant plus que la dermatose est profuse) , et dans 42% des prélèvements réalisés en peau apparemment saine, contre 5% de prélèvements positifs pour *S. aureus* chez des témoins.

Les antiseptiques, c'est pas automatique…

Ce titre est celui d'un éditorial récent (3), qui exprime bien le problème. Au nom de l'hygiène, nous mettons des antiseptiques partout et souvent, au nom du principe de précaution et en pensant que même si cela ne fait pas de bien, cela ne saurait faire de mal. Or ils ont des effets secondaires: toxicité directe pour les kératinocytes (retard de cicatrisation), sensibilisation (eczéma, urticaire, anaphylaxie), toxicité systémique surtout chez les prématurés et acquisition de résistances. Il faudrait donc évaluer comme pour les médicaments le rapport bénéfice/risque. Il y a très peu de preuves de l'utilité des antiseptiques dans le traitement ou la prévention des rechutes des infections bactériennes superficielles de la peau. En pratique les bonnes indications sont: prévention de la transmission manuelle de germes, antisepsie pré-opératoire, grands brûlés, prévention de l'infection des plaies souillées pour diminuer l'inoculum bactérien mais seulement après qu'un lavage prolongé et un parage ont été réalisés, et, peut-être, les soins du cordon ombilical (4, 5).

Dans quelles situations peut-on traiter par antibiotiques locaux ?

L'impetigo : Cette infection d'origine très souvent staphylococcique fait l'objet de débats : traitement local ou oral ? De nombreuses études dont 2 métanalyses en 2003 et 2004 ont montré que les antibiotiques locaux, acide fusidique (Fucidine®) ou muporicine (Bactroban®, Mupiderm®) étaient supérieurs au placebo et au moins aussi efficace que les antibiotiques oraux (érythromycine, cloxacilline, flucoxacilline) (6,7). Les effets secondaires sont purement locaux: ils doivent donc être prescrits en première intention en l'absence de signe de gravité (fièvre, impétigo très étendu). La retapamuline (Altabax®) est un antibiotique topique de la nouvelle classe des pleuromutilines, actif sur *Streptococcus pyogenes* et *Staphylococcus aurus* y compris methi-R. Son efficacité dans quelques essais randomisés est similaire à celle de l'acide fusidique topique et d'une céphalosporine de première génération per os (8,9). L'agence européenne du médicament a donné son agréement dans l'indication de l'impétigo localisé (moins de 100 cm2) chez l'adulte et l'enfant de plus de 9 mois.

L'érythrasma : C'est une infection bénigne des plis à *Corynebacterium minitissimun*. Hamann et Thorn ont comparé l'érythromycine orale à la fucidine locale et au placebo chez 86 malades traités en double aveugle pendant 14 jours (10). Le taux de guérison est de 87% dans le groupe Fucidine®, de 77% dans le groupe érythromycine (différence entre les 2 traitements non significative) et de 42% dans le groupe placebo (p=0,01).

Folliculites et furoncles : La muporicine (Bactroban®) prescrite dans des infections primaires (folliculites, furonculoses) est supérieure au placebo.

La dermatite atopique : Le rôle du staphylocoque est avancé par certain dans le déclenchement des poussées. La colonisation régresse avec un antistaphylococcique local comme la mupirocine mais aussi lorsque des dermocorticoïdes seuls sont appliqués: il n'y a pas d'indication, sauf impétigo vrai. (11)

L'acné : L'érythromycine, la clindamycine, l'acide fusidique ont une efficacité supérieure au placebo dans l'acné. L'érythromycine et la clindamycine par voie locale sont dans certaines études aussi efficace qu'une cycline orale. La sélection de germes résistants intervient rapidement et constitue un argument pour certains pour préférer les autres traitements locaux non antibiotiques de l'acné.

Prévention de l'infection des plaies récentes : Une étude en double aveugle a montré que les plaies récentes, parées et suturées s'infectaient moins après une antibiothérapie locale (12). Le taux d'infections était de 5,5% avec la bacitracine, 4,5% avec l'association néomycine-bacitracine-polymyxine, 12,1% avec la sulfadiazine argentique et 17.6% avec la vaseline qui servait de témoin (p=0,003). Cela n'implique pas que ce soit une indication systématique !

L'éradication du portage du staphylocoque : La prescription courte de la mupirocine est plus efficace que les autres antibiotiques locaux, avec une recolonisation moins rapide des gîtes (13). L'efficacité de la retapamuline est également démontrée.

En conclusion, les antiseptiques sont probablement trop employés car le niveau de preuve de leur efficacité dans le traitement des infections cutanées superficielles et des surinfections cutanées est faible. Les antibiotiques locaux, acide fusidique ou mupirocine, ont un intérêt réel, avec un rapport bénéfice/risque en leur faveur, dans des infections cutanées localisées bénignes : impétigo, echtyma, furoncle (14) par comparaison à une antibiothérapie systémique.

Références :

1. Machet L, Martin L, Vaillant L. Infections bactériennes cutanées superficielles folliculaires et non follliculaires. Encycl. Med. Chir. (Elsevier, Paris), Dermatologie, 98-330-A-10,2008,8p.

2. Machet L, Wolkenstein P, Vaillant L. Antibiotiques locaux. Ann Dermatol Venereol 2000;127 :425-31.

3. Vaillant L. Les antiseptiques: c'est pas automatique. Ann Dermatol Venereol 2005;132:949-52.

4. Janssen PA, Selwood BL, Dobson SR, Peacock D, Thiessen PN. To dye or not to dye: a randomized, clinical trial of a triple dye/alcohol regime versus dry cord care. Pediatrics. 2003;111:15-20.

5. Chamnanvanakij S, Decharachakul K, Rasamimaree P, Vanprapar N. A randomized study of 3 umbilical cord care regimens at home in thai neonates: comparison of time to umbilical cord separation, parental satisfaction and bacterial colonization. J Med Assoc Thai 2005;88:967-72.

6. George A, Rubin G. A systematic review and meta-analysis of treatments for impetigo. Br J Gen Pract. 2003;53:480-7.

7. Koning S, Verhagen AP, van Suijlekom-Smit LW, Morris A, Butler CC, van der Wouden JC. Interventions for impetigo. Cochrane Database Syst Rev. 2004;(2):CD003261.

8. Odou MF, Muller C, Calvet L, Dubreuil L. In vitro activity against anaerobes of retapamulin, a new topical antibiotic for treatment of skin infections. **J** Antimicrob Chemother 2007;59:646-51.

9. Parish LC, Jorizzo JL, Breton JJ, Hirman JW, Scangarella NE, Shawar RM, White SM; SB275833/032 Study Team.Topical retapamulin ointment (1%, wt/wt) twice daily for 5 days versus oral cephalexin twice daily for 10 days in the treatment of secondarily infected dermatitis: results of a randomized controlled trial. J Am Acad Dermatol. 2006;55:1003-13.

10. Hamann K, Thorn P. Systemic or local treatment of erythrasma ? A comparison between erythromycin and Fucidin cream in general practice.

Scand J Prim Health Care 1991 ;9 :35-9.

11. Birnie AJ, Bath-Hextall FJ, Ravenscroft JC, Williams HC. Interventions to reduce Staphylococcus aureus in the management of atopic eczema. Cochrane Database Syst Rev. 2008 Jul 16;(3):CD003871.

12. Dire DJ, Coppola M, Dwyer DA, Lorette JJ, Karr JL. Prospective evaluation of topical antibiotics for preventing infections in uncomplicated soft-tissue wounds repaired in the ED. Acad Emerg Med 1995;2:4-10.

13. McConeghy KW, Mikolich DJ, LaPlante KL. Agents for the decolonization of methicillin-resistant Staphylococcus aureus. Pharmacotherapy 2009;29:263-80.

14. Gelmetti C. Local antibiotics in dermatology. Dermatol Ther 2008;21:187-95.

66/14s — 3 décembre 2009 - 11:40 - 351

Utilisation en virologie médicale des systèmes PCR-DNA *microarrays*

N. Lévêque[1-2], F. Renois[1-2], L. Andréoletti[1-2]
[1]Laboratoire de Virologie médicale et moléculaire, CHU Robert Debré [2]EA 4303/IFR53, Faculté de médecine de Reims, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

Les virus responsables chez l'Homme d'infections respiratoires ou d'infections du système nerveux central sont très nombreux, en particulier chez l'immunodéprimé. Près de 10 virus sont couramment la cause d'infections respiratoires basses communautaires tandis que l'étude initiée en 2007 par l'INVS portant sur le diagnostic étiologique des cas d'encéphalites concernait près de 21 virus neurotropes différents (1). Ces virus présentent, en outre, une grande hétérogénéité en termes de structure (ADN ou ARN, présence ou absence d'une enveloppe), de séquence nucléotidique et de capacité à se répliquer sur les systèmes cellulaires usuels. On comprend alors la difficulté à obtenir un diagnostic virologique exhaustif de la bronchiolite infantile ou de l'encéphalite virale. Les stratégies diagnostiques actuelles correspondant à l'utilisation des techniques de détection d'antigènes viraux (immunochromatographie et immunofluorescence) et d'isolement du virus sur cellules en culture ne permettent, au mieux, que de mettre en évidence 7 virus à tropisme respiratoire différents tandis que la détection moléculaire, virus par virus, du génome viral dans le liquide céphalorachidien se limite, dans la plupart des cas, aux herpesviridae et aux entérovirus. Un grand nombre d'agents viraux pneumotropes ou neurotropes majeurs échappent de ce fait au diagnostic virologique de routine.

Dans ce contexte, le recours au système PCR-DNA microarray a démontré tout son intérêt car il offre la possibilité de détecter simultanément de 9 à 17 virus qu'ils soient à ARN ou à ADN sur une même biopuce à partir d'un même échantillon biologique dans un délai de 8 heures suivant l'arrivée du prélèvement au laboratoire. Cette technologie combine une étape d'amplification génomique multiplex, pouvant être conduite sur n'importe quel thermocycleur traditionnel, et une étape d'hybridation des produits de PCR biotinylés sur sondes spécifiques fixées sur une micropuce à ADN de basse densité disposée en tube unitaire ou en barrette de 8 puits. Une étape d'incubation en présence d'un conjugué streptavidine porteur d'une peroxidase permet la fixation de l'enzyme et la précipitation du substrat, le O-dianisidine, sur les sites où sont fixés les produits amplifiés. La lecture des spots se fait ensuite sur un lecteur dédié. L'incorporation d'un contrôle interne d'inhibition permet enfin de détecter la présence d'inhibiteurs de PCR.

Plusieurs trousses faisant appel à cette technologie sont actuellement commercialisées par la société Genomica (Madrid, Espagne). Une évaluation clinique des trousses CLART-pneumovir® et CLART-Entherpex® a été conduite en 2008-2009 au sein du laboratoire de virologie du CHU de Reims (2, 3). CLART-pneumovir® rend possible la détection rapide et simultanée de 17 virus à tropisme respiratoires comprenant les adénovirus, le bocavirus, les coronavirus, les entérovirus, les virus influenzae de types A, B et C, les métapneumovirus A et B, les virus parainfluenzae 1, 2, 3 et 4, les VRS A et B et, enfin, les rhinovirus. Cent trente-huit aspirations naso-pharyngées de nourrissons (âgés de 0 à 12 mois) admis, entre Octobre 2007 et Décembre 2008, dans le service de pédiatrie du CHU de Reims pour bronchiolite aiguë ont été rétrospectivement analysées par PCR-ADN microarray et les résultats confrontés à ceux obtenus des techniques virologiques « classiques » (culture cellulaire et d'immunofluorescence autorisant la détection du VRS, des virus influenzae A et B, des virus parainfluenzae 1, 2 et 3 et des adénovirus). La fréquence de détection des virus respiratoires était significativement plus élevée en utilisant le test PCR-ADN microarray par rapport aux techniques virologiques classiques (89% vs 70%, $p<10^{-3}$) correspondant à la fois à la mise en évidence de virus non ou difficilement « cultivables » (bocavirus, rhinovirus…) mais également des virus dits «classiques » (VRS, virus influenzae A et B) (70% vs 78,26%, p=0,0106). Aucune infection multiple n'avait été initialement mise en évidence par les techniques conventionnelles. Le test PCR-ADN microarray a détecté 84 (68%) co-infections virales dont les plus fréquentes étaient: VRS-Bocavirus (32%) VRS-Adenovirus (18%) et Bocavirus-Adenovirus (13%). Plus récemment, l'analyse combinée par la trousse CLART-pneumovir® et la trousse Fluavir®, conçue pour permettre le sous-typage des virus influenzae A, de 18 prélèvements positifs pour la présence du virus influenza A/H1N1sw a également démontré l'existence d'infections respiratoires multiples impliquant le virus pandémique et des virus respiratoires communs (virus parainfluenzae + rhinovirus (4 cas), adénovirus (3 cas), et adénovirus + rhinovirus (3 cas)). L'utilisation des tests de PCR-ADN microarray constitue donc une méthode de choix pour la détection rapide des virus respiratoires classiques et nouvellement découverts ainsi que de la mise en évidence d'infections respiratoires multiples.

La trousse CLART-Entherpex® s'intéresse à la détection simultanée des 8 virus du groupe Herpès (HSV1 et 2, le VZV, l'EBV, le CMV, l'HHV6, 7 et 8) et des entérovirus à partir du liquide céphalorachidien. L'évaluation a été réalisée à partir de contrôles de qualité du Quality Control for Molecular Diagnostics (Glasgow, Scotland) dont les valeurs étaient comprises entre 10^2 et 10^3 copies/ml et de 47 LCR quantifiés analysés rétrospectivement (7 HSV1, 2 HSV2, 8 VZV, 4 EBV, 6 HHV6 et 20 entérovirus) afin de définir la sensibilité et la reproductibilité de la technique. La trousse Entherpex® a détecté dans 100% des cas les contrôles de qualité > 500 copies/ml pour l'HHV6 et > 1000 copies/ml pour les autres *Herpesviridae* testés. La limite de sensibilité a été estimée entre 166 copies/ml pour l'HHV6 (détecté 3 fois sur 4) et 220 copies pour l'HSV1 (détecté 2 fois sur 3). Pour les entérovirus, les contrôles de qualité équivalents à 280 et 390 copies/ml n'ont jamais été détectés lors des 4 analyses pratiquées tandis qu'une charge virale de 1480 copies/ml l'a été dans 75% des cas (3 fois sur 4). Ces résultats placent Entherpex® au même niveau de sensibilité que les techniques commerciales évaluées dans le cadre du QCMD. A partir des échantillons cliniques, la trousse entherpex a détecté 26 des 27 infections du système nerveux central à *Herpesviridae* et l'intégralité des 20 LCR entérovirus positifs sélectionnés. Seule une infection à EBV caractérisée par une charge virale non détectable (<500 copies/ml) n'a pas été diagnostiquée. Il est intéressant de noter la mise en évidence de 9 co-infections par l'HHV7 parmi les 20 LCR positifs pour la présence d'un entérovirus se traduisant par une durée d'hospitalisation des enfants souffrant de méningite aseptique significativement allongée. Il s'agit ici de la première description de co-infections entérovirus/HHV7 chez des patients présentant un tableau de méningite aseptique en période estivale. Si le statut de pathogène neurotrope des entérovirus est connu depuis longtemps, celui de l'HHV7 reste encore à démontrer. De futures études à plus large échelle devront confirmer ces résultats préliminaires et déterminer les conséquences en termes de pronostic clinique et de prise en charge thérapeutique de la co-infection par l'HHV7 (4).

En conclusion, ce nouveau système de PCR-ADN microarray constitue donc une technique sensible et spécifique permettant la détection rapide (en une journée de travail) et simultanée des virus à ARN et ADN. Elle se heurte, pour l'instant, à une absence d'automatisation et à un coût unitaire rendant problématique sa substitution aux techniques conventionnelles. Elle présente toutefois un intérêt majeur pour renforcer l'exhaustivité du diagnostic virologique que ce soit à partir des prélèvements respiratoires de nourrissons hospitalisés pour une bronchiolite aiguë ou dans le liquide céphalorachidiens de patients souffrant de méningo-encéphalites, point de départ du développement des futures stratégies thérapeutiques et préventives contre les infections virales.

1. McIntosh K. Community-acquired pneumonia in children. N Engl J Med. 2002 Feb 7;346(6):429-37.
2. Renois F., Huguenin A., Moutte L., Abely M., Bessaci K., Nenninger T., Lévêque N., Carrat F., Andréoletti L. Evaluation d'un nouveau test permettant la détection simultanée de 17 virus respiratoires par PCR-ADN microarray chez des nourrissons hospitalisés pour bronchiolite aiguë. Communication orale RICAI 2009.
3. Van Haecke A., Sandré A., Moutte L., Huguenin A., Renois F., Brodard V., Andréoletti L., Lévêque N. Evaluation d'une nouvelle trousse commerciale permettant la détection simultanée de 7 virus neurotropes par PCR-DNA microarrays. Présentation affichée Ricai 2009.
4. Van Haecke A., Sandré A., Moutte L., Huguenin A., Renois F., Brodard V., Andréoletti L., Lévêque N. L'HHV7 : co-facteur des infections méningées à entérovirus ? Présentation affichée Ricai 2009.

75/18SEP — 3 décembre 2009 - 15:00 - BORDEAUX

Production et mise à disposition du vaccin

L. Hessel
Policy Affairs, Europe - Sanofi Pasteur MSD, Lyon, France

La vaccination représente l'intervention médicale la plus efficace pour contrôler la grippe pendant les épidémies saisonnières. On espère qu'il en sera de même pour la pandémie A (H1N1) 2009 pour laquelle des vaccins monovalents ont été rapidement mis au point grâce aux travaux conduits depuis plusieurs années pour faire face à la menace de grippe aviaire au virus H5N1. Le développement de ces vaccins a représenté et représente encore une série de défis pour l'industrie. L'enjeu est effectivement de disposer de vaccins adaptés au(x) virus circulant(s) aussi rapidement que possible et en quantité suffisante dès la mise en place des campagnes de vaccination. Autant de défis dans les domaines scientifiques, de recherche & développement, que dans les aspects réglementaires et bien sûr les opérations industrielles.

A cela est venu s'ajouter la complexité logistique et technique d'enchaîner les campagnes de productions de différents vaccins. En effet, alors qu'on avait prévu de basculer entièrement les unités de production vers le vaccin pandémique, la demande de production des vaccins saisonniers a été maintenue par l'OMS. Ce qui veut dire que les vaccins pandémiques se sont ajoutés au schéma de production des vaccins saisonniers, et non pas substitués. D'où un planning complexe, une diminution du temps de production du vaccin pandémique pour permettre celle du vaccin saisonnier, impactant à terme la quantité de doses produites et leur délai de mise à disposition.

En effet, les vaccins A (H1N1)v sont produits dans les mêmes unités de production que ceux de la grippe saisonniers, selon les mêmes procédés de fabrication, nécessitant un délai de 4 à 6 mois entre l'identification de la souche virale et la disponibilité des premières doses. S'y ajoute l'impossibilité de stockage inhérent au caractère saisonnier de l'infection et aux mutations du virus. Il y a donc un lien étroit entre les capacités de production des vaccins saisonniers, de l'ordre de 500 millions de doses en 2009, et celle des vaccins pandémiques, dont la demande mondiale est théoriquement au moins douze fois plus importante.

Augmenter les capacités de production et/ou réduire le contenu antigénique

des vaccins pandémiques sont les meilleures façons de répondre à ce défi. La première a déjà aboutit à une augmentation significative, mais reste directement liée au niveau d'utilisation du vaccin grippal saisonnier. Si le vaccin pandémique est monovalent et non trivalent comme le saisonnier, le triplement potentiel de la capacité de production restera insuffisant pour répondre à la demande mondiale, surtout si la productivité de la souche pandémique est faible et si deux doses sont nécessaires pour assurer une protection efficace. Réduire le contenu antigénique pour pouvoir faire plus de doses avec la même quantité d'antigène s'appuie sur de nouvelles techniques de production, telles que l'utilisation de virus entiers et non fractionnés, ou l'incorporation d'adjuvants dans la formulation des vaccins. Plusieurs adjuvants de type "huile en eau" ont démontré leur capacité à réduire notablement le contenu antigénique des vaccins, jusqu'à quatre fois moins par rapport à la formulation du vaccin non adjuvé, tout en assurant une immunogénicité satisfaisante en une ou deux doses. Le potentiel de ces vaccins adjuvés à élargir une protection croisée contre des virus mutants de même type que le virus initial représente aussi un élément intéressant.

Les travaux engagés depuis bientôt 10 ans par les producteurs de vaccins pour se préparer à une pandémie grippale ont été couronnés de succès avec la mise au point, l'enregistrement et la production des premiers vaccins A (H1N1)v moins de 6 mois après la déclaration de la pandémie.

Restent néanmoins des actions prioritaires dans plusieurs domaines tels que :

1) L'adaptation des stratégies de vaccination: schémas vaccinaux, évaluation de la durée de protection et protection croisée contre des souches mutantes;

2) La surveillance à large échelle de l'efficacité et de la tolérance de ces vaccins;

3) Les aspects logistiques de conditionnement, de stockage, de distribution et de mise à disposition des doses de vaccins dans un très grand nombre de pays.

Autant d'actions sur lesquelles l'ensemble des acteurs, scientifiques, pouvoirs publics et industriels sont actuellement fortement mobilisés. Relever ces défis ne peut effectivement que se faire dans le cadre d'un partenariat étroit et transparent entre l'industrie, la communauté scientifique et les autorités de santé nationales et internationales.

Références

1. Hehme N, Colegate T, Palache B, Hessel L. Influenza vaccine supply: building long-term sustainability. Vaccine 2008;26S:D23-D26

2. Hessel, L, Vaccines. In Van-Tam, J. and Sellwood, C., Introduction to pandemic influenza. *Vaccines* CAB International 2009;118-35.

3. Hessel L and the European Vaccine Manufacturers (EVM) Influenza Working Group. Pandemic influenza vaccines: meeting the supply, distribution and deployment challenges. A practical guide to pandemic influenza vaccine supply. *Influenza and Other Respiratory Viruses* 2009.

4. Johansen K, Nicoll A, Ciancio BC, Kramarz P. Pandemic influenza A (H1N1) 2009 vaccines in the European Union. Eurosurveillance 2009;14(41):1-7.

83/20s — 3 décembre 2009 - 14:30 - 341

Cancers et infection à VIH

D. Costagliola

U943 INSERM et Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

Mon exposé sera principalement basé sur

- L'étude OncoVIH menée en France en 2006 avec le financement du cancéropôle Ile de France et de l'ANRS (1)
- L'analyse récemment publiée du rôle respectif de l'immunodépression, de la réplication virale et des combinaisons antirétrovirale sur le risque des cancers classant SIDA (lymphome non hodgkinien, le sarcome de Kaposi, le cancer du col de l'utérus) et des cancers non classant SIDA les plus fréquents (cancer du canal anal, maladie de Hodgkin, cancer du poumon, cancer de foie) dans le cadre de la cohorte ANRS CO4 FHDH, la base de données hospitalière française sur l'infection à VIH (2).

L'étude OncoVIH a eu pour objectif, chez les patients infectés par le VIH en France, de décrire la distribution des cancers, une des causes principales de morbidité et de mortalité, et la survie à un an après leur diagnostic. Il s'agissait d'une étude transversale avec un recueil prospectif des cancers diagnostiqués chez des patients infectés par le VIH entre le 01/01/2006 et le 31/12/2006. Les caractéristiques de l'infection à VIH et de la pathologie maligne au diagnostic du cancer, la survenue de décès et leur cause dans l'année suivant le diagnostic tumoral étaient recueillies. Pour comparer ces caractéristiques à celles des patients infectés par le VIH, des données ont été extraites de la cohorte ANRS CO4-FHDH. Au cours de l'étude, 694 cancers ont été signalés chez 690 patients dont 669 avec les caractéristiques disponibles au diagnostic tumoral. Parmi les 349 centres cliniques participant, 282 ont signalé au moins une tumeur. Les cancers les plus fréquents étaient le lymphome non hodgkinien (LNH, 21,5%), le sarcome de Kaposi (16,0%), le cancer pulmonaire (9,4%), le cancer du canal anal (8,2%), le lymphome de Hodgkin (7,6%), le cancer cutané non mélanome (6,8%) et l'hépatocarcinome (5,6%). L'âge médian au diagnostic de cancer était de 47 ans (étendue interquartile (EIQ)=41-55). Comparés aux patients infectés par le VIH suivis dans ANRS CO4-FHDH (454, EIQ=312-634), les nombres médians de CD4 au diagnostic tumoral étaient plus bas chez les patients diagnostiqués dans OncoVIH avec des cancers classant sida (193, EIQ=67-357 p<0,0001) et non classant (329, EIQ=193-500 p<0,0001). Les patients avec un cancer classant étaient moins souvent sous thérapie antirétrovirale avec une charge virale < 500 copies/mL que ceux suivis dans ANRS CO4-FHDH (23 % *versus* 67% p < 0,0001). Avec 185 décès, la survie globale à 1 an était de 72% [IC95% : 68-75%], avec des survies beaucoup plus courtes après un diagnostic de cancer pulmonaire (35%), d'hépatocarcinome (47%) et de LNH (65%). Au final en 2006, deux tiers des cancers diagnostiqués chez les patients infectés par le VIH étaient des cancers non classant sida. Nos résultats suggèrent que la prévention des cancers chez les patients infectés par le VIH requière un meilleur contrôle de la réplication du VIH et de l'immunodépression qui lui est associée en plus de la prévention des autres facteurs de risque, tel le tabagisme.

Dans l'étude au sein de la cohorte ANRS CO4-FHDH, nous avons inclus 52 278 patients suivis entre 1998 et 2006 (suivi médian de 4,9 années, EIQ : 2,1–7,9; 255 353 patients-années). Nous avons testé 78 modèles de régression de Poisson pour chaque cancer avec des définitions différentes de l'immunodépression, de la charge virale et du traitement antirétroviral. Le dernier taux de CD4 avant le diagnostic était le facteur le plus prédictif pour tous les cancers étudiés sauf le cancer du canal anal. Ainsi, par comparaison avec les patients dont le taux de CD4 est supérieur à 500/mm^3, les risques relatifs (RR) variaient de 1,9 (IC à 95% : 1,3–2,7) pour un taux de CD4 de 350–499/mm^3 à 25,2 (17,1–37,0) pour un taux inférieur à 50/mm3 pour le sarcome de Kaposi's (p<0,0001), de 1,3 (0,9–2,0) à 14,8 (9,7–22,6) pour le lymphome non-Hodgkinien (p<0,0001), de 1,2 (0,7–2,2) à 5,4 (2,4–12,1) pour la maladie de Hodgkin (p<0,0001), de 2,2 (1,3–3,6) à 8,5 (4,3–16,7) pour le cancer du poumon (p<0,0001), et de 2,0 (0,9–4·5) à 7,6 (2,7–20,8) pour le cancer du foie (p<0,0001). Pour le cancer du col, nous avons aussi observé un fort effet du dernier taux de CD4 (RR 0,7 par log2, IC à 95% 0,6–0,8; p=0,0002) sur le risque.

Le risque de sarcome de Kaposi et de lymphome non hodgkinien est plus élevé chez les patients dont la dernière charge virale est supérieure à 100 000 copies/ml par rapport aux patients ayant une charge virale contrôlée (RR 3,1, IC 0 95% 2,3–4,2, p<0,0001; et 2,9, 2,1–3,9, p<0,0001, respectivement) et le traitement antirétroviral est associé indépendamment de son effet sur la charge virale et l'immunodépression à une diminution du risque de ces 2 cancers (0,3, 0,2–0,4, p<0,0001; et 0,8, 0,6–1,0, p=0,07, respectivement). Le risque relatif de cancer du col de l'utérus était 0,5 (0,3–0,9; p=0·03) chez les patientes sous traitement antirétroviral. Enfin le risque de cancer du canal anal augmentait avec la durée passée avec un taux de CD4 <200/mm^3 (1,3 par an, 1,2–1,5; p=0,0001) et avec une charge virale supérieure à 100 000 copies/ml (1,2 par an, 1·,–1,4, p=0,005).

Au total les résultats de ces 2 études suggèrent que le traitement antirétroviral sera d'autant plus bénéfique s'il restaure ou maintient les CD4 au-dessus de 500 cellules/mm^3, ce qui implique un diagnostic plus précoce de l'infection à VIH ainsi qu'une initiation plus précoce du traitement antirétroviral. Il est par ailleurs important d'évaluer des programmes de dépistage spécifique de certains cancers (poumon, canal anal) dans la population infectée par le VIH.

Références

(1) Lanoy E, Spano JP, Bonnet F, Boué F, Cadranel J, Carcelain G, Couderc LJ, Frange P, Girard PM, Oksenhendler E, Poizot-Martin I, Semaille C, Agut H, Katlama C, Costagliola D et le groupe d'études OncoVIH. Cancers chez les patients infectés par le VIH en France en 2006 : l'étude OncoVIH. BEH 2008, 45-46: 443-447.

(2) Guiguet M, Boué F, Cadranel J, Lang JM, Rosenthal E, Costagliola D, on behalf of the Clinical Epidemiology Group of the FHDH-ANRS CO4 cohort. Eff ect of immunodefi ciency, HIV viral load, and antiretroviral therapy on the risk of individual malignancies (FHDH-ANRS CO4): a prospective cohort study. Lancet Oncology 2009, sous presse.

84/20s — 3 décembre 2009 - 14:50 - 341

Le carcinome à cellules de Merkel : un nouveau type de tumeur humaine viro-induite

X. Sastre-Garau

Service de Pathologie, Institut Curie, Paris, France

En 1972, C Toker[1] décrivait sous le nom de « carcinome trabéculaire de la peau » une tumeur cutanée ayant les caractères morphologiques d'un carcinome indifférencié à petites cellules. Ces tumeurs primitives, d'évolution grave, devaient être différenciées des tumeurs secondaires pouvant avoir le même aspect, en particulier des tumeurs d'origine broncho-pulmonaire. Le caractère neuro-endocrine de ces tumeurs cutanées a été rapporté dans un second temps[2, 3] et l'hypothèse a été émise que ces tumeurs dérivaient de cellules neuro-endocrines cutanées décrites par Merkel à la fin du XIXème siècle[4]. Les caractères anatomocliniques et évolutifs de ces tumeurs ont ensuite été décrits dans des études incluant un plus large nombre d'observations[5].

Cliniquement, le carcinome à cellules de Merkel est le plus souvent développé chez les sujets âgés ou immunodéprimés. Il se présente généralement comme un nodule dermique inflammatoire, persistant, des membres ou du tronc. Cette tumeur est très sensible aux traitements cytostatiques, chimiothérapie ou radiothérapie, mais son évolution reste grave dans environ la moitié des cas, d'abord par extension ganglionnaire loco-régionale puis par extension systémique, hépatique ou pulmonaire. Une augmentation de l'incidence a été rapportée aux USA[6].

Histologiquement, le carcinome à cellules de Merkel présente deux formes distinctes : la forme trabéculaire classique, observée dans environ 2/3 des cas, et une forme dite « diffuse », constituée de cellules non cohésives, indépendantes les unes des autres. Ce dernier aspect peut faire évoquer celui d'un lymphome.

En étudiant une série de cas de carcinome à cellules de Merkel, une équipe américaine a isolé en 2008 un nouveau virus, pour lequel les auteurs ont proposé le nom de « Merkel Cell Virus » ou MCPyV[7]. Ce virus, dont le génome

est une molécule d'ADN circulaire double brin, appartient à la famille des polyomavirus. Il est étroitement associé aux tumeurs à cellules de Merkel mais a également été trouvé dans des tissus non tumoraux.

Suivant cette découverte, de nombreux travaux ont été réalisés pour préciser l'assocation entre MCPyV et carcinome à cellules de Merkel[8-11]. La plupart des cas tumeur de Merkel sont associés au MCPyV mais des séquences virales ont également été détectées dans des tissus non tumoraux ou dans des tumeurs cutanées d'autres types histologiques. Notre expérience a essentiellement visé à rechercher des éléments suggérant que le MCPyV présente des propriétés oncogéniques[10]. Trois arguments allant dans ce sens ont été relevés : Des séquences de MCPyV ont été trouvées intégrées au génome cellulaire, sur un mode clonal, dans tous les cas analysés. Il n'a pas été observé de site récurrent d'intégration ni d'évidence d'altération de gènes cellulaires localisés près du site d'insertion. Les séquences virales intégrées sont exprimées dans les cellules carcinomateuses sous la forme de deux transcrits, t et T. Par ailleurs, l'association entre MCPyV et carcinome à cellules de Merkel est étroite, la même technique n'ayant pas mis en évidence de séquences virales dans une série de plus de 1000 tumeurs de différents types histologiques.

Des études sérologiques ont permis de documenter la séro-prévalence du MCPyV. Ces études ont mis en évidence une prévalence très élevée, de plus de 90%[12], dans la population générale.

De nombreux travaux restent à mener pour comprendre pourquoi ce virus très répandu exprime son potentiel oncogène dans une tumeur cutanée rare.

Références

1. Toker C. Trabecular carcinoma of the skin. *Arch Dermatol* 1972;105:107-10.

2. Frigerio B, Capella C, Eusebi V, Tenti P, Azzopardi J G. Merkel cell carcinoma of the skin: the structure and origin of normal Merkel cells. *Histopathology* 1983; 7:229-49.

3. Sibley R K, Rosai J, Foucar E, Dehner L P, Bosl G. Neuroendocrine (Merkel cell) carcinoma of the skin. A histologic and ultrastructural study of two cases. *Am J Surg Pathol* 1980; 4:211-21.

4. Merkel F S. Tastzellen und Tastkörperchen bei den Haustieren und beim Menschen *Arch Mikr Anat* 1875; 11:636-52.

5. Llombart B, Monteagudo C, Lopez-Guerrero J A, Carda C, Jorda E, Sanmartin O, Almenar S, Molina I, Martin J M, Llombart-Bosch A. Clinicopathological and immunohistochemical analysis of 20 cases of Merkel cell carcinoma in search of prognostic markers. *Histopathology* 2005; 46:622-34.

6. Hodgson N C. Merkel cell carcinoma: changing incidence trends. *J Surg Oncol* 2005; 89:1-4.

7. Feng H, Shuda M, Chang Y, Moore P S. Clonal integration of a polyomavirus in human Merkel cell carcinoma. *Science* 2008;319:1096-100.

8. Foulongne V, Dereure O, Kluger N, Moles J P, Guillot B, Segondy M. Merkel cell polyomavirus DNA detection in lesional and nonlesional skin from patients with Merkel cell carcinoma or other skin diseases. *Br J Dermatol* 2009.

9. Kassem A, Schopflin A, Diaz C, Weyers W, Stickeler E, Werner M, Zur Hausen A. Frequent detection of Merkel cell polyomavirus in human Merkel cell carcinomas and identification of a unique deletion in the VP1 gene. *Cancer Res* 2008; 68:5009-13.

10. Sastre-Garau X, Peter M, Avril M F, Laude H, Couturier J, Rozenberg F, Almeida A, Boitier F, Carlotti A, Couturaud B, Dupin N. Merkel cell carcinoma of the skin: pathological and molecular evidence for a causative role of MCV in oncogenesis. *J Pathol* 2009; 218:48-56.

11. Touze A, Gaitan J, Maruani A, Le Bidre E, Doussinaud A, Clavel C, Durlach A, Aubin F, Guyetant S, Lorette G, Coursaget P. Merkel cell polyomavirus strains in patients with merkel cell carcinoma. *Emerg Infect Dis* 2009; 15:960-2.

12. Carter J J, Paulson K G, Wipf G C, Miranda D, Madeleine M M, Johnson L G, Lemos B D, Lee S, Warcola A H, Iyer J G, Nghiem P, Galloway D A. Association of Merkel cell polyomavirus-specific antibodies with Merkel cell carcinoma. *J Natl Cancer Inst* 2009;101:1510-22.

85/20s — 3 décembre 2009 - 15:10 - 341

Virus Epstein-Barr et lymphomes

C. Besson

CHU de Bicêtre-INSERM U802, Le Kremlin-Bicêtre, France

Le virus Epstein-Barr (EBV) a été découvert en 1964 par Epstein et ses collaborateurs à partir de lignées cellulaires dérivées de lymphome de Burkitt endémique (LB)(Epstein et al 1964). L'EBV peut être détecté par des techniques d'hybridation *in situ* ou d'immunohistochimie dans d'autres types histologiques de lymphomes comme le lymphome Hodgkinien (LH), les lymphomes à grandes cellules B, les lymphomes post-transplantation (PTLD) et certains sous-types de lymphomes T (lymphomes angio-immunoblastiques et lymphomes T/NK de type nasal). Plusieurs groupes de facteurs de risque de survenue de ces lymphomes sont identifiés ; il s'agit en premier lieu des facteurs de risque immunologiques que sont, d'une part, l'immunosuppression innée (« X-linked LymphoProliferative disorder ») ou acquise (infection VIH, transplantation, ou âge avancé) et, d'autre part, la stimulation antigénique chronique (paludisme et infection VIH pour le LB en particulier (Bornkamm G, Seminars in Cancer Biology, 2009)). D'autres facteurs de risque environnementaux et génétiques contribuent aussi à la survenue de ces lymphomes (antécédents personnels de mononucléose infectieuse, titres d'anticorps élevés contre l'EBV et antécédents familiaux de lymphomes). Des études sont en cours afin d'identifier les polymorphismes génétiques impliqués dans la susceptibilité vis à vis de l'EBV.

Ce virus à ADN est exprimé sous deux formes dans les cellules humaines : une forme latente épisomale et une forme lytique permettant la réplication virale. Pendant la phase de latence, les gènes viraux exprimés aboutissent à la production des protéines de latence nucléaires EBNA (« EBV Nuclear Antigen »), membranaires LMP ("Latent Membrane Protein") et d'ARN nucléaires EBER (" EBV encoded small RNAs "). Ces protéines ont des propriétés oncogéniques. En particulier, LMP-1 exprimée à la surface des cellules infectées se comporte comme un récepteur de type CD40 activé. Il induit via le facteur de transcription NF-kappa B l'expression de gènes intra-cellulaires qui ont stimulent la prolifération et inhibent l'apoptose. LMP-1 est exprimée au cours des latences de type 2 (LH) et 3 (lignées lymphoblastoïdes et PTLD), il n'est par contre pas exprimé dans la latence de type 1 (LB). Récemment, il a été mis en évidence que l'EBV produisait aussi des micro-ARN viraux interagissant avec le cycle cellulaire et contribuant possiblement à la lymphomagénèse en particulier au cours des latences de type 1 (De Falco G Seminars in Cancer Biology, 2009).

Les mécanismes contrôlant la latence dans les lymphocytes B et la réactivation occasionnelle du virus objectivée par sa détection dans la salive ne sont pas bien connus. L'EBV pouvait rentrer en cycle réplicatif lors de la différenciation de cellules B mémoires en plasmocytes et pourrait par conséquent, infecter de nouvelles cellules épithéliales et lymphocytaires. Le contrôle de l'infection EBV par le système immunitaire de l'hôte joue un rôle essentiel dans le maintien de la latence. Ce contrôle fait intervenir principalement, les lymphocytes T, les lymphocytes NK (« Natural Killer ») et les lymphocytes NKT. L'importance de l'immunité cellulaire est montrée par (1) l'efficacité du traitement des lymprolifératons induites par EBV après transplantation de moelle osseuse, par l'injection aux patients atteints, de lymphocytes T cytotoxiques spécifiques de l'EBV provenant du donneur (Rooney 1998), (2) l'impact prédictif d'un défaut de la réponse T CD4 anti-EBV sur la survenue de lymphomes cérébraux chez les patients infectés par le VIH (Gasser 2007). Ces données ont justifié de proposer de coupler le suivi de la charge virale EBV à l'analyse de la réponse immunitaire T anti-EBV dans le cadre de la détection précoce de PTLD (Smets, 2002).

Les stratégies thérapeutiques usuelles ne prennent pas en compte le statut EBV du lymphome dans le choix du traitement. Cependant, des approches spécifiques pourraient être envisagées dans les formes où la présence de l'EBV est un facteur de mauvais pronostic comme chez les sujets âgés (Diepstra A, 20009).

88/21s — 3 décembre 2009 - 14:50 - 342A

Les risques zoonotiques à la manipulation des primates ou on n'apprend pas à un vieux singe à se laver les mains

F. Wanert

Centre de primatologie, Université de Strasbourg, France

Nos chers cousins les primates, du fait de leur grande proximité phylogénétique avec l'Homme, partagent avec nous certaines affections, avec une sensibilité croisée à nombre d'agents infectieux.

Les contacts que nous pouvons avoir avec eux dans différents contextes (laboratoires de recherche, parcs zoologiques, voir détention par des particuliers) présentent des risques zoonotiques non négligeables et parfois méconnus des professionnels de la santé.

Cet exposé vise à détailler ces risques à partir des agents causals, en rappelant les voies de contamination et les mesures de protection à mettre en œuvre.

Il faut savoir que les primates que nous sommes amenés à côtoyer sous nos latitudes sont pour la plupart issus de pays lointains et, malgré les mesures prises réglementairement lors de leur importation (quarantaine) et les programmes de suivi sanitaire appliqués dans les différents sites d'hébergement, la présence de certains agents zoonotiques est pratiquement inévitable.

Un rapide balayage de la classification des primates nous permettra de présenter les différentes espèces et leurs particularités. Le risque qu'un animal soit porteur d'agents pathogènes responsables de zoonoses graves est en effet en relation avec sa position taxonomique et sa région d'origine.

On peut considérer que le risque va croissant dans l'ordre suivant : Prosimiens malgaches, Singes du Nouveau Monde (Amérique du Sud) et Singe de l'Ancien Monde (Cercopithécidés et Grands Singes d'Afrique et d'Asie).

Ce risque est également plus grand chez les animaux capturés dans la nature que chez ceux élevés en captivité et gardés dans des conditions bien définies sous surveillance vétérinaire, car les fournisseurs et l'Administration Vétérinaire des pays exportateurs ne peuvent généralement fournir que des informations sanitaires très limitées pour les primates sauvages.

Pour finir, l'évaluation du risque s'avère complexe car nous manquons de données sur ces agents infectieux souvent spécifiques d'un groupe de primates. Ils peuvent s'exprimer par une pathologie différente s'ils sont transmis à un hôte accidentel (Homme, autres singes) et sont souvent réactivés par le stress de la translocation et de la captivité.

Le parasitisme est l'une des entités pathologiques les plus communes dans les colonies de primates.

Un grand nombre de protozoaires et d'helminthes ont été décrits comme pouvant infester la plupart des groupes de primates. Certains sont considérés comme non pathogènes, ou du moins n'ayant pas d'effets préjudiciables démontrés pour leur hôte. Un grand nombre néanmoins peut entraîner des désordres physiologiques, des pertes nutritionnelles ou occasionner des

lésions propices au développement de surinfections secondaires. Le risque d'excrétion et de transmission de ces germes est exacerbé par le confinement en captivité, le stress, les paramètres environnementaux chauds et humides et la promiscuité entre les individus.

Les primates sont naturellement porteurs de protozoaires digestifs (amibes…) commensaux ou opportunistes, souvent sans expression clinique, et sont à même de contaminer leur environnement par l'émission dans leurs selles de kystes ou de formes végétatives dont la transmission à leurs congénères ou aux manipulateurs se fait exclusivement par voie orofécale.

Les helminthes digestifs monoxènes des primates sont aussi susceptibles d'infester l'homme par ingestion d'œufs (ou, pour certains, par passage transcutané des larves), alors que les parasites hétéroxènes voient leur cycle enrayé en animalerie close.

Ainsi des parasites sanguins tels que le *Plasmodium* qui persistent chez les primates sans développer de maladie (mis à part pour les grands singes), ne représentent pas de risque zoonotique en l'absence de l'insecte vecteur dans le contexte confiné de nos animaleries en France.

En termes d'ectoparasites, les primates sont aussi sensibles aux agents de teigne, gale et divers insectes hématophages non spécifiques, qu'ils peuvent retransmettre à l'homme par contact direct ou par le biais de l'environnement.

Concernant les agents microbiens, bactériens et viraux, il est difficile de les lister de façon exhaustive, par manque de données (maladies émergentes, porteurs asymptomatiques, manque d'outils diagnostics…).

Les principales viroses reconnues transmissibles par les singes en captivité sont la rage, l'herpesvirus B, les hépatites virales et les rétrovirus. Les fièvres hémorragiques (Ebola, Marburg), hautement contagieuses et au tableau clinique dramatique, ont peu de chance de se propager en Europe du fait de notre politique sanitaire.

Ce sont au final plutôt les infections bactériennes (mycobactéries, salmonelles, shigelles,…) qui continuent d'être une cause importante et fréquente de maladie et de mortalité chez les primates.

Nous rappellerons aussi que les primates sont particulièrement sensibles à certaines maladies humaines (rougeole, grippe…).

Pour faire face à de tels risques, il est entendu que la détention, les soins et les contacts avec les primates doivent être confiés à des professionnels, tout comme les réseaux d'acquisition et de maintenance de ces animaux doivent être contrôlés, dans le respect de la réglementation française et internationale.

Nous rappellerons les règles d'hygiène et de sécurité comme une préoccupation de chaque instant pour les personnes exposées :

- apprendre à manipuler correctement les animaux ainsi que leurs sécrétions, excréments et tissus, afin de ne pas propager de zoonoses et d'assurer sa sécurité personnelle ;
- traiter et éliminer les cadavres, les sécrétions, les excréments et les tissus, de manière à ne pas mettre en danger la santé publique.
- savoir que certaines espèces doivent être considérées comme infectées à vie par des agents responsables de zoonoses (herpèsvirus B chez les macaques, par exemple) ;
- respecter les mesures d'hygiène personnelle, revêtir des vêtements de protection individuelle, s'interdire de manger, boire et fumer dans les zones où existe un risque de contamination ;
- se faire suivre médicalement, en particulier pour le dépistage de la tuberculose et la recherche d'entérobactéries pathogènes, d'endoparasites et d'autres micro-organismes spécifiques des primates;
- se plier à un programme de vaccination adapté, notamment contre le tétanos, la rougeole, la poliomyélite, la rage, les hépatites A et B, et d'autres maladies endémiques des régions d'origine des primates non humains ;
- élaborer avec les services compétents la conduite à tenir en cas d'accident d'exposition avec les primates (morsures et des griffades, piqûres).

Bibliographie :

Herpès virose B : gestion du risque infectieux chez le macaque et l'homme
Coutrot, E. Thèse vétérinaire Toulouse, 2006. - 232 p.

Maladies, parasites et agents infectieux des primates non humains
WanertF. Vidal S. Revue STAL 2006, vol. 31, n°1, pp. 59-68

Handbook of laboratory animal science
Hau J. & Van Hoosier G.L. 2003

Infection a herpes virus B. Actualisation des connaissances et proposition d'une prise en charge des accidents d'exposition
T. Perrin.Thèse Médecine. Faculté de médecine de Strasbourg-ULP, 1998

The Laboratory Non Human Primate
Fotman, Benett, Hewett, 1998, CRC Press

Non human Primates in Biomedical Research
Bennett, Abee, Henrickson, 1995, Academic Press

The experimental animal in Biomedical research,
Rollin&Kessel, 1990 CRC Press

Diagnostic différentiel des principales affections rencontrées chez les primates non humains et contrôle de zoonoses
C.A. Vandermeersch.Thèse Vétérinaire. Alfort, 1990

Pathology of Simian Primates
FIENNES, Karger, Basel 1972

89/21s 3 décembre 2009 - 15:10 - 342A

Langue bleue et mouton noir, les derniers avatars de la fièvre catarrhale ovine

F. Moutou
AFSSA LERPAZ, Maison-Alfort, France

Introduction : La fièvre catarrhale ovine (FCO) est une arbovirose animale récemment arrivée en Europe. Un des signes cliniques observés correspond à une cyanose de la langue et de la muqueuse buccale. D'où son nom commun de maladie de la langue bleue, de langue bleue tout court, en français et dans d'autres langues. L'histoire récente de son arrivée en France illustre les difficultés auxquelles il faut s'attendre face à l'émergence d'une entité pathologique nouvelle. Ces difficultés ne sont pas toutes liées aux contraintes biologiques ou épidémiologiques.

Cycle épidémiologique : Le cycle épidémiologique d'une arbovirose associe au moins trois acteurs, un virus, un vecteur et un hôte. Si l'un des trois vient à manquer, n'est pas présent ou présent mais non compétent, le cycle ne peut pas s'effectuer.

Virus : La FCO est causée par des virus à ARN double brin et dont le génome est présent sous forme de 10 à 12 fragments dans la particule virale, elle-même constituée de diverses protéines structurales. On les classe dans la famille des Réoviridés, genre *Orbivirus*. Jusqu'à très récemment, 24 sérotypes différents de FCO étaient reconnus. Un nouveau vient d'être isolé de chèvres en Suisse. On pense pourtant que les virus de la FCO (ou BTV pour « bluetongue virus ») sont originaires d'Afrique et que leur présence sur les autres continents est liée au développement de l'élevage des ruminants.

Vecteurs : Il s'agit d'insectes de l'ordre des diptères, de la famille cératopogonidés et du genre *Culicoides*. 1400 espèces sont connues dans le monde. Il existe sans doute des associations non aléatoires entre certains virus et certaines espèces, par exemple *C. imicola*, *C. bolitinos* en Afrique, *C. sonorensis*, *C. insignis* en Amérique du Nord, *C. insignis*, *C. pusillus* en Amérique du Sud, *C. imicola* en Asie ou *C. brevitarsis*, *C. fulvus* et *C. wadai* en Australie. En Europe du nord, les meilleurs candidats sont *C. obsoletus*, *C. dewulfi* ou encore *C. chiopterus. C. imicola* est n'est présent que dans le sud de l'Europe. Cette énumération a quelques implications importantes. Identifier les espèces de *Culicoides* nécessite des compétences particulières, depuis la capture à l'aide de pièges lumineux jusqu'à l'identification. Un seul piège peut capturer des milliers de petits diptères en une seule nuit. Qualifier une espèce de « vecteur » est assez compliqué car trouver une trace de BTV dans un broyat d'insectes ne permet pas de prouver que cette espèce joue le rôle de vecteur biologique (Meiswinkel *et al*. 2007). Là où les ruminants domestiques sont exposés au virus, un grand nombre peut être en phase de virémie. Les insectes piqueurs récupèrent donc du virus mécaniquement en se nourrissant. Pour affirmer un rôle épidémiologique, il faut passer par une phase expérimentale, où l'on maîtrise la souche virale, l'espèce de vecteur et l'hôte, ce qui est loin d'être facile. L'entomologie appliquée à la médecine, humaine ou vétérinaire, a été négligée dans les cursus universitaires. Le changement climatique global pourrait la relancer.

Le réservoir (les hôtes) : Le troisième élément à prendre en compte est l'hôte, celui qui peut héberger le virus. Les espèces animales réceptives au BTV sont les mammifères ruminants, domestiques ou sauvages. L'espèce ovine est la plus sensible d'où FCO. Les bovins et les caprins sont le plus souvent réceptifs mais non sensibles. Tous les sérotypes n'ont pas le même comportement mais l'expérience en FCO en Europe était modeste avant 2006 et l'arrivée du sérotype 8 (BTV8). Les trois espèces majeures de ruminants domestiques élevées en France et en Europe sont réceptives et sensibles (Le Gal *et al*. 2008). Les cervidés représentent une autre famille de ruminants présents sur les mêmes territoires (cerf élaphe *Cervus elaphus* et chevreuil *Capreolus capreolus*). Il a déjà été mis en évidence des traces immunologiques prouvant la circulation virale du BTV8 chez eux. Le réservoir des virus se situe néanmoins plus probablement chez les ruminants domestiques, plus nombreux et les premiers touchés. Il faudrait vérifier si les espèces de *Culicoides* sont les mêmes.

La FCO en France et en Europe : Le phénomène FCO en France et en Europe correspond à deux mouvements totalement différents et indépendants. La remontée des sérotypes 1, 2, 4, 9 et 16 par le sud, associée au déplacement apparent de populations de *C. imicola* vers le nord semblait assez inéluctable et à associer au changement climatique global, mais sans oublier les mouvements commerciaux de ruminants domestiques vers et autour du bassin méditerranéen (Purse *et al*. 2005). L'arrivée du BTV8 en 2006 autour de Maastricht, Pays-Bas, entre Pays-Bas, Belgique, Allemagne, n'a pas encore d'explication. La seule chose certaine est qu'il s'agit de la conséquence d'une activité humaine. On ne sait pas si le BTV8 est arrivé seul, si c'est un insecte avec le virus qui a débarqué ou si un ruminant en phase de virémie a été introduit. Cela prouve la limite de nos capacités d'investigation dans le domaine de la circulation des animaux, de leurs produits, des produits biologiques et de tout produit commercial, face à la rapidité et au volume des échanges internationaux actuels.

Dans ce schéma, le virus est arrivé dans une population dense de ruminants domestiques, réceptifs, sensibles et surtout complètement naïfs immunologiquement vis à vis d'un virus qui leur était totalement inconnu. Ce cas de figure est assez unique et ne se reproduira plus avec les autres virus de la FCO, car même si l'immunité est relativement spécifique du sérotype, les animaux ne sont plus naïfs vis à vis des BTV.

Puisque les arboviroses ont besoin de trois éléments pour exister (virus, hôte et vecteur), la question qui s'est posée dès l'été 2006 a été de savoir quel(s) vecteur(s) étaient présents dans ces régions. La seule certitude est l'absence de *Culicoides imicola*, jamais identifié aussi au nord. Dans un pays comme la France, il existe un peu plus de 80 espèces de *Culicoides* décrites. Une des

seules monographies sur le sujet date de 1925 (Kieffer 1925). Malgré la diffusion importante de la FCO en Belgique, aux Pays-Bas et en Allemagne durant l'été et l'automne 2006, plusieurs spécialistes européens ont pensé que l'absence du vecteur « classique » *C. imicola* et les rigueurs de l'hiver à venir allaient avoir raison de cette bouffée épizootique. Ce n'est pas du tout ce qui s'est passé (Wilson *et al*. 2007). Des insectes qui n'avaient jamais rencontré de BTV se sont avérés extrêmement compétents pour le transmettre. Ces espèces de *Culicoides*, quelles qu'elles soient, sont européennes et parfaitement adaptées au climat et au milieu. Il y avait en Europe un réservoir potentiel, les ruminants domestiques et des vecteurs manifestement compétents. L'arrivée de virus a suffit pour mettre le cycle en place. Il semble difficile de faire aujourd'hui des prévisions sur sa pérennité. Pourtant, les espèces compétentes ne sont pas encore connues avec certitude (Meiswinkel *et al*. 2007) et comprendre le détail du cycle actuel reste délicat. On ne connaît pas les sites de ponte de toutes ces espèces, ni les larves, ni les détails de leur écologie (Rieb 1987). Dans ces conditions, maîtriser ces mêmes cycles représente un vrai défi.

Conclusion : Depuis fin 2007, la France offre un schéma épidémiologique particulier avec la « descente » du BTV8 du nord-est et la « remontée » du BTV1 du sud-ouest, venu par l'Espagne. Le schéma de vaccination de 2008 n'a pas permis d'empêcher l'envahissement du territoire mais

90/21s — 3 décembre 2009 - 15:30 - 342A

Les leishmanioses en France : zoonoses autochtones et cas importés. Épidémiologie et surveillance

J.P. Dedet
Laboratoire de Parasitologie, Centre National de Référence des Leishmania, Montpellier, France

Les leishmanioses sont des maladies parasitaires endémiques dans le sud de la France. Elles sont exclusivement dues à l'espèce *Leishmania infantum,* largement répandue dans le monde, et en particulier sur le pourtour du Bassin méditerranéen. Cette espèce, transmise par des insectes vecteurs, les Phlébotomes, est responsable d'une zoonose des canidés domestiques et sauvages. Elle s'exprime chez l'homme sous différentes formes cliniques, essentiellement la leishmaniose viscérale (LV), mais aussi des formes tégumentaires, cutanées (LC) et exceptionnellement muqueuses.

Répartition géographique : L'endémie leishmanienne en France est localisée aux zones de bioclimat méditerranéen du sud du pays. Les principaux foyers sont ceux des Pyrénées-Orientales, des Cévennes, de Provence, de Côte d'Azur et de Corse. En dehors d'eux, des foyers ectopiques sont occasionnellement rencontrés, comme celui de la Moyenne vallée de l'Ariège, où sévit la leishmaniose canine, dans une zone où un micro-climat entraîne la présence d'une végétation méditerranéenne.

En dehors des territoires endémiques, des cas sporadiques, essentiellement de leishmaniose canine, ont été décrits qui posent le problème d'une extension géographique de la zoonose, en lien possible avec le réchauffement climatique. La cartographie des zones à risque montre les zones d'extension possibles.

Parasite : L'analyse isoenzymatique reste la technique de référence pour l'identification des *Leishmania*, même si les méthodes moléculaires tendent à la concurrencer. Elle conserve cette position en raison de sa longue durée d'utilisation (plus de 30 ans) et le nombre élevé de souches analysées (plus de 5.000). Ces analyses ont révélé un polymorphisme enzymatique notable dans le foyer des Pyrénées-Orientales (5 zymodèmes), foyer où prédomine la LC, qui s'oppose au faible polymorphisme (2 zymodèmes) des foyers à prédominance de LV, que sont les foyers des Cévennes, de Provence et de Côte d'Azur. *L. infantum* MON-1 est le zymodème le plus fréquent et le plus largement répandu, comme ailleurs dans le Bassin méditerranéen, notamment chez le chien, mais aussi chez l'homme dans la LV, et occasionnellement la LC et au cours de la co-infection *L. infantum*/VIH (Pratlong et coll., 2004).

Vecteur : Deux espèces de phlébotomes sont vectrices de *L. infantum* en France (Killick-Kendrick, 1999). *Phlebotomus perniciosus* est l'espèce vectrice principale dans la partie occidentale du sud de l'Europe ; elle a la plus large répartition géographique, allant du Portugal à l'ouest, jusqu'à la Crète et la Turquie à l'est. A noter que son aire de répartition en France déborde largement la région de bioclimat méditerranéen, rendant possible une extension de l'endémie en cas de réchauffement climatique. L'espèce *P. ariasi* est rencontrée seulement dans la partie occidentale du Bassin méditerranéen (Portugal, Espagne, France et nord-ouest de l'Italie) ; elle est liée aux étages de chênaie mixte.

Réservoir : Le chien, *Canis familiaris*, est le réservoir principal de *Leishmania infantum.* La leishmaniose canine est enzootique dans tout le Bassin méditerranéen, en particulier dans le sud de l'Europe, avec une incidence très supérieure à celle de la leishmaniose humaine (incidence annuelle de plusieurs dizaines de milliers de cas).

Le renard, *Vulpes vulpes* a été trouvé porteurs de *L. infantum* dans le sud de la France, tout comme en Italie et au Portugal. La place de cet animal dans le cycle naturel du parasite n'est pas encore totalement élucidée, car il y a trop peu de cas décrits dans la plupart des foyers.

Bien que décrite en 1912 en Algérie et semblant avoir été longtemps un phénomène exceptionnel, la leishmaniose du chat, *Felis catus*, est une réalité mise en évidence dans certains pays du sud de l'Europe (Espagne et France), avec une prévalence particulièrement élevée en Italie (Pennisi, 1999). Le rôle épidémiologique de cet animal reste encore à déterminer : hôte occasionnel ou vrai réservoir. Les deux statuts sont peut-être possibles selon le foyer envisagé, son évolution climatique et son degré d'urbanisation.

Surveillance de la leishmaniose humaine : En France, les leishmanioses ne sont pas des maladies à déclaration obligatoire. Elles sont pourtant recensées par le Centre National de Référence des *Leishmania*, permettant ainsi une surveillance spécifique. Cependant les chiffres enregistrés sont vraisemblablement sous-évalués pour les LV, et incontestablement pour les LC.

Les nombres annuels moyens de cas autochtones déclarés sont faibles. La majorité d'entre eux concerne la leishmaniose viscérale (LV), forme classiquement rencontrée chez l'enfant, mais qui depuis quelques décennies atteint également l'adulte, et notamment immunodéprimé (VIH, transplantations d'organes) (Basset et coll., 2005 ; Desjeux et Alvar, 2003). La fréquence des infections asymptomatiques dans les zones endémiques a été révélée à l'occasion de l'émergence de l'infection VIH (Marty et coll., 1992).

Les cas de leishmaniose humaine importés, principalement d'Afrique du Nord, d'Afrique sud saharienne et de Guyane, sont importants, et correspondent aux flux migratoires.

Bibliographie

Basset D., Faraut F., Marty P., Dereure J., Rosenthal E., Mary C., Pratlong F., Lachaud L., Bastien P., Dedet J.P. Visceral leishmaniasis in organ transplant recipients : 11 new cases and a review of the literature. *Microbes Infect*., 2005, 7 : 1370-1375.

Desjeux P., Alvar J., *Leishmania*/HIV co-infections : epidemiology in Europe. *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 2003, 97 (suppl.) : 3-15.

Killick-Kendrick R., Killick-Kendrick M. (1999). Biology of sandfly vectors of Mediterranean canine leishmaniasis. *In* : Canine leishmaniasis : an update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum. *Hoechst Roussel Vet*, 1999 : 26-31.

Marty P, Le Fichoux Y., Giordana D., Brugnetti A. Leishmanin reaction in the human population of a highly endemic focus of canine leishmaniasis in Alpes-Maritimes, France. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.*, 1992, 86 : 249-250.

Pennisi M.G. A high prevalence of feline leishmaniasis in southern Italy. *In* : Canine leishmaniasis : an update. Proceedings of the International Canine Leishmaniasis Forum. *Hoechst Roussel Vet*, 1999 : 39-48.

Pratlong F., Rioux J.A., Marty P., Faraut F, Dereure J., Lanotte G., Dedet J.P. Isoenzymatic analysis of 712 strains of Leishmania infantum in the South of France and relationship of enzymatic polymorphism to clinical and epidemiological features. *J. Clin. Microbiol.*, 2004, 42 : 4077-4082.

106/24s — 3 décembre 2009 - 15:30 - 351

Tests urinaires antigéniques de pneumocoque (BINAX) chez l'enfant et l'adulte

J. Raymond[1], D. Gendrel[2]
[1]*Bactériologie, Hôpital Cochin* [2]*Pédiatrie, Hôpital St Vincent de Paul, Paris, France*

Le pneumocoque est une bactérie commensale des voies respiratoires supérieures. Il existe une grande différence entre l'enfant, chez qui 90% des patients de moins de 5 ans portent de façon prolongée plusieurs sérotypes de pneumocoques dans le rhinopharynx, et les adultes, dont moins de 30 à 40% vont héberger des pneumocoques. Les différences concernant les valeurs prédictives de ces tests d'antigènurie pneumococcique (Binax) selon l'âge tiennent donc largement de ces données.

Chez l'adulte, plusieurs études ont montré qu'il avait une bonne sensibilité (de 76% à 97%) et une bonne spécificité (90%) (Gutierrez et al., 2003; Murdoch et al.2001) aussi bien dans les pneumonies que dans les septicémies. Les adultes jeunes présentant une pneumonie avec un foyer radiologique ont un test positif quand la pneumonie est d'origine pneumococcique, comme viennent le confirmer l'hémoculture ou l'examen de crachat. La plupart des pneumonies, en particulier à mycoplasmes et à chlamydiae, diagnostiquées chez l'adulte, ont un test Binax négatif. Enfin, en ce qui concerne les pneumonies mixtes associant pneumocoque et virus ou mycoplasme qui sont relativement rares après l'âge de 15 ans, ce test utile pour guider l'antibiothérapie. Chez des sujets adultes en dehors des pneumonies, peu d'études ont été faites, mais les résultats partiels montrent que le test Binax est rarement positif en dehors des infections invasives à pneumocoques.

La situation est totalement différente chez l'enfant. En particulier, une partie des enfants porteurs sains du pneumocoque au niveau du rhinopharynx ont des tests urinaires pneumococciques (Binax) positifs. La proportion varie selon la méthodologie pour rechercher le portage, le mode de recrutement des enfants et les antécédents pathologiques récents, mais on peut considérer que 20 à 50% des enfants hébergeant un pneumocoque dans leur rhinopharynx sans pathologie (et un peu plus s'ils ont une otite même virale), ont un test Binax positif (Charkaluk et al, 2006). La sensibilité est meilleure pour les enfants ayant une pathologie pneumococcique invasive, en particulier une pneumonie. Le test est alors positif dans 70 à 80% des cas. Mais il existe beaucoup des faux négatifs chez l'enfant. La grande difficulté vient des infections localisées à pneumocoques, en particulier ORL, où il existe à la fois de nombreux faux positifs et faux négatifs. Une récente étude (Charkaluk et al., 2006) a montré pour un groupe d'enfants hospitalisés pour suspicion d'infection pneumococcique, une sensibilité de 100%, une spécificité de 56% et une VPN négative de 100%. Tandis que chez des enfants porteurs asymptomatiques, le test Binax n'est positif que dans 10,7% des cas. Ces auteurs concluent qu'un test négatif permet d'éliminer une infection pneumococccique.

Par contre, le test Binax semble particulièrement sensible chez l'enfant, sans que des séries importantes aient été publiées, quand il est pratiqué dans le

liquide pleural ou le liquide articulaire pour rechercher une infection pneumococcique. Il existe alors une réponse positive rapide permettant de guider l'antibiothérapie et qui semble avoir une excellente spécificité et sensibilité, mais les séries sont trop limitées et insuffisamment publiées.

Les tests urinaires Binax ont une bonne sensibilité chez les enfants et les adultes dans le cadre des pneumonies mais leur spécificité est insuffisante, surtout avant 5 ans. D'autres marqueurs peuvent être recherchés en urgence comme la procalcitonine pour prouver l'origine pneumococcique des pneumonies.

Chez l'enfant, il existe de nombreux faux positifs et faux négatifs qui, au cours des infections ORL, en particulier des otites, peuvent limiter son intérêt. Par contre ils ont un grand intérêt dans les épanchements pleuraux et articulaires.

Ces tests doivent être réévalués dans des études importantes, car ils sont précieux dans le cadre de l'urgence pour guider l'antibiothérapie. Un des grands problèmes rencontrés dans les résultats est l'absence d'homogénéité des séries de malades et la discordance entre les infections invasives et localisées chez l'enfant.

- Gutierrez F et al.,Clin Infect Dis. 2003 ;36

- Murdoch DR et al . J Clin Microbiol.2001 ;39 :3495-98

- Charkaluk ML et al.diag Microbiol Infect Dis.2006 :55 :89-94

111/27s — 3 décembre 2009 - 14:30 - 353

La décontamination digestive sélective avec ou sans antibiothérapie intraveineuse diminue la mortalité des patients de réanimation – A partir de l'analyse de l'article : Decontamination of the digestive tract and oropharynx in ICU patients – de Smet *et al.* – *NEJM* 2009

B. Giraudeau

INSERM U738, Paris, INSERM CIC 0202, Tours, France

Un essai clinique randomisé en cluster (*cluster randomized trial*) est un essai dans lequel on randomise non pas des individus, mais des groupes d'individus, qu'on appelle des « *clusters* » ou grappes (1-3). Ces unités de randomisation peuvent être des unités "sociales" telles que des hôpitaux, des médecins, des familles, des villages, des entreprises, ou des périodes comme dans le cas de l'essai de de Smet *et al* (4). On est généralement amené à randomiser des clusters parce que l'intervention testée ne s'applique pas à l'échelon individuel mais à un échelon supérieur (tel que le médecin, le service, l'hôpital) ou par crainte d'une contamination entre les groupes. de Smet *et al* (4) ont ainsi écarté la randomisation individuelle au motif que l'intervention testée induisait des modifications écologiques à l'échelon de l'unité de réanimation, d'où un risque de contamination.

En randomisant des clusters, on se met en situation de recueillir des données corrélées car les patients d'un même cluster ne sont pas indépendants les uns des autres. De fait, les essais en clusters sont donc moins efficients que les essais à unité de randomisation individuelle et le nombre de sujets nécessaire doit être augmenté. De façon pratique, on applique un facteur d'inflation défini par où est la taille moyenne d'un cluster et est égal au niveau de corrélation entre les réponses des sujets d'un même cluster. L'analyse statistique, quant à elle, suppose de recourir à des méthodes statistiques *ad hoc*, sous peine d'obtenir des résultats abusivement significatifs. En effet, en ne tenant pas compte de la corrélation induite par le schéma expérimental, les degrés de signification s'en trouveraient sous-estimés, les étendues des intervalles de confiance faussement diminuées … et les conclusions de l'étude erronées (avec une augmentation du risque de trouver des différences significatives à tort, i.e. du risque de première espèce) (1, 2, 3).

Par ailleurs, contrairement aux essais à randomisation individuelle, la randomisation de clusters conduit très souvent à une situation où la randomisation est antérieure à l'inclusion des sujets : on sélectionne les clusters, on les randomise, et ensuite on inclut les patients (5). L'inclusion des sujets se fait alors en ayant connaissance du bras dans lequel il sera inclus et cette situation est source de biais de sélection, tant quantitatif que qualitatif (6, 7) ce qui a conduit Eldridge *et al* (8) à conclure qu'environ un quart des essais en clusters étaient potentiellement biaisés. Pour prévenir ce problème, plusieurs solutions ont été proposées (même si elles ne sont pas toujours applicables), l'une d'elle étant de recourir à un schéma en cross-over, ainsi que l'on fait de Smet et al (4). Ce schéma expérimental a en outre l'avantage de tirer bénéfice en termes de puissance statistique du cross-over et ainsi de contrebalancer en partie la perte de puissance induite par le schéma en cluster (9).

Enfin, lorsqu'on rapporte les résultats d'un essai en cluster, il est essentiel de se conformer aux standards internationaux listés dans le CONSORT Statment spécifique des essais en clusters (10), notamment en décrivant parfaitement les deux niveaux (i.e. le niveau cluster, et le niveau individuel) et en rapportant les résultats d'analyses statistiques *ad hoc*.

1. Donner A. *Design and analysis of cluster randomization trials in health research*. London: Arnold, 2000.

2. Murray DM. *Design and analysis of group-randomized trials*. New York: Oxford: University Press, 1998.

3. Hayes R. *Cluster randomised trials*. Boca Raton: CRC Press, 2009.

4. de Smet AM, Kluytmans JA, Cooper BS, Mascini EM, Benus RF, van der Werf TS, van der Hoeven JG, Pickkers P, Bogaers-Hofman D, van der Meer NJ, Bernards AT, Kuijper EJ, Joore JC, Leverstein-van Hall MA, Bindels AJ, Jansz AR, Wesselink RM, de Jongh BM, Dennesen PJ, van Asselt GJ, te Velde LF, Frenay IH, Kaasjager K, Bosch FH, van Iterson M, Thijsen SF, Kluge GH, Pauw W, de Vries JW, Kaan JA, Arends JP, Aarts LP, Sturm PD, Harinck HI, Voss A, Uijtendaal EV, Blok HE, Thieme Groen ES, Pouw ME, Kalkman CJ, Bonten MJ. Decontamination of the digestive tract and oropharynx in ICU patients. *N Engl J Med*. 2009;360:20-31.

5. Torgerson DJ, Torgerson CJ (2008) *Designing randomised trials in health, education and the social sciences. An introduction*. New York: Palgrave Macmillan.

6. Puffer S, Torgerson D, Watson J (2003) Evidence for risk of bias in cluster randomised trials: review of recent trials published in three general medical journals. *Bmj* 327: 785-789.

7. Giraudeau B, Ravaud P. Preventing bias in cluster randomized trials. *PLOS Med* 2009;6(5):e1000065.

8. Eldridge S, Ashby D, Bennett C, Wakelin M, Feder G (2008) Internal and external validity of cluster randomised trials: systematic review of recent trials. *Bmj* 336: 876-880.

9. Giraudeau B, Ravaud P, Donner A. Sample size calculation for cluster randomized cross-over trials. *Stat Med* 2008; 27:5578-5585.

10. Campbell MK, Elbourne DR, Altman DG. CONSORT statement: extension to cluster randomised trials. BMJ. 2004 Mar 20;328(7441):702-708.

112/27s — 3 décembre 2009 - 15:00 - 353

Les échinocandines, traitement de première intention des candidoses systémiques du non neutropéniques ?

C. Alberti

Unité d'Epidémiologie Clinique, Inserm CIE 5, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Les études cliniques utilisant un plan expérimental de non infériorité sont de plus en plus utilisées dans le développement des médicaments et particulièrement dans le développement des médicaments anti-infectieux. En effet dans ce contexte, l'existence de traitements antibiotiques ou antifungiques de référence efficaces fait que les bénéfices escomptés en termes d'efficacité sont souvent réduits. Il devient donc difficile de démontrer la supériorité de ces nouveaux anti-infectieux comparés à leur référence sur le plan statistique.

Outre l'efficacité, l'intérêt potentiel des nouveaux traitements développés peut être fondé sur d'autres critères tels qu'une utilisation plus facile et une voie d'administration moins invasive comme pour les antifungiques, des effets indésirables moindres voire un coût plus faible.

Habituellement les essais cliniques sont planifiés pour montrer l'efficacité d'un nouveau médicament par rapport à un placebo ou sa supériorité par rapport à un médicament de référence. Ceci a un sens lorsque la différence statistique d'efficacité entre les 2 traitements est aussi cliniquement intéressante. Par exemple, une étude clinique ayant inclus plus de 1000 patients permettra de montrer que 3% de différence d'efficacité avec un intervalle de confiance à 95% de [2% – 4%] est statistiquement significative mais est-ce intéressant cliniquement ? Ne pourrait-on pas parler d'équivalence ? Cependant, la méthodologie habituelle des essais thérapeutiques est inadaptée pour résoudre les problèmes d'équivalence. En effet, il est impossible de démontrer au plan statistique que 2 traitements sont strictement équivalents. La notion d'équivalence va alors se traduire par le fait que la différence existant entre les 2 médicaments testés doit être inférieure à une valeur seuil fixée (seuil de non infériorité) par l'expérimentateur et jugée peu importante sur les répercussions lors de l'utilisation des médicaments. Ceci conduira à la recherche d'une équivalence relative en montrant que les 2 médicaments ne sont pas trop différents et que cette différence reste inférieure à un seuil fixé.

Dans ce contexte, la méthodologie doit être particulièrement soignée car de multiples biais peuvent survenir dont les conséquences peuvent être importantes car nous sommes dans une situation où le nouveau médicament testé par rapport à son traitement de référence peut lui être inférieur avec un seuil de non infériorité fixé a priori par l'expérimentateur.

Dès lors plusieurs choix méthodologiques doivent être faits et d'autres contrôlés :

- Choisir le traitement de référence qui permettra d'évaluer le nouveau médicament : idéalement le traitement de référence doit avoir démontré son efficacité par rapport à un placebo et la situation expérimentale permettant d'évaluer le nouveau traitement doit être proche de l'étude princeps afin d'être sur que le traitement de référence développe toute son efficacité.

- Limiter l'utilisation des traitements concomitants durant l'étude : si une forte proportion des patients de 2 groupes reçoit des traitements concomitants efficaces, l'efficacité observée sera identique dans les 2 groupes mais ne sera pas l'efficacité propre des traitements testés.

- Choisir la limite de non-infériorité : la signification statistique d'un résultat dépend étroitement de la limite de non infériorité choisie. A partir des mêmes données, le test pourra être significatif ou non en fonction de cette limite. Quelle perte d'efficacité est on prêt à consentir en compensation des autres bénéfices attendus? Quelle est la différence clinique considérée comme cliniquement négligeable? Souvent le choix est arbitraire et parfois discutable car la limite s'avère trop tolérante. Le choix doit être basé à la fois sur le jugement clinique de la différence perçue comme négligeable et sur le jugement statistique tenant compte de l'efficacité « démontrée » du traitement de référence.

- Estimer le nombre de sujets nécessaire qui en règle générale est plus important que pour étude de supériorité.

- Analyser les résultats : elle est basée sur l'estimation des intervalles de confiance à 95%.

- Choisir les populations d'analyse : L'analyse per protocole (PP) est

potentiellement l'analyse la moins biaisée où seuls les patients traités en strict conformité avec le protocole sont maintenus dans l'analyse. En effet, si le nouveau médicament est inférieur, le recours aux traitements concomitants sera plus fréquent que dans le bras de référence. L'efficacité du nouveau médicament sera renforcée par celle des autres traitements et apparaîtra équivalent dans l'analyse en intention de traiter (ITT). Le problème de la population PP est que sa définition n'est pas unique, d'où l'importance de la planification. En pratique, les 2 analyses sont réalisées et devraient conduire aux mêmes conclusions.

Finalement, dans ce type d'étude il faut minimiser les violations des critères d'inclusion et non-inclusion, la non compliance, les sortis d'essai, les perdus de vue, les données manquantes, les écarts au protocole, car le RISQUE majeur est d'égaliser l'efficacité dans les 2 groupes et de biaiser les résultats.

Ces particularités méthodologiques seront discutées à propos de l'étude d'Anette C. Reboli and Coll. : Anidulafugin versus Fluconazole for invasive candidiasis. NEJM 2007;356:2472-82.

Références

Elie C, De Rycke Y, Jais JP, Marion-Gallois R, Landais P. Aspects méthodologiques et statistiques des essais d'équivalence et de non infériorité. Revue d'Epidémiologie et de Santé Publique 2008;56:267-277.

Piaggio G, Elbourne, D R, Altman, D G, Pocock S J, Evans S J for the Consort Group. Reporting of noninferiority and equivalence randomized trials: an extension of the CONSORT statement. JAMA 2006; 295:1152-1160.

Le Henanff A, Giraudeau B, Baron G, Ravaud P. Quality of Reporting of Noninferiority and Equivalence Randomized Trials. JAMA 2006;295:1147-1151.

114/28SEP — 3 décembre 2009 - 16:30 - BORDEAUX

Les céphalosporinases plasmidiques

G. Arlet
Hôpital Tenon, Paris, France

Bilan Cephalosporinase Octobre 2009.

1. Algerie Iabadene et al. IJAA, 2009, 34, 340-342
   CMY-2 (*E. coli*, *P. stuartii*, P. mir, KP, S. marcescens de 2003 à 2007 sur A/C, L/M ou I1)
   DHA-1 (*E. coli*, *E. cloacae* de 2006 à 2007 sur A/C)
2. Canada : BAUDRY PJ, Diag Microbiol Infect Dis 2009, in press
   E. coli 26/27 CMY-2, 1/27 ACT-1,
   Groupes phylo : A et D (2 B2)
   Plasmid CMY-2 : 7 A/C, 9 I2, 9 K/B, 1 UI???
3. Canada : Pitout, CMI, 2009
   Souches isolées 2006-2007
   E. coli CMY-2 like
   P. mirabilis CMY-2 like
   Salmonella CMY-2 like
   K. pneumoniae, CMY-2 like, FOX-like, DHA like
4. Canada : Mataseje, AAC, 2009, 53, 3126-30
   E. coli CMY-2 in water source (recreational beaches and Drinking Water sources, 15119 échantillons, 142 positifs (0,9%), replicon I1, A/C, K/B, et F
5. Argentina Rapoport M, IJAA, 2008, 31; 385-387
   FOX-1 décrit en Agentine
   CMY-2 Shigella flexneri 3 isolats entre avril et juin 2006 non reliés à Buenos Aires mais même hôpital ???
   CMY-2 décrit chez KP et C. koseri with CTX-M-2 (ICAAC 2007)
6. Chine CHEN Y, IJAA, 2009, 33, 95-96
   KP First description ACT-3
7. Chine, Ding, Eur J Clin Microbiol 2008, 27, 915-21
   5 hôpitaux pédiatriques : E. coli & K. pneumoniae, DHA-1 et CMY-2 like
8. China, Wang Q, Curr Microbiol, 2008, 57, 558-563. MIR-4 in E. coli
9. Chine, Li Y JCM, 2008, 46, 1317-21
   E. coli & K. pneumoniae, DHA-1 et CMY-2 like
10. Germany, Rodriguez et al, JAC, 2009, 64, 301-9
    Salmonella (dinde et poulet) CMY-2 sur du I1
11. Italie (Varese); Luzzaro F, IJAA, 2009, 33, 328-333
    Proteus mirabilis CMY-16, 43/2070 PM, 43/258 are CAZ R (reste 215 are ESBL producers). 41/43 are closely related.
12. Corée, Ho Roh e al Yonsey Med J 2008, 49, 53-57
    KP DHA-1 & SHV-12 1 clone, 11 souches
    13. Corée, Park & al, IJAA, 2009, 34, 38-43
    CMY-1, CMY-2, DHA-1
14. Inde Sinha P et al, Indian J Pathol and Microbiol, 2008, 51, 367-369 :bof??????
15. Irlande, Roche C, CMI, 2008, 14, 616-618
    ACC-1 and DHA-1 in KP (15/500=3%) ACC-1 Espagne
16. Norvège, Naseer U CMI 2009
    E. coli 32 CMY-2 avec ISEcp1, 2 DHA-1 (integrons complexe)
    Replicon CMY-2, 12 I1, 10 FII, 7 A/C
17. Spain, Mata et al. CMI, 2009 enterobactéries sans ampC, de 1999 à 2007, de 0,06% à 1,3%
    E. coli CMY-2, -4, 27, -40, DHA-1, ACC-1
    P. mir CMY-2, DHA-1
    Salmonella : CMY-2
    K. pneumoniae : CMY-2, -25, DHA-1, ACC-1
    K. oxytoca : DHA-1
18. Suisse, Adler H et al, JAC, 2007
    CMY-2, E. coli, KP et PM (CMY-31 KP)
    DHA-1 E. coli
19. UK Woodford, JAC, 2007, 59, 102-105
    E. coli and KP, CMY-2, ACC, DHA, FOX
20. USA Hanson ND, AAC, 2008, 52, 3814-3816
    CMY-2 chez E. coli in Nursing Home
    Tenover F.

115/28SEP — 3 décembre 2009 - 16:50 - BORDEAUX

Enquête ONERBA trans-réseaux 2009 : « Céphalosporinases plasmidiques »

C. Verdet[1-2], G. Arlet[1-2], A. Mérens[5], S. Laouira[3-2], A. Vachée[4], J. Robert[3-2], CS de l'ONERBA et les microbiologistes participants
[1]Bactériologie, CHU Tenon-APHP [2]Université Pierre et Marie Curie [3]Bactériologie-Hygiène, UPMC PARIS 6 - Site Pitié-Salpêtrière, Paris [4]Laboratoire de Biologie, CH de Roubaix, Roubaix [5]Microbiologie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

Les « céphalosporinases plasmidiques » ont été décrites dès 1988, essentiellement chez les entérobactéries dépourvues de ce mécanisme de résistance naturelle (cf résumé de G. Arlet) [1,2]. Ce type d'enzyme est actuellement rapporté dans de très nombreux pays y compris la France [3-7]. Toutefois, il s'agit le plus souvent de description de cas/souche et la prévalence de ce type de souches sur le territoire est actuellement inconnue comme dans la plupart des pays.

C'est pourquoi l'ONERBA (Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques) a mené à travers des membres des réseaux fédérés en son sein (Azay-Résistance, Collège de Bactériologie-Virologie-Hygiène des Hôpitaux, Collégiale de Bactériologie-Virologie-Hygiène de Paris - APHP, Epiville-France, Groupe des Microbiologistes d'Ile de France, MedQual, Réseaux des Hôpitaux des Armées, Réseau des Hygiénistes du Centre, Réseaux des Microbiologistes des C-CLIN Est, C-CLIN Paris-Nord, et C-CLIN Sud-ouest, Réussir-France) une enquête sur 2 mois en septembre et octobre 2009 afin :

- d'évaluer l'importance du phénomène, en mesurant le pourcentage d'entérobactéries des groupes 1 et 2 productrices de céphalosporinase plasmidique en France en 2009 parmi l'ensemble des souches isolées

- de caractériser les enzymes à l'origine de cette résistance ainsi que l'environnement génétique des gènes codant pour ces enzymes

- d'analyser la clonalité de ces souches,

- de préciser les mécanismes plasmidiques de résistance aux fluoroquinolones associés à ces enzymes (comme cela peut être le cas pour les BLSE) [8].

Chaque laboratoire de microbiologie participant devait pendant la période de 2 mois :

1. recueillir le nombre total de malades pour lesquels il y avait un prélèvement clinique à visée diagnostique positif à : *E. coli*, *P. mirabilis*, *Salmonella*, *K. pneumoniae, K. oxytoca* et *C. koseri ;* ces informations serviront à calculer le pourcentage de souches productrices de céphalosporinase plasmidique au sein de chaque espèce pendant les 2 mois ;

2. Inclure, par malade, la première souche isolée d'un prélèvement à visée diagnostique ;

3. Pour chacune de ces 6 espèces, conserver les isolats qui d'après le CA-SFM 2009 étaient

a) soit de sensibilité anormale à la céfoxitine (CMI < 8 mg/l ou diamètre < 22 mm) que la souche soit productrice ou non de BLSE

b) soit sensible à la céfoxitine mais ayant une sensibilité anormale à une céphalosporine de 3ème génération ou à l'aztréonam et une absence de synergie avec l'acide clavulanique ou une sensibilité récupérée par la cloxacilline ;

4. Pour chaque malade porteur d'une souche ayant le phénotype considéré au point 3), recueillir des informations complémentaires démographiques, ainsi que celles concernant l'hospitalisation et le type de prélèvement ;

5. Pour ces souches, rechercher le caractère communautaire ou nosocomial ainsi que l'éventualité de la liaison avec un autre cas.

Pour chaque souche, la sensibilité aux autres familles d'antibiotiques a été déterminée, l'ADN extrait pour caractérisation moléculaire par PCR des gènes de céphalosporinases plasmidiques et des gènes de résistance transférables aux fluoroquinolones.

Les premiers résultats de cette enquête seront présentés lors de la session de l'ONERBA « des hauts et des bas dans la multirésistance aux antibiotiques à l'hôpital » lors de la RICAI 2009.

Références

[1]. Jacoby GA. AmpC beta-lactamases. Clin Microbiol Rev. 2009; 22:161-82

[2]. Philippon A., Arlet G., Jacoby G.A. Plasmid-determined AmpC-type ß-lactamases, Antimicrob. Agents Chemother. 2002; 46: 1-11.

[3]. Armand-Lefèvre L., Leflon-Guibout V., Bredin J., Barguellil F., Amor A., Pagès J.M., Nicolas-Chanoine M.H. Imipenem resistance in *Salmonella enterica* serovar wien related to porin loss and CMY-4 ß-Lactamase production, Antimicrob. Agents Chemother. 2003; 47: 1165-8.

[4]. Decre D., Verdet C., Raskine L., Blanchard H., Burghoffer B., Philippon A., Sanson-Le-Pors M.J., Petit J.C., Arlet G. Characterization of CMY-type ß-lactamases in clinical strains of *Proteus mirabilis* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in four hospitals in the Paris area, J. Antimicrob. Chemother. 2002; 50: 681-8.

[5]. Fortineau N., Poirel L., Nordmann P. Plasmid-mediated and inducible

cephalosporinase DHA-2 from *Klebsiella pneumoniae*. J Antimicrob Chemother. 2001 Feb;47(2):207-10.

[6]. Nadjar D, Rouveau M, Verdet C, Donay L, Herrmann J, Lagrange PH, Philippon A, Arlet G. Outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing transferable AmpC-type beta-lactamase (ACC-1) originating from *Hafnia alvei*. FEMS Microbiol Lett. 2000 Jun 1;187(1):35-40.

[7]. Verdet C, Benzerara Y, Gautier V, Adam O, Ould-Hocine Z, Arlet G. Emergence of DHA-1-producing *Klebsiella* spp. in the Parisian region: genetic organization of the ampC and ampR genes originating from *Morganella morganii*. Antimicrob Agents Chemother. 2006; 50: 607-7.

[8]. Cambau E., Lascols C., Sougakoff W., Bébéar C., Bonnet R., Cavallo JD., Gutmann L., Ploy MC., Jarlier V., Soussy CJ., Robert J. Occurrence of *qnrA*-positive clinical isolates in French teaching hospitals during 2002-2005. *Clin Microbiol Infect* 2006; 12:1013-20.

Centres (microbiologistes) participants

Aix en Provence (H. Chardon), Argenteuil (A. Scanvic), Aulnay sous bois (H. Porcheret), Besançon (X. Bertrand), Caen (V. Cattoir), Clamart (JW. Decousser), La Chapelle sur Erdre (A. Mouchère), La Ferté Bernard (F. Grobost), Lagny (Y. Costa), Le Kremlin-Bicêtre (N. Fortineau), Les Sables d'Olonne (D. Langlois), Lille (M. Roussel-Delvallez), Marseille (Garnotel), Meaux (F. Faibis), Mulhouse (JM. Delarbre), Paris-IMM (Y. Péan), Paris-Pitié (S. Laouira), Paris-Tenon (C. Verdet), Reims (L. Brasme), Roubaix (A. Vachée), Saint-Amand-Montrond (P. Harriau), ST-Mandé (A. Merens), St-Nazaire (N. Lièvre), Strasbourg (T. Gueudet), Tarbes (M-F. Danjoux), Toulouse (L. Cavalié), Tours 1 (N. van der Mee-Marquet), Tours 2 (V. Morange), Valenciennes (C. Cattoen)

116/28SEP — 3 décembre 2009 - 17:10 - BORDEAUX

Les nouvelles résistances aux fluoroquinolones chez les entérobactéries non productrices de BLSE

A. Mérens
Service de Bilogie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

Depuis l'introduction en pratique clinique de la première quinolone en 1962, puis de la ciprofloxacine dans les années 80, des résistances acquises à cette famille d'antibiotiques ont été décrites chez la plupart des bactéries, avec une diffusion mondiale. Chez les entérobactéries, la résistance aux quinolones résulte principalement d'une accumulation de mutations au niveau des gènes codant les cibles de ces molécules, l'ADN gyrase et la topoisomérase IV. D'autres mécanismes chromosomiques, comme une hyperexpression des pompes d'efflux ou une imperméabilité entraînant une diminution de la concentration intracellulaire d'antibiotique peuvent également être impliqués. La résistance plasmidique aux quinolones a longtemps été considérée comme improbable. Pourtant, depuis la description du premier gène *qnrA1* en 1998, 3 familles de gènes de résistance transférables horizontalement ont été décrites chez les entérobactéries : *qnr*, *aac(6')-Ib-cr* et *qepA*. Ils sont essentiellement responsables de résistance de bas niveau aux quinolones.

Les gènes *qnr* codent des protéines à motifs pentapeptidiques répétés qui protègent l'ADN gyrase de l'action des quinolones. A ce jour, 5 déterminants différents ont été rapportés, QnrA, QnrB, QnrS, QnrC, QnrD. La prévalence des gènes *qnr* chez les entérobactéries est très variable selon les études (0,2% à 94%) en fonction de l'origine géographique, mais aussi des critères de sélection des souches (communautaires, nosocomiales, résistantes ou non aux quinolones ou aux céphalosporines de troisième génération). Plusieurs études ont montré que les déterminants Qnr, principalement QnrA et QnrB, étaient plus fréquents chez les entérobactéries productrices de BLSE ; ces gènes *qnrA* et *qnrB* sont portés par de grands plasmides de 40-320 kb, au sein d'intégrons de classe 1 de type *sul1*. QnrS est moins fréquemment associés à des BLSE, mais plutôt à des bêta-lactamases TEM-1 ou LAP-1. Alors que le premier QnrA1 décrit en 1998 chez une souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée en Alabama était porté par le plasmide pMG252, en association avec la céphalosporinase FOX-5, il existe moins de données sur les associations entre Qnr et les céphalosporinases plasmidiques. QnrA et QnrB ont été retrouvés chez des *E. coli* porteurs de CMY-2 et CMY-1 respectivement. L'association la plus claire est celle de QnrB4 avec DHA-1, initialement décrite en Asie, puis aux Etats-Unis et en France. A ce jour, QnrS n'a jamais été identifié en association avec une céphalosporinase plasmidique.

Le gène *aac(6')-Ib-cr* code un variant de l'aminoglycosyltransférase AAC(6')-Ib responsable d'une résistance à la kanamycine, tobramycine et amikacine. La présence de 2 substitutions au niveau des codons 102 et 179 confère une augmentation d'un facteur 2 à 4 des concentrations minimales inhibitrices de la ciprofloxacine. En général, ce gène est un gène cassette d'un intégron de classe 1 de type *sul1* et est associé à des bêta-lactamases OXA-1, CTX-M15 ou SHV-12. Il a été ponctuellement retrouvé chez des souches productrices de céphalosporinases plasmidiques (DHA-1 ou CMY), mais souvent également productrices de BLSE et en association avec *qnr*. Il semble cependant assez largement répandu puisqu'il a été identifié chez 3% et 9% des souches d'*E. coli* résistantes aux quinolones et non productrices de BLSE isolées respectivement d'infections urinaires et de bactériémies au Royaume-Uni entre 2001 et 2005.

Enfin, le gène *qepA* code une pompe d'efflux à 14 segments transmembranaires, de type MFS (major facilitator superfamily). Cette pompe confère une diminution de sensibilité aux quinolones hydrophiles (norfloxacine, ciprofloxacine, principalement). A ce jour, les études épidémiologiques concernant QepA, le dernier des gènes de résistance plasmidiques aux quinolones décrit, sont encore rares et il n'a pas été rapporté d'association avec des céphalosporinases plasmidiques.

Ainsi, les données sur les gènes transférables de résistance aux quinolones chez les entérobactéries du groupe 1 et 2, ayant acquis une céphalosporinase plasmidique, sont très parcellaires, ce qui est probablement lié à la rareté des enquêtes de prévalence sur ces bêta-lactamases. L'ONERBA a mené en septembre et octobre 2009 une enquête à travers ses réseaux sur la prévalence des « Céphalosporinases plasmidiques » chez les entérobactéries des groupes 1 et 2. Les résultats préliminaires de la recherche des gènes *qnr* sur les souches collectées lors de cette enquête et leur association avec les différents gènes de céphalosporinases identifiés seront présentés.

Centres (microbiologistes) participants

Aix en Provence (H. Chardon), Argenteuil (A. Scanvic), Aulnay sous bois (H. Porcheret), Besançon (X. Bertrand), Caen (V. Cattoir), Clamart (JW. Decousser), La Chapelle sur Erdre (A. Mouchère), La Ferté Bernard (F. Grobost), Lagny (Y. Costa), Le Kremlin-Bicêtre (N. Fortineau), Les Sables d'Olonne (D. Langlois), Lille (M. Roussel-delvallez), Marseille (E. Garnotel), Meaux (F. Faibis), Mulhouse (JM. Delarbre), Paris-IMM (Y. Péan), Paris-Pitié (S. Laouira), Paris-Tenon (C. Verdet), Reims (L. Brasme), Roubaix (A. Vachée), Saint-Amand-Montrond (P. Harriau), ST-Mandé (A. Mérens), St-Nazaire (N. Lièvre), Strasbourg (T. Gueudet), Tarbes (M-F. Danjoux), Toulouse (L. Cavalié), Tours 1 (N. van der Mee-Marquet), Tours 2 (V. Morange), Valenciennes (C. Cattoen)

Bibliographie

Cattoir V, Nordmann P. Plasmid-mediated quinolone resistance in Gram-negative bacterial species : an update. Curr Med Chemistry 2009 ;16 :1028-46.

Strahilevitz J, Jacoby G, Hooper D, Robicsek A. Plasmid-mediated quinolone resistance : a multifaceted threat. Clin Microb Reviews 2009 ;22 :664-689.

Rodríguez-Martínez JM, Pascual A, García I, et al. Detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant *qnr* among clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* producng AmpC-type beta-lactamase. J Antimicrob chemother 2003; 52 : 703-6.

Jones GJ, Warren RE, Skidmore SJ, Davies VA, Gibreel T, Upton M. Prevalence and distribution of plasmid-mediated quinolone resistance genes in clinical isolates of *E. coli* lacking ESBL. J Antimicrob Chemother 2008 ;62 :1245-51.

126/32S — 3 décembre 2009 - 16:30 - 342A

Handicap-BMR et vie hospitalière

J. Salomon
CHU R. Poincaré, INSERM, Institut Pasteur, Garches, France

Les personnes handicapées sont plus souvent hospitalisées que les autres, en chirurgie, réanimation ou en Médecine Physique et Réhabilitation (MPR). Elles subissent de multiples actes invasifs ou chirurgicaux et sont très exposées au risque de colonisation puis d'infection par des bactéries multi résistantes (BMR). Dans cette population spécifique, la survenue d'infections nosocomiales est fréquente et concerne de multiples sites : infection du site opératoire, bactériémie, pneumonie de ventilation, infection urinaire, infection cutanéomuqueuse (sur plaie initiale ou escarre). La survenue d'infections nosocomiales à BMR, du fait d'actes invasifs et/ou d'une pression antibiotique élevée, a de multiples conséquences néfastes pour le patient. On peut citer l'aggravation de l'état général et la nécessité d'un transfert hospitalier, le recours contraint à une antibiothérapie délicate par voie veineuse, la nécessité d'une surveillance rapprochée des dosages et de la fonction rénale. La mise en place d'un isolement technique ou géographique et la multiplication des soins infirmiers gênent la rééducation active et prolongent *de facto* l'hospitalisation.

Les infections à BMR posent aujourd'hui des problèmes thérapeutiques majeurs aux cliniciens (*Giske, 2008 ; Spelberg, 2008, Schwaber, 2008*). En termes de Santé Publique, la situation est préoccupante. Les phénomènes de résistances bactériennes s'étendent avec un impact encore mal évalué en termes de mortalité, de morbidité et de coût. La modification de l'exposition antibiotique des populations, avec un usage généralisé, massif et souvent inapproprié, est à l'origine d'infections bactériennes graves et de la diffusion de germes multi résistants ou de mécanismes de résistances (BLSE, CTX-M). En raison de son incidence élevée et de sa résistance à de nombreux antibiotiques, un groupe de bactéries, paradigme de la virulence, de l'épidémicité et de la résistance, a été baptisé « ESKAPE bugs ». Il s'agit d'*Enterococcus faecium, Staphylococcus aureus, Klebsiella pneumoniae, Acinetobacter baumanii,*

Pseudomonas aeruginosa et *Enterobacter sp*. Ces bactéries sont responsables d'épidémies

nosocomiales et échappent aux anti-infectieux d'où des situations d'impasse thérapeutique.

Préserver le plus longtemps possible l'efficacité des antibiotiques existants par un bon usage antibiotique et une réduction des prescriptions inadaptées est une priorité absolue Les options thérapeutiques limitées poussent les cliniciens à utiliser des molécules anciennes, souvent toxiques et pour lesquelles les données de posologie, de durée ou d'associations sont parcellaires, à réutiliser d'anciennes molécules peu à peu abandonnées au cours du temps et dont l'efficacité est conservée comme les aminosides, la colistine ou même la rifampicine

*(Drusano, 2007)*ou à développer de nouvelles stratégies de prévention (*Boucher, 2008 ; Urban, 2008* ; *Salomon, 2006 et 2009)*. Pour les nouvelles molécules, assez rares, le niveau de service médical rendu est souvent modéré *(Billeter, 2008 ; Lalani, 2008)*. Malgré un recul de 6 décennies d'utilisation des antibiotiques, il existe peu de données basées sur des preuves et portant sur les meilleures stratégies à adopter pour le traitement antibiotique

et le contrôle des infections à germes résistants. Pour la plupart des infections bactériennes, la durée minimale ou optimale de traitement, la nécessité ou non d'une association de molécules, la voie la plus efficace ou même la posologie, ne sont souvent pas définies *(Rice, 2008)*.

Les centres de MPR jouent un rôle pivot dans le contrôle de la dissémination des BMR. Ils peuvent servir à la fois de réservoirs et de lieux d'amplification des BMR pour les établissements de soins aigus et pour la communauté. Ils partagent la même population de patients souvent transférés entre institutions. Les personnes hospitalisées dans ces unités ont de nombreux facteurs de risque connus de portage de BMR : multiples hospitalisations prolongées, procédures chirurgicales, cures antibiotiques itératives et perte d'autonomie. Ainsi, de nombreux patients admis en centres de MPR ou transférés de ces centres vers des hôpitaux sont dépistés porteurs de BMR (Ben Ami, 2008 ; Schwaber, 2009). Si la dissémination des BMR au sein des centres de MPR n'était pas contrôlée, les programmes de contrôle du risque infectieux dans d'autres établissements de soins pourraient être compromis. Les mesures strictes d'isolement, en particulier les mesures d'isolement géographique ne peuvent être appliquées en MPR sous peine d'interférer avec les besoins du patient ou même d'empêcher le programme individuel de rééducation requis. Les modalités de transmission, les facteurs de risque, les procédures et les circonstances favorisant la transmission de BMR en MPR peuvent considérablement varier selon les patients, les centres et les pays. Il convient de définir les facteurs de risque spécifiques d'acquisition de BMR dans un contexte de rééducation, de rechercher le portage et les facteurs de risque de portage des BMR parmi les membres du personnel et les professionnels de santé et de déterminer les actes et les caractéristiques des personnes impliquées dans la dissémination des BMR dans une unité de médecine physique et réadaptation.

Pour réussir face au défi de la résistance bactérienne et de ses conséquences chez les personnes handicapées en milieu hospitalier, nous devons adopter une approche prospective innovante multi disciplinaire, développer une épidémiologie réactive et basée sur de grands outils (Temime, 2009), des stratégies d'épargne et de bon usage des molécules actives et déposer des projets innovants de recherche et de développement de nouvelles molécules.

Bibliographie :

Ball. Conclusions: the future of antimicrobial therapy - Augmentin and beyond. Int J Antimicrob Agents (2007) vol. 30 Suppl 2 pp. S139-41

Ben-Ami R, Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Giladi M, Chmelnitsky I, Leavitt A, Carmeli Y. Influx of extended-spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae* into the hospital. Clin Infect Dis. 2008.

Billeter et al. Dalbavancin: a novel once-weekly lipoglycopeptide antibiotic. Clin Infect Dis (2008) vol. 46 (4) pp. 577-83

Boucher HW, Corey GR. Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus.* Clin Infect Dis **2008**; 46(Suppl 5):S344–9.

Drusano. Pharmacokinetics and pharmacodynamics of antimicrobials. Clin Infect Dis (2007) vol. 45 Suppl 1 pp. S89-95

Drusano et al. Back to the future: using aminoglycosides again and how to dose them optimally. Clin Infect Dis (2007) vol. 45 (6) pp. 753-60

Giske CG, Monnet DL, Cars O, Carmeli Y. Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gramnegative bacilli. Antimicrob Agents Chemother **2008**; 52:813–21.

Lalani et al. Outcomes with daptomycin versus standard therapy for osteoarticular infections associated with Staphylococcus aureus bacteraemia. J Antimicrob Chemother (2008) vol. 61 (1) pp. 177-82

Rice LB. Federal funding for the study of antimicrobial resistance in nosocomial pathogens: no ESKAPE. J Infect Dis **2008**; 197:1079–81.

Rice. The Maxwell Finland Lecture: for the duration-rational antibiotic administration in an era of antimicrobial resistance and clostridium difficile. Clin Infect Dis (2008) vol. 46 (4) pp. 491-6

Salomon J, Schnitzler A, Ville Y, Laffont I, Perronne C, Denys P, Bernard L. Prevention of urinary tract infection in six spinal cord-injured pregnant women who gave birth to seven children under a weekly oral cyclic antibiotic program. Int J Infect Dis. 2009 May;13(3):399-402.

Salomon J, Denys P, Merle C, Chartier-Kastler E, Perronne C, Gaillard JL, Bernard L. Prevention of urinary tract infection in spinal cord-injured patients: safety and efficacy of a weekly oral cyclic antibiotic (WOCA) programme with a 2 year follow-up--an observational prospective study. J Antimicrob Chemother. 2006 Apr; 57(4):784-8.

Schwaber MJ, Carmeli Y. The effect of antimicrobial resistance on patient outcomes: importance of proper evaluation of appropriate therapy. Crit Care. 2009; 13(1):106. Epub 2009 Jan 12

Spellberg B, Guidos R, Gilbert D, et al. The epidemic of antibioticresistant infections: a call to action for the medical community from the Infectious Diseases Society of America. Clin Infect Dis **2008**; 46:155–64.

Temime L, Opatowski L, Panet Y, Brun Buisson C, Boelle PY, Guillemot D. Peripathetic health-care workers as potential superspreaders. Proc Natl Acad Sci USA 2009 Oct 27 ; 106(43) :18420-5.

Urban C, Bradford PA, Tuckman M, et al. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* harboring *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase b-lactamases associated with long-term care facilities. Clin Infect Dis **2008**; 46:e127–30.

129/32s 3 décembre 2009 - 17:30 - 342A

Infections respiratoires chez le handicapé moteur.

D. Orlikowski

Service de réanimation et unité de ventilation à domicile, Centre de référence des maladies neuromusculaires, CHU Raymond Poincaré, Garches, France

Introduction : Un nombre important de pathologie peuvent être responsable d'un handicap moteur que ce soit par atteinte du système nerveux périphérique, central ou de ces 2 composantes. L'apparition et l'évolution de l'atteinte motrice peut être aiguë ou chronique, évolutive ou fixée. Le déficit moteur peut être également une atteinte isolée ou associé à d'autres atteintes du système nerveux voire d'autres organes. La répartition des déficit moteur et le handicap qui en résulte est également variable d'une pathologie à l'autre, l'atteinte motrice pouvant être homogène touchant globalement tout les groupes musculaires ou inhomogène touchant préférentiellement certains groupes musculaires. Ainsi peuvent être impliquées une atteinte des membres, de la déglutition, de la toux et de la respiration à des degrés divers voire à des moments divers comme dans la myasthénie par exemple. Certaines pathologie vont présenter spécifiquement une atteinte respiratoire dans leur course évolutive la survenue d'une infection respiratoire peur être parfois révélatrice cde cette atteinte.

La survenue d'une infection respiratoire peut se voir chez le handicapé moteur dans plusieurs situations.

· Déficit des muscles respiratoires, inspiratoires et expiratoires qui peuvent être responsable d'une insuffisance respiratoire pouvant nécessiter la ventilation mécanique mais aussi d'un déficit de la toux.

· Troubles de déglutition avec inhalation d'autant plus inquiétants qu'il existe une atteinte de la toux associée.

· Existence de corps étranger dans l'arbre respiratoire (trachéotomie).

Handicap moteur, insuffisance respiratoire et infection respiratoire.

Deux grandes situations sont donc à distinguer : si on prend l'exemple des maladies neuromusculaires le premier cas est celui d'un handicap se révélant dans le cadre d'une maladie d'évolution aiguë et éventuellement réversible comme dans le cas d'un syndrome de Guillain Barré ou d'une crise myasthénique, le second cas est celui d'un handicap survenant chez un patient ayant une maladie évolutive et éventuellement évolué comme dans le cas d'une myopathie de Duchenne par exemple.

Ces situations sont très différentes. En effet, dans le premier cas, la problématique va être la survenue d'une atteinte respiratoire et/ou de la déglutition nécessitant rapidement la ventilation invasive avec le risque de survenue de pneumopathie sous ventilation mécanique en particulier précoce (1).

Dans le second cas la problématique va être de rapporter la cause d'une décompensation respiratoire aiguë à une infection respiratoire. En effet, chez les patients neuromusculaires, la survenue d'une infection des voies aériennes supérieures a été rapportée comme responsable de plus de 90 % des hospitalisations chez les patients neuromusculaires (2). L'existence d'une infection des VAS ne doit néanmoins pas faire occulter les autres causes de détresse respiratoire qui devront être recherchées (Pneumopathie infectieuse, OAP, embolie pulmonaire, pneumothorax, etc..). L'infection le plus souvent d'origine virale va être responsable d'une diminution de la force des muscles respiratoires et de la capacité vitale mais surtout des capacités de toux de ces patients. Elle est associé à l'apparition ou à l'aggravation d'une hypoventilation alvéolaire (3). Le problème majeur de ces patients est donc l'existence d'un encombrement bronchique (aggravé par l'existence de troubles de déglutition) éventuellement associée à une pneumopathie et à une insuffisance respiratoire. La réponse thérapeutique doit autant tenir compte de la nécessité d'un désencombrement, de la nécessité d'une ventilation (préférentiellement non-invasive) et de celle d'une thérapeutique anti-infectieuse.

Trachéotomie et infection respiratoire

La trachéotomie et fréquemment utilisée chez les patients présentant un handicap moteur, soit pour le sevrage de la ventilation mécanique (en cas d'accident ou de pathologie aiguë) soit pour conduire le ventilation mécanique au long cours (pathologies neuromusculaire notamment).

Si dans certaines pathologies, celle ci permet des survies prolongées, le recours à la trachéotomie à été critiqué par certains auteurs comme responsable d'une augmentation de la morbi-mortalité d'origine respiratoire infectieuse. Les causes en sont multiples, colonisation bactérienne, inflammation, hypersécrétion, le tout éventuellement associée à des troubles de déglutitions et/ou un déficit de la toux. Dans les maladies neuromusculaires, en particulier est observée une augmentation du nombre d'hospitalisation et d'infection respiratoire chez les patients trachéotomisés comparativement aux patients managés uniquement de façon non invasive par des techniques de toux assistée(2). Ces résultats étant néanmoins critiquables car les patients trachéotomisés n'étaient pas systématiquement entraînés avec des techniques d'augmentation de la toux.

En conclusion : Les infections respiratoires représentent une complication fréquente des patients avec un handicap moteur, à la fois à la période aiguë d'installation du handicap ou à plus long terme. Leur prise en charge nécessite de prendre en compte les différents mécanismes impliquées dans leur survenue.

1. Orlikowski D, Sharshar T, Porcher R, Annane D, Raphael JC, Clair B. Prognosis and risk factors of early onset pneumonia in ventilated patients with Guillain-Barre syndrome. Intensive Care Med 2006; 32(12):1962-9.

2. Bach JR, Rajaraman R, Ballanger F, Tzeng AC, Ishikawa Y, Kulessa R, et al. Neuromuscular ventilatory insufficiency: effect of home mechanical

ventilator use v oxygen therapy on pneumonia and hospitalization rates. Am J Phys Med Rehabil 1998;77(1):8-19.

3. Poponick JM, Jacobs I, Supinski G, DiMarco AF. Effect of upper respiratory tract infection in patients with neuromuscular disease. Am J Respir Crit Care Med 1997;156(2 Pt 1):659-64.

130/33s — 3 décembre 2009 - 16:30 - 342B

Neisseria meningitidis pathogenesis

G. Dumenil[1-2], Equipe Avenir[1-2]
[1]*Hôpital Européen Georges Pompidou* [2]*PARCC, Paris Cardiovascular Research Center, Paris, France*

Neisseria meningitidis is a commensal bacterium of the human nasopharynx. Occasionally, this bacterium reaches the bloodstream and causes meningitis after colonizing and crossing the blood-brain barrier by mechanisms that are still under study (van Deuren et al., 2000). An immunohistological study of a meningococcal sepsis case revealed that neisserial adhesion was restricted to capillaries located in low blood flow regions in the infected organs. Bacteria were found in the lumen of cerebral vessels in the form of tight aggregates involving tens to hundreds of bacteria in close association with the endothelium often occluding the capillaries (Mairey et al., 2006). Considering that these events take place in the context of the bloodstream, these observations raised two hypothesis regarding the colonization of the blood-brain barrier by the meningococcus: (*i*) that drag forces encountered by the meningococcus in the bloodstream determine its initial attachment site in vessels; (ii) bacterial aggregates are highly resistant to blood flow-generated shear stress.

We therefore investigated the ability of *N. meningitidis* to bind to endothelial cells in the presence of liquid flow mimicking the bloodstream with a laminar flow chamber (Mairey et al., 2006). We first showed that under these conditions type IV pili, a filamentous bacterial organelle is the main adhesive structure. Strikingly, average blood flows reported for various organs strongly inhibited initial adhesion. As cerebral microcirculation is known to be highly heterogeneous, cerebral blood velocity was investigated at the level of individual vessels using intravital imaging of rat brain. In agreement with the histological study, shear stress levels compatible with meningococcal adhesion were only observed in capillaries, which exhibited transient reductions in flow. These results argue that the combined mechanical properties of neisserial adhesion and blood microcirculation target meningococci to transiently underperfused cerebral capillaries and thus determine disease development.

The flow chamber assay then revealed that, after initial attachment, bacteria resisted high blood velocities and even multiplied forming microcolonies resembling those observed in the septicemia case. Our second aim was therefore to identify the molecular basis of this resistance (Mikaty et al., 2009). *N. meningitidis* forms aggregates independently of host cells yet we demonstrated that cohesive forces involved in these bacterial aggregates are not sufficient to explain the stability of colonies on cell surfaces. Results imply that host cell attributes enhance microcolony cohesion. Microcolonies on the cell surface induce a cellular response consisting of numerous cellular protrusions similar to filopodia that come in close contact with all the bacteria in the microcolony (Eugene et al., 2002). Consistent with a role of this cellular response, host cell lipid microdomain disruption simultaneously inhibited this response and rendered microcolonies sensitive to blood flow-generated drag forces. On the bacterial side, a genetic approach showed that type IV pili are responsible for triggering this cellular response. As type IV pili are complex molecular machines composed of at least 20 proteins (Pelicic, 2008), we then identified which type IV pili component was involved in the process. The protein PilV was identified as the triggering factor of plasma membrane reorganization. PilV is termed a pilin-like protein because it shares some structural properties with the major pilin, the structural component of pili (Winther-Larsen et al., 2001). The PilV protein is thought to be localized inside the pilus fiber and has therefore access to cellular receptors that remain to be identified. Consistently with the results obtained with cyclodextrin, microcolonies formed by a *pilV* mutant are highly sensitive to shear stress. Our study shows that bacteria manipulate host cell functions to reorganize the host cell surface to form filopodia-like structures that enhance the cohesion of the microcolonies and therefore blood vessel colonization under the harsh conditions of the bloodstream.

These results highlight how infection in the context of the bloodstream is a specific mechanical environment that determines the evolution of the meningococcal disease and that needs to be addressed experimentally. Extension of these observations to other bacterial pathogens targeting blood vessels will be a future area of research.

Références :

Eugene, E., Hoffmann, I., Pujol, C., Couraud, P. O., Bourdoulous, S., and Nassif, X. (2002). Microvilli-like structures are associated with the internalization of virulent capsulated Neisseria meningitidis into vascular endothelial cells. J Cell Sci *115*, 1231-1241.

Mairey, E., Genovesio, A., Donnadieu, E., Bernard, C., Jaubert, F., Pinard, E., Seylaz, J., Olivo-Marin, J. C., Nassif, X., and Dumenil, G. (2006). Cerebral microcirculation shear stress levels determine Neisseria meningitidis attachment sites along the blood-brain barrier. J Exp Med *203*, 1939-1950.

Mikaty, G., Soyer, M., Mairey, E., Henry, N., Dyer, D., Forest, K. T., Morand, P., Guadagnini, S., Prevost, M. C., Nassif, X., and Dumenil, G. (2009). Extracellular bacterial pathogen induces host cell surface reorganization to resist shear stress. PLoS Pathog *5*, e1000314.

Pelicic, V. (2008). Type IV pili: e pluribus unum? Mol Microbiol *68*, 827-837.

van Deuren, M., Brandtzaeg, P., and van der Meer, J. W. (2000). Update on meningococcal disease with emphasis on pathogenesis and clinical management. Clin Microbiol Rev *13*, 144-166, table of contents.

Winther-Larsen, H. C., Hegge, F. T., Wolfgang, M., Hayes, S. F., van Putten, J. P., and Koomey, M. (2001). Neisseria gonorrhoeae PilV, a type IV pilus-associated protein essential to human epithelial cell adherence. Proc Natl Acad Sci U S A *98*, 15276-15281.

132/33s — 3 décembre 2009 - 17:00 - 342B

Physiopathologie de la neurolistériose

O. Disson[4-2], M. Lecuit[1-2-3-4]
[1]*Université Paris Descartes, Centre d'Infectiologie Necker-Pasteur, Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Necker-Enfants malades* [2]*Inserm Avenir U604* [3]*Centre de Référence des Listeria* [4]*Groupe Microorganismes et Barrières de l'Hôte, Institut Pasteur, Paris, France*

Listeria monocytogenes (*L. monocytogenes*) est une bactérie modèle qui a la capacité chez l'homme de traverser les barrières intestinale, materno-fœtale et hémato-encéphalique, induisant ainsi des gastroentérites, infections fœtoplacentaires et méningo-encéphalites. Cette bactérie intracellulaire facultative peut survivre et se multiplier dans des cellules de type phagocytaire et induire son internalisation dans des cellules non-phagocytaires, notamment les cellules épithéliales (Hamon *et al.*, 2006).

Il a été montré *in vitro* que deux protéines de surface de *L. monocytogenes,* InlA et InlB, permettent l'internalisation de la bactérie dans les cellules non-phagocytaires grâce à l'interaction avec leurs récepteurs cellulaires respectifs, la E-cadhérine (Ecad, formant les jonctions adhérentes entre les cellules épithéliales) et Met (le récepteur de l'HGF, exprimé de façon ubiquitaire). Les interactions d'InlA et d'InlB avec leurs récepteurs sont spécifiques d'espèce : InlA reconnaît la Ecad humaine et de cobaye, et non la Ecad de souris ou de rat (Lecuit *et al.*, 1999) ; InlB reconnaît Met humain et murin, et non Met de cobaye ou de lapin (Khelef *et al.*, 2006). Dans un modèle *in vivo* de souris transgénique exprimant la Ecad humaine spécifiquement dans les entérocytes, InlA, joue un rôle critique dans le franchissement de la barrière intestinale (Lecuit *et al.*, 2001) mais InlB ne joue pas de rôle. Nous avons récemment montré chez la gerbille, un modèle permissif pour les voies InlA-Ecad et InlB-Met, ainsi que dans des souris générées au laboratoire exprimant une Ecad humanisée en lieu et place de la Ecad murine (« knock-in » KI E16P), le rôle interdépendant d'InlA et d'InlB dans le franchissement de la barrière materno-fœtale (Disson *et al.*, 2008).

Les mécanismes de la traversée de la barrière hémato-encéphalique (BHE) restent quant à eux encore mal compris, notamment par manque de modèles pertinents. *L. monocytogenes* pourrait théoriquement accéder au système nerveux central (SNC) via *(i)* la barrière formée par les vaisseaux méningés drainants, et/ou *(ii)* les microvaisseaux cérébraux formant la BHE au sens strict et/ou *(iii)* les cellules épithéliales des plexus choroïdes formant la barrière sang-liquide céphalo-rachidien (LCR).

L. monocytogenes pourrait franchir ces barrières par un mécanisme direct impliquant une ou plusieurs interactions ligands-récepteurs, comme pour la traversée des barrières intestinale et materno-fœtale, ou par un mécanisme impliquant le passage de cellules infectées (mécanisme dit du « cheval de Troie »).

Nous cherchons actuellement à caractériser les mécanismes de traversée de la BHE par *L. monocytogenes*, en développant des approches complémentaires, *in vivo*, *ex vivo* et *in vitro*.

Nous avons ainsi développé un modèle de neurolistériose dans les modèles permissifs que sont la gerbille et la souris KI E16P. Nous avons montré dans ces animaux, par des approches d'imagerie en temps réel (bioluminescence et IRM) couplées à des techniques classiques d'immunohistochimie, que nous pouvions reproduire expérimentalement une infection du SNC. Nous couplons cette approche *in vivo* à des modèles *ex vivo* de micro-injection de tissus micro-disséqués et de culture *in vitro* de cellules primaires sur microfiltre. Nous pouvons ainsi étudier la traversée de la barrière sang-LCR, formée par les cellules épithéliales des plexus choroïdes, et sang-parenchyme cérébral, formée par les cellules endothéliales des microvaisseaux cérébraux. Des expériences préliminaires menées dans ces modèles suggèrent un rôle d'InlB dans l'invasion du SNC. Il reste à déterminer si ce rôle est direct ou reflète un effet d'InlB dans un tissu infecté en amont de l'invasion du SNC.

La mise en place de ces modèles pourra également nous permettre d'étudier le rôle d'autres facteurs de la bactérie et de l'hôte lors de la traversée de la BHE par *L. monocytogene*s, ainsi que d'étudier d'autres pathogènes présentant un tropisme pour le SNC. L'ensemble des résultats obtenus permettra de mieux comprendre les propriétés des barrières de l'hôte et pourra également ouvrir la voie au développement de nouvelles approches thérapeutiques.

Bibliographie

Disson, O., Grayo, S., Huillet, E., Nikitas, G., Langa-Vives, F., Dussurget, O., *et al* (2008) Conjugated action of two species-specific invasion proteins for fetoplacental listeriosis. *Nature*. **455:** 1114-1118.

Hamon, M., Bierne, H. and Cossart, P. (2006) Listeria monocytogenes: a multifaceted model. *Nat Rev Microbiol*. **4:** 423-434.

Khelef, N., Lecuit, M., Bierne, H. and Cossart, P. (2006) Species specificity of the Listeria monocytogenes InlB protein. *Cell Microbiol*. **8:** 457-470.

Lecuit, M., Dramsi, S., Gottardi, C., Fedor-Chaiken, M., Gumbiner, B. and Cossart, P. (1999) A single amino acid in E-cadherin responsible for host specificity towards the human pathogen Listeria monocytogenes. *Embo J*. **18:** 3956-3963.

Lecuit, M., Vandormael-Pournin, S., Lefort, J., Huerre, M., Gounon, P., Dupuy, C.*, et al* (2001) A transgenic model for listeriosis: role of internalin in crossing the intestinal barrier. *Science*. **292:** 1722-1725.

135/34SEP — 3 décembre 2009 - 16:30 - 343

Plaidoyer pour la friction des mains avec les produits hydro-alcooliques

O. Keita-Perse
Service d'Epidémiologie et d'Hygiène Hospitalière, Centre Hospitalier Princesse Grace, Monaco

L'hygiène des mains est un élément-clef de la lutte contre les infections associées aux soins (IAS) et la transmission croisée d'agents pathogènes. Depuis la démonstration par Ignaz Philipp Semmelweis de l'efficacité de la désinfection des mains pour diminuer la survenue de fièvre puerpérale il y a plus de 200 ans jusqu'aux publications majeures démontrant le rôle de prévention joué par l'hygiène des mains dans la prévention de la transmission croisée, ce geste simple reste constamment dans l'actualité, soit parce-qu'il n'est encore qu'insuffisamment pratiqué, comme le montrent les audits réalisés régulièrement dans les hôpitaux, soit parce-que les techniques d'hygiène des mains ont évolué notamment grâce à l'utilisation des produits hydro-alcooliques, soit enfin parce-que dans le cadre de la mise en place du tableau de bord pour visualiser l'évolution de la lutte contre les IAS, chaque établissement de santé doit désormais afficher des indicateurs parmi lesquels figure la consommation de produits hydro-alcooliques.

Le plaidoyer pour la friction s'appuie sur des arguments d'utilité, d'efficacité et de sûreté.

1. Utilité : En 1962 déjà Mortimer avait mis en évidence le rôle de l'hygiène des mains des soignants dans la transmission de staphylocoques chez les nouveaux-nés. Le taux était quatre fois supérieur en l'absence d'hygiène des mains[i].

D'autres études ont montré l'intérêt de l'hygiène des mains dans la prévention des infections associées aux soins (IAS) ou leur impact sur la diminution des taux de bactéries multirésistantes (BMR) même si le niveau de preuve de ces études n'était pas le plus haut[ii].

2. Efficacité : En décembre 2001, le Comité Technique National des Infections Nosocomiales (CTIN) positionnait prioritairement la friction avec un produit hydro-alcoolique « en remplacement du lavage des mains »[iii]. Les Centers for Disease Control and Prevention dans les guidelines de 2002 ainsi que la société française d'hygiène Hospitalière la même année recommandaient également de prioriser cette technique[iv].

Les études comparant l'efficacité du lavage des mains et de la friction hydro-alcoolique en situation de soins montrent la supériorité de la friction que le lavage des mais soit simple ou hygiénique[v].[vi],[vii].

Cette efficacité sous entend un geste correctement réalisé[viii], ce qui est également plus souvent le cas lors d'une friction hydro-alcoolique que lors d'un lavage des mains[ix].

3. Sûreté : Il est formellement démontré que les produits hydro-alcooliques sont moins irritants que les savons, même doux[x].[xi], y compris chez les personnels atopiques[xii].

Les recommandations sur l'hygiène des mains de la SFHH dans leur édition de 2009 recommandent d'ailleurs la suppression des savons antiseptiques utilisés pour les mains des soignants[xiii].

Les limites d'utilisation des produits hydro-alcooliques sont liées à leur spectre d'activité, d'une part, - ils sont par exemple inefficaces sur les parasites, et à leur condition d'utilisation d'autre part. Des ingestions volontaires de ces produits ont été rapportées et ont conduit à des intoxications alcooliques sévères, pouvant aller jusqu'à 5 g d'alcool/l[xiv]. Dans le cas précis de cette publication de Tavolacci, il s'agissait d'une tentative de suicide chez une patiente de 81 ans qui a pu être réanimée.

Il faut donc particulièrement insister sur la gestion de situations à risque (emploi lors de soins chez le nouveau-né ou dans des services de psychiatrie par exemple) et le lecteur intéressé pourra se reporter aux recommandations de la SFHH.

En conclusion, les produits hydro-alcooliques ont représenté un tournant dans l'hygiène des mains en raison de leur efficacité, de leur tolérance et de leur facilité d'emploi. Des efforts restent à faire pour finir de convaincre les plus récalcitrants des professionnels de santé qui, malgré l'abondance des preuves scientifiques, doutent encore de leur intérêt. De véritables stratégies d'implantation ou de promotion de ces produits sont développées dans cet objectif.

[i] Mortimer, E. A., P. J. Lipsitz, et al. (1962). "Transmission of *Staphylococci* between newborns." American Journal of Diseases of Children **104:** 289-295.

[ii] Pittet, D., B. Allegranzi, et al. (2006). "Evidence-based model for hand transmission during patient care and the role of improved practices." Lancet Infect Dis **6**(10): 641-52.

[iii] Comité Technique National des Infections Nosocomiales (CTIN). Avis du 5 décembre 2001 sur la place de la friction hydro-alcoolique dans l'hygiène des mains lors des soins. Bull Epidemiol Hebdo 2002 (8) :35

[iv] Société française d'hygiène hospitalière. Recommandations pour la désinfection des mains, 2002:http://sfhh.net/telechargement/recommandations_hygienemain.pdf

[v] Kac G, Podglajen I, Gueneret M, Vaupre S, Bissery A and Meyer G. Microbiological evaluation of two hand hygiene procedures achieved by healthcare workers during routine patient care: a randomized study. J Hosp Infect. 2005;60:32-9.

[vi] Lucet JC, Rigaud MP, Mentre F, et al. Hand contamination before and after different hand hygiene techniques: a randomized clinical trial. J Hosp Infect 2002;50:276-80.

[vii] Girou E, Loyeau S, Legrand P, Oppein F and Brun-Buisson C. Efficacy of handrubbing with alcohol based solution versus standard handwashing with antiseptic soap: randomised clinical trial. Bmj 2002;325:362

[viii] Widmer AE, Dangel M. Alcohol-based handrub: evaluation of technique and microbiological efficacy with international infection control professionals. Infect Control Hosp Epidemiol. 2004;25:207-9.

[ix] Tvedt, C. and G. Bukholm. "Alcohol-based hand disinfection: a more robust hand-hygiene method in an intensive care unit." J Hosp Infect 2005 **59**(3): 229-34.

[x] Pittet D, Allegranzi B, Sax H, Chraiti MN, Griffiths W, Richet H. Double-blind, randomized, crossover trial of 3 hand rub formulations: fast-track evaluation of tolerability and acceptability. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007;**28**(12)**:**1344-51.

[xi] Pedersen LK, Held E, Johansen JD, Agner T. Short-term effects of alcohol-based disinfectant and detergent on skin irritation. *Contact Dermatitis* 2005;**52**(2)**:**82-7.

[xii] Kampf G, Wigger-Alberti W, Wilhelm KP. Do atopics tolerate alcohol-based hand rubs? A prospective, controlled, randomized double-blind clinical trial. *Acta Derm Venereol* 2006;**86**(2)**:**140-3.

[xiii] Recommandations pour l'hygiène des mains 2009, Société Française d'Hygiène Hospitalière. http://www.sfhh.net/telechargement/recommandations_hygienemain2009.pdf

[xiv] Tavolacci MP, Marini H, Vanheste S, Merle V, Coulon AM, Micaud G, Czernichow P. A voluntary ingestion of alcohol-based hand rub. *J Hosp Inf*, 2007, 66 : 86-87

157/39s — 4 décembre 2009 - 09:20 - BORDEAUX

Pandémie des CTX-Ms (colonisation/infection)

E. Ruppé
Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, EA3964, Paris, France

La diffusion mondiale des bêta-lactamases de type CTX-M est telle qu'elle est désormais qualifiée de pandémique (3). Après avoir été caractérisées pour la première fois au Japon en 1986 (8), les CTX-M ont depuis été isolées sur tous les continents à des prévalences croissantes. De cette augmentation continuelle des CTX-M par rapport aux autres bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) a résulté un « switch » épidémique (6). En effet durant les années 80-90, les dérivées de TEM et de SHV avaient largement diffusé dans les hôpitaux à travers des épidémies impliquant le plus souvent des clones d'*Enterobacter sp*. et *Klebsiella pneumoniae* (5, 7). Les CTX-M s'en distinguent par trois principaux points-clés: (i) ces enzymes sont en majorité retrouvées chez *E. coli*, (ii) la diversité génétique des *E. coli* producteurs de CTX-M est importante et (iii) de telles souches sont indifféremment isolées en milieu hospitalier et en milieu communautaire (3, 10). La production de CTX-M pourrait de plus ne pas porter préjudice à son hôte bactérien comme semble le montrer les isolements de telles souches dans des environnements à faible pression de sélection antibiotique (14). L'ensemble de ces caractéristiques expliquent au moins en partie le formidable succès que rencontrent ces enzymes notamment dans leur diffusion en milieu communautaire. Les *E. coli* de la flore commensale pourraient ainsi constituer un important réservoir de CTX-M pour les souches pathogènes en transit par transmission horizontale, comme le clone uropathogène pandémique *E. coli* O25b:H4-ST131 (9). En dehors de l'Homme qui peut transmettre de telles souches à son environnement proches (11, 15), les autres réservoirs potentiels de CTX-M sont encore mal connus et pourraient impliquer les aliments, notamment ceux importés de pays à forte prévalence (4). Le contrôle des BLSE à l'intérieur de l'hôpital jusque-là efficace contre les BLSE de type TEM ou SHV est ainsi confronté à une nouvelle menace venue cette fois de l'extérieur avec l'influx de patients porteurs à l'entrée (2). De plus, une part non négligeable de ces patients porteurs de CTX-M ne présente pas de facteurs de risque habituels de portage des BLSE (1), compliquant d'autant les stratégies de dépistage à l'entrée à l'hôpital. Le choix de l'antibiothérapie probabiliste dans le traitement d'infections communautaires est également complexifié par la présence croissante des CTX-M dans ce type d'infections et de la multirésistance (fluoroquinolones, cotrimoxazole, aminosides, tétracyclines) qui l'accompagne fréquemment (3). En dehors des pays occidentaux, il semble que les pays en voie de développement aient offert des conditions de diffusion extrêmement efficaces aux CTX-M, notamment dans les zones urbaines à forte promiscuité, faible niveau d'hygiène et où les antibiotiques sont en vente libre à bas-coût (13). Enfin les établissements de soins de suite et de rééducation semblent également très affectés par les CTX-M (12). Ces établissements, et probablement les maisons de retraite, offrent une épidémie particulière en cela qu'elles associent une grande densité de population, une pression antibiotique forte, une fréquence élevée d'infections urinaires et des conditions d'hygiène parfois non optimales. En conclusion, la compréhension des voies de circulation des CTX-M et de ses déterminants épidémiologiques est nécessaire afin d'élaborer des stratégies de contrôle innovantes.

1. **Ben-Ami, R., J. Rodriguez-Bano, H. Arslan, J. D. Pitout, C. Quentin, E. S. Calbo, O. K. Azap, C. Arpin, A. Pascual, D. M. Livermore, J. Garau, and Y. Carmeli.** 2009. A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae in

nonhospitalized patients. Clin Infect Dis **49:**682-90.

2. **Ben-Ami, R., M. J. Schwaber, S. Navon-Venezia, D. Schwartz, M. Giladi, I. Chmelnitsky, A. Leavitt, and Y. Carmeli.** 2006. Influx of extended-spectrum beta-lactamase-producing enterobacteriaceae into the hospital. Clin Infect Dis **42:**925-34.

3. **Canton, R., and T. M. Coque.** 2006. The CTX-M beta-lactamase pandemic. Curr Opin Microbiol **9:**466-75.

4. **Hammerum, A. M., and O. E. Heuer.** 2009. Human health hazards from antimicrobial-resistant Escherichia coli of animal origin. Clin Infect Dis **48:**916-21.

5. **Johnson, A. P., M. J. Weinbren, B. Ayling-Smith, S. K. Du Bois, S. G. Amyes, and R. C. George.** 1992. Outbreak of infection in two UK hospitals caused by a strain of Klebsiella pneumoniae resistant to cefotaxime and ceftazidime. J Hosp Infect **20:**97-103.

6. **Livermore, D. M., R. Canton, M. Gniadkowski, P. Nordmann, G. M. Rossolini, G. Arlet, J. Ayala, T. M. Coque, I. Kern-Zdanowicz, F. Luzzaro, L. Poirel, and N. Woodford.** 2007. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. J Antimicrob Chemother **59:**165-74.

7. **Mammeri, H., G. Laurans, M. Eveillard, S. Castelain, and F. Eb.** 2001. Coexistence of SHV-4- and TEM-24-producing Enterobacter aerogenes strains before a large outbreak of TEM-24-producing strains in a French hospital. J Clin Microbiol **39:**2184-90.

8. **Matsumoto, Y., F. Ikeda, T. Kamimura, Y. Yokota, and Y. Mine.** 1988. Novel plasmid-mediated beta-lactamase from Escherichia coli that inactivates oxyimino-cephalosporins. Antimicrob Agents Chemother **32:**1243-6.

9. **Nicolas-Chanoine, M. H., J. Blanco, V. Leflon-Guibout, R. Demarty, M. P. Alonso, M. M. Canica, Y. J. Park, J. P. Lavigne, J. Pitout, and J. R. Johnson.** 2008. Intercontinental emergence of Escherichia coli clone O25:H4-ST131 producing CTX-M-15. J Antimicrob Chemother **61:**273-81.

10. **Pitout, J. D., and K. B. Laupland.** 2008. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. Lancet Infect Dis **8:**159-66.

11. **Rodriguez-Bano, J., L. Lopez-Cerero, M. D. Navarro, P. Diaz de Alba, and A. Pascual.** 2008. Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli: prevalence, risk factors and molecular epidemiology. J Antimicrob Chemother **62:**1142-9.

12. **Rooney, P. J., M. C. O'Leary, A. C. Loughrey, M. McCalmont, B. Smyth, P. Donaghy, M. Badri, N. Woodford, E. Karisik, and D. M. Livermore.** 2009. Nursing homes as a reservoir of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing ciprofloxacin-resistant Escherichia coli. J Antimicrob Chemother **64:**635-41.

13. **Ruppe, E., S. Hem, S. Lath, V. Gautier, F. Ariey, J. L. Sarthou, D. Monchy, and G. Arlet.** 2009. CTX-M beta-lactamases in Escherichia coli from community-acquired urinary tract infections, Cambodia. Emerg Infect Dis **15:**741-8.

14. **Ruppe, E., P. L. Woerther, A. Diop, A. M. Sene, A. Da Costa, G. Arlet, A. Andremont, and B. Rouveix.** 2009. Carriage of CTX-M-15-producing Escherichia coli isolates among children living in a remote village in Senegal. Antimicrob Agents Chemother **53:**3135-7.

15. **Valverde, A., F. Grill, T. M. Coque, V. Pintado, F. Baquero, R. Canton, and J. Cobo.** 2008. High rate of intestinal colonization with extended-spectrum-beta-lactamase-producing organisms in household contacts of infected community patients. J Clin Microbiol **46:**2796-9.

158/39S 4 décembre 2009 - 09:40 - BORDEAUX

Traitement des infections à entérobactéries CTX-Ms

J. Garau
Hôpital Mutua de Terrassa, University of Barcelona, Barcelone, Espagne

In the past decade, there has been a dramatic increase in the prevalence of gram-negative bacteria that produce CTXM– type b-lactamases, which have now replaced TEM and SHV variants as the most common type of ESBL.. At the same time, *Escherichia coli* has replaced *Klebsiella* species as the predominant species of ESBL-producing Enterobacteriaceae in much of the world. *E. coli* strains producing CTX-M _-lactamases have become prevalent over the last 5 years, especially in certain European and South American countries. ESBLs hydrolyse penicillins, cephalosporins (with the exception of cephamycins), and aztreonam. However, the degree of hydrolytic activity against the above substrates may considerably differ for different types of ESBLs. Typically, the TEM and SHV type ESBLs have greater hydrolytic activity for ceftazidime than cefotaxime, in contrast to the CTX-M type ESBLs. The level of in-vitro antimicrobial drug resistance conferred by the presence of ESBLs to b-lactam/b-lactamase inhibitor combinations is variable. Results from numerous studies indicate that most ESBLproducing *Enterobacteriaceae* are resistant to multiple antibiotic classes. CTX-M producing *E. coli* strains isolated from hospital and community sites often exhibit coresistance to cotrimoxazole, tetracycline, gentamicin, tobramycin, and ciprofloxacin However, it is unclear whether the same pattern applies to community-acquired ESBL-producing isolates. Geographic variation in resistance to these antibiotics may reflect differences in co-carried resistance genes, such as OXA enzymes, which are inhibitor-resistant penicillinases.

Risk factors for community-onset infection with ESBL-producing

Enterobacteriaceae included indicators of contact with the health care system (recent hospitalization, residence in a long-term care facility, recent surgery, and bladder catheterization), recent use of antibacterial agents, poor functional performance, greater disease severity, and the presence of comorbidities.

Risk factors independently predictive of ESBL positivity by multivariate analysis include male sex, age >65 years, recent antibiotic use (mainly second generation cephalosporins), recent hospitalization, and residence in a long-term care facility. Because of the elevated mortality associated with infection due to ESBL-producing bacteria and the adverse consequences of delay in appropriate treatment, there is clearly a need to improve upon the limited predictive value of risk-factor based surveillance.

Treatment options for infections due to these multidrug-resistant organisms are therefore limited, and initial empirical therapy is often ineffective and associated with increased mortality. Thus, early recognition of patients who are at risk for infection with ESBL-producing bacteria is necessary to guide empirical treatment and to apply preventive measures to limit the dissemination of infection. Studies have reported suboptimal effectiveness of cephalosporins for the treatment of ESBL-producing Enterobacteriaceae, even if in-vitro antimicrobial activity is shown. Thus, most experts argue against cephalosporin use as treatment of choice for ESBL associated infections. Favourable patient outcomes have been related to piperacillin/tazobactam treatment in some small studies, although such findings have not been consistently reproduced. Amoxicillin/clavulanate may have considerable antimicrobial activity against Enterobacteriaceae organisms isolated in the community, and it may constitute an effective therapeutic option for community-acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing isolates. Carbapenems are considered to be the treatment of choice against serious ESBL-associated infections. This is mainly because they are not inactivated by these enzymes in vitro, and have demonstrated adequate effectiveness for the treatment of serious Gram-negative infections at various body sites. Excellent activity of tigecycline has been shown against ESBL-producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates, although this depends on the interpretive breakpoints of susceptibility elected. Clinical data regarding the effectiveness of tigecycline for the treatment of infections caused by ESBL-producing organisms are yet limited. PK/PD parameters of this agent casts doubt on the potential effectiveness of tigecycline for the treatment of specific infectious syndromes, such as urinary tract and bloodstream infections. Fosfomycin can also have good antimicrobial activity against ESBL-producing Enterobacteriacea. Moreover, a recent study revealed high effectiveness of fosfomycin in the treatment of community-acquired lower urinary tract infection caused by ESBL-producing *E. coli.* Nitrofurantoin may also be effective in the treatment of ESBL-associated uncomplicated urinary tract infections, but this could be limited by co-resistance to this agent of ESBLproducing organisms.. Further research is required on appropriate strategies to limit the emergence and spread of resistant organisms, both in the community and the hospital settings, as well as to evaluate the available therapeutic agents.

Canton, R., and T. M. Coque. 2006. The CTX-M beta-lactamase pandemic.

Curr. Opin. Microbiol. 9:466–475.

Pitout, J. D. 2008. Multiresistant Enterobacteriaceae: new threat of an old problem.

Expert Rev. Anti-Infect. Ther. 6:657–669.

Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum b-lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia: a systematic review and meta-analysis.

J Antimicrob Chemother **2007**; 60:913–20.

Zahar J-R, Olivier Lortholary , Claude Martin, Potel G, Plesiat P, and Nordmann P. Addressing the challenge of ESBLs.

Current Opinion in Investigational Drugs 2009 10(2):

161/40SEP 4 décembre 2009 - 09:20 - HAVANE

Diagnostic microbiologique conventionnel

N. Desplaces
Laboratoire de Biologie Médicale, Groupe Hospitalier Diaconesses Croix Saint-Simon, Paris, France

Le diagnostic microbiologique d'une infection de prothèse articulaire 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 microbiologique des infections sur prothèse articulaire 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

Ils 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 au moins 5 prélèvements au niveau des 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 conventionnelles

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 et d'épaule, 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 grossièrement broyés pour libérer les bactéries des cellules et du biofilm. Le broyage peut être effectué à la main dans un mortier ou en utilisant des broyeurs qui dilacèrent mais ne réduisent pas en bouillie les prélèvements solides. 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 aérobie et anaérobie 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. Récemment il a été conseillé de conserver les cultures pendant 14 jours [6].

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 [7,8],

· 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 [9,10].

· 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 [10].

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.

De rares infections fungiques sont mises en évidence : *Candida albicans, Aspergillus sp.* [11].

Les mycobactéries ne sont peut être pas suffisamment recherchées [11].

Les séries publiées rapportent entre 5 à 15% de cultures stériles dans les infections sur prothèses articulaires. Ceci peut s'expliquer par une antibiothérapie qui n'a pas été arrétée assez longtemps, des prélèvements de mauvaise qualité (écouvillons ou prélèvement de taille microscopique), un transport trop long dans des conditions inadéquates (envoi par la poste…), des milieux de culture inappropriés pour des micro-organismes exigeants, une durée d'incubation insuffisante, une infection à mycobactérie qui ne cultive que dans des milieux spéciaux [11,12]. 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: *Staphylococus epidermidis*): les antibiogrammes doivent être réalisés sur les différents aspects car il est fréquent d'observer des variations de l'activité des antibiotiques [7]; 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.

Conclusion : Le diagnostic microbiologique des infections sur prothèse articulaire est difficile. Dans la litterature, sa sensibilité et sa spécificité sont très variables allant respectivement de 65 à 94% et de 81 à 100% [13].

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 voire plus, et 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. SCHÄFER P, FINK B, SANDOW D, MARGULL A, BERGER I, FROMMELT L. Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection : a promising strategy. Clin Infect. Dis. 2008; 47: 1403-9.

7. 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.

8. 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.

9. 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

10. 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.

11. 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.

12. 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.

13. 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.

162/40SEP — 4 décembre 2009 - 09:40 - HAVANE

Les doutes des thérapeutes

S. Marmor[1], A. Lortat Jacob[2]

[1]Service de Chirurgie Orthopédique, Groupe Hospitalier Diaconesses Croix Saint-Simon [2]Service de Chirurgie Orthopédique, Hôpital Raymond Poincaré, Paris, France

Prendre en charge une prothèse infectée c'est pénétrer dans un domaine ou rien n'est certain. La médecine, basée sur des preuves, est prise à défaut tant le succès ou l'échec sont multifactoriels, et tant les travaux prospectifs sont rares. Comme chaque fois que rien n'est démontré, les certitudes apparaissent, et finissent par relever de la superstition plus que des raisonnements scientifiques. Assumer une prothèse infectée, c'est donc inévitablement se trouver confronté à une somme considérable de difficultés et de contradictions.

En effet le doute se retrouve à toutes les étapes de la prise en charge :

Doutes diagnostiques : Si dans un grand nombre de cas, le diagnostic est évident, au vu d'un faisceau d'arguments cliniques, biologiques, para cliniques et microbiologiques, parfois, pour un certain nombre de malades, rien n'est plus difficile que d'affirmer l'infection d'une prothèse de hanche ; pour ces malades, relativement fréquents, on est dans le doute diagnostique, un doute qui persistera jusqu'au bout.

Doutes microbiologiques : Là encore, les germes sont retrouvés avec une grande homogénéité dans la plupart des cas, mais pour les autres : entre les faux positifs, les faux négatifs, les contaminants probables et les résultats discordants, comment être sûr de quoi que ce soit ? En outre si on a conscience que les échecs objectivent une fois sur deux un changement de germe, quand le doute s'installe, il est parfois impossible de le lever… Le principe de précaution s'oppose alors souvent au dogme de « paix avec les germes de bonne volonté ».

Doutes stratégiques : Repose en 1 temps ou en 2 temps ? Faut-il mettre un spacer ? Quelle voie d'abord ? Une fémorotomie ? Prothèse de reprise cimentée ou non ? Quelle durée d'antibiothérapie ? Intraveineuse ou per os ?

Là encore, rien n'est démontré, mais une décision s'impose pourtant !

Doutes psychologiques : Pour le malade, qui se trouve plongé dans un enfer fait d'hospitalisation longue, d'interventions lourdes, de traitements médicaux difficiles, sources de désagréments multiples, de douleurs et de résultats fonctionnels moins bons que ce à quoi il était en droit de s'attendre. On lui avait tellement dit que « la prothèse de hanche, ça marche très bien et que, après on court comme un lapin ». Personne ne lui avait dit que les lapins peuvent attraper la myxomatose…

Mais aussi, doutes psychologiques pour le chirurgien qui ne peut pas croire que ça lui arrive : « je n'en ai jamais eu… tout était si bien pendant des mois… la cicatrice était parfaite… ». Brutalement son statut de concurrent direct avec Dieu se transforme en inculpé devant un juge et devant son assureur. Le rapport de confiance paternaliste avec le malade auquel le chirurgien est habitué, est devenu une revendication culpabilisante, avec un malade plaintif ; Il plonge dans le doute, qui là, sera positif, source de progrès et de réflexions sur la prévention.

Doutes aussi pour l'expert qui cherche désespérément des référentiels pour apprécier la qualité de la prise en charge, autant pour la première intervention que pour la complication infectieuse. Ce qui est certain, c'est que le juge, lui il n'aura pas le doute, et à la première suspicion émise par l'expert, il saura transformer l'aléa thérapeutique en faute.

Les doutes du succès : même si la majorité des patients guérissent de leur infection, certains gardent des séquelles douloureuses, véritable rappel du vécu de leur parcours. Les échecs existent aussi, et là, le doute est encore plus grand : il faut repartir à zéro, qu'il s'agisse d'un échec, d'une réinfection ou d'un changement de germe, les difficultés sont toujours là !

Enfin, que faut-il répondre à la timide question du patient en consultation « suis-je guéri ? ». Comment lui expliquer qu'il n'est peut être qu'en rémission et que nous n'avons jamais la certitude du succès tant l'échec peut être insidieux ou tardif ?

En matière d'infection sur prothèse, la plupart des vérités historiques se sont finalement avérées fausses : comment expliquer les succès de la chirurgie en 1 temps, la repose se faisant dans l'infection, alors que la prothèse de première intention avait été posée sous flux laminaire, avec antibioprophylaxie, scaphandre stérile ? La mode du ciment aux antibiotiques a permis toutes les audaces de réimplantation, alors que maintenant, de plus en plus souvent, les réimplantations sont faites avec des prothèses sans ciment, sans que les résultats ne se dégradent. Le doute sur l'antibiothérapie locale est tel que les spacers, qui étaient censés être des vecteurs d'une antibiothérapie locale, ne sont plus maintenant que des entretoises d'intérêt purement mécanique. On observe les mêmes résultats avec ou sans antibiothérapie locale. Pourtant, on ne peut pas nier que l'antibiothérapie locale a fait faire des progrès, puisque c'est grâce à elle que les pionniers de la réimplantation ont osé reposer des prothèses infectées, tels Christophe Colomb qui pensait avoir trouvé une nouvelle route des indes, alors que, bien mieux, il avait découvert l'Amérique. L'idée de réimplanter était géniale mais elle a germé d'un postulat qui est invérifiable, en tout cas discuté…

Ces doutes, nous ne prétendrons pas les lever, mais les énoncer pour montrer à quel point la vérité peut être protéiforme. Il est en fait plus facile de trouver une unanimité sur des erreurs dans la prise en charge, que de définir une stratégie consensuelle qui conviendrait à tous les malades, et aurait l'accord de tous les thérapeutes.

Toutefois, si tout n'est pas accessible à l'explication scientifique ou rationnelle, les chemins qui mènent au succès sont multiples, même si on ne sait pas toujours pourquoi on y est parvenu : Il ne faut pas perdre de vue que correctement prise en charge, une prothèse de hanche de première intention a 90% de chances de guérir de son infection, avec le minimum de séquelles. C'est dire l'intérêt de définir des procédures de bonnes pratiques des prothèses infectées et la création de centres spécialisés dans la prise en charge des infections ostéo-articulaires, pour les soins aux malades en situation d'échec. Ces centres auront aussi une responsabilité sur le plan pédagogique en définissant un minimum de cohérence dans les prises en charge, et en organisant l'évaluation des procédures proposées.

Référence :

TIRESIAS IV : Infection des prothèses de hanche, édition La prévention médicale. http://www.prevention-medicale.org/file/lientexte/tiresias_iv.pdf

163/40SEP — 4 décembre 2009 - 10:00 - HAVANE

Les approches nouvelles : sérologie, biologie moléculaire

M. Rottman

Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Paris, Université de Versailles-St Quentin en Yvelines, Versailles, France

La microbiologie est considérée par de nombreux cliniciens comme la méthode diagnostique de référence, le « Gold Standart » du diagnostic de l'infection sur prothèse articulaire (IPA). Pour gérer la fréquence avec laquelle sont isolées des bactéries non pertinentes sur le plan clinique, les protocoles d'analyse microbiologique proposent d'étudier de multiples prélèvements et d'exiger la concordance entre les isolats obtenus de prélèvements supposés

indépendants. Si les techniques capables d'objectiver l'identité de deux isolats existent, leur mise en œuvre est impossible à généraliser pour l'ensemble des cas d'IPA et l'on se contente le plus souvent d'une proximité phénotypique sur l'antibiogramme pour proclamer la concordance entre deux souches. L'émergence de techniques d'identification fiable ou de typage moléculaire rapides et bon marché permettrait à tout laboratoire de documenter la clonalité de souches à l'antibiogramme voisin ou peu discriminant.

L'absence de critère objectif autre que microbiologique pour diagnostiquer les IPA conduit la plupart des études visant à évaluer les performances des méthodes microbiologiques à utiliser une définition des cas d'infection assez floue, associant les données cliniques, la présence d'une fistule, l'aspect macroscopique peropératoire et la présence de polynucléaires sur les coupes anatomo-pathologiques.

En utilisant ces critères et en exigeant un minimum de deux prélèvements concordants pour incriminer une bactérie dans le processus infectieux, la sensibilité des techniques microbiologiques conventionnelles est seulement de 70% pour une spécificité supérieure à 95%. Ainsi près d'un cas d'IPA sur trois n'est pas documenté par la microbiologie conventionnelle.

Plusieurs pistes sont poursuivies pour tenter d'améliorer les performances du diagnostic microbiologique.

En premier lieu, l'optimisation des techniques de microbiologique conventionnelle permet d'améliorer les performances habituellement rapportées. Certains auteurs préconisent de prolonger l'incubation des prélèvements jusqu'à 15 ou 21 jours (7), d'autres améliorent l'extraction des bactéries des tissus par le broyage mécanisé des pièces opératoires pour ne pas grèver la rapidité du rendu des résultats définitifs (6).

La mise en culture des bactéries provenant du biofilm décroché des pièces prothétiques explantées par un traitement par les ultra-sons permet également d'améliorer les performances par rapport au traitement conventionnel des pièces opératoires, mais nécessite l'ablation de l'implant pour établir le diagnostic (5, 8).

Une plus large diffusion de ces techniques émergentes dans nos laboratoires permettrait de documenter la moitié des cas pour lesquels la microbiologie nous échappe, en passant de 70% à 85% de sensibilité pour une spécificité encore accrue.

Le diagnostic sérologique des infections staphylococciques a longtemps été considéré comme non relevant du fait du caractère ubiquiste de ces microorganismes. Pourtant les avancées immunoprotéomiques récentes permettent le développement d'approches sérologiques multiplexes dont les performances paraissent très prometteuses au vu des études cliniques préliminaires. La technologie Luminex® sur laquelle est basée le test permettrait l'addition de nouvelles valences permettant d'élargir le spectre du Innoplex BJI (Ingen Biosciences, Chilly-Mazarin, france) à des pathogènes non staphylococciques fréquemment rencontrés dans les infections ostéo-articulaires sur matériel.

La biologie moléculaire et l'amplification génique ont révolutionné la virologie et est devenue incontournable dans les laboratoires de microbiologie. En bactériologie, son essor est essentiellement limité en diagnostique aux infections mycobactériennes et à la détection de microorganismes ne poussant pas sur les milieux synthétiques ou masqués par des flores, comme dans le diagnostique des infections génitales.

Pour le diagnostic des IPA, la sensibilité limitée de la technique, la difficulté de l'identification par séquençage en cas d'infection polymicrobienne et l'absence d'antibiogramme handicapent ces méthodes qui restent onéreuses et consommatrices de ressources humaines (3). C'est dans des cas limités comme après une antibiothérapie ou en présence de cultures négatives pour une infection avérée que l'intérêt de la méthode peut se dessiner (1). Le rendement est pourtant assez faible et c'est dans moins de 10% des cas choisis que la technique peut apporter le diagnostic espéré.

La place des techniques de PCR en temps réel en test unitaire (BD GenOhm ou Gene Xpert Cepheid) qui sont par leur convivialité compatible avec le flux du travail des laboratoires de bactériologie reste à préciser, notamment dans la recherche de staphylocoques meticillino-résistants.

Les techniques de typage moléculaire existant depuis de nombreuses années sont longtemps restées l'apanage de centres spécialisés bénéficiant d'importantes ressources. L'électrophorèse microcapillaire permet maintenant d'obtenir dans des délais compatibles avec la prise en charge thérapeutique du patient de réaliser par rep-PCR des études de clonalité entre différents isolats obtenus au cours d'une même intervention (4).

Les techniques moléculaires peuvent par contre fournir une identification après séquençage de gènes domestiques là où les techniques d'identification conventionnelles sont incapables de fournir un résultat valide et identifier des microorganismes non encore répertoriés.

Il est cependant probable que l'avenir de l'identification moléculaire ne repose pas sur l'étude des acides nucléiques bactériens mais plutôt sur l'étude du protéome bactérien. Ainsi, plusieurs systèmes sont actuellement capables de fournir en quelques minutes l'identification à l'espèce de bactéries ou de levures par l'analyse d'un profil obtenu par spectrométrie de masse. De tels systèmes couplés à des techniques d'antibiogramme rapide permettrait de réduire d'une journée ou plus le rendu des résultats bactériologiques (2)

Un certain nombre de technologies émergeantes vont dans les prochaines années acquérir une maturité qui permettra leur large diffusion et leur intégration aux laboratoires de microbiologie clinique. Il est vraisemblable que la mutation des techniques améliorera significativement les performances du diagnostic des IPA et que la bactériologie devienne l'authentique étalon-or que la communauté médico-chirurgicale attend impatiemment.

1. **Cremniter, J., T. Bauer, A. Lortat-Jacob, D. Vodovar, J. M. Le Parc, J. F. Emile, B. Franc, P. Sebbag, J. L. Gaillard, and B. Heym.** 2008. Prosthetic hip infection caused by Tropheryma whipplei. J Clin Microbiol **46:**1556-7.

2. **Dupont, C., V. Sivadon-Tardy, E. Bille, B. Dauphin, J. Beretti, A. Alvarez, N. Degand, A. Ferroni, M. Rottman, J. Herrmann, X. Nassif, E. Ronco, and E. Carbonnelle.** 2009. Identification of Clinical Coagulase Negative Staphylococci Isolated in Microbiology Laboratories by MALDI-TOF Mass Spectrometry and two automates. Clin Microbiol Infect.

3. **Fenollar, F., V. Roux, A. Stein, M. Drancourt, and D. Raoult.** 2006. 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 **44:**1018-28.

4. **Healy, M., J. Huong, T. Bittner, M. Lising, S. Frye, S. Raza, R. Schrock, J. Manry, A. Renwick, R. Nieto, C. Woods, J. Versalovic, and J. R. Lupski.** 2005. Microbial DNA typing by automated repetitive-sequence-based PCR. J Clin Microbiol **43:**199-207.

5. **Piper, K. E., M. J. Jacobson, R. H. Cofield, J. W. Sperling, J. Sanchez-Sotelo, D. R. Osmon, A. McDowell, S. Patrick, J. M. Steckelberg, J. N. Mandrekar, M. Fernandez Sampedro, and R. Patel.** 2009. Microbiologic diagnosis of prosthetic shoulder infection by use of implant sonication. J Clin Microbiol **47:**1878-84.

6. **Roux, A., S. Marmor, T. Bauer, C. Lemonnier, J. Gaillard, J. Herrmann, A. Lortat-Jacob, and M. Rottman.** 2009. Enhanced Diagnosis Of Prosthetic Joint Infection By Beadmill Processing Of Periprosthetic Specimen, 49th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, San Francisco, CA.

7. **Schafer, P., B. Fink, D. Sandow, A. Margull, I. Berger, and L. Frommelt.** 2008. Prolonged bacterial culture to identify late periprosthetic joint infection: a promising strategy. Clin Infect Dis **47:**1403-9.

8. **Trampuz, A., K. E. Piper, M. J. Jacobson, A. D. Hanssen, K. K. Unni, D. R. Osmon, J. N. Mandrekar, F. R. Cockerill, J. M. Steckelberg, J. F. Greenleaf, and R. Patel.** 2007. Sonication of removed hip and knee prostheses for diagnosis of infection. N Engl J Med **357:**654-63.

166/42s — 4 décembre 2009 - 09:05 - 342A

Bactériémie et matériel infecté

E. Senneville
CH de Tourcoing, Tourcoing, France

Les bactériémies impliquant un matériel infecté correspondent à un grand nombre de situations cliniques différentes. Les infections de cathéters vasculaires ou urinaires sont fréquentes, les endocardites sur prothèses valvulaires sont rares et les infections de prothèses vasculaires, les infections de sondes de pacemakers, de sondes de défibrillateurs, ou les infections de prothèses articulaires sont plus rares ou peu étudiées. Dans cette présentation ne seront abordés que les infections de cathéters vasculaires, les endocardites sur prothèses valvulaires et les infections de prothèses articulaires.
D'un point de vue général, la microbiologie des bactériémies, qu'elle soit d'origine nosocomiale ou communautaire, est dominée par le staphylocoque doré et *Escherichia coli* avec une plus forte prévalence du staphylocoque doré pour les infections d'origine nosocomiale et d'*E. coli* pour les infections communautaire (Naber, CID 2009).
Sur le plan physiopathologique, les bactériémies impliquant un matériel infecté concernent deux types de contingents bactériens : l'un est en phase de croissance exponentielle pour lequel la corrélation des données *in vitro* et *in vivo* est bonne, sans limite de diffusion de l'antibiotique au site infecté et correspond à la bactériémie, l'autre est en phase de croissance stationnaire dans le biofilm au contact du matériel, avec absence de corrélation des données *in vitro et in vivo*. Au contact du matériel, la CMB de la plupart des antibiotiques excepté la rifampicine par exemple est considérablement augmentée et la diffusion des antibiotiques au sein du biofilm est généralement faible. L'ablation du matériel et du biofilm permet de simplifier la prise en charge de ces infections mais cette possibilité n'est pas toujours applicable au patient. Il faut noter que lorsque le matériel ne peut être ôté, la reprise chirurgicale pour lavage permet de réduire l'inoculum et crée une réaction inflammatoire propice à la reprise du métabolisme bactérien et à l'action des antibiotiques. Les infections bactériémiques sur matériel vasculaire représentent les situations les plus complexes et les plus graves pour lesquelles la chirurgie de remplacement du matériel est primordiale mais aussi la plus risquée.
Au cours des situations de bactériémies impliquant un matériel infecté, on peut opposer les situations d'infection initiale du matériel avec bactériémie secondaire aux situations de bactériémies primaires entrainant secondairement une infection du matériel parfois très tardivement après son implantation. Dans le deuxième cas, la chirurgie de reprise pour lavage permet, lorsqu'elle est réalisée précocement après le début de l'infection du matériel, d'envisager des taux des taux de succès proches de ce qui est obtenu lors du changement du matériel.
L'antibiothérapie des bactériémies et des matériels infectés ne fait pas appel aux mêmes molécules. Les antibiotiques les plus fréquemment utilisées dans ces situations différent entre eux en termes de bactéricidie (modeste pour les glycopeptides et le linézolide), de risque de sélection de résistance (élevé pour la rifampicine), d'activité dans le biofilm (faible pour les bétalactamines et les glycopeptides) et d'activité sur les bactéries en phase de croissance stationnaire (faible voire nulle pour les bétalactamines et les glycopeptides). La daptomicine présente l'avantage d'être bactéricide sur les SAMS (activité proche des béta-lactamines) et les SARM, d'avoir un pouvoir de sélection de résistance modeste, une diffusion dans le biofilm et une activité sur les bactéries en phase de croissance stationnaire validé par les études *in vitro*.
L'objectif primaire du traitement des bactériémies sur matériel est la

négativation des hémocultures qui est conditionnée par la stérilisation de la source qui va également influencer le succès à moyen et long terme (risque de récidive). Les associations bétalactamines/glycopeptides + rifadine qui prennent en compte les différents contingents de bactéries impliquées exposent au risque de sélection de souches rifampicine-résistantes, ce qui a été rapporté avec l'association vancomycine-rifampicine. Finalement, compte tenu des limites des antibiotiques et de la présence du biofilm sur le matériel infecté, va se poser quasi systématiquement la question de l'ablation du matériel infecté. Des études cliniques ont bien montré que le maintien du matériel était le facteur à l'origine de la majorité des échecs dans ces situations.

Les bactériémies sur cathéter ont fait l'objet de recommandations américaines publiées en 2009 et les indications d'ablation du matériel ont fait l'objet de recommandations de la Société Française d'Anesthésie et de Réanimation correspondant à l'actualisation en 2002 des recommandations de 1994 dans lesquelles il est précisé que les bactériémies compliquant une infection sur cathéter à staphylocoque doré, *Pseudomonas aeruginosa* ou Candida spp. étaient une indication formelle à l'ablation du matériel le plus rapidement possible. Lorsqu'il s'agit d'un cathéter précieux, il est possible d'utiliser en première intention en l'absence sepsis sévère une antibiothérapie systémique dans la cadre d'un « verrou » antibiotique.

Les endocardites sur prothèse concernent 1 à 6 % des patients porteurs d'une prothèse valvulaire avec une incidence annuelle de 0,3 à 1,2 % patient. Ces infections représentent 10 à 30 % de l'ensemble des endocardites infectieuses et sont grevées d'une mortalité importante de 20 à 40 %. Dans ces situations, les conséquences thérapeutiques sont l'allongement de la durée du traitement (au moins 6 semaines), l'utilisation des aminosides prolongés d'au moins 2 semaines et le recours à l'association à la rifampicine, notamment dans le cadre d'une trithérapie avec la gentamicine et la vancomycine ou une bétalactamine. Les indications d'ablation du matériel prothétique ont été précisées dans les recommandations Européennes publiées en 2009 reprenant les indications classiques : l'insuffisance cardiaque, l'infection non contrôlée et la prévention des embolies notamment lorsqu'il existe une végétation de plus de 10 mm avec une autre complication ou une végétation supérieure à 15 mm.

Pour ce qui est des infections ostéo-articulaires, la situation de bactériémie est relativement rare, mais elle impose la plupart du temps, l'ablation du matériel infecté lorsqu'il s'agit d'une infection primaire du matériel. Les infections du matériel par voie hématogène peuvent probablement être traitées en conservant le matériel lorsque le délai de prise en charge par rapport au début des symptômes est inférieure à 3 semaines, les implants sont stables, qu'il n'y a pas de problème de recouvrement cutané et que la microbiologie est accessible à un traitement comprenant de la rifampicine pour des durées de traitement supérieures à 3 mois (Zimmerli et al. NEJM 2004).

En conclusion, l'antibiothérapie de première intention d'une suspicion de bactériémie chez un patient porteur d'un matériel repose sur des associations bétalactamine/glycopeptide +/- aminoside +/- couverture anti bacille à Gram négatif englobant *Pseudomonas aeruginosa*.

En cas de bactériémie avérée, il s'agira d'utiliser le traitement antibiotique de spectre antibiotique le plus court pour une durée de traitement par voie parentérale non inférieure à 10 jours.

L'introduction de la rifampicine ne devra être envisagée que lorsque les hémocultures auront été contrôlées négatives et l'ablation du matériel ou une alternative en cas d'impossibilité d'ablation devra être considéré dans chaque cas.

La réimplantation d'un matériel au site infecté ne pourra être réalisée la plupart du temps qu'après une période d'au moins 7 à 10 jours de négativité des hémocultures afin de limiter le risque de colonisation du matériel réimplanté.

La place des nouvelles molécules dans le traitement des infections sur matériel à cocci à Gram positif, n'est pas validée actuellement en clinique, même si les données *in vitro*, concernant en particulier la daptomycine, semblent très encourageantes.

Références

Naber CK, Baddour LM, Giamarellos-Bourboulis EJ, Gould IM, Herrmann M, Hoen B, Karchmer AW, Kobayashi Y, Kozlov RS, Lew D, Miró JM, Moellering RC Jr, Moreillon P, Peters G, Rubinstein E, Seifert H, Corey GR. Clinical consensus conference: survey on Gram-positive bloodstream infections with a focus on Staphylococcus aureus. Clin Infect Dis. 2009 May 15;48 Suppl 4:S260-70

Zimmerli W, Trampuz A, Ochsner PE. Prosthetic joint infections. N Engl J Med. 2004 Oct 14;351(16):1645-54.

185/46SEP — 4 décembre 2009 - 09:00 - 352A

Les défis épidémiologiques et bactériologiques de la vaccination contre le méningocoque

M. Taha

Unité Infections Bactériennes Invasives, Centre National de Référence des méningocoques, Institut Pasteur, Paris, France

1. Généralités : *Neisseria meningitidis*, le méningocoque, est une espèce bactérienne exclusivement retrouvée chez l'homme. Le méningocoque est présent le plus souvent comme une espèce bactérienne commensale du rhino-oropharynx (portage asymptomatique retrouvé chez 10% de la population générale). Le méningocoque est sujet à de fréquentes variations génétiques par transformation et recombinaison. Des variants sont ainsi continuellement générés grâce aux échanges génétiques horizontaux entre les souches. Ces variants peuvent donc présenter des altérations de sensibilité aux antibiotiques et/ou des changements de leurs antigènes de surfaces (variants d'échappement à la réponse immune).

L'infection par *N. meningitidis* se produit par l'acquisition d'une souche au niveau du rhinopharynx. L'acquisition conduit le plus souvent à un portage asymptomatique. Rarement, l'acquisition est suivie d'une infection invasive. C'est le cas notamment lors de l'acquisition d'une souche hyper-invasive.

2. Données épidémiologiques : Les infections invasives à méningocoque (IIM) sont à déclaration obligatoire. Les critères de déclaration sont définis dans la circulaire de la Direction Générale de la Santé (N°DGS/5C/2006/458 du 23 octobre 2006 relative à la prophylaxie des infections invasives à méningocoque). Les fiches de déclaration obligatoire, complétées et validées, sont centralisées et analysées à l'InVS. En 2008, l'incidence des IIM corrigé pour la sous-notification, était de 1,2 pour 10^5[1]. Le CNR réalise le typage phénotypique (sérogroupe, sérotype, sous-type) des souches invasives. Un typage génétique par *multilocus sequence typing* (MLST) est également réalisé pour classer les souches en complexes clonaux.

La distribution des sérogroupes en 2008 était 69% pour sérogroupe B, 23% pour le sérogroup C, 3% pour le sérogroupe W135 et 4% pour le sérogroupe Y. Les souches invasives isolées en 2008 appartenaient à 16 complexes clonaux différents. Les quatre complexes clonaux majeurs sont toujours les complexes ST-41/44, ST-32 et ST-269 (essentiellement des souches du sérogroupe B) et le complexe clonal ST-11 (essentiellement des souches du sérogroupe C). Ces quatre complexes clonaux regroupent près de 78% de l'ensemble des souches invasives. Les souches invasives présentent une grande diversité phénotypique et génotypique, ce qui reflète une grande variété et variabilité génétique et complique la politique vaccinale.

Les vaccins polysaccharidiques : C'est à partir des antigènes capsulaires que sont fabriqués les vaccins actuels contre les méningocoques des sérogroupes A, C, Y et W135. Il n'existe pas de vaccin polysaccharidique contre le méningocoque du sérogroupe B car il est similaire à un antigène du soi présent sur les cellules neurales (le NCAM : *Neural Cell Adhesion Molecule*). Il existe deux types de ces vaccins : Les vaccins saccharidiques simples (le vaccin bivalent A+C ou le vaccin tétravalent A,C,Y,W135) et les vaccines saccharidiques conjugués (vaccins monovalents A ou C et vaccins tétravalents A,C,Y, W135).

Les vaccins à base des vésicules de membranes externe (OMV) : L'absence d'un vaccin saccharidique contre les souches du sérgroupe B peut-être contournée par le développement de vaccins à base de protéines de surface. Ces vaccins sont donc souche-spécifique et sont adéquats pour le contrôle des situations épidémiques ou hyperendémiques provoquées par un type particulier de souches (événement clonal). Cette stratégie a été testée en conditions épidémiques dans trois pays mais avec trois souches différentes: Cuba, la Norvège, et la Nouvelle Zélande [2].

Les vaccins recombinants : Des nouvelles approches génomiques comme celle de la « vaccinologie reverse» ont permis d'identifier un « cocktail » de plusieurs candidats protéines pour un vaccin universel contre les souches du méningocoque et en particulier le méningocoque B[3]. Le composant majeur de ces vaccins est la protéine qui lie le facteur H humain qui est un régulateur négatif de la voie alternative du complément. La distribution du gène codant pour cette protéine bactérienne et son polymorphisme est un élément déterminant dans le développement de ces vaccins [4].

Impact de l'épidémiologie sur les stratégies vaccinales : Certains phénotypes/génotypes particuliers sont associés à certains clones épidémiques. C'est le cas des souches B : 14 :P1.7,16 appartenant au complexe clonal majeur ST-32. La surveillance de ces souches en France est importante non seulement en raison de leur potentiel épidémique (exemple des souches B : 14 :P1.7, 16 sévissant avec une incidence particulièrement élevée en Seine Maritime depuis 2003), mais du fait que des vaccins spécifiques à base de vésicules membranaires (OMV) sont disponibles et efficaces. Ces souches étaient isolées également dans les départements limitrophes de la Seine Maritime et en particulier dans le département de la Somme. La stratégie OMV est donc actuellement utilisée pour le contrôle de la situation hyperendémique en Seine Maritime [5].

Un phénotype particulier au sein des souches C (C:2a: P1.7,1) du complexe clonal ST-11 semble augmenter. En effet, ce phénotype était rare jusqu'à 2005, puis sa fréquence a augmenté régulièrement. Cette fréquence était de moins de 1% des souches invasives du sérogroupe C, avant 2005. Elle atteignait 25 % des souches invasives du sérogroupe C en 2008.

Les cas dus aux souches du sérogroupe C montrent une incidence périodique (pics en 1992 et 2002). Ce nouveau phénotype/génotype pourrait être responsable d'un pic d'IIM C à venir. Cette hypothèse est un des éléments justifiant les nouvelles recommandations, en 2009, du Haut Conseil de la Santé Publique relatifs à la vaccination par le vaccin méningococcique conjugué de sérogroupe C

Les souches du sérogroupe Y sont souvent isolées chez des sujets de plus de 70 ans (56% des souches isolées en 2008). Les souches de phénotype Y :14 :NST du complexe clonal ST-23 sont les plus fréquentes. Cela pourrait justifier une vaccination ciblée chez les sujets âgés.

La variabilité du méningocoque et les changements de l'épidémiologie des IIM imposent une réévaluation continue de la stratégie vaccinale contre le méningocoque en fonction de l'évolution des données épidémiologiques et bactériologiques. La poursuite des efforts pour élaborer de nouveaux vaccins devrait permettre la mise sur le marché de ces vaccines dans un proche avenir.

Références

1. Parent du Châtelet I, Taha M-K, Lepoutre A, Deghmane AE, Maine C, et al. (2009) Les infections invasives à méningocoques en France en 2008. Bull Epidemiol Hebd (sous presse)

2. Holst J, Feiring B, Naess LM, Norheim G, Kristiansen P, et al. (2005) The concept of "tailor-made", protein-based, outer membrane vesicle vaccines

against meningococcal disease. Vaccine 23: 2202-2205.

3. Giuliani MM, Adu-Bobie J, Comanducci M, Arico B, Savino S, et al. (2006) A universal vaccine for serogroup B meningococcus. Proc Natl Acad Sci U S A 103: 10834-10839.

4. Murphy E, Andrew L, Lee KL, Dilts DA, Nunez L, et al. (2009) Sequence Diversity of the Factor H Binding Protein Vaccine Candidate in Epidemiologically Relevant Strains of Serogroup B Neisseria meningitidis. J Infect Dis 200: 379-389.

5. Taha MK, Zarantonelli ML, Alonso JM, Naess LM, Holst J, et al. (2007) Use of available outer membrane vesicle vaccines to control serogroup B meningococcal outbreaks. Vaccine 25: 2537-2538.

186/46SEP 4 décembre 2009 - 09:20 - 352A

Mise en place d'une stratégie vaccinale par le vaccin antiméningocoque C conjugué en France

D. Floret
Université Claude Bernard Lyon1-Hôpital Femme Mère Enfant, Paris, France

En 2002, le Comité technique des vaccinations avait estimé qu'il n'y avait pas lieu de recommander une vaccination des nourrissons, enfants, adolescents et des adultes jeunes contre le méningocoque C en France en raison :

- du taux d'incidence des infections invasives à méningocoque du sérogroupe C (IIM C) alors un des plus faibles d'Europe

- de l'incertitude sur un éventuel déplacement des sérogroupes sous l'effet de la vaccination ;

- de la variabilité des taux d'incidence des IIM C d'une région ou d'un département à l'autre.

Ainsi, la vaccination n'a été recommandée que pour les groupes à risque suivants [1] :

- enfants souffrant de déficit en fraction terminale du complément, en properdine ou ayant une asplénie anatomique ou fonctionnelle

- sujets contacts d'un cas d'infection invasive à méningocoque de sérogroupe C ;

- sujets vivant dans les zones délimitées où l'incidence du méningocoque du sérogroupe C est particulièrement élevée [2].

Suite à une saisine du Directeur Général de la Santé, cette stratégie a été révisée en 2009.

Les motivations d'un nouveau choix stratégique : Entre 2001 et 2008, l'application des recommandations de mise en place de campagnes de vaccination dans les zônes d'hyperendémie (définies par la survenue, au cours des 52 dernières semaines d'IIMC avec une incidence ≥ 2 / 100 000 et ≥ 5 cas) avait conduit à réaliser 9 campagnes vaccinales nécessitant une infrastructure lourde. Dans ce contexte, plus de 500 000 personnes ont été vaccinées pour un coût de plus de 6 millions € (logistique : 900 000 €, vaccins de 5,2 millions €).

L'incidence des IIMC [3] en France est de 0,28/ 100 000 entre 2005 et 2007. Les pays d'Europe peuvent être classés en 3 catégories :

-ceux qui ont instauré depuis plusieurs années (l'Allemagne, la Suisse et le Portugal n'ont mis en place cette vaccination que depuis 2006, ce qui ne permet pas d'évaluer son impact) une vaccination contre le méningocoque C : il s'agit du Royaume Uni, de l'Irlande, de l'Espagne, des Pays Bas, de la Belgique et dont le taux d'incidence des IIMC est nettement plus bas qu'en France (compris entre 0,025 et 0,107/ 100 000). Ces pays ont en effet observé une forte réduction de l'incidence des IIMC [4], sans survenue de phénomène de switch capsulaire [5] ainsi qu'une très bonne tolérance des vaccins méningococciques C conjugués.

-ceux qui, sans vaccination ont un taux d'incidence des IIMC spontanément bas entre 0,022 et 0,096/ 100 000 (Finlande, Norvège, Italie, Grèce)

-enfin, ceux qui ont des taux d'incidence comparables aux nôtres (Suède, Pologne), voire sensiblement plus élevés (Danemark, Autriche) et qui ne vaccinent pas.

En définitive donc, la France est devenue un des pays d'Europe ayant les plus forts taux d'incidence des IIMC.

Depuis 1985, la France a connu 2 pics épidémiques, en 1992 et 2002. La survenue d'un nouveau pic dans les années à venir est donc une hypothèse plausible. Il est à noter qu'après le pic de 1992 le nombre de cas observés avait fortement et rapidement baissé. La baisse observée après le pic de 2002 a été beaucoup plus modeste et plus lente, même en tenant compte des modifications des critères de définition et de l'amélioration des méthodes de diagnostic. Le nombre de cas annuels observés au cours des dernières années se situe encore approximativement au niveau du pic de 1992. Ce fait est interprété (CNR) comme pouvant être la conséquence de l'installation d'une souche particulière : C:2a:P1.7,1 dont la fréquence parmi les souches identifiées au CNR est passée de moins de 1 % avant 2005 à 24 % en 2008. Ce clone a été démontré associé à une mortalité élevée, la survenue de cas groupés et un déplacement de l'âge d'incidence vers l'adolescent et l'adulte jeune [3].

Ainsi, la survenue prochaine d'un nouveau pic d'IIMC représente une hypothèse plausible.

L'augmentation d'incidence pourrait se faire à partir d'une souche particulièrement virulente.

Enfin les IIMC sont à l'origine d'une trentaine de décès annuels en moyenne en France. Ce chiffre peut sembler faible mais il convient de prendre en compte l'importante charge émotionnelle générée par les formes fulminantes dont la persistance devient difficile à justifier dès lors qu'un moyen de prévention efficace existe.

La nouvelle stratégie vaccinale : Ces éléments ont amené à proposer une nouvelle stratégie vaccinale [6] comportant une vaccination systématique des nourrissons à partir de 12 mois avec un schéma vaccinal à une dose. Durant la période de mise en place de cette stratégie et en attendant la mise en place d'une immunité de groupe, le HCSP a recommandé l'extension de cette vaccination jusqu'à l'âge de 24 ans révolu, avec le même schéma vaccinal à 1 dose. Un rappel à l'adolescence sera probablement nécessaire pour les enfants vaccinés au cours de la seconde année, mais ceci pourra être apprécié lors d'une réévaluation ultérieure prévue dans 5 ans.

Outre les données épidémiologiques décrites plus haut, cet avis s'est appuyé sur une étude médico économique comparative de type coût efficacité [3].

Les vaccins méningococciques conjugués C possèdent une AMM à partir de 2 mois et la plupart des pays qui ont instauré la vaccination ont adopté une stratégie vaccinale ciblant les petits nourrissons. Le HCSP n'a pas retenu cette stratégie vaccinale qui nécessite l'administration de 3 doses de vaccin (2 doses avant 1 an et rappel au cours de la seconde année) au sein d'un calendrier vaccinal déjà bien chargé à cet âge. Cette stratégie n'est pas coût efficace [3]. Enfin, les hollandais qui ont mis en place cette stratégie ont obtenu des résultas remarquables [7].

L'ampleur du rattrapage recommandé a pu prêter à discussion. Le profil épidémiologique des IIMC en France [3] en fonction de l'âge est marqué par l'existence de 2 pics d'incidence : le nourrisson et le jeune enfant d'une part, le préadolescent, l'adolescent et l'adulte jeune d'autre part. L'incidence dans la tranche d'âge 20-24 ans (0,45/10 000) est comparable à l'incidence dans la tranche d'âge 5-9 ans (0,50/10 000).

Par ailleurs, la stratégie de vaccination des nourrissons de plus de un an comporte un risque de maintien d'une incidence élevée des IIMC chez le nourrisson de 2 mois à un an (tranche d'âge où l'incidence est déjà la plus élevée). Dans la stratégie de vaccination après 1 an, les nourrissons ne sont protégés que par l'immunité de groupe rendue possible, dans la période de mise en place de la vaccination, par un rattrapage le plus large possible. La tranche d'âge 20-24 ans révolus concerne en outre un nombre significatif de jeunes parents. Cette tranche d'âge est enfin celle dans laquelle le portage à méningocoque est le plus élevée [3].

La plupart des pays qui vaccinent contre le méningocoque C ont mis en place un rattrapage. Les tranches d'âge concernées varient d'un pays à l'autre, certains se limitant à l'enfant (Belgique et certaines provinces d'Espagne), d'autres l'étendant à l'adolescent (Hollande, Portugal : 10 puis 18 ans). L'Irlande a pratiqué un rattrapage jusqu'à l'âge de 22 ans. L'Angleterre et le Pays de Galles qui avaient initialement mis en place un rattrapage jusqu'à l'âge de 19 ans ont dans un second temps élargi le rattrapage jusqu'à 20-24 ans en raison de l'augmentation de l'incidence des IIMC dans cette tranche d'âge [4]. Enfin, l'étude de modélisation a montré que sans l'hypothèse (assez plausible compte tenu des expériences antérieures) où la couverture vaccinale dans le cadre du rattrapage serait inférieure à 50%, l'élargissement de la vaccination jusqu'à 24 ans révolus restait coût efficace [3].

Le succès de cette stratégie vaccinale repose en grande partie sur l'immunité de groupe, qui nécessite une couverture vaccinale élevée. Une communication importante sur cette vaccination sera nécessaire.

La décision d'inscrire ou non cette recommandation au calendrier vaccinal incombe désormais à Mme la Ministre de la santé.

En conclusion : Après la vaccination contre *Haemophilus influenzae* et contre le pneumocoque, la mise en place d'une vaccination contre le méningocoque C représentera une étape supplémentaire dans la lutte contre les germes responsables des méningites bactériennes de l'enfant, en attendant la mise à disposition, que l'on espère prochaine, d'un vaccin actif contre le méningocoque B.

Références

1- Calendrier vaccinal 2009. BEH 2009 ; 16-17 : 145-61

2- Avis du Conseil supérieur d'hygiène publique de France relatif aux critères devant faire envisager une intervention vaccinale contre les infections invasives à méningocoque C (15 novembre 2002). www.sante.gouv.fr

3- Haut conseil de la santé publique de France. Rapport du groupe de travail. Vaccination par le vaccin conjugué contre le méningocoque de groupe C. Séances du 24 avril et du 6 juin 2009. www.hcsp.fr

4- Trotter, C. L., Chandra M, Cano R, Larrauri A, M. E. Ramsay, Brehony C et al 2007. A surveillance network for meningococcal disease in Europe. FEMS Microbiol Rev 2007 ; 31:27-36

5- Trotter CL, Ramsay ME, Gray S, Fox A, Kaczmarski E. No evidence for capsule replacement following mass immunisation with meningococcal serogroup C conjugate vaccines in England and Wales. Lancet Infect Dis 2006; 6:616-7

6- Haut Conseil de la santé publique. Avis relatif à la vaccination par le vaccin méningococcique conjigué de sérogroupe C. Séances du 24 avril et du 6 juin 2009. www.hcsp.fr

7- De Greeff S, de Melker HE, Spanjaard L, Schouls LM, van DerEnde A. Protection from routine vaccination at the age of 14 months with meningococcal serogroup c conjugate vaccine in the Netherlands. Pediatr Infect Dis J 2006; 25: 79-80

Conflits d'intérêt: l'auteur déclare avoir bénéficié d'invitations à des congrès médicaux par les firmes produisant des vaccines et avoir participé (sans rémunération) à des réunions scientifiques ou des actions de FMC sponsorisées par ces firmes

189/48SEP — 4 décembre 2009 - 11:00 - HAVANE

L'harmonisation des concentrations critiques en Europe est-elle possible et suffisante ?

P. Tulkens
Représentant de l'International Society of Chemotherapy (ISC) auprès de l'European Committee for Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST), Pharmacologie Cellulaire et Moléculaire, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

La détermination de la sensibilité d'un micro-organisme pathogène vis-à-vis d'un antibiotique donné est un élément très important dans la définition d'une stratégie thérapeutique dès le moment où le succès clinique ne peut pas être prédits sur base de la seule identification. Si les méthodes de mesure de cette sensibilité (microdilution, diffusion en agar, systèmes automatiques) sont établies depuis longtemps (et font aujourd'hui l'objet d'un assez large consensus autour des normes ISO [http://www.iso.org] et autres standards dont ceux de la Société française de microbiologie [http://www.sfm.asso.fr]), une difficulté récurrente a été de traduire le résultat de ces mesures (principalement la concentration minimum inhibitrice [CMI]) en un message utile pour le clinicien. Traditionnellement, ce message est le plus souvent quantique (et même souvent simplement binaire) et consiste à qualifier le germe de "sensible", "intermédiaire" ou "résistant" en comparant la CMI de l'antibiotique considéré par rapport à des valeurs pré-établies (concentrations critiques) fixées par des autorités responsables.

Toute la difficulté réside dans la fixation des ces concentrations critiques qui doivent tenir compte non seulement des propriétés propres aux molécules considérées, mais aussi, et *a minima*, (i) de leur conditions d'usage; (ii) de la pathologie et du type de patients visés; (iii) des mécanismes de résistance dans l'environnement où elles seront utilisées.

Ces éléments étant sujets à interprétation, et leur poids respectifs susceptibles d'être fort différents suivant l'attention qui leur est portée, il n'est pas étonnant que des divergences majeures aient apparu dans les décisions prises par les différents organismes chargés de définir les concentrations critiques. C'est ainsi qu'au fil des années, on a pu assister à la coexistence de points critiques très différents pour un même antibiotique utilisé dans un même type d'infection entre pays et/ou groupes de pays. Il y avait, en Europe, une situation assez chaotique à ce point de vue, avec d'une part 6 pays où les points critiques étaient fixés par des commissions nationales (France, Royaume-Uni, Allemagne, Pays-Bas, Suède, Norvège) mais étaient rarement convergents, et les autres pays adoptant le plus souvent, mais pas toujours, les points critiques américains tels que définis par le *Clinical and Laboratory Standard Institute* [CLSI; http://www.clsi.org]).

Cette situation était peu favorable pour la raisons suivantes:

- elle menait à des décisions thérapeutiques divergentes entre pays voisins alors même que les pathologies, l'épidémiologie (y compris la résistance), et les antibiotiques utilisés et leur conditions d'usage étaient en fait semblables, démontrant l'irrationalité de maintenir des concentrations critiques différentes entre ces pays;

- elle rendait difficile la comparaison des données épidémiologiques de résistance, le même germe pouvant être déclaré résistant ou sensible suivant le pays considéré, alors même que sa sensibilité (comme établie par la mesure de la CMI) n'était pas différente;

- le caractère parfois opaque du processus décisionnel (et l'intervention de certains groupes de pression actifs au niveau national) avait entraîné, pour des molécules très employées, l'attribution de concentrations critiques notoirement trop élevées, ce qui les décrédibilisait aux yeux de beaucoup et ajoutait un élément de désordre;

- le processus de révision des concentrations critiques était lié à des considérations souvent purement nationales, mais ces révisions s'imposaient ensuite aux pays ne disposant pas d'autorité propre alors même que les conditions ayant mené à la révision pouvaient ne pas y être d'application;

- enfin, le processus d'enregistrement des antibiotiques en Europe est devenu de plus en plus centralisé au niveau de l'Agence européenne du médicament (EMEA), ce qui rend très difficile la coexistence de concentrations critiques nationales (ces concentrations devant faire partie intégrante des propriétés reconnues au produit au niveau européen). En parallèle, le CLSI a été privé d ses pouvoirs de fixer les concentrations critiques des nouveaux antibiotiques aux Etats-Unis au profit de la *Food and Drug Administration* (FDA) (dont la mission d'évaluation et le processus décisionnel prend en compte quasi-exclusivement les conditions d'usage dans ce pays).

Tous ces éléments ont plaidé pour la mise en place d'un processus de fixation des concentrations critiques au niveau européen. Ce processus est maintenant bien établi et mis en place par l'EUCAST, qui démontre ainsi la possibilité d'harmoniser les points critiques en Europe.

Le succès de cette démarche repose sur la prise en compte d'un grand nombre de critères convergents qui inclut les variations observées entre pays de l'Union européenne. Ceci résulte de l'organisation même de l'EUCAST et de son processus décisionnel qui peuvent se résumer de la façon suivante:

- l'EUCAST a été formé des représentants des Comités nationaux (en charge de la fixation des concentrations critiques en Europe avant sa création) et ne les remplace pas. Il fait partie de l'*European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases* (ESCMID), et inclut des représentants de tous les pays européens, de la *Federation of European Societies for Chemotherapy and for Infections* (FESCI) et de l'*International Society of Chemotherapy* (ISC). Il est financé par les comités nationaux et, depuis 2007, par l'Union Européenne au travers d'un accord avec l'*European Centre for Disease Control* (ECDC). Enfin, un accord de coopération opérationnelle (*Standard Operation Procedure*) a été établi avec l'EMEA.

- la première tâche de l'EUCAST a été, et est toujours, la fixation des valeurs limites épidémiologiques (*epidemiological cutt-off values*) des agents pathogènes d'intérêt dans le but de disposer d'une base de travail pour caractériser les souches résistantes. Ceci donne aux travaux de l'EUCAST l'indépendance scientifique indispensable à la bonne évaluation des données fournies par l'Industrie à propos de leurs molécules et un point de référence indiscutable.

- la définition des concentrations critiques cliniques (*clinical brakpoints*) de chaque molécule prend en compte (a) les données de posologie, de présentation, d'indications cliniques et d'organismes cibles pertinents; (b) les éléments d'épidémiologie propres aux organismes visés; (c) les données de pharmacocinétique et de pharmacodynamie permettant de prédire l'activité de la moélcule; (d) de l'ensemble des éléments cliniques pertinents et propres à la moélcule; (d) de règles particulières (expert rules) pour les situations jugées importantes en fonction de pathologies et/ou de mécanismes de résistance spécifiques et importants.

- le processus décisionnel est consensuel et soumis à l'approbation des comités nationaux et à une validation via des consultations publiques très étendues; l'ensemble des données utiles est mis à la disposition du public.

Le processus d'harmonisation ainsi réalisé ne résoudra pas tous les problèmes et les points critiques ainsi établis ne doivent pas être considérés comme les seuls points de référence en ce qui concerne le patient individuel. Des situations locales, des changements d'épidémiologie, ou simplement le bon sens clinique, doivent permettre de dépasser l'application aveugle de règles générales. Cependant, il est important que le microbiologiste et/ou le clinicien, s'interroge sur le bien-fondé de sa décision de ne pas suivre ces règles.

A un niveau régional et national, il est parfaitement possible que des règles particulières doivent être mises en place. Mais s adaptations et changements devront être effectués de façon rationnelle et cohérentes, et non plus sur base de décisions isolées susceptibles de créer des divergences inutiles et peu constructives. Ceci ne sera possible que si l'EUCAST maintient un processus d'écoute à l'égard des sociétés scientifiques et professionnelles et des autorités des divers pays de l'Union Européenne. C'est dans ce cadre d'une harmonisation est possible. Elle ne sera suffisante que si elle permet à chacun d'y trouver un cadre de prise de décision qui puisse bénéficier mieux que dans le passé aux patients.

Références:

- Kahlmeter G, Brown DF, Goldstein FW, MacGowan AP, Mouton JW, Odenholt I, Rodloff A, Soussy CJ, Steinbakk M, Soriano F, Stetsiouk O. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) Technical Notes on antimicrobial susceptibility testing. Clin Microbiol Infect. 2006 Jun;12(6):501-3. PubMed PMID: 16700696.

- à partir du site WEB de l'EUCAST:
http://www.eucast.org/documents/publications_in_journals/

http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/EUCAST_presentation_2009.pdf

190/48SEP — 4 décembre 2009 - 11:20 - HAVANE

Tests opportuns chez les bactéries opportunistes

P. Plésiat
Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques (Pseudomonas aeruginosa), CHU Jean Minjoz, Besançon, France

L'antibiogramme de première intention répond à la nécessité pour le microbiologiste de fournir rapidement au clinicien une évaluation aussi pertinente que possible de l'efficacité des antibiotiques sur les souches bactériennes isolées d'infection. Pour des raisons pratiques, les molécules retenues dans l'antibiogramme de routine sont celles ayant la meilleure activité sur les espèces considérées. Ainsi, les bacilles à Gram négatif non fermentants sont-ils généralement soumis d'emblée à un même panel d'antibiotiques. Les espèces les plus souvent rencontrées dans les infections nosocomiales en France sont, par ordre de fréquence décroissante, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Pseudomonas putida*, *Pseudomonas fluorescens*, *Burkholderia* du complexe *cepacia* (Bcc) (http://www.invs.sante.fr). Le microbiologiste peut être amené à effectuer, dans un deuxième temps, un antibiogramme complémentaire lorsque l'antibiogamme initial s'avère mal adapté (notamment pour les espèces oxydase négatives pouvant être confondues avec des entérobactéries) ou lorsque les souches sont multirésistantes. Des produits tels que la fosfomycine, le doripénème, la témocilline, la tigécycline, l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole ou la rifampicine pourront ainsi être évalués secondairement par la méthode de diffusion en gélose afin d'élargir les possibilités thérapeutiques. Par ailleurs, certaines molécules relativement labiles (carbapénèmes, acide clavulanique) doivent être contrôlées sur des souches-test lorsque le phénotype de résistance est jugé improbable voire impossible chez l'espèce étudiée. Par exemple, la résistance au méropénème de souches de *P. aeruginosa* sensibles à l'imipénème est suspecte. La sensibilité à certains antibiotiques doit, en revanche, être compatible avec l'identification des souches (résistance du bacille pyocyanique à la kanamycine, de *S. maltophilia* à l'imipénème, des *Burkholderia* aux aminosides...).

La méthode des disques, tout en étant fiable et pratique, présente certaines limites. La concordance entre le diamètre d'inhibition et la concentration minimale inhibitrice (CMI) est aléatoire pour les molécules diffusant mal dans la gélose. Ainsi, la sensibilité à la colistine ne peut être déterminée avec un

disque même si la présence ou l'absence d'une zone d'inhibition est un élément utile dans l'identification des bacilles à Gram négatif non fermentants. Avant d'instaurer un traitement parentéral avec ce produit, il est donc essentiel de mesurer précisément sa CMI sur la souche du malade, surtout si le site de l'infection est peu accessible (5). La microdilution en milieu liquide apparaît actuellement comme la méthode de référence pour quantifier l'activité de la colistine, surtout chez *P. aeruginosa* (9). Moins facile à mettre en oeuvre que la technique des E-test®, elle donne cependant des résultats plus reproductibles. La connaissance du niveau précis de sensibilité d'une souche aux ß-lactamines permettra au spécialiste d'adapter la posologie selon des critères pharmacocinétiques et pharmacodynamiques (PK/PD) dans les infections sévères. Elle devient incontournable lorsqu'il s'agit de faire un choix parmi des molécules ayant perdu une partie de leur efficacité vis-à-vis de souches multirésistantes. Avec l'abaissement au fil des années des concentrations critiques de référence "c" et "C", un pourcentage de plus en plus élevé de souches tombe dans la catégorie "résistantes". Seule la mesure des CMI, par la technique des E-test® ou en microplaque, permet alors de comparer l'efficacité des ß-lactamines.

Le microbiologiste peut être sollicité pour étudier les interactions des antibiotiques entre eux, soit sur des souches particulièrement résistantes, soit dans des situations cliniques difficiles où le traitement antibiotique se doit d'être rapidement bactéricide. Compte tenu des délais de réalisation et de la charge de travail qu'imposent ce type de tests, ces derniers ne se justifient que dans le cadre d'infections sévères (endocardite, méningite, bactériémie chez le sujet neutropénique...), d'évolution lente (infection ostéo-articulaire...) et/ou en échec thérapeutique. Si plusieurs méthodes ont été proposées pour analyser l'activité bactéricide ou les interactions des antibiotiques sur les bacilles à Gram négatif nosocomiaux (échiquier, concentrations fixes en tubes, E-test®, cinétique de bactéricidie), aucune n'est standardisée et n'a pu être corrélée à l'efficacité des traitements *in vivo*. D'ailleurs, leurs résultats sont parfois discordants car ces méthodes explorent vraisemblablement des états physiologiques différents chez les bactéries (10). L'émergence récente de souches de *P. aeruginosa* et de *A. baumannii* extrêmement résistantes a conduit certains auteurs a proposer des associations jusque-là inhabituelles (colistine-rifampicine, colistine-ß-lactamine, colistine-aminoside, aztréonam-ceftazidime-aminoside...) pour traiter les malades (8). Malgré des succès thérapeutiques évidents, les résultats obtenus *in vitro* sont, pour l'instant, difficiles à extrapoler aux cas individuels. Par conséquent, les conseils au clinicien sur la base de ce type de tests doivent toujours être relativisés.

Un des objectifs de l'antibiogramme traditionnel est d'identifier les mécanismes de résistance ayant un impact sur l'activité des antibiotiques *in vivo* ou ayant un caractère potentiellement épidémique. Dans ses recommandations 2009, le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) préconise pour *P. aeruginosa* d'interpréter les sensibilités aux pénicillines (TIC, TCC, PIP, PTZ), à l'aztréonam (AZL) et aux céphalosporines de 3ème génération (CAZ, FEP) en fonction de la résistance à certaines molécules-test comme la ticarcilline (TIC), la pipéracilline (PIP) et la ceftazidime (CAZ). La sensibilité à l'amikacine est également corrigée si la production d'une acétyl transférase AAC(6')-I est susceptée. En l'absence de données cliniques plus concrètes, les antibiogrammes de *A. baumannii*, *S. maltophilia* et Bcc ne donnent en revanche pas lieu à un interprétation. La diffusion au niveau européen et en France de ß-lactamases à spectre étendu (BLSE) et de carbapénémases parmi les bacilles à Gram négatif non fermentants demande aujourd'hui une vigilance accrue et l'optimisation des méthodes de détection (4, 7). Leur dépistage au laboratoire est, en effet, une étape cruciale pour maîtriser, par des mesures d'hygiène appropriées, les épidémies dans les établissements de soins. Par ailleurs, le signalement et/ou la transmission des souches productrices de BLSE ou de carbapénémases au Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques s'intègre dans un processus de surveillance épidémiologique nationale coordonné par l'Institut de Veille Sanitaire. Chez *P. aeruginosa* comme chez *A. baumannii*, la détection des BLSE repose sur l'activité inhibitrice de l'acide clavulanique (enzymes de classe A ou D) et de l'imipénème (enzymes de classe D), deux produits capables de potentialiser l'activité de la CAZ ou de la FEP (2, 3). Les métallo-ß-lactamases sont inhibées en revanche par l'EDTA, un agent capable de chélater les ions Zn^{2+} indispensables à l'activité catalytique des carbapénémases de classe B (6). En raison de l'accumulation fréquente des mécanismes de résistance chez les bacilles à Gram négatif nosocomiaux, la détection phénotypique des BLSE et des carbapénémases peut être masquée sur l'antibiogramme de routine (1). Les tests de synergie seront donc réservés aux souches multirésistantes (CAZ^R chez *P. aeruginosa*, $IPM^{I/R}$ chez *A. baumannii*, *P. putida* et *P. fluorescens*) et adaptés à chaque cas en optimisant la distance entre les disques d'antibiotique et d'inhibiteur. Les BLSE de type OXA sont, en effet, faiblement antagonisées par l'acide clavulanique (2). En cas de doute, les souches seront transmises au CNR pour la réalisation d'analyses spécifiques (PCR, séquencage, RT-qPCR). La réalisation d'un antibiogramme sur une gélose renfermant de la cloxacilline (200 µg/mL pour *A. baumannii*, 500 à 1000 µg/mL pour *P. aeruginosa*) peut s'avérer utile pour détecter les BLSE chez les souches surproduisant leur céphalosporinase naturelle (3). Enfin, les données épidémiologiques actuelles en Europe ne justifient pas encore la recherche systématique de méthylases de l'ARN 16S chez les non fermentants par des tests spécifiques. Ces enzymes qui entraînent une résistance presque totale aux aminosides restent, pour l'instant, extrêmement rares.

En conclusion, l'antibiogramme des bacilles à Gram négatif opportunistes requiert peu de tests complémentaires. Toutefois, ces derniers sont indispensables pour une prise en charge optimale des patients.

Références

1. **Bonomo, R. A., and D. Szabo.** 2006. Mechanisms of multidrug resistance in *Acinetobacter* species and *Pseudomonas aeruginosa*. Clin. Infect. Dis. **43 (suppl 2):**S49-S56.

2. **Danel, F., M. G. P. Page, and D. M. Livermore.** 2007. Class D ß-lactamases, p. 163-194. *In* R. A. Bonomo and M. Tolmasky (ed.), Enzyme-mediated resistance to antibiotics. ASM press, Washington, D. C.

3. **Jiang, X., Z. Zhang, M. Li, D. Zhou, F. Ruan, and Y. Lu.** 2006. Detection of extended-spectrum ß-lactamases in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. **50:**2990-2995.

4. **Livermore, D. M.** 2002. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? Clin. Infect. Dis. **34:**634-640.

5. **Markou, N., S. L. Markantonis, E. Dimitrakis, D. Panidis, E. Boutzouka, S. Karatzas, P. Rafailidis, H. Apostolakos, and G. Baltopoulos.** 2008. 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. Therap. **30:**143-151.

6. **Pitout, J. D. D., D. B. Gregson, L. Poirel, J.-A. McClure, P. Le, and D. L. Church.** 2005. Detection of *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-ß-lactamases in a large centralized laboratory. J. Clin. Microbiol. **43:**3129-3135.

7. **Poirel, L., and P. Nordmann.** 2006. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*: mechanisms and epidemiology. Clin. Microbiol. Infect. **12:**826-836.

8. **Rahal, J. J.** 2006. Novel antibiotic combinations against infections with almost completely resistant *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. Clin. Infect. Dis. **43 (suppl 2):**S95-S99.

9. **van der Heijden, I. M., A. S. Levin, E. H. De Pedri, L. Fung, F. Rossi, G. Duboc, A. A. Barone, and S. F. Costa.** 2007. Comparison of disc diffusion, Etest and broth microdilution for testing susceptibility of carbapenem-resistant *P. aeruginosa* to polymyxins. Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. **6:**8.

10. **White, R. L., D. S. Burgess, M. Manduru, and J. A. Bosso.** 1996. Comparison of three different *in vitro* methods of detecting synergy: time-kill, checkerboard, and E test. Antimicrob Agents Chemother **40:**1914-1918.

191/48SEP 4 décembre 2009 - 11:40 - HAVANE

Quoi de plus chez les Gram +

V. Cattoir
Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France

Avant toute lecture interprétative d'un antibiogramme, il est nécessaire d'avoir une identification précise au niveau de l'espèce. En effet, la spéciation permet de révéler des mécanismes de résistance intrinsèques quelquefois difficiles à observer phénotypiquement, comme AAC(6')-I chez *Enterococcus faecium* ou VanC chez *Enterococcus gallinarum*. Alors que l'identification biochimique est régulièrement mise en défaut, les méthodes moléculaires (notamment le séquençage des gènes de l'ARN 16S et *sodA*) constituent la méthode de référence et les nouvelles méthodes de spectrométrie de masse (MALDI-TOF) sont très prometteuses (5).

L'antibiogramme est une estimation *in vitro* de l'activité bactériostatique (CMI) des antibiotiques et ne rend pas compte de la bactéricidie. Différentes méthodes, difficilement réalisables en routine car lourdes et coûteuses, permettent d'évaluer l'activité bactéricide des antibiotiques : mesure des CMB, cinétique de bactéricidie et pouvoir bactéricide du sérum. Même si leur intérêt clinique est limité par des problèmes techniques et des difficultés d'interprétation par manque de standardisation (14), l'étude de la bactéricidie pour certaines infections sévères (ex. endocardite, méningite, ostéomyélite, infection chez le neutropénique) peut sembler nécessaire. Par exemple, l'association de la tolérance (définie par un rapport CMB/CMI ≥32) de certaines souches de *Streptococcus pneumoniae* vis-à-vis des glycopeptides et des b-lactamines à des échecs cliniques a été rapportée, même si les données cliniques sur le sujet restent controversées (9).

Plusieurs tests complémentaires doivent être réalisés pour mettre en évidence des mécanismes de résitance acquise difficiles à détecter (10). C'est le cas de l'étude de l'activité *in vitro* des b-lactamines sur les staphylocoques. Du fait de l'expression inductible de la pénicillinase plasmidique, il existe une large dispersion des CMI de la pénicilline G, ce qui rend l'interprétation de l'antibiogramme difficile pour des CMI « limites ». Ainsi, la présence d'une pénicillinase doit être vérifiée par une technique de type chromogénique (ex. nitrocéfine), notamment pour les souches catégorisées sensibles (CMI £0,12 mg/L) en systèmes automatisés. L'antibiogramme peut aussi être mis en défaut pour la détection de la résistance à l'oxacilline. En effet, l'expression de cette réssitance est variable en fonction des souches : elle est soit homogène, soit hétérogène, le niveau d'hétérogénéité variant lui aussi. Différentes techniques ont été proposées (inoculum lourd, incubation à 30°C, milieu hypersalé…) mais à l'heure actuelle, la recherche de la résistance à l'oxacilline peut être recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30 µg) ou de moxalactam (30 µg). Toute souche présentant une sensibilité « limite » à l'oxacilline, à la céfoxitine ou au moxalactam doit être vérifiée par la recherche de l'expression d'une PLP2a après induction (agglutination de particules de latex sensibilisées) ou par la détection du gène *mecA* par PCR (4). A noter que la détection de la résistance à l'oxacilline chez les souches « *small colony variants* » de *S. aureus* doit se faire uniquement à l'aide ces deux méthodes, du fait du manque de fiabilité de toutes les techniques phénotypiques (20).

La méthode d'antibibiogramme par diffusion n'est pas recommandée pour la détermination de l'activité *in vitro* des glycopeptides sur les staphylocoques. La technique de référence reste la mesure des CMI par microdilution en milieu liquide ou par dilution en milieu gélosé. A noter que la méthode E-test et la plupart des systèmes automatisés (ex. MicroScan, Phoenix, Sensititre et Vitek 2) semblent fiables avec des taux de concordance proches de 100 % (17). Il est recommandé de confirmer une valeur de CMI obtenue par une 1ère

technique par une 2nde technique employée dans le laboratoire (ex. automate/E-test). En effet, plusieur études ont aussi montré que la valeur de la CMI avait un impact clinique réel sur l'évolution des patients (8). Sur une étude portant sur 30 épisodes de bactériémies à SARM, il y avait 56 % de succès clinique pour les souches avec des CMI à 0,5 mg/L *versus* 10 % pour les souches avec des CMI à 1-2 mg/L (16). Une autre étude similaire confirme ces observations avec des taux de succès cliniques de 52, 29 et 8 % pour des souches avec des CMI à 0,5, 1 et 2 mg/L, respectivement (12). Par conséquent, pour une souche de *S. aureus* présentant une CMI >1 mg/L, une alternative thérapeutique devrait être envisagée afin d'éviter tout risque d'échec de traitement (8). Un autre problème est la détection des souches de sensibilité diminuée aux glycopeptides (ex. VISA, hVISA). Les souches VISA sont catégorisées intermédiaires à la vancomycine (CMI = 8 mg/L) tandis que les souches hVISA sont faussement catégorisées sensibles à celle-ci (CMI = 2-4 mg/L) car contenant une sous-population (10^{-5}-10^{-7}) de sensibilité intermédiaire (CMI = 6-8 mg/L). Les souches hVISA, dont la plupart sont des SARM, correspondraient à la population précurseure des souches VISA et seraient associées à des échecs de traitement, d'où la nécessité de leur dépistage. La détection de ces souches est particulièrement difficile et aucune méthode moléculaire n'existe. La méthode de référence actuelle est l'analyse de population qui est une technique lourde et coûteuse (21). Différentes techniques (criblage sur milieu gélosé additionné d'antibiotique, E-test GRD, macro E-test) ont été ainsi développées montrant des sensibilités variables (27-94 %) mais des spécificités élevées (87-100 %) (22). A côté de ces données microbiologiques, il est très important de mesurer les concentrations sériques de vancomycine afin d'estimer le quotient inhibiteur (C_{max}/CMI), reflet direct des chances de succès clinique.

Certains profils de résistance aux antibiotiques chez les souches de SARM, souvent d'origine communautaire, peuvent être évocateurs de souches produisant les toxines PVL et TSST-1 (6) associées à des tableaux cliniques sévères. Ces facteurs de virulence peuvent être recherchés par PCR ou plus récemment par MALDI-TOF (2).

Même si la prévalence de la résistance aux fluoroquinolones chez *Streptococcus pneumoniae* est faible, il existe un risque d'échec du traitement avec les souches présentant une résistance de bas niveau (modification des cibles GyrA et ParC, efflux actif médié par PmrA). L'utilisation d'un disque de norfloxacine (5 µg) comme marqueur de détection est recommandée, même si ce test simple peut être faussement négatif. Ainsi, des méthodes de PCR en temps réel peuvent constituer une alternative intéressante par la détection rapide des principales mutations dans les gènes *gyrA* et *parC* (13). Certains auteurs proposent également de mesurer la CPM, concentration prévenant la croissance de mutants à partir d'un inoculum fort (10^{10} bactéries) ; cependant, l'impact clinique d'une élévation de ce paramètre *in vitro* reste à évaluer (3).

Chez *Enterococcus faecalis* et *E. faecium*, la résistance aux glycopeptides est souvent due à l'acquisition des gènes *vanA* et *vanB*, tandis qu'il existe un phénotype de résistance naturelle VanC chez *Enterococcus casseliflavus* et *E gallinarum*. En cas de résistance de bas niveau, la distinction rapide de souches VanA/VanB (à fort pouvoir épidémique) et de souches VanC peut être effectuée par des méthodes moléculaires de type PCR (11). A noter qu'à l'heure actuelle, les souches résistantes aux glycopeptides ne sont pas distinguées des souches sensibles par MALDI-TOF (7).

Concernant les nouveaux antibiotiques, il est à signaler que l'activité *in vitro* de la daptomycine doit être déterminée par la méthode de microdilution en milieu liquide ou par E-test. En effet, la méthode par diffusion ne permet pas de détecter les souches de sensibilité diminuée (CMI >1 mg/L) (15). De plus, il ne semble pas nécessaire d'évaluer la bactéricidie de la daptomycine chez *S. aureus* du fait de l'absence de tolérance avec cette molécule, même sur les souches VISA (15, 19). Quant au linézolide, la résistance est médiée par des mutations au niveau de l'ARNr 23S ou par l'acquisition d'une méthyltransférase plasmidique appelée Cfr. La résistance due à Cfr peut poser des problèmes de détection ; en effet, elle semble être bien signalée par les systèmes automatisés alors que les méthodes par diffusion et E-test peuvent donner de faux négatifs après une incubation de 24 h. Ainsi, un allongement de la période d'incubation à 48 h est nécessaire pour mettre en évidence une image d'hétérorésistance sous la forme d'un double halo (1).

A côté des techniques phénotypiques, il existe de nombreuses méthodes génotypiques (notamment de PCR en temps réel) présentant le principal intérêt d'être très rapides car directement applicables aux produits pathologiques. Les meilleurs exemples sont la détection du gène *mecA* chez *S. aureus* à partir d'hémocultures positives et l'identification des gènes *vanA*/*vanB* à partir d'écouvillonages rectaux (11). L'impact clinique et socio-économique de ces méthodes reste cependant à évaluer. Enfin, cet antibiogramme « moléculaire » présente plusieurs limites (ex. détection uniquement des gènes de résistance connus, détection de la résistance et non de la sensibilité) et reste donc complémentaire à l'antibiogramme « classique » (18).

Références

1. **Arias, C. A., M. Vallejo, J. Reyes, D. Panesso, J. Moreno, E. Castaneda, M. V. Villegas, B. E. Murray, and J. P. Quinn.** 2008. Clinical and microbiological aspects of linezolid resistance mediated by the cfr gene encoding a 23S rRNA methyltransferase. J Clin Microbiol **46:**892-6.

2. **Bittar, F., Z. Ouchenane, F. Smati, D. Raoult, and J. M. Rolain.** 2009. MALDI-TOF-MS for rapid detection of staphylococcal Panton-Valentine leukocidin. Int J Antimicrob Agents **34:**467-70.

3. **Blondeau, J. M., X. Zhao, G. Hansen, and K. Drlica.** 2001. Mutant prevention concentrations of fluoroquinolones for clinical isolates of Streptococcus pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother **45:**433-8.

4. **Brown, D. F.** 2001. Detection of methicillin/oxacillin resistance in staphylococci. J Antimicrob Chemother **48 Suppl 1:**65-70.

5. **Carbonnelle, E., J. L. Beretti, S. Cottyn, G. Quesne, P. Berche, X. Nassif, and A. Ferroni.** 2007. Rapid identification of Staphylococci isolated in clinical microbiology laboratories by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. J Clin Microbiol **45:**2156-61.

6. **Gbaguidi-Haore, H., M. Thouverez, G. Couetdic, P. Cholley, D. Talon, and X. Bertrand.** 2009. Usefulness of antimicrobial resistance pattern for detecting PVL- or TSST-1-producing meticillin-resistant Staphylococcus aureus in a French university hospital. J Med Microbiol **58:**1337-42.

7. **Genzel, G. H., R. Schaumann, W. Schellenberger, A. C. Rodloff, and K. Eschrich.** 2009. Vancomycin and teicoplanin resistant strains of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium* can not be distinguished by matrix assisted laser desorption/ionisation time of flight mass spectrometry, abstr. D-740. Abstr. 49th Intersc. Conf. Antimicrob. Agents Chemother.

8. **Gould, I. M.** 2008. Clinical relevance of increasing glycopeptide MICs against Staphylococcus aureus. Int J Antimicrob Agents **31 Suppl 2:**1-9.

9. **Henriques Normark, B., and S. Normark.** 2002. Antibiotic tolerance in pneumococci. Clin Microbiol Infect **8:**613-22.

10. **Jorgensen, J. H., and M. J. Ferraro.** 2000. Antimicrobial susceptibility testing: special needs for fastidious organisms and difficult-to-detect resistance mechanisms. Clin Infect Dis **30:**799-808.

11. **Metan, G., P. Zarakolu, and S. Unal.** 2005. Rapid detection of antibacterial resistance in emerging Gram-positive cocci. J Hosp Infect **61:**93-9.

12. **Moise-Broder, P. A., G. Sakoulas, G. M. Eliopoulos, J. J. Schentag, A. Forrest, and R. C. Moellering, Jr.** 2004. Accessory gene regulator group II polymorphism in methicillin-resistant Staphylococcus aureus is predictive of failure of vancomycin therapy. Clin Infect Dis **38:**1700-5.

13. **Page, S., F. Vernel-Pauillac, O. O'Connor, S. Bremont, F. Charavay, P. Courvalin, C. Goarant, and S. Le Hello.** 2008. Real-time PCR detection of gyrA and parC mutations in Streptococcus pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother **52:**4155-8.

14. **Pankey, G. A., and L. D. Sabath.** 2004. Clinical relevance of bacteriostatic versus bactericidal mechanisms of action in the treatment of Gram-positive bacterial infections. Clin Infect Dis **38:**864-70.

15. **Sader, H. S., T. R. Fritsche, and R. N. Jones.** 2006. Daptomycin bactericidal activity and correlation between disk and broth microdilution method results in testing of Staphylococcus aureus strains with decreased susceptibility to vancomycin. Antimicrob Agents Chemother **50:**2330-6.

16. **Sakoulas, G., P. A. Moise-Broder, J. Schentag, A. Forrest, R. C. Moellering, Jr., and G. M. Eliopoulos.** 2004. Relationship of MIC and bactericidal activity to efficacy of vancomycin for treatment of methicillin-resistant Staphylococcus aureus bacteremia. J Clin Microbiol **42:**2398-402.

17. **Swenson, J. M., K. F. Anderson, D. R. Lonsway, A. Thompson, S. K. McAllister, B. M. Limbago, R. B. Carey, F. C. Tenover, and J. B. Patel.** 2009. Accuracy of commercial and reference susceptibility testing methods for detecting vancomycin-intermediate Staphylococcus aureus. J Clin Microbiol **47:**2013-7.

18. **Tenover, F. C.** 2007. Rapid detection and identification of bacterial pathogens using novel molecular technologies: infection control and beyond. Clin Infect Dis **44:**418-23.

19. **Traczewski, M. M., B. D. Katz, J. N. Steenbergen, and S. D. Brown.** 2009. Inhibitory and bactericidal activities of daptomycin, vancomycin, and teicoplanin against methicillin-resistant Staphylococcus aureus isolates collected from 1985 to 2007. Antimicrob Agents Chemother **53:**1735-8.

20. **von Eiff, C.** 2008. Staphylococcus aureus small colony variants: a challenge to microbiologists and clinicians. Int J Antimicrob Agents **31:**507-10.

21. **Wootton, M., R. A. Howe, R. Hillman, T. R. Walsh, P. M. Bennett, and A. P. MacGowan.** 2001. A modified population analysis profile (PAP) method to detect hetero-resistance to vancomycin in Staphylococcus aureus in a UK hospital. J Antimicrob Chemother **47:**399-403.

22. **Yusof, A., A. Engelhardt, A. Karlsson, L. Bylund, P. Vidh, K. Mills, M. Wootton, and T. R. Walsh.** 2008. Evaluation of a new Etest vancomycin-teicoplanin strip for detection of glycopeptide-intermediate Staphylococcus aureus (GISA), in particular, heterogeneous GISA. J Clin Microbiol **46:**3042-7.

192/49SEP — 4 décembre 2009 - 11:00 - 341

Situation épidémiologique de la lèpre en France métropolitaine et d'outre-mer

G. La Ruche

Département international et tropical, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Contexte : La lèpre a connu un recul important et régulier dans toutes les régions du monde en quelques dizaines d'années. Dans un pays ou un territoire, l'objectif d'élimination de la lèpre est défini par une prévalence de la maladie inférieure à un cas pour 10 000 habitants. Globalement, la prévalence dans le monde a diminué de 90% entre 1985 et 2009, pour s'inscrire environ 213 000 cas « prévalents » (c'est-à-dire sous traitement) au début de l'année 2009. Les données publiées annuellement par l'OMS [1,2] montrent des disparités importantes entre les différentes régions.

Les autorités françaises, à l'instar de nombreux Etats non endémiques, ne déclarent aucun cas de lèpre à l'OMS depuis de nombreuses années. Des cas autochtones sont cependant diagnostiqués, notamment en Guyane et à Mayotte. En l'absence de système de surveillance spécifique et régulier, on

ignore le nombre exact de patients atteints sur le territoire français. Seuls quelques acteurs sensibilisés, cliniciens dermatologues ou infectiologues et épidémiologistes, en particulier dans les territoires français ultramarins, exercent une surveillance continue sur des territoires limités et mènent des études ponctuelles.

Situation dans les territoires ultramarins : Les territoires d'outremer rassemblent la majorité des nouveaux cas recensés pour la France, témoignant de la poursuite d'un cycle de transmission locale. Le petit nombre de structures de santé spécialisées dans la prise en charge des malades ou dans le dépistage facilite la réalisation d'études ponctuelles. L'association des léprologues de langue française (ALLF), avec la société française de dermatologie, produit un bulletin semestriel sur la lèpre dans le monde. S'appuyant sur un réseau de collaborateurs informels francophones, ce bulletin fait régulièrement état des données épidémiologiques ultramarines. D'après ces rapports, le nombre de cas prévalents pour l'ensemble des territoires ultramarins était estimé fin 2006 à 150 patients et fin 2007 à 180 patients (cf. tableau). Seule Mayotte présentait une prévalence supérieure à 1 /10 000 (6,2 /10 000 en 2007).

Tableau. Prévalence et taux de détection de la lèpre dans les territoires français ultramarins [3]

Territoire	Population	Nouveaux cas détectés 2007	Taux de détection (/10 000)	En traitement au 31/12/2007	Taux de prévalence (/10 000)
Mayotte	187 000	68	3,64	117	6,20
La Réunion	763 000	1	0,01	2	0,03
Guadeloupe	447 000	5	0,11	25	0,56
Martinique	398 000	1	0,03	7	0,17
Guyane	190 000	8	0,42	8	0,42
Polynésie française	252 000	3	0,12	13	0,50
Nouvelle-Calédonie	231 000	2	0,09	8	0,35
Total	2 468 000	88	0,36	180	0,73

Note : Le taux de détection correspond au rapport du nombre de nouveaux cas détectés sur une période de temps (ici un an) par l'effectif de la population.

Mayotte. L'île est une zone endémique si l'on se réfère à la définition OMS : la prévalence s'inscrivait à 6,2 /10 000 en 2007. Entre 1999 et 2005, 342 nouveaux cas y ont été détectés (soit une incidence moyenne de 49 cas par an). Parmi ces cas, 56% étaient importés, détectés chez des migrants (principalement Comoriens) et 44% étaient des cas autochtones ; 19% avaient moins de 15 ans au dépistage. La situation épidémiologique à Mayotte a fait l'objet d'études publiées en 1999 [4] et 2006 [5]. Elles ont mis en évidence l'existence d'une proportion élevée de formes multibacillaires (43%) et d'un pourcentage important d'enfants de moins de 15 ans parmi les cas autochtones (28%) en faveur d'un niveau de transmission toujours élevé de la maladie. Un taux de détection annuel plus élevé a été retrouvé dans l'étude de 2006, comparativement à celle de 1999.

La Réunion. La situation y est très mal documentée ; un nouveau cas et 11 patients sous traitement (dont on ignore les caractéristiques) ont été rapportés en 2006.

Guadeloupe et Martinique. En Guadeloupe entre 1985 et 1998, une amélioration progressive de la situation a été rapportée puisque le nombre annuel de nouveaux cas dépistés était passé de 31 en 1985 à 7 en 1998 [6]. Cette tendance s'est stabilisée depuis, avec 3 à 10 nouveaux cas annuels entre 1999 et 2007 [7]. La proportion de formes multibacillaires pendant cette période (52% pour 1999-2007 contre 31% pour 1985-1998) est en faveur de la poursuite d'une transmission active de la maladie. En 2006, les deux départements ont rapporté 4 nouveaux cas chacun. En 2007, 5 nouveaux cas en Guadeloupe et 1 en Martinique ont été notifiés. La situation semble plus préoccupante en Guadeloupe où 25 patients étaient en traitement fin 2007 (5 en Martinique). La quasi-totalité des cas en Guadeloupe étaient autochtones [7], alors que nous ne disposons pas d'information sur la distinction entre cas autochtones et importés pour la Martinique.

La Guyane. Si les données disponibles situent ce département en deçà du seuil d'élimination, on rapporte actuellement une vingtaine de nouveaux cas par an. Une étude récente [8] sur la période 1997-2006 a évalué l'incidence annuelle moyenne à 0,53 nouveaux cas /10 000 habitants ; 18 nouveaux cas ont été détectés en 2006. Une tendance à l'augmentation significative des cas détectés chez des migrants brésiliens a été notée. La proximité immédiate et les nombreux échanges avec l'Etat brésilien, qui rapportait à lui seul environ 39 000 nouveaux cas annuels en 2007 et en 2008 [2], mettent la Guyane dans une situation de recrudescence potentielle de la maladie.

Wallis et Futuna. Un cas en 1996, un autre en 2004, et 3 cas en 2005 parmi la fratrie du cas identifié en 2004 ont été rapportés, soit un taux de détection de l'ordre de 0,66 /10 000 en 2004 et de 2 /10 000 en 2005 (population estimée à 15 000 habitants en 2005).

Polynésie française. Une étude rétrospective [9] des cas entre 1983 et 2002 avait noté une diminution de l'endémie lépreuse tout en insistant sur la poursuite d'une circulation à bas bruit. Des foyers actifs subsistaient dans l'archipel des Marquises Sud et des Gambier alors que le nombre de nouveaux cas à Tahiti semblait augmenter sur la fin de cette période. En 2006, 8 nouveaux cas ont été rapportés à l'OMS, et 3 en 2007.

Nouvelle-Calédonie. Le dispensaire anti-hansénien du centre hospitalier de Nouméa organise la lutte contre la lèpre [10]. L'évolution est suivie dans un registre et fait l'objet de rapports réguliers. Selon le dernier rapport disponible en 2007, la prévalence de la lèpre est passée sous le seuil d'élimination en 1997. Au total, 279 nouveaux cas ont été diagnostiqués entre 1983 et 2007, avec moins de 10 nouveaux cas annuels détectés ces dernières années. Cependant, nombre d'entre eux sont dépistés à un stade tardif. La population mélanésienne reste la plus exposée à la maladie.

Situation en France métropolitaine : En raison de l'absence de système de déclaration ou de recensement actif de cas, l'incidence de la lèpre en France métropolitaine n'est pas connue. Il est donc difficile dans la situation actuelle de détecter de façon précoce un cycle de transmission autochtone en métropole. En outre, on ne dispose pas d'étude épidémiologique récente sur les cas importés en métropole. Une étude réalisée entre 1995 et 1998 estimait la prévalence de la maladie à 0,013 /10 000 et l'incidence moyenne à 18 nouveaux cas par an (intervalle de confiance à 95% : 16-20) [11]. Depuis, les cliniciens n'ont pas rapporté d'augmentation du nombre de patients consultant dans les services accueillant les patients lépreux. Les nouveaux cas sont dépistés et pris en charge dans des services de dermatologie ou de maladies infectieuses et tropicales de CHU. La quasi-totalité des cas est dépistée chez des étrangers migrants, en particulier issus d'Afrique du Nord ou d'Afrique Noire ou encore chez des français d'outremer [11]. Plus exceptionnellement (1 à 2 cas/an) de nouveaux cas de lèpre sont dépistés chez des français ayant séjourné en pays d'endémie ou chez des Européens du sud (Portugal).

Commentaires : L'accès élargi aux poly-chimiothérapies a permis une décroissance certaine, régulière et importante des nouveaux cas de lèpre détectés dans le monde, y compris en France. La France (métropolitaine et ultramarine) est vulnérable à une recrudescence de la maladie, que ce soit à partir de cas autochtones qui rechuteraient tardivement ou de patients migrants issus de pays d'endémie avec lesquels les liens géographiques (Brésil, Comores…) ou culturels (Congo RDC, Côte d'Ivoire, Madagascar…) sont proches. Ainsi les données recueillies à Mayotte et en Guyane suggèrent que la situation ne s'améliore pas, contrairement à la situation dans le Pacifique.

La maladie devenant moins fréquente, les cliniciens médicaux et paramédicaux capables de diagnostiquer et de prendre en charge la maladie sont également devenus rares. Le diagnostic s'en retrouve plus difficile. A cela il faut ajouter une présentation polymorphes et de longs délais d'incubation. Une sous-détection des cas liée à la diminution de la sensibilisation des acteurs de santé ou à la diminution de l'information des populations à risque est donc à craindre.

Finalement, plusieurs facteurs amènent à proposer un recensement plus régulier et spécifique des patients : les zones d'ombre épidémiologiques, la proximité géographique et culturelle de certains territoires français avec des pays où la maladie est largement présente, le caractère clinique polymorphe de cette maladie dont l'incubation peut aller jusqu'à près de vingt ans. Ce recensement doit aller de pair avec la poursuite de la sensibilisation des professionnels de santé et des populations identifiées à risque. Sans surveillance régulière et à long terme, plusieurs risques non négligeables sont à noter, notamment la persistance d'un cycle de transmission à bas bruit et l'incapacité d'observer une éventuelle réémergence de cette pathologie sur le territoire français, en particulier outremer. Compte tenu des mécanismes de diffusion de cette maladie, l'augmentation importante et brutale de l'incidence de la lèpre sur le territoire français paraît cependant un risque très limité.

Références

1. Organisation mondiale de la santé. Le point sur la lèpre dans le monde, début 2008. Relevé épidémiologique hebdomadaire 2008;83:293-300.
http://www.who.int/entity/wer/2008/wer8333.pdf
2. Organisation mondiale de la santé. Le point sur la lèpre dans le monde, 2009. Relevé épidémiologique hebdomadaire 2009;84:333-40.
http://www.who.int/entity/wer/2009/wer8433.pdf
3. Détection et rechutes de la lèpre dans les DOM-TOM en 2007. Bulletin de l'ALLF 2008; (23):8.
http://sfdermato.actu.com/allf/bulletin_allf_23.pdf
4. De Carsalade GY, Achirafi A, Flageul B. La lèpre dans la collectivité territoriale de Mayotte. Bull Epidemiol Hebdomadaire 1999; 44:186-7.
http://www.invs.sante.fr/beh/1999/9944/beh_44_1999.pdf
5. De Carsalade GY, Achirafi A, Flageul B. Lèpre dans la collectivité territoriale de Mayotte en 2005. Bull Epidemiol Hebdomadaire 2006; 45:350-2.
http://www.invs.sante.fr/beh/2006/45/beh_45_2006.pdf
6. Frédéric M, Rastogi N. La lèpre en Guadeloupe de 1985 à 1998. Bull Epidemiol Hebdomadaire 2002; 32:157-9.
http://www.invs.sante.fr/beh/2002/32/beh_32_2002.pdf
7. Frédéric M, Rastogi N. L'endémie lépreuse en Guadeloupe de 1999 à 2007. Bull Epidemiol Hebdomadaire 2009; 29:322-4.
http://www.invs.sante.fr/beh/2009/29/beh_29_2009.pdf
8. Domergue V, Clyti E, Sainte-Marie D, Huber F, Marty C, Couppie P. La lèpre en Guyane française : étude rétrospective de 1997 à 2006. Med Trop (Mars) 2008; 68(1):33-7.
9. Cueille V. Etude épidémiologique de la lèpre en Polynésie française entre 1983 et 2002. Bulletin de l'ALLF 2005;(17):12-4.
http://sfdermato.actu.com/allf/bulletin_allf_17.pdf
10. Crouzat M. Situation sanitaire en Nouvelle Calédonie, 2006-2007. Les maladies transmissibles ou infectieuses: La lèpre. Direction des affaires sanitaires et sociales de Nouvelle Calédonie n°23, 2008.
http://www.dass.gouv.nc/portal/page/portal/dass/publications/sante_chiffres/situation_sanitaire_2007/
11. Flageul B. Enquête épidémiologique sur la lèpre en France métropolitaine de 1995 à 1998. Ann Dermatol Venereol 2001; 128(1):17-20.

La Lèpre : Le cas de Mayotte

G.Y. de Carsalade
DASS Mayotte, France

Introduction : Mayotte, île française de l'archipel des Comores est située dans le canal du Mozambique à 300km de Madagascar et à 80 km de l'île d'Anjouan. Sa population est estimée à 190 000 habitants sur 374 km^2. La mise au point par l'Organisation mondiale de la santé (OMS) en 1982 d'une polychimiothérapie qui guérit les patients en 6 ou 24 mois a permis les espoirs les plus fous à Mayotte comme ailleurs. L'OMS s'était donc fixée comme objectif d'éliminer la lèpre comme problème de santé publique en 2000 puis en 2005. Malgré un succès majeur de ce nouveau traitement, ce but est loin d'être atteint en 2008 à Mayotte (prévalence au 31/12/08 : 5,67/10 000 hab.) comme dans certains pays de la région.

Contexte régional : En Afrique de l'est, Madagascar, le Mozambique et la Tanzanie avec une prévalence respectivement fin 2006 de 0,83, 1,24 et 0,87 sont les pays les plus touchés. Dans l'Union des Comores, l'île d'Anjouan est le seul foyer important : alors qu'en moyenne 120 cas étaient diagnostiqués chaque année, en 2008 à l'occasion d'une Campagne d'élimination de la lèpre (CEL) 335 nouveaux cas ont été diagnostiqués, soit un taux de détection de 113/100 000 habitants comme lors de la précédente CEL en 2002 (1).

Matériels et méthodes : Le service de lutte anti lépreuse à Mayotte est composé d'un infirmier mi temps auquel un médecin 1 journée par semaine a été adjoint depuis 1997.

L'âge, le sexe, la notion de cas familiaux, l'adresse des patients ont été colligés pour tous les nouveaux patients. En raison d'un brassage de population important avec les îles voisines, l'origine des patients a été précisée : ont été considérés comme autochtones les patients vivant depuis plus de 10 ans sur l'île ou les enfants nés et vivant à Mayotte et les autres comme non autochtones. Tous les patients avaient leur diagnostic confirmé par une biopsie d'une ou de deux lésions sur lesquelles avait été pratiqué un frottis pour évaluer l'Index bactériologique (IB) (nombre de bacille vu par champ) avant la mise sous traitement. Pour pouvoir comparer nos résultats dans le temps nous avons gardé la classification de l'OMS de 1988 dans laquelle les patients ayant un IB négatif sont classés comme paucibacillaires (PB) et ceux ayant un IB positif comme multibacillaires (MB). L'existence d'un handicap de degré 2 (présence d'une déformation visible) au moment du diagnostic avait été notée. Depuis 1992 une polychimiothérapie OMS légèrement modifiée a été introduite. Le traitement des MB est toujours de 24 mois. Depuis 2002, pour évaluer l'efficacité des actions de sensibilisation/formation, nous avons noté systématiquement l'origine du recrutement de chaque nouveau patient.

Résultats : De 1990 à 2008, 775 nouveaux cas de lèpre ont été diagnostiqués à Mayotte soit un taux de détection qui variaient ente 14 et 38/100 000 habitants. Depuis 10 ans le taux de détection n'a jamais été inférieur à 21,8/100 000 habitants et la prévalence a fluctué entre 4,47 et 6,2/10 000 habitants. Durant cette période on note 2 pics : 61 nouveaux cas en 2003, année où une campagne de détection active avait eu lieu et depuis 2006 (pic en 2007 avec 68 cas) période où plusieurs campagnes de détection active, des sensibilisations en milieu scolaire et la création /distribution de support d'information aux soignants (panneau, livre « lèpre et dermatoses courantes en pays tropical ») ont été mises en place. La population atteinte comprenait globalement 58,5% d'hommes et 41,5% de femmes. Soixante pourcent des malades étaient paucibacllaires et 40% multibacillaires dont prés de la moitié avaient un IB à 4 ou 5+. Les enfants de moins de 15 ans représentaient 21% des effectifs, stable sur toute la période. Sur les 775 cas, 378 (48,7%) étaient autochtones et 382 (49,3%) non autochtones. La répartition de la maladie sur l'île était inhomogène et stable dans le temps. Cinq communes sur 19 totalisaient 80% des cas non autochtones et 60% des cas autochtones. Par ailleurs, environ 1/3 des cas autochtones étaient des cas familiaux. Enfin, le nombre de patients ayant une invalidité de grade 2 au moment du diagnostic entre 1990-1998 et 1999-2005 a tendance à diminuer (12,6% versus 7,8%). Plus de 90% des patients ont terminé leur traitement. La majorité de ceux qui ne l'ont pas terminé pas sont des patients en situation irrégulière expulsés.

L'étude de l'origine du recrutement des patients nous montre qu'à chaque fois qu'une action de dépistage/ sensibilisation a été faite cela a entraîné le dépistage de nouveaux cas. En 2003 l'organisation d'une campagne de dépistage au sein des familles autochtones nous avait permis de dépister 15 nouveaux cas. En 2006 et 2007 l'organisation d'une campagne de dépistage auprès de la population non autochtone nous avait permis de dépister 18 nouveaux cas. Des campagnes de sensibilisation en milieu scolaire via un diaporama en 2006 et 2008 avaient permis de l'auto dépistage de 6 cas. Entre 2005 et 2008, des campagnes d'affichages modestes, 2 émissions radiophoniques avaient favorisé l'auto dépistage de 10 cas. Depuis 2004, une sensibilisation annuelle des infirmiers scolaires par un diaporama de 1 heure a permis le dépistage de 7 cas par ceux-ci. Enfin depuis 2007, en plus des formations médicales, la création/distribution gratuite à tous les acteurs de santé d'un livre sur le dépistage/ prise en charge de la lèpre et des dermatoses courantes en pays tropical a très probablement favorisé l'augmentation du nombre de cas référés par les soignants.

Discussion : Tout d'abord il est à noter que la comparaison des statistiques de Mayotte avec les autres pays est extrêmement hasardeuse. En effet la plupart des pays, à l'inverse de Mayotte qui n'a rien changé depuis 1992, ont appliqué les modifications successives préconisées par l'OMS. Celles-ci ont artificiellement fait chuter la prévalence, indice statistique qui avait été pris comme étalon. Mais si l'on compare (cf. tableau 1) sur des longues périodes le nombre total de nouveaux cas/ an ou les taux de détection (nombre de nouveaux cas / 100 000 habitants), indices épidémiologiques « plus fiables », des différents pays de la région on remarque que le nombre de nouveaux cas détectés/an a augmenté dans tous les pays et fluctue de manière importante d'une année sur l'autre en fonction des campagnes de dépistage.

Tableau 1 : Comparaison du nombre total de nouveaux cas/an et des taux de détection des différents pays de la région en 1993, 2006, 2007. (1, 2)

Nombre de nouveaux cas détectés (taux détection/100 000 H)	En 1993	En 2006	En 2007
A Mayotte	22	54 (30/100 000)	68 (36/100 000)
A Anjouan	73	125	108 (38/100 000)*
A Madagascar	740	1536 (8/100 000)	1644
En Tanzanie	2731	3450	3105
Au Mozambique	1930	3637 (17/100 000)	2510

*et 335 (66/100 000) en 2008

Néanmoins nos taux de détection restent dans les plus élevé de la région. De plus beaucoup d'indicateurs nous font suspecter un « réservoir » caché de cas important. En effet,

· tous les indices épidémiologiques sont en faveur d'une transmission élevée du bacille de Hansen sur l'île. Les patients moins de 15 ans représentent 21% de l'effectif total, 40% des patients sont des multibacillaires et surtout la moitié de ceux-ci ont un IB à 4 ou 5 + au moment du diagnostic. Un tiers des cas autochtones sont des cas familiaux. Enfin, malgré une diminution depuis 1990, environ 8% des patients présentent toujours un handicap de degré 2 au moment du diagnostic.

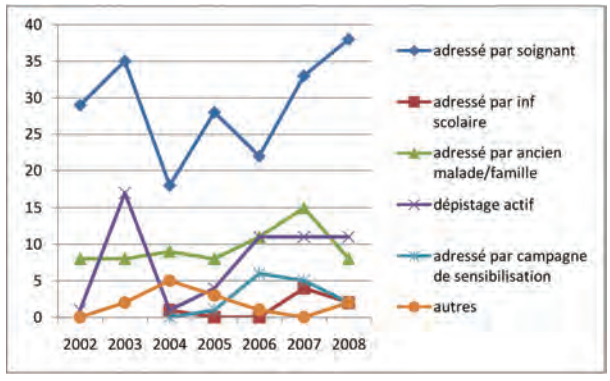
· toutes les actions de dépistage actifs ou de sensibilisation de la population générale ou scolaire ont toujours eu comme conséquence la découverte d'un nombre non négligeable de nouveaux cas.

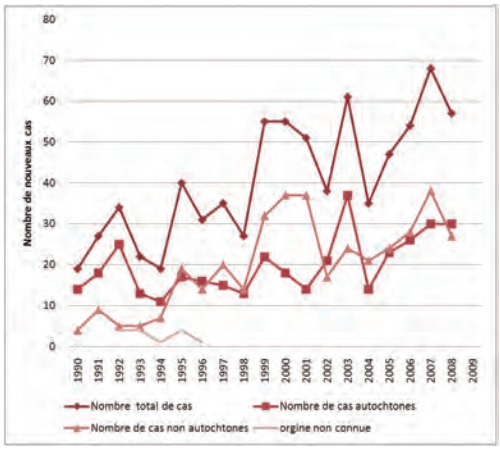
· la sensibilisation brève mais répétée d'acteurs de santé (ex les infirmiers scolaires, formation des médecins, distribution d'un livre sur la lèpre et les dermatoses courantes….) a permis l'augmentation du nombre de cas référés.

· enfin, il existe de tous temps un brassage important de population avec l'île d'Anjouan, zone la plus hyper endémique de la région.

Une comparaison avec l'expérience de l'île d'Anjouan est intéressante. En effet bien qu'à l'inverse de Mayotte, la grande majorité de la population vivent dans des conditions très précaires qui font le lit de la maladie de Hansen, il existe depuis plus de 30 ans un service de lutte anti lépreuse pérenne beaucoup plus important qu'à Mayotte. La réalisation de 2 campagnes d'élimination de la lèpre à Anjouan en 2002 et 2008 a permis non seulement de tripler le nombre de nouveaux cas diagnostiqués en une année (de 100 à 300) mais a aussi entraîné après 2002 une augmentation annuelle du nombre de nouveaux cas (de 100 à 120 /an)(1).

Conclusion : Tous ces indices nous confirment dans les conclusions que nous avions déjà formulées en 1999, 2003 et 2006 (3, 4, 5) dans nos précédents articles. Sans un renforcement notable de la lutte anti lépreuse à Mayotte, il est illusoire d'espérer voir cette endémie décroître rapidement. Les actions à privilégier sont surtout des actions de sensibilisation du grand public/ personnel de santé et un dépistage actif ciblée. L'organisation de réelle campagne d'élimination de la lèpre comme cela a été organisée à Anjouan ou à Madagascar est aussi une voie à explorer. Le rattachement en 2008 du service de lutte anti lépreuse au centre hospitalier de Mayotte avec potentiellement des moyens alloués plus important nous laisse entrevoir beaucoup d'espoir. La création d'un passeport sanitaire empêchant l'expulsion des malades en cours de traitement est aussi un point fondamental car dans notre expérience, malgré nos conseils, les patients expulsés arrêtent leur traitement même si dans leur pays d'origine celui-ci est accessible et gratuit. Enfin le développement de la coopération régionale et plus particulièrement avec l'île d'Anjouan nous semble fondamentale car il sera impossible d'éliminer la lèpre à Mayotte si celle-ci ne l'est pas dans les îles voisines.





Références

1-Grillone S. Données non publiées du service de lutte anti lépreuse d'Anjouan.

2-La lèpre dans le monde au début 2008-info OMS. Bull. de l'ALLF 2009,14 :3.

3- De Carsalade G.Y., Achirafi A., Flageul B. La lèpre dans la collectivité territoriale de Mayotte : étude rétrospective de 1990 à 1998. B. E.H. 1999,44 :186-187.

4-De Carsalade G.Y., Achirafi A., Saget J. La lèpre à Mayotte : situation en 2003 et perspectives de la lutte anti lépreuse. Bull. de l'ALLF 2004,14 :13-15.

5- De Carsalade G.Y., Achirafi A., Flageul B. La lèpre dans la collectivité départementale de Mayotte en 2005. B. E.H. 2006,45 :350-352.

194/49SEP — 4 décembre 2009 - 11:40 - 341

Biologie d'aujourd'hui et de demain dans les laboratoires de France

E. Cambau
Bactériologie, Centre National de référence des mycobactéries et de la résistance aux antibiotiques, Hôpital Saint Louis, Paris, France

Mycobacterium leprae est la première bactérie à avoir été identifiée comme responsable d'une maladie, la lèpre (1873, Hansen). Cette bactérie était mal connue jusqu'à l'avènement de la biologie moléculaire car elle ne cultive pas in vitro du fait de sa lenteur de croissance (temps de doublement de l'ordre de 2 semaines). Par conséquent, les données de biologie cellulaire sur *M. leprae* sont récentes et le diagnostic bactériologique a été longtemps limité à l'observation en microscopique optique de bacilles acido-alcoolo-résistants (baar).

Le diagnostic de lèpre reposant avant tout sur des critères cliniques et épidémiologiques (présence en zone d'endémie de lésions cutanées évocatrices avec atteinte nerveuse), la microbiologie n'intervient classiquement que pour confirmer ou plutôt caractériser un cas de lèpre. Les prélèvements faits en milieu endémique sont plus le souvent des frottis dermiques de lobe d'oreille ou de lésions cutanées, parfois l'examen du mucus nasal, alors que dans les pays plus médicalisés des biopsies cutanées sont plus souvent réalisées à partir des lésions.

Dans les cas de lèpre multi-bacillaire (MB), la coloration classique de Ziehl-Neelsen montre des baar, disposés typiquement en globi. La quantité de bacilles est évaluée par l'index bactériologique (BI) qui varie de 1+ (1 baar/100 champs) à 6+ (1000 baar par champ). La quantité totale corporelle de bacilles lépreux peut ainsi atteindre 10^{12} bacilles. Dans les cas de lèpre pauci-bacillaire (PB), l'examen microscopique est souvent négatif mais peut être faiblement positif, la quantité totale corporelle étant de l'ordre de 10^{6}.

La découverte de l'activité antibiotique d'un dérivé des sulfamides, la dapsone, a permis au début des années 1950 pour la première fois de guérir la lèpre. Mais sa large prescription a conduit aux premiers échecs dus à l'émergence de la résistance à la dapsone (1960). Du fait de la monothérapie, la résistance à la dapsone a augmenté jusqu'à plus de 20% de résistance primaire. En 1982, l'OMS a recommandé l'utilisation d'une polychimiothérapie qui associe la dapsone à la rifampicine et la clofazimine, ce qui doit empêcher statistiquement l'émergence de la résistance aux antilépreux. Néanmoins des cas de lèpre multirésistante (lèpre due à des bacilles résistants à la dapsone et la rifampicine) sont décrits dès 1985, en particulier dans les DOM-TOM. Ensuite, un premier cas de lèpre ultra-résistante (résistance à la dapsone, à la rifampicine et à l'ofloxacine) est décrit en 1997 (cas survenu en 1992). D'autres cas ont été depuis décrits en Asie et en Chine, étant donné que la prescription d'ofloxacine devient plus courante dans les cas d'intolérance aux autres antilépreux et que la prescription de fluoroquinolones est répandue pour d'autres infections. L'émergence des formes de lèpre multi-résistantes peut mettre en péril le programme d'éradication de la maladie.

Un des problèmes inhérent à *Mycobacterium leprae* est de ne pas pouvoir faire de tests de sensibilité in vitro du fait de l'absence de culture. La méthode mise au point par Shepard en 1960 est de « cultiver » la bactérie dans la patte de souris en comparant la multiplication chez les souris traitées par antibiotiques pendant 7 à 12 mois à des groupes témoins non traités. C'est la seule façon de mesurer la sensibilité ou la résistance aux antibiotiques. Cette méthode étant peu utilisée dans le monde du fait de sa difficulté et de sa logistique, on ne possède pas de données concernant la fréquence de la résistance aux antibiotiques dans la lèpre. Grâce au développement, ces dernières années, de tests basés sur la génétique, on peut enfin espérer mesurer la prévalence de la résistance du bacille lépreux.

Dès les premières études génétiques de *M. leprae*, des mutations du gène *rpoB* ont été associées à la résistance à la rifampicine, puis celles du gène *gyrA* avec la résistance à l'ofloxacine, puis celles du gène *folP1* avec la résistance à la dapsone. Plusieurs techniques ont été utilisées pour cette étude génétique prédictive de résistance. Elles sont toutes basées sur l'amplification des régions impliquées dans la résistance suivies d'une détection des mutations par différents moyens : SSCP, RFLP, hybridation à des sondes oligonucléotidiques fixées sur des membranes ou des puces, etc.... Ces techniques sont pour l'instant utilisées dans les laboratoires experts mais peu dans les régions endémiques. C'est pourquoi nous avons développé avec les laboratoires Hain (Nehren, Germany) un test d'hybridation sur bandelette de nitrocellulose appelé GenoType® LepraeDR. Ce test, basé sur la technologie utilisée pour les tests moléculaires de détection de la résistance dans la tuberculose, détecte les mutations les plus fréquentes des gènes *rpoB*, *folP* et *gyrA* pour prédire, respectivement, la résistance à la rifampicine, la dapsone et à l'ofloxacine.

La trousse GenoType® LepraeDR (Hain Lifescience) sera prochainement commercialisée. Ceci pourra permettre à un laboratoire non expert de détecter la résistance du bacille lépreux directement à partir d'un prélèvement cutané (frottis ou biopsie). Ceci est utile au niveau individuel en cas de rechute de lèpre afin de dépister les cas multirésistants qui ne pourront pas guérir avec la polychimiothérapie standard. Ceci nous permettra aussi au niveau collectif de mesurer la prévalence de la résistance primaire et secondaire.

Références

Britton, W. J. and D. N. Lockwood (2004). "Leprosy." Lancet 363(9416): 1209-19.

Cambau, E., P. Bonnafous, et al. (2002). "Molecular detection of rifampin and ofloxacin resistance for patients who experience relapse of multibacillary leprosy." Clin Infect Dis 34(1): 39-45.

Cambau, E., E. Perani, I. Guillemin, P. Jamet, and B. Ji. 1997. Multidrug-resistance to dapsone, rifampicin, and ofloxacin in Mycobacterium leprae. Lancet 349:103-4. .

Cambau, E., L. Carthagena, A. Chauffour, B. Ji, and V. Jarlier. 2006. Dihydropteroate synthase mutations in the folP1 gene predict dapsone resistance in relapsed cases of leprosy. Clin Infect Dis 42:238-41.

Cole, S. T., K. Eiglmeier, et al. (2001). "Massive gene decay in the leprosy bacillus." Nature 409(6823): 1007-11.

Honore, N., and S. T. Cole. 1993. Molecular basis of rifampin resistance in Mycobacterium leprae. Antimicrob Agents Chemother 37:414-8

Ji, B., A. Chauffour, et al. (2006). "Bactericidal activities of R207910 and other newer antimicrobial agents against Mycobacterium leprae in mice." Antimicrob Agents Chemother 50(4): 1558-60.

Matrat, S., S. Petrella, et al. (2007). "Expression and purification of an active form of the *Mycobacterium leprae* DNA gyrase and its inhibition by quinolones." Antimicrob Agents Chemother.52: .745-7

Pardillo, F. E., J. Burgos, et al. (2008). "Powerful bactericidal activity of moxifloxacin in human leprosy." Antimicrob Agents Chemother 52(9): 3113-7.

Scollard (2006). "The Continuing Challenges of Leprosy." Clinical Microbiology Reviews Apr.2006: 338-381.

WHO (2006). Global leprosy situation, 2006, Weekly epidemiological record: 309-316.

Williams, D. L., L. Spring, E. Harris, P. Roche, and T. P. Gillis. 2000. Dihydropteroate synthase of Mycobacterium leprae and dapsone resistance. Antimicrob Agents Chemother 44:1530-7.

203/51s — 4 décembre 2009 - 11:20 - 342B

Antirétroviraux : faut-il privilégier ceux qui franchissent bien la barrière hémato-méningée ?

L. Piroth
Université de Bourgogne, CHU de Dijon, Dijon, France

Le système nerveux central est une cible privilégiée au cours de l'infection par le VIH, avec comme conséquence clinique des atteintes pouvant sembler initialement bénignes (troubles neurocognitifs asymptomatiques ou légers), mais qui peuvent évoluer vers une atteinte sévère comme la démence liée au SIDA. Il a cependant été montré que la mise sous antirétroviraux hautement actifs avait un impact positif sur les troubles neurocognitifs associés au VIH [1-3], avec une réduction de la prévalence des formes sévères d'un facteur 3 à 10. Cette réduction résulte de l'impact positif de ces traitements antirétroviraux hautement actifs sur certains facteurs de risque de troubles neurocognitifs, comme une réplication VIH non contrôlée ou un taux de CD4 bas. D'un autre côté, l'existence d'autres facteurs de risque comme une réponse immunitaire incomplète sous traitement antirétroviral, un syndrome de restauration immune, la co-infection par le virus de l'hépatite C, et surtout l'âge des patients qui augmente, expliquent que la prévalence de ces troubles reste particulièrement élevée chez les patients infectés par le VIH dans plusieurs études de cohorte européennes ou nord américaines récentes.

En l'absence de traitement étiologique « autre », l'optimisation du traitement antirétroviral semble en l'état actuel des connaissances l'option thérapeutique principale pour impacter positivement sur l'évolution de ces troubles. Si l'objectif d'indétectabilité VIH sous traitement reste prioritaire, les critères devant être pris en compte pour cette optimisation doivent être mieux connus. Comme il a été montré que l'utilisation d'antirétroviraux à très bonne diffusion dans le LCR était associée à un meilleur contrôle de la charge virale VIH dans le LCR[4], et que cette dernière était positivement corrélée avec l'existence et l'intensité des troubles neurocognitifs[4], il a été avancé que l'utilisation

préférentielle de ces antirétroviraux à bonne diffusion méningée pourrait être associée à une amélioration sur le plan neurocognitif. A l'appui de ce postulat, plusieurs cas rapportés et quelques études ont pu montrer un tel bénéfice [5, 6], qui n'a à l'inverse pas été retrouvé dans d'autres études récentes [3, 7]. Les limites inhérentes à l'ensemble de ces études (rétrospectives, avec des critères de jugement différents et une difficulté de prise en compte de facteurs de confusion comme la maîtrise de la langue, l'état thymique, des intoxications, …) peuvent expliquer pour partie ces discordances.

Pour l'heure, et en attente des résultats d'essais thérapeutiques, la décision de privilégier ou non des antirétroviraux qui franchissent bien la barrière hémato-méningée ne saurait être globale et doit rester étroitement patient-dépendante. Elle doit prendre en compte non seulement la pré-existence ou non de troubles neurocognitifs, mais aussi les déterminants essentiels du choix d'un traitement antirétroviral. Il peut cependant actuellement être avancé, compte tenu du rationnel et en l'absence d'alternatives thérapeutiques « spécifiques », qu'un choix préférentiel d'antirétroviraux franchissant bien la barrière hémato-méningée peut être légitime chez des patients présentant des troubles neurocognitifs avérés, dès lors qu'ils permettent d'atteindre l'objectif d'indétectabilité VIH et que les co-facteurs soient également pris en charge. Cette attitude ne saurait cependant être validée que par des essais thérapeutiques.

Références

1. Cohen RA, Boland R, Paul R et al. Neurocognitive performance enhanced by highly active antiretroviral therapy in HIV-infected women. *Aids* 2001; **15:** 341-5.

2. d'Arminio Monforte A, Cinque P, Mocroft A et al. Changing incidence of central nervous system diseases in the EuroSIDA cohort. *Ann Neurol* 2004; **55:** 320-8.

3. Bhaskaran K, Mussini C, Antinori A et al. Changes in the incidence and predictors of human immunodeficiency virus-associated dementia in the era of highly active antiretroviral therapy. *Ann Neurol* 2008; **63:** 213-21.

4. Letendre S, Marquie-Beck J, Capparelli E et al. Validation of the CNS Penetration-Effectiveness rank for quantifying antiretroviral penetration into the central nervous system. *Arch Neurol* 2008; **65:** 65-70.

5. Patel K, Ming X, Williams PL et al. Impact of HAART and CNS-penetrating antiretroviral regimens on HIV encephalopathy among perinatally infected children and adolescents. *Aids* 2009; **23:** 1893-901.

6. Cysique LA, Vaida F, Letendre S et al. Dynamics of cognitive change in impaired HIV-positive patients initiating antiretroviral therapy. *Neurology* 2009; **73:** 342-8.

7. Marra CM, Zhao Y, Clifford DB et al. Impact of combination antiretroviral therapy on cerebrospinal fluid HIV RNA and neurocognitive performance. *Aids* 2009; **23:** 1359-66.

205/51s — 4 décembre 2009 - 12:00 - 342B

Pathogénicité de l'HHV6 ? Quand et comment traiter ?

H. Agut

ER1 DETIV UPMC, Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Depuis sa découverte en 1986, l'herpèsvirus humain 6 (HHV-6) reste un virus à la fois reconnu et méconnu. Il appartient à la famille des *Herpesviridae* et à la sous-famille des *Betaherpesvirinae* dans laquelle sont aussi classés le cytomégalovirus (CMV) et l'herpèsvirus humain 7 (HHV-7). Deux variants A et B du HHV-6 ont été caractérisés. L'infection à HHV-6 est ubiquiste et très fréquente, touchant plus de 90% de la population adulte. Le tropisme cellulaire du virus *in vivo* est étendu : lymphocytes T CD4+ et CD8+, monocytes-macrophages, cellules hématopoïétiques, cellules épithéliales (rein, glandes salivaires), cellules endothéliales, cellules microgliales, oligodendrocytes, astrocytes. La physiologie de l'infection est caractéristique des herpèsvirus avec une primo-infection suivie d'une persistance à vie sous une forme latente et la possibilité de réactivations. L'expression clinique caractéristique de la primo-infection est l'exanthème subit, ou sixième maladie, qui est observé dans la première enfance, entre 6 mois et 3 ans. Des formes cliniques plus graves de primo-infection ont été décrites mais avec une moindre fréquence : encéphalite ou méningo-encéphalite, épilepsie persistante, hépatite, gastro-entérite ou colite, syndrome mononucléosique, syndrome d'activation macrophagique, insuffisance médullaire. Les réactivations et les réinfections résultantes sont surtout préoccupantes chez les sujets immunodéprimés, en particulier les greffés et les sidéens, conduisant en effet à des atteintes systémiques ou viscérales qui peuvent mettre en jeu le pronostic vital : encéphalite, fièvre avec rash et cytopénie, retard de la prise de greffe de cellules souches hématopoïétiques, hépatite aiguë, gastro-entérite et colite, pneumopathie. Ces atteintes sévères concernent aussi bien des adultes que des enfants et semblent toutes liées, en première approche, à une infection active à HHV-6. La pathogénicité associée à l'infection chronique, latente ou éventuellement à bas niveau de réplication, est plus incertaine.

Si la majorité des infections (qu'il s'agisse de primo-infections, de réactivations ou de réinfections exogènes) sont asymptomatiques ou d'évolution bénigne, l'existence des formes graves soulève la question de leur diagnostic et de leur traitement. La réponse à cette question nécessite de considérer trois aspects complémentaires des infections à HHV-6 :

1) Le diagnostic d'une infection aiguë (ou active) à HHV-6 : Longtemps en échec du fait du manque de sensibilité ou des difficultés d'interprétation des techniques virologiques conventionnelles (culture du virus, détection antigénique, sérologie), ce diagnostic a connu une véritable révolution avec l'avènement de la PCR quantitative. Cette méthode permet d'une part de mesurer la charge virale HHV-6 dans le sang périphérique et ainsi distinguer une infection active d'une infection latente, à condition toutefois d'avoir défini des seuils d'interprétation. D'autre part, elle détecte, avec une grande sensibilité, la présence du virus dans certains compartiments de l'organisme ou certains organes dans lesquels on suspecte sa multiplication : ainsi, la présence de l'ADN du HHV-6 dans le liquide céphalorachidien (LCR) est très évocatrice d'une infection active du système nerveux central (SNC). Cependant, l'intégration chromosomique du génome du HHV-6, qui est un évènement rare concernant moins de 1% des sujets infectés, peut perturber grandement l'interprétation des résultats de PCR : les valeurs très élevées de charge d'ADN HHV-6 dans le sang ou le LCR n'indiquent alors pas que le virus soit en phase de réplication active, ni *a fortiori* qu'il soit possiblement impliqué dans l'apparition des signes cliniques. D'autres marqueurs (transcrits ou antigènes viraux ?) seraient *a priori* nécessaires dans ce contexte.

2) La responsabilité du HHV-6 dans le syndrome clinique observé : L'ubiquité du HHV-6 incite à une très grande prudence, d'autant plus si un autre agent pathogène confirmé tel que le CMV est aussi détecté. L'existence d'une infection active matérialisée par une virémie croissante, contemporaine de l'apparition ou de l'aggravation des signes cliniques, est un argument de poids. L'est également la notion d'une multiplication active du virus dans le compartiment ou l'organe cible dont l'atteinte conduit à une traduction clinique : pour un organe très irrigué, la comparaison de la charge virale sanguine et de la charge dans les tissus lésés peut être très informative ; comme indiqué, la détection du virus dans le LCR est très en faveur de sa participation à un processus pathologique touchant le SNC. D'une façon générale, le couplage des tests virologiques avec les examens anatomopathologiques, insuffisamment développé actuellement, serait très utile.

3) La possibilité de donner un traitement efficace : *In vitro*, le HHV-6 est sensible à l'action inhibitrice de molécules actives contre le CMV : ganciclovir, foscarnet, cidofovir, adéfovir. Il est naturellement résistant à l'acyclovir, à la brivudine, au ténofovir. Des mutants résistants aux molécules reconnues comme efficaces ont été isolés et les mutations responsables identifiées dans les gènes des enzymes virales cibles, une protéine kinase codée par le gène U69 et l'ADN polymérase codée par le gène U38, démontrant la spécificité de l'action antivirale. *In vivo,* l'efficacité thérapeutique du ganciclovir, du foscarnet et du cidofovir seuls ou en association est probable dans les infections actives à HHV-6 d'après des observations isolées d'une amélioration clinique associée à une inhibition de la multiplication virale mais des études randomisées de cette efficacité thérapeutique font encore défaut. Pour les infections touchant le SNC, le ganciclovir et le foscarnet sont préférés au cidofovir qui, classiquement, franchit moins bien la barrière hémato-encéphalique. Cependant, les indications, les modalités et la durée d'un traitement anti-HHV-6 chez l'homme ne sont pas clairement codifiées.

En conclusion, il existe encore de très grandes incertitudes sur la pathogénicité et le traitement des infections à HHV-6. En première approche, on peut retenir comme indication de ce traitement, une infection active démontrée à HHV-6 associée à une symptomatologie aiguë sévère et sans autre cause infectieuse identifiable dans un délai court. L'efficacité de ce traitement, qui est à administrer par voie parentérale, doit être validée par un suivi de la charge virale. Les perspectives de définition d'un traitement préventif ou anticipé, essentiellement dans le contexte d'une immunodépression, paraissent plus lointaines.

211/53s — 4 décembre 2009 - 11:00 - 351

Impact des BLSE sur la PK/PD des céphalosporines : que pourrait apporter la mesure des CMI ?

F. Jehl

Laboratoire de bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

Les mécanismes de résistances des bactéries aux céphalosporines sont nombreux. Même si l'on se limite aux mécanismes enzymatiques (bêta-lactamases), la diversité des enzymes produites est impressionnante : pénicillinases chromosomiques ou plasmidiques, produites à des niveaux très variables, céphalosporinases inductibles ou constitutives, à bas niveau ou bénéficiant d'une production déréprimée à haut niveau, bêta-lactamases à spectres étendus, ou encore carba-pénèmases de divers types. Parmi toutes ces enzymes, les BLSE figurent parmi celles considérées comme les plus redoutables en termes de spectre d'hydrolyse et des impasses thérapeutiques qu'elles génèrent. Si les BLSE plasmidiques dérivées des TEM 1 et 2, et des SHV-1, entre autres, sont connues depuis de nombreuses années et retrouvées chez pratiquement toutes les entérobactéries, d'autres enzymes plasmidiques (CTX-M), d'origine communautaire, (mobilisation à partir du chromosome de diverses espèces du genre *Kluivera*) sont d'apparition plus récentes et sont extrêmement répandues dans le monde. En France, leur prévalence est croissante, notamment chez E. coli (mais aussi, *Klebsiella spp*, *Proteus spp*, *Morganella spp*, *Citrobacter spp*, …). Enfin, il existe d'autres BLSE, n'appartenant à aucun des deux groupes précédents, plus rares, (types BES, GES, VEB, PER,…), rencontrées chez *P. aeruginosa*, *Acinetobacter baumanii*, plus rarement les entérobactéries. Leur distribution est plus restreinte, préférentielle (France : PER-1, GES-1). Leur potentialité0 évolutive est illustrée par GES-2 , mutante de GES-1 et douée d'une activité de carbapénèmase.

Les potentialités hydrolytiques de céphalosporines de toutes ces enzymes ne sont pas identiques. Si les céphalosporinases du type *ampC*, déréprimées à haut niveau sont fortement actives et, de ce fait, aisées à mettre en évidence *in vitro*, certaines BLSEs ont parfois la particularité de s'exprimer plus faiblement et sont souvent plus difficiles à mettre en évidence. Le niveau des Concentrations Minimales Inhibitrices CMI n'augmente pas systématiquement de façon spectaculaire, et il n'est pas rare que les CMIs restent en deçà de la concentration critique inférieure (c), faisant classer, *stricto sensu*, la bactérie en « sensible ». Selon le mode d'interprétation utilisé par les biologistes, une telle souche, avec une CMI < c, mais hébergeant une BLSE, peut être

interprétée S, I (recommandations actuelles du CA-SFM en 2009), voire R.

Le paramètres pharmacodynamique prédictif de l'activité des céphalosporines dans les infections modérés est le temps pendant lequel les concentrations sériques sont supérieures à

1 CMI de l'antibiotique vis-à-vis du germe visé : T>1CMI (Craig). Selon la molécule considérée, le pré-requis à atteindre est compris entre 40 et 70 % de l'intervalle entre deux administrations (Craig). Dans les infections sévères, le pré-requis pour ce paramètre est plus contraignant et devient T> 8 CMI = 100%. Ceci revient à viser en résiduelle une concentration sérique égale à 8 CMI ; ainsi le quotient inhibiteur sérique résiduel doit approcher une valeur de l'ordre de 8.

Dans la très grande majorité des cas, la sensibilité des bactéries aux antibiotiques est rapportée sous la forme d'un antibiogramme S, I, ou R, sans mesure de CMI. L'interprétation de la pertinence des concentrations sériques obtenues, en regard des pré-requis, ne peut donc se faire qu'*a minima* en se basant sur le fait que la CMI maximale que peut prendre une bactérie « S » est la concentration critique inférieure (c), et que toutes les concentrations entre c et C (incluse) sont possibles pour une bactérie « I ».Un antibiotique rendu R ne doit pas être utilisé. Il résulte de cela que les concentrations critiques revêtent une grande importance en matière d'interprétation des dosages. Les concentrations critiques des C3G (décembre 2009) figurent dans le tableau ci-dessous :

	Entérobactéries		***P. aeruginosa***		***Acinetobacter sp***	
	c	**C**	**c**	**C**	**c**	**C**
Aztréonam (ATM)	1	8	1	16	-	-
Céfotaxime (CTX)	1	2	-	-	-	-
Ceftriaxone (CRO)	1	2	-	-	-	-
Ceftazidime (CAZ)	1	8	8	8	4	8
Céfépime (FEP)	1	8	8	8	4	8
Cefpirome (CPO)	1	8	8	8	4	8

Illustration de la problématique posée, (contexte d'infection sévère) : Soit une entérobactérie synergie +, CMI non mesurée, apparaissant « sensible » à l'antibiogramme, mais interprétée « I » par le biologiste : sa CMI prend *de facto* des valeurs potentielles comprises entre c (exclue) et C (incluse), à savoir 2, 4, ou 8 pour ATM, CAZ, FEP et CPO, 2 pour CTX ou CRO. La CMI n'étant pas mesurée, les objectifs PK/PD doivent être basés sur la valeur intermédiaire la plus élevée par principe de précaution : ainsi les résiduelles cibles deviennent 16 mg/l (2 X 8) pour CTX et CRO, et 64 mg/l (8 X 8) pour ATM, CAZ, FEP, et CPO. A l'exception de CRO, aucune de ces molécules, aux posologies usuelles et administrées en IV discontinue, n'est dotée d'une pharmacocinétique compatible avec ces objectifs. Seule la perfusion continue le permet, du moins partiellement. Pour une entérobactérie synergie +, apparaissant « intermédiaire » à l'antibiogramme, l'interprétation en « R » par le biologiste exclut d'emblée ces molécules, alors que l'une ou l'autre des molécules pourrait être utile en raison d'une possible CMI « intermédiaire » mais « atteignable » par la perfusion continue. Ainsi, l'interprétation phénotypique d'une BLSE (S en I, ou I en R) de façon uniforme pour toutes ces molécules, basée sur le seul antibiogramme, conduit à l'inconvénient majeur de mettre toutes ces molécules dans le « même panier », alors qu'il existe des différences de sensibilité en valeurs absolues, c'est-à-dire mesurées par des CMI. Certaines CTX-M ne sont pas aussi actives sur CAZ que sur CTX, avec des différences de CMI (mesurées) significatives, c'est-à-dire laissant certaines molécules en S et faisant basculer d'autres en I. Céfépime et CPO, bien qu'hydrolysées partiellement par les TEM ou SHV, peuvent garder des CMIs plus basses que les C3G classiques. Ce raisonnement peut s'appliquer pareillement aux céphalosporinases de type *ampC* plus ou moins déréprimées, dont l'impact sur CPO et FEP, comparé aux autres, est moindre.

Rendu de sensibilité		***Cible PK/PD***			***Concentrations résiduelles***		***Plateau***
CMI mesurée	**Antibio-gramme**	**8 CMI**	**8c, si (S)**	**8C, si (I)**	**2x1g, 3x1g**	**2x2g, 3x2g**	**Perfusion continue**
0.01		0.08			0.2-2	0.5-5	Inutile
0.05		0.4					Inutile
0.1		0.8					Inutile
0.5		4					Inutile
	BLSE (S)		8				Oui
	BLSE (I)			16-64			Oui/non
1		8					Oui
	BLSE (S)		8				Oui
	BLSE (I)			16-64			Oui/non
2		16					Oui
	BLSE (S)		8				Oui
	BLSE (I)			16-64			Oui/non
4		32					Oui
	BLSE (I)			16-64			Oui/non
8		64					Non
	BLSE (I)			16-64			

Dans ce contexte, la mesure des CMIs, quelque soit la méthode utilisée (micro ou macro-dilution, E-Test, droite de concordance) a l'avantage de procurer une valeur précise de sensibilité a un antibiotique donné. De celle-ci découle un objectif précis pour les concentrations sériques cibles de l'antibiotique, donc une base de réflexion pour le choix objectif d'une posologie et d'une voie d'administration, les deux ne pouvant pas être toujours être dissociées. Le tableau ci-dessous donne les différences, parfois considérables, de cible PK/PD à obtenir, pour une même bactérie, selon que l'on possède la CMI mesurée ou uniquement une interprétation phénotypique (parmi plusieurs possibles).

BLSE (S) : synergie+, sensible à l'antibiogramme, pas de CMI BLSE (I) : synergie +, intermédiaire à l'antibiogramme, pas de CMI

Les concentrations obtenues par voie IV discontinues pour les C3G, C4G, ATM ne sont compatibles qu'avec des CMI maximum de 0.5 mg/l, à la condition d'utiliser les posologies élevées (2x2g, ou 3x2g selon la molécule). Au-delà, le recours à la perfusion continue s'impose, à la condition de connaitre la stabilité longue durée de la molécule. En effet, la perfusion continue permet d'atteindre des plateaux de 40-50 mg/l en adéquation avec les pré-requis PK/PD. Il est important de noter que des plateaux supérieurs à 50 mg/l sont difficiles à atteindre, et que par conséquent, une CMI de 8mg/L pour une céphalosporine (impliquant un plateau à 64 mg/l) n'entre pas dans le cadre de ses « capacités ». Il n'est donc pas souhaitable, sur un plan purement PK/PD, de conserver cette valeur comme concentration critique supérieure pour la ceftazidime, le céfépime, le cefpirome et l'aztréonam. Une de 4 mg/L pour C semble plus adaptée.

Conclusion : la mesure des CMI dans les infections sévères est un élément important de la prise en charge de l'infection. Elle ne doit pas pour autant se substituer à la recherche des BLSE qui reste indispensable à la gestion des infections nosocomiales.

Références

[1] Courvalin P., Leclercq R., Bingen E. Antibiogramme, Eska Eds, 2è ed., 2006

[2] Philippon A., Arlet G. b-lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! Ann Biol Clin. 2006 ; 64 (1) : 37-51

[3] Bonnet R., Growing group of extended-spectrum b-lactamases: the CTX-M enzymes. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2004, 1-14

[4] Pitout J.D., Laupland K.B. Extended-spectrum b-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. Lancet Infect Dis. 2008; 8: 159-66

[5] Jehl F., Chomarat M., Weber M., Gerard A. De l'antibiogramme à la prescription. Biomérieux Eds, 2è ed., 2004.

[6] Philippon A., Arlet G. Les b-lactamases chez les bacilles à Gram négatif : que de nouveautés en 15 ans ! Antibiotiques , Journal des Agents Anti-infectieux, 2005 ; 7

[7] Paterson D.L. Resistance in Gram-negative bacteria: Enterobacteriaceae. Am J Infect Control 2006 ; 34

[8] Paterson D.L., Bonomo R.A. Extended-Spectrum b-lactamases: a clinical update. Clinical Microbiology Reviews. 2005 ; 657-686

[9] Livermore D.M., Canton R., Gniadkowski M. et al., CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 2007; 59: 165-174

[10]. Craig, W.A., Legget, J., Totsuka, K., Vogelman, B., Key pharmacokinetic parameters of antibiotic efficacy in experimental animal infections. J. Drug Dev. 1988, 1, 7-15

[11]. Benko AS, Cappelletty DM., Kruse JA, and Rybak MJ. **Continuous infusion versus intermittent administration of ceftazidime in critically ill patients with suspected gram-negative infections**
Antimicrob. Agents Chemother. 1996; 40: 691-695.

[12]. MacGowan AP, KE Bowker. Continuous infusions of beta-lactam antibiotics. Clinical Pharmacokinetics. 1998; 35: 391-396

[13]. Roberts JA., Paratzab J., Paratza E., Kruegerc WA., Lipmanab J . Continuous infusion of β-lactam antibiotics in severe infections: a review of its role International Journal of Antimicrobial Agents 2007; 30:11-18.

[14]. Mouton JW, Vinks AA, and Punt NC. Pharmacokinetic-pharmacodynamic modeling of activity of ceftazidime during continuous and intermittent infusion. Antimicrob.
Agents Chemother. 1997; 41: 733-738.

[15]. Holenstein U, Brunner M, Mayer BX, Delacher S, Erovc B, Eichler HG and Müller M . Target site concentrations after continuous infusion and bolus injection of cefpirome to healthy volunteers. Clin Pharmacol Ther.2000; 67: 229-236

[16] Lortholary O, Le fort A, Tod M, Chomat AM, Darras-Joly C, Cordonnier C. Pharmacodynamics and pharmacokinetics of antibacterial drugs in the management of febrile neutropenia. Lancet infec Dis. 2008; 8: 612-620.

214/53s — 4 décembre 2009 - 12:00 - 351

Dosages d'anti-infectieux en réanimation, Pour qui, pourquoi comment ?

J.F. Timsit
Réanimation médicale polyvalente, Hôpital A. Michallon-Inserm U 823, Grenoble, France

L'infection sévère est la première cause d'hospitalisation en réanimation. L'antibiothérapie représente la prescription la plus courante chez le patient de réanimation. Si bien, que sur la base de données OutcomeRéa, 70 % des journées d'hospitalisation comportent la prescription d'au moins un antibiotique.

Enfin, par l'intensité des soins prodigués, le nombre de contacts entre les soignants et les malades, la réanimation est le service de l'hôpital qui contribue le plus à l'emergence de patients porteurs de bactéries multi-résistantes à l'hôpital.

Il convient donc pour tout clinicien de traiter tôt les patients qui le nécessitent avec des doses appropriées d'antibiotiques permettant une efficacité optimale au site infecté, en limitant au maximum la toxicité, et en évitant de favoriser

l'émergence de résistance des bactéries aux anti-infectieux.

I. Particularités de la pharmacocinétique des anti-infectieux chez le patient de réanimation

Les changements phamacinétiques observés découlent de facteurs liés aux médicaments et de facteurs liés à la maladie [1, 2].

Facteurs liés aux médicaments :

Pour les antibiotiques hydrophyles (b-lactamine, aminoglycoside, glycopeptide, linézolide, cholistine), le volume de distribution est généralement faible, la clairance est ordinairement rénale et la pénétration intracellulaire est faible. Pour ses antibiotiques, chez le malade de réanimation, en particulier en cas de sepsis, il existe une augmentation considérable du volume de distribution, et l'élimination est entièrement conditionnée par l'existence d'une insuffisance rénale et l'éventualité de techniques d'épuration extra-rénale.

Les antibiotiques lipophiles (fluoroquinolones, macrolides, lincosamines, tigécyclines) sont par contre caractérisés par un volume de distribution plus grand, une bonne pénétration intracellulaire et une élimination à prédominance hépatique. Pour ces molécules, le volume de distribution est généralement inchangé et la clairance d'élimination est dépendante de la fonction hépatique.

Facteurs liés aux patients :

Les variations pharmacocinétiques sont aussi extrêmement dépendantes de la pathologie sous-jacente. En cas de sepsis par exemple, l'augmentation du débit cardiaque et les syndromes de fuite capillaire conduisent à une augmentation de la clairance de l'antibiotique et une augmentation du volume de distribution, et donc à des concentrations plasmatiques basses.

Si au contraire les fonctions d'organes sont conservées, le volume de distribution reste inchangé et les concentrations plasmatiques sont identiques à celles obtenues chez le volontaire sain.

Enfin, en cas de défaillance multiviscérale avec des anomalies rénales et hépatiques, on observe une diminution de la clairance des médicaments qui sont à terme responsables de taux plasmatiques très élevés.

En plus des variabilités des taux plasmatiques rencontrés, la diffusion dans les tissus infectés dépendra de la qualité de la perfusion résiduelle de ces tissus très largement diminuée chez les plus sévèrement choqués.

L'intrication des différents phénomènes explique qu'il soit très difficile de prévoir les taux d'antibiotiques au site infecté en réanimation.

II. Phamacodynamie des antibiotiques, application aux malades de réanimation

Trois paramètres pharmacodynamiques sont utilisés classiquement, le temps où la concentration est supérieure à la CMI, le rapport pic de concentration sur la CMI (Pic/CMI), et l'aire sous la courbe de concentration / la CMI (ASC/CMI).

Pour les antibotiques temps-dépendants (b-lactamines en particulier), l'efficacité optimale est obtenue en maximisant le temps au dessus de la CMI. Pour les infections sévères, on considère que l'antibiotique doit être présent à une concentration quatre fois supérieure à la CMI pendant les 24 heures. On conçoit bien que si la CMI est élevée (problème essentiellement des bactéries multirésistantes), si le volume distribution est large et si la diffusion tissulaire est médiocre, il devient extrêmement difficile d'obtenir ce résultat. Certaines données cliniques confortent l'utilisation de modes d'administration prolongés, optimisant le temps au dessus de la CMI, dans les infections sévères[3-5].

A l'opposé, les antibiotiques concentration dépendants (aminoglycosides, fluoroquinolones, daptomycine) doivent être présents au site infecté à des concentrations au pic très largement supérieures à la valeur de la CMI de l'antibiotique pour le germe.

Les concentrations à obtenir pour prévenir les mutations sont mal connue mais probablement supérieure à celle nécessaire pour optimiser l'efficacité[6].

III. Intérêt et utilisation des dosages

Il peut paraître logique, compte tenu des éléments développés précédemment, d'utiliser des doses élevées d'antibiotiques en début de traitement. Cependant, il n'existe pas d'algorithme permettant de prédire la concentration obtenue chez les patients présentant un choc septique pour les molécules les plus courantes. Les concentrations obtenues sont en effet très variables d'un patient à l'autre.

Pour certains antibiotiques où le dosage est facilement disponible, un dosage initial peut être utilise. En particulier, un dosage d'aminosides au pic à dix fois la CMI du germe suspecté ou prouvé est associé à une meilleure efficacité. Cependant, l'aire sous la courbe ou le taux résiduel sont associés à une plus forte toxicité auditive et rénale. Il convient donc en tout début de traitement d'optimiser l'efficiacité en ayant des pics efficaces, tout en réduisant la toxicité en mesurant le taux résiduel et en ne réinjectant que lorsque le taux résiduel est suffisamment bas.

Pour les glycopeptides aussi aisément dosables, il conviendra d'atteindre très rapidement un taux plasmatique supérieure à quatre fois la CMI au site de l'infection et à s'y maintenir. Par exemple, un taux circulant aux alentours de 25 µg/ml résiduels ou de 35 à 45 µg/ml par voie continue, permettra d'obtenir de tels taux si l'on traite une pneumonie à *SARM* avec une CMI à 1 à la vancomycine.

Les autres antibiotiques comme par exemples les b-lactamines ne sont malheureusement dosables en routine que dans certains centres spécialisés [7] et le résultat n'est que rarement disponible en moins de 24 heures. En cas de choc septique sévère avec des bactéries « à problèmes », il conviendra d'utiliser de fortes doses initiales, éventuellement suivies d'une perfusion continue afin d'assurer une bonne efficacité thérapeutique. Il faudra discuter avec le microbiologiste une mesure précise de la CMI du germe isolé. Dans un deuxième temps, un dosage pourra être effectué afin d'éviter des surdoses potentiellement toxiques.

Références utiles :

1. Roberts JA, Lipman J (2007) Optimizing use of beta-lactam antibiotics in the critically ill. Semin Respir Crit Care Med 28: 579-85.

2. Scaglione F, Paraboni L (2008) Pharmacokinetics/pharmacodynamics of antibacterials in the Intensive Care Unit: setting appropriate dosing regimens. Int J Antimicrob Agents 32: 294-301.

3. Chastre J, Wunderink R, Prokocimer P, Lee M, Kaniga K, Friedland I (2008) Efficacy and safety of intravenous infusion of doripenem versus imipenem in ventilator-associated pneumonia: a multicenter, randomized study. Crit Care Med 36: 1089-96.

4. Lodise TP, Jr., Lomaestro B, Drusano GL (2007) Piperacillin-tazobactam for Pseudomonas aeruginosa infection: clinical implications of an extended-infusion dosing strategy. Clin Infect Dis 44: 357-63.

5. Lorente L, Lorenzo L, Martin MM, Jimenez A, Mora ML (2006) Meropenem by continuous versus intermittent infusion in ventilator-associated pneumonia due to gram-negative bacilli. Ann Pharmacother 40: 219-23.

6. Roberts JA, Kruger P, Paterson DL, Lipman J (2008) Antibiotic resistance--what's dosing got to do with it? Crit Care Med 36: 2433-40.

7. Craig WA, Ebert SC (1992) Continuous infusion of beta-lactam antibiotics. Antimicrob Agents Chemother 36: 2577-83.

217/54s 4 décembre 2009 - 11:40 - 352A

Alternatives à la fibroscopie et au LBA dans le diagnostic des infections respiratoires communautaire « quelles stratégies à l'avenir ? »

A. Rabbat

Service de Pneumologie et Réanimation Médicale, Hôtel-Dieu de Paris, GHU Ouest, AP-HP, Université René Descartes, Paris 5, France

Introduction : Les infections respiratoires communautaires sont très fréquentes et potentiellement graves (1). Les formes sévères de PAC (PACS) nécessitent une hospitalisation voir une admission en réanimation dans 10 à 15% des cas (2). Les données cliniques et radiologiques ne permettent pas de prédire la nature des germes en cause (3). *Streptococcus pneumoniae* est le germe le plus fréquent mais de nombreux autres germes (bactéries pyogènes, atypiques ou virus) sont possibles. Une modification du profil de résistance des germes est aussi observée (4). Ceci concerne *Streptococcus pneumoniae* et les entérobactéries, mais aussi *Staphylococcus aureus* avec l'émergence de souches communautaires résistantes à l'oxacilline. En pratique, compte tenu : de l'importance pronostique d'une antibiothérapie initiale efficace et de l'éventail des germes responsables de PACS, le traitement antibiotique empirique initial doit suivre des recommandations actualisées sur des données épidémiologiques récentes (5-7)

La stratégie diagnostique doit permettre de répondre de façon non invasive, rapide et fiable aux objectifs suivant :

- Améliorer l'évaluation de la sévérité de la maladie afin de contribuer à la décision concernant le lieu de prise en charge (ambulatoire, hospitalisation conventionnelle ou en soins intensifs)

- Améliorer la fiabilité du diagnostic d'infection respiratoire bactérienne afin d'éviter les antibiothérapies inutiles.

- Permettre une documentation microbiologique, fiable en particulier dans les formes sévères afin d'améliorer l'antibiothérapie.

- Guider le choix de l'antibiothérapie initiale, et l'optimiser secondairement.

- Conduire à une restriction secondaire (après résultats des investigations microbiologiques), du spectre de l'antibiothérapie initiale afin d'éviter les surinfections à germes multi résistants et avoir un impact écologique et / ou pronostique favorable.

- Guider la durée du traitement antibiotique.

- Détecter de façon précoce un échec du traitement antibiotique.

- Améliorer le pronostic des patients avec PACS en terme de réduction de mortalité ou de durée de séjour à l'hôpital Menendez R, Cavalcanti M, Reyes S, Mensa J, Martinez R, Marcos MA, Filella X, Niederman M, Torres A : Markers of treatment failure in hospitalised community acquired pneumonia. *Thorax* 2008 ; 63 : 447-52.

Limites d'une stratégie diagnostique et thérapeutique reposant sur la réalisation d'une fibroscopie bronchique initiale :

La réalisation précoce et systématique de prélèvements microbiologiques pulmonaires in situ par fibroscopie bronchique (FB) et LBA a été proposée (7-9) mais comporte de nombreuses limites. La réalisation systématique d'une FB chez tous les patients atteints de PAC même sévère (PACS) est en pratique impossible. Il existe de nombreuses contre indications et complications. De plus la performance diagnostique de la fibroscopie est mal évaluée au cours des PACS, et les coûts liés à la procédure sont importants pour un impact thérapeutique discutable si l'antibiothérapie initiale empirique suit les recommandations actuelles. Le traitement antibiotique est une urgence thérapeutique qui ne peut être retardée par la réalisation d'un examen comme la FB. Le choix du traitement antibiotique initial repose sur l'évaluation de la sévérité de la pneumonie et non sur le résultat différé des prélèvements sous FB.

La réalisation d'une fibroscopie avec prélèvements distaux protégés et/ou LBA pourrait être réservée à certaines catégories de patients avec PACS dont l'épidémiologie est particulière. Il s'agit des patients âgés, alcooliques ou présentant des affections chroniques, chez qui on retrouve avec une fréquence plus élevée des bacilles à gram négatif en particulier des entérobactéries et

Pseudomonas aeruginosa et des infections à staphylocoque. En effet, chez ces patients, le spectre initial de l'antibiothérapie peut être très large et une antibiothérapie initiale inadaptée s'accompagne d'une surmortalité importante.

Stratégie diagnostique alternative

L'association de dosages de biomarqueurs d'infection bactérienne et de tests microbiologiques non invasifs pourrait répondre aux objectifs à atteindre.

Les biomarqueurs : leur utilisation en routine sera intégrée à la démarche diagnostique

- La C-reactive protein (CRP) est surtout un marqueur d'inflammation. Une CRP élevée (> 50 mg/ml) serait un élément en faveur de l'origine bactérienne d'une pneumonie. Le dosage de CRP serait surtout utile dans le suivi d'une pneumonie sous traitement. L'absence de diminution de la CRP de plus de 60 % à J3 et de plus de 90 % à J7 pourrait être associé à un échec de l'antibiothérapie initiale (10).

- La procalcitonine (PCT) semble un marqueur performant d'infection bactérienne : les taux sériques de PCT sont augmentés en cas d'infection bactérienne mais restent bas en cas d'infection virale ou de maladie inflammatoire non infectieuse (11). Le dosage de PCT doit cependant faire appel à des techniques spécifiques ayant une bonne sensibilité car les techniques plus anciennes ne permettent pas les mêmes performances. Selon les taux initiaux de PCT, la non prescription d'antibiotiques ou l'arrêt précoce des antibiotiques est possible sans effet délétère pour les patients suspects d'infection respiratoire basse (12). Un traitement guidé par des dosages séquentiels de la PCT sérique permettait de réduire l'usage des antibiotiques en cas de pneumonie communautaire (13) (c'est-à-dire le nombre de traitements débutés et la durée de ces traitements). L'application d'algorithmes incluant le dosage de PCT pourrait réduire significativement la prescription d'antibiotiques chez les patients ayant une exacerbation de BPCO (14). Par rapport aux scores utilisés en routine comme le CURB-65, le dosage de la PCT dans l'évaluation de la sévérité des PAC reste modeste (15).

Les tests microbiologiques non invasifs de première intention :

- Hémocultures, examen cyto-bactériologique des crachats (ECBC), aspiration trachéale (AT) si le patient est intubé et la détection d'antigènes urinaires de *Streptococcus pneumoniae* et *L pneumophila* sérogroupe 1 (16). Ces examens disponibles en routine, seront toujours utiles. Les hémocultures ont une faible sensibilité mais spécificité élevée. L'isolement de *Streptococcus pneumoniae* dans une hémoculture prélevée chez un patient présentant une PACS doit conduire à une adaptation de l'antibiothérapie initiale. L'ECBC présente une faible sensibilité et une mauvaise spécificité. La faible sensibilité s'explique par les difficultés d'obtenir un crachat dans de nombreux cas (40 à 60% des cas). De plus, les critères de qualité ne sont présents que dans 30% à 45% des ECBC obtenus. Malgré ces limites, l'ECBC reste utile dans la gestion de l'antibiothérapie (17-18). La présence de cocci à gram positif à l'examen direct de l'ECBC est très spécifique de l'isolement de *Streptococcus pneumoniae* en culture. Pour les ECBC répondant aux critères de qualité à l'examen direct, une désescalade de l'antibiothérapie est possible en cas de culture positive à 48h à *Streptococcus pneumoniae* et l'antibiothérapie initiale modifiée si non optimale ou non adaptée aux germes isolés en culture. L'aspiration trachéo-bronchique (AT) et /ou LBA à l'aveugle (19), ne sont possibles que chez le patient intubé (50% environ des patients hospitalisés en réanimation pour PACS). L'AT est sensible, mais soumise au risque de contamination par les voies aériennes supérieures au même titre que l'ECBC. Sa sensibilité et spécificité n'ont jamais été évaluées correctement chez les patients admis en réanimation pour PACS.

- Les tests de détection d'antigènes urinaires de *Streptococcus pneumoniae* et *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 disponibles présentent de nombreux avantages. La sensibilité et la spécificité de la détection des antigènes de *Legionella pneumophila* sérogroupe 1 dans les urines sont de 86 et 93 %, respectivement (20). La sensibilité peut être encore être augmentée pour atteindre 90% en concentrant les urines ou en renouvelant le test après 24h. Il ne détecte que *Legionella pneumophila* du sérogroupe 1 mais ceci permet de diagnostiquer la plupart des cas de légionelloses observés en France (21). Une monothérapie par macrolides ou quinolones est possible en cas de positivité de l'antigénurie *Legionella pneumophila* sérotype1. La recherche d'antigènes de *Streptococcus. pneumoniae* excrétés dans les urines est aussi de réalisation facile et rapide (~15 min). La recherche d'antigènes de *Streptococcus pneumoniae* dans les urines permet d'augmenter le nombre de diagnostic de PAC à *Streptococcus pneumoniae* de 15 à 20% par rapport aux diagnostics portés par les hémocultures et/ou l'ECBC (22). En termes de coûts, une étude non randomisée suggère qu'une stratégie incluant des investigations microbiologiques non invasives (ECBC et recherche d'antigène urinaire de *Streptococcus pneumoniae*) est susceptible de réduire les coûts de traitement par la désescalade possible de l'antibiothérapie initiale.

Une seule étude randomisée contrôlée portent sur 2 stratégies thérapeutiques l'une empirique l'autre adaptée aux pathogènes documentés n'a pas démontré de différence significative de mortalité ou de durée de séjour (23). Toutefois, on observe avec la stratégie « traitement antibiotique adapté aux pathogènes documentés », moins d'effets indésirables et une moindre mortalité chez les patients admis en réanimation. Cette étude comporte toutefois de nombreuses limites : Les choix d'antibiothérapie initiale empirique n'est pas conforme aux recommandations actuelles, l'étude est réalisée dans un pays avec de faibles niveaux de résistance aux antibiotiques et l'effectif des patients admis en réanimation est faible.

Tests microbiologiques de deuxième intention (ou première intention selon le contexte)

- **Examens de deuxième intention (ou en première intention selon le contexte) disponibles en routine:**

- Crachats induits après aérosols de sérum salé hypertonique. Si cette technique a surtout été évaluée pour la recherche de germes opportunistes comme *pneumocystis jirovecii* chez le VIH, sa rentabilité est loin d'être négligeable pour la recherche de mycobactéries ou même de bactéries pathogènes usuelles (24).

- Les sérologies de germes atypiques (*Mycoplasma pneumoniae, Legionella pneumophila, Chlamydiae pneumoniae ou psitacci, Coxiella burnetti*...) ont surtout un intérêt épidémiologique et peu d'impact sur le traitement antibiotique empirique initial et seront probablement abandonnées en routine

- **Les techniques de PCR :** elles sont prometteuses car elles permettent une détection précise et rapide d'un pathogène indépendamment de sa viabilité (25). Les méthodes sont très variées non quantitatives, semi quantitatives ou quantitatives. Les gènes ciblés sont divers. Les techniques sont souvent peu reproductibles et donc peu comparables d'un laboratoire à l'autre. Les techniques de PCR sont applicables sur le sang, le liquide pleural, les expectorations et les aspirations nasopharyngées. Elles peuvent potentiellement concerner tous les germes typiques ou atypiques, les virus respiratoires et même *pneumocystis jirovecii.* Les techniques PCR seront surtout demandées dans des situations de suspicion d'infections respiratoire virales (aspiration de secrétions nasopharyngées) ou de germes atypiques (*Mycoplasma pneumoniae, Bordetella pertussis, Chlamydiae, Legionella*) ou d'infections à mycobactéries en particulier suspicion de pleurésie tuberculeuses (26). En ce qui concerne les bactéries pyogènes, les principaux travaux cliniques publiés concernent les pneumonies à *Streptococcus pneumonie*. Le gène ciblé et amplifié est le plus souvent le gène codant pour la synthèse de la pneumolysine de *Streptococcus pneumoniae*. Appliquée sur le sang, les sensibilités rapportées varient de 23% à 100%. Appliquée sur les expectorations, la PCR expose au risque de faux positifs ne permettant pas de distinguer colonisation oropharyngée et infection respiratoire basse à *Streptococcus pneumoniae*. Les techniques quantitatives récentes semblent pouvoir surmonter cet écueil (27-28). La possibilité de réduire le spectre de l'antibiothérapie initiale pour une monothérapie à spectre étroit sur *Streptococcus pneumoniae* et/ ou de réduire significativement la durée d'antibiothérapie sur un seul résultat de PCR quantitative de *Streptococcus pneumoniae* dans les crachats sans risque pour le patient, n'est pas encore démontrée.

L'impact thérapeutique de ces nouveaux outils diagnostiques de la biologie moléculaire reste à évaluer. S'ils permettent avec un coût acceptable, d'optimiser la gestion du traitement antibiotique, d'améliorer le pronostic des patients, ils compléteront à l'avenir les examens non invasifs actuellement à notre disposition.

Conclusions : La stratégie diagnostique actuelle non invasive incluant la réalisation systématique des examens suivants : hémocultures, ECBC (ou AT si le patient est intubé) et la détection d'antigènes urinaires pneumocoque et légionelle est actuellement recommandée chez les patients hospitalisés pour une PACS mais reste insatisfaisante. Les nouveaux outils diagnostiques non invasifs de la biologie moléculaire sont prometteurs. Ils doivent être évalués prospectivement en termes d'impact diagnostique et thérapeutique chez les patients atteints de PACS avant que leur utilisation soit recommandée en routine.

Référence :

1. File TM. Community-acquired pneumonia. Lancet 2003; 362: 1991–2001.

2. Angus DC, Marrie TJ, Obrosky DS, *et al.* Severe community-acquired pneumonia: use of intensive care services and evaluation of American and British Thoracic Society Diagnostic criteria. Am J Respir Crit Care Med 2002; 166:717–23.

3. Farr BM, Kaiser DL, Harrison BD, Connolly CK. Prediction of microbial aetiology at admission to hospital for pneumonia from the presenting clinical features. British Thoracic Society Pneumonia Research Subcommittee. Thorax 1989; 44:1031–5.

4. Metlay JP. Antibacterial drug resistance: implications for the treatment of patients with community-acquired pneumonia. Infect Dis Clin North Am 2004; 18:777–90.

5. Woodhead M, Blasi F, Ewig S, Huchon G, Ieven M, Ortqvist A, Schaberg T, Torres A, van der Heijden G, Verheij TJ; European Respiratory Society; European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Guidelines for the management of adult lower respiratory tract infections. Eur Respir J. 2005; 26: 1138-80.

6. XVe Conférence de Consensus en thérapeutique anti-infectieuse. Prise en charge des infections des voies respiratoires basses de l'adulte immunocompétent. Med Mal Infect 2006 ; 5 : 235-44.

7. Mandell LA, Wunderink RG, Anzueto A, *et al.* IDSA/ATS guidelines on the management of community-acquired pneumonia in adults. Clin Infect Dis 2007; 44: S27-72.

8. Ortqvist A, Kalin M, Lejdeborn L, Lundberg B. Diagnostic fiberoptic bronchoscopy and protected brush culture in patients with community-acquired pneumonia. Chest 1990; 97:576–82.

9. Rello J, Bodi M, Mariscal D, Navarro M, Diaz E, Gallego M, Valles J. Microbiological testing and outcome of patients with severe community-acquired pneumonia. Chest 2003; 123:174–180.

10. Christ-Crain M, Muller B. Biomarkers in respiratory tract infections: diagnostic guides to antibiotic prescription, prognostic markers and mediators. Eur Respir J 2007; 30:556–73.

11. Almirall J, Bolibar I, Toran P, et al. Contribution of C-reactive protein to the diagnosis and assessment of severity of community-acquired pneumonia. Chest 2004; 125:1335–42.

12. Christ-Crain M, Jaccard-Stolz D, Bingisser R, et al. Effect of procalcitonin-guided treatment on antibiotic use and outcome in lower respiratory tract infections: cluster-randomised, single-blinded intervention trial. Lancet 2004; 363:600–7.

13. Christ-Crain M, Stolz D, Bingisser R, *et al*. Procalcitonin guidance of antibiotic therapy in community-acquired pneumonia: a randomized trial. Am J

Respir Crit Care Med 2006; 174:84–93.
14. Schuetz P, Christ-Crain M, *et al*; ProHOSP Study Group. Effect of procalcitonin-based guidelines vs standard guidelines on antibiotic use in lower respiratory tract infections: the ProHOSP randomized controlled trial. JAMA. 2009 Sep 9;302(10):1059-66.
15. Kruger S, Ewig S, Marre R, et al. Procalcitonin predicts patients at low risk of death from community-acquired pneumonia across all CRB-65 classes. Eur Respir J 2008; 31:349–55.
16. Bartlett JG. Diagnostic test for etiologic agents of community-acquired pneumonia. Infect Dis Clin North Am 2004; 18:809–27.
17. Musher DM, Montoya R, Wanahita A. Diagnostic value of microscopic examination of Gram-stained sputum and sputum cultures in patients with bacteremic pneumococcal pneumonia. Clin Infect Dis 2004; 39:165–9.
18. Garcia-Vazquez E, Marcos MA, Mensa J, *et al.* Assessment of the usefulness of sputum culture for diagnosis of community-acquired pneumonia using the PORT predictive scoring system. Arch Intern Med 2004; 164:1807–11.
19. Rodriguez R, Fancher M, Phelps M, et al. An emergency department based randomized trial of nonbronchoscopic bronchoalveolar lavage for early pathogen identification in severe community-acquired pneumonia. Ann Emerg Med 2001; 38:357–63.
20. Waterer GW, Baselski VS, Wunderink RG. *Legionella* and community acquired pneumonia: a review of current diagnostic tests from a clinician's viewpoint. Am J Med 2001; 110:41–8.
21. Van Cauteren D, Campèse C, Jarraud S, Maine C, Che D. Les légionelloses survenues en France en 2007. BEH 2008; 30-31: 276-279..
22. Roson B, Fernandez-Sabe N, Carratala J, *et al.* Contribution of a urinary antigen assay (Binax NOW) to the early diagnosis of pneumococcal pneumonia. Clin Infect Dis 2004; 38:222–6.
23. van der Eerden MM, Vlaspolder F, de Graaff CS, *et al*. Comparison between pathogen directed antibiotic treatment and empirical broad spectrum antibiotic treatment in patients with community acquired pneumonia: a prospective randomised study. Thorax 2005; 60:672–8.
24. Bandyopadhyay T, Gerardi DA, Metersky ML. A comparison of induced and expectorated sputum for the microbiological diagnosis of community acquired pneumonia. Respiration. 2000; 67(2):173-6.
25. Templeton KE, Scheltinga SA, Van den Eeden WC, Graffelman AW, van den Broek PJ, Claas EC. Improved diagnosis of the etiology of community-acquired pneumonia with real-time polymerase chain reaction. Clin Infect Dis 2005; 41:345–51.
26. Nolte FS. Molecular Diagnostics for Detection of Bacterial and Viral Pathogens in Community-Acquired Pneumonia Clinical Infectious Diseases 2008; 47:S123–6.
27. Yang S, Lin S, Khalil A., Gaydos C, Nuemberger E, Juan G, Hardick J, Bartlett JG, Auwaerter PG and Rothman RE. Quantitative PCR Assay Using Sputum Samples for Rapid Diagnosis of Pneumococcal Pneumonia in Adult Emergency Department Patients. J Clin Microbiol 2005; 43: 3221–3226.
28. Bayram A., Kocoglu E., Balci I., Filiz A., Eksi F. Real-time Polymerase Chain Reaction for detection of *Streptococcus pneumoniae* in sputum samples from patients with community-acquired pneumonia. J Clin Microbiol. 2006; 39: 452-457.

218/54s 4 décembre 2009 - 12:00 - 352A

La stratégie clinique : expérience chez le patient immunodéprimé

J. Mayaux
CHU Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Le pronostic des patients d'oncohématologie (POH) s'est amélioré au cours des années [1–3]. En effet, la mortalité a diminué, en raison des avancées thérapeutiques en onco-hématologie [4 - 6], d'une politique d'admission raisonnée [7-9] et des progrès réalisés en réanimation [10] comme la ventilation non invasive [11,12]. L'insuffisance respiratoire aigue (IRA) est définie par une fréquence respiratoire supérieure à 30 par minutes associée à des signes de détresse respiratoire ou une Pa02 en air ambiant <60mmHg, ou la nécessité d'un support ventilatoire. Elle émaille l'évolution des POH variant de 5% en cas de tumeur solide jusqu'à 30% en cas d'hémopathie maligne [13]. L'impact de la défaillance ventilatoire est important puisque la moitié des POH admis pour IRA décède et jusqu'à 75% en cas de nécessité de ventilation mécanique [2, 11, 13]. On notera que la présence d'une neutropénie à l'admission n'est plus un critère péjoratif, sa mortalité attribuée est remise en question. C'est essentiellement le nombre de défaillance d'organe qui conditionne le pronostic du patient [15-16].

L'étiologie du diagnostic de l'IRA conditionne également le pronostic ainsi la mortalité attribuée à l'oedème pulmonaire cardiogénique est plus basse que l'aspergillose pulmonaire invasive. Plus encore, l'absence de diagnostic est corrélée à une mortalité accrue [13].

Chez un POH présentant une IRA, il faut rechercher les éléments permettant d'évoquer les diagnostics les plus probables afin de débuter en urgence, dans les premières heures, un traitement probabiliste adapté. La grande difficulté étant la multiplicité des diagnostics possibles chez le POH [17].

Notre stratégie clinique est appliquée à l'admission des POH atteints d'une IRA [18]. Elle s'articule en 6 items : le Délai depuis de début de la pathologie maligne ou de l'allogreffe, le Type de déficit immunitaire, l'aspect Radiologique, l'Expérience Clinique et la connaissance de la littérature, le tableau clinique et l'aspect de la TDM thoracique.

Le premier facteur est le délai entre le diagnostic de la maladie et le début de l'IRA. L'infiltration pulmonaire ou pleurale spécifique s'observe le plus souvent à la phase précoce de la maladie notamment en cas d'infiltration pulmonaire blastique dans les leucémies aigues myéloïdes [19]. Le diagnostic de lymphangite carcinomateuse peut se faire également au diagnostic ou lors des rechutes de la maladie. L'infection bactérienne et l'oedème pulmonaire doivent être évoqués à toutes les phases de la maladie [20]. Les complications opportunistes et les toxicités médicamenteuses n'intervenant que plus tardivement dans la maladie [17].

Le second élément est le type d'immunosuppression induit par la maladie. Par exemple une IRA chez un patient traité par Flurarabine, pour une leucémie lymphoïde chronique, devra faire évoquer une pneumopathie à *Pneumocystis jiroveci* [21]. De même il faudra savoir évoquer une aspergillose pulmonaire en cas de dysfonction chronique de la fonction neutrophilique [22-24]. Une leucémie à tricholeucyte peut se compliquer classiquement d'une pneumopathie à légionnelle [25].

Le troisième facteur est l'aspect radiographique. Comme l'examen clinique, les signes radiologiques manquent de spécificité. La radiologie standard est le plus souvent mise en défaut. Il n'existe pas de corrélation étroite entre l'étiologie de l'atteinte respiratoire et la présentation radiographie. Ainsi chez 116 patients VIH la radiographie thoracique permettait d'établir un diagnostic dans 34% des cas seulement, notamment en cas de pneumocystose. Cette mauvaise sensibilité a amené à considérer la radiographie thoracique comme inutile dans le bilan de la neutropénie fébrile, le scanner thoracique haute résolution (TDM HR) montrant dans plus de 60% des cas des anomalies d'allures infectieuses chez le patient neutropénique dont la radiographie thoracique est normale[26]. Toutefois la présence d'anomalie radiologique peut contribuer au diagnostic, la présence de nodule oriente vers une étiologie tumorale ou des emboles septiques, des anomalies systématisées ou lobaires orientent vers une pneumopathie infectieuse aiguë.

Le Quatrième intervenant dans la réflexion est l'expérience clinique et la connaissance de la littérature (clinique autopsie et expérimentale).

Le cinquième facteur à prendre en compte est l'évaluation du tableau clinique. Les signes respiratoires comme une douleur thoracique ou une hémoptysie orientent vers une aspergillose pulmonaire. Les signes extra-thoraciques peuvent également être une aide au diagnostic. Les emboles septiques cutanés se voient dans les infections à candida ou les septicémies. La fièvre et son intensité, l'atteinte des séreuses, les atteintes articulaires et ophtalmiques participent à la discussion diagnostique [13]. De manière intéressante le délai entre le début des symptômes et l'admission en réanimation peut fournir des éléments d'orientation permettant de dégager des tableaux cliniques de référence [17].

Des différences selon le type d'immunodépression doivent être connues, par exemple les pneumopathies à Pneumocystis jiroveci sont d'évolution sub-aigue chez le patient infecté par le VIH alors que la présentation clinique du patient POH est brutale. L'absence de choc est classique dans la pneumocystose sauf en cas de co-infections associées [27].

Le dernier élément est le scanner thoracique haute résolution avec coupes millimétriques et si besoin coupe en expiration. Il est plus sensible que la radiographie thoracique et permet une description plus précise des anomalies radiologiques : verre dépoli, condensation, nodules et leurs localisation associés ou non a un halo de verre dépoli, la présence d'excavation, la présence de ligne septale [28,29]. Certaines associations de lésions au TDM HR permettent d'évoquer une étiologie particulière même si la spécificité est faible. L'association de verre dépoli diffus et d'une déplétion lymphocytaire quantitative ou qualitative sera évocatrice d'une infection à *Pneumocystis jirovinci*. La présence de nodule excavé en sortie d'aplasie orientera vers une aspergillose pulmonaire invasive. La présence de lignes septales, d'une hypertrophie des veines pulmonaires, et des épanchements bilatéraux, sera évocatrice d'un œdème pulmonaire.

Conclusion : L'absence de diagnostic est corrélée à une mortalité accrue. Nous pensons qu'une approche systématisée améliore la performance diagnostique pour donner le bon traitement. Un traitement probabiliste dans les premières heures est donné selon cette stratégie. Le bilan diagnostique devra se poursuivre afin de confirmer ou d'infirmer les hypothèses initiales.

Bibliographie

1 Azoulay E, Recher C, Alberti C, Soufir L, Leleu G, Le Gall JR, Fermand JP, Schlemmer B : Changing use of intensive care for haematological patients : the example of multiple myeloma*. Intensive Care Med*1999 ; 25 : 1395-401.

2 Azoulay E, Alberti C, Bornstain C, Leleu G, Moreau D, Recher C, Chevret S, Le Gall JR, Brochard L, Schlemmer B : Improved survival in cancer patients requiring mechanical ventilatory support : impact of noninvasive mechanical ventilatory support*. Crit Care Med* 2001 ; 29 :519-25.

3 Benoit DD, Vandewoude KH, Decruyenaere JM, Hoste EA, Colardyn FA : Outcome and early prognostic indicators in patients with a hematologic malignancy admitted to the intensive care unit for a life-threatening complication*. Crit Care Med* 2003 ; 31 : 104-12.

4 Coiffier B, Lepage E, Briere J, Herbrecht R, Tilly H, Bouabdallah R, Morel P, Van Den Neste E, Salles G, Gaulard P, Reyes F, Lederlin P, Gisselbrecht C : CHOP chemotherapy plus rituximab compared with CHOP alone in elderly patients with diffuse large-B-cell lymphoma*. N Engl J Med* 2002 ; 346 : 235-42.

5 Nachman JB, Sather HN, Sensel MG, Trigg ME, Cherlow JM, Lukens JN, Wolff L, Uckun FM, Gaynon PS : Augmented post-induction

therapy for children with high-risk acute lymphoblastic leukaemia and a slow response to initial therapy*. N Engl J Med* 1998 ; 338 : 1663-71.

6 Brenner H : Long-term survival rates of cancer patients achieved by the end of the 20th century : a period analysis*. Lancet* 2002 ; 360 : 1131-5.

7 Meert AP, Close L, Hardy M, Berghmans T, Markiewicz E, Sculier JP : Noninvasive ventilation : application to the cancer patient admitted in the

intensive care unit. *Support Care Cancer* 2003 ; 11 : 56-9 Epub 2002 Jul 19.

8 Lecuyer L, Chevret S, Thiery G, Darmon M, Schlemmer B, Azoulay E. The ICU trial: a new admission policy for cancer patients requiring mechanical ventilation. *Crit Care Med. 2007* Mar;35(3):808-14.

9 Thiéry G, Azoulay E, Darmon M, Ciroldi M, De Miranda S, Lévy V, Fieux F, Moreau D, Le Gall JR, Schlemmer B. Outcome of cancer patients considered for intensive care unit admission: a hospital-wide prospective study. J Clin Oncol. 2005 Jul 1;23(19):4406-13.

10 Townsend SR, Schorr C, Levy MM, Dellinger RP. Reducing mortality in severe sepsis: the Surviving Sepsis Campaign. Clin Chest Med. 2008 Dec;29(4):721-33, x.

11 Hilbert G, Gruson D, Vargas F, Valentino R, Gbikpi-Benissan G, Dupon M, Reiffers J, Cardinaud JP : Noninvasive ventilation in immunosuppressed patients with pulmonary infiltrates, fever, and acute respiratory failure. *N Engl J Med* 2001 ; 344 : 481-7.

12 Azoulay E, Alberti C, Bornstain C, Leleu G, Moreau D, Recher C, Chevret S, Le Gall JR, Brochard L, Schlemmer B : Improved survival

in cancer patients requiring mechanical ventilatory support : impact of noninvasive mechanical ventilatory support. *Crit Care Med* 2001 ; 29 : 519-25.

13 Azoulay E, Thiery G, Chevret S, Moreau D, Darmon M, Bergeron A, Yang K, Meignin V, Ciroldi M, Le Gall JR, Tazi A, Schlemmer B : The prognosis of acute respiratory failure in critically ill cancer patients. *Medicine* (Baltimore) 2004 ; 83 : 360-70.

14 Darmon M, Azoulay E, Alberti C, Fieux F, Moreau D, Gall JR, Schlemmer B : Impact of neutropenia duration on short-term mortality in neutropenic critically ill cancer patients. *Intensive Care Med* 2002 ; 28 : 1775-80.

15 Darmon M, Azoulay E, Alberti C, Fieux F, Moreau D, Gall JR, Schlemmer B : Impact of neutropenia duration on short-term mortality in neutropenic critically ill cancer patients. *Intensive Care Med* 2002 ; 28 : 1775-80.

16 Blot F, Guiguet M, Nitenberg G, Leclercq B, Gachot B, Escudier B : Prognostic factors for neutropenic patients in an intensive care unit : respective roles of underlying malignancies and acute organ failures. *Eur J Cancer* 1997 ; 33 : 1031-7.

17 Mayaud C, Cadranel J : A persistent challenge : the diagnosis of respiratory disease in the non-AIDS immunocompromised host. *Thorax* 2000 ; 55 : 511-7

18 Azoulay E, Schlemmer B : Diagnostic strategy in cancer patients with acute respiratory failure. *Intensive Care Med* 2006 ; 32 : 808-22.

19 Azoulay E, Fieux F, Moreau D, Thiery G, Rousselot P, Parrot A, Le Gall JR, Dombret H, Schlemmer B : Acute monocytic leukemia presenting as acute respiratory failure. *Am J Respir Crit Care Med* 2003 ; 167 : 1329-33.

20 Lefebvre A, Menasche S, Darmon M, Thierry G, Schlemmer B, Azoulay E : N-Terminal pro B-Type natriuretic peptide in critically ill cancer patients with acute respiratory failure. Submited 2007.

21 Anaissie EJ, Kontoyiannis DP, O'Brien S, Kantarjian H, Robertson L, Lerner S, Keating MJ : Infections in patients with chronic lymphocytic leukemia treated with fludarabine. *Ann Intern Med* 1998 ; 129 : 559-66.

22 Patterson TF, Kirkpatrick WR, White M, Hiemenz JW, Wingard JR, Dupont B, Rinaldi MG, Stevens DA, Graybill JR : Invasive aspergillosis. Disease spectrum, treatment practices, and outcomes. I3 Aspergillus Study Group. *Medicine* (Baltimore) 2000 ; 79 : 250-60.

23 Caillot D, Mannone L, Cuisenier B, Couaillier JF : Role of early diagnosis and aggressive surgery in the management of invasive pulmonary aspergillosis in neutropenic patients. *Clin Microbiol Infect* 2001 ; 7 Suppl 2 : 54-61.

24 De Pauw B, Walsh TJ, Donnelly JP, et al. Revised definitions of invasive fungal disease from the European Organization for Research and Treatment of Cancer/Invasive Fungal Infections Cooperative Group and the National Institute of Allergy and the Infectious Diseases Mycoses Study Group (EORTC/MSG) Consensus Group. *Clin Infect Dis* **2008**; 46:1813–21.

25 Cordonnier C, Farcet JP, Desforges L, Brun-Buisson C, Vernant JP, Kuentz M, Dournon E : Legionnaires' disease and hairy-cell leukemia. An unfortuitous association? *Arch Intern Med* 1984 ; 144 : 2373-5.

26 Heussel CP, Kauczor HU, Heussel GE, Fischer B, Begrich M, Mildenberger P, Thelen M : Pneumonia in febrile neutropenic patients and in bone marrow and blood stem-cell transplant recipients : use of highresolution

computed tomography. *J Clin Oncol* 1999 ; 17 : 796-805.

27 Kovacs JA, Hiemenz JW, Macher AM, Stover D, Murray HW, Shelhamer

J, Lane HC, Urmacher C, Honig C, Longo DL, et al : Pneumocystis

carinii pneumonia : a comparison between patients with the

acquired immunodeficiency syndrome and patients with other immunodeficiencies.

Ann Intern Med 1984 ; 100 : 663-71.

28 Heussel CP, Kauczor HU, Heussel G, Fischer B, Mildenberger P, Thelen M : Early detection of pneumonia in febrile neutropenic patients : use of thin-section CT. *Am J Roentgenol* 1997 ; 169 : 1347-53.

29 Toma´s Franquet, Nestor L. Mu¨ller, Ana Gime´nez, Santiago Martý´nez, Marta Madrid, and Pere Domingo : Infectious Pulmonary Nodules in Immunocompromised Patients: Usefulness of Computed Tomography in PredictingTheir Etiology *Journal of Computer Assisted Tomography* 2003 *;* 27(4):461–468

30 Sabiha Raoof, Suhail Raoof, David P. Naidich : Imaging of unusual diffuse lung diseases *Current Opinion in Pulmonary Medicine* 2004, 10:383–389

226/57s 4 décembre 2009 - 14:20 - BORDEAUX

Pseudomonas aeruginosa, BLSE et carbapénèmases

V. Dubois
UMR 5234, CNRS, Université de Bordeaux 2, France

Pseudomonas aeruginosa est un germe saprophyte, doué d'un faible pouvoir pathogène. Cependant, sa capacité de survie dans l'environnement et ses nombreuses résistances naturelles et acquises aux antibiotiques et aux antiseptiques, en font une cause fréquente d'infections nosocomiales (IN) variées (pneumopathies, infections urinaires, infections de la peau et des tissus mous …), affectant surtout les patients vulnérables. L'enquête nationale de prévalence réalisée en 2006, a montré que cette espèce bactérienne était la troisième par ordre de fréquence, représentant 10% des agents pathogènes responsables d'IN. Par ailleurs, *P. aeruginosa* est responsable d'authentiques infections communautaires, associées à l'utilisation d'eaux ou de solutions contaminées (folliculites, otites externes, ulcères cornéens etc.).

La résistance de *P. aeruginosa* aux β-lactamines peut être de nature enzymatique ou non enzymatique. Parmi les mécanismes enzymatiques on retrouve l'hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique et la production de β-lactamases acquises qui sont le plus souvent des pénicillinases de type PSE et OXA. Cependant, au cours des dernières décennies un nombre croissant de β-lactamases capables d'hydrolyser les céphalosporines de 3e et 4e génération, les monobactams et/ou les carbapénèmes a été décrites dans cette espèce.

Les β-lactamases à spectre étendu (BLSE) rencontrées chez *P. aeruginosa*, appartiennent aux classes A et D de Ambler. Parmi les enzymes de classe A, comme chez les entérobactéries, des dérivés de TEM et de SHV ont été décrits : SHV2a, SHV-5, SHV-12, TEM-4, TEM-21, TEM-24, TEM-42. Bien que des épidémies de souches produisant ces enzymes aient été rapportées (5, 8), ces BLSE sont généralement identifiées de façon sporadique chez *P. aeruginosa*. A l'inverse, les enzymes de type PER et VEB, sont fréquemment retrouvées en Turquie, en Italie et en Corée du Sud (PER-1) ainsi qu'en Asie du Sud Est (VEB-1) (16). Les enzymes de type GES sont quant à elles, répandues de part le monde, et certaines présentent la particularité d'hydrolyser non seulement les céphalosporines de 3ème et 4ème génération mais aussi les carbapénèmes (6, 13, 16). Dernièrement, les BLSE BEL-1 et BEL-2 ont été décrites en Belgique (2, 7) et des β-lactamases de type CTX-M ont été rapportées en Amérique du Sud (1, 6). Toutes ces enzymes sont inhibées par l'acide clavulanique mais la fréquente hyperexpression de la céphalosporinase chromosomique de *P. aeruginosa* limite la détection de ces β-lactamases par le test de synergie. Les gènes codant pour ces enzymes sont de localisation chromosomique ou plasmidique, au sein d'intégrons ou de transposons, ce qui favorise leur mobilité et leur expression. Les BLSE de la classe D de Ambler sont des oxacillinases à spectre étendu. Même si leur distribution reste limitée, la plupart de ces enzymes ont été décrites chez *P. aeruginosa*. Leur nombre est en constante augmentation : OXA-18, OXA-30, OXA-31, les dérivés d'OXA-10 (OXA-11, OXA-14, OXA-16, OXA-17, OXA-19, OXA-28, OXA-35, OXA-128, OXA-142, OXA-145, OXA-147) et de OXA-2 (OXA-15, OXA-21, OXA-32, OXA-34, OXA-36, OXA-141) (9). Ces enzymes présentent une grande hétérogénéité tant du point de vue génétique que de leurs capacités hydrolytiques. Excepté OXA-18 et OXA-45, ces β-lactamases ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique ce qui complique leur détection chez *P. aeruginosa*. Leur support génétique est chromosomique ou plasmidique, et la plupart du temps les gènes codant pour les oxacillinases font partie d'intégrons de classe 1 ou, plus rarement, sont associés à des séquences d'insertions ou des transposons (9). En France, la prévalence des souches de *P. aeruginosa* productrices de BLSE reste faible, 0,7% à l'hôpital en 2004 (3) et 1,8% en milieu extra-hospitalier en 2000 (4).

Seuls les carbapénèmes restent actifs sur les souches productrices de BLSE. Même si la résistance a l'imipémène reste encore principalement liée à la perte qualitative ou quantitative de la porine D2, depuis quelques années, la préoccupation majeure chez *P. aeruginosa* réside dans l'émergence, de souches résistantes aux carbapénèmes par production de carbapénémases, Les carbapénèmases décrites chez *P. aeruginosa* peuvent appartenir aux 4 classes de Ambler, mais les plus répandues sont les métallo-enzymes de classe B représentées par les enzymes des familles IMP et VIM, et les enzymes SPM-1 et GIM-1. Ces β-lactamases ont une activité catalytique marquée et hydrolysent toutes les β-lactamines sauf l'aztréonam (15). Bien qu'elles soient génétiquement éloignées (20 à 30% d'identité en acides aminés) leur activité est liée à la présence d'un à 2 ions zinc dans leur site actif. Elles sont donc inhibées par l'addition de chélateurs de cations bivalents comme l'EDTA. Cette propriété est utilisée pour détecter les souches de *P. aeruginosa* productrices de métallo-enzymes. A ce jours, il a été décrit 26 variants de IMP et 23 de VIM, mais VIM-2 est particulièrement préoccupante de part sa fréquence chez *P. aeruginosa* et sa très large distribution géographique (10). GIM-1, identifiée chez des souches clonales de *P. aeruginosa* en Allemagne, et SPM-1 décrite chez différents clones au Brésil, sont de diffusion plus limitée. Le support génétique de ces enzymes est chromosomique ou plasmidique. A l'exception de bla_{SPM-1}, associée à une IS*CR4*, les autres gènes codant pour les carbapénémases de classe B de *P. aeruginosa* sont présents sous formes de cassettes de gènes au sein d'intégrons de classe 1 (10). Parmi les carbapénémases de classe A de Ambler ce sont surtout les enzymes de type GES et plus récemment de type KPC qui ont été mises en évidence chez *P. aeruginosa*. KPC-2, identifiée dans des souches résistantes à l'imipénème en Amérique du Sud, hydrolyse les pénicillines, les céphalosporines à large spectre, l'aztréonam et les carbapénèmes (14). Même si les inhibiteurs de β-lactamases ont une action sur ces enzymes, celle-ci reste faible expliquant les difficultés de détection de ces carbapénamases. Les autres carbapénémases de classe A sont des mutants de la BLSE GES-1. Ainsi, GES-2, -4, -5 et -6 présentent une

substitution en position 170 conférant une activité catalytique vis-à-vis de l'imipénème (10). Elles ont été identifiées en Afrique du Sud, au Japon, en Corée, en Chine, au Brésil, en Grèce et en Espagne, et leurs gènes sont situés sur des intégrons de classe 1, le plus souvent localisés sur des plasmides (10, 13). Parmi les enzymes de classe D, très peu d'oxacillinases à activité carbapènèmases ont été retrouvées chez *P. aeruginosa*, contrairement aux oxacillinases à spectre étendu qui y sont largement représentées. En effet, seul le gène bla_{OXA-40} a récemment été caractérisé sur un plasmide chez 2 souches de *P. aeruginosa* en Espagne (12). Enfin, il a dernièrement été identifié chez *P. aeruginosa* des céphalosporinases chromosomiques mutée, présentant un spectre étendu à l'imipénème. Ces enzymes de classe C sont caractérisées par la présence d'une alanine en position 105 qui entraîne une légère activité carbapénémase, suffisante pour compromettre l'efficacité des carbapénèmes quand elle est hyperproduite (11).

BLSE et carbapénémases sont, à l'heure actuelle, relativement rares chez P. *aeruginosa*, mais elles représentent une menace considérable. En effet, leur large spectre d'activité empêche l'utilisation de la quasi-totalité des β-lactamines et la localisation fréquente de leurs gènes sur des éléments tels que les intégrons favorise la multirésistance des souches, laissant parfois la colistine comme seule molécule active.

1. **al Naiemi, N., B. Duim, and A. Bart.** 2006. A CTX-M extended-spectrum β-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. J. Med. Microbiol. **55:**1607-1608.

2. **Bogaerts, P., C. Bauraing, A. Deplano, and Y. Glupczynski.** 2007. Emergence and dissemination of BEL-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Belgium. Antimicrob. Agents Chemother. **51:**1584-1585.

3. **De Champs, C., C. Chanal, D. Sirot, R. Baraduc, J. P. Romaszko, R. Bonnet, A. Plaidy, M. Boyer, E. Carroy, M. C. Gbadamassi, S. Laluque, O. Oules, M. C. Poupart, M. Villemain, and J. Sirot.** 2004. Frequency and diversity of Class A extended-spectrum β-lactamases in hospitals of the Auvergne, France: a 2 year prospective study. J. Antimicrob. Chemother. **54:**634-639.

4. **Dubois, V., C. Arpin, V. Dupart, A. Scavelli, L. Coulange, C. Andre, I. Fischer, F. Grobost, J. P. Brochet, I. Lagrange, B. Dutilh, J. Jullin, P. Noury, G. Larribet, and C. Quentin.** 2008. β-Lactam and aminoglycoside resistance rates and mechanisms among *Pseudomonas aeruginosa* in French general practice (community and private healthcare centres). J. Antimicrob. Chemother. **62:**316-323.

5. **Dubois, V., C. Arpin, P. Noury, C. Andre, L. Coulange, and C. Quentin.** 2005. Prolonged outbreak of infection due to TEM-21-producing strains of *Pseudomonas aeruginosa* and enterobacteria in a nursing home. J. Clin. Microbiol. **43:**4129-4138.

6. **Picao, R. C., L. Poirel, A. C. Gales, and P. Nordmann.** 2009. Diversity of β-lactamases produced by ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates causing bloodstream infections in Brazil. Antimicrob. Agents Chemother. **53:**3908-3913.

7. **Poirel, L., J. D. Docquier, F. De Luca, A. Verlinde, L. Ide, G. M. Rossolini, and P. Nordmann.** 2009. BEL-2, an expanded-spectrum β-lactamase with increased activity toward expanded cephalosporins in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. Nov 2. [Epub ahead of print]

8. **Poirel, L., E. Lebessi, M. Castro, C. Fevre, M. Foustoukou, and P. Nordmann.** 2004. Nosocomial outbreak of extended-spectrum β-lactamase SHV-5-producing isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Athens, Greece. Antimicrob. Agents Chemother. **48:**2277-2279.

9. **Poirel, L., T. Naas, and P. Nordmann.** 2009. Class D β-lactamases : Diversity, Epidemiology and Genetics. Antimicrob. Agents Chemother.

10. **Poirel, L., J. D. Pitout, and P. Nordmann.** 2007. Carbapenemases: molecular diversity and clinical consequences. Future Microbiol **2:**501-512.

11. **Rodriguez-Martinez, J. M., L. Poirel, and P. Nordmann.** 2009. Extended-spectrum cephalosporinases in *Pseudomonas aeruginosa*. Antimicrob. Agents Chemother. **53:**1766-1771.

12. **Sevillano, E., L. Gallego, and J. M. Garcia-Lobo.** 2009. First detection of the OXA-40 carbapenemase in *P. aeruginosa* isolates, located on a plasmid also found in *A. baumannii.* Pathol Biol (Paris) **57:**493-495.

13. **Viedma, E., C. Juan, J. Acosta, L. Zamorano, J. R. Otero, F. Sanz, F. Chaves, and A. Oliver.** 2009. Nosocomial spread of colistin-only-sensitive sequence type 235 *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing the extended-spectrum β-lactamases GES-1 and GES-5 in Spain. Antimicrob .Agents Chemother. **53:**4930-4933.

14. **Villegas, M. V., K. Lolans, A. Correa, J. N. Kattan, J. A. Lopez, and J. P. Quinn.** 2007. First identification of *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing a KPC-type carbapenem-hydrolyzing β-lactamase. Antimicrob. Agents Chemother. **51:**1553-1555.

15. **Walsh, T. R., M. A. Toleman, L. Poirel, and P. Nordmann.** 2005. Metallo-β-lactamases: the quiet before the storm? Clin. Microbiol. Rev. **18:**306-325.

16. **Weldhagen, G. F., L. Poirel, and P. Nordmann.** 2003. Ambler class A extended-spectrum β-lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. Antimicrob. Agents Chemother. **47:**2385-2392.

227/57s — 4 décembre 2009 - 14:40 - BORDEAUX

Acinetobacter baumannii et ses carbapénèmases

Y. Glupczynski

Laboratoire de bactériologie, Cliniques Universitaires UCL de Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

Acinetobacter baumannii est un pathogène opportuniste fréquemment impliqué dans la survenue d'infections nosocomiales, le plus souvent chez des patients immunodéprimés et hospitalisés dans des unités de soins intensif. Depuis une trentaine d'années, la résistance d'*A. baumannii* aux antibiotiques n'a cessé d'augmenter et des épidémies intra-hospitalières sont régulièrement rapportées sur tous les continents. Une des caractéristiques majeure de *A. baumannii* est son adaptabilité à la pression de sélection antibiotique et sa propension au développement rapide de résistances.

Les carbapénèmes ont été pendant longtemps considérés comme les antibiotiques les plus actifs vis-à-vis de *A. baumannii* mais leur large utilisation clinique pendant plus de 20 ans a entraîné aujourd'hui l'émergence de souches résistantes à l'imipénème et au méropénème et qui présentent aussi le plus souvent un phénotype de multiple résistance aux antibiotiques. L'incidence croissante de ces souches multi-résistantes constitue actuellement un problème majeur et conduit de plus en plus souvent à la survenue d'impasses thérapeutiques compte tenu du nombre très limité d'alternatives existantes.

Les b-lactamases constituent le principal mécanisme de résistance aux b-lactamines chez *A. baumannii*. Deux types de b-lactamases sont naturellement présentes chez tous les isolats au sein de l'espèce : une céphalosporinase AmpC (encore appelée ADC pour *Acinetobacter* derived cephalosporinase) et une b-lactamase de classe D (ou oxacillinase de type OXA-51/OXA-69 spécifique de l'espèce *A. baumannii* et distante de toutes les autres oxacillinases connues). Lorsqu'elle est exprimée à l'état basal, la céphalosporinase n'altère pas l'activité des céphalosporines à large spectre, par contre l'insertion de séquences d'insertions spécifiques (IS*Aba*1) en amont du gène est associée à la survenue d'une résistance aux céphalosporinases de troisième génération et aux uréidopénicillines mais pas aux carbapénèmes.

L' oxacillinase naturelle OXA-51-like et ses dérivés (plus de 40 allèles sont actuellement reconnus) possèdent une activité hydrolytique très faible sur l'ensemble des b-lactamines et sur les carbapénèmes mais elle ne confère pas de résistance en clinique en l'absence de sa surexpression; très rarement une résistance de bas niveau à l'imipénème a été associée à la présence de cette enzyme lorsque des séquences d'insertions de type IS*Aba*1 étaient présentes en amont du gène codant bla_{OXA-51}.

En l'absence d'autres mécanismes de résistances surajoutés (cf. infra), les b-lactamases naturelles n'ont donc qu'une contribution très marginale à la résistance aux carbapénèmes.

En ce qui concerne la résistance acquise aux carbapénèmes, deux types de carbapénèmases ont été largement décrites: les métallo-β-lactamases (classe B), et les oxacillinases (classe D).

Les MBLs de classe B de type IMP (IMP-1, IMP-2, IMP-4, IMP-5, IMP-6 et IMP-11), VIM (VIM-2) et SIM (SIM-1) bien qu'assez peu fréquemment présentes chez *A. baumannii* ont été rapportées dans le monde entier, surtout en Amérique du Sud et en Asie, beaucoup plus rarement en Europe (Italie et Portugal). Ces différents types carbapénèmases confèrent une résistance de haut niveau aux carbapénèmes ainsi qu'à toutes les autres b-lactamines à l'exception de l'aztreonam et ce à cause de leur forte activité hydrolytique sur ces antibiotiques. La présence de MBLs est assez facilement détectées au laboratoire par leur inhibition *in vitro* en présence d'EDTA (synergie entre imipénème et l'EDTA par la méthode des disques ou par la technique du Etest®).

Les carbapénèmases acquises les plus spécifiques de *A. baumannii* et les plus fréquemment rapportées chez cette espèce sont les oxacillinases dont il existe trois groupes majeurs, OXA-23, OXA-40 et OXA-58. Un quatrième type d'oxacillinase, OXA-143, distincte des précédentes (mais présentant un degré élevé d'identité avec OXA-40 au niveau de la séquence des acides aminés) a été récemment rapporté dans une souche d'*A. baumannii* isolée en 2004 au Brésil.

Cependant la prévalence de cette nouvelle OXA-carbapénèmase n'est pas bien connue. Les oxacillinases acquises de classe D ont une activité hydrolytique cent à mille fois inférieure à celle des MBLs et généralement ces enzymes ont une plus grande affinité pour l'imipénème que le méropénème. En conséquence ces enzymes confèrent à elles seules des niveaux variables et souvent assez peu élevés de résistances aux carbapénèmes et elles n'hydrolysent que faiblement les céphalosporines de spectre élargi. Il n'existe aucun test phénotypique permettant de détecter la présence de ce type de carbapénèmases au laboratoire.

Les gènes codant pour ces enzymes sont chromosomiques ou plasmidiques souvent associés à des séquences d'insertions spécifiques assurant mobilité et haut niveau d'expression. L'origine de l'une de ces oxacillinases, OXA-23 a été identifiée chez *A. radioresistens* et une étude récente a identifié un gène codant pour une carbapénèmases, OXA-134 (partageant 63% d'identité au niveau des acides aminés avec OXA-23) et localisé sur le chromosome d'*A. lwoffii*. Ces différents éléments indiquent clairement la possibilité d'échanges génétiques entre différentes espèces d'Acinetobacter saprophytes.

Tout récemment de nouvelles GES (GES-11, GES-12) (classe A de Ambler) ont été détectées de façon sporadique chez *A. baumannii* en France et au Royaume uni. Ces enzymes confèrent une résistance de haut niveau aux b-lactamines incluant l'aztreonam et une résistance de niveau variable aux carbapénèmes suivant le type d'allèles. Comme pour les MBLs, les gènes codant pour les enzymes de type GES étaient localisés dans des intégrons de classe 1 portés par un plasmide auto-transférable. Même si les enzymes détectées dans *A. baumannii* aujourd'hui ne semblaient pas présenter d'activité carbapénèmases, une mutation ponctuelle serait en mesure de les transformer en nouvelles carbapénèmases d'*A. baumannii.*

References

Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii*: emergence of a successful pathogen. Clin Microbiol Rev 2008 ; 21 : 538-82.

Dijkshoorn L, Nemec A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* Nature Rev 2007; 5: 1-11.

Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile b-lactamases. Clin

Microbiol Rev 2007; 20: 440-58.

Poirel L, Pitout JD, Nordmann P. Carbapenemases molecular diversity and clinical consequences. Future Microbiol 2007; 2:501-12.

Poirel L, Nordmann P. Carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii:* mechanisms and epidemiology. Clin Microbiol Infect 2006; 12: 826-36.

Poirel L, Naas T, Nordmann P. Class D b-lactamases: Diversity, Epidemiology and Genetics. Antimicrob Agents Chemother 2009; ahead of print on 31 August 2009; doi:10.1128/AAC.01512-08

Higgins PG, Poirel L, Lehmann M, Nordmann P, Seifert H. OXA-143, a novel carbapenem-hydrolyzing class D b-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. Antimicrob Agents Chemother , AAC accepts, published online ahead of print on 21 september 2009, doi:10.1128/11C.00856-09

Moubareck C, Brémont S, Conroy M-C, Courvalin P, Lambert T. GES-11, a novel integron-associated GES variant in *Acinetobacter baumannii.* Antimicrob Agents Chemother 2009; 53: 3579-81.

228/58s — 4 décembre 2009 - 14:00 - HAVANE

Epidémiologie des états septiques graves

C. Brun-Buisson
Service de Réanimation Médicale, CHU Henri Mondor, Créteil, France

1. *Définitions des états septiques*. Les définitions encore actuellement utilisées pour les syndromes septiques sont celles proposées lors de la conférence d'experts de 1991 organisée par deux sociétés savantes américaines (ACCP et SCCM) (1). Il était à l'époque souligné que le syndrome clinique « d'état septique » correspondait à l'expression de la réponse physiologique à l'infection, exprimée à des degrés variables et résultant en 3 stades de gravité, du moins grave (le sepsis, ou syndrome de réponse inflammatoire systémique [SIRS] associé à une infection) au plus grave (le choc septique), en passant par le sepsis grave (sepsis + dysfonction d'organe, sans hypotension prolongée) selon les caractéristiques de l'infection et son retentissement physiologique et de nombreux facteurs liés à l'hôte. Bien que les définitions de l'époque manquaient de précision, elles ont fournies une base de travail utile et surtout commune, sur laquelle se sont appuyées les nombreuses études épidémiologiques et essais cliniques effectués durant la quinzaine d'années qui ont suivi leur publication. Un groupe d'experts élargi a revisité ces définitions une dizaine d'années plus tard, et a conclu que les définitions originales pouvaient être conservées (2), en tous cas pour la pratique des études cliniques et des essais thérapeutiques, bien qu'il y soit suggéré d'y ajouter quelques précisions ou indicateurs de sévérité (par ex. les biomarqueurs, la prédisposition génétique), notamment pour mieux caractériser les patients ou les stratifier dans les essais cliniques. Cette approche plus fine répond à ce qu'il est convenu d'appeler le concept du PIRO (*Predisposition, Infection, Response, Organ dysfunction*), qui tente de caractériser les 4 principaux déterminants de la présentation clinique et biologique des états septiques.

2. *Infection, SIRS et syndromes septiques en réanimation.* S'ils sont utiles au dépistage des malades infectés, les symptômes du SIRS sont à la fois frustes et très peu spécifiques, et peuvent refléter bien d'autres étiologies qu'une infection : ils sont présents à un moment ou un autre de l'évolution chez la grande majorité des malades de réanimation (3-5) ; à l'inverse, une infection n'est reconnue que chez environ 20% à 40% des patients de réanimation, mais elle s'associe à un syndrome septique (quelle que soit sa gravité) dans plus de la moitié des cas (6-10). Cependant, la diagnostic microbiologique de l'infection n'est obtenu que dans environ 50% et 70% des cas d'infection communautaire et hospitalière, respectivement. Une bactériémie est associée à l'infection chez environ 15% des malades ayant un sepsis non compliqué, mais chez 25% de ceux ayant un sepsis grave, et >50% de ceux ayant un choc septique.

Les foyers infectieux à l'origine des états septiques se distribuent en 3 sources principales (respiratoires, intra-abdominaux, et génito-urinaires) qui représentent les 2/3 de l'ensemble des sepsis, les premiers représentant à eux seuls près de la moitié de l'ensemble des cas (11); parmi les sepsis graves, les infections respiratoires et intra-abdominales sont responsables de >50% tandis que les infections urinaires ne représentent que <10% des cas (12).

La distribution relative des germes impliqués dans les états septiques a variée au cours des dernières décennies, passant d'une prédominance de bacilles à gram négatif (BGN) à une proportion grandisssante de cocci à gram positif (CGP) et une prévalence croissante d'infection fungiques (13).

3. *Incidence et prévalence des états septiques,* *à l'hôpital et en réanimation: des taux croissants.* Les taux de sepsis observés à l'hôpital se sont sensiblement accru au cours des 15-20 dernières années (4, 12, 14, 15) ; l'accroissement moyen a été évalué à 8-9% par an aux USA (13). Les études prospectives récentes basées sur les populations de réanimation en Europe ou ailleurs donnent des taux de sepsis graves parmi les malades hospitalisés assez proches, entre 10%-15% des admissions en réanimation (9, 12, 16-18). Il faut noter cependant que seulement 50% à 75 % de l'ensemble des malades hospitalisés et présentant un état septique grave (à l'admission ou au cours du séjour) sont transférés ou admis en réanimation (14, 15). En rapportant les taux observés dans des bassins de population, on obtient des estimations d'incidence annuelle de sepsis graves se situant entre 100 et 150 p. 100,000 habitants (14, 19), soit 2 à 3 fois plus faible que l'estimation la plus élevé (300/100,000 habitants) rapportée précédemment des USA (15).

L'incidence des sepsis varie largement avec l'age. Les patients âgés de >65 ans représentent une proportion croissante des états septiques, qui avoisine les 2/3 des cas aux USA (à comparer avec une proportion de 12% parmi l'ensemble de la population US) (11) ; ainsi, l'age médian des malades atteints de sepsis grave est de 65 ans (8, 16, 18), et une proportion importante de ces malades a une ou plusieurs comorbidités. Malgré ces tendances démographiques défavorables, et bien que la mortalité soit directement liée à l'age, le taux de mortalité globale observé au cours des états septiques a progressivement décru aux cours des 2 dernières décennies.

4. *Les stades de gravité du sepsis et le pronostic des malades.* Les 3 stades de gravité croissante de sepsis, sepsis sévère, et choc septique sont aussi évidemment associés à une mortalité croissante d'environ 20%, 30% et 40% ou plus. Alors que le nombre de critères de SIRS présents donne une estimation grossière du risque de décès, l'évaluation des dysfonctions d'organes et des altérations hémodynamiques fournit des indicateurs pronostiques beaucoup plus précis et robustes (10, 12, 18). Définir des interventions permettant de prévenir la progression d'un état septique vers les stades plus sévères est donc un objectif important. Des études épidémiologiques suggèrent que parmi les patients présentant un sepsis, 1 sur 4 est à haut risqué de développer un état septique grave ou un choc ; une surveillance rapprochée et une prise en charge plus agressive serait justifiée chez les malades à plus haut risque (3, 20, 21). Les variables cliniques associées au risque d'aggravation ont été décrites, associant des variables caractérisant l'infection (pneumonie, péritonite, et infection par cocci à gram positif ou BGN aérobie) (21). Des tests biologiques rapides peuvent s'avérer utiles dans ce contexte, en particulier les biomarqueurs du sepsis, ainsi que l'identification de polymophismes génétiques parmi facteurs essentiels de défense contre l'infection (2).

Références

1. Bone RC, Balk RA, Cerra FB, et al the ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Chest* 1992;101:1656-1662.

2. Levy MM, Fink MP, Marshall JC, et al 2001 SCCM/ESICM/ACCP/ATS/SIS International Sepsis Definitions Conference. *Crit Care Med* 2003;31:1250-1256.

3. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Costigan MD, et al. The natural history of the systemic inflammatory response syndrome. *J A M A* 1995;273:117-123.

4. Sands KE, Bates DW, Lanken PN, et al. Epidemiology of sepsis syndrome in 8 academic medical centers. *J A M A* 1997;277:234-240.

5. Smail N, Messiah A, Edouard A, et al. Role of systemic inflammatory response syndrome and infection in the occurrence of early multiple organ dysfunction syndrome following severe trauma. *Intensive Care Med* 1995;21:813-816.

6. Ponce de Leon-Rosales SP, Molinar-Ramos F, Dominguez-Cherit G, Rangel-Frausto MS, Vazquez-Ramos VG. Prevalence of infections in intensive care units in Mexico: a multicenter study. *Crit Care Med* 2000;28:1316-1321.

7. Vincent JL, Bihari D, Suter PM, et al. The prevalence of nosocomial infection in intensive care units in Europe. Results of the European Prevalence of Infection in Intensive Care (EPIC) Study. EPIC International Advisory Committee. *J A M A* 1995;274:639-644.

8. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study. *Crit Care Med* 2006;34:344-353.

9. Alberti C, Brun-Buisson C, Burchardi H, et al. The European Sepsis Group. Epidemiology of sepsis and infection in ICU patients from an international multicenter cohort study. *Intensive Care Med* 2002;28:108-121 (Erratum p.526).

10. Alberti C, Brun-Buisson C, Goodman SV, et al. Influence of Systemic Inflammatory Response Syndrome and Sepsis on Outcome of Critically Ill Infected patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2003;168:77-84.

11. Martin GS, Mannino DM, Moss M. The effect of age on the development and outcome of adult sepsis. *Crit Care Med* 2006;34:15-21.

12. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, et al. Incidence, risk factors, and outcome of severe sepsis and septic shock in adults. A multicenter prospective study in intensive care units. *J A M A* 1995;274:968-974.

13. Martin GS, Mannino DM, Eaton S, Moss M. The epidemiology of sepsis in the United States from 1979 through 2000. *N Engl J Med* 2003;348:1546-1554.

14. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J. Bacteremia and severe sepsis in adults: A multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals. *Am J Respir Crit Care Med* 1996;154:617-624.

15. Angus DC, Linde-Zwirble WT, Lidicker J, Clermont G, Carcillo J, Pinsky MR. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001;29:1303-1310.

16. Padkin A, Goldfrad C, Brady AR, Young D, Black N, Rowan K. Epidemiology of severe sepsis occurring in the first 24 hrs in intensive care units in England, Wales, and Northern Ireland. *Crit Care Med* 2003;31:2332-2338.

17. Finfer S, Bellomo R, Lipman J, French C, Dobb G, Myburgh J. Adult-population incidence of severe sepsis in Australian and New Zealand intensive care units. *Intensive Care Med* 2004;30:589-596.

18. Brun-Buisson C, Meshaka P, Pinton P, Vallet B. EPISEPSIS: a reappraisal of the epidemiology and outcome of severe sepsis in French intensive care units. *Intensive Care Med* 2004;30:580-588.

19. Dombrovskiy VY, Martin AA, Sunderram J, Paz HL. Facing the challenge: decreasing case fatality rates in severe sepsis despite increasing hospitalizations. *Crit Care Med* 2005;33:2555-2562.

20. Rangel-Frausto MS, Pittet D, Hwang T, Woolson RF, Wenzel RP. The dynamics of disease progression in sepsis: Markov modeling describing the natural history and the likely impact of effective antisepsis agents. *Clin Infect Dis* 1998;27:185-190.

21. Alberti C, Brun-Buisson C, Chevret S, et al. Systemic inflammatory response and progression to severe sepsis in critically ill infected patients. *Am J Respir Crit Care Med* 2005;171:461-468.

229/58s — 4 décembre 2009 - 14:20 - HAVANE

Réponse inflammatoire et anti-inflammatoire de l'hôte dans le sepsis

M. Adib-Conquy
Unité Cytokines et Inflammation, Institut Pasteur, Paris, France

Malgré les immenses progrès réalisés dans le domaine de la médecine de soins intensifs, le sepsis demeure la cause majeure de complications et de décès chez les patients admis en réanimation. Les patients admis dans ces services suite à un sepsis, un choc hémorragique, un traumatisme sévère, de graves brûlures ou une chirurgie lourde présentent une inflammation systémique, appelée « systemic inflammatory response syndrome » ou SIRS en anglais.

Le syndrome septique correspond à un SIRS ayant une origine infectieuse. Le syndrome septique représente 37% des admissions dans les services de réanimation en Europe (1). En France, le sepsis sévère est pour 43% des cas d'origine nosocomiale (2) et 42% des patients ont une infection due à des bactéries à Gram négatif (3). Cet état infectieux se caractérise par une exacerbation de l'inflammation, avec une production accrue de cytokines pro-inflammatoires qui contribuent au développement de dommages tissulaires. Des cytokines proinflammatoires (IL-1β, TNFα, IL-6 et IL-8) sont détectées dans les liquides biologiques, mais aussi et en plus grandes quantités associées aux cellules (4, 5). Il existe une corrélation entre les quantités d'IL-6 et d'IL-8 détectées et la sévérité de la maladie (4). Dans les cas les plus graves, ce syndrome peut aboutir à un choc septique, souvent fatal, qui se caractérise par une hypotension, par une ou plusieurs défaillances organiques. Toutefois, il est important de souligner que des cytokines anti-inflammatoires (IL-10, IL-1Ra, TGFβ) sont également présentes en grandes quantités dans le sang des patients (6, 7).

Au cours du sepsis, les bactéries libèrent des motifs microbiens tels que le peptidoglycane (PGN), le lipopolysaccharide (LPS ou endotoxine des bactéries à Gram-négatif) et leur ADN qui contribuent à la réponse inflammatoire, et dont les effets systémiques participent à la survenue de la défaillance multi-viscérale. Ces mêmes motifs microbiens peuvent également être trouvés chez des patients noninfectés, suite à la translocation de bactéries depuis leur tube digestif. Cette translocation a été suggérée par plusieurs études montrant la présence de LPS dans la circulation de patients (chirurgie lourde, arrêt cardiaque réanimé, mort encéphalique) (8, 9). Plus récemment, nous avons montré une telle translocation bactérienne au cours de la chirurgie vasculaire abdominale, en mesurant la présence de LPS et de peptidoglycane (avec un nouveau test mis au point dans notre unité) dans le plasma des patients (10). Le passage de produits bactériens dans le sang depuis le tube digestif, contribue certainement à la difficulté de discriminer les patients SIRS et les patients septiques à l'aide de marqueurs biologiques. La réponse de l'hôte est caractérisée par l'apparition d'un grand nombre de marqueurs plasmatiques de l'inflammation (cytokines, C-reactive protein, TREM-1 soluble, procalcitonine), mais nous avons montré qu'aucun, pris individuellement, n'est spécifique d'un processus infectieux (11).

Par ailleurs, la réponse de l'hôte s'accompagne de modifications au niveau de la réponse des leucocytes circulants, en particulier des monocytes, reflétant une altération du statut immunologique. Cette altération peut être évaluée *ex vivo* par une capacité moindre des leucocytes à produire des cytokines pro-inflammatoires en réponse à une stimulation par le LPS (12). Sans doute ce phénomène contribue à ce qui a été défini sous l'acronyme de CARS pour « Compensatory Anti-inflammatory Response Syndrome » (13, 14). Cette hyporéactivité, est retrouvée lors du sepsis et dans de nombreuses situations de stress, telles que la traumatologie, les hémorragies, l'ischémie-reperfusion ou les chirurgies lourdes (15, 16). Nous avons analysé les mécanismes de cette hyporéactivité au LPS et montré qu'elle était associée à une diminution de l'activation de NF-κB (facteur de transcription crucial pour la production de cytokines pro-inflammatoires) aussi bien chez les patients septiques que ceux ayant une inflammation systémique d'origine non-infectieuse (17, 18).

Nous avons particulièrement étudié la régulation de la signalisation *via* le récepteur du LPS, constitué par le complexe CD14/TLR4/MD-2. Pour cela nous nous sommes intéressés à des molécules régulant négativement la signalisation par ce récepteur, telles que SIGIRR, MyD88s, TOLLIP ou SOCS1. L'expression de ces molécules a été comparée par PCR quantitative en temps réel dans les monocytes de patients septiques, de patients réanimés après un arrêt cardiaque (SIRS) et de donneurs sains. Nos résultats montrent que l'expression de SIGIRR et de MyD88s est significativement augmentée dans les cellules des patients septiques, alors que seul SIGIRR est augmenté chez les patients après arrêt cardiaque (19). Par contre, l'expression de TOLLIP et de SOCS1 est comparable dans les trois groupes. Plus récemment, nous avons identifié ABIN-3 (A20-Binding inhibitor of NF-κB activation-3), une nouvelle protéine régulant négativement l'activation de NF-κB par le LPS(20). Le promoteur d'ABIN-3 contient un élément de réponse à NF-κB, qui permet son induction après stimulation par le LPS ou le TNF. Le traitement de monocytes *in vitro* par les glucocorticoïdes inhibe l'expression d'ABIN-3. De même, alors que l'expression d'ABIN-3 est augmentée dans les monocytes de patients septiques, elle est diminuée après le traitement de ces patients par les glucocorticoïdes *in vivo* (21).

Nous avons également analysé la réactivité des monocytes de patients envers d'autres produits bactériens (agonistes des récepteurs de l'immunité innée TLR2 et TLR9) ou en réponse à des bactéries entières, afin de savoir si cette diminution de la production de TNF pouvait être observée plus largement. Notre étude montre que la production de TNF par les monocytes de patients septiques est également diminuée en réponse à une lipoprotéine (ligand de TLR2) ou de l'ADN bactérien (ligand de TLR9). Mais contrairement au LPS, les monocytes des patients septiques répondent normalement à une stimulation par des bactéries entières. La phagocytose des bactéries est nécessaire pour la production de cytokines, suggérant la contribution de récepteurs intracellulaires dans cette réponse. L'expression de Nod1 et Nod2 (détecteurs intracytoplasmiques des peptidoglycanes) a donc été recherchée. Elle est similaire chez les patients et sujets sains, ainsi que la production de TNF en réponse au muramyl dipeptide (motif minimal du peptidoglycane détecté par Nod2), suggérant que la réponse *via* Nod2 n'est pas altérée lors du sepsis (19).

L'ensemble de nos résultats montre que l'hyporéactivité leucocytaire n'est pas un phénomène global, elle n'est pas retrouvée pour la voie TLR2 chez les patients ayant une inflammation systémique (19, 22), ni pour la production de cytokines antiinflammatoires telles que l'IL-10 ou l'IL-1Ra (9, 22). Plutôt que d'hyporéactivité, il faut parler de « reprogrammation » de la réponse immunitaire lors des réponses

inflammatoires systémiques. Cette « reprogrammation » dépend de la voie de signalisation, de l'activateur et du groupe de patient étudié (19, 22).

Références bibliographiques

1. Vincent JL, Sakr Y, Sprung CL, et al. Sepsis in European intensive care units: results of the SOAP study.
Crit Care Med 2006;34(2):344-353.
2. Adrie C, Alberti C, Chaix-Couturier C, et al. Epidemiology and economic evaluation of severe sepsis in France: age, severity, infection site, and place of acquisition (community, hospital, or intensive care unit) as determinants of workload and cost. J Crit Care 2005;20(1):46-58.
3. Brun-Buisson C, Doyon F, Carlet J, et al. Bacteremia and severe sepsis in adults: a multicenter prospective survey in ICUs and wards of 24 hospitals. Amer J Respir Crit Care Med 1996;154(3):617-624.
4. Muñoz C, Misset B, Fitting C, et al. Dissociation between plasma and monocyte-associated cytokines during sepsis. Eur J Immunol 1991;21:2177-2184.
5. Marie C, Fitting C, Cheval C, et al. Presence of high levels of leukocyte-associated interleukin-8 upon cell activation and in patients with sepsis syndrome. Infect Immun 1997;65:865-871.
6. Marchant A, Devière J, Byl B, et al. Interleukin-10 production during septicaemia. Lancet 1994;343:707-708.
7. Marie C, Cavaillon J-M, Losser M-R. Elevated levels of circulating transforming growth factor-b1 in patients with the sepsis syndrome. Ann Intern Med 1996;125:520-521.
8. Cabié A, Farkas J-C, Fitting C, et al. High levels of portal TNFa during abdominal aortic surgery in man. Cytokine 1993;5:448-453.
9. Adrie C, Adib-Conquy M, Laurent I, et al. Successful cardiopulmonary resuscitation after cardiac arrest as a "sepsis-like" syndrome. Circulation 2002;106:562-568.
10. Kim OY, Monsel A, Bertrand M, et al. Translocation of bacterial NOD2 agonist and its link with inflammation. Crit Care 2009;13(4):R124.
11. Adib-Conquy M, Monchi M, Goulenok C, et al. Increased plasma levels of soluble triggering receptor expressed on myeloid cells 1 and procalcitonin after cardiac surgery and cardiac arrest without infection. Shock 2007;28(4):406-410.
12. Muñoz C, Carlet J, Fitting C, et al. Dysregulation of *in vitro* cytokine production by monocytes during sepsis. J Clin Invest 1991;88:1747-1754.
13. Bone RC, Grodzin CJ, Balk RA. Sepsis: A new hypothesis for pathogenesis of the disease process. Chest 1997;121:235-243.
14. Adib-Conquy M, Cavaillon JM. Compensatory anti-inflammatory response syndrome. Thromb Haemost 2009;101(1):36-47.
15. Cabié A, Fitting C, Farkas J-C, et al. Influence of surgery on in-vitro cytokine production by human monocytes. Cytokine 1992;4:576-580.
16. Stephan R, Ayala A, Harkema J, et al. Mechanism of immunosuppression following hemorrhage: defective antigen presentation by macrophages. J Surg Res 1989;46:553-556.
17. Adib-Conquy M, Adrie C, Moine P, et al. NF-kB expression in mononuclear cells of septic patients resembles that observed in LPS-tolerance. Am J Respir Crit Care Med 2000;162:1877-1883.
18. Adib-Conquy M, Asehnoune K, Moine P, et al. Long-term-impaired expression of nuclear factor-k B and IkBa in peripheral blood mononuclear cells of trauma patients. J Leuk Biol 2001;70:30-38.
19. Adib-Conquy M, Adrie C, Fitting C, et al. Up-regulation of MyD88s and SIGIRR, molecules inhibiting Tolllike receptor signaling, in monocytes from septic patients. Crit Care Med 2006;34(9):2377-2385.
20. Wullaert A, Verstrepen L, Van Huffel S, et al. LIND/ABIN-3 is a novel lipopolysaccharide-inducible inhibitor of NF-kappaB activation. J Biol Chem 2007;282(1):81-90.
21. Verstrepen L, Adib-Conquy M, Kreike M, et al. Expression of the NF-kappaB inhibitor ABIN-3 in response to TNF and toll-like receptor 4 stimulation is itself regulated by NF-kappaB. J Cell Mol Med 2008;12(1):316-329.
22. Adib-Conquy M, Moine P, Asehnoune K, et al. Toll-like receptors-mediated TNF and IL-10 production differ during systemic inflammation. Am J Respir Crit Care Med 2003;168:158-164.

230/58s — 4 décembre 2009 - 14:40 - HAVANE

Altération du système immunitaire au cours du sepsis

G. Monneret
Laboratoire d'Immunologie, Hôpital E. Herriot - Hospices Civils de Lyon, France

Les états septiques sévères (associant une infection bactérienne ou fongique et une réponse inflammatoire systémique), première cause de mortalité en service de réanimation, sont aujourd'hui caractérisés par la mise en place d'une immunodépression majeure. Cette dernière semble jouer un rôle dans le risque d'infection nosocomiale et / ou le mauvais pronostic. De nombreux

biomarqueurs (mHLA-DR, T régulateurs circulants, IL-10…) permettent d'identifier les patients les plus immunodéprimés et de caractériser quels mécanismes immunosuppresseurs sont impliqués (tolérance a l'endotoxine, anergie lymphocytaire, apoptose). Il est donc aujourd'hui envisagé de proposer de nouvelles approches thérapeutiques ciblées visant à restaurer les fonctions immunitaires. Nous envisagerons dans cette présentation les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent cette immunosuppression et les conséquences qu'ils induisent. Le propos sera illustré par l'intérêt que présente la perte d'expression de HLA-DR à la surface des monocytes (marqueur de référence de l'immunodépression acquise en réanimation) comme prédicteur de la survenue d'infection nosocomiale et de la mortalité. Enfin, des exemples récents d'immunothérapies (GM-CSF) guidés par une stratification biologique seront présentés.

Références

- Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. N Engl J Med 2003;348(2):138-150.

- Munford RS, Pugin J. Normal responses to injury prevent systemic inflammation and can be immunosuppressive. Am J Respir Crit Care Med 2001;163(2):316-321.

- Annane D, Bellissant E, Cavaillon JM. Septic shock. Lancet 2005;365(9453):63-78.

- Monneret G, Venet F, Pachot A, et al. Monitoring immune dysfunctions in the septic patient: a new skin for the old ceremony. Mol Med 2008;14(1-2):64-78.

- Hotchkiss RS, Coopersmith CM, McDunn JE, et al. The sepsis seesaw: tilting toward immunosuppression. Nat Med 2009;15(5):496-497.

- Pugin J. Immunostimulation is a rational therapeutic strategy in sepsis. Novartis Found Symp 2007;280:21-27; discussion 27-36, 160-164.

- Turrel F, Guignant C, Venet F, et al. Innovative therapeutic strategies for restoring lymphocyte functions in septic patients. Inflamm Allergy Drug Targets 2008;7(3):181-186.

- Docke WD, Randow F, Syrbe U, et al. Monocyte deactivation in septic patients: restoration by IFN-gamma treatment. Nat Med 1997;3(6):678-681.

- Meisel C, Schefold JC, Pschowski R, et al. GM-CSF to Reverse Sepsis-associated Immunosuppression: A Double-blind Randomized Placebo-controlled Multicenter Trial. Am J Respir Crit Care Med 2009.

- Harms H, Prass K, Meisel C, et al. Preventive antibacterial therapy in acute ischemic stroke: a randomized controlled trial. PLoS One 2008;3(5):e2158.

231/58s — 4 décembre 2009 - 15:00 - HAVANE

Des nouveaux outils de diagnostic rapide dans le sepsis

R. Courcol
CHU de Lille, France

Tools for rapid diagnosis of sepsis: Rapid detection of bacteraemia and fungaemia is one of the most important functions of the bacteriology laboratory. Microbiological documentation is of paramount importance for the success of therapeutic strategy during sepsis, as well as for the adequacy of the treatment. Currently, detection of microorganisms in blood is carried out by blood cultures which, when positive, allow a late adaptation of the antimicrobial treatment. Methods commonly in practice detect bacteraemia by using growth detection systems. Sensitivity and accuracy of these systems are well documented since several years. More than 93 % of bacteria are recovered within two days. However, since the availability of these automated systems, detection of bacteraemia has not made any progress due to the lack of innovative technology. Few years ago, a method consisting of a DNA probe matrix directed towards rRNA targets utilizing seven probe cocktails was proposed. This technique gave a result within 1 hour with a pretty good sensitivity (100%) and specificity (96%). Recently, some studies were reported using real-time PCR to detect bacteria either from blood cultures or directly from patients' blood. Results from these studies raise two open-questions: (a) what is the clinical relevance of isolates detected only by PCR ? (b) does the DNAemia found reflect true infection ? Although there is no data in the literature, one can imagine the true presence of circulating bacterial DNA in the blood, even from patients with subclinical bacterial infections. Another aspect is amplification of circulating nonviable bacteria and fungi, *e.g.* those within phagocytic cells or inhibited by antimicrobials. It appears that blood culture is no more the gold standard for the diagnosis of bloodstream infections.

We are witnessing the development of a new paradigm in the field of infectious diseases. Physician receiving a microbiological result within the day of sampling will be a step forward in the treatment of infection. The present communication describes the existing systems in the field of blood cultures.

232/59s — 4 décembre 2009 - 14:00 - 341

Les virus de l'immunodéficience humaine (VIH): évolution et migration des populations

F. Barin
CNR VIH, Laboratoire de Virologie, CHU Bretonneau, UMR Inserm 966, Université François Rabelais, Tours, France

Le VIH-1 et le VIH-2 ont émergé chez l'homme en raison d'événements de transmissions inter-espèces qui se seraient produits au début du 20ème siècle (1). Quatre groupes de VIH-1, génétiquement éloignés (M, N, O et P), dérivent de quatre événements distincts de transmissions du chimpanzé (*Pan troglodytes troglodytes*) à l'homme (dont un ou deux événements, pour les groupes O et P, pourraient également impliquer des gorilles) qui se seraient passés en Afrique centrale (2). Seuls les virus du groupe M ont diffusé, tristement avec succès chez l'homme, dans l'ensemble des pays et sont responsables de la pandémie de SIDA. Les virus des groupes O, N et P sont restés confinés à leur région d'origine, essentiellement le Cameroun et les pays limitrophes. De façon similaire, huit groupes de VIH-2 (A-H) ont été identifiés et résulteraient de huit événements de transmission inter-espèces du mangabey (*Cercocebus atys*) à l'homme. Le VIH-2, moins pathogène et moins transmissible que le VIH-1, est resté relativement confiné à sa région d'origine, l'Afrique de l'ouest, qui se superpose à l'habitat de l'espèce d'origine, *Cercocebus atys*.

Le VIH-1 de groupe M a diffusé lentement dans sa région d'origine au cours des décennies suivant son émergence, mais cependant suffisamment pour subir une certaine diversification en huit sous-types « purs » (A, B, C, D, F, G, H, J) que l'on retrouve actuellement en Afrique centrale, notamment Cameroun, Congo et République Démocratique du Congo (3,4). Les bouleversements sociétaux majeurs du XXème siècle (exode rural, déforestation et création de voies de communication terrestres, voyages inter-continentaux, libération sexuelle, …) ont contribué à favoriser l'émergence de la pandémie en rassemblant les conditions idéales pour la diffusion d'un agent sexuellement transmissible. L'épidémie initiale des pays industrialisés due au virus de sous-type B, et en premier lieu les Etats-Unis d'Amérique, est probablement liée à la conjonction de certains de ces événements circonstanciels favorables. Il a été montré récemment de façon convaincante, et très élégante d'un point de vue scientifique, que ce virus B « occidental » aurait été introduit sur le continent américain, puis en Europe, via Haïti au milieu des années 60, du fait de migrations de populations entre Haïti et l'Afrique centrale suite à l'indépendance de l'ex-Congo belge (5). Si le VIH-1 de sous-type B est le virus prototype des pays industrialisés, d'autres circonstances épidémiologiques ont permis l'installation d'autres sous-types dans différentes régions du monde (effets fondateurs). L'un des exemples qui peut être donné est celui du sous-type C qui prédomine sur l'ensemble de la côte orientale de l'Afrique et en Afrique australe ainsi qu'en Inde. Il est logique de penser que ce sont les nombreux échanges, notamment commerciaux, entre ces régions d'Afrique et l'Inde, qui ont permis la diffusion du virus C en Inde.

L'une des caractéristiques évolutives du VIH est la possibilité de recombinaisons. Une possible conséquence de co-infections ou de surinfections par deux virus de sous-types différents, voire de groupes différents, chez un individu donné, est l'émergence d'un virus recombinant pouvant acquérir un avantage sélectif. Ce probable avantage sélectif se manifeste par l'observation régulière de formes recombinantes à fort potentiel épidémique appelées CRF (pour *circulating recombinant forms*), créant des sous-épidémies dans différentes populations au sein d'un pays ou dans différentes régions du monde. Il existe désormais plus de 30 CRF clairement identifiées, dont certaines ont une organisation génétique très complexe (CRFcpx) liée à plusieurs événements successifs de recombinaison entre virus eux-mêmes recombinants. Deux exemples de ces formes recombinantes peuvent être cités. La forme CRF02_AG est devenue très rapidement le «sous-type » prédominant en Afrique de l'ouest. Deux formes recombinantes circulantes CRF_BC, ont diffusé parallèlement en Chine tout particulièrement chez les toxicomanes, suite à des événements de recombinaisons qui se seraient produits dans la région du « triangle d'or » entre virus de sous-type C d'origine indienne et virus de sous-type B d'origine thaïlandaise.

Comme indiqué précédemment, le VIH-1 sous-type B représente le prototype des virus occidentaux, car c'est celui qui a diffusé initialement dans les premières populations touchées par l'épidémie « occidentale » (homosexuels masculins, toxicomanes, hémophiles). La France n'échappe pas à cette règle. Cependant, dès 1997, nous avions montré l'augmentation régulière des virus de sous-types non-B dans la population française au travers d'une étude rétrospective réalisée chez les donneurs de sang (6). Depuis, plusieurs études prospectives ont confirmé ces données. Il s'agit des études multicentriques menées par les virologues médicaux de l'action concertée n°11 (AC11) de l'ANRS (cohorte Primo, étude Odyssée), montrant depuis la fin des années 90 une augmentation régulière de la proportion des virus non-B en France métropolitaine (7,8).

L'un des moyens mis en place pour surveiller l'évolution de l'épidémie en France, et qui est unique sur le plan international, est la surveillance virologique liée à la déclaration obligatoire (DO) de l'infection VIH coordonnée par l'Institut de Veille Sanitaire –InVS- (9). Cette surveillance virologique repose sur l'identification des sous-types (sérotypage en screening complété par génotypage) et des infections récentes (test sérologique d'identification des infections récentes, TIR) réalisée par le CNR VIH sur des prélèvements de sérum ou plasma déposés sur buvards adressés par les biologistes déclarants. Les résultats principaux de cette surveillance virologique sont les suivants :

- de mars 2003 à décembre 2008, 27 706 découvertes de séropositivité VIH ont été déclarées à l'InVS dont 21 453 ont pu être inclues dans la surveillance virologique.

- 2% de ces infections sont dues au VIH-2, en quasi-totalité liées à des liens avec la région d'origine de ce virus, l'Afrique de l'ouest (10).

- 0,1% de ces infections sont dues au VIH-1 groupe O, en quasi-totalité liées avec la région d'origine du groupe O, le Cameroun (10).

- 43% des infections à VIH-1 du groupe M sérotypées sont dues à des virus de sous-types non-B.

- La plupart des infections par virus non-B sont observées chez des patients originaires de zones d'endémie : 78% des patients de nationalité d'un pays d'Afrique sub-saharienne sont infectés par des virus non-B, mais la diffusion de ces virus non-B dans la population française n'est pas négligeable puisque 21% des patients de nationalité française sont infectés par des virus non-B. On

note donc une diffusion des souches virales hors de leur population d' « origine » , et ainsi une intrication des deux épidémies initiales, « occidentale » et « africaine » sur le territoire français. L'association du TIR et du sérotypage (complété par le génotypage) permet d'analyser la dynamique de cette diffusion. Ainsi, à titre d'exemple, 15% des infections récentes constatées dans la population homosexuelle de nationalité française sont dues à des virus non-B, et 26% des infections récentes observées chez les patients de nationalité d'un pays d'Afrique sub-saharienne contaminés par voie hétérosexuelle sont dues à des virus B.

- La plupart des sous-types circulant dans le monde peuvent être rencontrés en France. L'analyse génotypique des virus identifiés dans le cadre de la DO montre que le sous-type CRF02_AG, originaire d'Afrique de l'Ouest, est le plus fréquent après le sous-type B sur notre territoire. Il représenterait de l'ordre de 50% des virus non-B. Il est évident que cette prédominance est liée aux migrations de population et aux liens historiques de la France avec les pays francophones d'Afrique de l'ouest. Les autres sous-types les plus fréquemment rencontrés dans le cadre de la DO appartiennent aux clades A, G, C, F et CRF06_cpx. Une analyse spécifique des sous-types rares en France, D et CRF01_AE, montre que ces virus sont essentiellement identifiés chez des migrants des zones d'endémie correspondantes, Afrique centrale et Afrique centrale et Asie du sud-est, respectivement. Cependant, toujours dans le cadre de la DO, une infection à VIH-1 de sous-type D a été identifiée chez onze patients de nationalité française, dont quatre homosexuels masculins, parmi vingt-sept infectés par ce sous-type.

L'analyse virologique fine des souches de VIH montre une évolution continue, liée en partie aux recombinaisons. La diffusion de ces variants, liée à des effets fondateurs, reflète sans équivoque les migrations des populations, le terme population signifiant dans ce contexte des origines géographiques différentes mais également des groupes socio-comportementaux différents.

Remerciements : La surveillance virologique liée à la déclaration obligatoire de l'infection VIH est rendue possible grâce au travail de collaboration effectué entre l'InVS (C Semaille, F Cazein, F Lot, J Pillonel, S Levu, R Pinget, JC Desenclos) et le CNR VIH (D Brand, S Brunet, D Thierry, JC Plantier), et grâce à la participation de tous les déclarants, biologistes et cliniciens, sans oublier les patients qui ont accepté de donner leur consentement.

Références :

1. Peeters M et al. Phylogénie des SIV et des VIH : mieux comprendre l'origine des VIH. Med Sc 2008, 24 : 621-8.

2. Plantier JC et al., A new human immunodeficiency virus derived from gorillas. Nat Med 2009, 15 : 871-2.

3. Korber B et al. Timing the ancestor of the HIV-1 pandemic strains. Science 2000, 288 : 1789-95.

4. Worobey M et al. Direct evidence of extensive diversity of HIV-1 in Kinshasa by 1960. Nature 2008, 455 : 661-5.

5. Gilbert M et al. The emergence of HIV/AIDS in the Americas and beyond. PNAS 2007, 104 : 18566-70.

6. Barin F et al. Increasing diversity of HIV-1M serotypes in French blood donors over a 10-year period (1985-1995). AIDS 1997, 11 : 1503-8.

7. Chaix ML et al. Stable frequency of HIV-1 transmitted drug resistance in patients at the time of primary infection over 1996-2006 in France. AIDS 2009, 23 : 717-24.

8. Descamps D et al. French national sentinel survey of antiretroviral drug resistance in patients with HIV-1 primary infection and in antiretroviral-naive chronically infected patients in 2001-2002. JAIDS 2005, 38 : 545-52.

9. Semaille C et al. Monitoring the dynamics of the HIV epidemic using assays for recent infection and serotyping among new HIV diagnoses : experience after 2 years in France. J Infect Dis 2007, 196 : 377-83.

10. Barin F et al. Prevalence of HIV-2 and HIV-1 group O infections among new HIV diagnoses in France : 2003-2006. AIDS 2007, 21 : 2351-3.

233/59s — 4 décembre 2009 - 14:20 - 341

Génomique et l'origine de la lèpre

S. Cole
Global Health Institute, EPFL, Lausanne, Suisse

La lèpre est une maladie chronique qui résulte de l'infection de l'homme par le pathogène obligatoire *Mycobacterium leprae,* parent proche du bacille tuberculeux. Le temps de génération de *M. leprae,* qui n'a jamais été cultivé au laboratoire, est de 14 jours. La comparaison de son génome (3,27 Mb) avec celui de *Mycobacterium tuberculosis* (4,41 Mb, temps de multiplication 24 heures) a fourni une explication partielle à cela parce qu'elle a révélé un cas d'évolution réductive extrême (Cole *et al.*, 2001). La moitié du génome de *M. leprae* est occupée par des pseudogènes dont les orthologues chez *M. tuberculosis* sont toujours fonctionnels. Une conséquence de la délétion et de l'inactivation des gènes a été l'élimination de nombreuses activités métaboliques, comme la production des sidérophores, la perte de plusieurs chaînes respiratoires et, surtout, une réduction importante du potentiel catabolique.

Pour mieux comprendre la génétique de *M. leprae*, et pour mettre au point un outil pour l'épidémiologie moléculaire, nous avons séquencé et comparé les génomes de quatre isolats différents venant de l'Inde et du Brésil (Monot *et al.*, 2005), deux pays où la prévalence de la lèpre est particulièrement élevée, de la Thaïlande et des Etats-Unis (Monot *et al.*, 2009). En raison du grand nombre de gènes inactifs mise en évidence au sein du premier génome la découverte de nombreuses mutations et de nouveaux pseudogènes étaient attendue. A notre grand étonnement, les quatre séquences se révèlent presqu'identiques et se distinguent seulement par la présence de 215 sites polymorphes, dont la plupart correspondent aux SNP (*single nucleotide polymorphisms*), et de cinq pseudogènes. Il n'existe aucun biais dans la distribution des SNP entre les gènes et les pseudogènes.

Afin d'identifier des SNP qui pourraient servir à la phylogénie, nous avons examiné un panel de sept souches de *M. leprae* bien caractérisées pour les 215 SNP et en avons identifié 78 informatifs, dont la distribution a été par la suite étudiée dans 400 souches de 28 origines géographiques différentes. Ainsi, nous avons pu classer les souches en 16 groupes qui montrent une association étroite entre le pays d'origine du malade et le génotype de *M. leprae.* A l'aide de cet outil phylogéographique un rapport étroit a été décelé entre les routes des migrations humaines et l'évolution du bacille de la lèpre (Monot et al., 2009).

Bibliographie

Cole, S. T., K. Eiglmeier, J. Parkhill, K. D. James, N. R. Thomson, P. R. Wheeler, N. Honore, T. Garnier, C. Churcher, D. Harris, K. Mungall, D. Basham, D. Brown, T. Chillingworth, R. Connor, R. M. Davies, K. Devlin, S. Duthoy, T. Feltwell, A. Fraser, N. Hamlin, S. Holroyd, T. Hornsby, K. Jagels, C. Lacroix, J. Maclean, S. Moule, L. Murphy, K. Oliver, M. A. Quail, M. A. Rajandream, K. M. Rutherford, S. Rutter, K. Seeger, S. Simon, M. Simmonds, J. Skelton, R. Squares, S. Squares, K. Stevens, K. Taylor, S. Whitehead, J. R. Woodward & B. G. Barrell, (2001) Massive gene decay in the leprosy bacillus. *Nature* **409:** 1007-1011.

Monot, M., N. Honore, T. Garnier, R. Araoz, J. Y. Coppee, C. Lacroix, S. Sow, J. S. Spencer, R. W. Truman, D. L. Williams, R. Gelber, M. Virmond, B. Flageul, S. N. Cho, B. Ji, A. Paniz-Mondolfi, J. Convit, S. Young, P. E. Fine, V. Rasolofo, P. J. Brennan & S. T. Cole, (2005) On the origin of leprosy. *Science* **308:** 1040-1042.

Monot, M., N. Honore, T. Garnier, N. Zidane, D. Sherafi, A. Paniz-Mondolfi, M. Matsuoka, G. M. Taylor, H. D. Donoghue, A. Bouwman, S. Mays, C. Watson, D. Lockwood, A. Khamispour, Y. Dowlati, S. Jianping, T. H. Rea, L. Vera-Cabrera, M. M. Stefani, S. Banu, M. Macdonald, B. R. Sapkota, J. S. Spencer, J. Thomas, K. Harshman, P. Singh, P. Busso, A. Gattiker, J. Rougemont, P. J. Brennan & S. T. Cole, (2009) Comparative genomic and phylogeographic analysis of *Mycobacterium leprae*. *Nat Genet.* **41:** on line.

234/59s — 4 décembre 2009 - 14:40 - 341

***Helicobacter pylori*, un marqueur des grandes migrations humaines**

J. Raymond[1-2], S. Breurec[3], H. de Reuse[2], C. Dauga[2]
[1]Bactériologie, Hôpital Cochin [2]Paris, France [3]Institut Pasteur, Dakar, Sénégal

L'histoire de l'évolution humaine et des grandes migrations a été étudiée à l'aide de différents

marqueurs de polymorphisme génétique (mtDNA, microsatellites, polymorphisme chromosomique) (Cann et al.,2001). En l'absence de « gold standard », d'autres alternatives ont été développées utilisant des commensaux, des parasites, voire des animaux accompagnant l'homme, comme le rat (Matisoo-Smith & Robins, 2004). *Helicobacter pylori* est un bon candidat pour suivre les migrations humaines puisque 1) cette bactérie colonise plus de 50% de la population mondiale 2) sa diversité génétique, liée à de fréquentes recombinaisons, est une des plus importantes du monde bactérien 3) le principal mode de contamination est la transmission intrafamiliale de parent à enfant ou dans la fratrie (Raymond *et al.*, 2004 ; Raymond *et al.*, 2008). Cette bactérie suit donc l'homme dans ses migrations.

Nous avons observé en séquençant des gènes variables et essentiels (*hspA glmM*), que les souches de *H. pylori* diffèrent entre les individus d'une même famille. Ces différences sont encore plus importantes quand les isolats proviennent de différents continents (Raymond *et al.*, 2004). Des recombinaisons entre souches isolées chez différents membres d'une même famille, favorisant la diversité génétique de *H. pylori*, ont été mises en évidence (Raymond *et al.*, 2008). Si la transmission familiale prédomine, l'isolement géographique et des effets fondateurs conduisent à des populations biogéographiques distinctes de *H. pylori*.

L'étude du polymorphisme génétique de 7 gènes de ménage (*atpA, efp, mutY, ppa, trpC, ureI, yphC* – (Multilocus sequence typing (MLST)) et du gène *vacA* chez 370 souches de *H. pylori* isolées de patients originaires de 27 groupes géographiques, ethniques et linguistiques différents démontre la forte structure biogéographique de l'espèce (Falush *et al*, 2003). Les souches ont d'abord été classées en 4 groupes génétiques dont deux sont subdivisées en sous-populations : hpEurope, hpAfrica2, HpAfrica1 (hspSAfrica, hspWAfrica) et hpEastAsia (hspAmerind, hspEAsia, hspMaori). En étudiant 769 souches isolées de patients originaires de 51 régions géographiques, 2 nouveaux groupes génétiques ont été reconnus : hpAsia2 réunissant des souches de patients originaires du nord de l'Inde, de la Thaïlande, du Bangladesh, des Philippines et de l'Asie du Sud-Est, et hspNEAfrica prédominants chez des patients originaires d'Ethiopie, de Somalie, du Soudan et du Nord du Nigeria (Linz et al., 2007). Plus résolutive que l'analyse du polymorphisme humain, l'étude des souches de *H. pylori* a permis de différencier deux populations au Ladakh (Inde), l'une bouddhiste et l'autre musulmane montrant aussi l'arrivée plus tardive des tibétains dans la région (Wirth *et al*. 2004).

La plus grande diversité génétique est observée en Afrique. En particulier, certains peuples Xhosas d'Afrique du Sud sont porteurs de lignées très différenciées qui, à ce jour, n'ont été observées nulle part ailleurs (hpAfrica 2). La diversité génétique de ces bactéries décroît de façon presque linéaire lorsque la distance géographique à l'Afrique s'accroît. Cette réduction de la diversité depuis l'Afrique devient plus difficile à mettre en évidence à une

échelle géographique plus réduite. Au sein des continents, la diversité est fortement influencée par des événements migratoires plus récents. L'Europe est la seule zone du globe pour laquelle suffisamment d'échantillons étaient disponibles pour une analyse régionale. À cette échelle, un parallèle frappant entre la distribution géographique des polymorphismes de *H. pylori* et des populations humaines a été observé. Finalement, des simulations indiquent que l'ancêtre de toutes les souches de *H. pylori* est originaire d'Afrique de l'Est avec une date d'expansion estimée à environ 58 000 ans, une date en concordance parfaite avec les datations les plus récentes pour l'expansion de l'homme. Ceci implique que *H. pylori* était présent en Afrique avant les grandes migrations suggérant que l'Afrique est à la fois le berceau de l'homme et de *H. pylori* (Linz et al.,2007).

L'analyse du polymorphisme génétique des souches permet de retracer la plupart des anciennes migrations humaines, comme l'expansion Bantu africaine, la migration vers l'Australie (60 000 ans avec JC), la migration vers le continent américain à partir de la Sibérie et de l'Asie du Sud-Est (4500 ans avant JC) et l'expansion des Polynésiens dans le Pacifique (4500 ans avant JC). Récemment, Moodley *et al*. (Science 2009) ont retracé l'histoire du peuplement de l'Océanie selon la même méthode en incluant 212 souches provenant d'aborigènes de Taiwan et d'Australie, d'habitants de Nouvelle guinée, de Mélanésiens et de polynésiens de Nouvelle Calédonie. Ils observent deux vagues de migrations humaines dans la région pacifique : une première migration, très ancienne (31000 – 37000 ans), de l'Asie vers la Nouvelle Guinée et l'Australie (hspSahul), une deuxième vague, plus tardive (5000 ans) de Taiwan vers la Polynésie et la Mélanésie (hspMaori).

L'information issue du polymorphisme des séquences des gènes est aussi fortement corrélée au contenu en gènes des génomes (Gressman *et al.* 2005). Nous avons réalisé des macroarrays à partir de l'identification du pool de gènes variables observé entre 24 génomes de souches d'origine géographique différente (Breurec et al., soumis). Macroarrays et MLST nous ont permis d'identifier l'origine géographique de souches infectant des patients d'origine ethnique différente en Nouvelle Calédonie. Si l'origine biogéographique des souches infectant les populations locales reflète bien l'origine des populations humaines ayant colonisé l'île il y a 1500 ans, elle montre aussi l'influence d'immigrations beaucoup plus récentes (Européens [bagnards, fonctionnaires], Asiatiques [boat people] et Maghrébins [travailleurs]).

Ainsi, *H. pylori* est plus qu'un témoin de l'évolution de l'homme, et peut représenter une alternative prometteuse à l'étude des marqueurs génétiques humains pour l'étude des migrations des différentes populations ainsi que de leurs interactions.

- Cann RL. Science,2001 ;291 :1742-48
- Matisoo-Smith E, Robins JH, PNAS,2004;15:8167-72
- Raymond J, et al.Emerg Infect Dis. 2004 Oct;10(10):181
- Raymond J et al.. Plos One.2008;3:2259
- Falush et al. Science. 2003 Mar 7;299:1582-5
- Linz B et al., Nature. 2007 Feb 22;445:915-8
- Wirth T et al. PNAS.2004;101:4746-51
- Moodley Y et al. Science. 2009;323 : 527-30
- Gressman H. et al. Plos Genetics.2005;1:419-27

236/60s — 4 décembre 2009 - 14:00 - 342A

Épidémiologie des infections sexuellement transmissibles bactériennes en France en 2009

A. Gallay[4], A. Bouyssou-Michel[4], V. Goulet[4], B. de Barbeyrac[1], B. Basselier[4], E. Laurent[4], A. Bianchi[3], P. Sednaoui[2], C. Semaille[4]

[1]Centre National de Référence des infections à Chlamydiae, Université Victor Segalen, Bordeaux [2]Centre National de Référence des infections à gonocoques, Institut Alfred Fournier, Paris [3]Centre National de Référence de la syphilis, Saint Denis [4]Unité VIH-IST-Hépatite B et C, Département des maladies infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Alors que l'infection à VIH poursuit sa progression en France, on assiste depuis la fin des années 90 à la recrudescence des infections sexuellement transmissibles (IST) voire à l'émergence de pathologie peu connue. Les infections à gonocoques ont commencé à augmenter lentement puis une recrudescence de la syphilis a été observée fin 2000 suivie de l'émergence de la lymphogranulomatose vénérienne (LGV) rectale en 2003. Les IST touchent plus particulièrement des populations spécifiques comme les homosexuels masculins.

Méthodes : La surveillance des IST, coordonnée par l'Institut de Veille Sanitaire, repose principalement sur leur notification par des réseaux de laboratoires volontaires (Renago et Renachla) ou par un réseau de structures (Ciddist ou consultations médicales) volontaires (RésIST) (1).

§ Les réseaux de laboratoires des infections à gonocoques (Renago, environ 250 laboratoires) et des infections à chlamydiae trachomatis (Renachla, environ 80 laboratoires) ont été mis en place dès la fin des années 1980.

- Renago permet de suivre les tendances des gonococcies et d'étudier la sensibilité aux antibiotiques des souches de gonocoques. L'indicateur défini pour suivre l'évolution des gonococcies est le nombre moyen de gonocoques isolés par laboratoire et par an. Un cas est défini par l'isolement de *N.gonorrhea* en culture. La recherche de la sensibilité aux antibiotiques est réalisée sur les souches envoyées par les laboratoires de Renago au Centre National de Référence (CNR) des gonocoques. Depuis 2008, la sensibilité à sept antibiotiques est étudiée (dont la ceftriaxone et le cefixime recommandés en première intention pour le traitement des gonococcies non compliquées).

- Renachla permet de suivre les tendances des infections à *C. trachomatis* à travers le nombre de recherche de *C. trachomatis* et de cas positifs parmi ces recherches, par sexe et par an. Le taux de positivité est le nombre de cas diagnostiqué rapporté au nombre de personnes testées pour *C. trachomatis* et par an. Un cas positif est un patient pour lequel un prélèvement est positif à *C. trachomatis* détecté par les techniques suivantes : culture cellulaire, immunoenzymatique, immunofluorescence, et biologie moléculaire dont la PCR.

Ces deux réseaux permettent de recueillir des informations sur les caractéristiques des personnes diagnostiquées avec une IST concernant le sexe, l'âge et le site de prélèvement. Pour les *C. trachomatis,* d'autres informations supplémentaires sur la clinique et les circonstances de dépistage ou de diagnostic sont recueillies. La quasi-totalité des régions en métropole sont représentées.

Pour analyser les tendances et éliminer les biais liés aux changements du nombre de laboratoires participant, l'analyse est complétée par une analyse limitée aux laboratoires qui participent régulièrement.

§ Parallèlement, ResIST a été mis en place progressivement à partir de 2001 afin d'assurer la surveillance de la syphilis, dans un premier temps, puis des infections à gonocoques et des LGV rectales en 2004. Ce réseau recueille des informations cliniques, biologiques (documentées par le clinicien) et comportementales (à travers un auto-questionnaire). La définition de la syphilis précoce comprend les phases primaire (présence de chancre), secondaire (présence d'éruption) et latente de moins d'un an (absence de signes cliniques). La définition de cas des infections à gonocoque repose sur une culture positive. Un cas de LGV est un patient pour lequel la recherche de *C. trachomatis* par PCR est positive et dont le génovar appartient au type L1,L2 ou L3.

En dehors du réseau RésIST, la surveillance de la LGV repose également sur un réseau de laboratoires volontaires mis en place progressivement à partir de 2004. Les échantillons rectaux qui se révèlent positifs à *C. trachomatis* par PCR sont envoyés au CNR des infections à *C. trachomatis* pour génotypage.

Il n'existe pas de surveillance de la syphilis congénitale en France. Cependant des études ponctuelles et régulières à partir des données hospitalières du PMSI permettent d'estimer le nombre annuel de syphilis congénital et d'avoir un indicateur de tendance Il a été estimé en France pour l'année 2004 à partir des données hospitalières nationales (PMSI) (2).

La surveillance des IST est coordonnée par l'Institut de Veille Sanitaire mais s'appuie sur l'expertise et la collaboration des Centres Nationaux de Référence des infections à gonocoques (Institut Alfred Fournier, Paris), à chlamydiae (Université Victor Segalen, Bordeaux) et de la syphilis (Laboratoire de Saint Denis).

Résultats

Après des années de décroissance, les infections à gonocoques ont commencé à augmenter lentement dés 1996-97 puis plus rapidement à partir de 2002 (figure n°1). Le nombre moyen de gonocoques a augmenté de +130% en cinq années, en passant de 1,6 à près de 4 en 2006. Un pic du nombre de souches isolées est observée pour l'année 2006, de manière plus marquée chez les femmes. Quelles que soient les années, les infections à gonocoques sont plus fréquemment isolées chez les hommes que chez les femmes et ces derniers sont toujours plus âgés que les femmes (30 ans versus 26 ans). Depuis la mise en place de la surveillance avec Renago, le nombre de *N.gonorrhea* isolé est toujours plus élevé en Ile-de-France (6,2 en 2008) que dans les autres régions (2,4), cependant pour l'année 2008 le nombre moyen a fortement diminué en IDF.

Le diagnostic des infections à *C. trachomatis* est le plus souvent réalisé avec la PCR, technique la plus fréquemment utilisée dans les laboratoires (près de 90% des prélèvements depuis 2005). On observe depuis 1997 une augmentation de l'activité de dépistage et du nombre de recherches positives à *C. trachomatis* quel que soit le sexe mais de manière plus marquée chez les femmes. De surcroit chez ces dernières, le nombre de cas positifs a augmenté plus fortement (+66%) que le nombre de recherches (+12%). L'activité de dépistage de *C. trachomatis* chez des personnes asymptomatiques a considérablement augmenté ces dernières années chez les hommes et les femmes.

Les femmes de moins de 25 ans (60%) et les hommes de moins de 30 ans (50%) représentent les classes d'âge les plus touchées par *C. trachomatis.*

Au début des années 2000, les premiers cas de syphilis ont été diagnostiqués chez des homosexuels masculins en région parisienne, l'épidémie de syphilis s'étant étendue secondairement en dehors de l'Ile de France. En termes de tendance, le nombre de cas de syphilis notifiés dans RésIST a augmenté régulièrement entre 2000 et 2008, sauf pour les années 2004 et 2005 (figure 3). En 2007/2008, le nombre de diagnostics de syphilis semble stable mais cette stabilité cache des disparités régionales : le nombre de cas augmente lentement dans les régions hors Ile de France alors qu'en IDF les diagnostics de syphilis ont diminué en 2008. Cette diminution est liée à une baisse du nombre de cas de syphilis déclarés chez les homosexuels masculins.

Sur l'ensemble de la période (2000-2008), 3 487 diagnostics de syphilis ont été notifiés dans le réseau RésIST. La majorité des notifications (82%) concernaient des diagnostics chez des homo-bisexuels masculins, les hétérosexuels masculins et féminins représentant respectivement 13 et 5% de l'ensemble des cas. Près de la moitié des sujets était séropositif (42%) et âgé en moyenne de 36 ans.

Le réseau RésIST a incorporé progressivement, à partir de 2004, la surveillance des infections à gonocoques permettant ainsi de compléter les données Renago pour des informations cliniques et comportementales. Entre 2004 et 2008, 900 cas de gonococcies ont été notifiés dans ce réseau. Les sujets avaient en moyenne 29,5 ans et les homo-bisexuels masculins représentaient 65% des notifications (les hétérosexuels masculins et féminins respectivement 28% et 7%). La prévalence du VIH parmi l'ensemble des cas était de 15%.

Le nombre de diagnostics de LGV a régulièrement augmenté entre 2004 (102 cas) et 2007/2008 (170 cas en 2007 et 174 cas en 2008). Elle concerne exclusivement des homosexuels masculins qui sont majoritairement séropositif (90%).

L'analyse des données du PMSI a permis d'identifier 6 cas de syphilis congénitale en 2004 dont deux enfants adoptés nés à l'étranger et quatre enfants nés en France principalement de mères nées à l'étranger.

Discussion

Le nombre de notifications pour la syphilis, les gonococcies et la LGV par les réseaux de surveillance semble stable sur la période 2007/2008. Ces tendances doivent cependant être interprétées avec précaution car ces réseaux reposent sur un nombre limité de structures ou laboratoires dont la participation peut fluctuer au cours de temps. Les regroupements des laboratoires, de plus en plus fréquent, peuvent avoir un impact sur le nombre de notifications (il est de plus en plus difficile de suivre l'activité d'un même core-group de laboratoires sur une longue période). Les données de la surveillance doivent également être interprétées à la lumière des données sur les comportements de dépistage. Par exemple, le nombre plus élevé des cas de gonococcies observées en 2006 peut refléter notamment un meilleur dépistage cette année là suite à l'intensification des campagnes de prévention sur les IST. Pour les infections à *C. trachomatis*, il est difficile de conclure si l'augmentation du nombre de diagnostics de chlamydiose et du taux de positivité correspond à une augmentation de l'incidence plutôt qu'à la progression du dépistage.

Plusieurs résultats de la surveillance des IST sont préoccupants. Même si l'épidémie de syphilis concerne principalement les homosexuels en France, le nombre de diagnostics de syphilis chez les hétérosexuels augmente progressivement. Une diffusion de la syphilis dans la communauté hétérosexuelle est donc à craindre avec un risque majeur chez la femme enceinte de transmission du tréponème à l'enfant. La syphilis congénitale n'a d'ailleurs pas totalement disparu en France.

Malgré les recommandations de l'Affsaps en 2005, la ciprofloxacine est encore trop largement prescrite pour les infections à gonocoques comme le montre l'étude sur la prise en charge des urétrites masculines réalisée auprès des médecins généralistes du réseau Sentinelle (52% des traitements hors recommandation) avec pour conséquence l'augmentation persistante de la résistance à cet antibiotique en 2007 (42,7%). En 2008, l'Affsaps recommandait à nouveau la ceftriaxone, associée à un traitement vis-à-vis des Chlamydiae. Un autre résultat préoccupant est que la communauté homosexuelle en France est très touchée par les IST. Cette recrudescence des IST s'inscrit dans un contexte de comportements sexuels à risque et d'une prévalence élevée du VIH dans la communauté homosexuelle (entre 13 et 15% selon les enquêtes) (3).

Les résultats de Rénachla montrent que les moins de 25 ans chez la femme et les moins de 30 ans chez l'homme représentent les classes d'âge les plus touchées, ce qui est compatible avec les résultats de l'enquête Natchla réalisée en 2006 auprès d'un échantillon de 2 580 sujets âgés de 18 à 44 ans (4) : la prévalence de *C. trachomatis* était maximale chez les 18-24 ans (3,6% chez les femmes et 2,4% chez les hommes). Le dépistage des infections à *C. trachomatis* est donc essentiel et il faut espérer que le rapprochement des CDAG avec les Ciddist favorise le dépistage de ces jeunes qui fréquentent régulièrement les CDAG.

En termes d'évolution des IST, la situation de la France n'est pas très différente de ses voisins européens. L'Europe de l'Ouest s'est trouvée confrontée à la résurgence de la syphilis et à l'émergence de la LGV. Les premières épidémies de syphilis sont survenues en Allemagne et au Royaume Uni dés le milieu des années 1990 puis elles ont été rapportées dans l'ensemble des autres pays européens à partir de 2000 (Suède, Norvège, Irlande, Belgique, Espagne, Italie). Et ce sont les Pays Bas qui ont identifié les premiers cas de LGV puis donné l'alerte ce qui a permis de diagnostiquer en France les premiers cas chez des homosexuels séropositifs.

Les données de surveillance reposant sur des réseaux volontaires, même imparfaites, sont indispensables pour guider les politiques publiques, notamment les recommandations en matière de prévention, de dépistage ou de diagnostic.

Références

1. Numéro thématique : Bilans réguliers de surveillance - Infections sexuellement transmissibles. Bull Epidémiol Hebdo 2008, n°05-06 : 33-48.

2. Nicolay N, Gallay A, Michel A, Nicolau P, Desenclos JC, Semaille C. Reported cases of congenital syphilis in the Fench national hospital database. Eurosurv 2008 Dec 11;13(50).

3. Velter A. Comportements sexuels à risque vis-à-vis du VIH et des IST et stratégie de réduction des risques sexuels. Rapport Enquête Presse Gay. Saint Maurice. Institut de Veille Sanitaire, 2007.

4. Warszawski J, Goulet V. Enquête sur la sexualité en France. Pratiques, genre et santé. Chapitre Infections sexuellement transmissibles : des conditions inégales d'accès au dépistage. Paris : Editions La Découverte, 2008.

5. Prise en charge des urétrites masculines non compliquées. Rapport d'étude épidémiologique. Réseau Sentinelles, p. 45 http://www.sentiweb.org/

Figure n°1 : Evolution des souches de gonococcies isolées dans le réseau Renago, 1990-2008 (nombre moyen de souches de gonocoques par laboratoire), Source InVS

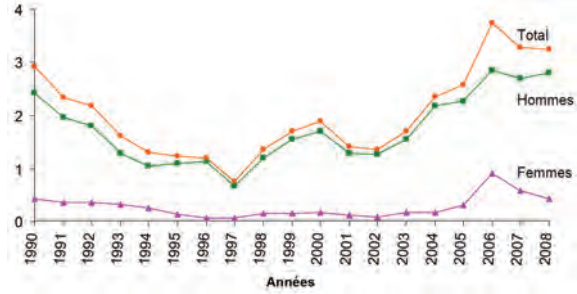


Figure n°2 : Evolution du nombre de recherches et de cas positifs à Ct chez les hommes et les femmes dans le réseau Renachla, 1990-2007

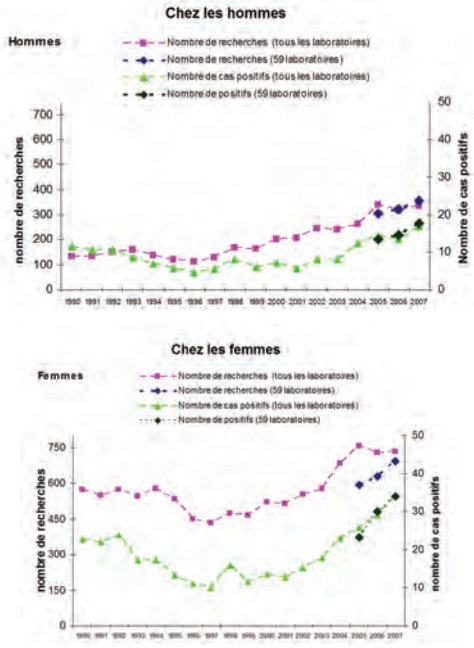
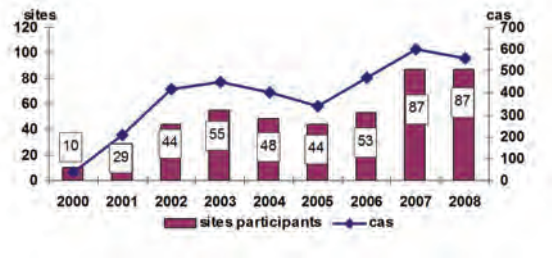


Figure n°3 : Nombre annuel de cas de syphilis et de sites participants, réseau RésIST, 2000-2008



237/60s 4 décembre 2009 - 14:20 - 342A

Chlamydia et mycoplasmes en pathologie urogénitale : données actuelles

C. Bébéar, B. de Barbeyrac

Laboratoire de Bactériologie EA 3671, Infections humaines à mycoplasmes et à chlamydiae, CNR des infections à chlamydiae, Université Victor Segalen Bordeaux 2, France

Souvent qualifiés de bactéries atypiques, mycoplasmes et chlamydiae sont responsables d'infections sexuellement transmissibles (IST) et sont globalement sensibles aux mêmes antibiotiques.

Les infections génitales à *C. trachomatis* représentent un problème d'actualité en raison, d'une part de leur fréquence, 1ère IST bactérienne en population générale, d'autre part de l'émergence de lymphogranulomatose vénérienne rectale dans la population homosexuelle. Le plus souvent asymptomatique, l'infection basse chez la femme est suspectée devant une cervicite et l'infection haute devant des douleurs pelviennes. Elle représente la principale cause infectieuse de stérilité tubaire. Chez l'homme, l'infection à *C. trachomatis* se présente dans la moitié des cas comme une urétrite subaiguë (2).

Les mycoplasmes génitaux pathogènes pour l'homme sont *Mycoplasma genitalium*, *Mycoplasma hominis*, *Ureaplasma urealyticum* et *Ureaplasma*

parvum, regroupés sous le terme *Ureaplasma* spp. *M. hominis* et *Ureaplasma* spp. peuvent appartenir à la flore commensale des voies génitales. *M. genitalium* et *Ureaplasma* spp. sont des agents d'urétrites non gonococciques (UNG), aiguës et chroniques. *M. genitalium* serait la deuxième cause d'UNG derrière *C. trachomatis* et serait responsable de 15 à 25% des cas. Les uréaplasmes peuvent également causer une UNG dont le diagnostic est rendu difficile par leur présence à l'état commensal. *U. urealyticum* est détecté plus souvent chez des patients atteints d'urétrites en dehors de tout autre pathogène alors que la présence de *U. parvum* serait le témoin d'une simple colonisation. Le rôle des mycoplasmes est moins bien connu dans les infections féminines. Les espèces les plus impliquées sont *M. hominis* et *M. genitalium*. La vaginose bactérienne, caractérisée par un déséquilibre de la flore, s'accompagne dans 2/3 des cas d'une prolifération importante de *M. hominis. M. hominis* peut être responsable de salpingites, mais plutôt comme agent de surinfections que comme agent pathogène primaire(5). Seul *M. genitalium* joue un rôle dans les cervicites muco-purulentes et les urétrites féminines. Il est également mis en cause dans la survenue d'endométrites et de salpingites aiguës confirmées par cœlioscopie (1).

Le diagnostic des infections dues à *C. trachomatis* et aux mycoplasmes génitaux est un diagnostic direct par mise en évidence de la bactérie ou de ses acides nucléiques. Les sérologies ne sont à recommander que dans l'infection haute à *C. trachomatis*. Ce diagnostic direct se fait essentiellement par amplification génique pour *C. trachomatis* et *M. genitalium* tandis que *Ureaplasma* spp. et *M. hominis* peuvent être recherchés par culture. Alors qu'il existe de nombreuses trousses commercialisées pour l'amplification génique de *C. trachomatis*, il n'en existe pas encore de validées pour *M. genitalium*. Le diagnostic de LGV rectale passe par le génotypage des souches à partir des prélèvements rectaux positifs à *C. trachomatis*.

Les tétracyclines, les macrolides et apparentés et les fluoroquinolones sont actifs vis-à-vis des deux groupes de bactéries (3). Des cas de résistance acquise aux tétracyclines responsable d'échec thérapeutique ont été rapportés pour *M. hominis* et *Ureaplasma* spp., liés à l'acquisition du gène de résistance *tet(M).* De nombreux échecs thérapeutiques avec survenue d'UNG persistantes ou récurrentes, sont décrits lors du traitement d'UNG à *M. genitalium* par les tétracyclines. Quelques échecs sont aussi observés avec des traitements mono-doses par l'azithromycine (4). La résistance acquise est plus controversée chez les chlamydiae (3).

La prévention de l'infection à *C. trachomatis* passe par un dépistage dans les populations à risque. Les recommandations actuelles sont de proposer un auto-prélèvement dans les centres de planning, les centres d'orthogénie, les CDAG, aux femmes de 15 à 25 ans et aux hommes de moins de 30 ans présentant des facteurs de risque.

1. **Bébéar, C., and C. M. Bébéar.** 2007. Infections humaines à mycoplasmes. Revue Française des Laboratoires **391:**63-69.

2. **Bébéar, C., and B. de Barbeyrac.** 2009. Genital *Chlamydia trachomatis* infections. Clin Microbiol Infect **15:**4-10.

3. **Bébéar, C. M., B. de Barbeyrac, S. Pereyre, and C. Bébéar.** 2007. Mycoplasmes et chlamydiae: sensibilité et résistance aux antibiotiques. Revue Française des Laboratoires **392:**77-85.

4. **Mena, L. A., T. F. Mroczkowski, M. Nsuami, and D. H. Martin.** 2009. A randomized comparison of azithromycin and doxycycline for the treatment of *Mycoplasma genitalium*-positive urethritis in men. Clin. Infect. Dis. **48:**1649-1654.

238/60s — 4 décembre 2009 - 14:40 - 342A

Gonocoque : quelle peut être la place des méthodes d'amplification génique ? Evolution de la résistance aux antibiotiques.

P. Sednaoui
CNR des gonocoques, Institut Alfred Fournier, Paris, France

Les infections à *Neisseria gonorrhoeae* représentent l'une des infections sexuellement transmissibles les plus courantes dans le monde, après les infections à *Chlamydia trachomatis*. En France, les infections *N. gonorrhoeae* sont en recrudescence depuis 1998 (RENAGO). Il s'agit le plus souvent d'infections génitales basses non compliquées, responsables d'infections cervicales, urétrales ou ano-rectales. En l'absence de traitement, ces infections peuvent provoquer des infections génitales hautes et se manifester chez la femme, sous la forme d'endométrites, de salpingites, de péritonites pelviennes et d'abcès tubaires et chez l'homme, d'orchi-épididymites. Un faible pourcentage de personnes infectées peut développer des infections gonococciques disséminées.

Le diagnostic biologique des IST est incontournable, car la symptomatologie des patients infectés est le plus souvent peu spécifique, voire absente.

Un traitement antibiotique rapide et adapté des patients infectés et de leur(s) partenaire(s) est capital pour stopper la transmission de ces infections et éviter leur propagation dans la population générale. L'augmentation rapide ces dernières années des résistances acquises de *N. gonorrhoeae* à différentes familles d'antibiotiques, et tout particulièrement aux fluoroquinolones, a compliqué la tâche des médecins et a aussi été très probablement à l'origine de nombreux échecs thérapeutiques.

L'isolement sur géloses enrichies et sélectives de *N. gonorrhoeae* est une méthode très sensible et très spécifique. Cette méthode relativement peu onéreuse est actuellement considérée comme la méthode de référence. Elle permet en outre de tester et de suivre la sensibilité des souches aux antibiotiques et de pratiquer des tests complémentaires, comme le sérotypage et le génotypage, indispensables au suivi épidémiologique de ces infections.

Toutefois, la culture de *N. gonorrhoeae* est délicate. Elle nécessite un prélèvement de qualité, effectué au niveau des voies génitales basses par un personnel compétent et qualifié, avec un matériel de prélèvement adapté. Les conditions de transport et de conservation de ces échantillons sont assez drastiques, le délai de transport ne devant pas excéder 24 heures. L'isolement et l'identification du gonocoque nécessitent aussi des techniciens expérimentés. La culture de *N. gonorrhoeae* est souvent difficile à partir de sites comme le pharynx, le rectum et le col utérin, car ces échantillons poly-contaminés présentent souvent un faible inoculum bactérien, et certains antibiotiques présents dans les milieux de culture sélectifs, inhibent parfois la croissance des gonocoques. Enfin, la culture du gonocoque est très difficile à partir de certains échantillons biologiques comme le premier jet d'urines et l'auto-prélèvement vaginal.

Hormis la culture, les méthodes utilisées pour la détection de *N. gonorrhoeae* sont les méthodes d'hybridation directe à l'aide de sondes ADN marquées et les méthodes d'amplification géniques qui sont les méthodes actuellement les plus sensibles et les plus spécifiques. La deuxième génération de ces méthodes d'amplification génique, Polymerase Chain Reaction (PCR), Ligase Chain Reaction (LCR), Strand Displacement Amplification (SDA) et Transcription-Mediated Amplification (TMA) est nettement plus sensible et spécifique que les premières générations de tests. La PCR, LCR et SDA amplifient l'ADN bactérien, alors que la TMA amplifie l'ARN ribosomal bactérien. Les dernières études montrent que ces tests ont une sensibilité pratiquement équivalente à la culture ainsi qu'une excellente spécificité qui dépasse les 99.0%. Ces tests, à la différence de la culture, peuvent être pratiqués sur des échantillons comme les urines et les auto-prélèvements vaginaux et sont tout à fait adaptés au dépistage des patients asymptomatiques. Enfin, plusieurs trousses proposent aujourd'hui le dépistage combiné de *C. trachomatis* et de *N. gonorrhoeae* pour un prix presque équivalent à un dépistage isolé de *C. trachomatis*. Il faut souligner qu'il sera bientôt possible de dépister plus de deux pathogènes simultanément par ces nouvelles méthodes d'amplification génique (*C. trachomatis*, *N. gonorrhoeae* et *Mycoplasma genitalium*). Les tubes de transport pour ces tests d'amplification sont stables à température ambiante pendant plusieurs jours.

Le test « Aptima Combo 2 Assay » de Gen-Probe (TMA), qui est considéré actuellement comme l'un des meilleurs tests d'amplification génique de deuxième génération, est utilisé en routine depuis juin 2008 à l'Institut Alfred Fournier.

Il nous a permis de dépister depuis cette date, chez 2282 jeunes femmes asymptomatiques de moins de 25 ans consultantes au CDAG, par auto-prélèvement vaginal, 228 infections à *C. trachomatis* (9.97%) et 16 infections à *N. gonorrhoeae* (0.7%) dont 8 co-infections CT-NG (0.35%). La moitié environ de ces infections à gonocoque ont pu être confirmé par culture lors de la consultation du rendu des résultats.

Nous avons aussi dépisté depuis octobre 2008, chez 177 hommes ou femmes peu symptomatiques venus consulter au CIDDIST de l'IAF, sur premier jet d'urines pour les hommes ou prélèvement cervical dirigé, 37 infections à *C. trachomatis* (20.9%) et 8 infections (4.5%) à *N. gonorrhoeae* dont 2 co-infections.

Enfin, ce test « Aptima Combo 2 Assay » a aussi remplacé depuis quelques mois la culture de *N. gonorrhoeae* au niveau cervical chez des jeunes femmes asymptomatiques venues consulter dans des CPEF du Val de Marne, car le délai de transport des tubes de transport (TGV aéro Biorad) jusqu'à l'IAF était compris entre 1 et 3 jours et le nombre d'isolement de gonocoque était pratiquement nul . Nous avons pu dépister ainsi depuis février 2009 chez 653 patientes, 82 infections à *C. trachomatis* (12.6%) et 12 infections à *N. gonorrhoeae* (1.8%) dont 8 co-infections CT-NG (1.2%).

N. gonorrhoeae, à la différence de *N. meningitidis*, est capable très facilement de recombinaisons génétiques, ce qui lui a permis de développer très rapidement de nombreuses résistances à des antibiotiques utilisés en thérapeutique. Ainsi, dés les années 70, sont apparues les premières résistances plasmidiques de haut niveau à la pénicilline (PPNG) puis à la tétracycline (TRNG), résistances qui ont très rapidement diffusé dans le monde entier. Durant cette période, on a vu aussi apparaître les premières résistances chromosomiques de bas niveau à ces deux antibiotiques (CMRNG). Dans les années 90, ont été observées les premières résistances chromosomiques de haut niveau aux fluoroquinolones (QRNG), qui se sont aussi propagées très rapidement sur tous les continents en quelques années. Enfin, dans les années 2000 sont apparues en Asie les premières résistances aux céphalosporines de 3ème génération, résistances qui sont heureusement encore relativement rares et localisées dans ces régions. Le pourcentage de PPNG (B-lactamase TEM1) en Europe de l'ouest (données ESSTI Euro-GASP, Annual report N°3 2008) est stable depuis 4 ans, aux alentours de 12%, celui des TRNG (déterminant *T et* M) est en progression depuis 4 ans, puisqu'il est passé de 12 à 16%, le pourcentage de CMRNG (*mtr, penB ,penC, rpsJ*) est relativement variable, entre 25 et 30% et enfin le pourcentage de QRNG (*gyr*A, *par*C, *MTR*) est en nette progression depuis 4 ans, puisqu'il est passé de 31% à plus de 51% en 2008. Aucune résistance à la ceftriaxone (CMI > 0.25 mg/l) n'a encore été trouvée en Europe de l'Ouest jusqu'à 2008, mais on note l'isolement de plus en plus fréquemment de souches présentant une CMI augmentée à la ceftriaxone et au céfixime, avec respectivement des valeurs pouvant atteindre 0.094 mg/l et 0.125 mg/l.

En conclusion, l'isolement de *N. gonorrhoeae* en culture restera encore pour longtemps la méthode de choix pour le diagnostic microbiologique des cervicites, urétrites et ano-rectites à gonocoque. Le prélèvement doit être pratiqué avant toute antibiothérapie afin de pouvoir isoler la souche, étudier sa sensibilité aux antibiotiques et rechercher ses différents marqueurs épidémiologiques. La deuxième génération des tests d'amplification génique, associés au dépistage simultané de *C. trachomatis*, sont des tests très sensibles et très spécifiques qui sont tout à fait adaptés au dépistage des infections à *N. gonorrhoeae* chez les patients asymptomatiques à risque d'IST et pour les recherches effectués à partir de sites poly-contaminés.

239/60S — 4 décembre 2009 - 15:00 - 342A

Syphilis : diagnostic et prise en charge en 2009

N. Dupin
Service de Dermatologie et CIDDIST, Hôpital Cochin, APHP, UPRES EA 1833, Université René Descartes, Paris, France

Récentes tendances épidémiologiques : Entre 2000 et 2006, 2306 cas de syphilis étaient notifiés à l'INVS, dont 61% diagnostiqués en Ile-de-France. Il s'agissait le plus souvent de syphilis symptomatique, au stade primaire (26%) ou secondaire (41%). Les autres cas étaient essentiellement des syphilis latentes précoces (33%). Le diagnostic était fait chez un homme dans 95% et l'âge moyen était de 37 ans. Il s'agissait d'homosexuels masculins dans 74% des cas, de bisexuels dans 9% des cas et d'hétérosexuels dans 17% des cas.

Présentation clinique actuelle en France : Une étude observationnelle incluant 284 cas a récemment évalué la présentation clinique de la syphilis dans un centre vénéréologique parisien[1]. La syphilis était le plus souvent diagnostiquée à l'occasion de manifestations cliniques (77%), plus rarement dans le cadre de dépistage systématique (18%), de notion de rapport avec un partenaire atteint (4%) ou lors du suivi de syphilis préalables (0,7%). Il s'agissait le plus souvent de syphilis primaire (29%), primo-secondaire (3,6%) ou secondaire (45%). Parmi les syphilis primaires, le chancre était le plus souvent génital (77%) (figure 2), mais les localisations anales (15%) et orales (7%) doivent être systématiquement dépistées[8]. Parmi les syphilis secondaires, les manifestations les plus fréquentes étaient les éruptions cutanées (86%), les adénopathies (52%) et les syphilides palmo-plantaires (38%). Les neurosyphilis étaient rares, survenant toujours au cours d'une syphilis secondaire, et étaient diagnostiquées dans 3,6% de la totalité des cas de syphilis. Une atteinte oculaire (uvéite antérieure le plus souvent) était également diagnostiquée dans 3,6% des cas de syphilis. Il faut insister sur les formes oculaires car elles sont souvent sous diagnostiquées et parfois sources de séquelles graves. Nous avons pu comparer deux groupes de patients avec syphilis selon qu'ils étaient ou non infectés par le VIH[2]. Nos données montrent que depuis la mise à disposition des combinaisons antirétrovirales, la présentation clinique de la syphilis n'est pas modifiée chez les patients séropositifs pour le VIH.

Traitement de la syphilis (recommandations Européennes 2009)[3] : La pénicilline G, reste le traitement de première ligne depuis les années 1940. Des échecs cliniques ont été rapportés avec l'azithromycine, qui doit être évitée. La surveillance de l'efficacité repose sur la clinique et le VDRL quantitatif, à 6, 12 et 24 mois. Schématiquement, après traitement, le VDRL est négatif en 1 an dans la syphilis primaire et en 2 ans dans la syphilis secondaire. On suspecte un échec thérapeutique si le VDRL n'a pas diminué de 2 dilutions (ou d'un facteur 4) à 6 mois. Certains auteurs moins exigeant recommandent d'attendre jusqu'à 1 an.

La *réaction de Jarisch – Herxheimer*, diagnostiquée devant une fièvre associée à une accentuation des signes cliniques de syphilis, est plus fréquente au cours de la syphilis secondaire. Habituellement sans gravités, elle présente un risque particulier chez le nouveau-né, la femme enceinte et au cours de la syphilis tertiaire. Le traitement est symptomatique (paracétamol, anti-inflammatoires non stéroïdiens ou corticoïdes). Les indications d'une éventuelle prévention ne font pas l'objet d'un consensus. Chez les VIH, il existe maintenant un consensus assez fort pour traiter avec une seule injection d'extencilline les patients ayant une syphilis précoce. Certains continuent cependant de recommander 3 injections à 8 jours d'intervalle.

Références

1. Farhi D, Zizi N, Grange P, et al. The epidemiological and clinical presentation of syphilis in a venereal disease centre in Paris, France. A cohort study of 284 consecutive cases over the period 2000-2007. Eur J Dermatol. Sous Presse 2009.
2. Farhi D, Benhaddou N, Grange P, et al. Clinical and serological baseline and follow-up features of syphilis according to HIV status in the post-HAART era. Medicine 2009 (sous presse).
3. French P, Gomberg M, Janier M, et al. IUSTI: 2008 European Guidelines on the Management of Syphilis. Int J STD AIDS. 2009;20; 300-309.

246/62SEP — 4 décembre 2009 - 14:20 - 351

Vieillissement et VIH

J. Capeau
Inserm CDR Saint-Antoine U938, UPMC UMR_S938, Hôpital Tenon APHP, Paris, France

L'infection VIH est devenue une infection chronique complexe. Une survie à long terme est actuellement envisagée chez la plupart des sujets. Cependant, ces patients doivent faire face à un nombre croissant de complications et, en particulier, à des co-morbidités associées au vieillissement survenant notablement plus tôt que dans la population générale. Ces complications pourraient résulter de l'effet des traitements mais également de la progression de l'infection VIH, même contrôlée, et ont conduit à proposer que l'infection par le VIH « comprime » le processus de vieillissement et accélère la survenue des co-morbidités et de la fragilité qui caractérise les patients âgés (Effros RB 2008, Desquilbet L 2009).

Vieillissement et inflammation : La présence d'une inflammation à bas grade est associée au vieillissement dans la population générale en dehors même de toute pathologie et comorbidité spécifique, objectivée par une augmentation progressive avec l'age des cytokines pro-inflammatoires circulantes et de la CRP (Krabbe KS 2004, Miles SA 2008). De nombreuses pathologies associées au vieillissement ont comme dénominateur commun une inflammation chronique de bas niveau, infra-clinique : atteintes métaboliques (obésité ou lipodystrophie et diabète) et cardio-vasculaires (athérosclérose) mais également neurocognitives (démences) et osseuses (ostéoporose) ainsi que des pathologies cancéreuses. Cette inflammation peut résulter de et engendrer une élévation du stress oxydant au niveau tissulaire (Galkina E 2009). Il a été proposé qu'au cours du vieillissement, les cellules du système monocytaire-macrophagique, présentes dans de nombreux tissus, soient activées à un niveau basal et secrètent des cytokines pro-inflammatoires participant à l'état d'inflammation systémique dénommé de façon explicite « inflammaging » (Chung HY 2008, Franceschi C 2007)

Dans la population infectée par le VIH, une inflammation à bas grade est également présente, que les patients soient ou non traités et, pour les non-traités, qu'ils contrôlent ou non leur infection (Hsue PY 2009). L'origine de cette inflammation est actuellement mal comprise et probablement multifactorielle faisant intervenir

- L'infection chronique même à bas niveau qui peut induire une activation immune, une inflammation à bas grade et augmenter le stress oxydant (van Leuwen SI 2007, Lo J 2008, Kuller LH 2008).

- Une activation immune spécifique du VIH mais également plus générale

- Des effets délétères propres à certaines molécules thérapeutiques qui peuvent induire des anomalies du tissu adipeux et métaboliques, une inflammation et un stress oxydant (Lagathu C 2007).

- La présente d'une lipodystrophie

- Et des facteurs propres au patient qui participent au vieillissement (anomalies métaboliques, HTA, atteinte rénale, tabagisme…).

Cette inflammation pourrait jouer un rôle important dans le vieillissement prématuré de ces patients

Mécanismes en jeu dans le vieillissement cellulaire et tissulaire : Le « vieillissement classique » est un processus complexe et multifactoriel caractérisé par une diminution de nos fonctions motrices et neuro-cognitives, de notre capacité à répondre au stress, par une augmentation de l'incidence de pathologies et dont la conséquence ultime est le décès (Weinert BT 2003). Au cours de ce processus interviennent des modifications métaboliques et cognitives auxquelles participent une résistance à l'insuline (Cohen E 2009) et des atteintes cellulaires induisant un processus de sénescence (Campisi J 2007, Kirkwood TB 2005).

La sénescence dite réplicative se traduit par un raccourcissement des extrémités télomériques des chromosomes. Chez la très grande majorité des cellules d'un individu, la longueur des télomères décroît avec l'age et ce paramètre peut être mesuré sur les cellules sanguines circulantes. Un grand nombre d'études a mis en évidence un raccourcissement de la longueur des télomères non seulement avec l'age mais également en relation avec la présence de pathologies liées au vieillissement : atteintes cardio-vasculaires, diabètes, hypertension artérielle (Cawthon RM 2003).

En outre, dans certaines situations d'agressions cellulaires, et en premier lieu en présence d'un stress oxydant, la cellule enclenche le processus de sénescence liée au stress alors que la taille des télomères n'est pas diminuée. La théorie des radicaux libres dans la survenue de la sénescence a été proposée de façon prémonitoire en 1956 par Harman (Harman D 1956) et largement vérifiée depuis. Elle postule que la cellule produit des dérivés réactifs de l'oxygène (DRO) qui vont, de façon cumulative, détériorer des constituants cellulaires aboutissant à la sénescence. Ces DRO sont produits naturellement par les mitochondries. Lorsque leur production dépasse leur seuil de détoxification, ils vont induire des oxydations des constituants cellulaires et altérer leurs fonctions. Au cours du vieillissement, on observe une déplétion du nombre de mitochondries qui voient diminuer leurs capacités de régénération et des dysfonctions au niveau des complexes mitochondriaux, dues, en autres, à des mutations de l'ADN mitochondrial. Ces modifications induisent une augmentation de la production des DRO au-delà des capacités de détoxification de la cellule qui vont induire des dommages à l'ADN et activer le processus de sénescence liée au stress. Les cellules sénescentes ont un phénotype modifié et secrètent des cytokines proinflammatoires (Weinert BT 2003, Campisi J 2007). On voit ainsi la boucle se refermer liant de façon étroite sénescence et inflammation (Coppe JP 2008)

L'implication des molécules antirétrovirales dans les processus de vieillissement est une hypothèse récente qui résulte de données montrant que, in vitro, certaines de ces molécules sont capables d'induire une sénescence cellulaire par au moins deux voies, la toxicité mitochondriale et l'accumulation de prélamine A impliquée dans le vieillissement prématuré en pathologie. De nombreuses études ont montré que, parmi les INTI, certains étaient capables d'inhiber l'ADN polymérase gamma mitochondriale, seule capable de dupliquer cet ADN. Cet effet aboutit à une baisse de sa quantité. Ces DRO peuvent altérer l'ADNmt mal protégé et induire des mutations à ce niveau. Ils peuvent également diffuser dans le cytoplasme et activer les voies de l'inflammation aboutissant à la sécrétion de cytokines proinflammatoires et à une résistance à l'insuline, comme montré dans les adipocytes humains en culture en réponse aux analogues thymidinique et à certains IP (Lagathu C 2007) deux événements associés au vieillissement. La production de DRO induites par les deux analogues de thymidine, mais pas les autres INTI, augmente au cours du vieillissement des cellules en culture et aboutit à une sénescence cellulaire (Caron M 2008). En accord, le tissu adipeux des patients lipodystrophiques recevant ces molécules montre des marqueurs de stress oxydant et de sénescence (Kim M 2008, Caron M 2008). Certains IP de première génération sont capables d'induire une accumulation de prélamine A, molécule de sénescence, dans des adipocytes et fibroblastes en culture qui est responsable d'un stress oxydant (Caron M 2003, Caron M 2007). L'étude des IP plus récemment mis sur le marché montre, qu'en général, ils n'induisent pas l'accumulation de prélamine A. Par contre le ritonavir, même à doses faibles,

comme celles utilisées dans les formules actuelles boostées, induit la formation de prélamine suggérant une participation de ces associations à la survenue d'une sénescence cellulaire liée au stress, bien que leur effet soit certainement plus faible que celui des IP de première génération.

Co-morbidités associées au vieillissement : Un grand nombre d'études a mis en évidence une augmentation notable de la prévalence de comorbidités classiquement associées au vieillissement survenant beaucoup plus tôt chez les patients infectés par le VIH que dans la population générale (Effros RB 2008, Brew BJ 2008). Ces anomalies concernent le risque cardio-vasculaire et métabolique, la motricité, les atteintes neuro-cognitives, osseuses, rénales, les cancers. Il est important de considérer que leur survenue précoce pourrait résulter d'un vieillissement accéléré. La survenue des lipodystrophies a été clairement associée aux traitements anti-rétroviraux et l'implication prioritaire des analogues de thymidine dans la classe des INTI mise en évidence dans plusieurs études ainsi que la réversion partielle de la lipodystrophie lors des remplacements de ces molécules par des analogues non-thymidiniques. Cependant le rôle du vieillissement dans ce processus n'est pas neutre. Il est connu que la répartition du tissu adipeux change avec l'age et que la graisse a tendance à se rassembler dans la partie supérieure du corps, en particulier dans la région abdominale, lors du vieillissement physiologique. Les adipocytes âgés produisent plus de cytokines pro-inflammatoires que les jeunes (Wu D 2007). Chez les patients infectés par le VIH, l'age a été retrouvé comme un des facteurs favorisant la lipodystrophie dans certaines études (Effros RB 2008).

La prévalence importante des atteintes neurocognitives constatée récemment conduit à poser la question de leur origine : aucune réponse satisfaisante n'est actuellement proposée, mais on peut envisager un rôle de l'inflammation à bas grade induite par les cytokines relâchées par des cellules infectées dans le système nerveux central en particulier d'origine macrophagique. Le rôle des molécules antirétrovirales est discuté.

L'atteinte osseuse avec prévalence importante d'ostéopénie et d'ostéoporose dans une population encore jeune pose également question et le rôle de l'infection et des traitements est au centre des hypothèses physiopathologiques sans aucune réponse satisfaisante à ce jour.

Parmi les autres comorbidités dont la prévalence augmente chez les patients infectés par le VIH, les cancers non-classants SIDA pourraient émerger de fait du déficit immunitaire, mais le rôle de la sénescence tissulaire, qui fait le lit du cancer (JP Coppe 2008), est également probablement en cause.

Le vieillissement trop rapide des patients infectés par le VIH avec son cortège de comorbidités devient actuellement une préoccupation majeure des patients et des médecins. Il reste encore beaucoup de chemin à faire pour le comprendre et le prévenir. En attendant, il est important de prendre en charge activement de façon préventive les facteurs qui participent au vieillissement dans la population générale et infectée par le VIH touchant aux règles hygiéno-diététiques, au tabac et aux facteurs modifiables, dyslipidémie, diabète, hypertension, carence en Vit D.

Références :

Brew BJ, Crowe SM, Landay A, Cysique LA, Guillemin G. Neurodegeneration and Ageing in the HAART Era. J Neuroimmune Pharmacol. 2008 Dec 6.

Campisi J, d'Adda di Fagagna F. Cellular senescence: when bad things happen to good cells. Nat Rev Mol Cell Biol. 2007 Sep;8(9):729-40.

Caron M, Auclair M, Sterlingot H, Kornprobst M, Capeau J 2003 Some HIV protease inhibitors alter lamin A/C maturation and stability, SREBP-1 nuclear localization and adipocyte differentiation. AIDS 17:2437-2444

Caron M, Auclair M, Donadille B, Bereziat V, Guerci B, Laville M, Narbonne H, Bodemer C, Lascols O, Capeau J, Vigouroux C 2007 Human lipodystrophies linked to mutations in A-type lamins and to HIV protease inhibitor therapy are both associated with prelamin A accumulation, oxidative stress and premature cellular senescence. Cell Death Differ 14:1759-1767

Caron M, Auclair M, Vissian A, Vigouroux C, Capeau J 2008 Contribution of mitochondrial dysfunction and oxidative stress to cellular premature senescence induced by antiretroviral thymidine analogues. Antivir Ther 13:27-38

Cawthon RM, Smith KR, O'Brien E, Sivatchenko A, Kerber RA. Association between telomere length in blood and mortality in people aged 60 years or older. Lancet. 2003 Feb 1;361(9355):393-5.

Cohen E, Dillin A 2008 The insulin paradox: aging, proteotoxicity and neurodegeneration. Nat Rev Neurosci 9:759-767

Coppé JP, Patil CK, Rodier F, Sun Y, Muñoz DP, Goldstein J, Nelson PS, Desprez PY, Campisi J. Senescence-associated secretory phenotypes reveal cell-nonautonomous functions of oncogenic RAS and the p53 tumor suppressor.PLoS Biol. 2008 Dec 2;6(12):2853-68.

Chung HY, Cesari M, Anton S, Marzetti E, Giovannini S, Seo AY, Carter C, Yu BP, Leeuwenburgh C. Molecular inflammation: underpinnings of aging and age-related diseases. Ageing Res Rev. 2009 Jan;8(1):18-30.

Desquilbet L, Margolick JB, Fried LP, Phair JP, Jamieson BD, Holloway M, Jacobson LP; Multicenter AIDS Cohort Study. Relationship between a frailty-related phenotype and progressive deterioration of the immune system in HIV-infected men. J Acquir Immune Defic Syndr. 2009 Mar 1;50(3):299-306.

Effros RB, Fletcher CV, Gebo K, Halter JB, Hazzard WR, Horne FM, Huebner RE, Janoff EN, Justice AC, Kuritzkes D, Nayfield SG, Plaeger SF, Schmader KE, Ashworth JR, Campanelli C, Clayton CP, Rada B, Woolard NF, High KP 2008 Aging and infectious diseases: workshop on HIV infection and aging: what is known and future research directions. Clin Infect Dis 47:542-553

Franceschi C, Capri M, Monti D, Giunta S, Olivieri F, Sevini F, Panourgia MP, Invidia L, Celani L, Scurti M, Cevenini E, Castellani GC, Salvioli S. Inflammaging and anti-inflammaging: a systemic perspective on aging and longevity emerged from studies in humans. Mech Ageing Dev. 2007 Jan;128(1):92-105.

Galkina E, Ley K. Immune and inflammatory mechanisms of atherosclerosis. Annu Rev Immunol. 2009, 27:165-97.

Harman D 1956 Aging: a theory based on free radical and radiation chemistry. J Gerontol 11:298-300

Hsue PY, Hunt PW, Schnell A, Kalapus SC, Hoh R, Ganz P, Martin JN, Deeks SG. Role of viral replication, antiretroviral therapy, and immunodeficiency in HIV-associated atherosclerosis. AIDS 2009, 23:1059-67.

Kim MJ, Jardel C, Barthelemy C, Jan V, Bastard JP, Fillaut-Chapin S, Houry S, Capeau J, Lombes A 2008 Mitochondrial DNA content, an inaccurate biomarker of mitochondrial alteration in human immunodeficiency virus-related lipodystrophy. Antimicrob Agents Chemother 52:1670-1676

Kirkwood TB. Understanding the odd science of aging Cell. 2005 Feb 25;120(4):437-47

Krabbe KS, Pedersen M, Bruunsgaard H. Inflammatory mediators in the elderly. Exp Gerontol. 2004, 39:687-99.

Kuller LH, Tracy R, Belloso W, De Wit S, Drummond F, Lane HC, Ledergerber B, Lundgren J, Neuhaus J, Nixon D, Paton NI, Neaton JD 2008 Inflammatory and coagulation biomarkers and mortality in patients with HIV infection. PLoS Med 5:e203

Lagathu C, Eustace B, Prot M, Frantz D, Gu Y, Bastard JP, Maachi M, Azoulay S, Briggs M, Caron M, Capeau J 2007 Some HIV antiretrovirals increase oxidative stress and alter chemokine, cytokine or adiponectin production in human adipocytes and macrophages. Antivir Ther 12:489-500

Lo J and Grinspoon S 2008 Cardiovascular disease in HIV-infected patients: does HIV infection in and of itself increase cardiovascular risk? Curr Opin HIV AIDS 3:207-213

Miles EA, Rees D, Banerjee T, Cazzola R, Lewis S, Wood R, Oates R, Tallant A, Cestaro B, Yaqoob P, Wahle KW, Calder PC. Age-related increases in circulating inflammatory markers in men are independent of BMI, blood pressure and blood lipid concentrations. Atherosclerosis 2008, 196:298-305.

Van Leuven SI, Sankatsing RR, Vermeulen JN, Kastelein JJ, Reiss P, Stroes ES 2007 Atherosclerotic vascular disease in HIV: it is not just antiretroviral therapy that hurts the heart! Curr Opin HIV AIDS 2:324-331

Weinert BT, Timiras PS 2003 Invited review: Theories of aging. J Appl Physiol 95:1706-1716

Wu D, Ren Z, Pae M, Guo W, Cui X, Merrill AH, Meydani SN. Aging up-regulates expression of inflammatory mediators in mouse adipose tissue. J Immunol. 2007 Oct 1;179(7):4829-39.

248/62SEP 4 décembre 2009 - 15:00 - 351

Inflammation and immune aging in HIV infection

V. Appay

Laboratoire d'Immunologie Cellulaire et Tissulaire, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Inserm U945, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

HIV disease progression is characterized by a decline in $CD4^+$ T cell numbers and the eventual onset of immunodeficiency. Although the reasons for the gradual loss of blood $CD4^+$ T lymphocytes is still a matter of debate, colossal progress in our understanding of HIV pathogenesis has been achieved over the past quarter century. The association between chronic immune activation (IA) and progression in HIV-1 infection is now well established (Deeks et al., 2004; Giorgi et al., 1999; Giorgi et al., 1993; Silvestri et al., 2003). A number of causative factors for sustained IA and inflammation have been identified, which are both directly or indirectly related to HIV replication. They include the immune response against HIV and associated pathogens, the translocation of bacterial products due to the compromised integrity of the mucosal barrier, and the potential bystander stimulation of lymphocytes and macrophages by HIV gene products (reviewed in (Appay and Sauce, 2008)). However, the potential consequences of IA in HIV pathogenesis and its link to immunodeficiency remain major gaps in our knowledge.

The prospect that IA or inflammation may be directly related to the increased incidence in HIV infected donors of manifestations that are reminiscent of the human aging process (i.e. cardiovascular disease, malignancies, osteoporosis, cognitive impairment, depression and frailty) is raising increasing concerns. On the immunological side, in addition to promoting viral replication as well as $CD4^+$ T cell apoptosis, HIV associated IA may also lead to an accelerated decline of immune competence resembling the phenomenon of immunosenescence (Appay and Sauce, 2008). The immunosenescence refers to the deterioration of the immune system, in particular alterations of the T cell compartment, with age. Excessive activation has been shown drive the differentiation of $CD8^+$ and $CD4^+$ T cells towards replicative senescence in HIV-1 infection (Papagno et al., 2004). Moreover, chronic antigenic stimulation may lead to clonal exhaustion and depletion of HIV specific $CD8^+$ T cells important for the control of viral replication (Almeida et al., 2007; Lichterfeld et al., 2008).

To explore further the potential relationship between IA, HIV disease progression and immunosenescence and deepen our knowledge of HIV pathogenesis, we performed a comparative analysis of immunologic markers in different groups of HIV infected donors (separated according to duration of infection, progression state, or $CD4^+$ T cell reconstitution upon treatment initiation) and healthy controls (separated in different age groups). Human aging and HIV-1 infection present a number of parallels with regards to immunological attributes, in particular the production of lymphocytes. The initial

investigation of blood lymphocyte populations led us rapidly to turn our attention onto the lymphocyte primary immune resources, and in particular the $CD34^+$ hematopoietic progenitor cell (HPC) compartment. Analyses of $CD34^+$ HPC number and phenotype directly from the blood of patients revealed that this compartment is progressively altered during HIV-1 infection, and that CD4+ T cell count decline is associated to a disruption of lymphopoiesis. Decreasing $CD34^+$ HPC numbers are inversely correlated with markers of immune activation, which emerges as a major cause of altered lymphopoiesis. This can be partially reversed with prolonged antiretroviral therapy. However the failure of some HIV-1 infected treated patients to reconstitute their $CD4^+$ T cell compartment despite successful inhibition of viral replication is associated to persistent damages to the lymphopoietic system.

Almeida, J. R., Price, D. A., Papagno, L., Arkoub, Z. A., Sauce, D., Bornstein, E., Asher, T. E., Samri, A., Schnuriger, A., Theodorou, I.*, et al.* (2007). Superior control of HIV-1 replication by CD8+ T cells is reflected by their avidity, polyfunctionality, and clonal turnover. J Exp Med *204*, 2473-2485.

Appay, V., and Sauce, D. (2008). Immune activation and inflammation in HIV-1 infection: causes and consequences. J Pathol *214*, 231-241.

Deeks, S. G., Kitchen, C. M., Liu, L., Guo, H., Gascon, R., Narvaez, A. B., Hunt, P., Martin, J. N., Kahn, J. O., Levy, J.*, et al.* (2004). Immune activation set point during early HIV infection predicts subsequent CD4+ T-cell changes independent of viral load. Blood *104*, 942-947.

Giorgi, J. V., Hultin, L. E., McKeating, J. A., Johnson, T. D., Owens, B., Jacobson, L. P., Shih, R., Lewis, J., Wiley, D. J., Phair, J. P.*, et al.* (1999). Shorter survival in advanced human immunodeficiency virus type 1 infection is more closely associated with T lymphocyte activation than with plasma virus burden or virus chemokine coreceptor usage. J Infect Dis *179*, 859-870.

Giorgi, J. V., Liu, Z., Hultin, L. E., Cumberland, W. G., Hennessey, K., and Detels, R. (1993). Elevated levels of CD38+ CD8+ T cells in HIV infection add to the prognostic value of low CD4+ T cell levels: results of 6 years of follow-up. The Los Angeles Center, Multicenter AIDS Cohort Study. J Acquir Immune Defic Syndr *6*, 904-912.

Lichterfeld, M., Mou, D., Cung, T. D., Williams, K. L., Waring, M. T., Huang, J., Pereyra, F., Trocha, A., Freeman, G. J., Rosenberg, E. S.*, et al.* (2008). Telomerase activity of HIV-1-specific CD8+ T cells: constitutive up-regulation in controllers and selective increase by blockade of PD ligand 1 in progressors. Blood *112*, 3679-3687.

Papagno, L., Spina, C. A., Marchant, A., Salio, M., Rufer, N., Little, S., Dong, T., Chesney, G., Waters, A., Easterbrook, P.*, et al.* (2004). Immune Activation and CD8(+) T-Cell Differentiation towards Senescence in HIV-1 Infection. PLoS Biol *2*, E20.

Silvestri, G., Sodora, D. L., Koup, R. A., Paiardini, M., O'Neil, S. P., McClure, H. M., Staprans, S. I., and Feinberg, M. B. (2003). Nonpathogenic SIV infection of sooty mangabeys is characterized by limited bystander immunopathology despite chronic high-level viremia. Immunity *18*, 441-452.

249/63s 4 décembre 2009 - 14:00 - 352A

Méthodes d'étude de la sensibilité *in vitro* aux antifongiques : what else ?

A.L. Bienvenu, S. Picot
Service Paludisme et Mycologie Médicale, Hospices Civils de Lyon, France

Les infections fongiques présentent souvent un pronostic défavorable et les errances du traitement initial participent parfois à cette évolution sombre. Rares sont les médicaments fongicides et l'utilisation d'une molécule fongistatique est un équilibre instable entre l'activité thérapeutique, la toxicité médicale et financière, et le risque d'échappement. Il est donc légitime d'attendre qu'une technique *in vitro* préalable apporte des arguments pertinents pour le choix d'un traitement. Pourtant, une méthode solide manque encore et les réponses obtenues ne débouchent pas souvent sur une adéquation thérapeutique. Cependant, dans l'attente d'une solution, il est possible d'établir les circonstances dans lesquelles les tests de sensibilité *in vitro* sont utiles et une liste des points forts et faibles des méthodes disponibles.

Pourquoi tester la sensibilité des champignons aux antifongiques *in vitro* ?

La décision de réaliser un test *in vitro* ne doit pas être systématique, mais basée sur une logique médicale, mycologique, épidémiologique ou expérimentale.

Logique médicale : la principale situation qui conduit un clinicien à demander une détermination de la sensibilité du champignon aux antifongiques est la constatation d'un échec thérapeutique malgré un traitement antifongique bien conduit. L'identification d'un agent fongique dans un site normalement stérile (sang, LCR, biopsies…) peut également justifier d'une détermination de sensibilité. Un antécédent de traitement par azolés justifie la détermination de la sensibilité des *Candida* car les azolés peuvent induire des résistances.

Logique mycologique : le mycologue peut inciter le clinicien à demander cette détermination lorsqu'il identifie des champignons connus comme ayant des sensibilités diminuées aux antifongiques, notamment *Candida glabrata* pour les azolés ou *Candida parapsilosis* pour les échinocandines.

Logique épidémiologique : la réalisation d'études *in vitro* à visée épidémiologique, permet de suivre l'évolution de ces sensibilités dans le temps au sein d'un service, d'un hôpital ou d'un groupe multicentrique. Cette évolution peut dans certains cas inciter à modifier les pratiques thérapeutiques. Il est évident que l'utilisation de ces données multicentriques implique que les méthodes d'évaluation soient les mêmes dans les différents centres.

Logique expérimentale : le screening de nouvelles molécules antifongiques utilise la détermination des sensibilités *in vitro* et permet la confirmation de nouveaux candidats antifongiques. L'utilisation de techniques d'échiquier pourrait permettre de mieux répondre aux questions posées par les associations d'antifongiques, en particulier l'étude de leurs effets antagonistes ou synergiques.

Le choix de la méthode : Ce choix est difficile, compte tenu du panel de techniques disponibles et de leurs limites respectives. Il est à noter que les performances peuvent être différentes en fonction des champignons (notamment les champignons filamenteux) ou des antifongiques (notamment la 5-fluorocytosine).

Il existe deux techniques de référence, proposées par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) et EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing), basées sur le principe de macro et microdilution des antifongiques en milieu liquide et permettant la détermination des sensibilités des levures ou des champignons filamenteux. Une méthode CLSI de disque de diffusion en milieu gélosé est également disponible pour les levures et en cours de mise au point par EUCAST. Ces techniques dites de référence ne sont pas applicables en pratique quotidienne en dehors des centres experts. Cela ouvre donc la porte à la mise à disposition de techniques plus pratiques, mais présentant des limites.

Les principales techniques disponibles sont les suivantes :

- E-test® (Biomerieux) : méthode de diffusion en milieu gélosé utilisant des bandelettes imprégnées de gradients d'antifongiques
- NeoSensitabsÒ (Rosco) : méthode de diffusion en milieu gélosé utilisant des disques
- SensiTitre YeastOneÒ (Trek Diagnostic System) et FungitestÒ (Sanofi Pasteur) : plaques microtitrées prêtes à l'emploi dont le principe est basée sur la technique de référence en milieu liquide
- ATBFungus 3® (Biomerieux) : galeries microtitrées prêtes à l'emploi dont le principe est basé sur la technique de référence en milieu liquide

La règle de lecture est la détermination de la valeur de la concentration minimale inhibitrice ou CMI à la première rupture de croissance, exception faite pour l'amphotéricine b qui est strictement fongicide. Des difficultés de lecture des tests peuvent être rencontrées, avec les azolés notamment, car il existe un phénomène de traine qui se traduit par une repousse des colonies à l'intérieur de l'ellipse d'inhibition. Les résultats de ces techniques sont exprimés en CMI. Les breakpoints de référence sont principalement limités aux *Candida* et aux *Aspergillus* pour les azolés, la 5-flurorocytosine et l'amphotéricine b, et dépendent des techniques. Des travaux sont en cours pour établir ces breakpoints vis-à-vis des échinocandines, la caspofungine notamment.

La principale question posée à ces techniques est la signification des valeurs obtenues *in vitro* dans le cadre de la maladie fongique. La valeur prédictive de ces tests est loin d'être claire, à l'exception notable des candidoses oropharyngées traitées par fluconazole. Outre le manque de données sur la corrélation clinico-biologique, d'autres paramètres interviennent dans l'efficacité d'un antifongique, dont les paramètres pharmacocinétiques. Lors de la détermination d'une sensibilité diminuée avant le début du traitement, l'attitude raisonnable est d'éviter cet antifongique. En revanche, un changement d'antifongique ne doit pas être préconisé, si le patient s'améliore sous traitement alors qu'il est démontré que l'agent fongique en cause a une sensibilité diminuée *in vitro*.

Quels sont les verrous à ouvrir pour aller vers un consensus ?

Des efforts de standardisation sont encore nécessaires pour permettre la mise en place d'études longitudinales et une vision épidémiologique. L'utilisation de contrôles de qualité internes (souches de référence) est recommandée comme pour toute technique, mais surtout la mise en place d'un système de contrôle de qualité externe est vivement nécessaire pour une meilleure portabilité des résultats entre les centres.

La mise en place de la NORME ISO/WD 11764 (Systèmes d'essais en laboratoire - Sensibilité in vitro des champignons) participera certainement à la réussite de cette standardisation.

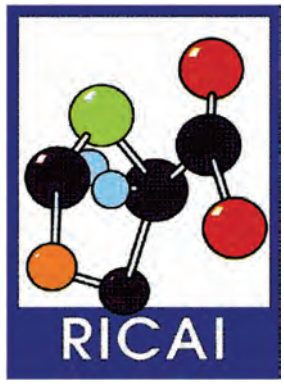
Cependant, la pertinence *in vivo* de ces techniques est un débat qui est d'actualité. L'interprétation des résultats de sensibilité des champignons *in vitro* est délicate et nécessite un dialogue entre le mycologue et le clinicien, propre à chaque situation clinique, permettant de donner une signification au résultat biologique. De nouvelles méthodes ont été décrites au cours des dernières années, comme par exemple les microarrays et la cytométrie en flux, sans que des applications claires en pratique médicale n'aient déjà été publiées.

Bibliographie

1. Cantón E, Espinel-Ingroff A, Pemán J. Trends in antifungal susceptibility testing using CLSI reference and commercial methods. Expert Rev Anti Infect Ther. 2009;7(1):107-19.
2. Pfaller MA, Diekema DJ, Gibbs DL, Newell VA, Bijie H, Dzierzanowska D, Klimko NN, Letscher-Bru V, Lisalova M, Muehlethaler K, Rennison C, Zaidi M; Global Antifungal Surveillance Group. Results from the ARTEMIS DISK Global Antifungal Surveillance Study, 1997 to 2007: 10.5-year analysis of susceptibilities of noncandidal yeast species to fluconazole and voriconazole determined by CLSI standardized disk diffusion testing. J Clin Microbiol. 2009;47(1):117-23.
3. Dannaoui E, Lortholary O, Raoux D, Bougnoux ME, Galeazzi G, Lawrence C, Moissenet D, Poilane I, Hoinard D, Dromer F; YEASTS Group. Comparative in vitro activities of caspofungin and micafungin, determined using the method of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, against yeast isolates obtained in France in 2005-2006. Antimicrob Agents Chemother. 2008;52(2):778-81.
4. Dannaoui E. Methods for in vitro antifungal susceptibility testing. Therapie. 2006;61(3):201-7.
5. Walsh TJ, Gonzalez CE, Piscitelli S, Bacher JD, Peter J, Torres R, Shetti D, Katsov V, Kligys K, Lyman CA. Correlation between in vitro and in vivo antifungal activities in experimental fluconazole-resistant oropharyngeal and esophageal candidiasis. J Clin Microbiol. 2000;38(6):2369-73.

RÉSUMÉS
SESSIONS ORALES LIBRES

ABSTRACTS
FREE PAPERS FOR ORAL SESSIONS



1/1o — 3 décembre 2009 - 09:00 - 341

Perception de la résistance aux antibiotiques par les médecins du CHU de Nice

C. Pulcini[1], A. Naqvi[1], F. Gardella[2], P. Dellamonica[1]
[1]Infectiologie, CHU [2]Conseil Général, Nice, France

Objectif : Évaluer comment les médecins (internes et seniors) perçoivent le problème de la résistance aux antibiotiques.

Méthode : Un questionnaire a été envoyé aux 503 médecins exerçant au CHU de Nice.

Résultats : Le taux de réponse a été de 64% (322/503 médecins). Quatre-vingt pourcent des médecins exerçaient dans une spécialité médicale et 20% dans une spécialité chirurgicale. Quatre-vingt-dix-sept pourcent avaient prescrit un antibiotique dans les 6 derniers mois. La résistance aux antibiotiques était perçue comme un problème national par 93% des médecins, mais seulement 67% d'entre eux estimaient qu'elle représentait un problème dans leur pratique quotidienne. Seulement 32% des médecins avaient une idée correcte de la prévalence de la résistance à l'oxacilline chez *S. aureus* dans les hôpitaux Français. Plus de 95% des médecins pensaient que l'utilisation large et inappropriée des antibiotiques, la prescription de molécules à large spectre ou de doses sub-optimales d'antibiotiques étaient des causes importantes de la résistance. Les antibiothérapies de durée excessive ou une mauvaise hygiène des mains n'étaient par contre identifiées comme causes potentielles de la résistance aux antibiotiques que dans 78% et 36% des cas respectivement. Les 4 mesures identifiées comme les plus utiles pour améliorer la prescription antibiotique étaient : la mise à disposition de recommandations thérapeutiques, les sessions de formation, la disponibilité de l'avis d'un infectiologue, et les audits avec retour d'information des prescriptions antibiotiques dans un service. Globalement, les réponses données par les seniors n'étaient pas statistiquement différentes des réponses des internes.

Conclusion : Les politiques du bon usage des antibiotiques seront d'autant mieux acceptées par les cliniciens qu'elles s'appuieront sur leurs perceptions. Des enquêtes telles que la nôtre peuvent apporter des pistes de réflexion.

2/1o — 3 décembre 2009 - 09:15 - 341

Impact de la mise en œuvre des recommandations internationales sur la prise en charge des infections des plaies du pied chez le diabétique : étude prospective (2003-2007)

A. Sotto[3-5], J.L. Richard[1], N. Jourdan[4], N. Bouziges[5-2], J.P. Lavigne[5-2]
[1]Maladies de la Nutrition et Diabétologie, CHU de Nîmes, Grau du Roi [2]Bactériologie [3]Maladies Infectieuses et Tropicales [4]Maladies Métaboliques et Endocriniennes, CHU Caremeau [5]Espri 26, INSERM, Nîmes, France

Objet de l'étude : Évaluer l'impact de la mise en œuvre des recommandations internationales sur la qualité des prélèvements microbiologiques et les coûts liés à la prise en charge des infections des plaies du pied chez le diabétique.

Méthodes : Des patients adultes diabétiques de type 1 et 2, ayant une première plaie du pied (Grades 2 à 4 ; consensus de l'IWGDF 2003) ont été inclus du 1/09/03 au 31/12/07. Pour toute plaie, un prélèvement était réalisé selon les recommandations de l'IWGDF. Les indicateurs d'amélioration de la qualité des prélèvements microbiologiques et de la prise en charge des plaies étaient évalués au cours du temps sur le nombre de prélèvements réalisés, le nombre de bactéries par prélèvement, la fréquence des bactéries multirésistantes (BMR), la fréquence des bactéries de la flore commensale et le coût lié à l'utilisation des antibiotiques à large spectre et des actes biologiques.

Résultats : 405 patients diabétiques (âge médian: 70,6 ans [32-97]) ont été consécutivement inclus dans l'étude. 56,5% des plaies étaient de Grade 2 (IWGDF). De 2003 à 2007, 1146 prélèvements dont 76,4% obtenus après débridement-écouvillonnage, ont été analysés : les cocci à Gram + étaient les plus fréquemment isolés (59% des bactéries) dont la majorité était des S. aureus. Les BMR étaient isolées dans 29,8% des prélèvements dont 37,7% étaient des S. aureus résistants à la méticilline. De 2003 à 2007, le nombre annuel de prélèvements a presque diminué de moitié (323 à 163). Le nombre moyen de bactéries par prélèvement a significativement diminué (4,1 à 1,6) ainsi que la fréquence de BMR (35,2% à 16,3%) et le nombre de SARM (52,2% à 18,9%) (P <0,001). En outre, la fréquence de bactéries appartenant à la flore commensale a chuté de façon spectaculaire (23,1% à 5,8%) (P<0,001). D'un point de vue économique, la baisse du nombre de prélèvements microbiologiques et de BMR a induit une économie de 20255 € liés à la diminution de la charge de travail du laboratoire de microbiologie et de 210585 € liés à la diminution de la prescription d'antibiotiques à spectre étendu.

Conclusion : La mise en œuvre des recommandations sur la prise en charge des infections du pied chez le diabétique semble indispensable pour une meilleure prise en charge et une diminution des coûts hospitaliers.

3/1o — 3 décembre 2009 - 09:30 - 341

Inadéquation de l'antibiothérapie au cours des dermo-hypodermites aiguës en infectiologie

P.M. Roger, E. Cua, R. Farhad, F. De Salvador, C. Pulcini, E. Bernard
Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

Nous entretenons depuis Juillet 2005 un tableau de bord (TB) caractérisant chaque hospitalisation. Cet outil permet d'étudier les modalités d'antibiothérapies afin d'en améliorer la qualité. Nous analysons ici nos antibiothérapies dans le cadre des dermo-hypodermites aiguës.

Patients et méthode : Étude de cohorte basée sur un TB enregistrant l'activité d'hospitalisation à partir de 24 paramètres incluant les comorbidités, le diagnostic et les antibiothérapies instituées. L'analyse portait sur les 4 premières années de fonctionnement. Seuls les patients ayant pour diagnostics définitifs « dermo-hypodermite aiguë », « érysipèle » et « fasciite nécrosante » étaient inclus. Les patients pour lesquels le diagnostic final était « cellulite » se trouvaient donc exclus. Les antibiotiques retenus par la conférence de consensus « érysipèle et fasciite nécrosante » de l'année 2000 étaient considérés comme adéquates, seuls ou en association: pénicilline G ou V, amoxicilline, pristinamycine, clindamycine.

Résultats : En 4 ans d'utilisation du TB, 5493 hospitalisations étaient enregistrées, dont 516 pour une pathologie infectieuse de la peau et/ou des tissus mous (9,3%), parmi lesquelles 180 (35%) avaient pour diagnostic définitif un des 3 sus-cités. Dans 152 cas la lésion se situait à un membre inférieur (84%), dans 19 cas à un membre supérieur (11%) et dans 9 cas au visage (5%). Une fasciite nécrosante était observée 4 fois. Cent deux patients avaient bénéficié d'une antibiothérapie adéquate (57%). Les 3 principales antibiothérapies inadéquates consistaient en 2 ou 3 lignes d'antibiothérapies successives dans 32 cas (18%), l'administration d'amoxicilline-acide clavulanique dans 14 cas (8%) et l'oxacilline dans 12 cas (7%). Il n'y avait pas d'association significative entre l'adéquation de l'antibiothérapie et les paramètres épidémiologiques répertoriés dans le TB.

Conclusion : Les antibiothérapies inadéquates au cours des dermo-hypodermites aiguës représentent 43% des prescriptions. Les lignes d'antibiothérapies successives, suggérant les incertitudes cliniques et/ou microbiologiques, représentent près d'un patient sur 5.

4/1o — 3 décembre 2009 - 09:45 - 341

Prise en charge des infections urinaires fébriles en médecine générale : une enquête de pratique

F. Hervieux[4], E. Berthonnaud[2], M.A. Le Pogam[1], G. David[3]
[1]Pôle IMER, Hospices civils, Lyon [2]Département d'information médicale [3]Infectiologie [4]Médecine interne, Centre Hospitalier, Villefranche/Saône, France

Objet de l'étude : l'objectif de ce travail est de décrire la prise en charge des infections urinaires fébriles chez l'adulte en médecine générale et de les comparer aux recommandations 2008 de l'Afssaps afin de mieux cibler les difficultés en pratique courante.

Méthodes : Une enquête de pratique par questionnaires (constitué de 3 cas cliniques courts et ciblés) adressés par voie postale à 270 médecins généralistes du secteur de Villefranche/Saône.

Résultats : 132 médecins ont répondu (49%). L'échographie des voies urinaires recommandée afin de déceler une complication n'est pas faite dans 28% des cas. Le délai idéal de réalisation dans les 24 heures n'est proposé que dans 27% des cas. Si les fluoroquinolones per os et les céphalosporines de 3ème génération parentérale sont les antibiotiques les plus prescrits lors du traitement initial dans 70% des cas, l'association amoxicilline et acide clavulanique reste prescrite en première intention dans 17% des cas. Le relai antibiotique est bien maitrisé face à un *Escherichia coli* de phénotype sauvage (90% de prescriptions conformes aux recommandations). Cependant, la résistance aux quinolones de 1ère génération, exposée dans un des cas, est ignorée avec poursuite de la prescription par fluoroquinolones. La durée de traitement est trop longue (supérieure à 14 jours) dans 30% des cas chez la femme augmentant la pression de sélection de résistance. Chez l'homme, le traitement est trop court (inférieur à 14 jours) dans 37% des cas exposant le patient à la chronicité et à la récidive en cas de prostatite.

Conclusion : Les examens bactériologiques et l'échographie des voies urinaires sont difficiles à concevoir en urgence en pratique de médecine générale notamment lors des gardes. Seuls 42% des médecins répondeurs se rappellent de la parution en 2008 des recommandations de l'Afssaps. S'il est important de poursuivre la sensibilisation des praticiens sur l'apparition de résistances bactériennes en ville, il apparaît également nécessaire de proposer des rappels ciblés des principales recommandations sous la forme d'un retour postal et de la formation médicale continue.

5/1o — 3 décembre 2009 - 10:00 - 341

Chimiothérapies anti-infectieuses des méningites de l'adulte au CHU de Rouen en 2008 : prescriptions probabilistes et devenir

M. Coppola[2], M. Pestel-Caron[2-8], L.M. Joly[6], M. Etienne[1-8], D. Hannequin[4], P. Fréger[3], G. Bonmarchand[5], J.C. Plantier[7-8], F. Caron[1-8]
[1]Infectiologie [2]Microbiologie [3]Neurochirurgie [4]Neurologie [5]Réanimation médicale [6]Urgences [7]Virologie, CHU [8]Groupe de recherche sur les Anti-microbiens, Faculté de médecine, Rouen, France

Rationnel : Le traitement des méningites+/-encéphalites (M+/-E) bactériennes a fait l'objet de nouvelles recommandations de la SPILF fin 2008, prônant moins d'associations antibiotiques et le recours au score de Hoen. Il manquait au jury un état des lieux des prescriptions probabilistes.

Méthodes : Analyse rétrospective de tous les cas de M+/-E vus aux urgences adulte du CHU de Rouen en 2008 d'après le registre microbiologique (GB > 10/mm3 à la PL). Etude des chimiothérapies anti-infectieuses (CAI) initiales et de leur devenir selon les résultats microbiologiques. Calcul rétrospectif du score de Hoen.

Résultats :

-74 cas de M+/-E ; 69 dossiers analysables.

-36 infections documentées (52%) : 6 M aiguës bactériennes (4 pneumocoque, 1 méningocoque B, 1 *K. pneumoniae*), 2 Lyme, 23 entérovirus, 3 HSV, 1 VZV, 1 HHV6.

-32 cas (46%) avec score de Hoen <0,1 (= faible probabilité de M bactérienne aiguë) dont 1 cas à PCR positive pour pneumocoque et entérovirus ; VPN = 97% ; VPP = 18% ; Se = 80% ; Sp = 64,7%.

-56 (81%) CAI initiales : 22 mono-, 15 bi-, 14 tri-, 4 quadri- et 1 penta-thérapies, dont 24 schémas avec aciclovir (3 en monothérapie).

-Durée de CAI conditionnée par la microbiologie :

	Durée moyenne CAI (extrêmes)	Score de Hoen moyen (extrêmes)
Bactério + (culture ou PCR) [n=8]	16 jours (8-31)	0,63 (0,02-0,99) ; 2 NC*
Entérovirus + (PCR) [n=23]	2,5 jours (1 prise – 6 jours)	0,03 (0,007-0,06) ; 4 NC
HSV ou VZV + (PCR) [n=4]	16 jours (5 à 21 jours)	0,32 (0,02-0,93) ; 1 NC
Bactério - et viro non réalisée [n=11]	1 jour (0 à 5 jours)	0,39 (0,005-0,99) ; 5 NC
Bactério - viro - [n=22]	4,4 jours (1 – 10 jours)	0,38 (0,006-0,99) ; 5 NC

* NC : non calculable.

Conclusion : Dans un établissement en zone d'hyper-endémie de méningocoque et n'ayant pas recours au score de Hoen, le taux d'antibiothérapie initiale pour M+/-E de l'adulte était très élevé (87%), alors qu'une majorité des cas avait *in fine* une étiologie virale prouvée ou présumée (41+16=57%). La fréquence des signes potentiellement encéphalitiques contribuait probablement au taux élevé de prescription initiale d'aciclovir (35% pour 4% d'infection à HSV documentée). Le recours au score de Hoen et le raccourcissement du délai de rendu des PCR virales sont deux voies de réduction des prescriptions d'anti-infectieux.

6/1o — 3 décembre 2009 - 10:15 - 341

Qui sont les porteurs de SARM en milieu communautaire ? Une étude prospective dans la Région des Pays de la Loire

S. Thibaut[3], J. Caillon[2-3], F. Ollivier[3-1], D. Lepelletier[1], P. Lombrail[3], G. Potel[3-1], F. Ballereau[3-1], et les laboratoires d'analyses médicales du Réseau Medqual[3]
[1]EA3826, UFR Médecine [2]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène [3]MedQual, Centre d'information pour le bon usage des produits de santé, Nantes, France

Objet de l'étude : Le but de cette étude était de déterminer les caractéristiques démographiques des porteurs de SARM dans la communauté, d'évaluer leurs facteurs de risque et leurs possibles antécédents d'hospitalisation, et enfin de décrire les différents phénotypes de résistance des SARM isolés en milieu communautaire.

Méthodes : Etude prospective multicentrique régionale réalisée sur une période de 16 mois (Juin 2005 – Septembre 2006), à partir d'un réseau de laboratoires d'analyses de biologie médicales (LABM) privés. Tous les patients ayant un prélèvement positif à SARM, isolé dans l'un des LABM, sont inclus dans l'étude sur la période d'étude définie.

Résultats obtenus : 313 SARM ont été inclus dans l'étude. Les types de prélèvement les plus fréquents sont la peau et les tissus mous (41,2%), les urines (38,3%) et les prélèvements génitaux (8,3%). Nous avons observé 36 patients sans facteurs de risque classiques (SFR), contre 277 patients qui ont au moins un facteur de risque (FR). Les patients SFR étaient plus jeunes que les patients FR. Une infection était plus souvent retrouvée pour les patients SFR. Neuf phénotypes de résistance ont été décrits parmi ces 313 souches, 9% de ces 313 souches sont résistantes à l'Oxacilline seule. Les souches de SARM isolées des patients FR étaient résistantes à l'Ofloxacine dans 81,1% des cas, contre seulement 50% des souches de SARM des patients SFR (p<0,001).

Conclusion : La fréquence du portage de SARM communautaires ainsi que les caractéristiques épidémiologiques et démographiques des populations touchées sont peu connues en France. Cette diffusion peut causer des difficultés de prise en charge, tant sur le plan thérapeutique que sur le plan du contrôle de la diffusion de ces souches.

7/2o — 3 décembre 2009 - 09:00 - 342A

Puces à ADN et détection rapide des souches productrices de BLSE de type TEM, SHV, et CTX-M et de carbapénémases de type KPC

T. Naas, G. Cuzon, H.V. Truong, S. Barnabeu, P. Nordmann
CHU de Bicêtre, Service de Bactériologie, INSERM U914, Emerging Resistance to Antibiotics, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objectifs : Les ß-lactamases à spectre étendu (BLSEs) ainsi que les carbapénèmases de type KPC ont rapidement émergé dans le monde. Ces enzymes confèrent une résistance à de nombreuses ß-lactamines et nécessitent une identification rapide afin de mettre en place un traitement adapté ainsi que des mesures pour éviter leur diffusion. Les méthodes phénotypiques, actuellement utilisées en routine pour leur détection, bien que faciles nécessitent des tests complémentaires et le délai de rendu de leurs résultats est long. L'objectif de cette étude était d'évaluer un test qualitatif de diagnostic moléculaire « Check-points ESBL/KPC array» (Check-points, Wageningen, Pays-Bas), pour l'identification rapide des souches productrices de BLSEs de type SHV, TEM et CTX-M ainsi que des souches productrices de KPC.

Méthodes : La puce à ADN « Check-points ESBL/KPC array», permettant de détecter les gènes de type TEM, SHV et leurs variants BLSE, les CTX-M et les KPC a été évalué avec des bacilles à Gram négatif (Entérobactéries, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*) exprimant diverses ß-lactamases : 22 KPC-2, 4 SHV(SHV-1, -2, -5, -12), 5 TEM (TEM-1, -2, -3, -24, -52) et 5 CTX-M (CTX-M-1, -2, -9, -14, -15, -19), et sur des entérobactéries isolées au CHU de Bicêtre de janvier à mars 2009. Trente deux souches d'entérobactéries de phénotype de résistance sauvage ou exprimant d'autres gènes de ß-lactamases ont été utilisées comme contrôles. Les ADNs totaux ont été extraits à l'aide du kit Qiagen DNA mini kit.

Résultats : L'utilisation de la puce à ADN « Check-point ESBL/KPC array», a permis la détection de toutes les BLSEs de type TEM, SHV et CTX-M, d'identifier le groupe des CTX-M, ainsi que la présence de KPC. Ce test permet de distinguer les variants SHV et TEM BLSE des variants non BLSE. Aucun résultat faussement positif ou faussement négatif n'a été observé. Les résultats ont été obtenus aussi bien avec des souches d'entérobactéries que de *P. aeruginosa* ou de *A. baumannii*. Pour les espèces non fermentantes, une dilution au 1/10 de l'ADN total était nécessaire pour détecter les gènes SHV-BLSE ou KPC.

Conclusion : Ce test représente un outil efficace et rapide pour la détection des BLSEs et de KPC dans les souches bactériennes. Les résultats sont obtenus en 7h, permettant la mise en place rapide des mesures d'isolement et du traitement antibiotique adéquat.

8/2o — 3 décembre 2009 - 09:15 - 342A

***Pseudomonas aeruginosa* résistants à l'imipénème dans un Centre de brûlés en Tunisie : superposition d'épidémies et d'infections croisées de souches présentant des mécanismes de résistance variés, dont la production de VIM-2**

L. Thabet[2], V. Dubois[1], C. André[1], A. Messadi[2], C. Quentin[1]
[1]UMR 5234, CNRS, Université Bordeaux 2, Bordeaux, France [2]Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

Objectifs : Sur 3 ans (2005-2007), 213 isolats de *Pseudomonas aeruginosa* ont été collectés dans le service des Brûlés de l'Hôpital Aziza Othmana à Tunis. Parmi ces souches, plus de 60% présentaient une résistance à l'imipénème à l'antibiogramme (IPM, Ø < 17 mm). Les mécanismes de résistance aux β-lactamines et les relations épidémiologiques entre les souches résistantes à l'IPM ont été étudiés.

Méthodes : La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode des disques. La résistance aux β-lactamines a été analysée pour 54 isolats par des tests phénotypiques utilisant des inhibiteurs de β-lactamases et de pompes d'efflux (cloxacilline, tazobactam, EDTA, pAβN), PCR et séquençage. Ces souches ont été typées par AP-PCR et, pour 12 d'entre elles, par PFGE.

Résultats : Parmi les 89 souches non redondantes résistantes à l'IPM, 84 ont été isolées de 63 patients (m = 31 ans, 39% de surface corporelle brulée, 60 j d'hospitalisation) et 5 de l'environnement. Au total, 7 antibiotypes (ATB) ont été caractérisés ; 43 souches produisaient la carbapénémase VIM-2 et les autres étaient résistantes à l'IPM probablement par perte de la porine D2, seule ou associée à d'autres mécanismes de résistance aux β-lactamines. Les souches productrices de VIM-2 (ATB1) étaient réparties tout au long de l'étude et l'analyse par PFGE a montré la présence d'au moins 3 clones. Les souches présentant les ATB2 (n=12 ; efflux + D2) et ATB3 (n=7 ; pénicillinase + céphalosporinase + D2) étaient regroupées dans le temps et l'AP-PCR a confirmé leur clonalité au sein de chaque groupe. Les souches d'ATB4 (n=8 ; céphalosporinase + D2), bien que réparties sur les 3 ans, présentaient un profil épidémiologique identique. Au contraire, les souches d'ATB5 (n=4 ; pénicillinase + D2) et d'ATB6 (n=14 ; D2), dispersées dans le temps, n'étaient pas reliées à l'exception de 8 isolats identiques 2 à 2. Enfin, 1 souche produisait une BLSE, VEB-like +D2 (ATB7).

Conclusion : Ce travail a montré la superposition d'épidémies de souches de *P. aeruginosa* possédant divers mécanismes de résistance aux β-lactamines dont la production de VIM-2. Il a aussi confirmé que l'analyse phénotypique des résistances reste un outil utile pour détecter des souches clonales différentes et contrôler leur dissémination.

9/2o — 3 décembre 2009 - 09:30 - 342A

Dissemination of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* producing carbapenemases in a University Hospital in Tunisia

W. Mansour[2-1], O. Bouallègue-Godet[2], L. Poirel[1], S. Dahmen[2], P. Nordmann[1], N. Boujaafar[2]
[1]Microbiologie, Hôpital Universitaire Le Kremlin-Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France [2]Microbiologie, Hôpital Universitaire Sahloul, Sousse, Tunisie

Objective: To characterize the mechanism of resistance to β-lactams, the ß-lactamase content and the clonal relationship of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates recovered in the University Hospital Sahloul in Tunisia (Sousse) during a four-year period.

Methods: Ninety-nine non-repetitive carbapenem-resistant *A.baumannii* isolates were recovered during the October 2001-October 2005 period. The presence of oxacillinase or metallo ß-lactamase genes was performed by PCR, cloning and sequencing. In particular, genes coding for the carbapenem-hydrolyzing oxacillinases (CHDL) OXA-23, OXA-40 and OXA-58 subgroups were searched. Genotyping was done by pulsed field gel electrophoresis (PFGE) after *ApaI* restriction.

Seventy-five non-repetitive carbapenem-resistant *P. aeruginosa* isolates were recovered during the November 2003-May 2006 period. The presence of metallo ß-lactamase genes was performed by phenotypic tests, PCR and sequencing. In particular, genes coding for the metallo ß-lactamase (MBL) IMP-1, VIM-1 and VIM-2 subgroups were searched. Isolates with an ESBL positive phenotype according to the DDST were screening by PCR amplification to determine the ESBL types. Standard PCR amplification experiments were done with primers specific for the genes coding for β-lactamases TEM, SHV, PER-1, CTX group and VEB-1. Genotyping was done by Enterobacterial repetetive intergenic consensus sequences (ERIC-PCR).

Results: The *A. baumannii* isolates were mostly from patients hospitalized in intensive care units. MICs determination allowed to divide these isolates into three main phenotypical groups, all being resistant to most ß-lactams including carbapenems. Twenty two A. baumannii isolates possessed the bla_{OXA-97} gene encoding the novel carbapenem-hydrolysing oxacillinase OXA-97 differing from OXA-58 by a single amino acid substitution (Gly to Ala at position DBL35). Genotyping revealed that the OXA-97-positive *A. baumannii* isolates belonged to a single clone. The bla_{OXA-97} gene was located on plasmids varying in size and they were all transferred to an *A. baumannii* reference strain by electroporation. Thirteen *A. baumannii* isolates possessed the bla_{OXA-23} gene encoding the carbapenem-hydrolysing oxacillinase OXA-23. Genotyping revealed that the OXA-23-positive *A. baumannii* isolates belonged to a single clone. The bla_{OXA-23} gene was not plasmid-located. The rest of carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates did not produce any carbapenemase and they did not possess any CHDL gene. They were clonally-related according to PFGE analysis. The *P. aeruginosa* isolates were resistant to the majority of β-lactams tested including imipenem. Five *P. aeruginosa* isolates possessed the bla_{VIM-2} gene and seven isolates possessed the blaSHV-2a gene. Genotyping revealed that the VIM-2-positive *P. aeruginosa* isolates belonged to a single clone that differed from the other isolates. The bla_{VIM-2} gene was located on the chromosome. For the SHV 2-a producer strains, attempts of plasmid extraction failed concluding that the bla_{SHV-2a} gene is likely chromosomally located and ERIC-PCR genotyping showed that all ESBL- producing strains are clonally related.

Conclusion: this epidemiological survey showed that outbreaks of different carbapenem-resistant *A. baumannii* strains and *P. aeruginosa* strains had occurred in that hospital during the same period of time and highlights the importance of the intercountry spread of this β-lactamase-mediated resistance mechanism and its evolution.

10/2o — 3 décembre 2009 - 09:45 - 342A

Spread of multi-drug resistant *Acinetobacter baumannii* co-producing OXA-23 carbapenemase and PER-like beta-lactamase in Belgian hospitals

P. Bogaerts[3], T.D. Huang[1], A. Deplano[2], C. Berhin[3], A. Guisset[3], E. Sel[3], Y. Glupczynski[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Cliniques Universitaires UCL-Saint-Luc [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Universtaire ULB-Erasme, Bruxelles [3]Laboratoire de Bactériologie, Cliniques Universitaires UCL-Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

Purpose of the study: To investigate the mechanisms of resistance and the genetic relationship of multi-drug resistant (MDR) *Acinetobacter baumannii* (Ab) strains recently isolated in Belgian acute care hospitals.

Methods: MDR Ab isolates recovered from patients were phenotypically and genetically (PCR-sequencing and PFGE) characterized. Resistance patterns were determined by disc diffusion method. PCR-sequencing was performed for $bla_{OXA-23-like}$, $bla_{OXA-24-like}$, bla_{OXA-58} genes, $bla_{OXA-51-like}$, bla_{IMP}, bla_{VIM}, $bla_{TEM-GES-BEL-PER-VEB}$ genes, and the chromosomal class C ß-lactamase bla_{AmpC} gene. The presence of insertion sequence (IS) elements upstream the detected beta-lactamases genes was also checked.

Results: Between 01/2008 and 08/2009, 125 non-duplicate carbapenem-resistant and MDR Ab isolates collected from 18 Belgian hospitals were referred to our laboratory to investigate their resistance mechanisms. Among these, 16 isolates (from 10 respiratory samples, 4 urines, 1 cerebro spinal fluid, 1 catheter) were recovered at 5 hospitals located in the Brussels area (12 from a single center and one each in the others). All these isolates displayed a very similar resistance profile showing high level resistance to ceftazidime, to cefepime and to carbapenems associated to an identical co-resistance to aminoglycosides (resistant to gentamicin and to amikacin, but susceptible to tobramycin). PFGE analysis revealed that all 16 strains were clonally related. PCR-sequencing confirmed that all isolates expressed ISAba1-OXA-23 and PER-like (to be sequenced). ISAba1 was additionally detected upstream to AmpC gene (bla_{ADC-25}) but not upstream to their natural OXA-51-like gene (bla_{OXA-66}).

Conclusions: Our data highlight the inter- and intra-hospital spread of MDR Ab carbapenem-resistant co-producing OXA-23/ PER in Belgian hospitals and the propensity of this opportunistic pathogen to accumulate resistance mechanisms. Systematic screening of MDR Ab isolates for a large panel of resistance markers is recommended in order to avoid missing the detection of multiple horizontally transmissible genetic elements that might be present in those strains. Active centralized national surveillance of resistance in Ab is clearly warranted in order to minimize the inter-hospital dissemination of MDR isolates.

11/2o — 3 décembre 2009 - 10:00 - 342A

Phenotypic and biochemical comparison of the carbapenem hydrolyzing activity of five main plasmid-borne AmpC beta-lactamases

H. Mammeri[1], H. Guillon[1], F. Eb[1], P. Nordmann[2]
[1]Bactériologie, CHU d'Amiens, Amiens [2]Bactériologie-Virologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objectives: the CMY-2, ACT-1, DHA-1, ACC-1, and FOX-1 enzymes are representative of the five major plasmid-mediated AmpC (PMAC) beta-lactamases clusters. Recently, resistance to imipenem has been increasingly reported in *Enterobacteriaceae* as a result of a PMAC expression combined with decreased outer membrane permeability. The aim of this study was to determine the potential role of the five main PMAC representants in carbapenem resistance and to define the structure/activity relationship supporting any carbapenemase activity.

Methods: the *ampC* genes encoding the five PMACs and the chromosomal AmpC of *E. coli* EC6, used as a reference cephalosporinase, were cloned and introduced into wild-type *E. coli* TOP10 and OmpC/OmpF porin-deficient *E. coli* HB4 strains. The kinetic parameters of the six purified enzymes were also obtained. A structural alignment of CMY-2 beta-lactamase, ACT-1 enzyme, and the AmpC beta-lactamase of *E. coli* K-12 using the Deepview software was carried out.

Results: the MICs for the recombinant strains revealed that CMY-2 and ACT-1 beta-lactamases conferred a high level of resistance to ceftazidime and cefotaxime once expressed in *E. coli* TOP10, and also to imipenem once expressed in porin-deficient *E. coli* HB4. On the opposite, DHA-1, FOX-1, and ACC-1 enzymes failed to confer resistance to imipenem. The biochemical characterization showed that CMY-2 and ACT-1 beta-lactamases exhibited the highest catalytic efficiency toward imipenem which could be attributable to lower K_m values. The modelisation study revealed that the large R2 binding site of these two enzymes may support the carbapenemase activity.

Conclusion: the CMY-2-type and ACT-1-type beta-lactamases may promote the emergence of imipenem resistance in porin-deficient clinical isolates.

12/2o — 3 décembre 2009 - 10:15 - 342A

BIC-1, une nouvelle carbapénémase de classe A isolée chez un *Pseudomonas fluorescens* de la Seine

D. Girlich, L. Poirel, P. Nordmann
Bactériologie, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objet de l'étude : Le but de cette étude était d'évaluer la présence de bactéries à Gram négatif productrices de carbapénémases dans la Seine à Paris.

Méthode : Des échantillons d'eau ont été prélevés à différents endroits de la Seine en hiver, filtrés et étalés sur des géloses sélectives contenant de l'imipénème (2 µg/ ml). Les bactéries sélectionnées ont été identifiées par les techniques biochimiques classiques et séquençage des ARNs 16S. Le clonage a été réalisé par digestion partielle de l'ADN total, introduction dans le plasmide pBKCMV et expression dans *E. coli* DH10B. La caractérisation biochimique a été réalisée par spectrophotométrie.

Résultats : Une souche de *Pseudomonas fluorescens* PF-1 résistante à l'imipénème et aux céphalosporines à large spectre (sauf à la ceftazidime) et à l'aztreonam a été identifiée. Un test d'hydrolyse a confirmé l'expression d'une carbapénémase. Clonage et séquençage ont permis d'identifier un gène codant pour une nouvelle carbapénémase de la classe A de Ambler, bla_{BIC-1} de localisation chromosomique. BIC-1, possède 68 et 59% d'identité en acides aminés avec SFC-1 et KPC-2. BIC-1 hydrolyse les carbapénèmes, les pénicillines et céphalosporines (sauf la ceftazidime) et les monobactames. L'activité de cette enzyme n'est pas inhibée par l'EDTA et faiblement par l'acide clavulanique.

Conclusion : *P. fluorescens,* comme d'autres bactéries à Gram négatif constituerait une source de nouvelles carbapénémases d'intérêt clinique.

13/3o — 3 décembre 2009 - 09:00 - 342B

MALDI-TOF MS based drug susceptibility testing of pathogens: the example of *Candida albicans* and fluconazole

C. Marinach[4-5-1], A. Alanio[4-5-2-1], M. Palous[2], S. Kwasek[4-5], A. Fekkar[4-5-2], J.Y. Brossas[4-5], S. Brun[4-5-2], G. Snounou[4-5], C. Hennequin[4-5], D. Sanglard[6], A. Datry[4-5-2], J.L. Golmard[3-1], D. Mazier[4-5-2-1]

[1]Ces auteurs ont contribué équitablement au travail [2]Parasitologie Mycologie, APHP Pitié-Salpêtrière [3]Modélisation en recherche clinique, EA3974 [4]INSERM U511 [5]UPMC Paris6, Paris, France [6]Microbiology, University of Lausanne, Lausanne, Suisse

Matrix-assisted laser desorption ionisation time of flight mass spectrometry (MALDI TOF-MS) is emerging as an important and increasingly widely available tool in clinical microbiology laboratories. This technology allows accurate and sensitive detection and identification of bacteria [1,2] and fungi [3,4] through matching fingerprints for a sample to those of defined microorganisms.

This method has not been previously applied to the detection of pathogens that have acquired resistance to anti-microbial compounds, for example drug susceptibility testing, an area of particular clinical and public health interest. We have based our efforts to develop such a test on blood infections by the yeast *Candida*, which are for the most part due to *C. albicans* the most important hospital-acquired fungal blood infections. Fluconazole (FCZ) is one of the most often used first-line drugs for the treatment of all forms of candidiasis, and in particular those due to *C. albicans* [5].

However, iterative or long-term treatments are associated with a high risk of emergence of azole-resistant variants. The reference tests for *C. albicans* strain susceptibility testing are the broth microdilution assays devised by the European Committee on Antibiotic Susceptibility Testing (EUCAST), and by the Clinical Laboratory Standards Institute (CLSI). Both reference methods are robust and reproducible however, they remain time-consuming and end-point reading is somewhat subjective and consequently open to variation in different settings [6,7]. Given these limitations, there is a clear need for the development of an equally robust methodology, with faster turn-around times and where endpoints determination is objective.

We have hypothesized that the protein composition of *C. albicans* will vary with the drug concentration to which it is subjected, and possibly as a reflection of the survival of this pathogen as drug levels vary. Thus, provided such changes can be detected reproducibly, they could be exploited to devise a new generation of susceptibility tests. We considered that MALDI-TOF MS technology would be the most appropriate to adopt, primarily because it is highly reliable and accurate, and additionally because it is becoming increasingly available in microbiology laboratory, with the added bonus that read-outs are relatively rapidly obtained. We sought to support our approach and validate an eventual MALDI-TOF MS-based methodology using the drug fluconazole (FCZ).

The method was accurate, and reliable, and showed full agreement with the Clinical Laboratory Standards Institute's reference method. This proof-of-concept demonstration [8] highlights the potential for this approach to test other pathogens.

[1] Claydon, M. A., Davey, S. N., Edwards-Jones, V. and Gordon, D. B., *Nat Biotechnol* 1996, 14, 1584-1586.

[2] Degand, N., Carbonnelle, E., Dauphin, B., Beretti, J. L., et al., *J Clin Microbiol* 2008, 46, 3361-3367.

[3] Marinach-Patrice, C., Lethuiler, A., Marly, A., Brossas, J.-Y., et al., *Clin Microbiol Infect* 2009 15, 634-42.

[4] Qian, J., Cutler, J. E., Cole, R. B. and Cai, Y., *Anal Bioanal Chem* 2008, 392, 439-449.

[5] Ostrosky-Zeichner, L., Rex, J. H., Pappas, P. G., Hamill, R. J., et al.. *Antimicrob Agents Chemother* 2003, 47, 3149-3154.

[6] Revankar, S. G., Kirkpatrick, W. R., McAtee, R. K., Fothergill, A. W., et al., *J Clin Microbiol* 1998, 36, 153-156.

[7] Lass-Florl, C., Mayr, A., Perkhofer, S., Hinterberger, G., et al., *Antimicrob Agents Chemother* 2008, 52, 3637-3641.

[8] Marinach C., Alanio A., Palous M., Kwasek S., Fekkar A. et al., *Proteomics*, 2009, 9, 4627-4631.

14/3o — 3 décembre 2009 - 09:15 - 342B

MALDI-TOF Mass Spectrometry as efficient as multi-locus sequencing for Aspergilli identification

A. Alanio[2], J.L. Beretti[2], B. Dauphin[2], E. Mellado[1], G. Quesnes[2], A. Amara[2], X. Nassif[2], M.E. Bougnoux[2]

[1]Servicio de Mycologia, Instituto de Salud Carlos III, Madrid, Espagne [2]Microbiologie, Hôpital Necker Enfants-Malades, Paris, France

Introduction: Current identification of Aspergilli based on morphological characteristics fails to detect emerging species recently described by using multi-locus sequencing (MLS). Such identification is important because of different patterns of antifungal drug susceptibility. We postulate that MALDI-TOF Mass Spectrometry (MS), as in bacterial species identification, can also discriminate species of *Aspergillus*.

Methods: A set of reference strains belonging to 24 clinically relevant species was used to build a reference database, as previously described (J.Clinical.Microbiol., 45, 2156). To identify species specific discriminating peaks, the profile of early (<2 days) and late (>4 d.) spores were analyzed for each referenced strain. The spectra of 120 clinical and 16 environmental isolates, identified with MLS (beta-tubulin and calmodulin) were compared to that of each of the 28 reference strains as follows: 50 *A. fumigatus*, 7 *A. lentulus*, 5 *Neosartorya pseudofischeri*, 2 *A. viridinutans* and *A. hiratsukae*, *A. fumigatiaffinis*, 1 *A. fumisynnematus*, *N. fischeri* and *N. udagawae* (section *Fumigati*); 13 *A. flavus*, 2 *A. tamarii*, 1 *A. parvisclerotigenus* (s. *Flavi*); 8 A. terreus (s. *Terrei*), 9 *A. niger*, 2 *A. foetidus*, 1 *A. tubengensis* (s. *Nigri*); *4 Emericella nidulans*, 1 *E. quadrilineata*, 7 *A. sydowii*, 3 *A. versicolor* (s. *Nidulantes*); 11 *A. calidoustus*, 1 *A. pseudodeflectus*, 1 *A. insuetus* (s.*Usti*); 1 *A. ochraceus* (s. *Circumdati*).

Results: Using our database, identification was correct in 134 of 136 isolates (98, 4%): 69 of 71 (98%) from section *Fumigati*, 16 of 16 (100%) from *Flavi*, 8 of 8 (100%) from *Terrei*, 12 of 12 (100%) from *Nigri*, 15 of 15 (100%) from *Nidulantes*, and 13 of 13 (100%) from *Usti*.

Conclusion: MALDI-TOF-MS is a powerful tool for rapid identification of relevant species of *Aspergillus,* including those emerging that cannot actually be identified by microscopic examination.

15/3o — 3 décembre 2009 - 09:30 - 342B

Efficacité comparée de la technique Sensititre YeastOne® et de la technique de référence de dilution en milieu liquide du CLSI (M27-A3) dans la détermination de la sensibilité de 102 souches de *Candida* sp. et *Cryptococcus* sp. à 8 antifongiques

S. Bertout[2], P. Drakulovski[2], C. Dunyach-Remy[2], J. Reynes[1], M. Mallié[2]

[1]Maladies infectieuses et Tropicales, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», CHU Gui de Chauliac [2]Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», Faculté de Pharmacie, Montpellier, France

But : La pratique de l'antifongigramme est réalisée dans le but d'améliorer la prise en charge des patients. Le protocole M27-A3 édité par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (ex-NCCLS) reste à ce jour la méthode de référence internationale. Cependant ce sont les tests commerciaux qui sont réalisés en routine hospitalière car ils sont plus faciles d'utilisation. Le but de cet étude est de comparer la performance d'un de ces test, le Sensititre YeastOne *vs.* la microméthode de référence (M27-A3) du CLSI.

Matériel et méthodes : La sensibilité de 102 souches de levures (*Candida albicans* n=58, *C. tropicalis* n=6, *C. glabrata* n=6, *C. krusei* n=2, *C. lusitaniae* n=6, *C. parapsilosis* n=4 and *Cryptococcus* n=20) est déterminée par la méthode Sensititre Yeast One (Biocentric) comparativement à la technique de référence du CLSI (M27-A3). Les molécules testées sont : l'amphotericine B (AMB), la 5-fluorocytosine (5FC), le fluconazole (FCZ), l'itraconazole (ITZ), le kétoconazole (KTZ), le posaconazole (PCZ), le voriconazole (VCZ) et la caspofungine (CAS). Les résultats sont lus après 24h à 48h d'incubation à 35°C pour les isolats de *Candida* et après 48 à 72h d'incubation pour les isolats de cryptocoques.

Résultats : Le pourcentage global de concordance à ± 2 dilutions successives entre les deux méthodes est de 83,82%.

Pour les 102 souches testées, les pourcentages de concordance entre les deux méthodes sont de 90,20% pour l'AMB et la 5FC, de 88,24%, 87,25%, 83,33% pour la CAS, le POS et l'ITZ respectivement, de 80,39% pour le VCZ et le KTZ et de 70,59% pour le FCZ.

Les concordances de catégories (Sensible, Intermédiaire, Sensible-Dose-Dépendant, Résistant) sont réalisées pour les antifongiques dont les seuils de résistance et de sensibilité sont déterminés par le CLSI. Les pourcentages de concordance de catégories s'échelonnent de 97,06% pour la CAS et le PCZ à 79,41% pour l'ITZ. Les valeurs pour le VCZ, le FCZ et la 5FC sont de 86,27%, 85,27% et 94,12% respectivement.

Conclusion : Cette étude montre une bonne corrélation entre les deux méthodes, surtout en terme de catégories, permettant ainsi de déterminer les souches résistantes à la molécule considérée. Le faible pourcentage de corrélation globale, notamment pour le FCZ peut s'expliquer dans le choix de l'échantillon, constitué en grande partie de souches de *C. albicans* présentant des « effets de traîne » qui engendrent des difficultés de lecture. Cependant pour toutes les autres molécules, le pourcentage de corrélation obtenu est supérieur à 80% voire à 90% pour l'AMB et la 5FC. Ces données démontrent que le Sensititre YeastOne est une méthode fiable pour la pratique de l'antifongigramme en routine.

16/3o — 3 décembre 2009 - 09:45 - 342B

Résistance de *C. albicans* à la caspofungine : rôle de la chitine ?

P. Drakulovski[2], S. Bertout[2], C. Dunyach-Remy[2], J. Reynes[1], M. Mallié[2]

[1]Maladies infectieuses et Tropicales, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», CHU Gui de Chauliac [2]Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», Faculté de Pharmacie, Montpellier, France

Introduction : Le mécanisme principal décrit pour expliquer la résistance de *Candida albicans* à la Caspofungine consiste en l'apparition de mutations ponctuelles dans deux régions du gène FKS1 (Hotspot1 et Hotspot2) codant pour une sous unité de la β 1-3 D glucane-synthase. CaInR est une souche de *Candida albicans* résistante à la Caspofungine obtenue au sein de notre

laboratoire à partir d'une souche initialement sensible (ATCC 90028 nommée CaInS) soumise à une pression de sélection continue. CaInR (CMI = 8µg/mL) ne présente pas de mutations sur son gène FKS1. Le but de ce travail est donc d'étudier la composition pariétale et les gènes impliqués dans la biosynthèse de la paroi de CaInR pouvant expliquer la capacité de cette souche à survivre à cette concentration élevée d'antifongique.

Matériel et Méthodes : Les quantités de composants pariétaux (glucanes, mannanes, chitines) ont été évalués pour la souche CaInR par ELISA et IF en comparaison avec la souche CaInS en présence ou absence de Caspofungine. Les auteurs ont ensuite évalué le niveau d'expression des 4 gènes codant pour les chitines synthases (CHS1, CHS2, CHS3 et CHS8) et des 4 gènes codant pour les chitinases (CHT1, CHT2, CHT3 et CHT4) fongiques by qRT-PCR. Enfin, des mutations ponctuelles pouvant affecter l'activité enzymatique des produits d'expression protéiques codés par les 4 gènes de chitinases ont été recherchés.

Résultats : La quantité de β 1-3 glucanes de la souche CaInR diminue d'un facteur 8 comparativement à la souche CaInS que ce soit en présence ou absence de Caspofungine. Parallèlement la quantité de chitine dans la souche CaInR est significativement plus élevée (x2, 2) que dans la souche CaInS. Pour les mannanes, les quantités mesurées sont équivalents pour les 2 souches en présence ou absence de l'antifongique. Aucune différence d'expression significative n'a pu être mise en évidence entre les 2 souches pour les gènes des chitinases CHT1, CHT2, CHT3, CHT4 et pour les gènes des chitines synthases CHT1, CHT3 et CHT8. Par contre le gène de la chitine synthase 2 (CHT2) est très fortement surexprimé chez CaInS en absence (x39) ou en présence (x321) de Caspofungine par rapport au même gène chez CaInR. Enfin, des mutations ponctuelles (3 pour le gène CHT2 et 2 pour le gène CHT3) ont été trouvées pour la souche CaInR.

Conclusion : Le mécanisme permettant la survie de la souche CaInR en présence d'une forte concentration de Caspofungine pourrait s'expliquer par un augmentation du taux de chitine en remplacement des β 1-3 glucanes au niveau de sa paroi fongique. Cette augmentation est liée à une sur-expression d'un gène de chitine synthase (CHS2) mais pourrait également être lié à des mutations délétères détectées dans 2 gènes codant pour des chitinases (CHT2 et CHT3), mutations qui pourraient affecter l'activité enzymatique de dégradation de la chitine des produits d'expression protéique de ces 2 gènes.

17/3o — 3 décembre 2009 - 10:00 - 342B

Consommation des antifongiques dans les hôpitaux de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris

R. Mas, A. Lagniel, E. Maupu, S. Fournier
Direction de la Politique Médicale, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

La prise en charge des infections fongiques invasives a été bouleversée ces dernières années par l'arrivée de nouvelles molécules très efficaces mais aussi très coûteuses.

Objectif : Analyser l'évolution de la consommation des antifongiques dans 38 hôpitaux de l'AP-HP (23 hôpitaux de moyen et court séjour (MCO), 15 hôpitaux de moyens et longs séjours)

Méthode : Élaboration d'une base de données de consommation des antifongiques en doses définies journalières pour 1000 journées d'hospitalisation (DDJ/1000JH) à partir des quantités d'antifongiques commandées par chaque hôpital de l'AP-HP à l' Agence Générale des Equipements et Produits de Santé (AGEPS). Analyse de l'évolution de la consommation entre 2003 et 2008, recherche d'une corrélation entre la consommation des antifongiques et les spécialités médicales des hôpitaux.

Résultats : Entre 2003 et 2008, la consommation globale est passée de 46,24 DDJ/1000 JH (moyenne à 43, médiane à 24, 1er quartile à 4,76 et 4ème quartile à 54,69 DDJ/1000JH) à 49,69 DDJ/1000JH (moyenne à 48,74, médiane à 21,8, 1er quartile à 3,72 et dernier quartile à 56,02 DDJ/1000JH). Les antifongiques sont principalement consommés par les hôpitaux de MCO. Les formulations lipidiques (Ambisome, Abelcet) ont progressivement pris la place de l'Amphotéricine B. L'évolution de la consommation des antifongiques est analysée en parallèle de l'évolution des diagnostics d'infections fongiques invasives. Une corrélation significative est retrouvée entre la consommation des antifongiques et la part de l'activité en hématologie cancérologie des hôpitaux.

Conclusion : L'analyse de la consommation des antifongiques dans les hôpitaux doit être interprétée en fonction de l'activité en hématologie cancérologie et du nombre d'infections fongiques invasives pris en charge dans chaque hôpital.

18/3o — 3 décembre 2009 - 10:15 - 342B

Survenue de carcinomes cutanés sous voriconazole au long cours : vigilance du prescripteur, vigilance du patient

O. Epaulard[2], C. Saint Raymond[4], C. Villier[3], M.T. Leccia[1]
[1]Dermatologie [2]Infectiologie [3]Pharmacovigilance [4]Pneumologie, CHU de Grenoble, Grenoble, France

Introduction : Le voriconazole est connu pour son effet photosensibilisant ; récemment, 3 cas de survenue sous voriconazole au long cours de carcinomes cutanés ont été rapportés chez des patients immunodéprimés par le VIH ou dans le cadre d'une transplantation. Nous rapportons 4 cas de carcinomes cutanés parfois très agressifs sous voriconazole.

Description des cas : Les patients étaient sous voriconazole depuis 2 ans (2 patients) et 3 ans (2 patients). Trois d'entre eux avaient bénéficié d'une transplantation pulmonaire 5 ans (1 patient) et 6 ans (2 patients) auparavant ; la 4ème patiente avait reçu un traitement par méthotrexate pour une polyarthrite rhumatoïde 3 ans auparavant. Trois patients avaient un phototype clair. Les 4 patients ont d'abord présenté des lésions de photosensibilisation et de kératose actinique, avant que n'apparaissent les lésions néoplasiques sur des zones photoexposées ; en particulier, il existait des localisations faciales chez tous les patients. Il s'agissait de lésions aggressives, multifocales, nécessitant une exérèse chirurgicale parfois large, et motivant dans un cas une chimiothérapie devant la présence de métastases. L'arrêt du voriconazole (remplacé dans un cas par de l'itraconazole et dans 2 cas par du posaconazole) s'accompagnait de la régression puis la disparition des lésions prénéoplasiques, et même (dans un cas) des lésions carcinomateuses de petite taille.

Discussion et conclusion : L'hypothèse d'une responsabilité du voriconazole dans la survenue de carcinomes cutanés peut être évoquée devant la dynamique d'évolution des lésions après instauration puis après retrait de la molécule. Les prescripteurs et les patients doivent connaître cette possibilité, pour laquelle l'immunodépression et le phototype clair semblent être des facteurs de risque. La photoprotection est impérative chez ces patients, ainsi qu'un suivi dermatologique ; l'apparition de lésions de photosensibilité doit probablement conduire à l'éviction définitive de cette molécule ainsi que du fluconazole, structuralement proche.

19/4o — 3 décembre 2009 - 09:00 - 343

Pneumonie expérimentale à *Pseudomonas aeruginosa* : efficacité du doripénème *versus* imipénème et méropénème

C. Bretonnière[2-1], C. Jacqueline[2], V. Le Mabecque[2], A.F. Miegeville[2], J. Caillon[2], G. Potel[2], D. Boutoille[2]
[1]Réanimation médicale, CHU de Nantes [2]EA 3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, UFR Médecine Pharmacie, Nantes, France

Introduction : *Pseudomonas aeruginosa* est fréquemment impliquée dans les infections nosocomiales (pneumonies, infections urinaires, bactériémies), touchant les patients fragiles (immunodéprimés, réanimation, mucoviscidose…). Cette bactérie cumulant de multiples mécanismes de résistance aux antibiotiques, le traitement est souvent problématique pour le clinicien. Dans ce contexte, le doripénème, nouveau 1-β méthylcarbapénème, a obtenu l'AMM européenne en juillet 2008.

Nous souhaitons comparer cette molécule à 2 carbapénèmes de référence et affiner les connaissances PK-PD de la molécule.

Matériels et méthodes : Nous avons utilisé le modèle de pneumonie expérimentale à *Pseudomonas aeruginosa* PAO1 avec reproduction chez le lapin d'une pharmacocinétique (PK) humaine.

On compare dans un premier temps 4 groupes (n=8):

- traitement (TTT) par doripénème (PK simulée : 500mgX3/j ; *DP500X3*),
- TTT par imipénème (1gX3/j ; *IMP*),
- TTT par méropénème (1gX3/j ; *MP*),
- animaux non traités.

Dans un second temps, on a comparé 3 groupes « doripénème » :

- posologie usuelle (500mgX3/j ; *DP500X3*),
- forte posologie (1gX3/j ; *DP1000X3*),
- doripénème IVSE (1500mg/24h ; *DP1500*).

Les résultats sont exprimés en réduction de charges bactériennes par rapport aux animaux témoins (delta $\log_{10}$) au niveau pulmonaire ou au niveau des rates. La positivité des hémocultures a également été comparée dans les différents groupes.

Résultats : DP500X3, vs IMP et MP

Au niveau pulmonaire, la réduction de charge bactérienne est significativement plus élevée dans le groupe DP500X3 (delta $\log_{10}$= 4,72 ±0,48 CFU/g) par rapport aux groupes IMP (3,96 ±0,53 CFU/g) (P<0,05) ou MP (3,38 ±0,64 CFU/g) (P<0,001). Les cultures spléniques sont moins souvent positives dans le groupe IMP, la fréquence de positivité des hémocultures non statistiquement différente selon les groupes.

DP500X3, vs DP1000X3 et DP1500

On n'observe pas de différence significative en terme de charge bactérienne au niveau pulmonaire. En revanche, dans le groupe DP1500, la réduction de charge bactérienne splénique est significativement moins élevée (0,97 ±0,39 CFU/g) que dans le groupe DP500X3 (1,70 ±0,36 CFU/g) (P<0,01) ou encore dans le groupe DP1000X3 (2,06 ±0,38 CFU/g) (P<0,001). Les hémocultures sont plus souvent positives dans le groupe DP1500 par rapport aux 2 autres groupes (P<0,05).

Conclusion : Le doripénème s'avère supérieur à l'imipénème et au méropénème dans ce modèle de pneumonie expérimentale à PAO1.

Il est difficile de conclure quant à la modalité optimale d'administration du traitement : le traitement continu semble inférieur au traitement discontinu (notamment à forte posologie).

20/4o — 3 décembre 2009 - 09:15 - 343

Activity of Ceftaroline (CPT) *Versus* Daptomycin (DAP) and Tigecycline (TGC) against methicillin-susceptible, methicillin-resistant, and glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus:* an experimental rabbit endocarditis study

C. Jacqueline[2], G. Amador[2], V. Le Mabecque[2], M. Lefebvre[2], D. Biek[1], J. Caillon[2], G. Potel[2]
[1]Cerexa, Inc., Oakland, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

Background: CPT is a novel, parenteral, broad-spectrum cephalosporin with bactericidal activity against gram-positive organisms, including MSSA and MRSA, as well as common gram-negative pathogens. This study compared the *in vivo* activity of CPT with DAP and TGC against *S. aureus* strains in a rabbit model of endocarditis.

Methods: MICs for MSSA/MRSA/GISA strains were 0.5/1.0/1.0 mg/L, 0.5/0.5/0.5 mg/L, and 0.25/0.5/0.5 mg/L, for CPT, DAP, and TGC, respectively. Rabbits infected with 1 of these 3 strains were randomly assigned to: no treatment (controls), CPT (computer-controlled infusion syringe pump simulating a human-equivalent [HE] dose of 10 mg/kg/12h), DAP (simulating a HE dose of 6 mg/kg/24h), and TGC (simulating a HE initial dose of 100 mg followed by 50 mg/12h). Bacterial counts in vegetations were determined at the end of a 4-day treatment.

Results:

	Mean ± SD $\log_{10}$ CFU/g of Vegetation		
Treatment	MSSA (n)	MRSA (n)	GISA (n)
Controls	9.63 ± 0.80 (0/8)	8.80 ± 0.33 (0/10)	8.51 ± 0.39 (0/8)
CPT (HE 10 mg/kg/12h)	2.44 ± 0.27 (8/8)[a,c]	2.59 ± 0.12 (8/8)[a,c]	2.48 ± 0.12 (8/8)[a,c]
DAP (HE 6 mg/kg/24h)	3.85 ± 2.43 (5/8)[a,c]	3.52 ± 1.98 (4/7)[a,c]	2.57 ± 0.31 (8/8)[a,c]
TGC (HE 50 mg/12h)	6.89 ± 1.83 (0/6)[b]	7.11 ± 1.18 (0/5)[b]	7.20 ± 1.27 (0/6)[b]

(n) = no. of sterile veg/total no. of veg.
[a] $p < .001$ vs controls. [b] $p < .05$ vs controls. [c] $p < .01$ vs TGC; Bonferroni's test after analysis of variance.

Conclusions: 1. Both CPT and DAP showed strong bactericidal activity *in vivo* against MSSA, MRSA, and GISA strains, whereas TGC demonstrated only moderate activity. 2. Combination therapy should be considered with DAP to avoid the emergence of DAP-resistant mutants, which were observed in this study with MSSA and MRSA strains. 3. Combination therapy with TGC should be investigated to increase *in vivo* efficacy. 4. CPT was the only drug that achieved 100% sterilization of the infected vegetations for all strains. These data strongly support CPT as a therapeutic option for the treatment of severe *S. aureus* infection.

21/4o — 3 décembre 2009 - 09:30 - 343

50% Effective dose (ED_{50}) determination of CXA-101 (CXA) alone or in combination with Tazobactam (TAZ) for treating experimental peritonitis in mice due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* (EC) strains: comparison with Ceftazidime (CAZ) and Piperacillin/Tazobactam (TZP)

C. Jacqueline[2], C. Desessard[2], A. Roquilly[2], A.F. Miegeville[2], Y. Ge[1], J. Caillon[2], G. Potel[2], E. Batard[2]
[1]Calixa Therapeutics Inc, San Diego, CA, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

Background: CXA is a novel parenteral cephalosporin with potent *in vitro* activity against EC, including extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) producer. The aim of this study was to determine the ED_{50} of the new cephalosporin, CXA, alone or in combination with the beta-lactamase inhibitor, in comparison with CAZ and TZP against ESBL-producing EC.

Methods: EC2 (ESBL-), EC3 (ESBL+), and EC4 (ESBL+) *E. coli* strains were used in this study. MICs for CXA alone or combined with TAZ were 0.25/0.25, 2/0.25, and 64/1, for EC2, EC3, and EC4 respectively. Mice were infected intraperitoneally with 0.6 mL of the infecting inoculum (LD_{100}). Treatment was injected 2, 4, and 6h after the bacterial challenge using the subcutaneous route. For each drug, concentrations ranged from 0.01 to 300 mg/kg. After an observation period of 5 days, the Reed and Muench method was used for the determination of ED_{50}.

Results: ED_{50} for EC2 (ESBL-) was 0.9, 0.3, 0.4, and 14.7 mg/kg for CXA, CXA/TAZ, CAZ, and TZP, respectively. ED_{50} for ESBL+ strains EC3/EC4 was 192.3/123.3, 25.9/25.5, 25.6/263.3, and >300/>300 mg/kg, for CXA, CXA/TAZ, CAZ, and TZP, respectively.

Conclusions: 1. CXA exhibited similar activity to CAZ against EC2 (ESBL-) strain. 2. TZP exhibited moderate activity against EC2 strain. 3. The addition of TAZ to CXA significantly enhanced the *in vivo* activity against ESBL-producing strains. 4. CXA/TAZ showed similar activity to CAZ against ESBL+ EC3 strain and demonstrated superior activity to CAZ against ESBL+ EC4 (CAZ-resistant strain). 5. TZP was not effective vs ESBL in this study (ED_{50}>300 mg/kg). 6. Further studies are needed to confirm the activity of CXA/TAZ against other ESBL+ Enterobacteriaceae species.

22/4o — 3 décembre 2009 - 09:45 - 343

Étude de l'activité d'antibiotiques vis-à-vis des formes intracellulaires de *Staphylococcus aureus* et *Legionella pneumophila*

S. Lemaire, F. Van Bambeke, P. Tulkens
Unité de pharmacologie cellulaire et moléculaire et Louvain Drug Research Institute, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

Objet de l'étude : Les infections intracellulaires demeurent difficiles à traiter du fait de la perte d'activité des antibiotiques dans cet environnement. Nous manquons d'études comparant l'effet des antibiotiques vis-à-vis de bactéries se développant dans des compartiments cellulaires distincts. Nous étudions ici 5 antibiotiques dans un modèle de macrophages humains infectés soit par *S. aureus* (infection phagolysosomiale) soit par *L. pneumophila* (infection phagosomiale.)

Méthodes : (i) Bactéries: *S. aureus* ATCC 25923 et *L. pneumophila* ATCC 33153; (ii) cellules: monocytes THP-1 (ATCC TIB-202); (iii) méthode générale: phagocytose et élimination des bactéries non phagocytées (lavage et exposition à la gentamicine); incubation (24 h [*S. aureus*] ou 48 h [*L. pneumophila*] en présence d'une concentr. d'antibiotique corresp. au Cmax sérique humain; (iv) comptage des UFC. References générales: Barcia-Macay et al, AAC [2006] 50 :841-851; Lemaire et al, AAC [2009] Jun 29. [Epub ahead of print].

Résultats :

Antibiotique	Cmax (mg/L) [a]	*S. aureus*		*L. pneumophila*	
		CMI (mg/L)[b]	activité intracellulaire (Delta log CFU à 24h)	CMI (mg/L)[b]	activité intracellulaire (Delta log CFU à 48h)
contrôle	/	/	1.2 ± 0.1	/	0.6 ± 0.1
azithromycine	0.5	0.5	0.5 ± 0.1	0.01	0.7 ± 0.1
tetracycline	5	0.5	-0.4 ± 0.1	16	-0.2 ± 0.0
clindamycine	20	0.125	-0.6 ± 0.1	4	-0.3 ± 0.1
linezolid	20	1-2	-0.6 ± 0.1	4	-0.9 ± 0.1
ciprofloxacine	4	0.125	-1.4 ± 0.1	< 0.01	-0.7 ± 0.1
finafloxacine	10	0.06	-0.6 ± 0.1	< 0.01	-2.8 ± 0.1
moxifloxacine	4	0.03	-2.0 ± 0.1	< 0.01	-1.8 ± 0.2

[a] données de la littérature ou de phase I (finafloxacine); [b] bouillon Müller-Hinton (BMH); [c] milieu BYEa (*Buffered Yeast Extract* supplémenté en alpha-cétoglurarate)

L'azithromycine, la tétracycline et la clindamycine qui s'accumulent dans les cellules ne montrent qu'une faible activité contrastant avec celle de la moxifloxacine (*S. aureus*) et de la finafloxacine (*L. pneumophila*; effet quasi bactéricide [delta log CFU = ou > 3 log selon le CLSI]).

Conclusion : Il n'existe pas de relation simple entre accumulation et activité intracellulaires des antibiotiques. L'activité intracellulaire ne s'exprime pas de façon semblable vis-à-vis de germes à localisations subcellulaires différentes. Des études expérimentales directes sont donc nécessaires pour connaître le niveau d'activité des molécules proposées pour le traitement des infections intracellulaires.

23/4o — 3 décembre 2009 - 10:00 - 343

Influence of daptomycin and rifampicin on the survival of *Staphylococcus aureus*-infected osteoblast-like MG-63 cells

J.P. Rasigade[5-1-3], S. Trouillet[5-1-3], T. Ferry[5-1-4], S. Tigaud[3], F. Vandenesch[5-1-2], J. Etienne[5-1-2], F. Laurent[5-1-3]
[1]Centre National de Référence des Staphylocoques [2]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Est [3]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Nord [4]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon [5]INSERM U851, Université Lyon 1, Lyon, France

Background: *Staphylococcus aureus* (SA) is the most frequently involved pathogen in osteomyelitis. It can invade several human cell types including osteoblasts and survive inside them, thus evading from the host immune response and most antibiotics. Intracellular persistence of SA is thought to constitute a latent reservoir, likely involved in delayed relapse that frequently occurs in osteomyelitis.

Objectives: Among the antibiotics used in treatment of osteomyelitis, daptomycin and rifampicin have proved to be effective against intracellular pathogens including SA. We aimed at investigating the yet unknown influence of these antibiotics on the survival of osteoblasts bearing intracellular SA.

Methods: Osteoblast-like MG-63 cells were infected with ATCC 9144 SA reference strain for 2 hours. Cultures were then incubated for 2 hours with 100 mg/l gentamicin, alone or in combination with daptomycin (6 mg/l or 60 mg/l) or rifampicin (5 mg/l or 10 mg/l). Gentamicin, which has no intracellular bactericidal activity, was solely used to rapidly eliminate the remaining extracellular SA, and so served as comparator when incubated alone. After 2h, cultures were washed and incubated in 1% penicillin-streptomycin medium to avoid survival of bacteria released by cell lysis. After 18h, cell viability was assessed using trypan blue exclusion and the remaining intracellular SA were

quantified by plating Triton X100 cell lysates on agar.

Results: Antibiotics effects were ranked as follows on the basis of the mean fold increase in cell viability as compared with gentamicin alone: 10 mg/l rifampicin (2.68-fold, p<0.02), 60 mg/l daptomycin (2.51-fold, p<0.02), 6 mg/l daptomycin (2.25-fold, p<0.02) and 5 mg/l rifampicin (1.64-fold, non-significant). Plate counting of viable intracellular SA yielded a mean of approximately 10^4 UFC/well.

Conclusions: Daptomycin and high concentration rifampicin significantly improved survival of SA-infected osteoblast-like cultured cells. The maintained effect of daptomycin at low concentration is of major interest in clinical practice. Further studies are ongoing to assess if this survival eventually correlates with the complete elimination of intracellular SA, or if surviving cells perpetuate the bacterial reservoir.

24/4o — 3 décembre 2009 - 10:15 - 343

Effet neuroprotecteur de la Ciprofloxacine sur la substance blanche en développement dans un modèle de sepsis à *Escherichia coli* chez le rat nouveau-né

G. Loron[2], H. See[2-1], L. Angulo[2-1], Y. Aujard[2], E. Bingen[1], O. Baud[2], S. Bonacorsi[1]
[1]*Microbiologie* [2]*Réanimation Néonatologie, Hôpital Robert-Debré, Paris, France*

L'infection périnatale et le syndrome inflammatoire associé représentent un facteur de risque majeur de lésions de la substance blanche (SB) cérébrale responsables de séquelles neurologiques chez le prématuré. Le traitement de ces infections fait appel à une antibiothérapie probabiliste comprenant le plus souvent une céphalosporine de 3ème génération. L'utilisation ciblée d'antibiotiques possédant une activité immunomodulatrice propre comme les fluoroquinolones pourrait représenter une nouvelle stratégie thérapeutique.

Une infection du rat nouveau-né a été induite au 5e jour de vie (J5) par l'inoculation intrapéritonéale (H0) de *Escherichia coli* C5 (O18:K1:H7), suivie à H7, 5 par l'instauration d'une antibiothérapie comprenant soit le céfotaxime (CTX), soit la ciprofloxacine (CIP). La numération de la bactériémie à H7, 5 et à H24 a permis de quantifier l'infection et l'efficacité des antibiotiques. Le profil cytokinique systémique a été déterminé par Luminex. Le développement de la substance blanche a été évalué à l'aide de marqueurs en immunohistochimie et RT-PCR quantitative à J7 et J10 (activation microgliale, myélinisation, facteurs de maturation oligodendrocytaire).

Les deux traitements présentaient une efficacité similaire (>90% de stérilisation) et le profil cytokinique des animaux traités n'était pas différent selon l'antibiotique utilisé. A J7, les ratons traités par CTX présentaient une densité significativement augmentée de microglie activée par rapport aux animaux traités par CIP et aux contrôles (ratons non infectés). Les animaux infectés présentaient un déficit significatif de la myélinisation et de la densité en oligodendrocytes dans la SB. Cependant, ce déficit était moins important chez les animaux traités par CIP que par CTX. L'expression des marqueurs précoces du développement oligodendrocytaires Sox 10, PDGFRa, NKx2.2 était significativement plus élevée dans le groupe CTX par rapport au groupe CIP et aux contrôles non infectés.

L'impact bénéfique de la CIP sur l'activation microgliale et le défaut de myélinisation de la SB dans notre modèle de sepsis à *E. coli,* sans modification du profil cytokinique systémique, suggère que la CIP possède un effet neuroprotecteur intrinsèque sur la substance blanche.

25/5o — 3 décembre 2009 - 09:00 - 351

Evaluation of the Xpert MRSA assay for rapid detection of methicillin resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in patients hospitalized in a geriatric unit

A. Grimmelprez[2], C. Laurent[1], P. Bogaerts[2], D. Schoevardts[3], O. Denis[1], Y. Glupczynski[2]
[1]*Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Universitaire ULB-Erasme, Bruxelles* [2]*Laboratoire de Microbiologie* [3]*Service de Gériatrie, Cliniques universitaires UCL de Mont-Godinne, Yvoir, Belgique*

Aim of the study: We prospectively assessed the analytical performance of the real-time PCR based GeneXpert (GX) system comparatively to selective culture for detection of MRSA carriage in a cohort of geriatric patients admitted to hospital.

Methods: Between 10/07 and 01/09, the Xpert MRSA assay (Cepheid) was challenged with chromogenic agar (ChromID MRSA, Biorad) on double nasal swabs in all patients admitted to the geriatric ward and presenting classical risk factor(s) for MRSA carriage. In a second step (03/09 to 05/09) and in order to enhance sensitivity of MRSA detection, a pooling of nasal, throat and perineum samples (Copan triple Eswab in transport medium) was used for PCR and for culture.

Results: Of 469 specimens analyzed in the first phase, 59 (12.6%) were positive for MRSA by culture and/or GX. Thirty-four (7.2%) were MRSA positive both by GX and by culture. Discrepant results were observed in 25 cases (12 positive culture/GX negative [2.6%] and 13 GX positive/culture negative [2.7%]). Accuracy, sensitivity, specificity, PPV and NPV of the GX in comparison to culture were 94.7%, 73.9%, 96.9%, 59.6% and 97.9% respectively. In the second phase, 10 of the 98 (10.2%) specimens analyzed were MRSA positive by culture and/or GX (9 were culture positive and only 5 were positive with GX). Pooling multiple sites did not improve MRSA detection by GX. Overall, false positive results by GX could not be ruled out by antecedent of MRSA carriage. A significant number of GX false-negative results (6 of 17) could be ascribed to the lack of recognition by Xpert MRSA of one MRSA strain (*spa* type t008) harbouring a modified type IV SCCmec cassette.

Conclusion: GX appears as a rapid and easy diagnostic tool but Xpert MRSA showed a low sensitivity for the detection of MRSA carriage in this geriatric population even after extending the sampling to extranasal sites by pooling. This contrasts with previous evaluations of the same test which reported a higher sensitivity of MRSA detection (>97%). A siginificant part of the false negative results could be explained by structural modifications of SCCmec cassettes of MRSA strains. Further studies should be performed in order to unravel the other possible reasons that might account for these disappointing results in geriatric patients.

26/5o — 3 décembre 2009 - 09:15 - 351

Evaluation of the VITEK2 system AST-P551 card (VK2), for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* expressing low-level methicillin resistance (LLR-MRSA)

M. Al Nakib[2], H. Poupet[2], J.M. Adam[2], M. Longo[2], J. Raymond[2], A. Tazi[2], G. Zambardi[1], C. Poyart[2]
[1]*Département antibiotiques, bioMérieux, La Balme-Les-Grottes* [2]*Service de Bactériologie, Hôpital Cochin, APHP, Université Paris Descartes, Paris, France*

Background: Detection of LLR-MRSA is a challenge for microbiologists. Despite expression of the *mec*A-encoded protein PBP2a, some LLR-MRSA may not be detected by VK2. Their detection is crucial as the use of oxacillin may select highly resistant bacteria, ultimately leading to therapeutic failure. The aim of this study was to evaluate the VK2 for the detection of LLR-MRSA in comparison to the CA-SFM cefoxitin/moxalactam disc diffusion method (diFOX).

Methods: Non-redundant MRSA detected by the diFOX and methicillin-susceptible SA strains (MSSA) detected by VK2 with oxacillin (OXA) MICs between 1 and 2 mg/l, both without any associated antibiotic resistance were selected. All strains were re-evaluated for OXA susceptibility with VK2, chromID MRSA Agar® and diFOX. Presence of *mecA* gene was confirmed by PCR and its expression by PBP2a latex agglutination. LLR-MRSA isolates misdiagnosed as MSSA by VK2 were typed by Pulse-Field-Gel-Electrophoresis. For evaluating the inducibility of the OXA resistance expression, 2 selected LLR-MRSA were sub-cultured in BHI broth containing sub-inhibitory concentrations of OXA. Etest®, VK2 OXA MICs and molecular typing were performed on these strains before and after sub-cultures.

Results: In 2008, 237 non-redundant MRSA were diagnosed, 15 (6.3%) had no antibiotic cross-resistance and among them 4 strains (1.7%) were misdiagnosed as MSSA by VK2 (VK2 OXA MIC ≤ 2 mg/l and FOX screen negative). All 4 strains had VK2 OXA MICs between 1 and 2 mg/l and were positive for chromID MRSA Agar®, diFOX, *mecA* specific PCR and PBP2A detection. High-level OXA resistance, detectable by VK2, was successfully induced by sub-inhibitory OXA concentrations. Molecular typing showed that 3 out of 4 were genetically closely related.

These strains were isolated over a three-month period from 3 different patients hospitalized in the same intensive care unit thus suggesting a nosocomial cross-transmission.

Conclusion: In this study, VK2 could not detect 26.7% of LLR-MRSA without any antibiotic cross-resistance whereas these strains may develop high-level resistance if exposed to OXA. Therefore SA strains showing VK2 OXA MICs between 1 and 2 mg/l should be submitted to a confirmatory test for MRSA detection.

27/5o — 3 décembre 2009 - 09:30 - 351

Dépistage de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM) par biologie moléculaire (Cepheid GeneXpert IL, GeneOhm BD, LightCycler Roche, Evigene I2A) *Versus* dépistage par culture : stratégie économico-pratique pour le laboratoire

E. Demondion[2], C. Jouannet[2], J. Charron[2], C. Chillou[2], V. Salaun[1], B. Mankikian[1], P. Laudat[2-1]
[1]*Hygiène-EOH, Clinique Saint Gatien* [2]*Microbiologie, Laboratoire Arnaud, Tours, France*

Objectifs : Les patients admis à la Clinique Saint Gatien (Tours) dans les services de chirurgie cardiaque et de réanimation cardiologique font l'objet d'un dépistage de SARM à l'entrée, par écouvillonnage nasal et culture sur gélose au sang et milieu chromogène rendu sélectif par adjonction de céfoxitine : BBL CHROMAgar MRSA II-BD (réponse à J+1). Nous avons souhaité évaluer les techniques de biologie moléculaire disponibles afin d'obtenir une réponse à J0 pour la majorité des patients et définir une stratégie économico-pratique pour le laboratoire.

Techniques : nous avons ainsi étudié les quatre techniques de biologie moléculaire suivantes : Cepheid GeneXpert (IL), GeneOhm (BD), LightCycler (Roche) et Evigene (I2A). Dès réception, les écouvillons de portage nasal sont traités par culture, choisie comme référence, et par l'une des techniques de biologie moléculaire, en respectant les données du fabricant. Nous avons ainsi mené quatre études entre Avril 2008 et Février 2009 jusqu'à obtenir un échantillonnage significatif pour chacune d'elles.

Méthodes : Par dépistage nous entendons une méthode qui, chez des patients en attente de chirurgie, nous permet d'exclure le portage de SARM et ainsi de ne pas modifier la prise en charge de ceux-ci. Par exemple, absence de mesures d'isolement spécifiques à l'entrée, pas de modification de l'antibioprophylaxie en cours d'intervention et pas de mesures d'isolement en postopératoire immédiat.

Résultats : Les critères jugés sont :

- techniques : temps pour un ou une série d'échantillon(s) N=10 ou plus (environ 2h pour toutes les techniques sauf GeneXpert qui dure 75min), niveau d'accessibilité (pas de formation nécessaire pour GeneXpert).

- réponses : délai d'obtention à J0 (toutes les techniques de biologie moléculaire), facilité de lecture et d'interprétation des résultats (pas de spécificité requise pour GeneXpert), échec ou non (12% d'échec des contrôles internes pour GeneOhm).

- économiques : coût pour un ou une série d'échantillon(s) (N=10 ou plus), soit X le coût de la culture référence, (10x pour Evigene et LightCycler, 20x pour GeneOhm et 40x pour GeneXpert).

- VPN : 100% pour GeneXpert et Lightcycler.

Conclusions : A sensibilité égale, aucune technique, culture comprise, ne permet de résoudre à elle seule notre problématique, soit :

- obtenir des résultats à J0 sur des séries d'échantillons (si N ‹10) : toutes les techniques de biologie moléculaire peuvent convenir.

- au-delà de 10 échantillons : LightCycler (Roche) automatisée ou Evigene (I2A) manuelle.

- quand la réponse à J+1 est suffisante, le recours à la gélose chromogène à lecture à 18h comme BBL CHROMAgar MRSA II (BD) reste le plus économique.

- avoir la certitude que le patient entrant à J0, même en urgence le soir, n'est pas porteur de SARM : uniquement la technique Cepheid GeneXpert (IL). Par ailleurs, Cepheid GeneXpert (IL) permet de réaliser plusieurs tests en parallèle et sa rapidité permet d'aider à contrôler la transmission et à mieux utiliser les antibiotiques.

28/5o — 3 décembre 2009 - 09:45 - 351

Performance de la technique de PCR en temps réel BD geneOhm MRSA comparée au milieu chromogène MRSA pour le dépistage nasal des souches de *Staphylococcus aureus* méticillino-résistants

V. Vernet-Garnier, J. Madoux, C. De Champs, S. Leone, L. Brasme, T. Guillard, V. Duval, O. Bajolet
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Robert Debré, UFR Médecine, Reims, France

Objectif : Comparaison d'une technique rapide de diagnostic moléculaire en temps réel avec un milieu sélectif de culture dans le cadre d'une surveillance active du dépistage des patients porteurs de *Staphylococcus aureus* méticillino-résistants (SAMR).

Matériel et méthodes : Étude non interventionnelle de 3 mois, prospective d'inclusion consécutive des patients hospitalisés. Prélèvement par écouvillonnage des 2 narines, ensemencé sur gélose chomogène MRSA (bioMérieux), puis déchargé dans un tampon traité selon les instructions de la notice de BD GeneOhm MRSA. Conservation du lysat congelé à –20°C pour re-test par BD et par PCR *mec*A conventionnelle si discordance entre les 2 techniques ou en cas de résultats invalides. Lecture du milieu de culture après 24, voire 48H. Si colonies suspectes, identification biochimique et réalisation d'un antibiogramme (Vitek2, bioMérieux) après repiquage sur gélose au sang.

Résultats : 2012 prélèvements ont été effectués chez 1521 patients hospitalisés dans 12 unités de soins sur une période de 3 mois. Les résultats sont présentés dans le tableau suivant :

BD geneOhm	Milieu de culture MRSA		
MRSA PCR	Positif	Négatif	Total
Positif (PCR *mec*A +)	77	18*	95
pos / pos (PCR *mec*A -)	/	12**	12
pos / neg *** (PCR *mec*A -)	/	33	33
neg / pos (PCR *mec*A +)	1	/	1
négatif	5	1774	1779
NR / neg	/	69	69
NR / NR	2	21	23
Total	85	1927	2012

* : 3 patients sous antibiothérapie anti-staphylococcique

** : 5 patients avec des antécédents de portage de SAMR

*** : 1er test /2ème test

Si les tests sont interprétés au 1er passage et comparés (i) à la culture comme test de référence, la sensibilité (Se) et la spécificité (Sp) du test BD sont respectivement de 92,8% et de 96,6% avec une VPP de 55% et une VPN de 99,7%, (ii) à la culture en tenant compte des antécédents des patients et du contrôle avec la PCR *mec*A, la Se est de 92,6%, la Sp de 93,2%, la VPP de 71,4% et la VPN de 99,7%. Les résultats invalides avec BD représentent 4,5% au 1er passage et 1,1% après re-test. Les faux positifs s'élèvent à 2%. Avec la culture 1,1% des résultats sont faussement négatifs. Le délai de rendu est de 1H dès traitement de l'écouvillon pour 14 tests avec BD vs 48 à 72H pour la culture.

Conclusion : Le kit BD GeneOhm MRSA est performant en terme de rapidité et de VPN. En utilisation systématique, le rapport coût/efficacité ne permet pas à l'heure actuelle de retenir ce test à l'échelle d'un hôpital.

29/5o — 3 décembre 2009 - 10:00 - 351

Comparaison de deux méthodes phénotypiques à la PCR pour la recherche de la méticillino-résistance chez des souches de staphylocoques à coagulase négative isolées d'hémocultures

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

Objet de l'étude : Comparer rétrospectivement deux méthodes phénotypiques, disques de céfoxitine et de moxalactam, à la PCR *mecA* en temps réel pour la recherche de la Méthicillino-résistance chez des souches de staphylocoques à coagulase négative (SCN) isolées d'hémocultures.

Méthodes : Toutes les souches de SCN isolées d'hémocultures, entre janvier 2009 et juin 2009, et pour lesquelles un diamètre autour du disque de céfoxitine était ≥ à 27mm (CA-SFM 2009) ont été étudiés à l'aide de deux méthodes phénotypiques (disque de céfoxitine et disque de moxalactam) suivant les recommandations du CA-SFM et d'une méthode génotypique [RT-PCR du gène *mecA* avec les amorces *mecA1* (GCAATCGCTAAAGAACTAAG) et *mecA2* (GGGACCAACATAACCTAATA) en SYBRGreen sur Smart Cycler II®].

Résultats : 89 souches de SCN (5 *S. capitis*, 1 *S. caprae*, 64 *S. epidermidis*, 2 *S. haemolyticus*, 9 *S. hominis*, 3 *S. lugdunensis*, 1 *S. saccharolyticus*, 2 *S. saprophyticus* et 2 *S. warneri*) ont été analysées. Toutes étaient sensibles à la céfoxitine (D ≥ 27mm). La RT-PCR a permis la détection du gène *mecA* chez 37 isolats (41%) dont 28 étaient résistants au moxalactam, (D ≤ 22 m). En prenant comme méthode de référence la PCR *mecA*, la détection de la méthicillino-résistance à l'aide du disque de céfoxitine présente une faible spécificité (59%), bien inférieure à celle utilisant le disque de moxalactam (88%).

Conclusion : le CA-SFM recommande de rechercher la Méthicillino-résistance à l'aide des disques de céfoxitine ou de moxalactam en rappelant que pour les SCN, 4% des souches ne sont pas détectées avec la céfoxitine contre 1% avec le moxalactam. Dans notre étude, ces proportions de faux sensibles étaient supérieures mais toujours avec un rapport de 4 en faveur du moxalactam, la PCR *mecA* étant la méthode la plus sensible. Nous préconisons donc d'utiliser les disques de moxalactam en première intention et de réserver la détection du gène *mecA* par PCR aux souches de SCN sensibles au moxalactam isolées des hémocultures, voire de tous prélèvements « nobles ».

30/5o — 3 décembre 2009 - 10:15 - 351

La résistance à la méticilline en 5 minutes : nouveau test immunochromatographique sur isolement primaire de *Staphylococcus spp*

O. Raulin[3-1], J.P. Rasigade[3-1], L. Parmeland[3], A.M. Freydiere[2], C. Roure Sobas[3], H. Salord[3], J. Etienne[2-1], S. Tigaud[3], F. Laurent[3-1]
[1]Centre National de Référence des Staphylocoques, INSERM 851, Hospices Civils de Lyon [2]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon [3]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Nous avons évalué un **test immunochromatographique innovant permettant la détection de la PLP2a directement à partir des isolements primaires (Clearview Exact PBP2a®, Inverness Medical France)**. Ce test, réalisé en 5 minutes à partir des colonies primaires, repose sur le même principe et la même procédure que les tests de diagnostic rapide (TDR) utilisés pour le dépistage rapide du streptocoque A au cours des angines.

Matériel et méthodes : Au total, 222 souches de staphylocoques cultivées sur gélose au sang et Trypticase-Soja au sang ont été testées : **153 *S. aureus* (102 SASM, 51 SARM) et 69 Staphylocoques à coagulase négative (19 SCNSM, 50 SCNRM)**. Pour chacune de ces souches, le test a également été réalisé après induction de l'expression de la PLP2a, à partir des colonies présentes autour de disques d'oxacilline et de céfoxitine sur gélose Mueller-Hinton. La résistance ou la sensibilité à la méticilline de chaque souche a été déterminée par méthodes phénotypiques (disques céfoxitine, BioRad ; Galerie Phoenix, Becton Dickinson) complétée par la PCR *mec*A en cas de discordances.

Résultats : Pour les *S. aureus* : Se=96,1% ; Sp=100% ; VPP=100% ; VPN=98.1%.

Après induction: Se=100% ; Sp=100%.

Deux des 51 MRSA se sont révélés négatifs en TDR PLP2a à partir de la culture primaire de 24 heures mais étaient positifs après une nuit de réincubation (producteur faible ou lent de PLP2a).

Pour les SCN : Se=86% ; Sp=100% ; VPP=100% ; VPN=73%.

Après induction: Se=100% ; Sp=100%.

Sept des 50 SCNMR se sont révélés négatifs en TDR PBP2a sur une culture de 24 heures mais étaient positifs après une nuit de réincubation (producteur faible ou lent de PLP2a). Il est à noter que le test TDR PBP2a a permis de détecter une souche de SCNMR (confirmée par PCR*mec*A) qui n'avait pas été mise en évidence par les antibiogrammes (disques et Phoenix BD).

Conclusion : Le test Clearview Exact PBP2a® permet une identification simple, spécifique et rapide des souches de staphylocoques résistantes à la méticilline (SARM ou SCNMR), directement à partir des isolements primaires. En raison de l'importance d'une adaptation précoce du traitement chez les

patients présentant une infection staphylococcique grave, ce test devrait trouver rapidement sa place au quotidien dans les laboratoires de bactériologie.

31/6o — 3 décembre 2009 - 09:00 - 352A

Diversité génotypique des infections à rotavirus chez l'enfant de moins de 5 ans aux urgences pédiatriques en France

A. de Rougemont[2-3], J. Kaplon[2], C. Fontana[2], P. Lebon[11], J.L. Stephan[14], S. Pillet[14], B. Pozzetto[14], A. Gagneur[1], A. Tran[1], M. Lorrot[10], E. Bingen[10], M. Coste-Burel[8], D. Floret[6], B. Lina[6], M. Rodière[7], V. Foulongne[7], D. Oriot[12], G. Agius[12], R. Colimon[13], D. Hober[4], A. Martinot[4], N. Parez[9], A. Garbag-Chenon[9], L. Fourcade[5], S. Alain[5], F. Huet[3], D. Gendrel[11], P. Pothier[2-3]

[1]CHU de Brest, Brest [2]Centre National de Référence des virus entériques [3]CHU de Dijon, Dijon [4]CHU de Lille, Lille [5]CHU de Limoges, Limoges [6]Hôpital Femme-Mère-Enfant, HCL, Lyon-Bron [7]CHU de Montpellier, Montpellier [8]CHU de Nantes, Nantes [9]Hôpital Armand-Trousseau [10]Hôpital Robert-Debré [11]Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP, Paris [12]CHU de Poitiers, Poitiers [13]CHU de Rennes, Rennes [14]CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

Introduction : Les rotavirus, en particulier les 5 génotypes G1-4 et G9, sont l'étiologie principale des gastroentérites aiguës (GEA) du jeune enfant. Suite à l'introduction de vaccins contre les rotavirus en France, la surveillance des infections et épidémies à rotavirus a été renforcée. Cette étude prospective a été conçue pour évaluer et surveiller la circulation des souches et détecter l'émergence de nouvelles souches potentiellement à risques épidémiques.

Méthodes : L'étude a été conduite durant 3 saisons consécutives entre 2006 et 2009 chez des enfants de moins de 5 ans consultant pour une diarrhée aiguë dans les services d'urgence pédiatrique de 13 CHU. Les rotavirus ont été détectés directement dans les selles par une technique immuno-enzymatique puis génotypés par RT-PCR sur la base de leurs protéines externes de capside VP4 et VP7 (génotypes P et G, respectivement).

Résultats : Au cours de 3 saisons, 1844 rotavirus ont été génotypés. Les souches G1 étaient prédominantes avec 60,4% de prévalence, suivies des G9 avec 26,1%, des G2 avec 5,7%, des G3 avec 4,4% et des G4 avec 2,3. Une association était retrouvée dans 90,9% des cas avec le génotype P[8]. Les infections mixtes, majoritairement des associations G1/G9, ont représenté 3,5% des échantillons. La distribution des génotypes était géographiquement hétérogène, les prévalences régionales des souches G1 et G9 s'étendant de 31,6% à 87,8/% et de 5,1% à 41,1%, respectivement. Enfin, 26 souches de réassortant atypiques ont été détectées, majoritairement des souches G8 et G12.

Conclusion : Les souches G1 et G9 demeurent les principales souches de rotavirus circulant en France et sont impliquées dans 86,5% des GEA. La grande stabilité des génotypes G1 et P[8] depuis plusieurs saisons devrait permettre d'obtenir une protection vaccinale suffisante. La surveillance doit néanmoins être maintenue pour évaluer l'impact de la vaccination sur la distribution des souches et leur expression clinique, et détecter l'émergence de souches responsables de GEA sévères et/ou ne répondant pas aux vaccins actuels telles que G8P[6] et surtout G12P[8], régulièrement observées.

32/6o — 3 décembre 2009 - 09:15 - 352A

Sévérité des gastroentérites aiguës chez les enfants infectés par rotavirus G1 ou G9

C. Aupiais[3-4], A. de Rougemont[1-2], C. Ménager[3], C. Vallet[3], J.F. Brasme[3], J. Kaplon[1], P. Pothier[1-2], D. Gendrel[3-4]

[1]Centre National de Référence des virus entériques, Laboratoire de Virologie, CHU de Dijon [2]Université de Bourgogne, Dijon [3]Service de Pédiatrie, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP [4]Université Paris Descartes, Paris, France

Introduction : Les rotavirus du groupe A sont les agents étiologiques viraux principaux des diarrhées aiguës et responsables d'une forte morbidité chez le jeune enfant. Les souches G9 qui ont récemment émergées pourraient provoquer des symptômes plus sévères chez l'hôte en raison d'une absence d'exposition antérieure à ces rotavirus et/ou d'anticorps maternels chez les jeunes patients. Cette étude a été conçue pour déterminer la sévérité clinique des infections à rotavirus G9 vs G1 chez des enfants hospitalisés.

Méthodes : L'étude a été entreprise de 2004 à 2007 chez des enfants de moins de 5 ans hospitalisées pour gastroentérite aiguë. Les rotavirus ont été détectés dans les selles à l'aide de tests ELISA puis génotypés par RT-PCR sur la base de leurs protéines externes de capside P et G (VP4 et VP7, respectivement). La durée de l'hospitalisation, le score clinique de Vesikari, et la nécessité d'une réhydratation par voie intraveineuse ont été comparés.

Résultats : Parmi les 370 enfants infectés par rotavirus, 162 selles contenaient une souche G1 (*n=76*) ou G9 (*n=86*). La distribution des âges et des sexes, ainsi que la durée moyenne d'hospitalisation (2,7 jours) étaient similaires dans les deux groupes. Les scores de Vesikari étaient de 12,96 et 12,83 dans les groupes G1P [8] et G9P[8] (*p=0.417*), respectivement, où 55,3% et 53,5% des enfants, respectivement, étaient réhydratés par voie intraveineuse.

Conclusions : Aucune différence de sévérité n'a été mise en évidence entre les infections à rotavirus G1 et celles à rotavirus G9. Une surveillance rigoureuse des infections à rotavirus demeure néanmoins indispensable afin de détecter précocement l'émergence de nouveaux réassortants qui peuvent potentiellement provoquer des GEA sévères et/ou échapper à la protection conférée par les vaccins.

33/6o — 3 décembre 2009 - 09:30 - 352A

Impact d'une campagne de vaccination des nourrissons sur les hospitalisations pour gastroentérite aiguës à rotavirus : étude prospective sur la communauté urbaine de Brest. Étude IVANHOE

A. Gagneur[1-4], T. Lemaitre[2], J.F. Segura[4], N. Delaperriere[4], L. Abalea[4], E. Poulhazan[2], A. Jossens[4], L. Auzanneau[2], A. Tran[3], C.H. Payan[3], N. Jay[4], E. Nowak[2], E. Oger[2], et le groupe d'investigateurs[4]

[1]Département de Pédiatrie, CHUS de Fleurimont, Sherbrooke, Canada [2]Centre d'investigation clinique, INSERM 0502 [3]Département de Microbiologie, EA 3882, Laboratoire de Biodiversité et Ecologie Microbienne [4]Pôle de la femme, de la mère et de l'enfant, CHU de Brest, Brest, France

Objectifs : L'objectif principal est d'évaluer l'impact d'une campagne de vaccination des nourrissons contre le rotavirus sur les hospitalisations pour gastroentérite aiguës à rotavirus (GEAR) dans les unités de pédiatrie du CHU de Brest.

Méthodes : Il s'agit d'une étude de cohorte prospective. Les données recueillies rétrospectivement à partir de juin 2002, puis prospectivement dès décembre 2006 au CHU de Brest ont permis de modéliser la survenue des GEAR. L'introduction dans le modèle d'une variable indicatrice de la vaccination a quantifié l'impact (avec un intervalle de confiance à 95%) d'une campagne de vaccination par Rotateq® par les centres de PMI, les pédiatres et des médecins généralistes de la communauté urbaine de Brest (CUB) proposée à tous les enfants nés à Brest. Le critère principal de jugement est le nombre d'hospitalisations pour GEAR chez les nourrissons de moins de 2 ans habitant la CUB par épidémie.

Résultats : Au total plus de 4 600 enfants ont été vaccinés. Pour la CUB, près de 51% de la population a reçu au moins une dose et 2 034 nourrissons ont reçu un schéma vaccinal en 3 doses soit une couverture vaccinale (CV) de près de 47%.

Lors de l'épidémie 2008-2009, le nombre observé d'hospitalisations de nourrissons < 2 ans pour GEAR a été 2 fois moindre (IC95% : [1,5 ; 2,6]) que le nombre d'hospitalisations estimé par le modèle en l'absence de vaccination (n = 30 vs 60).

La réduction relative du risque (RRR) d'hospitalisations pour GEAR chez les nourrissons vaccinés était de 98%, IC95% : [83-100] (p<0,0001) (1/1895 vs 47/2102).

Aucun effet indésirable grave notable n'a été signalé, 2 cas d'invagination intestinale aigue ont été notifiés en adéquation avec le nombre attendu en l'absence de vaccination.

Conclusion : La campagne de vaccination a permis de diviser par 2 les hospitalisations pour GEAR avec une CV d'environ 47% pour 3 doses. L'efficacité de la vaccination sur le terrain est conforme à celle attendue. L'impact sur les infections nosocomiales est en cours d'analyse.

34/6o — 3 décembre 2009 - 09:45 - 352A

Investigation entomologique autour d'un cas d'infection par virus Toscana

J.M. Bérenger[1], S. Plumet[4], A. Armengaud[2], E. Orlandi[3], I. Leparc-Goffart[4], N. Resseguier[2], F. Florence[5], B. Davoust[6], H. Chardon[1], O. Bellon[1], F. Pages[3]

[1]Service de diagnostic des maladies infectieuses, Centre Hospitalier du pays d'Aix, Aix-en-Provence [2]Région Sud-Est, CIRE [3]Unité d'entomologie IRBA, Institut de médecine tropicale du service de santé des Armées [4]CNR des arbovirus, Service de santé des armées, Marseille [5]Institut Pasteur, Paris [6]Bureau vétérinaire, DRSSA, Toulon, France

Objet de l'étude : Le virus Toscana est un arbovirus isolé pour la première fois, en Italie centrale, en 1971, chez un Phlébotome (Diptères). Ce virus est, aujourd'hui, parmi les 3 virus les plus fréquemment identifiés dans les cas de méningites à liquide clair survenant durant la saison chaude, dans les pays de la rive nord de la Méditerranée. Malgré son pouvoir pathogène neuro-invasif, ce virus est resté peu étudié. Depuis 2009, tout signalement d'infection neuro-invasive à virus Toscana, dans les départements français du pourout méditérranéen, fait l'objet d'une double investigation épidémiologique et entomologique.

Méthodes : En collaboration avec la CIRE sud et le Centre National de Référence (CNR) associé des Arbovirus (IRBA antenne Marseille), des enquêtes entomologiques ciblées sont effectuées, dans l'environnement du cas, par une équipe de l'unité d'entomologie médicale de l'Institut de Recherche Biomédicale des Armées (IRBA). Après investigation épidémiologique auprès du patient, des pièges CDC sont disposés le soir dans l'environnement, pour la capture de phlébotomes. Ces pièges sont recueillis le matin, le contenu est trié et identifié et les phlébotomes présents dans les pièges sont ensuite analysés par le CNR associédes Arbovirus pour la recherche du virus Toscana Sandlfy Naples et Sandfly Sicilian.

Résultats obtenus : Une première capture de phlébotomes (100), dans un environnement fréquenté par un cas et comportant de nombreux animaux (ânes, brebis, poules, lapins, rats etc.), a permis de caractériser 1 phlébotome infecté et d'isoler la souche virale. C'est dans le piège placé dans l'abri des ânes que ce phlébotome a été capturé. Des captures ultérieures ont permis de récupérer jusqu'à 950 phlébotomes dans un seul piège.

Conclusion : Le virus Toscana étant considéré comme pathogène émergent encore méconnu, l'intérêt de la surveillance et de l'investigation entomologique est illustré à travers ce cas. Le succès de cette enquête ainsi que toutes les informations recueillies contribuent à une meilleure connaissance de l'épidémiologie de cet arbovirus et permettent d'envisager la mise en place de mesures de Lutte Anti Vectorielle efficaces dans les lieux.

35/6o — 3 décembre 2009 - 10:00 - 352A

Devant une épidémie de rougeole, le personnel hospitalier est-il protégé ?
D'après une enquête effectuée en Auvergne

L. Gibold[2], O. Lesens[2], A. Fouilhoux[3], M. Chambon[1], F. Gourdon[2], J. Beytout[2]
[1]Laboratoire de virologie, Centre de Biologie [2]Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand [3]Médecine Polyvalente, CH Guy Thomas, Riom, France

Objet de l'étude : Depuis le début de l'année 2008, la rougeole est en recrudescence en France. En Auvergne, plus de 150 cas ont été répertoriés entre Août 2008 et Août 2009. Trois infections ont été observées chez des soignants hospitaliers (deux médecins de 32 et 51 ans et une infirmière de 41 ans), sensibilisant le personnel au risque de contracter cette infection pouvant être éprouvante sinon grave pour les adultes.

Méthode : Un prélèvement systématique a été pratiqué dans des services où le personnel soignant était exposé à des contacts avec des rougeoleux (sauf les soignants avec un antécédent connu de deux doses de vaccination): services de Maladies Infectieuses et de Dermatologie du CHU de Clermont-Fd ; services des Urgences et de Médecine Polyvalente de l'Hôpital de Riom. Parallèlement, les antécédents de rougeole et de vaccination ont été répertoriés. Etaient considérées comme protégées les personnes dont le titre des IgG était positif. Etaient considérés comme négatifs ou insuffisamment protégés ceux dont la sérologie était négative ou limite.

Résultats : Au total 141 personnes ont été testées (79 soignants au centre hospitalier de Riom, 45 en Maladies Infectieuses et 17 en Dermatologie). 11 personnes, soit 7,8% étaient considérées comme insuffisamment protégées et de ce fait ont été vaccinées. Les antécédents de rougeole sont restés incertains pour de nombreuses personnes et, pour les soignants en fonction de longue date, la notion de vaccination était imprécise ou ancienne. La proportion de personnes avec antécédent de rougeole est de 36%, ayant reçu une seule injection de vaccin de 6%, et ayant reçu deux injections de 2%. Parmi ceux qui étaient insuffisamment protégés, 9% avaient un antécédent de rougeole (objectivé par le médecin traitant), 22% avaient reçu 2 doses de vaccin et les autres n'avaient pas d'antécédent connu.

Conclusion : Le risque de contamination des soignants est élevé dans les services recevant des rougeoles. La rougeole de l'adulte peut être une infection grave : une immunisation complète par deux doses de vaccin précédée ou non d'un contrôle sérologique doit être pratiquée pour le personnel hospitalier ainsi qu'il est proposé dans les nouvelles recommandations du Comité Technique des Vaccinations.

36/6o — 3 décembre 2009 - 10:15 - 352A

Analyse phylogénétique des virus de la rubéole impliqués dans des infections congénitales en France entre 1995 et 2009

C. Vauloup-Fellous[2], J. Hübschen[4], E. Abernathy[1], J. Icenogle[1], N. Gaidot[2], I. Parent du Châtelet[3], L. Grangeot-Keros[2], C. Muller[4]
[1]Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Etats-Unis [2]INSERM U764, Université Paris-Sud, AP-HP, service de Microbiologie-Immunologie biologique, hôpital Antoine Béclère, Clamart [3]Institut national de veille sanitaire, Saint-Maurice, France [4]Institute of Immunology, Laboratoire National de Santé/Centre de Recherche Public-Santé, Luxembourg, Luxembourg

Objet de l'étude : La rubéole est une infection qui, lorsqu'elle survient au cours des premiers mois de la grossesse, peut avoir des conséquences redoutables pour le fœtus. Grâce à la vaccination, les infections rubéoliques ont très fortement diminué dans la majorité des pays industrialisés mais, en France, en raison d'une couverture vaccinale imparfaite, l'infection rubéolique n'est pas encore éradiquée. Suite aux recommandations de l'OMS, notre pays s'est donné comme objectif d'éliminer la rubéole congénitale d'ici 2010, et la caractérisation moléculaire des virus rubéoleux circulants fait partie des données de surveillance virologiques permettant notamment de mesurer les progrès accomplis sur la voie de l'élimination.

Méthode : Entre 1995 et 2009 (Juillet), 88 cas de femmes enceintes dont le liquide amniotique était infecté par du virus de la rubéole, ont été rapportés à l'Institut national de Veille Sanitaire (InVS). Ont été inclus dans cette étude la majorité de ces liquides amniotiques (N = 78) ainsi que quelques prélèvements (urines, liquides céphalorachidiens, humeur aqueuse) (N = 26) issus d'enfants/de nouveau-nés infectés congénitalement. Au total, ces prélèvements représentait 104 cas d'infection congénitale rubéolique répartis sur tous le territoire français. L'ARN viral après amplification a été séquencé et les génotypes viraux ont été déterminés par comparaison avec des souches de référence.

Résultats obtenus : Pour 56 souches, la séquence obtenue du gène E1 a été suffisante (selon les recommandations de l'OMS) pour le génotypage. L'analyse phylogénétique de ces souches a montré que durant la période étudiée (1995-2009), au moins 5 génotypes différents (1E, 1G, 2B, 1B et 1h) ont circulé en France et ont été impliqués dans des infections congénitales.

Conclusion : Au cours de ces 15 dernières années, une forte prédominance du génotype E1 (87,5%) a été retrouvée, comme dans la majorité des autres pays européens. Même si de rares cas d'infections congénitales rubéoliques sont rapportés ces dernières années, ils témoignent d'une circulation résiduelle du virus, et incitent à poursuivre les efforts pour augmenter la couverture vaccinale des enfants et renforcer le rattrapage de la vaccination chez les jeunes femmes non immunes.

37/8o — 3 décembre 2009 - 09:00 - 353

Modification des caractéristiques des méningites à pneumocoque depuis l'introduction du vaccin pneumococcique conjugué heptvalent (PCV7) en France

C. Levy[3-1], E. Varon[2], E. Bingen[3], A. Lécuyer[3-1], Y. Aujard[3], R. Cohen[3-1], Groupe des Pédiatres et Microbiologistes de l'Observartoire des Méningites[3]
[1]ACTIV [2]CNRP, HEGP [3]GPIP de la SFP, Paris, France

Objectifs : Les données de l'Observatoire National des Méningites Bactériennes (MB) de l'enfant du GPIP/ACTIV permettent d'analyser les caractéristiques cliniques et biologiques des méningites à pneumocoque (MP) avant et après l'introduction du vaccin pneumococcique conjugué heptvalent (PCV7).

Méthodes : 252 services de pédiatrie et 168 services de microbiologie ont inclus depuis 7 ans tous les patients de moins de 18 ans, ayant une MB documentée. Les facteurs de risque, les signes et symptômes, le statut vaccinal (PCV7), l'analyse du LCR (dont le sérotypage des souches de pneumocoque), les traitements et la mortalité ont été colligés.

Résultats : De 2001 à 2008, 957 MP ont été répertoriées sur un total de 3376 MB. Le nombre de MP est resté stable, n=127 (28,1% des MB) en 2001 et n=122 (29,5% des MB) en 2008. La diminution du nombre de cas observée chez les enfants < 24 mois (89 cas, 70,1% à 63 cas, 51,6%, p=0,01) a été contrebalancée par l'augmentation du nombre de cas chez les enfants ≥24 mois (38 cas, 29,9% à 59 cas, 48,4%). Ainsi, de 2001 à 2008, une augmentation progressive et significative (p=0,01) de l'âge moyen des patients a été observée, 29,5 mois (médiane à 10) vs 46,2 mois (médiane à 17,7). Les sérotypes vaccinaux ont diminué de 64,6% en 2001 à 13,5% en 2008 (p<0,0001) et les sérotypes non vaccinaux ont augmenté de 35,4% à 86,5%. Cette augmentation est principalement liée aux sérotypes 19A avant l'âge de 2 ans (11,3% à 37,8%) et 7F après cet âge (0 à 14,8%). Parmi les patients vaccinés par le PCV7 (226 cas de 2003 à 2008), 199 souches ont pu être sérotypées : 3 échecs vaccinaux (6B, 4, 19F), 19 sérotypes vaccinaux parmi les enfants ayant reçu une vaccination incomplète pour leur âge (19F, n=9, 6B, n=4, 14, n=3 et autre, n=3) et 177 sérotypes non vaccinaux (19A, 25,4%, 7F, 11,9% et 15B/C 10,7%). Parmi les patients non vaccinés, les sérotypes vaccinaux ont diminué de 64,6% (62/96) en 2001 à 32,1% (9/28) en 2008 (p=0,01).

Conclusion : Depuis l'introduction du PCV7, la proportion de MP à sérotypes vaccinaux chez les enfants vaccinés est faible. L'augmentation de l'âge des patients devrait être prise en compte lors de l'introduction du futur vaccin pneumococcique conjugué à 13 valences.

38/8o — 3 décembre 2009 - 09:15 - 353

Méningites à pneumocoque chez l'enfant en Haute-Normandie entre 2000 et 2009 : étude de l'influence de la vaccination par le vaccin conjugué heptavalent

M. Caseris[2], E. Mallet[2], S. Boyer-Mariotte[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie [2]Service de Pédiatrie Générale, CHU Charles Nicolle, Rouen, France

Objectifs : Le pneumocoque tient une place prépondérante dans les infections bactériennes sévères de l'enfant puisqu'il est responsable de 50% des méningites bactériennes de l'enfant de moins de 2 ans. Depuis mai 2006, le vaccin antipneumococcique polyosidique conjugué heptavalent est recommandé chez tous les enfants de moins de 2 ans en France. Nous tentons dans cette étude d'en évaluer l'impact sur la survenue de méningites dans notre région.

Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective sur 6 centres hospitaliers de Haute-Normandie portant sur 45 cas de méningites à pneumocoque observés de mai 2000 à mai 2009 couplée à une analyse prospective de la couverture vaccinale sur un échantillon de 65 enfants tirés au sort.

Résultats : Nous avons étudié 45 cas de méningites à pneumocoque bactériologiquement confirmés depuis mai 2000 et n'avons pas observé de diminution du nombre de méningites à pneumocoque dans notre région après l'introduction du vaccin. Les enfants atteints avaient moins de 2 ans dans 69% des cas avec un pic d'incidence de 25% pour la tranche d'âge de 3 à 5 mois. Près de 74% des enfants atteints avaient reçu au moins une injection du vaccin heptavalent. Aucun des enfants correctement vacciné pour l'âge (57% après 2006) n'a a été infecté par une souche de sérotype vaccinal. Seul un cas de méningite à pneumocoque de sérotype vaccinal 6B est retrouvé chez un enfant incorrectement vacciné. Par ailleurs nous observons après 2006 une diversification des sérotypes non vaccinaux responsables de méningite sans émergence d'un sérotype particulier. De plus nous mettons en évidence une diminution significative du nombre de méningites à pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) entre l'ère pré-vaccinale (2000-2003) et l'ère post-vaccinale (2006-2009). Enfin notre étude prospective retrouve une couverture vaccinale supérieure au chiffre national puisque 88% des enfants de moins de 1 ans nés après 2006 ont reçu 3 doses de vaccin

heptavalent.

Conclusion : En dépit d'une vaccination régionale satisfaisante, notre étude ne montre pas de diminution du nombre de méningites à pneumocoque du fait de l'émergence de sérotypes non-vaccinaux très divers et au total il n'y a pas d'échec vaccinal. Enfin une baisse significative des méningites à PSDP est observée.

39/8o — 3 décembre 2009 - 09:30 - 353

***S. pneumoniae* de sérotype 19A : facteurs de risque de portage rhinopharyngé chez l'enfant après introduction du vaccin pneumococcique conjugué 7-valent**

R. Cohen[1-6], C. Levy[6], P. d'Athis[2], E. Bonnet[3], M. Boucherat[6], B. Fritzell[3], V. Derkx[6], E. Bingen[5], E. Varon[4]

[1]Service de microbiologie, CHI, Créteil [2]Université, Département de Biostatistique, Dijon [3]Laboratoire Wyeth Pharmaceuticals, La Défense [4]CNRP, APHP, HEGP [5]Service de microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris [6]ACTIV, Saint-Maur des Fossés, France

Objectif : Depuis l'introduction du vaccin pneumococcique conjugué 7-Valent (PCV7), une augmentation de l'incidence des infections dues aux pneumocoques (Sp) de sérotype 19A a été observée dans plusieurs pays. Ont été incriminés dans l'émergence de ce sérotype, l'introduction du PCV7 et l'utilisation d'antibiotiques. En France, une surveillance nationale a été mise en place pour évaluer l'impact du PCV7 sur le portage rhinopharyngé de Sp chez les enfants. Nous avons effectué sur cette base de données, une analyse multivariée des différents facteurs pouvant influencer le portage de ce sérotype dans une population déjà largement vaccinée par le PCV7.

Méthodes : Un prélèvement rhinopharyngé réalisé chez des enfants de 6 à 24 mois, sains ou ayant une otite moyenne aiguë (OMA) a été adressé au Centre National de Référence des Pneumocoques pour isolement et sérotypage. Pour chaque patient, les caractéristiques démographiques, anamnestiques et cliniques ont été colligées et une analyse par régression logistique a été effectuée sur toutes les variables.

Résultats : De 2006 à 2008, 66 pédiatres ont inclus 2297 enfants (moyenne d'âge 13,7 mois) dont 97,9% étaient vaccinés par le PCV7. La proportion de porteurs de sérotype 19A variait selon la population : 10% des enfants (n=2297), 19,9% des porteurs de Sp (n=1157) et 41,8% des porteurs de PNSP (n=520). Les souches de Sp de sérotype 19A étaient le plus souvent de sensibilité intermédiaire à la pénicilline (83,9%) et 6,1% étaient résistantes. Parmi les enfants sains (n=593), 30,2% étaient porteurs de Sp, 9,5% de PNSP et 3,4% de 19A ; parmi les enfants ayant une OMA (n=1704) les pourcentages correspondants étaient de 57,4%, 27,2% et 12,3%. Le risque pour un enfant de porter un sérotype 19A était augmenté chez ceux ayant une OMA (OR=3,74, [2,30;6,09]) ou gardés en crèche (OR=2,16, [1,62;2,90]), ou ayant reçu une antibiothérapie dans les 3 derniers mois (OR=1,32, [0,99;1,76]). A contrario, l'âge > 12 mois (OR=0,57, [0,42;0,77]) et la présence d'une fratrie (OR=0,71, [0,54;0,95]) diminuaient ce risque.

Conclusion : Dans cette population de jeunes enfants vaccinés par le PCV7, le portage rhinopharyngé de sérotype 19A est augmenté en cas d'OMA, de fréquentation des crèches et d'utilisation récente d'antibiotiques.

40/8o — 3 décembre 2009 - 09:45 - 353

Pediatric osteo-articular infections caused by *Streptococcus pneumoniae*

C. Lemaître[6], C. Doit[5], A. Ferroni[4], B. Ilharreborde[7], H. Vu-Thien[8], C. Glorion[3], J. Raymond[1], A. Faye[6], P. Mary[9], R. Seringe[2], E. Bingen[5], G. Penneçot[7], M. Lorrot[6]

[1]Microbiologie [2]Orthopédie, Hôpital Cochin-Saint Vincent de Paul, Paris V [3]Orthopédie, Hôpital Necker, Faculté Paris V [4]Microbiologie, Hôpital Necker; Faculté Paris V [5]Microbiologie [6]Pédiatrie Générale, Hôpital Robert Debré, Faculté Denis Diderot, Paris VII [7]Orthopédie, Hôpital Robert Debré; Faculté Denis Diderot, Paris VII [8]Microbiologie [9]Orthopédie, Hôpital Trousseau, Paris, France

Background and aims: Pediatric pneumococcal osteo-articular infections (OAI) are uncommon (5-10% of pediatric OAI). The heptavalent-pneumococcal vaccine (PCV7-, Prevenar®) contains polysaccharides from different types of S. pneumoniae: serotype 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F and 23F. PCV7 has been recommended in France since 2002 but coverage remained low in 2004 with 41% of children vaccinated with 3 doses.

Methods: Data were retrospectively collected from children aged < 16 years, who were hospitalized for pneumococcal OAI between 1997 and 2007 in 4 pediatric hospitals in Paris.

Results: A total of 43 children were included: 32 arthritis, 7 osteomyelitis and 4 osteomyelitis with arthritis. The mean age of the children was 12.5 months (range 3 months to 14 years) and 31 patients (72%) were < 2 years. Seven of 39 children (18%) were immunized with 7-valent pneumococcal conjugate vaccine (PCV7).

Twenty-five of 43 strains (58%) were intermediate (n=21) or resistant to penicillin (n=4). 19/43 serotypes (44%) were available: two serotypes 1, one 6A, one 6B, one 9, five 14, one 15B, one 20 and seven 19A (37%). 6/7 serotypes 19A were intermediate or resistant to penicillin. Vaccine strains were isolated in 3 not vaccinated children and in a child who received only one vaccine injection. The 19A serotype was the only strain isolated in the 3 children with complete vaccination. The evolution was favorable for all children but 4 children required one secondary surgical revision (3 arthritis, 1 muscle abscess with peritonitis).

Conclusion: The epidemiology of pediatric pneumococcal OAI is changing with the widespread of the PCV7. In this study, the most common serotype was 19A: the next conjugate vaccine with 13 valents will permit a potent coverage against the emerging 19A serotype. Children > 2 years of age are also affected.

41/8o — 3 décembre 2009 - 10:00 - 353

Portage rhinopharyngé du pneumocoque : quels sont les sérotypes émergents depuis l'introduction du vaccin pneumococcique conjugué heptvalent (PCV7) ?

R. Cohen[1-5], C. Levy[5], E. Bonnet[2], A. Lécuyer[5], M. Boucherat[5], B. Fritzell[2], E. Bingen[4], E. Varon[3]

[1]Service de microbiologie, CHI, Créteil [2]Laboratoire Wyeth Pharmaceuticals, La Défense [3]CNRP, APHP, HEGP [4]Service de microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris [5]ACTIV, Saint-Maur des Fossés, France

Objectif : En Mars 2002, le vaccin pneumococcique conjugué 7-Valent (PCV7) a été recommandé en France. Afin d'évaluer l'impact du PCV7 sur le portage rhinopharyngé de S. pneumoniae (Sp), sérotypes et pénicilline résistance, une étude nationale a été mise en place en septembre 2001.

Méthodes : De 2001 à 2008, 730 prélèvements rhinopharyngés réalisés chaque année chez des enfants de 6 à 24 mois ayant une otite moyenne aiguë (OMA) fébrile et/ou douloureuse ont été adressés au Centre National de Référence des Pneumocoques pour isolement et sérotypage. Pour chaque patient, les caractéristiques démographiques, anamnestiques et cliniques ont été colligées

Résultats : Durant les 7 années d'étude, 4441 enfants (moyenne d'âge 13,9 ±5,2 mois) ont été inclus. La proportion d'enfants vaccinés par le PCV7 (≥1 dose) a augmenté de 8,5% (année 1) à 98,5% (année 7). L'utilisation des antibiotiques dans les 3 mois précédant l'inclusion a diminué jusqu'à l'année 5 (38,4% vs 51,6% l'année 1) et a eu tendance à augmenter l'année 7 (45,3%). Le portage de Sp a diminué de 71,2% (année 1) à 66,4% (année 7), p<.001. Le portage de sérotypes vaccinaux (SV) a diminué de manière importante de 44,6% à 7% (p<.001) alors que celui des sérotypes non vaccinaux (SNV) a augmenté de 26,5% à 59,4% (p<.001). L'émergence de SNV (défini par > 10% des Sp isolés ou 5% des enfants) n'a pas été observée, sauf pour le sérotype 19A. Il représentait 12,1% des Sp l'année 1 et 20,5% l'année 7 (p<.001). Le sérotype 6A est resté stable, 6,9% en 2001 et 5,3% en 2007. Les autres SNV actuellement les plus importants sont les sérotypes 35B (4,2%), 23A (4%), 15A (3,6%), 15B (2,8%) et 3 (2,6%). Le taux de Sp résistants à la pénicilline (CMI≥2mg/l) a diminué de 15,6% à 1,9% (p<.001).

Conclusion : Sept ans après l'introduction du PCV7, le portage rhinopharyngé du pneumocoque continue d'évoluer, soulignant l'importance de la surveillance.

47/10o — 3 décembre 2009 - 11:30 - 341

Prévalence de la mutation G1896A du virus de l'hépatite B (VHB) chez 100 donneurs de sang français

A. Ducancelle[1], A. Servant-Delmas[3], T. Beuvelet[1], A. Pivert[1], M.M. Pierre[1], E. Dupuits[1], M. Maniez[2], Groupe Gatt de la Société Française de Transfusion Sanguine[2], S. Laperche[3], F. Lunel-Fabiani[1]

[1]Laboratoire de Virologie et UPRES 3859, CHU d'Angers, Angers [2]EFS Nord de la France, Lille [3]Centre National de Référence des Hépatites B et C en Transfusion Sanguine, INTS, Paris, France

Objet de l'étude : Le rôle des génotypes VHB et des mutants précore (PC) dans l'évolution des lésions hépatiques reste controversé. Nous avons initié une étude dans l'objectif d'établir la prévalence de la mutation PC G1896A du VHB chez les donneurs de sang (DS) français constituant essentiellement une population de porteurs chroniques bien portants et non traités.

Méthodes : Cent DS nouvellement dépistés AgHBs positifs ont été inclus. L'enquête épidémiologique (âge, origine géographique, facteurs de risque de contamination), le génotypage du VHB par séquençage d'une région partielle du gène S, la détermination du statut AgHBe/Ac anti-HBe, ont été réalisés à l'INTS. La recherche de la mutation G1896A a été réalisée au laboratoire de virologie du CHU d'Angers par une technique originale de PCR en temps réel (PCR TR) utilisant la chimie SYBR Green. Le phénotype PC sauvage ou muté a été confirmé par séquençage. La charge virale VHB a été déterminée sur les plateformes Cobas Ampliprep/Cobas taqMan (Roche) et M2000sp-M2000rt (Abbott).

Résultats : La moyenne d'âge des donneurs était de 30 ans (35 femmes et 65 hommes). Le facteur de risque prédominant était la naissance dans un pays de moyenne ou forte endémie (41% des donneurs étaient d'origine africaine). 85% des sujets avaient un Ac anti-HBe positif. Notre étude confirme la circulation des génotypes D (37%) et A (31%), mais aussi du génotype E (22%) probablement lié à la forte proportion de sujets africains. Le phénotype mutant PC est retrouvé dans 65% et 61% des cas respectivement par PCR TR et séquençage. La PCR TR semble plus sensible pour la détection des populations virales mixtes (23% versus 8%). La moyenne des charges virales VHB pour les 100 donneurs est de 3,50 ± 1,82 logUI/ml.

Conclusion : Une prévalence élevée de la mutation PC chez les DS a été observée comme dans d'autres populations ayant fait l'objet de publications. De manière à consolider ces données préliminaires, une nouvelle série de 100 DS est en cours d'étude. Sachant que la majorité de ces sujets sont au stade

de portage inactif du virus, le rôle de la mutation PC dans l'histoire naturelle de l'hépatite B reste à préciser ainsi que l'impact de ces variants PC dans la sévérité des lésions hépatiques.

48/10o — 3 décembre 2009 - 11:45 - 341

Génotypes du virus de l'hépatite B et mutations de résistance chez des patients soumis à une thérapie au long cours par la lamivudine en Tunisie

I. Mathlouthi[3], V. Thiers[2], A. Trabelsi[3], I. Fodha[3], N. Boujaafar[3], A. Graube[1], E. Dussaix[2-1], A.M. Roque-Afonso[2-1]
[1]Virologie, AP-HP, Hôpital Paul Brousse [2]U785, INSERM, Villejuif, France [3]UR06SP20, Microbiologie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie

Introduction : La lamivudine est un analogue nucléosidique largement utilisé dans le traitement de l'hépatite B chronique et a été le seul antiviral disponible pendant plusieurs années. Son principal inconvénient est la sélection quasi constante de mutants résistants. Les isolats du virus de l'hépatite B (VHB) sont classés en 8 génotypes (A à H) avec une répartition géographique.

Nous présentons ici une analyse des génotypes du VHB circulant dans la région du centre Tunisien avec la nature et la fréquence des mutations de résistance chez des patients soumis à un traitement au long court par la lamivudine, seul antiviral disponible jusqu'à très récemment en Tunisie.

Matériels et méthodes : Cette étude a porté sur 31 patients chroniquement infectés par le VHB sous traitement par lamivudine, consultant dans un service de gastrologie ou d'infectiologie dans la région de Sousse-Monastir entre 2007 et 2009. La durée du traitement par lamivudine allait de 12 à 72 mois. La charge virale a été quantifiée à l'aide du réactif Cobas HBV monitor (Roche Diagnostics ; linéarité 200-200000 copies/ml). Le génotypage a été réalisé par séquençage d'un fragment de 720 nucléotides du gène codant la polymérase (nt299 à 1019), suivi d'une analyse phylogénique grâce au logiciel MEGA. Les mutations de résistance à la lamivudine ont également été recherchées.

Résultats : L'ADN viral était indétectable chez 9/31 patients (29%). Chez les 22 autres patients, le génotype D était le seul génotype détecté. La mutation en position rtM204, signant la résistance génotypique à la lamivudine, était retrouvée chez 10/22 patients (45,5%), toujours associée à d'autres polymorphismes : M204I + Q215S (4 patients), L80V+T184F+S202C+M204I (1 patient), M204V+L80V+Q215S (1 patient), M204I+L80I (2 patients), L180M+M204V (2 patients). La durée moyenne de traitement était significativement plus élevée chez les patients présentant des mutations (45 mois) que chez les patients ayant une virémie détectable sans mutations (12 mois).

Conclusion : Cette étude sur un petit nombre de souches montre la circulation exclusive du génotype D dans le centre Tunisien. Près de la moitié des patients ayant une charge virale détectable sous lamivudine ont des mutations de résistance ; ces mutations sont associées à la durée du traitement et peuvent entraîner une résistance croisée à d'autres antiviraux comme l'adéfovir ou l'entécavir. Cette étude montre l'accumulation des mutations lors de traitement prolongés inefficaces et l'intérêt de réaliser un génotypage avant modification du traitement antiviral.

49/10o — 3 décembre 2009 - 12:00 - 341

Co-infection par le VHB de génotype G : développement, validation et application d'une technique de quantification spécifique et relative du VHB de génotype G par rapport aux autres génotypes

N. Desire, F. Ben Moussa, T. Sanchis, V. Thibault
Virologie, GH Pitié-Salpêtrière, AP-HP-UPMC, Paris, France

Une des particularités du virus de l'hépatite B de génotype G (VHB-G) est une insertion de 36 nucléotides en 5' de la région core. Les porteurs chroniques du VHB-G sont généralement co-infectés par un virus d'un autre génotype. Peu d'informations sont disponibles sur l'importance de la co-infection pour la réplication du VHB-G et sur la sensibilité de ce virus aux antiviraux.

Objet de l'étude : Les objectifs étaient de développer un outil capable de détecter et quantifier spécifiquement le VHB-G par rapport aux autres génotypes puis d'utiliser cette méthode pour étudier l'évolution de la co-infection au cours de traitements antiviraux.

Méthodes : Les techniques sont basées sur la PCR en temps réel au moyen d'amorces et de sondes MGB spécifiques (Taqman, ABI). La validation repose sur l'utilisation de clones VHB isolés au laboratoire soit au moyen de PCR génomes complets, soit sur des amplicons clonés concernant la zone d'intérêt.

Résultats obtenus : Notre approche repose sur la conception d'un système d'amplification au pourtour de l'insertion de 36nt. du VHB-G. Deux amorces ont été dessinées de part et d'autre de l'insertion en privilégiant des zones conservées au sein de tous les génotypes décrits. Deux sondes marquées, l'une par VIC et non spécifiques des génotypes, l'autre par FAM et spécifique de l'insert de 36nt. du VHB-G ont été validées en mode multiplex. Le système développé présente une très bonne spécificité pour le génotype G et les études de corrélation avec les systèmes de quantification commerciaux démontrent une gamme de linéarité de 2 à 7 Log UI/mL. La quantification de 50 patients de génotypes variés indique une bonne concordance avec ces tests commerciaux. Au moyen de clones représentatifs des génotypes G et A mélangés dans des proportions variables, cette technique permet une quantification relative de chaque génotype avec une précision de l'ordre de 5 à 10%.

Conclusion : Une nouvelle méthode permettant la quantification relative des souches de VHB de génotype G au sein d'un mélange de différents génotypes a été mise au point. L'application de cette technique pour le suivi des patients apportera des informations sur la prévalence de la co-infection par le génotype G et sur la sensibilité aux antiviraux de ce génotype par rapport aux autres génotypes.

50/10o — 3 décembre 2009 - 12:15 - 341

Quantification *in vitro* de l'activité kinase de la protéine UL97 du cytomégalovirus, enzyme-clé de la résistance au ganciclovir et cible de nouveaux antiviraux

T. Mazar[2-1], K.L. Asmani[1-2], F. Saade[1-2], S. Alain[1-2]
[1]CNR Cytomégalovirus [2]EA3175, Université de Limoges, Limoges, France

Introduction : Le cytomégalovirus est un pathogène opportuniste majeur en transplantation. Le ganciclovir (GCV) molécule anti-CMV la plus utilisée est activé par phosphorylation par la kinase virale UL97 et les mutations de UL97 représentent la première ligne de résistance du CMV aux antiviraux. La kinase pUL97 est nécessaire à la réplication virale et phosphoryle de nombreux substrats cellulaires et viraux. Elle est la cible du maribavir. Nous avons choisi d'optimiser un test *in vitro* non radioactif permettant de mesurer l'activité kinase de UL97 sur le ganciclovir et sur ses substrats naturels, donnée essentielle pour tester de nouvelles molécules et mesurer l'impact des différentes mutations observées en clinique sur la sensibilité du CMV aux antiviraux.

Méthodes : La protéine kinase UL97 de séquence sauvage ou portant des mutations de résistance connues (A594G, L595S), et deux délétions différentes (596-599 et 599-603) présentes dans des souches cliniques, est produite par clonage du gène sous dépendance du promoteur T7 dans un vecteur de transcription PGEM/AMV et mutagénèse. La production en lysat de réticulocytes (TNT T7 Promega) permet d'obtenir une protéine eucaryote de conformation normale en système acellulaire. La synthèse est controlée par révélation en chemiluminescence des protéines ayant incorporé des lysines biotinylées. L'activité kinase est quantifiée en chemiluminescence à partir du lysat, par mesure de l'ATP résiduelle. (kit Kinase Glo, Promega)

Résultats : Nous avons obtenu une protéine active, attestée par la phosphorylation de l'histone 2B, subtrat de UL97. L'introduction de mutations de résistance au GCV diminue de manière variable selon la mutation la phosphorylation de l'H2B, témoignant de l'impact plus ou moins important sur le site catalytique. Après optimisation, la phosphorylation du GCV a été quantifiée pour la protéine sauvage et pour les protéines mutées montrant le déficit de phosphorylation des souches résistantes et de la souche délétée en 596-599, alors que la délétion 599-603 modifie peu l'activité kinase et la phosphorylation du GCV.

Conclusion : Nous avons développé un test non radioactif, qui permet d'étudier les différentes fonctionnalités de UL97 et permettra de tester sa sensibilité aux nouveaux antiviraux.

58/13o — 3 décembre 2009 - 11:00 - 343

Impact bactériologique de l'utilisation d'un pansement antimicrobien imprégné de chlorhexidine (CHX) pour la prévention des infections de cathéters en réanimation

B. Gestin[1], C. Schwebel[2-5], M.C. Hérault[3], C. Recule[1], S. Calvino-Gunther[2-5], A. Lagier[1], M.R. Mallaret[4], M. Maurin[1], J.F. Timsit[2-5], J. Croizé[1], Groupe Dressing[6]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Microbiovigilance [2]Réanimation Médicale [3]Réanimation Polyvalente Chirurgicale [4]Unité d'Hygiène Hospitalière, CHU de Grenoble, Grenoble [5]UJF, INSERM U823, Institut A. Bonniot, La Tronche [6]APHP (Beaujon, Bichat, Saint Denis, Saint Joseph), Paris, France

Objectifs : Dans le cadre d'un essai clinique randomisé multicentrique (5 centres) d'un pansement imprégné de CHX (Biopatch®) dans la prévention des infections sur cathéter central (PHRC), nous avons étudié (i) la flore bactérienne cutanée à l'ablation des pansements (ii) la concentration minimale bactéricide (CMB) des souches isolées vis-à-vis de la CHX.

Méthodes : Les empreintes cutanées ont été réalisées avant l'ablation des cathéters par l'application d'un Countact® incubé secondairement 48/72 h à 37°C. Une numération totale a été faite sur 2903 échantillons. Une identification des espèces par des techniques biochimiques a été réalisée sur 245 countacts positifs.

La CMB est évaluée par microméthode: gamme de CHX 0,25 à 256 mg/l, temps de contact (normes AFNOR 5 minutes), repiquage avec inoculateur Steers sur milieu inhibiteur (letheen agar modifié), incubation 24h, CMB à 0,01% de survivants.

Résultats : Colonisation cutanée (2903 Countacts®):

En définissant quatre catégories de numération de la flore globale: Stérile, 1 à 9 CFU, 10 à 99 CFU et > à 100 CFU les résultats sont les suivants :

Groupe sans CHX (n : 1358) 57,8% ; 10,9% ; 19,2% ; 12%.

Groupe Biopatch® (n : 1545) 71,3% ; 11,% ; 13% ; 4,2%

La flore prédominante (245 Countacts® CHX + ou -) est composée à 83% de Cocci à Gram positif (essentiellement Staphylocoques à coagulase négative), 7,7% des bacilles à Gram positif (Corynébacteries), 7,3 % des bacilles à Gram négatif (*E coli* / *P aeruginosa*) et 1,5 % des levures sans différence significative entre les deux bras.

CMB CHX (107 souches) :

Groupe sans CHX (n : 54) CMB de 1 à 128 ; 70% des souches CMB ≤ 8mg/l

Groupe Biopatch® (n : 53) CMB de 1 à 256 ; 80% des souches CMB ≤ 8mg/l avec sélection d'un nombre de souches d'espèces naturellement résistantes (≥ 128 mg/L, essentiellement *Enterococcus spp*) non significativement plus élevée (5 versus 2).

Conclusion : L'utilisation d'un pansement imprégné de CHX diminue la contamination cutanée et les fortes colonisations. La composition de la flore bactérienne varie peu selon sa présence ou non. La CMB des souches isolées dans les deux groupes CHX + ou CHX – ne montre pas de différences significatives mais laisse apparaître une possibilité de sélection d'espèces naturellement résistantes comme les entérocoques.

59/13o — 3 décembre 2009 - 11:15 - 343

Protection et désinfection des sondes endocavitaires : état des lieux dans les hôpitaux de l'AP-HP

V. Gobaux[4], G. Kac[2], C. Monteil[4], M. Michel[4], M. Huang[4], V. Jarlier[4-3], C. Brun-Buisson[4-1], S. Fournier[4]
[1]Réanimation médicale, Hôpital Henri Mondor, Créteil [2]EOH, Hôpital HEGP [3]Bactériologie-Hygiène, Hôpital Pitié-Salpêtrière [4]DPM-EOH, Siège AP-HP, Paris, France

Le rapport du Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP) du 14 décembre 2007 définit les méthodes de protection et de désinfection des sondes endocavitaires entre deux patients.

Objet : Évaluer les pratiques de protection et de désinfection des sondes d'échographie endocavitaires: endorectales (EER), endovaginales (EEV) et transoesophagiennes (ETO) actuellement en place dans les hôpitaux de l'AP-HP.

Méthode : Étude transversale menée entre février et juillet 2009 par l'intermédiaire d'un questionnaire envoyé à chaque Equipe Opérationnelle d'Hygiène des hôpitaux de l'AP-HP comprenant les éléments suivants: méthode de protection utilisée (gaine, préservatif ou rien), niveau de désinfection réalisé (par contact et/ou par immersion) et modification ou non des pratiques depuis la parution du rapport du HCSP. Un questionnaire devait être rempli pour chaque type de sonde et dans chaque service concerné.

Résultats : Un total de 102 fiches a été recueilli dans 34 hôpitaux (19 courts séjours et 15 moyens-longs séjours) soient : 44 EEV, 26 EER et 32 ETO. Dans 17 % des cas (n=17) les pratiques ne sont pas conformes aux recommandations du HCSP et lui sont d'un niveau inférieur: 15 utilisations de préservatif avec désinfection par contact seul et 2 cas sans protection ni désinfection adaptée.
Parmi les méthodes de protection utilisées, 63% utilisent une gaine, 22% un préservatif, 5% l'un ou l'autre et 10% n'utilisent aucune protection. Dans 19% des cas (n= 19), les pratiques ont été modifiées pour se conformer aux recommandations du HCSP, deux d'entre elles ont évolué vers un niveau de désinfection inférieur.

Conclusion : Les résultats obtenus par cette enquête déclarative sont globalement conformes aux recommandations du HCSP. Elle a permis de sensibiliser les hôpitaux de l'AP-HP à l'importance de la désinfection des sondes d'échographie endocavitaires et d'améliorer les pratiques.

Un audit observationnel des pratiques de désinfection des sondes endocavitaires au sein de l'AP-HP permettrait de s'engager plus avant dans une démarche qualité.

60/13o — 3 décembre 2009 - 11:30 - 343

Épidémiologie des infections nosocomiales à SARM au CHU de Brest du 1er janvier 2004 au 31 décembre 2007: impact des consommations de produits hydro-alcooliques et d'antibiotiques

N. Rouzic[3-2], D. Tande[1], B. Garo[3], C.H. Payan[1], M. Garré[3], B. Lejeune[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service de Santé Publique et Hygiène Hospitalière [3]Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Universitaire, Brest, France

Contexte : la politique de lutte contre les infections nosocomiales s'appuie sur plusieurs outils permettant de prévenir la diffusion des bactéries multirésistantes à l'hôpital. L'hygiène des mains est la mesure de prévention la plus simple et la plus efficace pour réduire la transmission croisée d'agents infectieux lors des soins, et est une composante essentielle des précautions « standard » qui représentent la base des recommandations nationales et internationales. Les produits hydro-alcooliques pour l'hygiène des mains ont été introduits récemment au CHU de Brest (2000).

Les objectifs : De cette étude étaient les suivants: décrire l'épidémiologie des infections nosocomiales à *S. Aureus* résistants à la méticilline (SARM); déterminer les taux annuels d'infections nosocomiales à SARM au moyen de l'indicateur standardisé ICSARM; déterminer les consommations annuelles de produits d'hygiène des mains, et notamment des produits hydro-alcooliques, au moyen de l'indicateur standardisé ICSHA; déterminer les consommations annuelles d'antibiotiques anti-staphylococciques; discuter l'impact de la consommation de produits d'hygiène des mains et d'antibiotiques sur l'épidémiologie des SARM nosocomiaux en comparant les résultats obtenus à ceux de la littérature.

Matériels et méthodes : Une étude épidémiologique et pharmaco-épidémiologique rétrospective et descriptive a été réalisée du 1er janvier 2004 au 31 décembre 2007 au CHU de Brest. Elle a permis de mettre en évidence les cas d'infections nosocomiales à SARM et de quantifier les consommations de produits d'hygiène des mains (savon doux, savons antiseptiques, PHA) et d'antibiotiques anti-staphylococciques.

Résultats : L'étude a montré une diminution du taux d'infections nosocomiales à SARM et une augmentation de la consommation de produits hydro-alcooliques. Les taux de résistance aux antibiotiques antistaphylococciques ont également diminué dans un contexte de diminution de la consommation globale d'antibiotiques sur l'établissement.

61/13o — 3 décembre 2009 - 11:45 - 343

Utilisation de l'analyse de séries chronologiques dans l'évaluation des stratégies de contrôle de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

L. Jochault, H. Gbaguidi-Haore, D. Talon, X. Bertrand
Hygiène hospitalière, CHU de Besançon, Besançon, France

Objectif : La maîtrise de la diffusion de SARM demeure une préoccupation majeure dans les hôpitaux français. L'objectif de cette étude était de modéliser la part relative des différentes mesures de contrôle mises en place au CHU de Besançon.

Matériel et méthodes : Nous avons réalisé une étude écologique par analyse de séries chronologiques mensuelles sur une période de 9 ans (2000-2008) afin de mettre en évidence les liens entre l'acquisition du SARM et un certain nombre de variables : la pression de colonisation SARM "importés", la pression de sélection antibiotique, les précautions standard (par la mesure de la consommation de solutions hydro-alcooliques) et les précautions complémentaires (par la mesure de la consommation des gants, masques et sur-blouses). Le risque SARM était représenté par l'incidence des SARM acquis en excluant les cas importés.

Résultats : L'incidence d'acquisition de SARM a diminuée significativement dans notre hôpital entre 2000 et 2008. Nous avons observé une tendance à la hausse des variables relatives aux pratiques d'hygiène et une tendance à la diminution de certaines classes antibiotiques (quinolones, aminoglycosides) et à l'augmentation pour d'autres (b-lactamines et glycopeptides). La consommation de SHA, de sur-blouses de pénicillines étaient corrélées négativement à l'incidence des SARM acquis. La pression de colonisation SARM, la consommation de gants, de macrolides, d'aminosides et de quinolones étaient corrélées positivement à l'incidence des SARM.

Conclusion : Cette étude confirme les résultats rapportés dans la littérature, montrant que l'analyse de séries chronologiques est une méthode performante pour modéliser le risque SARM sans pour autant mettre en évidence un lien de causalité. La consommation de SHA et la réduction de la consommation de certains antibiotiques apparaissent comme des facteurs déterminants dans la réduction du risque SARM. Les résultats concernant l'usage des gants vont dans le sens de la remise en cause du port des gants dans les mesures de contrôle.

62/13o — 3 décembre 2009 - 12:00 - 343

Accueil de patients porteurs d'entérocoque résistant aux glycopeptides (ERG) en soins de suite et de réadaptation (SSR) au Centre Hospitalier (CH) de Béthune : une adaptation des recommandations nationales

E. Beclin[4], S. Dekeyser[1], S. Nguyen[5], M. Brelinski[3], J. Lepine[3], P. Moity[3], M.H. Tournoys[1], K. Blanckaert[6], D. Descamps[1-2]
[1]Laboratoire [2]Présidente du Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales [3]Soins de Suite et de Réadaptation [4]Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales [5]Unité d'Infectiologie, CH Germon et Gauthier, Béthune [6]Antenne Régionale de Lutte Contre les Infections Nosocomiales du Nord-Pas de Calais, CHRU, Lille, France

Après une première vague épidémique de mars à septembre 2008, le CH Béthune a été de nouveau confronté à des cas groupés de colonisations à ERG en novembre 2008. La gestion de cette crise a été basée sur l'accueil des patients ERG positifs relevant de Médecine Chirurgie Obstétrique (MCO) en zone de regroupement conformément aux recommandations nationales. Cependant, les difficultés de transfert des patients porteurs vers les structures d'aval nous ont obligé à organiser leur accueil dans notre unité de SSR de 40 lits depuis mi-décembre 2008. Ils ont été hospitalisés dans un secteur géographique accueillant les patients porteurs de BMR (Bactéries Multi-Résistantes aux antibiotiques). Les soins dans ce secteur se sont organisés grâce à un poste de soins dédié, une prise en charge en dernier, une répartition et une organisation adaptée du personnel (sans personnel dédié) ainsi qu'un dépistage hebdomadaire de portage d'ERG de l'ensemble des patients du service.

De décembre 2008 à juillet 2009, 21 patients porteurs d'ERG ont été accueillis en SSR, et 204 patients « indemnes » dépistés (873 prélèvements au total), soit 4 dépistages par patient pour une durée moyenne de séjour de 32 jours. Parmi les 21 patients porteurs d'ERG, 17 étaient des patients connus, 1 a été dépisté positif à son entrée après un transfert de MCO, et 3 ont été dépistés positifs au décours de leur séjour dans le service. Le nombre moyen de patients porteurs accueillis quotidiennement pendant cette période était de 4 patients (2 à 9 patients). Les 3 cas acquis de portage d'ERG ont été reliés pour deux d'entre eux au fait qu'ils étaient déjà accueillis dans le secteur de regroupement (patients porteurs de BMR), et pour un, au fait qu'il avait partagé sa chambre avec le patient positif dépisté à son retour de MCO. Le taux d'acquisition d'ERG au sein du service était de 1.5% (3 patients positifs pour 204 patients dépistés).

Ce type d'organisation, adaptée aux contraintes d'un service de SSR, nous a permis de limiter les transmissions secondaires d'ERG, malgré l'absence d'adéquation complète avec les recommandations nationales. Le taux d'acquisition y est en effet inférieur à certains taux observés dans nos secteurs de MCO malgré une durée moyenne de séjour plus importante.

63/13o — 3 décembre 2009 - 12:15 - 343

Évaluation des pratiques professionnelles et des connaissances théoriques sur la prévention des infections associées aux soins en réanimation adulte

G. Gosse[2-3], M. Miquet[3], M. Levast[1], M.G. Demange[2-3], M.F. Rousse[3], B. Zerr[3], F.O. Mallaval[2], A. Fourneret-Vivier[2]
[1]Bactériologie [2]EOH [3]Réanimation, CH de Chambéry, Chambéry, France

Problématique : Suite au renouvellement important du personnel soignant d'une unité de réanimation adulte, Une évaluation sur les connaissances, théoriques et pratiques en matière de prévention des infections associées aux soins a été demandé par le service.

Objectifs : Évaluer les pratiques professionnelles sous la forme d'un audit d'observation au cours de 438 gestes spécifiques à la réanimation.

Et relier l'audit d'observation des pratiques professionnelles à une évaluation des connaissances en utilisant le dispositif du Campus numérique Hygienosia. Le questionnaire est appliqué à distance et les résultats sont traités en temps réel par le logiciel.

Résultats :

- En pratique sur l'ensemble des gestes observés, 31% du personnel porte des bijoux ; en théorie pour 33% des médecins, 29% des infirmiers et 40% des aides-soignants il est toléré de porter une alliance.

- En pratique sur la totalité des gestes observés, 47 % du personnel effectue une hygiène des mains avant le geste, en théorie 100% des médecins, 89% des infirmiers et 91% des aides-soignants déclarent en réaliser une, avant de prendre leur service.

- Lors de l'aspiration trachéale (n = 61), en pratique 7% du personnel (infirmiers, médecins) portent le masque ; en théorie 83% des médecins et 54% des infirmiers déclarent devoir en porter.

- Au cours des prélèvements microbiologiques, en pratique les infirmiers sont 61% à porter des gants non stériles contre 100% qui déclarent devoir en porter en théorie.

Conclusion : Pour certains critères le manque de connaissances permet d'expliquer les pratiques (port de l'alliance).Le plus souvent les pratiques sont en inadéquation avec les connaissances acquises. Ce décalage peut s'expliquer par un défaut d'organisation, de moyens matériels.

Ces résultats ont été transmis à l'équipe soignante. Des groupes de travail pluridisciplinaires se sont constitués afin d'élaborer un plan d'action en regard des recommandations et des contraintes de terrain. Celui-ci a pour objectifs, l'harmonisation, la qualité et la prévention des risques infectieux associés aux soins.

Campus numérique Hygienosia : www.hygienosia.fr

68/15o — 3 décembre 2009 - 11:00 - 352A

Détermination de la dose de proanthocyanidines issues de la cranberry (*Vaccinium macrocarpon*) nécessaire pour une activité anti-adhérentielle optimale sur les souches *d'Escherichia coli* uropathogènes: étude multicentrique internationale en double-aveugle, randomisée contre placebo

A.B. Howell[2], H. Botto[4], C. Combescure[7], A.B. Blanc-Potard[3], L. Gausa[1], T. Matsumoto[6], P. Tenke[5], A. Sotto[3], J.P. Lavigne[3]
[1]Fundació Puigvert, Barcelona, Espagne [2]Marucci Center for Blueberry and Cranberry Research and Extension, University of New Jersey, Chatsworth, Etats-Unis [3]Espri 26, INSERM, Nîmes [4]Service d'Urologie, Hôpital Foch, Suresnes, France [5]Department of Urology, South-Pest Hospital, Budapest, Hongrie [6]Department of Urology, Kyushu University, Kyushu, Japon [7]Faculté de Médecine, Université de Genève, Genève, Suisse

Objet de l'étude : Évaluer la dose de proanthocyanidines issues de la cranberry (Vaccinium macrocarpon) nécessaire pour une activité anti-adhérentielle optimale sur les souches d'*Escherichia Coli* uropathogènes en utilisant deux modèles *in vitro* et un modèle *in vivo* à partir d'urines de volontaires saines.

Méthodes : Il s'agissait d'une étude multicentrique en double aveugle, randomisée et croisée comparant l'administration de poudre de canneberge contenant 2 concentrations de proanthocyanidines (PAC) (18,36 mg) vs un placebo chez 32 volontaires provenant du Japon, de Hongrie, d'Espagne et de France. Tous les volontaires avaient signé un consentement. En plus de son alimentation normale, chaque volontaire a reçu 2 gélules (gél.) contenant soit 2 gél. de placébo, soit 2 gél. de PAC (36 mgx2), soit 1 gél. de PAC (18 mg ou 36 mg) et 1 gél. de placebo. Chaque volontaire a effectué les différents régimes avec un wash out de 7 jours entre les régimes. Les urines ont été recueillies 1-6h et 24h après prise des gél.. L'activité d'anti-adhésion d'une souche d'*E. Coli* (fimH+ papGII +) dans les urines collectées des volontaires a été évaluée par un test d'adhésion *in vitro* sur des lignées urothéliales T24 (détermination d'un indice d'adhérence, nombre moyen de bactéries par cellule pour 100 cellules). Une évaluation de la diminution de la virulence bactérienne *in vivo* a été déterminée en établissant des courbes de survie et DL50 de Caenorhabditis elegans. Toutes les expériences ont été effectuées en aveugle et les résultats transmis à un statisticien indépendant.

Résultats : Le test *in vitro* a démontré une diminution significative de l'adhérence bactérienne dépendant de la dose absorbée de PAC par rapport au placebo (p <0,001). Cette activité anti-adhérentielle augmentait avec la quantité consommée de PAC. Sur les urines collectées après 6h, une différence significative entre le régime à 18 mg et ceux à 36 et 72 mg a été observée (p=.002). A 24h, une différence significative entre les régimes à 18 et 36 mg et celui à 72 mg a été observée (p<.001). Aucune différence entre les pays n'a été notée.

Le modèle C. elegans a montré qu'*E. Coli* en présence de PAC était significativement moins virulent (DL50 = 5 j ± 0.2 et décès des nématodes en 10 j) par rapport à *E. Coli* mis en contact avec des urines sans PAC (DL50 = 3,5 j ± 0.5 et décès en 7 j) (P<0,001). Un effet dose et un effet temps ont été notés: la virulence d'*E. Coli* contre les nématodes diminuant de 32% dans les urines collectées à 24h par rapport aux urines collectées à 6h (P<0.001).

Conclusion : L'administration de 36-72 mg de PAC par jour semble offrir la meilleure protection vis à vis des infections urinaires à *E. Coli* (en une prise de 72 mg ou 2 de 36) couvrant le nycthémère. L'activité anti-adhérentielle de la Cranberry (Vaccinium macrocarpon) est optimale chez tous les volontaires quel que soit leur pays démontrant l'absence d'influence des régimes alimentaires.

69/15o — 3 décembre 2009 - 11:15 - 352A

Activité du linézolide sur des souches de *Staphylococcus aureus* et *d'Enterococcus faecalis* possédant un phénotype hypermutateur ou non, dans un modèle pharmacocinétique/pharmacodynamique *in vitro*

B.B. Ba[2], C. Arpin[1], B. Bikie Bi Nso[2], V. Dubois[1], M.C. Saux[2], C. Quentin[1]
[1]CNRS UMR 5234 [2]Laboratoire de Pharmacocinétique et de Pharmacie Clinique, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France

Objet de l'étude : Des échecs thérapeutiques ont été observés lors de traitements sous linézolide (LNZ), avec les staphylocoques (rarement) et les entérocoques (plus fréquemment), malgré l'émergence exceptionnelle de mutants résistants dans les essais statiques *in vitro*. L'influence de la dose de linézolide et du phénotype, sauvage ou hypermutateur, de la souche bactérienne, sur l'émergence de mutants résistants, a été évaluée dans un modèle pharmacocinétique / pharmacodynamique *in vitro*.

Méthodes : Une perfusion de 0,5h toutes les 12h pendant 48h d'une dose de 200, 600 ou 800 mg de LNZ a été simulée en présence de 4 souches (CMI_{LNZ}, 2 µg/ml) : *Staphylococcus aureus* RN4220 et son dérivé hypermutateur MutS2, *Enterococus faecalis* ATCC 29212 et la souche hypermutatrice d'origine clinique Ef1497. La CMI_{LNZ} a été déterminée pour les survivants. Le domaine V de l'ADNr 23S a été analysé par RFLP-PCR, PCR et séquençage pour les mutants résistants.

Résultats : Les valeurs des pics de concentration (4,38-4,79, 13,4-14,6 et 19,2-19,5 µg/ml) et la demi-vie à la phase d'élimination terminale (5,01-6,72 h) obtenues dans le modèle sont en adéquation avec les données humaines de référence. En raison de son activité bactériostatique, des T > CMI de 66,6 et 69,1% de l'intervalle d'administration, ont été sans effet notable sur *S. aureus* RN4220MutS2 et *E. faecalis* ATCC 29212, respectivement. Un léger effet bactéricide a été observé sur Ef1497 avec une dose de 800 mg et un T > CMI de 80,9%. Des mutants résistants avec une augmentation de 2 à 8 fois la CMI, ont été sélectionnés uniquement à partir de Ef1497, même avec une dose de 800 mg. Pour le mutant le plus résistant Ef1497MutM3 (CMI_{LNZ}, 16 µg/ml), le domaine V de l'ADNr 23S présentait la substitution A2453G sur 2 des 4 opérons. Cette mutation A2453G n'a été décrite à ce jour que chez des mutants *d'Halobacterium halobium* sélectionnés *in vitro*. Néanmoins, aucun mutant d'échelon supérieur n'a été obtenu à partir de Ef1497MutM3 même sous une dose de 200 mg.

Conclusion : Le linézolide s'est montré régulièrement efficace sur *S. aureus*. L'émergence de mutants résistants d'*E. faecalis* a probablement été favorisée par la rapide décroissance des concentrations de linézolide sur une souche fortement hypermutatrice,

70/15o — 3 décembre 2009 - 11:30 - 352A

Pharmacokinetics of secnidazole after single oral dose in healthy volunteers

B. Diquet[1], B. Lelièvre[1], C. Abbara[1], A. Turcant[1], J.F. Bergman[2], G. Simoneau[2], M. Brauman[3]
[1]Pharmacologie clinique et toxicologie, CHU d'Angers, Angers [2]Médecine Interne, Hôpital Lariboisière [3]IPRAD, Paris, France

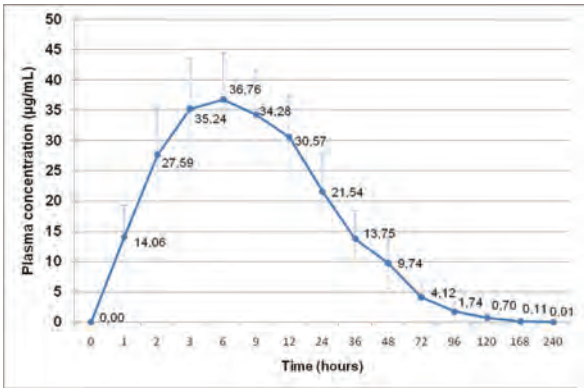
Introduction: Secnidazole is a 5-nitroimidazole compound which exhibits antibacterial and parasitic suppressor activity.

Method: The objective of the trial was to characterize the pharmacokinetics of secnidazole after oral administration of a 2g dose, as microgranules formulation in healthy subjects. Blood samples were collected before, 1, 2, 3, 6, 9, 12, 24, 36, 48, 72, 96, 120, 168 and 240 hours after dosing. Urines were collected in fraction at 24, 48, 72, 96, 120 and 168 hours. The cumulative urinary excretion was captured for each subject from urine concentration (µg/L). Pharmacokinetic parameters were obtained by a non-compartmental approach (WinNonlin® Pharsight). The assay was by ultra performance liquid chromatography coupled with spectrometry mass detection (UPLC-MS/MS,

Waters). Chromatographic separation was performed on a C-18 Acquity column (Waters), in isocratic mode. The triple quadrupole mass spectrometer (Quattro Premier, Waters) was operated in positive mode and multiple reaction monitoring was used for quantification (186>128 ion transition for secnidazole). The lower limit of quantification was 10µg/L and 100µg/L for plasma and urine samples respectively.

Results: 16 subjects (8 female, 8 male) were included. Subjects ranged in age from 23 to 50 years (m± SD: 38 ± 9.2 years). The subjects weight and body mass index (BMI) ranged from 51 to 90 Kg (m±SD = 64.6 ± 10.1 Kg) and from 19.9 to 24.2 Kg/m² (m±SD=21.9 ± 1.5 Kg/m²) respectively. The mean for Cmax was 37.9 ± 8.5 µg/mL. The median for Tmax was 6 h (range 3h – 6h). Three subjects had detectable plasma concentrations at 240 h. The area under the curve to the last measurable time (AUC_{0_t}) and the area under the curve extrapolated to infinity (AUC_{0_∞}) were 1281.9 ± 416.4 h.µg/ml and 1304.2 ± 444.1 h.µg/mL (m+/- SD) respectively. The Cl/F and V/F were 1.7 ± 0.5 L/h and 40.2 ± 9.2 L respectively and the half-life was 17.5 ± 4.3 h (m+/- SD). The mean amount of secnidazole excreted in the 168-h urine collection was 310.47 mg (15.5 % of the administered dose).

Conclusion: drug exposure following administration of secnidazole at a 2 g single oral dose achieves sustained high level, a good predictor of biological activity in short-term therapy.



Plasma concentration profiles following the oral administration of a single dose of 2 g of secnidazole under the microgranules form

71/15o — 3 décembre 2009 - 11:45 - 352A

Immunochromatography strip for the detection of a toxic gentamicin plasma concentration threshold in patients

H. Benech[1], H. Volland[1], F. Bruneel[3], C. Palette[2], C. Roucairol[1]
[1]Service de Pharmacologie et d'Immunoanalyse, CEA, iBiTecS, Gif-Sur-Yvette [2]Service de Pharmacologie/Biochimie [3]Service de Réanimation, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

Background: Gentamicin is an antibiotic widely used in the treatment of serious infectious diseases. However, the main drawback is the occurrence of ototoxicity and nephroptoxicity during the treatment, associated in part with through gentamicin concentration that exceeds 2 µg/ml. Hence it is important to manage dosing regimens for gentamicin to minimize its toxicity. We have therefore developed a rapid semi-quantitative test based on the technology of immunochromatographic strip able to detect patients whose plasma concentration are above or under the toxic level of 2 µg/ml.

This test (cheaper, fast and easy to handle without any specialized equipment) could facilitate the assessment of gentamicin monitoring beside classical FPIA or HPLC methods.

Materials and Methods: In the test sample, gentamicin binds to labeled colloidal gold antibody which results in inhibition of colloidal gold binding to immobilized gentamicin-BSA on test line of the lateral flow strip.

The test is based on a comparison between the result obtained with the patient sample and the result obtained with a blank plasma sample spiked at 2µg/mL. This test required only 10µL of plasma and provide results in 30 min. To assess the sensitivity and specificity of the test, 37 plasma samples collected on 25 patients under gentamicin regimen and 20 plasma samples on 20 patients under non-gentamicin regimen were, after quantification by a FPIA method, analyzed by the developed immunochromatographic strip.

Results: Based on these 57 tested clinical samples, the sensitivity (ability to detect accurately patient above 2 µg/ml, i.e.: toxic level) of the test was 100% and the specificity (ability to detect accurately patient under 2 µg/ml) was 96%.

Conclusion: We have developed an immunochromatographic test able to detect the patients whose gentamicin plasma concentration is above 2µg/ml, the toxic through plasma concentration, with high sensitivity and specificity. This simple, fast (30 min) test uses only 10 µl of plasma and is promising for a future industrial implementation.

72/15o — 3 décembre 2009 - 12:00 - 352A

Prédiction *a priori* des concentrations de gentamicine au pic : utilisation d'un outil simple et pratique

F. Lemaitre[4], V. Javaugue[3], M. Rousselot[3], C. Nowak[4], N. Venisse[1], C. Garandeau[2], A. Riché[3], D. Cancel[4]
[1]Laboratoire de Toxicologie et Pharmacocinétique, CHU de Poitiers, Poitiers [2]Laboratoire de Microbiologie [3]Médecine Interne [4]Pharmacie, CH d'Angoulême, St Michel, France

Introduction : En raison du risque potentiel de toxicité rénale, les patients traités par gentamicine sont souvent sous-dosés. Or, il est aujourd'hui bien établi que l'efficacité de cet antibiotique est corrélée à une concentration au pic de 10 fois la CMI du germe à traiter. Notre objectif a été de développer sur Excel un outil simple permettant de prédire a priori les concentrations obtenues au pic et de proposer une dose de gentamicine adaptée au patient.

Matériel et méthode : Sexes, âges, poids, tailles, créatininémies, doses de gentamicine administrées de 10 patients consécutifs ont permis de mettre au point le modèle. Parmi les formules d'estimation de la clairance de la créatinine et de la constante d'élimination (Kel) de la gentamicine testées : celles de MDRD et de Dettli[1], se sont respectivement montrées les plus adaptées. Les prélèvements ayant été effectués à J2, 3 ou 4, la formule de calcul de la concentration à l'équilibre a été préférée (Cmax = (Dose/τ) x (1-exp(-kel x τ)) / [Kel x Vd x (1-exp(-kel x (t-τ))] t : intervalle entre 2 administrations ; τ : durée de perfusion). Le modèle a ensuite été appliqué prospectivement aux 24 patients suivants traités par gentamicine.

Résultats : Pour 15 des 24 patients (63%), le modèle permettait de prédire la concentration avec un biais inférieur à 10% et pour 19 patients sur 24 (79%), le biais était inférieur à 15%. L'erreur moyenne du modèle était de 10%. 3 des concentrations étaient très largement surestimées (biais>20%), témoignant sans doute d'un prélèvement postérieur à l'heure de prélèvement renseigné.

Discussion-Conclusion : Ainsi, il est possible, sans utilisation de logiciels onéreux et d'emploi complexe, de prédire la concentration de gentamicine au pic et donc d'adapter a priori la posologie au patient. Cet outil est particulièrement utile dans les centres ne disposant pas de service de pharmacocinétique. Puisque les 2/3 des patients de notre étude étaient sous-dosés (Pic/Cmi<10) et qu'1/4 des gentamicinémies étaient inférieures à la concentration prévenant les mutations (Pic/Cmi<8), l'utilisation en routine de cet outil permettra en pratique de proposer une dose individualisée à chaque patient à la fois parant au risque toxique, prévenant l'apparition de résistances, et gage de succès clinique.

[1] Dettli, R.C. Drug dosage in patients with renal disease. Clin Pharmacol Ther 1974;16:274-80

73/15o — 3 décembre 2009 - 12:15 - 352A

Diffusion tissulaire de la ceftazidime administrée en perfusion continue dans les pneumonies hypoxémiantes

J. Cousson[3], T. Floch[3], F. Nicolas[3], T. Guillard[1], A. Leon[3], G. Hoizey[2], V. Vernet-Garnier[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Laboratoire de Pharmacologie [3]Service de Réanimation, CHU Robert Debré, Reims, France

Objectif : Les modalités d'administration des bêta-lactamines restent discutées dans les pneumonies acquises sous ventilation mécanique. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'intérêt de l'administration continue de ceftazidime en terme de concentration tissulaire pulmonaire.

Matériels et méthodes : Etude prospective (32 patients) contrôlée et randomisée comparant 2 modalités d'administration de la ceftazidime chez des patients présentant une pneumonie à bacille à Gram négatif. Le groupe I recevait de la ceftazidime à la posologie de 60 mg/kg/j après une dose de charge de 20mg/kg. Le groupe II recevait 20mg/kg en 30 mns toutes les 8 h. Cette étude a été réalisée avec la molécule princeps afin de s'assurer d'une stabilité correcte de la ceftazidime pendant 24 h. Dans les 2 groupes la tobramycine était associée à la posologie de 5mg/kg. Pour chaque patient, 12 (groupe I) et 18 (groupe II) prélèvements sériques étaient effectués sur la période de l'étude (48 h). Le prélèvement du liquide alvéolaire était pratiqué à la période d'équilibre pharmacocinétique à la 44ème heure. Les concentrations de ceftazidime étaient déterminées par HPLC couplée à une détection UV et les CMI par les bandelettes E-test.

Résultats : Les 2 groupes de patients étaient homogènes en terme de poids, d'âge, de clairance de créatinine et d'indice de gravité. La concentration moyenne de ceftazidime dans le film alvéolaire était de 13,2 +/- 10,5 mg/L dans le groupe I et de 8,6+/- 7,8 mg/L dans le groupe II. Au vu de notre écologie locale (CMI de ceftazidime <4 mg/L pour *P. aeruginosa*) notre objectif de concentration minimale dans le film alvéolaire était de 8 mg/L.Celui-ci a été obtenu chez deux fois plus de patients dans le groupe I (10/16) que dans le groupe II (5/16).

Conclusion : Peu d'études comparent la concentration de ceftazidime dans le film alvéolaire après administration en continu versus discontinu. La posologie en mg/kg nous semble nécessaire du fait de la variabilité inter-individuelle de la pharmacocinétique de la ceftazidime chez le patient septique. Basée sur un objectif de concentration au niveau du tissu cible, cette étude suggère que le débit continu présente un avantage pharmacodynamique en terme prédictif d'efficacité dans les pneumonies hypoxémiantes.

77/19o — 3 décembre 2009 - 14:30 - HAVANE

Identification d'isolats de *Streptococcus agalactiae* appartenant à différentes lignées phylogénétiques par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF

M.F. Lartigue[3-2], G. Héry-Arnaud[3], E. Haguenoer[3], A.S. Domelier[3-2], P.O. Schmit[4], N. Van Der Mee-Marquet[3-2], P. Lanotte[3], L. Mereghetti[3], M. Kostrzewa[1], R. Quentin[3-2]
[1]Bruker Daltonik, Leipzig, Allemagne [2]Service de Bactériologie et Hygiène hospitalière, Hôpital Trousseau, CHRU de Tours [3]EA3854 Bactéries et risque materno-foetal, IFR136, Université François-Rabelais de Tours, UFR de Médecine, Tours [4]Bruker Daltonique, Wissembourg, France

L'objet de cette étude était de déterminer si les variations dans l'expression des protéines liées à la position phylogénétique des souches de *Streptococcus agalactiae* affectent l'identification de l'espèce lorsqu'elle est réalisée par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF.

Cent dix souches de *S. agalactiae*, isolées du vagin, non reliées épidémiologiquement, ont été sélectionnées dans une collection nationale. Elles ont été sérotypées et caractérisées par multi-locus sequence typing (MLST) afin de déterminer leur position phylogénétique. L'identification des souches a été réalisée par MALDI-TOF MS. Les spectres de masse obtenus ont été analysés grâce au logiciel MALDI Biotyper 1.1 (Bruker Daltonique, France) qui contient les spectres de masse de deux souches de *S. agalactiae* (ATCC 27956 THL et DSM 2134).

Les 110 souches de *S. agalactiae* ont été correctement identifiées au niveau de l'espèce, mais seulement 86 avec un résultat considéré comme « excellent » [Log(score), ≥ 2,3]. Les souches de sérotype III et celles de ST23 exprimaient les variations des poids moléculaires des marqueurs de l'espèce les plus importantes. Pour optimiser la capacité de la spectrométrie de masse de type MALDI TOF à identifier les souches de *S. agalactiae* avec un Log(score) optimal (≥ 2,3) quelque soit leur origine phylogénétique, nous avons constitué une nouvelle banque de données. Cette banque a été basée sur les spectres de masse des souches caractéristiques de chacun des complexes clonaux majeurs qui constituent l'espèce.

La détermination de la diversité des spectres de masse MALDI observés pour les souches qui représentent les lignées majeures de chaque espèce apparaît comme indispensable pour constituer une banque de référence optimale utilisable dans ce nouvel outil d'identification bactérienne rapide.

78/19o — 3 décembre 2009 - 14:45 - HAVANE

Identification des staphylocoques par spectrométrie de masse MALDI-TOF (AXIMA SARAMIS SIRWEB-MALDI-TOF) : comparaison aux identifications du Centre National de Référence des Staphylocoques

S. Boisset[3-2-1], A.M. Freydiere[3], H. Meugnier[3-2-1], M. Bes[3-2-1], M. Bergeron[3], C. Gardon[3-2], C. Courtier[3-2], C. Spinelli[3-2], C. Bouveyron[3-2], N. Baida[4], Y. Benito[3-2-1], J. Etienne[3-2-1], G. Lina[3-2-1], F. Vandenesch[3-2-1], O. Dauwalder[3-2-1]
[1]INSERM U851, IFR128, Faculté de Médecine Laennec [2]Centre National de Référence des Staphylocoques, Université Claude Bernard Lyon 1, Lyon [3]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon-Bron [4]I2A, Perols, France

Objectifs : Evaluation de l'identification à l'espèce (**ID**) des staphylocoques par spectrométrie de masse (**SM**) MALDI-TOF d'une collection de souches de référence (**R**) et d'une collection de souches isolées en clinique humaine et vétérinaire parfaitement caractérisées par le Centre National de Référence des Staphylocoques (**CNR**).

Matériels et Méthodes : La collection **R** comprend une souche de *Staphylococcus aureus* (**SA**) et 43 souches de staphylocoques non *aureus* (**SNA**) de 36 espèces différentes. La collection **CNR** comprend 9 souches de **SA** et 175 souches de **SNA** de 32 espèces différentes. Les souches **R** et **CNR** ont été identifiées par **SM** AXIMA (Shimadzu) couplée à la base de données spectrales SARAMIS (Anagnostec) et intégrée au sein du logiciel SIRWEB-MALDITOF (I2A). Les souches ont été testées sur quatre dépôts dans une matrice d'α-cyano-4-hydroxy-cinnamique utilisant le seuil d'**ID** par **SM** de ≥30%. Les **ID** par techniques conventionnelles (**IC**) [galerie ID32 Staph, bioMérieux] et par **SM** ont été comparées à l'identification de référence réalisée par le CNR (**IDREF**) qui associe techniques biochimiques et moléculaires (sondes, ITS-PCR, PCR spécifiques, séquençage, hybridation ADN/ADN et PCR/séquençage du gène *tuf*) [Poster 310-RICAI 2008].

Résultats : Parmi les 44 **R**, 6 souches n'appartenant pas à la base de données (**BDD**) de la **SM**, ne donnaient aucune **ID**. Sur les 38 souches restantes, 30 (79%) furent parfaitement identifiées à l'espèce par **SM** ; 1 au niveau groupe *hominis/warneri* et 13 restèrent sans nom. Sur les 184 souches de la collection **CNR**, 16 souches furent exclues car n'appartenant pas aux BDD **IC** et/ou **SM**. Pour certaines souches, seule une identification au groupe (*intermedius*, *hominis/warneri* ou *warneri/pasteuri*) fut obtenue.

ID *(n=168)*	**SM**	**IC**
ID correcte	119 (**71%**)	102 (**61%**)
ID au groupe	17 (**10%**)	31 (**18%**)
ID erronée	2 (**1%**)	0 (**0%**)
Pas d'ID	30 (**18%**)	35 (**21%**)

Conclusions : La **SM** apparaît comme un outil performant pour l'**ID** des staphylocoques par rapport à l'**IC**. De plus, de part sa rapidité et son coût moindre, elle pourrait être utilisée en première intention pour l'**ID** des **STA** réservant l'**IDREF** à un nombre limité de souches non identifiées par **SM**.

79/19o — 3 décembre 2009 - 15:00 - HAVANE

Étude multicentrique prospective des prélèvements positifs à bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGN-NF) : données microbiologiques

H. Jacquier[6], S. Corvec[5], A. Le Monnier[4], E. Bille[8], F. Jauréguy[1], E. Carbonnelle[7], V. Fihman[3], J. Tankovic[9], V. Cattoir[2]
[1]Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital Avicenne, Bobigny [2]Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen [3]Microbiologie-Hygiène, Hôpital Louis Mourier, Colombes [4]Microbiologie, CH de Versailles, Le Chesnay [5]Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes, Nantes [6]Bactériologie-Virologie, Groupe Hospitalier Lariboisière-Fernand Widal [7]Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou [8]Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital Necker [9]Bactériologie-Virologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

Objectif : Évaluation de la prévalence des prélèvements positifs à BGN-NF (hors Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii) avec comparaison des différentes techniques d'identification.

Méthodes : Le recueil des souches a été réalisé de manière prospective dans 9 hôpitaux de Paris et de Province de décembre 2008 à mai 2009. Toutes les souches de BGN-NF (hors P. aeruginosa et A. baumannii) isolées de prélèvements à visée diagnostique ont été incluses. Seules les souches provenant des prélèvements cliniques suivants ont été étudiées : hémocultures, cathéters, prélèvements respiratoires (y compris de mucoviscidose), urines et abcès profonds. L'identification a été réalisée par biotypage (galerie API 20 NE et carte Vitek2-GNB), par spectrométrie de masse MALDI-TOF et par séquençage du gène codant l'ARN 16S.

Résultats : Sur la période de 6 mois, 199 souches ont été collectées, dont 78 (39,2%), 40 (20,1%), 28 (14,1%) et 22 (11,1%) à partir de prélèvements broncho-pulmonaires, sanguins, urinaires et d'abcès profonds, respectivement. A noter que 31 (15,6%) souches ont été isolées à partir d'expectorations chez des patients atteints de mucoviscidose. Le germe le plus fréquemment retrouvé était Stenotrophomonas maltophilia (37%) suivi de Achromobacter xylosoxidans (10,8%), Pseudomonas putida (6,7%), Acinetobacter lwoffii (4,6%), Burkholderia cepacia (4,1%), Pseudomonas fluorescens (4,1%) et Alcaligenes faecalis (3,6%). Le séquençage du gène codant l'ARN 16S a permis d'identifier au niveau de l'espèce la quasi-totalité (99%) des souches avec une bonne concordance avec les résultats obtenus avec le MALDI-TOF tandis que les galeries biochimiques étaient moins fiables (excepté pour S. maltophilia).

Conclusion : L'isolement d'un BGN-NF dans un prélèvement clinique n'est pas rare d'où l'intérêt d'une identification rapide et fiable en vue d'un traitement approprié précoce. Alors que le séquençage du gène codant l'ARN 16S reste la méthode de référence pour l'identification précise des bactéries, la spectrométrie de masse MALDI-TOF semble une bonne alternative comparée aux méthodes biochimiques, souvent mises en défaut pour l'identification de ces BGN-NF.

80/19o — 3 décembre 2009 - 15:15 - HAVANE

Étude comparative de systèmes d'identification bactérienne par spectrométrie de masse MALDI-TOF

P. Grohs[2], I. Podglajen[2], E. Carbonnelle[2], M. Rottman[1], J.L. Herrmann[1], A. Dewailly[2], S. Boucher[2], S. Tenza[3], H. Jacquier[3], A. Buu-Hoi[3], L. Gutmann[3], M.J. Sanson Le Pors[3], L. Raskine[3]
[1]Service de Microbiologie, Hôpital R. Poincaré, Garches [2]Service de Microbiologie, Hôpital Européen Georges Pompidou [3]Service de Microbiologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France

But de l'étude : Comparaison de deux systèmes d'identification bactérienne par spectrométrie de masse (SM) de type MALDI-TOF : Bruker (Microflex-Biotyper) et Shimadzu/Anagnostec/I2a (Axima@Saramis).

Méthode : Une collection de 333 souches isolées de prélèvements cliniques a été étudiée et identifiée par des techniques de bactériologie standard et de SM. Ces souches, dont certaines présentaient des difficultés d'identification par les techniques usuelles, constituaient un large panel de différentes espèces dont la diversité n'était pas représentative de la pratique courante. Les colonies ont été directement déposées sur la plaque conformément aux recommandations des fournisseurs avec une matrice d'acide alpha-cyano-4-hydroxycinnamique. Aucune étape d'extraction n'a été réalisée. Les spectres de masse obtenus ont été comparés à la base de données dédiée i.e Biotyper et Saramis afin d'obtenir l'identification. En cas de discordance entre l'identification par MALDI-TOF-MS et la bactériologie standard, les souches ont été identifiées par séquençage du gène codant pour l'ARN 16S (fragment de 475 pb). Pour les 33 souches dont la séquence de l'ARN16S ne permettait pas une identification au niveau de l'espèce, les gènes *sodA* et *rpoB* ont été explorés.

Résultats : Aucune identification n'a été obtenue par les systèmes Bruker et Shimadzu dans respectivement 3,7% et 12,7% des cas. Les taux d'identification au niveau de l'espèce et au niveau du genre étaient respectivement de 87% et 95% pour le système Bruker et 66% et 84% pour le système Shimadzu. Les taux d'erreur au niveau du genre étaient de 1,3% et 3% pour les systèmes Bruker et Shimadzu respectivement. Parmi les souches

testées, celles posant le plus de difficultés d'identification par ces systèmes appartenaient aux genres S*treptococcus* (en particulier *S. mitis/oralis* vs *S. pneumoniae*), *Neisseria* (*N. meningitidis* vs *N. flava/perflava*), et pour les Entérobactéries *E. coli* vs *Shigella.*

Conclusion : L'identification bactérienne par MALDI-TOF-MS est rapide, fiable, peu couteuse, et les systèmes d'identification testés (Bruker-Biotyper et Shimadzu/I2a-Saramis) répondent à ces critères pour les espèces les plus fréquemment isolées en routine. En revanche, certaines espèces d'importance clinique ne sont pas encore identifiées de façon fiable, ce qui nécessite un travail d'optimisation des banques de données testées.

81/19o — 3 décembre 2009 - 15:30 - HAVANE

Utilisation de tubes munis de gel séparateur pour l'identification bactérienne en MALDI-TOF des hémocultures positives

W. Moussaoui[2], B. Jaulhac[2], A.M. Hoffmann[2], B. Ludes[2], M. Kostrzewa[1], P. Riegel[2], G. Prévost[2]
[1]R & D, Bruker Daltonik, Bremen, Allemagne [2]EA-4438 Bactériologie, Faculté de Médecine - CHRU, Strasbourg, France

La spectrométrie de masse ou MALDI-TOF (Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization – Time Of Flight) représente désormais une solution pour l'identification bactérienne [1, 2]. L'intérêt de cette technologie est de fournir rapidement une identification en nécessitant peu de consommables.

L'application aux hémocultures positives pourrait constituer un gain de temps important sur l'identification, et parfois une information pour la thérapeutique.

Les hémocultures positives du laboratoire hospitalo-universitaire de Strasbourg ont été recueillies sur une période de 3 mois. Des prélèvements de 1,5 mL étaient transférés dans des tubes munis de gel séparateur, afin que les éléments figurés du sang puissent être séparés des bactéries par centrifugation modérée. Les bactéries présentes en surface du gel séparateur étaient alors remises en suspension, et les protéines totales extraites pour enfin être soumises au spectromètre de masse (BiFlexII – Compass 1.2, Bruker Daltonics, Brême) selon les recommandations [1, 2]. Les identifications étaient réalisées à l'aide du logiciel BioTyper 1.2 (Bruker Daltonics). Les identifications étaient finalement retenues lorsque trois au moins des propositions successives de BioTyper étaient identiques.

En incluant les 24 contrôles négatifs, 526 échantillons furent inclus dans l'étude d'où étaient exclus 11 échantillons contenant des levures, et 29 où l'identification de genre était seulement obtenue. Si nous considérons les techniques usuelles, 555 bactéries pouvaient être identifiées. Ainsi, et en incluant 21 échantillons polymicrobiens (4%, 50 bactéries), une identification correcte était obtenue 499 bactéries (89,72%), se répartissant en 378 bactéries avec un bon score de fiabilité (1,7 - 3) et 72 identifiées avec un score moyen (1,7 - 1,9). Pour les 21 échantillons polymicrobiens, l'approche identifiait 22 des 50 bactéries, en relation très probable avec l'abondance des bactéries. Une meilleure identification était obtenue pour les bactéries à Gram (-) que pour les bactéries à Gram (+) (95% vs 86%).

L'identification bactérienne par spectrométrie de masse est applicable aux hémocultures positives et peut apporter un diagnostic d'espèce dans près de 90% des bactéries rencontrées, avant même qu'un isolement bactérien soit disponible. Cette observation peut constituer une aide au fonctionnement de l'analyse et un apport dans l'information donnée au clinicien.

Références :

[1] 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:e2843.

[2] Mellmann A, Bimet F, Bizet C, Borovskaya AD, Drake RR, Eigner U, Fahr AM, He Y, Ilina EN, Kostrzewa M, Maier T, Mancinelli L, Moussaoui W, Prévost G, Putignani L, Seachord CL, Tang YW, Harmsen D. (2009) High inter-laboratory reproducibility of MALDI-TOF mass spectrmetry-based species identification of nonfermenting bacteria. J Clin Micorbiol, in press

82/19o — 3 décembre 2009 - 15:45 - HAVANE

Identification en routine des micro-organismes dans les bouillons d'hémoculture par spectrométrie MALDI-TOF-MS

A. Ferroni, S. Suarez, J.L. Beretti, B. Dauphin, E. Bille, H. Lecuyer, P. Berche, X. Nassif
Microbiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

En cas de bactériémie, le délai d'identification des bactéries est un frein à l'établissement d'une antibiothérapie empirique adéquate. Aucun des nouveaux systèmes d'identification (automates en milieux liquide, PCR en temps réel) ne permet d'obtenir une réponse à la fois rapide, exhaustive et de coût raisonnable. La méthode de spectrométrie de masse MALDI-TOF-MS permet actuellement l'identification rapide des bactéries à partir de colonies. Le but de la présente étude est d'adapter cette technologie aux bouillons d'hémoculture.

La méthode utilisée est basée sur le récupération sélective des bactéries par addition d'un détergent respectant la membrane bactérienne. Les bactéries sont alors extraites par centrifugation différentielle et analysées par spectrométrie sur le culot obtenu. Dans une première étape, nous avons mis au point la technique en inoculant différentes espèces bactériennes dans des flacons d'hémocultures négatives sans charbon. Nous avons ensuite testé les hémocultures positives de patients, en comparant les résultats à ceux obtenus par la technique classique. Les spectres ont été analysés grâce à la base de données et au système expert BGP développés dans notre laboratoire.

Au total, 174 espèces bactériennes ont été inoculées. Sur les 166 spectres interprétables (95%), la technique MALDI-TOF-MS a permis une bonne identification d'espèce, à l'exception de Enterococccus faecium et des streptocoques oraux identifiés seulement au niveau du genre. Une base de données spécifique pour ces bactéries est donc en cours d'élaboration.

Nous avons ensuite testé prospectivement 169 hémocultures positives de patients: 90 staphylocoques, 41 entérobactéries, 12 Pseudomonas aeruginosa, 14 Streptococcus spp, 6 Enterococcus faecalis. A l'exception de 3% de spectres ininterprétables, nous avons obtenu une identification au niveau du genre et de l'espèce dans respectivement 100% et 85% des cas. Tous les Staphylococcus aureus ont été correctement identifiés.

Cette technique représente donc une avancée incontestable dans la prise en charge des malades bactériémiques, en raison du délai très rapide d'identification des germes (30 mn). S'ajoutent la facilité de son implantation dans un laboratoire de routine et le coût très bas des réactifs

91/22o — 3 décembre 2009 - 14:30 - 342B

Panton-Valentine leukocidin enhances the severity of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* rabbit osteomyelitis

A. Saleh-Mghir[2], O. Dimitrescu[3], G. Lina[3], C. Vallee[2], J.F. Coté[1], M. Muffat-Joly[5], T. Lilin[4], J. Etienne[3], F. Vandenesch[3], A.C. Crémieux[2]
[1]Service d'Anatomie Pathologique, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt [2]Hôpital R. Poincaré, EA 3647, Faculté de Médecine Paris Ile-de-France Ouest, Garches [3]INSERM U851, Centre National de référence des Staphylocoques, Lyon [4]Centre de Recherches Biomédicales, Ecole Nationale Vétérinaire d'Alfort, Maisons Alfort [5]INSERM IFR2-Centre d'Explorations Fonctionnelles Intégré, UFR de Médecine Paris 7, site Bichat, Paris, France

Background: Extensive spread of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (CA-MRSA) in the United States, and the concomitant increase in severe invasive staphylococcal infections, including osteomyelitis, in healthy children, has led to renewed interest in Panton-Valentine leukocidin (PVL). However, the pathogenetic role of PVL in staphylococcal infections remains controversial, possibly because it depends on the site of infection.

Methodology/Principal findings: We compared the course of experimental rabbit osteomyelitis due to the PVL-positive CA-MRSA strain USA 300 (LAC) and its PVL-negative isogenic derivative (LAC∆*pvl*), using a low and a high inoculum (8×10^5 and 4×10^8 CFU). With the low inoculum, bone infection was less frequent on day 7 (D7) and day 28 (D28) with LAC∆*pvl* than with LAC (respectively 12/19 and 18/19 animals, p=0.042). With the high inoculum of both strains, all the animals were infected on D7 and the infection persisted on D28 in almost every case. However, tibial bacterial counts and the serum CRP concentration fell significantly between D7 and D28 with LAC∆*pvl* but not with LAC. Respectively 67% and 60% of LAC-infected rabbits had bone deformation and muscle/joint involvement on D7, compared to 0% and 7% of LAC∆*pvl*-infected rabbits (p=0.001 and p=0.005 respectively). Between D0 and D28, the anti-PVL antibody titer increased significantly only with the high inoculum of LAC.

Conclusions/Significance: PVL appears to play a role in the persistence and rapid local extension of rabbit osteomyelitis, in keeping with the greater severity of human bone infections due to PVL-positive *S. aureus*. The possible therapeutic implications of these findings are discussed.

92/22o — 3 décembre 2009 - 14:45 - 342B

Détection rapide de la leucocidine de Panton Valentine de *Staphylococcus aureus* dans des échantillons cliniques par test ELISA et immuno-chromatographique

C. Badiou[6-5], O. Dumitrescu[6-5], G. Nimmo[2], N. Ramdani-Bouguessa[1], K. Hulten[3], I. Spiliopoulou[8], L.Y. Hsu[9], C. Ratat[7], M. Bes[6-5-4], H. Meugnier[4], F. Vandenesch[6-5-4], J. Etienne[6-5-4], G. Lina[6-5-4]
[1]Centre Hospitalo-Universitaire Mustapha Bacha, Alger, Algérie [2]Pathology Queensland Central Laboratory, Herston Hospitals Complex, Brisbane, Australie [3]Department Pediatrics, Baylor College of Medicine, Houston, Etats-Unis [4]Hospices Civils de Lyon [5]INSERM U851, IFR128 [6]Centre National de Référence des Staphylocoques, Université Lyon 1, Lyon [7]Département R&D, BioMérieux, Marcy L'étoile, France [8]Department Microbiology, University of Patras, Patras, Grèce [9]Department Medicine, National University of Singapore, Singapore, Singapour

Les souches de *Staphylococcus aureus* productrices de leucocidine de Panton Valentine (PVL) sont associées à la survenue d'infections humaines particulières telles que des infections cutanées primitives récidivantes et/ou extensives, des infections ostéo-articulaires extensives et des pneumonies nécrosantes. Les seules méthodes actuellement disponibles permettant de faire le diagnostic d'infection par une souche productrice de PVL utilisent les techniques de biologie moléculaire. Longues, demandant un équipement et un savoir faire technique particulier, elles ne reflètent pas la production de la PVL *in vivo*.

Pour évaluer la performance de tests immunologiques dans le diagnostic d'infections à PVL, nous avons prospectivement collecté des pus et des prélèvements respiratoires d'infection à *S. aureus* dans 6 laboratoires de pays différents. Des tests ELISA et immuno-chromatographique (ICT) ont été

réalisés directement sur ces échantillons. En parallèle, la détection de la présence des gènes codant *luk*SF-PV (*pvl*) et *mec*A a été réalisée par PCR. La production *in vitro* de la PVL a été examinée par les mêmes tests immunologiques à partir des surnageants de culture des souches correspondantes.

Au total, 188 prélèvements ont été analysés, 146 provenant d'infections cutanées, 23 d'infections ostéo-articulaires, et 19 de pneumopathies. Par PCR, 75/188 des souches de *S. aureus* étaient *pvl*+, dont 30 *mecA*+. *In vitro*, la PVL a été détecté dans tous les surnageants des souches *pvl*+ tandis qu'aucun signal n'a été détecté avec les surnageants des souches *pvl*-, ceci avec les deux tests. La concentration de PVL dans les échantillons contenant des souches *pvl*+ variait de 0 à 400 mg/L par test ELISA. Le test ROC montre que le test a un fort pouvoir discriminant et identifie 0,015 mg/L comme valeur seuil. La PVL a été détecté dans 66/73 échantillons *pvl*+ par test ELISA, avec une sensibilité de 90% et une spécificité de 100%. Par ICT, la PVL a été détecté dans 59/74 échantillons *pvl*+, avec une sensibilité de 80 % et une spécificité de 100%.

Ces résultats préliminaires obtenus par les méthodes ELISA et ICT montre que la PVL est produite au cours des infections et permettent de conclure qu'un diagnostic rapide des infections à PVL est possible à partir des échantillons cliniques.

93/22o — 3 décembre 2009 - 15:00 - 342B

Spectrométrie de masse et détection de la leucocidine de Panton-Valentine de *Staphylococcus aureus*

O. Dauwalder[3-2-1], Y. Benito[3-2-1], E. Carbonnelle[5-6], M. Bes[3-2-1], H. Meugnier[3-2-1], J. Etienne[3-2-1], G. Lina[3-2-1], X. Nassif[4-6], F. Vandenesch[3-2-1]
[1]INSERM 851, Faculté de Médecine Lyon Est, Université de Lyon, Lyon [2]Centre National de référence des Staphylocoques [3]Laboratoire de Bactériologie–Centre de Biologie et Pathologie Est-Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon-Bron [4]Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique - Hôpitaux de Paris [5]Hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris [6]Faculté De Médecine, Université Paris Descartes, Paris, France

Bittar *et al.* (IJAA, 2009) ont récemment proposé l'utilisation de deux pics de masse sur charge (**m/z**) 4448 et 5302 obtenus en spectrométrie de masse (**SM**) MALDI-TOF pour identifier rapidement les souches possédant les gènes (***luk*-PV**) codant la leucocidine de Panton-Valentine ou PVL.

Objectifs : Utiliser la SM pour détecter la PVL :

i) dans une collection de souches isogéniques (**SI**) ***luk*-PV$^+$** et ***luk*-PV$^-$**,

ii) dans une collection de souches cliniques communautaires ST80.

Matériel & Méthodes : Collection de SI :

i) RN6390 (***luk*-PV$^-$**), LUG855 (obtenue par lysogénéisation de RN6390 avec le phage φ-SLT ***luk*-PV$^+$**), LUG860 (obtenue par transformation de RN6390 avec un plasmide ***luk*-PV$^+$**) ; LUG776 et LUG1520 (construites respectivement par délétion complète ou partielle de ***luk*-PV** chez LUG855),

ii) HT20060752 (ST8/USA300, PVL$^+$) et HT20060753 construite par délétion de ***luk*-PV**,

iii) ST20090065 (ST8/USA300, PVL$^+$) et LUG1672 construite par délétion de ***luk*-PV**.

Collection ST80 :

i) ***luk*-PV$^+$**, n=9

ii) ***luk*-PV$^-$**, n=1

Les souches ont été cristallisées dans une matrice d'α-cyano-4-hydroxy-cinnamique en 4 dépôts (répliquâts) puis analysées par SM AXIMA (Shimadzu) couplée à la base de données SARAMIS (Anagnostec) et intégrée au logiciel SIRWEB-MALDITOF (I2A).

Résultats : L'analyse des **SI** a révélé :

i) la présence systématique du pic 5302$^+$/.3 (m/z) dans toutes les souches testées (***luk*-PV$^+$** et ***luk*-PV$^-$**),

ii) la présence inconstante du pic 4448$^+$/.3 (m/z) chez les souches ***luk*-PV$^+$** et sa présence chez des souches ***luk*-PV$^-$**.

Nom	Présence de ***luk*-PV** (PCR)	**Pic 4448$^+$/.3** (nbre de positifs / nbre de répliquâts)	**Pic 5302$^+$/.3** (nbre de positifs / nbre de répliquâts)
RN6390	-	+ (2/4)	+ (4/4)
LUG 855	+	+ (2/4)	+ (4/4)
LUG 860	+	+ (4/4)	+ (4/4)
LUG 776	-	+ (2/4)	+ (4/4)
LUG1520	-	+ (1/4)	+ (4/4)
HT20060752	+	- (0/4)	+ (4/4)
HT20060753	-	+ (1/4)	+ (4/4)
ST20090065	+	+ (1/4)	+ (4/4)
LUG1672	-	+ (3/4)	+ (4/4)

Pour les souches **ST80**, l'analyse a montré:

. la présence des deux pics chez la souche ***luk-PV*$^-$**,

. la présence des pics 4448 et 5302, respectivement chez seulement 8 et 7 des 9 souches ***luk-PV*$^+$**.

Conclusion : Il apparaît clairement que la présence des pics 4448 et 5302 (m/z) en SM ne permet pas d'identifier les souches possédant les gènes codant la PVL.

94/22o — 3 décembre 2009 - 15:15 - 342B

Production, characterization and inhibition properties of humanized heavy chain only antibodies against *S. aureus* Panton-Valentine leukocidin S and F components

B.J. Laventie[1], G. Prévost[1], T. Chen[2], R. Rademaker[2], R. Girardot[1], F. Grosveld[2], D. Drabek[2]
[1]EA-4438 Physiopathologie et Médecine Translationnelle, Institut de Bactériologie de la faculté de médecine, Strasbourg, France [2]Departement of Cell Biology, Erasmus Medical Center, Rotterdam, Pays-Bas

S. aureus is a Gram positive bacterium that is a frequent cause of community-acquired and nosocomial diseases. A number of methods are currently being used to find alternative approaches for prevention and therapy of *S. aureus* caused diseases, including those targeting virulence factors involved in attachment, penetration and evasion. Although only ~2% of *S. aureus* strains produce Panton Valentine Leukocidin (PVL), two component pore-forming proteins, and strains carrying PVL genes may be methicillin resistant and account for large proportion of severe community acquired skin and soft tissue diseases. We have immunized transgenic mice containing llama/human hybrid immunoglobulin heavy chain locus (Janssens et al. 2006) with the recombinant bacterially produced LukS-PV and LukF-PV proteins. Using phage display technology, single domain antibody (sdAb) libraries were made from spleen cDNA of immunized animals. All sdAb obtained originated from the IgG3 class. For purification and mass production purposes, one anti-LukS-PV and 3 different anti-LukF-PV variable domains were cloned into eukaryotic expression vector and transfected into Human Embryonic Kidney (HEK) cells. Full length heavy chain only antibodies were secreted and purified from the serum free medium using Spa-beads. A anti-LukS-PV antibody was also engineered into IgG2 format for possible evaluation of *in vivo* differences based on effector function. Affinity measurements showed *Kd* for anti LukS-PV in nM range while the *Kd* for anti LukF-PV antibodies were in 0.1 nM range. We further tested the capacity of antibodies to inhibit PVL binding to target cell membranes, PVL associated calcium influx and PVL pore formation. Both the two forms of anti-LukS-PV and 3 anti-LukF-PV show the ability to prevent LukS-PV and LukF-PV bindings, respectively. The inhibition of the membrane binding step of PVL further prevents neutrophils calcium activation and PVL pore formation. The antibody against LukS-PV also recognizes the HIgC and inhibits its function while anti LukF-PV antibodies are specific and do not cross react with any of the homologous proteins tested. In conclusion, our results are showing a clear inhibitory effect of antibodies *in vitro*. However, they have to be validated further in an *in vivo* infection model.

95/22o — 3 décembre 2009 - 15:30 - 342B

Détection rapide de la leucocidine de Panton-Valentine de *Staphylococcus aureus* à partir de colonies à l'aide d'un test immuno-chromatographique

G. Perrier[2-1], C. Ratat[4], M. Bes[2-3], C. Badiou[2-3], F. Vandenesch[2-1-3], J. Etienne[2-1], G. Lina[2-1], A.M. Freydiere[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon, Bron [2]Université Lyon 1, Centre National de Référence des Staphylocoques [3]IFR128, INSERM U851, Lyon [4]R&D, BioMérieux, Marcy L'Etoile, France

La leucocidine de Panton-Valentine (PVL) est une toxine produite par Staphylococcus aureus. Jusqu'alors décrite à l'origine de furonculoses et d'abcès cutanés souvent récidivants, elle a récemment été impliquée dans la survenue d'infections ostéo-articulaires extensives et de pneumopathies nécrosantes souvent létales. Une détection rapide de la PVL permettrait l'instauration précoce d'un traitement antitoxine et antibiotique en cas d'infections profondes et mise en place de mesures individuelles d'éradication de la souche lors d'infections récidivantes. Les seules méthodes actuellement disponibles pour la détection de la PVL utilisent les techniques de biologie moléculaire. Ces méthodes longues et nécessitant un équipement technique particulier ne sont pas à la portée de tout laboratoire de diagnostic.

Un test immunochromatographique (ICT) en cours de développement a été évalué à partir de colonies de souches de collection de Staphylococcus aureus productrices ou non de PVL. Le protocole comprend une subculture de 6h de 3 colonies dans 600 µL de bouillon CCY. Le test est effectué sur ce bouillon après chauffage pendant 1h.

213 souches de S. aureus ont été analysées comparativement à la détection des gènes codant lukS-PV (pvl) par PCR, 154 provenant d'infections cutanées, 23 d'infections ostéo-articulaires, 34 de pneumopathies et 2 de septicémies)

Par PCR, 100 souches de S. aureus étaient pvl+, dont 46 mecA+. Avec le test ICT la PVL a été détectée dans les subcultures des 100 souches pvl+ conférant au test une sensibilité de 100%. Pour les 113 souches pvl-, 112 subcultures ont montré un résultat négatif et 1 souche a donné un signal faiblement positif (spécificité de 99,1%).

Ces résultats obtenus par le test ICT permettent de conclure qu'un diagnostic rapide des infections à PVL est possible à partir de colonies de S. aureus.

96/22o — 3 décembre 2009 - 15:45 - 342B

Prévalence des gènes des toxines TSST et PVL de *S. aureus* en fonction de leur antibiotype

L. Cavalié, F. Bertin, M. Ducos, S. Malacan, N. Marty, M.F. Prère
Bactériologie-Hygiène, CHU, Toulouse, France

Dans les sepsis à *Staphylococcus aureus*, outre la résistance aux antibiotiques, l'état de virulence de la souche conditionne l'attitude thérapeutique.

Le but de notre étude a été de déterminer la prévalence des souches productrices de toxine : Leucocidine de Panton et Valentin (PVL) et Toxine du Toxic Shock Syndrom (TSST) parmi les souches de *S. aureus* isolées de sepsis de patients hospitalisés au CHU de Toulouse et d'analyser les résultats en fonction de l'antibiotype.

Les souches ont été classées en 3 groupes en fonction de leur sensibilité à la méthicilline (SARM et SASM) et à l'acide fusidique (FA) : - groupe1, SARM résistants ou intermédiaires à FA (FA R ou I) (N=52, enquête Onerba 2008), - groupe 2, SASM sensibles à FA (N=37) et - groupe 3, SARM sensibles à FA (N=21). La recherche des gènes de TSST a été réalisée par une PCR "maison" et celle de la PVL par Genotype® MRSA (HAIN LIFESCIENCE) qui a confirmé l'identification *S. aureus* et la présence du gène *mec*A.

Nous obtenons ainsi dans le groupe 1, 39 TST+ (75%) et 4 PVL+ (8%), dans le groupe 2, 1 PVL+ (3%) et 4 TSST+ (11%) et dans le groupe 3, 0 TSST et PVL.

L'analyse des résultats montre que i) les souches PVL + sont beaucoup plus rares que les souches TSST + (5 versus 43 pour 120 souches), ii) on constate une forte prévalence du gène de TSST dans les SARM FA I ou R (75%) contre (0%) dans les SARM FA S et (11 %) dans les SASM au niveau de notre épidémiologie locale. L'antibiotype FA I/R semble hautement prédictif pour un SARM de la présence de la toxine TSST. Cela pourrait s'expliquer la présence d'un clone au niveau local largement diffusé, iii) les souches PVL+ ne sont pas toutes FA R.

Nos résultats suggèrent l'opportunité de la recherche systématique du statut de virulence des souches isolées lors de sepsis.

97/23o — 3 décembre 2009 - 14:30 - 343

Portage digestif d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3e génération dans une population d'adultes jeunes asymptomatiques : évolution entre 1999 et 2009

F. Janvier[1], A. Mérens[1], D. Delaune[1], G. Marcadé[1], C. Rapp[2], J.D. Cavallo[1]
[1]*Service de biologie médicale* [2]*Service de maladies infectieuses et tropicales, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France*

L'émergence d'entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) dans les infections communautaires, particulièrement les infections urinaires, est observée en France depuis 4-5 ans. Cependant, les études de prévalence du portage digestif de ces bactéries dans la population générale en ville sont rares.

Objet de l'étude : Evaluer le portage digestif d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération dans une population d'adultes jeunes non hospitalisés.

Méthodes : Etude prospective sur une période d'un an. Inclusion de 517 selles moulées de jeunes militaires asymptomatiques pour lesquels une analyse systématique de selles a été demandée pour aptitude aux emplois alimentaires. Chaque selle a été ensemencée sur gélose Drigalski additionnée de céfotaxime (CTX) (5µg/ml). Toutes les bactéries isolées ont fait l'objet d'une identification, d'un antibiogramme par diffusion en gélose, d'une détermination des CMI en milieu liquide et d'une étude des mécanismes de résistance aux β-lactamines. La détection des gènes codant les BLSE a été effectuée par PCR. Les données ont été comparées aux résultats d'une autre étude réalisée dans les mêmes conditions dans notre laboratoire en 1999.

Résultats obtenus : En 2009, sur 517 prélèvements non répétitifs, 22 entérobactéries résistantes au CTX ont été mises en évidence (prévalence 4,2%). Il s'agissait de 11 entérobactéries présentant une céphalosporinase hyperproduite (prévalence de 2,1%) et 11 EBLSE (prévalence 2,1%) parmi lesquelles 10 *E. coli* (7 porteurs de CTX-M du groupe 1, un de CTX-M du groupe 2, un de CTX-M du groupe 9 et un porteur d'une BLSE de type SHV) et une *Klebsiella pneumoniae* exprimant une CTX-M du groupe 1. Des résistances associées étaient retrouvées chez toutes les EBLSE. En 1999, sur 517 prélèvements, 11 entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinase avaient été retrouvées (prévalence 2,1 %) et aucune EBLSE.

Conclusion : Ces données reflètent l'émergence du portage digestif d'EBLSE dans la communauté chez des adultes jeunes asymptomatiques (0% en 1999 versus 2,1% en 2009). Il s'agit essentiellement d'*E. coli* porteur de CTX-M du groupe 1. Le portage digestif d'entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinase reste par contre remarquablement stable entre les 2 périodes (2,1%).

98/23o — 3 décembre 2009 - 14:45 - 343

***Escherichia coli* producteurs de BLSE en pédiatrie : le royaume des CTX-M**

F. Crampon[1], M. Caseris[1], J.L. Pons[1-2], S. Boyer-Mariotte[1-2]
[1]*Laboratoire de Microbiologie, CHU Charles Nicolle, Rouen* [2]*EA2656 GRAM, IHURBM, Université De Rouen, France*

Objectifs : Nous avons observé depuis 2000 en Pédiatrie au CHU de Rouen, une augmentation significative ($p < 10^{-4}$) des souches de *Escherichia coli* productrices de béta-lactamase à spectre étendu (BLSE) de 0 à 20 souches/an et voulu savoir si elle était liée au phénomène des BLSE de type CTX-M. Notre étude rétrospective porte sur 22 souches isolées chez des enfants de janvier 2008 à juin 2009 pour les caractériser en termes de BLSE, clonalité et données clinico-épidémiologiques.

Méthodes : 22 souches originales (16 en 2008, 6 en 2009) ont été caractérisées par méthodes biochimiques, antibiogramme par diffusion, PCR et séquençage pour identification des BLSE et techniques RAPD pour comparaison des souches.

Résultats : La prévalence des souches de *E. coli* BLSE observée dans la population pédiatrique pendant l'étude est de 2,5%. Les souches étaient majoritairement (16/22) isolées chez des enfants âgés de 0 à 1 an dont la moitié avaient moins de 3 mois et 2 nouveaux-nés après transmission materno-foetale. Les souches provenaient d'urines (11) dont 7 cas d'infections (5 pyélonéphrites et 2 cystites) chez des enfants à antécédents urologiques. Les autres souches étaient isolées de selles (7) chez des enfants après antibiothérapie, de 2 liquides gastriques et il s'agissait de simples colonisations. Enfin 2 souches provenaient d'abcès appendiculaires chez des enfants sans antécédents. La majorité des souches (17) exprimaient une BLSE de type CTX-M : 5 CTX-M-15, 5 CTX-M-1, 4 CTX-M-14, 3 CTX-M-2. Les souches CTX-M-15 et M-2 coproduisaient une enzyme TEM. Toutes les souches étaient sensibles aux aminosides excepté celles produisant CTX-M-15. Toutes les souches CTX-M-1 étaient également sensibles aux fluoroquinolones mais résistantes au cotrimoxazole. Moins d'un tiers des souches étaient résistantes à la ciprofloxacine. Les 22 souches n'étaient pas génétiquement reliées excepté 2 correspondant à des transmissions croisées : l'une produisant CTX-M-15, l'autre CTX-M-2 retrouvées respectivement chez 4 et 2 enfants.

Conclusion : Notre étude confirme que l'émergence de *E. coli* BLSE en Pédiatrie est principalement liée à des souches produisant des enzymes CTX-M. Celle ci n'est pas liée à la diffusion d'une souche épidémique mais à l'émergence de souches non reliées.

99/23o — 3 décembre 2009 - 15:00 - 343

Dissémination du plasmide porteur de CTX-M-15 dans des souches de *Proteus, Morganella* et *Providencia* sp. dans un hôpital militaire tunisien : étude rétrospective de 2005-2007

S. Mahrouki[1-2], L. Vidal[1], A. Sotto[1], N. Bouziges[1], O. Belhadj[2], J.P. Lavigne[1]
[1]*Espri 26, INSERM, Nîmes, France* [2]*Laboratoire de biochimie et de technobiologie, Faculté des Sciences, Tunis, Tunisie*

Objet de l'étude : En Tunisie, des souches cliniques d'*E. Coli* et de *K. pneumoniae* producteurs de CTX-M-15 ont été décrites ces dernières années. Le but de notre étude était d'évaluer la dissémination du plasmide porteur de CTX-M-15 au sein de la famille des Proteae en Tunisie.

Méthodes : Du 1/06/05 au 30/05/07, toutes les souches de la famille des Proteae sécrétrices de BLSE ont été recueillies à l'hôpital militaire de Tunis. Pour chaque souche, une fiche de renseignements cliniques et épidémiologiques du patient infecté a été colligée. Les souches isolées ont été caractérisées phénotypiquement (résistance vis-à-vis des principaux antibiotiques, identification de la ou des β-lactamase(s) produites, des mutations des topoisomérases et des plasmides qnr) et génotypiquement (électrophorèse en champ pulsé (ECP), analyse du contenu plasmidique et étude des profils de restriction plasmidique après digestion par HindIII et EcoRI).

Résultats : Sur les 23 souches étudiées (14 P. mirabilis, 7 M. morganii, 2 Providencia sp.) provenant de pus profonds (35%), 10 produisaient une CTX-M (44%): CTX-M-15 (80%) et CTX-M-40 (20%). 70% des CTX-M étaient isolées chez M. morganii. La céfotaximase était fréquemment associée à d'autres BLSE (50% associées à Tem-24 et 90% avec DHA-1). Les souches contenaient des plasmides porteurs de QnrA6 (50%) et QnrS1 (10%). Différentes mutations ont été identifiées dans GyrA, GyrB et ParC. L'acquisition de toutes les souches était nosocomiale chez des patients d'âge médian 48 ans (34-62), diabétiques (70%) ayant des antécédents d'hospitalisation en réanimation (90%) et une antibiothérapie par β-lactamines dans le mois précédent (70%). L'analyse par ECP n'a pas objectivé de dissémination d'un clone producteur de CTX-M-15. La première souche sécrétrice de CTX-M-15 a été identifiée en réanimation chez M. morganii en 2005. En 2007, une souche de P. mirabilis productrice de cette enzyme a été détectée. La comparaison des profils de restriction plasmidique confirme la présence d'un plasmide identique entre les souches de Proteae et *E. Coli*.

Conclusion : Cette étude a permis d'objectiver la dissémination du plasmide porteur de CTX-M-15 parmi la famille des Proteae en Tunisie. Elle a également montré l'existence de céphalosporinase plasmidique de type AmpC et confirmé la forte prévalence des plasmides porteurs de Qnr dans cette population bactérienne. Ce travail invite à surveiller attentivement l'évolution épidémiologique des plasmides porteurs de CTX-M car ces souches en expansion dans le Monde conduisent à des impasses thérapeutiques.

100/23o — 3 décembre 2009 - 15:15 - 343

Épidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu à l'hôpital du point G à Bamako (Mali)

I. Maiga[2], S.A. Dioma[2], A. Maiga[2], T. Guillard[1], V. Duval[1], L. Brasme[1], V. Vernet-Garnier[1], C. De Champs[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène Hospitalière, CHU de Reims, UFR Médecine Reims Champagne-Ardenne, Reims, France [2]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital du Point G, BP 333, Bamako, Mali

Objet de l'étude : Depuis l'étude de 2003 rapportant la présence d'enzymes de type SVH au Nigéria, les données épidémiologiques sur la fréquence des bactéries productrices de b-lactamases à spectre étendu (BLSE) en Afrique de l'Ouest sont rares. Nous rapportons ici les résultats d'une étude prospective menée d'avril 2004 à avril 2006 à l'hôpital du point G à Bamako au Mali.

Méthodes : Sur les 1193 isolats non répétitifs d'Entérobactéries identifiées par API 20E (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) 256 avaient un test de synergie positif (céphalosporines de IIIème génération + clavulanate). 190 ont été sélectionnées sur l'espèce et la date d'isolement pour détermination du point isoélectrique, identification de l'enzyme par séquençage des produits de PCR des gènes *bla* et génotypage par RAPD. Les bactéries isolées chez des patients ambulatoires ont été classées en « communautaires ».

Résultats : Durant la période de l'étude, 1193 souches non répétitives d'Entérobactéries ont été isolées : *E. Coli* (n=747), *K. pneumoniae* (n=217), *E. cloacae* (n=81), *P. mirabilis* (n=36), *S. enterica* (n=30), *P. vulgaris* (n=28), *K. oxytoca* (n=26), *M. morganii* (n=12), *E. sakazakii* (n=4), *S. marcescens* (n=3), *E. agglomerans* (n=3), *H. alvei* (n=3) et *E. aerogenes* (n=3), à partir d'urine (n=826), pus (n=200), selles (n=63), hémoculture (n=52), liquide pleural (n=17), autres prélèvements (n=35), provenant de l'hôpital (n=881) ou de patients ambulatoires (n=312).

Les BLSE étaient produites par 210 (23,8%) isolats hospitaliers et 46 (14,7%) communautaires (p=0,0008) : 156 *E. coli*, 82 *K. pneumoniae*, 15 *E. cloacae*, 2 *M. morganii* et 1 *P. mirabilis*. Les autres espèces n'en produisaient pas. Identifiées pour 190 isolats elles étaient majoritairement des CTX-M : CTX-M-15 (n=157) et CTX-M-14 (n=17) produites par *E. coli* (n=108). La RAPD montrait que seuls les isolats d'*E. cloacae* SHV-12 et certains isolats de *K. pneumoniae* CTX-M-15 provenaient du même clone.

Conclusion : Cette étude retrouve la prédominance observée à l'échelle mondiale d'*E. Coli* producteur de l'enzyme CTX-M-15. La faible prévalence des BLSE de type TEM observée en 2003 se retrouve également ici. Le faible nombre d'isolats appartenant au même clone est en faveur de l'importance de la pression antibiotique sur la fréquence des BLSEs.

101/23o — 3 décembre 2009 - 15:30 - 343

Évolution des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE) à l'hôpital Saint-Antoine: 2003-2008

D. Decré, M.C. Barbut, H. Lagny, D. Geneste, G. Arlet, J.C. Petit, F. Barbut
Bactériologie - EA n°2392, CHU Saint-Antoine, Paris, France

Objectifs : Analyser l'évolution des entérobactéries productrices d'une BLSE (EBLSE) à l'hôpital Saint-Antoine entre 2003 et 2008 et évaluer le taux de transmission croisée, en particulier dans le service de réanimation chirurgicale où les patients sont systématiquement dépistés à l'admission et une fois par semaine.

Méthodes : L'étude épidémiologique était de type observationnelle, descriptive basée sur une enquête rétrospective de 2003 à 2008. L'identification des BLSE a été réalisée par PCR puis séquençage. La clonalité des *Escherichia coli* et des *Klebsiella pneumoniae* a été étudiée par électrophorèse en champ pulsé (ECP).

Résultats : L'incidence des EBLSE a doublé entre 2003 et 2008 (0.31 versus 0,62 pour 1000 ournées d'hospitalisation).

	2003	2008
Nombre EBLSE	65	137
E. coli	29	71
K. pneumoniae	19	38

En l'espace de 6 ans, les enzymes de type CTX-M ont largement supplanté toutes les autres BLSE. En 2008, 94.4% des BLSE isolées chez les *E. coli* étaient des CTX-M (dont la moitié de CTX-M-15) alors qu'elles ne représentaient que 77.3% des BLSE en 2003 (dont 76.5% de CTX-M-15). Chez *K. pneumoniae* 94.4% des BLSE isolées en 2008 étaient des CTX-M (100% CTX-M-15) alors qu'elles ne représentaient que 23.5% des BLSE en 2003 (50% de CTX-15).

En 2008, 53 (39,8%) patients avaient un prélèvement positif à EBLSE dans les 48 premières heures d'hospitalisation mais seulement 6 patients (4.5%) n'avaient aucun antécédent d'hospitalisation. L'analyse par ECP des *K. pneumoniae* isolées dans le service de réanimation chirurgicale digestive a indiqué la présence de 2 clones majeurs, responsables de deux épidémies successives touchant respectivement 11 et 9 patients. En revanche, le typage des *E. coli* durant la même méthode a mis en évidence une grande diversité de souches, suggérant un très faible taux de transmission croisée.

Conclusions : Les *E. Coli* CTX-M-15 augmentent de façon exponentielle depuis 2003, mais la transmission croisée reste faible. En revanche, les *K. pneumoniae* productrices de CTX-M-15 se transmettent plus facilement de patient à patient.

102/23o — 3 décembre 2009 - 15:45 - 343

***Enterobacter cloacae* producteurs de BLSE en 2007 au CHU de Rouen : anciens et modernes ?**

P. Etancelin[1], J.L. Pons[1-2], S. Boyer[1-2]
[1]Service de Microbiologie, CHU de Rouen [2]EA 2656 GRAM, IHURBM, Université de Rouen, Rouen, France

Objectifs : Les Entérobactéries productrices de béta-lactamase à spectre étendu (EBLSE) sont un problème de santé publique. Au CHU de Rouen, l'augmentation la plus significative concerne l'espèce *Enterobacter cloacae* pour laquelle 10 souches sont détectées en 2004 contre 130 en 2007 représentant alors 36% des souches d'EBLSE isolées. Nous avons donc mené une étude épidémiologique rétrospective sur 68 souches de *E. cloacae* BLSE isolées de sites infectieux (hors portage digestif) en 2007, pour les caractériser en termes de BLSE, clonalité et caractéristiques clinico-épidémiologiques. Parmi celles-ci, 27 correspondant à une même souche épidémique responsable de colonisations respiratoires en néonatalogie ont été exclues.

Méthodes : 41 souches originales de *E. cloacae* BLSE ont été caractérisées par méthodes biochimiques, antibiogramme par diffusion, PCR de détection des béta-lactamases et techniques RAPD pour comparaison des souches.

Résultats : Les souches provenaient de 18 urines, 8 suppurations, 6 prélèvements respiratoires, 5 cathéters, 3 liquides de ponction et 1 hémoculture, isolées chez une majorité d'hommes de plus de 60 ans hospitalisés en secteurs de médecine (37%) ou de chirurgie (27%). Leur répartition montre deux pics saisonniers. Plus des ¾ des souches sont résistantes à la ciprofloxacine, aux aminosides excepté l'amikacine et au cotrimoxazole. Huit souches productrices de BLSE du groupe CTX-M-1 non génétiquement reliées sont isolées chez 8 patients de services différents. Les 33 autres souches produisent des BLSE de type TEM et SHV. Leur typage retrouve seulement 5 profils différents dont 1 commun à 28 patients. Il s'agit d'une souche épidémique ayant diffusé au printemps et en octobre par transmission croisée retrouvée pour 16 patients de services de réanimation, chirurgie digestive et hépato-gastro-entérologie. Pour les 12 autres patients, nous évoquons une possible transmission via des patients ayant un simple portage digestif (souches non étudiées ici).

Conclusion : *E. cloacae* est la 2ème espèce d'EBLSE au CHU de Rouen après *Escherichia coli*, fréquemment multi-résistante et isolée d'infections dans 1/3 des cas. L'étude épidémiologique montre la diffusion d'une souche épidémique majoritaire et l'émergence de souches non reliées productrices de BLSE CTX-M.

107/25o — 3 décembre 2009 - 14:30 - 352A

Effet de la salive de tique sur l'inflammation cutanée lors de la borréliose de Lyme : étude expérimentale sur modèle murin

A. Kern, C. Marchal, E. Collin, C. Barthel, S. De Martino, B. Jaulhac, N. Boulanger
Institut de bactériologie, Facultés de Médecine et Pharmacie, Strasbourg, France

La borréliose de Lyme est une anthropozoonose transmise à l'Homme par piqûre de tiques du genre *Ixodes*. Les agents responsables de cette infection sont des spirochètes du complexe *Borrelia burgdorferi* sensu lato, transmises à l'hôte au cours du repas sanguin de l'arthropode. Dans la plupart des cas cette transmission induit au point de piqûre, une inflammation cutanée : l'érythème migrant. Après dissémination, les manifestations cliniques peuvent être de nature neurologique, articulaire ou dermatologique. Il a été montré que la salive de la tique augmente la virulence des spirochètes inoculés. La modulation de l'immunité innée par la salive de la tique semble constituer une stratégie utilisée par la bactérie afin d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte vertébré.

Afin d'étudier l'inflammation cutanée initiale au point de piqûre de la tique, nous avons établi différents modèles expérimentaux d'infection chez des souris C3H/HeN âgées de 4 semaines, utilisant l'inoculation de *B. burgdorferi* à la seringue ou via des tiques infectées. Par RT-PCR quantitative en temps réel, nous avons analysé la cinétique de l'expression de certains effecteurs de l'immunité innée au point d'inoculation : le TNF-α, la chimiokine MCP-1, ainsi que trois peptides antimicrobiens murins : les défensines mBD-3 et mBD-14 et la cathélicidine CRAMP. Au cours de la cinétique d'infection à la seringue, on observe une induction des gènes inflammatoires étudiés, notamment une surexpression de la cathélicidine 5 heures après inoculation des bactéries. Sept jours après l'infection, on note une importante induction du TNF-α, associée à l'augmentation de la charge bactérienne au niveau cutané à ce point de la cinétique. Au cours de l'infection par piqûre de tiques, le profil inflammatoire est très différent avec peu ou pas d'induction des gènes testés.

Nos résultats montrent que la salive de tique réprime l'expression des gènes inflammatoires étudiés. Cette inhibition pourrait faciliter la multiplication locale de la bactérie avant la dissémination vers différents organes.

108/25o — 3 décembre 2009 - 14:45 - 352A

Altérations fonctionnelles des cellules dendritiques au cours d'une pneumopathie à *Staphylococcus aureus* dans un modèle murin d'immunodépression post-hémorragique

A. Roquilly[2-1], L. Gautreau[4], J.P. Segain[3], G. Auger[2], C. Jacqueline[2], J. Caillon[2], G. Potel[2], R. Josien[4], K. Asehnoune[2-1]
[1]Anesthésie réanimation, CHU de Nantes [2]UPRES EA 3826, Faculté de médecine [3]UMR 1280 PhAN, INRA [4]UMR 643, INSERM, Nantes, France

Rationnel : Les infections nosocomiales aggravent la morbi-mortalité des patients traumatisés. Le choc hémorragique induit une immunodépression systémique (IS) prédisposant les patients aux infections. Les altérations de l'immunité innée engendrées par l'IS sont peu étudiées durant une infection.

Objectifs :

1) mise en place d'un modèle animal d'IS post hémorragique suivi d'une pneumopathie (PN) ; évaluer les conséquences de l'IS

2) sur la gravité de l'infection et

3) les capacités fonctionnelles des cellules dendritiques durant l'infection.

Méthode : Un modèle murin de choc hémorragique à volume contrôlé, réanimé, suivi d'une PN à *Staphyloccocus aureus* méticilline sensible (SASM) était utilisé. *Gravité de l'infection :* La mortalité, la dissémination bactérienne, les lésions pulmonaires, réactivité sanguine *ex vivo au Lipolysaccharide* de la PN après choc hémorragique étaient mesurées. *Cellules dendritiques* : les taux d'ARN messagers, l'expression membranaire des molécules de présentation de l'antigène et les capacités à engendrer la prolifération des lymphocytes T étaient étudiées au cours de l'infection. Les variables non paramétriques étaient comparées par un test de Mann-Whitney ($p \leq 0.05$ comme seuil de signification).

Résultats : Mortalité, dissémination bactérienne et lésions pulmonaires de la pneumopathie augmentent après choc hémorragique. L'hyporéactivité sanguine à l'endotoxine est accentuée. L'IS engendre une diminution de la transcription de gènes NF-kB et IRF dépendants durant la pneumopathie. L'IS altère l'expression membranaire des molécules de présentation de l'antigène sur les cellules dendritiques plasmacytoïdes durant la pneumopathie. La capacité des cellules dendritiques conventionnelles à engendrer la prolifération des lymphocytes T est diminuée au cours d'une PN précédée d'un choc hémorragique.

Conclusions : L'IS augmente la morbi-mortalité d'une pneumopathie en altérant fonctionnellement les principales populations de cellules dendritiques. Les altérations fonctionnelles des cellules dentritiques représentent une cible thérapeutique préventive des infections nosocomiales secondaires à une hémorragie.

109/25o — 3 décembre 2009 - 15:00 - 352A

Infra-red microspectroscopy of the endocarditis vegetation

E. Batard[1-2], F. Jamme[2], M.F. De La Cochetière[1], J. Caillon[1], G. Potel[1], P. Dumas[2]
[1]EA3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Nantes [2]Smis Beamline, Synchrotron Soleil, Saint Aubin, France

Background: Fourier-Transformed Infra-Red (FTIR) microspectroscopy has proved to correlate with histologic findings in many tissues. We studied experimental endocarditis vegetations using this technique.

Methods: A streptococcal aortic endocarditis was induced in 3 rabbits. Vegetation slices were cryo-sectioned and deposited on BaF2 infrared windows. Contiguous slices were stained with hematoxylin-eosin in order to localize the valvular apparatus, the vegetation and bacterial colonies within the vegetation. FTIR microspectroscopy was performed in transmission mode using a globar infrared light source. Two types of infrared images were acquired: images of whole vegetation sections, using a 80x80 µm aperture in order to distinguish the vegetation (VEG) from the valvular tissue (VAL), and images of bacterial colonies using a 15x15 µm aperture. Infrared images were compared with the hematoxylin-eosin staining.

Results: Valvular apparatus and vegetation showed different infrared spectra, mainly in the amide spectral range : VAL spectra showed a shoulder at 1639 cm-1 that was absent in VEG spectra. These spectral band suggests a higher beta sheet composition in protein secondary structure of VAL. Bacterial colonies spectra showed a higher area of the 1142-991 cm-1 peak than spectra of the surrounding vegetation tissue. This peak relates to phosphates, sugars and DNA.

Conclusions: FTIR microspectroscopy of experimental endocarditis vegetation allows to distinguish (i) the vegetation from the valvular tissue, and (ii) the bacterial colonies from the surrounding tissue. FTIR microspectroscopy may be a useful tool to investigate the biochemical structure of the endocarditis vegetation.

110/25o — 3 décembre 2009 - 15:15 - 352A

Transfert de gènes de résistance de souches digestives vers une souche de *E. coli* pathogène respiratoire chez le poulet

A. Dheilly, A. Bouder, G. Hellard, I. Kempf
LERAPP, AFSSA, Ploufragan, France

Une infection expérimentale à *Escherichia coli* a été utilisée pour comparer l'efficacité de différents traitements antibiotiques vis-à-vis de la colibacillose chez le poulet. Des poulets ont reçu, à trois reprises entre 14 et 16 jours d'âge, par voie orale, deux souches de *E. coli* aviaires, non pathogènes, d'origine digestive, contenant le plasmide pMG252, portant notamment les gènes *qnrA* et FOX-5 ou le plasmide pMG298 portant les gènes *qnrB* et CTX-M, gracieusement fournis par le Pr Jacoby. A 20 jours, les oiseaux ont été inoculés par voie respiratoire avec la souche pathogène *E. coli* O78K80, sensible à la plupart des molécules testées. Le lendemain, les poulets ont été traités par l'oxytétracycline (OTC), l'association Sulfadiméthoxine-Triméthoprime (SXT), l'amoxicilline (AMX) ou l'enrofloxacine (ENR) aux doses thérapeutiques. Des lots de poulets non infectés non traités (NINT) ou infectés non traités (INT) ont également été constitués. La mortalité, la croissance, les symptômes et les lésions des oiseaux morts ou sacrifiés à différentes dates ont été analysés. La sensibilité des isolats obtenus à partir des organes prélevés (sacs aériens, foie, rate, péricarde) a été étudiée.

Les résultats ont montré que l'inoculation de *E. coli* 078K80 entrainait des retards de croissance, des symptômes et des lésions typiques de colibacillose (aérosacculite, péricardite et périhépatite). La mortalité après inoculation a été respectivement de 0/60, 13/60, 4/58, 5/57, 26/62 et 3/58 pour les lots NINT, INT et infectés traités par OTC, SXT, AMX ou ENR. Les aérosacculites des lots infectés étaient significativement plus sévères que celles du lot NINT, les lots infectés traités étant moins atteints que le lot INT, mis à part le lot AMX. La sensibilité de 226 isolats O78K80 isolés des organes prélevés était identique à celle de la souche pathogène inoculée, mis à part un isolat du lot OTC résistant à la tétracycline et un isolat issu du lot SXT, résistant à AMX, FOX, CHL, SXT, S et de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones et porteur des gènes *qnrA* et FOX.

Les faits marquants sont donc l'aggravation de la pathologie par le traitement par AMX et l'acquisition des gènes *qnrA* et FOX par la souche pathogène *E. coli* O78K80 respiratoire, vraisemblablement à partir de souches digestives.

120/31o — 3 décembre 2009 - 16:30 - 341

Les staphylocoques des chiens et chats sont-ils inquiétants ?

M. Haenni, L. Bréchard, J.Y. Madec
Antibiorésistance et Virulence Bactériennes, AFSSA, Lyon, France

Objectif : Les *Staphylococcus* spp colonisent les hommes comme leurs animaux de compagnie et une transmission croisée par contact rapproché est possible. L'objectif de l'étude était de déterminer quelles espèces de staphylocoques sont portées par les chiens et les chats, ainsi que leurs niveaux de résistances, en particulier à la méthicilline.

Méthode : Au total, 219 souches isolées d'animaux malades en 2008 et 2009 ont été identifiées selon les techniques classiques (catalase, coagulase, galeries API Staph). *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus pseudintermedius* ont été identifiés par PCR-RFLP. Un panel de 16 antibiotiques d'intérêt vétérinaire et médical a été testé par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Le gène *mecA* a été détecté par PCR. La capacité de former des biofilms a été analysée en plaques 96 puits.

Résultats : *S. aureus* est largement minoritaire (7 souches, 3.2%), l'essentiel de la population se répartissant entre *S. pseudintermedius* (143 souches, 65.3%) et staphylocoques coagulase négative (CoNS) (69 souches, 31.5%). La résistance à la méthicilline a été détectée chez 15% des souches du panel (33/219), dont la moitié des *S. aureus* (3 souches sur 7), 7.7% des *S. pseudintermedius* et 27.5% des CoNS. Des résistances élevées ont été observées à la pénicilline (56.2%), l'érythromycine (47.5%), la tétracycline (39.6%) et la kanamycine (38.8%), avec des niveaux statistiquement plus élevés pour *S. pseudintermedius* que pour les CoNS. De plus, 65.7% des *S. pseudintermedius* et 16% de CoNS ont montré une capacité à former des biofilms.

Conclusion : *S. Aureus* n'est pas le staphylocoque majoritaire des chiens et des chats, mais la moitié d'entre eux porte le gène mecA. En revanche, *S. pseudintermedius* apparaît comme le staphylocoque pathogène majeur, tant par sa fréquence, par le nombre des résistances portées, que par son aptitude à former des biofilms. En outre, il est souvent identifié à tort comme *S. Aureus*, et pourrait bien avoir une incidence clinique sous-estimée chez l'homme. Enfin, cette étude montre l'importance des CoNS en pathologie canine et souligne la nécessité de mener des recherches poussées sur ces bactéries dont les impacts clinique et épidémiologique sont encore peu documentés.

121/31o — 3 décembre 2009 - 16:45 - 341

Prévalence et antibiorésistance des germes issus de mammites bovines

M. Haenni[1], M.A. Botrel[3], P. Sulpice[2], J.Y. Madec[1], D. Calavas[1]
[1]Antibiorésistance et Virulence Bactériennes, AFSSA, Lyon [2]FEVEC-Fédération d'Eleveurs et de Vétérinaires en Convention, Saint Martin en Haut [3]InVS, Saint-Maurice, France

Objectif : Les mammites sont causées par un large spectre de bactéries et ont un impact économique lourd sur la filière laitière. Elles sont également la première source de consommation d'antibiotiques chez les bovins. L'objectif de cette étude était de déterminer la prévalence des pathogènes responsables de ces infections ainsi que leurs niveaux de résistance aux antibiotiques.

Méthode : Au total, 1631 isolats prélevés en région Rhône-Alpes dans 282 fermes laitières ont été étudiés. Un panel spécifique de 16 antibiotiques a été testé par la méthode de diffusion en milieu gélosé en fonction de l'identification préalable des souches selon les méthodes classiques (morphologie, Gram, catalase, coagulase, galeries API). La significativité des résultats a été analysée statistiquement.

Résultats : Les pathogènes majoritairement isolés de mammites cliniques sont *Streptococcus uberis* (22.1%), *Escherichia coli* (16%) et les staphylocoques à coagulase positive (15.8%), alors que ceux isolés de mammites sub-cliniques sont les staphylocoques à coagulase positive (30.2%), les staphylocoques à coagulase négative (13.7%) et *Streptococcus dysgalactiae* (9.3%). Dans environ 20% des cas, le germe isolé appartenait à d'autres genres (*Serratia*, *Klebsiella*, *Bacillus*, *Corynebacterium, …*). La proportion de bactéries résistantes était globalement faible, à l'exception de la résistance à la pénicilline G chez les staphylocoques (de 14% à 40% selon l'infection et le type de staphylocoques), ou aux macrolides chez *S. dysgalactiae* (40%). Chez *E. coli*, seule une souche de phénotype BLSE a été détectée, la proportion de résistance était inférieure à 1% pour tous les antibiotiques testés.

Conclusion : Cette étude fournit des données actualisées sur le niveau de résistance aux antibiotiques des pathogènes issus de mammites. Ces résultats satisfaisants doivent à la fois conforter les vétérinaires dans l'importance de préserver l'état des lieux actuel tout en poursuivant la démarche d'un usage raisonné des antibiotiques. En termes de sécurité alimentaire, les faibles résistances observées montrent que la transmission à l'homme de bactéries résistantes par la consommation de lait paraît peu probable, d'autant que la consommation de lait cru est quantitativement marginale.

122/31o — 3 décembre 2009 - 17:00 - 341

Surveillance de la sensibilité aux antibioques des salmonelles isolées de la chaîne agro-alimentaire : année 2007

S.A. Granier, C. Danan, S. Fremy, J. Grout, C. Oudart, C. Piquet, C. Pires-Gomes, A. Brisabois
Lerqap, unité CEB, AFSSA, Maisons-Alfort, France

Depuis plus de 10 ans, le Réseau *Salmonella* de l'AFSSA analyse la résistance aux antibiotiques sur les souches de salmonelles collectées des secteurs « Santé et productions animales », « Alimentation humaine et animale » et « Ecosystème naturel ». Ainsi en 2007, **3736** souches, non épidémiologiquement reliées, ont été étudiées pour leur phénotype de résistance aux antibiotiques.

Le phénotype sauvage a été identifié pour **42%** des isolats. Ce phénotype n'était présent que chez 21% des souches de Typhimurium, contre 78% des Enteritidis. 80% des isolats étaient sensibles à l'ampicilline,70% aux sulfamides et 55% à la tétracycline.

Dans le cadre de la surveillance des phénotypes d'intérêt en santé publique, trois phénotypes particulier sont suivis : la résistance aux fluoroquinolones, aux céphalosporines de 3ème génération (C3G), et la pentarésistance ACSSuT (Ampicilline-Chloramphénicol-Streptomycine-Sulfamides-Tétracycline).

Les faits marquants pour 2007 sont :

· **7%** des isolats sont considérés comme **résistants** à l'ensemble des **fluoroquinolones,** du fait de leur résistance *in vitro* à l'acide nalidixique. Toutefois, aucune résistance à haut niveau aux fluoroquinolones n'a été détectée sur le territoire français.

· La détection de souches **résistantes aux C3G** reste **rare**. Aucune céphalosporinase n'a été détectée. Quatre souches productrices de b-lactamases à spectre étendu (BLSE) ont été détectées : (i) 1 Virchow isolée en élevage de cailles produisant CTX-M-9 comme précédemment décrit (Weill, Lailler et al. 2004), (ii) 1 ParatyphiB productrice de TEM-52 dans de la viande de volaille importée des Pays-Bas, (iii) 1 Ohio productrice de SHV-12 isolée de viande de porc importée d'Espagne, (iv) 1 Napoli productrice de CTX-M-1 isolée d'un environnement d'élevage de poulet.

· **7 %** des souches testées présentaient le phénotype **ACSSuT**. 83% des souches de ce phénotype étaient des Typhimurium ou des variants monophasiques. Parmi les souches non-Typhimurium ACSSuT, seulement 3 (6%), Albany, Derby et Ohio, possédaient l'ilot génomique SGI1 (caractéristique de *S.* Typhimurium DT104 ACSSuT).

L'ensemble de ces données doit être confrontées à celles obtenues pour les souches humaines et peut être intégrée dans le cadre d'une analyse de risque en santé publique.

123/31o — 3 décembre 2009 - 17:15 - 341

Phage types distribution of human and non-human *Salmonella enterica* serovar *Typhimurium* isolates in Belgium: trends in 2007 and 2008

C. Wildemauwe, S. Bertrand, C. Godard, R. Vanhoof
Scientific Institute of Public Health, Brussels, Belgique

Nontyphoidal *Salmonella* species are a common causative agent of bacterial food-borne diseases worldwide. In 2007 and 2008, respectively 3975 and 3944 cases were reported to the Belgian National Reference Centre for *Salmonella* and *Shigella*. Since 2006, *Salmonella enterica* serovar Typhimurium is the predominant serovar causing salmonellosis in Belgium. Concomitantly, an increase in the occurrence of multiple drug resistant (MDR) salmonella isolates has been observed since the last decades. This phenomenon was related to the occurrence and subsequent spread of a multi-resistant epidemic strain of *S.* Typhimurium definitive phage type DT104. This strain can present chromosomal genes encoding resistance to ampicillin, chloramphenicol, streptomycin, sulphonamides and tetracyclines (called R-type ACSSuT).

The aim of this study was to provide insight into the Belgian distribution of phage types of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium isolated from humans and non-human isolates during 2007 and 2008.

In Belgium, in 2007, 308 Typhimurium isolates collected from human patients by peripheral clinical laboratories and 316 non-human isolates (isolated by the official monitoring program of the Belgian Food Agency) were phage typed by the National Reference Centre for Phage typing. In 2008, 510 human and 177 non-human isolates were typed.

In 2007, in the human isolates, DT104 was the most frequent phage type (24%) followed by DT120 (16%), DT12 (14%), DT193 (7%) and U302 (7%). Among non-human isolates the phage type distribution was similar except that DT120 was the predominant phage type (28%) followed by DT104 (15%), DT193 (10%), U302 (5%) and DT12 (5%). In 2008, in the human isolates, DT120 was the most frequent phage type (38%) followed by DT104 (12%), DT193 (10%), U302 (8%) and DT12 (5%); in the non-human isolates DT193 (24%) was dominant, followed by DT120 (23%), DT104 (11%), U302 (5%) and DT12 (3%). During both periods, around the 10% of the isolates was not typable.

In conclusion, DT104, DT120, DT12, DT193 and U302 were the dominant phage types both in human and non-human isolates even if the prevalence of some phage types differed. In human isolates, phage type DT104 (of which 76.7% belonged to the R-type in 2007; 68.3% in 2008) was the most common phage type in 2007 but was replaced in dominancy by DT120 (also a multiple drug resistant phage type: 86.3 % in 2007 and 78.2% in 2008). In the non-human isolates, in 2007, DT120 was already the dominant type; while DT193 became the most observed type in 2008. Our study shown that a continual surveillance of the phage types combined with following antimicrobial drugs resistance among *Salmonella* isolates is still necessary for tracing the sources of salmonellosis.

124/31o — 3 décembre 2009 - 17:30 - 341

Gastroentérite fébrile et septicémique à *Listeria monocytogenes*

H. Dieye[1-2], A. Leclercq[1-2], T. Cantinelli[1-2], S. Grayo[1-2], M. Lecuit[1-2-3]
[1]CNR Listeria et CC-OMS Listeria [2]Groupe Micro-organismes et Barrières de l'Hôte, INSERM Avenir U604, Institut Pasteur [3]Centre d'infectiologie Necker-Pasteur, Hôpital Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes, Paris, France

Contexte : Des épidémies de gastroentérites fébriles à *L. monocytogenes* (*Lm*) ont décrites, sans toutefois qu'elles ne se compliquent de listériose invasive. Une gastroentérite précède souvent le développement d'une listériose invasive. Cependant, la preuve de la responsabilité de *Lm* dans ces gastroentérites sporadiques précédant une listériose invasive n'a pas été apportée. Nous avons donc étudié des formes invasives rapportées au CNR des *Listeria* précédés d'une gastroentérite, et tenté de mettre en évidence *Lm* dans les selles et le sang de ces patients.

Méthodes : En 2008, les selles prélevées pendant la période de gastroentérite fébrile de 3 patients ayant déclaré postérieurement une bactériémie (un enfant de 5 ans sans terrain sous-jacent, une patiente de 77 ans avec un pontage fémoral et une patiente de 74 ans avec un cancer) ont été ensemencées directement ou par dilution au 1/10 sur milieu sélectif ALOA™ (AES, Bruz, France). Les isolats, identifiés comme *Lm* ont été sérotypés, et typés par PFGE avec les enzymes de restriction *Asc*I et *Apa*I.

Résultats : Les 3 selles étudiées ont permis l'isolement par la méthode d'isolement direct sur gélose ALOA™ de *Lm*. Cette méthode simple et efficace d'isolement de *Lm* n'est cependant pas utilisée à notre connaissance pour mettre en évidence *Lm* à partir de coprocultures. Pour chaque patient, l'isolat de coproculture était similaire à l'isolat de l'hémoculture, pour son sérotype et ses pulsotypes PFGE *Asc*I et *Apa*I.

Conclusions : La souche de *Lm* isolée au cours de chacun de ces épisodes de gastroentérite fébrile était similaire à celle responsable de la bactériémie pour chaque patient étudié, démontrant que la phase initiale d'invasion intestinale conduisant à une listériose invasive peut être symptomatique. En cas de gastroentérite fébrile où aucun entéropathogène classique n'est détecté (*Campylobacter*, *Yersinia*, *Salmonella*, *Shigella*, EPEC), la recherche et la mise en évidence de *Lm*, notamment chez les personnes à risque de listériose, permettrait un traitement précoce susceptible de prévenir les complications graves, notamment neurologiques et fœtales, de la listériose.

125/31o — 3 décembre 2009 - 17:45 - 341

Évolution de la listériose materno-néonatale en France de 1984 à 2006

A. Le Monnier[3], A. Leymarie[1], M. Ragon[3], E. Laurent[5], A. Leclercq[3], M. Lecuit[3-4-2], V. Goulet[5]
[1]Service de Gynécologie-Obstétrique, Groupe Hospitalier Cochin-Saint Vincent de Paul - Assistance Publique-Hôpiatux de Paris [2]Hôpital Necker-Enfants Malades - Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris Descartes [3]Centre National de Référence des Listeria, Centre Collaborateur de l'OMS pour la listériose d'origine alimentaire [4]Groupe Micro-organismes et Barrières de l'Hôte, INSERM Avenir U604, Institut Pasteur, Paris [5]Département des maladies infectieuses, Institut national de Veille Sanitaire, Saint Maurice, France

La listériose est une infection causée par une bactérie largement répandue dans l'environnement, Listeria monocytogenes, suite à l'ingestion d'aliment contaminé. La listériose maternonéonatale (MN) inclue les cas de listériose diagnostiqués durant la grossesse et chez le nouveau-né durant son premier mois.

Nous avons analysé les données épidémiologiques fournies par le Centre

National de Référence des *Listeria* et les réseaux de surveillance entre 1984 et 2006. L'analyse détaillée de 401 cas déclarés par le système de la DO entre 1999 et 2006 a permis de préciser les caractéristiques de ces infections.

L'incidence des cas de listériose MN a fortement diminuée de 1984 (60 cas/100000 naissances vivantes) à 2006 (3 cas/100000 nv). En 2006, les 31 cas de listériose MN déclarés (soit 11 % de toutes les listérioses) constituent le nombre le plus faible depuis 1984. Cette diminution constante depuis plus de 20 ans est probablement due au renforcement de la surveillance et des mesures de contrôles sanitaires dans les filières agro-alimentaires ainsi qu'à la prévention ciblée visant les femmes enceintes lors du suivi de leur grossesse. Le profil de sensibilité aux antibiotiques des souches et leur distribution par serovar n'ont pas changé entre 1984 et 2006. L'analyse des pulsovars (PFGE) et des séquençotypes (MLST) des souches de *L. monocytogenes* n'a pas mis en évidence la sélection ou la disparition d'un clone particulier.

La listériose MN peut toucher le couple mère-enfant à toutes les périodes de la grossesse et provoquer des infections néonatales (59%), des morts fœtales in utero (26,5%) et des infections maternelles isolées (14,5%). Les mortalités in utero et néonatales diminuent avec l'âge gestationnel.

L'étude rétrospective de 75 dossiers cliniques mère-enfant de listériose MN diagnostiquée en Ile-de-France entre 2000 et 2006 a permis de préciser les signes cliniques d'appel, la contribution des examens complémentaires dans le diagnostic de l'infection, la prise en charge thérapeutique. L'analyse des dossiers suggère que le défaut d'information des femmes et le non suivi des grossesses constituent la principale cause de non observance des recommandations des règles hygiéno-diététiques permettant la prévention de la listériose.

140/35o — 3 décembre 2009 - 17:00 - 351

Dissemination of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* in different hospitals of Antananarivo, Madagascar

T.S. Andriamanantena, E. Ratsima, H.C. Rakotonirina, F. Randrianirina, J.F. Carod, V. Richard, A. Talarmin
Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo, Madagascar

The present study reports the dissemination of multidrug-resistant (MDR) OXA-23-producing Acinetobacter baumannii clones throughout hospitals in Antananarivo Madagascar.

A total of 53 imipenem-resistant A. baumannii isolates were obtained from September 2006 to March 2009 in five hospitals. These resistant strains represent 44% of all Acinetobacter isolates. The double disks synergy test was performed to screen for metallo-beta-lactamases production. Polymerase chain reaction (PCR) and DNA sequencing were performed for the detection of bla(AmpC), bla(OXA-69),bla(OXA-23), bla(OXA-51), bla (IMP), bla (VIM), bla (SIM) and the insertion sequence ISAba1. Isolates were typed by Rep-PCR.

All the isolates were MDR and produced the OXA-23 carbapenemase as confirmed by sequencing. PCR for AmpC, ISA*ba1* and OXA-69 were positive for all studied strains. No isolates produced the metallo-beta-lactamases. The A. baumannii isolates were separated into two genotypes, with the highest prevalence of genotype A (41 strains) followed by genotype B (12 strains). Genotype A was present in four hospitals, whilst genotype B had spread in two hospitals. The presence of MDR OXA-23-producing A. baumannii at such a high frequency in different hospitals in Antananarivo is curious since carbapénèmes are not available in Madagascar, but it emphasises the need to control the use of carbapenems in the future and to prevent the spread of these organisms in Madagascar.

141/35o — 3 décembre 2009 - 17:15 - 351

Circulation des CTX-M au sein de deux clones de *Escherichia coli* issus d'infections urinaires communautaires au Cambodge

E. Ruppé[2-3], P.L. Woerther[2-3], O. Clermont[4], H. Jacquier[4], M. Phillips-Houlbracq[2-3], F. Azzahra Mastari[2-3], D. Monchy[1], S. Hem[1], J.L. Sarthou[1], A. Andremont[2-3], E. Denamur[4]
[1]Institut Pasteur du Cambodge, Phnom Penh, Cambodge [2]Centre National de Référence associé « Résistance dans les flores commensales », Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP [3]EA3964 [4]INSERM U722, Université Paris 7, Site Bichat, Paris, France

Contexte : Les β-lactamases de type CTX-M sont aujourd'hui les β-lactamases à spectre élargi (BLSE) les plus fréquemment isolées, notamment chez les souches uropathogènes de *E. Coli*. Particulièrement, le variant CTX-M-15 a mondialement diffusé dans un clone virulent O25b-ST131.

Objectif : Étudier la circulation des plasmides codant pour différentes CTX-M au sein des deux clones uropathogènes majoritaires B2-O25b-ST131 et D_2-O102 diffusant au Cambodge entre 2004 et 2005.

Matériels et Méthodes : Lors d'une précédente étude, 93 souches de *E. Coli* (dont 34 produisaient une CTX-M) ont été isolées d'infections urinaires communautaires survenant à Phnom Penh entre janvier 2004 et décembre 2005. Le clone O25b-ST131 a été recherché par PCR spécifique, de même que le type O102 sur les souches de groupe phylogénétique D_2. Leur diversité a été appréciée par Rep-PCR. Les plasmides des clones BLSE O25b-ST131 (n = 8) et D_2-O102 (n = 8) ont été transconjugués ou électroporés, puis extraits et digérés pour comparaison. Leurs réplicons ont été caractérisés par PCR multiplex.

Résultats : Les souches B2-O25b-ST131 et D_2-O102 représentaient respectivement 36% (n = 33) et 12% (n = 11) des *E. Coli*. En Rep-PCR, un groupe clonal D_2-O102 de 10 souches dont 8 produisaient une CTX-M (27, n = 6 ; 15, n = 1) ou une CMY-2 a été identifié. Parmi les souches B2-O25b-ST-131, un polymorphisme des profils en Rep-PCR a été observé, avec un groupe de 9 souches dont 8 produisaient une CTX-M (14, n = 6 ; 27, n = 1 ; 15, n = 1). Les autres souches B2-O25b-ST-131 non-BLSE présentaient des profils proches. Les plasmides typables (n = 16) portaient tous un réplicon du groupe F sauf pour CMY-2 (I1/Igamma). La digestion des plasmides a montré des profils différents, sauf pour un plasmide CTX-27/TEM-1 retrouvé dans 2 souches des clones D_2-O102 et B2-O25b-ST131 et un plasmide CTX-M-14/TEM-1 retrouvé dans 2 souches B2-O25b-ST131.

Discussion : Les clones B2-O25b-ST131 et D_2-O102 ont largement diffusé dans la communauté à Phnom Penh et ont acquis diverses CTX-M. Celles-ci diffusent sur différents plasmides à majorité F ayant pour certains la capacité de diffuser au sein de ces deux groupes clonaux.

142/35o — 3 décembre 2009 - 17:30 - 351

Diversité des souches de *Klebsiella pneumoniae* exprimant le gène bla_{KPC-2}

G. Cuzon[4], T. Naas[4], H.V. Truong[4], M.V. Villegas[2], K. Tegmark-Wisell[6], A.C. Gales[1], J.P. Quinn[3], Y. Carmeli[5], P. Nordmann[4]
[1]Laboratorio ALERTA, Universidade Federal de Sao Paul, Sao Paulo, Brésil [2]CIDEIM, Cali, Colombie [3]Infectious Disease Research Institute, Stroger Hospital of Cook County, Chicago, Etats-Unis [4]Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU du Kremlin-Bicêtre, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France [5]Division of Epidemiology, Sourasky Medical Center, Tel Aviv, Israël [6]Antibiotikaresistens, Solna, Suède

Objectifs : Depuis le début des années 2000, les souches d'entérobactéries productrices de la carbapénèmase KPC (***K****lebsiella* ***P****neumoniae* **C**arbapenemase) ont rapidement disséminé dans de nombreuses régions du monde et plus particulièrement chez *K. pneumoniae*. L'objectif de l'étude a été de caractériser des souches de *K. pneumoniae* exprimant le gène bla_{KPC-2} d'origine géographique diverse.

Méthodes : Les souches ont été caractérisées par des méthodes standard (antibiogrammes en diffusion, E-Test). Les gènes de B-lactamases ainsi que les structures encadrant le gène bla_{KPC-2} ont été déterminées par PCR puis séquençage. Le support du gène bla_{KPC-2} a été étudié par extraction des plasmides naturels, Southern blot, transformations et conjugaisons. Le groupe d'incompatibilité des plasmides portant bla_{KPC-2} a également été déterminé. Les souches ont été comparées entre elles par PFGE et MLST.

Résultats : Les seize souches étudiées, isolées aux USA, en Colombie, au Brésil, en Israël, en Grèce et en Suède étaient multi-résistantes aux antibiotiques et possédaient le gène chromosomique bla_{SHV-1} (12,5%), ou bla_{SHV-11} (68,7%) ou $bla_{OKP-A/B}$ (18,8%), ainsi que plusieurs autres gènes de résistance acquis : bla_{TEM-1} (81,3%), bla_{CTM-2} (31,3%), bla_{CTM-12} (12,5%), bla_{CTM-15} (18,7%) et bla_{OXA-9} (37,5%). Le gène bla_{KPC-2} était toujours associé à l'une des isoformes décrites du transposon Tn*4401*, lui-même inséré dans des plasmides de taille différente et appartenant à des groupes d'incompatibilité différents. Le PFGE a révélé la présence de 9 pulsotypes concordants avec les résultats de la MLST qui a identifié huit profils alléliques distincts, avec une prédominance du type ST258.

Conclusion : Cette étude a permis de mettre en évidence la présence de plusieurs clones de *K. pneumoniae* KPC disséminant actuellement dans le monde. Ces clones différents par leur ST-type, les B-lactamases associées ainsi que par le nombre, la taille et la nature des plasmides portant le gène bla_{KPC-2}. Le gène bla_{KPC} était toujours associés à Tn*4401,* faisant de ce transposon l'un des vecteurs majeurs de sa transmission.

143/35o — 3 décembre 2009 - 17:45 - 351

Quadruplement du taux de portage fécal d'entérobactéries productrices de b-lactamases à spectre étendu au cours du séjour en centre de renutrition pédiatrique (Maradi, Niger)

P.L. Woerther[2], H.C. Hugede[2], A.C. Janssens[3], E. Ruppé[2], S. Sayadi[1], N. Derekeneire[1], A. Andremont[2]
[1]Epicentre-Paris [2]Service de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France [3]Epicentre-Maradi, Maradi, Niger

La prévalence des entérobactéries productrices de β-lactamases à spectre étendu (BLSE) ne cesse d'augmenter dans le monde. Dans les pays émergents, cette dissémination alarmante touche l'hôpital ainsi que la communauté. Nous avons évalué le rôle possible des centres de soins comme amplificateur de cette dissémination.

Pour cela, nous avons étudié les enfants entrant dans le centre de réhabilitation et d'éducation nutritionnelle intensive (CRENI) de la province de Maradi (Niger) géré par une Médecins Sans Frontières depuis 2001, et qui accueille des enfants souffrant de malnutrition aiguë sévère associée à une complication médicale. Presque tous les enfants de ce centre recevaient un traitement par ceftriaxone à l'admission.

Etaient éligibles les enfants de 6-59 mois en première admission en soins intensifs au CRENI entre novembre 2007 et juillet 2008, à l'exclusion de ceux référés d'une autre structure ou ayant pris des antibiotiques récemment. 20% (65) des 311 enfants inclus dans une étude sur les infections et la malnutrition étaient inclus et ont eu un prélèvement de selles : 28 à J0, 25 à J1et 12 à J7. Les prélèvements étaient conservés, transportés au laboratoire de l'hôpital Bichat (Paris) puis ensemencés sur milieux sélectifs ChromID™ ESBL. Les

souches isolées étaient identifiées et un antibiogramme réalisé. Les gènes *bla*$_{CTX-M}$, *bla*$_{TEM}$, *bla*$_{SHV}$ et *bla*$_{AmpC}$ étaient détectés par PCR chez les souches de phénotype BLSE. La clonalité des *E. coli* était appréciée par Rep-PCR.

Le taux de portage de BLSE était de 21.4% (6/28) à J0, 44.0% (11/25) à J1 et 83.3% (10/12) à J7. En tout, 50 souches étaient isolées (26 *E. coli*, 16 *K. pneumoniae* et 8 autres Entérobactéries). 18 profils Rep différents étaient observés chez les *E. coli* (maxi 4 souches/profil). Le taux d'acquisition de BLSE dans le centre, mesuré chez 16 enfants négatifs à l'entrée et reprélevés à leur sortie, s'élevait à 87.5%. Tous les enfants positifs portaient au moins une souche d'*E. coli*. Ces souches acquises (18) se répartissaient au sein de 14 clones (maxi 3 souches/profil).

Ces résultats pointent le rôle d'amplificateur pour le portage de BLSE des centres de soins, aggravant la dissémination des BLSE dans la communauté.

144/36o — 3 décembre 2009 - 16:30 - 352A

Évaluation qualitative et quantitative du microbiote intestinal des grands nouveau-nés prématurés : étude prospective

C. Guillet-Caruba[1-3], B. Richard[2], J.W. Decousser[1], M.J. Butel[3], P. Boileau[2], F. Doucet-Populaire[1-3]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène [2]Service de réanimation néonatale, Hôpital Antoine Béclère, AP-HP, Clamart [3]Bactériologie EA4065, Université Paris Descartes, Paris, France

Objectif : L'implantation du microbiote intestinal des très grand prématurés (TGP, <28 SA) et grands prématurés (GP, 28-32 SA) est peu décrite. Le but de notre étude était d'étudier la cinétique d'implantation du microbiote intestinal de nouveau-nés prématurés au cours de leurs 3 premiers mois de vie et d'évaluer l'impact des facteurs environnementaux : terme, poids de naissance, mode d'accouchement et de nutrition, antibiothérapie.

Patients et Méthode : À travers une étude longitudinale prospective de 6 mois, nous avons inclus des TGP et GP hospitalisés en Réanimation néonatale du CHU Antoine Béclère et réaliser une analyse qualitative et quantitative à périodicité hebdomadaire du microbiote intestinal aéro-anaérobie associée à un recueil de données cliniques.

Résultats : Dix TGP et 3 GP ont été inclus. Les 61 selles analysées ont montré que l'implantation du microbiote intestinal des TGP et GP est retardée et peu diversifiée par rapport à celle des nouveau-nés nés à terme, dominée dès la première semaine de vie par les Staphylocoques à coagulase négative (SCN) qui restent ensuite quantitativement majoritaires. A partir de la 4ème semaine de vie, les genres *Clostridium* et *Enterococcus* s'implantent à leur tour, suivis par les Entérobactéries à la 8ème semaine. Parmi les anaérobies isolées, aucune colonisation par *Bacteroides* ou *Bifidobacterium* n'a été identifiée. Au sein des Entérobactéries, l'espèce *E. cloacae* est la plus fréquente (56%), devant *E. coli*. Par ailleurs, la présence de *P. aeruginosa* ou de levures n'a jamais été retrouvée. Il ne semble pas y avoir d'impact des facteurs environnementaux sur l'implantation du microbiote intestinal.

Conclusion : Le microbiote intestinal des GP et TGP est moins diversifié que celui des nouveau-nés nés à terme. Les modifications induites par la prématurité et sa prise en charge sont profondes et durables. Les SCN prédominent quelque soit les facteurs environnementaux, y compris l'utilisation large et fréquente de vancomycine. Ce réservoir jouerait un rôle majeur dans la survenue d'infections associées aux soins et plus particulièrement les bactériémies à SCN. La prédominance d'*E. cloacae* reflète l'écologie du service. Ces résultats sont en cours de confirmation sur un plus grand nombre de prématurés.

145/36o — 3 décembre 2009 - 16:45 - 352A

Caractérisation des souches de staphylocoques à coagulase négative isolées du microbiote intestinal de grands prématurés

C. Guillet-Caruba[1-4], B. Richard[2], G. Manat[1], A. Ferroni[3], N. Bourgeois-Nicolaos[1-4], J.W. Decousser[1], P. Boileau[2], F. Doucet-Populaire[1-4]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béclère AP-HP [2]Service de réanimation néonatale, Hôpital Antoine Béclère, AP-HP, Clamart [3]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Necker Enfants Malades, AP-HP [4]EA4065, Université Paris Descartes, Paris, France

Objectif : Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont les bactéries les plus souvent incriminées dans les bactériémies nosocomiales des nouveau-nés grands prématurés (NNGP, < 32 SA). Le réservoir principal de ces souches est le microbiote intestinal. Notre étude avait pour objectif de caractériser cette population en terme de résistance aux antibiotiques et de virulence.

Matériel et Méthode : 95 souches de SCN isolées de selles de 13 NNGP hospitalisés en Réanimation néonatale du CHU Antoine Béclère ont été caractérisées (identification par méthode biochimique et par spectrophotométrie de masse - antibiogramme et détermination des CMI - recherche par PCR multiplex du gène *icaADB*, impliqué dans l'adhésion, et de la séquence d'insertion IS*256*, impliquée dans la plasticité génomique). Un groupe témoin constitué de 20 SCN isolés de porteurs sains non hospitalisés a été étudié en parallèle.

Résultats : Parmi les 95 souches de SCN, les principales espèces rencontrées sont *S. epidermidis* (62%) et *S. haemolyticus* (20%), puis *S. warneri*, *S. lugdunensis*, *S. chromogenes*, *S. capitis.* La prévalence globale de la résistance à l'oxacilline est de 70%. Les CMI90 de la vancomycine, de la teicoplanine et du linézolide sont respectivement de 2, 16 et 2 mg/L. La résistance à la gentamicine est retrouvée chez 61% des isolats de *S. epidermidis* et 68% de *S. haemolyticus*. La séquence d'insertion IS*256* a été détectée chez 68% des *S. epidermidis* et 95% des *S. haemolyticus*. L'opéron *icaADB* n'a été retrouvé que chez *S. epidermidis* (22%). Ces 2 FV n'ont pas été détectés chez les souches témoins (12 *S. epidermidis*, 4 *S. haemolyticus* et 4 autres SCN).

Discussion : Les souches de SCN constituant le microbiote intestinal des grands prématurés (i) sont essentiellement des *S. epidermidis* et *S. haemolyticus* (ii) sont majoritairement multirésistantes (iii) hébergent très fréquemment IS*256*. Outre le fait qu'IS*256* semble favoriser une résistance aux aminosides, la forte proportion de *S. epidermidis* et de *S. haemolyticus* hébergeant IS*256* démontrerait une grande capacité de ces souches à résister et à perdurer dans le service de réanimation néonatale.

146/36o — 3 décembre 2009 - 17:00 - 352A

Surveillance des bactériémies liées aux cathéters dans un service de réanimation néonatale

S. Ducki[3], F. Cneude[2], C. Marey[2], T. Debillon[2], M.R. Mallaret[3], J. Croizé[1]
[1]Service de Microbiologie [2]Service de Néonatalogie [3]Unité d'Hygiène Hospitalière, CHU de Grenoble, Grenoble, France

Objets : Évaluer l'épidémiologie des bactériémies liées au cathéter (BLC) en néonatalogie et étudier l'influence des pratiques sur la survenue de ces infections.

Méthode : Inclusion de tous les cathéters centraux entre mai 2008 et août 2009 : ombilicaux (KTVO), épicutanéocaves (prémacath), artériel (KTAO) et autres cathéters centraux.

Facteurs de risque étudiés : pratiques concernant la pose (nombre de tentatives, désinfection cutanée), gestion du cathéter (réfection pansement), durée cathétérisme.

Résultats : 323 nouveaux né ont été inclus représentant 556 cathéters : 273 prémacaths (49%), 249 KTVO (45%), 6 KTAO 1(%) et 28 autres (5%). La moyenne d'âge gestationnel était de 32 (médiane= 31 SA). La moyenne d'âge des infectés était de 28.6 SA.

La désinfection était réalisée dans 84% à la chlorhexidine alcoolique (>28 SA) et 16% des cas avec Biseptine (<28 SA). Le taux d'infection était de 7% chez les enfants <28SA et 21.8% pour les enfants <28SA.

Lors de la pose de prémacaths, le nombre de tentatives était de 1 à 5 tentatives : l'étude n'a pas montré de risque supplémentaire en cas de tentative multiple.

Le pansement a été refait dans 24% des cas : repositionnement cathéter (53%), décollement du pansement (23%), 24% autres motifs (fuites, souillure, compression…). La réfection ne représentait pas un facteur de risque d'infection.

La durée moyenne du cathétérisme était de 14.1 jours (médiane =12j) pour les prémacaths, et de 3.9 jours en moyenne (médiane = 4 jours) pour les KTVO.

Sur la période étudiée, 44 BLC sur prémacath, 3 sur KTVO et 4 sur autres cathéters ont été identifiées. Le délai de survenue de l'infection était en moyenne de 13 jours (médiane=11j).

L'incidence des BLC était de 9.2% et la densité d'incidence de 9.7/1000 jours de cathétérisation. Pour les prémacaths ; incidence de 16.1% et densité d'incidence de 11.4 infections /1000 jours.

Les micro-organismes isolés : 28 S.epidermidis, 3 S.warneri, 2 S.capitis, 2 S.haemolyticus, 1 S.hominis, 5 Staph. à coagulase négative, 3 S.aureus, et 6 Bacillus.

Conclusion : Le risque infectieux est surtout associé aux cathéters épicutanéocaves, où notre incidence est proche d'autres données de surveillance (incidence de 8 à 12% et densité de 6 à 10 pour 1000 jours de CVC).

147/36o — 3 décembre 2009 - 17:15 - 352A

Endémo-épidémie à *Staphylococcus capitis* résistants à la méticilline dans les services de néonatologie en France

O. Raulin[2-1], D. Fournier[2], M. Bonfils[3], M. Bes[1], H. Meugnier[1], H. Salord[2], C. Roure Sobas[2], J. Grando[4], J.C. Picaud[3], F. Vandenesch[1], S. Tigaud[2], F. Laurent[2-1]
[1]Centre National de référence des Staphylocoques [2]Laboratoire de bactériologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon [3]Service de Néonatologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon [4]Unité d'Hygiène Hospitalière, Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Les staphylocoques à coagulase négative (ScoN) sont fréquemment responsables d'infections nosocomiales et en particulier de bactériémies chez les enfants hospitalisés en néonatologie. *Staphylococcus capitis* n'est pas classiquement décrit comme l'espèce prédominante dans de telles infections. Or de janvier 2004 à juin 2009, dans le service de néonatologie du Groupement Hospitalier Nord (GHN lyon), 136 nouveau-nés ont présenté une bactériémie à *S. capitis*. La prévalence de cette espèce au sein des hémocultures positives à atteint 43% (54% des ScoN). Dans 99% des cas, la souche était multirésistante présentant à la fois une résistance à la méticilline et à la gentamicine. Par électrophorèse en champ pulsé (ECP), nous avons comparé 17 de ces souches de *S. capitis* résistants à la méticilline (SCRM)

avec : i) 22 SCRM isolées d'hémocultures de nouveau-nés dans d'autres hôpitaux français (Lyon, n=7; Limoges, n=7; Saint Etienne, n=3; Caen, n=2; Troyes, n=2; Nantes, n=1) et ii) 8 SCRM et 6 SCSM isolés chez des patients adultes. Les profils ECP obtenus pour les souches adultes étaient tous différents entre eux alors que ceux des souches provenant des services de néonatologie de Lyon et de l'ensemble des autres hôpitaux français présentaient une homologie supérieure à 80%. Pour compléter cette observation, la cassette SCC*mec* de 15 SCMR a été analysée: les 7 souches isolées d'hémocultures de nouveau-nés provenant de différents hôpitaux français possédaient toutes une cassette SCC*mec* de type V alors que les 8 souches isolées d'adultes, non reliées épidémiologiquement aux précédentes, possédaient des cassettes toutes différentes.

Ces résultats semblent indiquer la présence d'un clone unique endémo-épidémique diffusant dans le service de néonatologie du GHN Lyon mais circulant aussi plus largement dans les services de néonatologie français. Des études complémentaires sont en cours afin de comprendre les raisons et les mécanismes de la diffusion d'un tel clone.

148/36o — 3 décembre 2009 - 17:30 - 352A

Staphylocoques à coagulase négative responsables de bactériémie sur cathéter central chez les grands prématurés : identification, sensibilité aux antibiotiques et prévalence des facteurs de virulence

J.W. Decousser[1], F. Hassen[2], C. Ménard[1-3], C. Guillet-Caruba[1-3], P. Boileau[2], F. Doucet-Populaire[1-3]
[1]Bactériologie-Hygiène [2]Réanimation néonatale, CHU Antoine Béclère, AP-HP, Clamart [3]EA4065, Université Paris Descartes, Paris, France

Contexte : les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont responsables de la majorité des bactériémies nosocomiales associées aux cathéters veineux centraux chez les nouveau-nés grands prématurés.

Objectif : décrire cette population bactérienne en terme de distribution d'espèces et de résistance aux antibiotiques et rechercher la présence de facteurs de virulence (FV) impliqués dans l'adhésion (*icaADB*) et la plasticité génomique (IS*256*).

Population étudiée : 23 souches non redondantes de SCN isolées de bactériémies cliniques liées aux cathéters centraux chez des très grands prématurés hospitalisés en réanimation néonatale. L'absence de relation clonale entre les différentes souches a été vérifiée par analyse en champ pulsé. Un groupe témoin de 20 SCN isolés de porteurs sains non hospitalisés à été étudié en parallèle.

Méthode : Identification biochimique – antibiotype, détermination des CMIs; recherche des FV par PCR.

Résultats : les principales espèces rencontrées sont *S. epidermidis* (12/23), *S. capitis* (6/23), *S. haemolyticus* (4/23) et *S. hominis* (1/23). La prévalence globale de la résistance est de 96 % pour l'oxacilline et 83% pour la gentamicine. Les CMI_{90} sont de 3 mg/L pour la vancomycine, 8 mg/L pour la teicoplanine, 1 mg/L pour le linézolide et 2 mg/L pour la daptomycine. IS*256* a été retrouvée chez 87 % des SCN (10/12 *S. epidermidis*, 6/6 *S. capitis* et 4/4 *S. haemolyticus*). Concernant *icaADB*, son absence chez *S. haemolyticus* a été confirmée alors que cet opéron est retrouvé chez 4/12 des *S. epidermidis* et 1/6 des *S. capitis*. Ces 2 FV n'ont pas été retrouvés chez les souches témoins (12 *S. epidermidis*, 4 *S. haemolyticus* et 4 autres SCN).

Discussion/conclusion : les souches de SCN responsables de bactériémies liées aux cathéters centraux chez les des grands prématurés (i) sont peu diversifiées en terme d'espèces (ii) sont majoritairement multirésistantes (iii) présentent une sensibilité diminuée à la vancomycine (iv) hébergent très fréquemment IS*256.* La présence de cette IS reflèterait la capacité adaptative de certaines souches aux pressions de sélection. Le rôle potentiel des souches porteuses d'*icaADB* dans la formation de biofilm associées aux cathéters centraux gagnerait à être étudié dans cette population.

149/36o — 3 décembre 2009 - 17:45 - 352A

A propos de deux cas de botulisme infantile de type A diagnostiqués au CHU de Grenoble

I. Pelloux[1], I. Wroblewski[2], G. Emeriaud[2], I. Reynaud-Davin[2], C. Perot[2], A. Gayot[2], B. Gestin[1], M. Maurin[1], C. Recule[1], M.R. Popoff[3], J.P.P. Carlier[3], J. Croizé[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Réanimation Pédiatrique, CHU de Grenoble, Grenoble [3]CNR Anaérobies et Botulisme, Institut Pasteur, Paris, France

Introduction : Si le botulisme est rare en France (BEH 17 juillet 2007, incidence annuelle 0,51/million d'habitants), avec un type A peu fréquent (3 cas / 90 en trois ans), le botulisme infantile est exceptionnel (trois premiers cas français répertoriés sur 2003/2006) Nous relatons deux cas de botulisme A infantile, à évolution favorable, survenus dans la région grenobloise en 2006 et 2009

Cas biocliniques : Deux nouveau-nés, nourris au sein, respectivement de 2 mois et 1 mois et demi, ont présenté un tableau d'hypotonie sévère, apyrétique avec des examens initiaux biologiques et radiologiques normaux. Une mydriase, des troubles digestifs et l'hypotonie généralisée ont fait évoquer un tableau de botulisme infantile après 24 h d'hospitalisation. Le diagnostic chez le premier enfant (octobre 2006) a été posé par le CNR du botulisme humain à la fois dans le sérum : toxine botulique (TB) (non typée par insuffisance de prélèvement) et dans les selles : TB A (extraction directe et après enrichissement) et isolement de la bactérie. Le diagnostic chez le second enfant (mai 2009) présentant un tableau plus sévère (intubation et près de trois mois de réanimation) a été posé sur le sérum (TB A), et dans les selles (TB A (1000 DL par g de selles) et culture positive de *Clostridium botulinum*. L'enquête épidémiologique nous a amené à analyser le miel dans l'environnement familial. Pour les deux cas les recherches de toxine et de bactérie sont demeurées négatives.

Conclusion : Les enseignements retirés de ces deux cas sont multiples. (1) Clinique : nécessité d'évoquer le diagnostic devant des troubles digestifs et neurologiques « inexpliqués »; en cas de diagnostic positif, envisager une réanimation et une hospitalisation longue mais avec une évolution souvent favorable. (2) Biologique : envoyer rapidement sérum et selles au CNR pour poser un diagnostic précoce pouvant permettre une sérothérapie. (3) Epidémiologique : l'analyse du miel est nécessaire au vu de la littérature (un tiers des cas). (4) Prévention : rappeler, malgré la négativité des deux analyses du miel, le risque potentiel chez des nourrissons avant 6 mois de l'ingestion de miel.

150/38o — 3 décembre 2009 - 16:30 - 353

Efficacité et tolérance de la bithérapie oseltamivir-zanamivir par rapport aux monothérapies oseltamivir ou zanamivir dans le traitement de la grippe saisonnière : essai randomisé en double aveugle

T. Blanchon[6], M. Bouscambert-Duchamp[2], C. Charlois-Ou[9], A. Mosnier[10], V. Enouf[8], A. Tibi[3], F. Tubach[13], Q. Dornic[4], B. Lina[1], X. Duval[5], S. van der Werf[7], F. Mentré[12], C. Leport[11]
[1]CBPE, CNR du virus influenzae, Laboratoire de Virologie, CBPE [2]National Influenza Centre (South of France), GHE, Hospices Civils de Lyon, Bron [3]AGEPS, Pharmacie Centrale des Hôpitaux, Assistance Publique Hôpitaux de Paris [4]UF de Biostatistiques, APHP, Hôpital Bichat, INSERM U738 [5]CIC Hôpital Bichat [6]INSERM UPMC UMR S 707, Faculté de médecine Pierre et Marie Curie [7]CNR du virus influenzae, Institut Pasteur [8]Unité de Génétique Moléculaire des Virus à ARN, Institut Pasteur, Centre National de Référence des virus influenzae (Région-Nord) [9]LRPI, UFR de Médecine, Site Bichat [10]Réseau des Grog [11]Laboratoire de Recherche en pathologie infectieuse [12]UMR738 - INSERM, Université Paris Diderot [13]URC Paris Nord, Département d'Epidémiologie, de Biostatistique et de Recherche Clinique CHU Bichat-Claude Bernard, Paris, France

Objet de l'étude : Dans la situation actuelle d'urgence internationale de santé publique consécutive à la pandémie A/H1N1 2009, évaluer l'efficacité et la tolérance de la combinaison oseltamivir-zanamivir a semblé nécessaire. Nous avons comparé, chez des adultes présentant une grippe A diagnostiquée par test diagnostic rapide (TDR) la réponse virologique (Jour 2) et clinique de la bithérapie oseltamivir-zanamivir par rapport aux monothérapies d'oseltamivir plus placebo et de zanamivir plus placebo.

Méthodes : Une étude randomisée, contrôlée contre placebo, en double insu, conduite durant l'épidémie de grippe saisonnière 2009. Les adultes présentant un syndrome pseudo-grippal de moins de 36 heures et un TDRpositif pour la grippe A ont été randomisés pour recevoir 75 mg 2 fois /jour d'oseltamivir par voie orale plus zanamivir 10 mg par inhalation 2 fois /jour (OZ), ou oseltamivir plus placebo inhalé (O) ou zanamivir plus placebo par voie orale (Z). Le succès virologique a été défini par une charge virale nasale (RT- PCR) à J2 inférieure à 200 copies équivalent génome (cgeq) / ml. La réponse clinique a été évaluée par la durée des symptômes.L'essai a été suspendu et une analyse réalisée en mai 2009, devant l'apparition de la pandémie A/H1N1 2009.

Résultats : Les 541 patients inclus (OZ, n = 173; O, n = 192; Z, n = 176), avaient une durée moyenne des symptômes avant inclusion de 25 heures, 63% avait une infection à H3N2. Dans l'analyse en ITT, chez les 447 patients ayant une grippe A virologiquement confirmée par RT-PCR, la réponse virologique était de 46%, 59% et 34% respectivement pour les bras OZ, O et Z (p = 0.025, p = 0.028 pour les comparaisons OZ / O et OZ / Z). La diminution moyenne de charge virale entre le jour 0 et jour 2 était de 2.14, 2.49 et 1.68 log10 cgeq / ml (p = 0.060, p = 0.016 pour OZ / O et OZ / Z). Les délais médians de disparition des symptômes étaient respectivement de 4.0, 3.0 et 4.0 jours (p = 0.030, p = 0.77 pour OZ/O et OZ / Z). L'association a été bien tolérée.

Conclusion : Chez les adultes atteints de grippe A l'association oseltamivir-zanamivir semblerait moins efficace qu'une monothérapie d'oseltamivir,. Ces résultats devraient contribuer à la prise de décisions sur la gestion des antiviraux de la pandémie de grippe en cours.

151/38o — 3 décembre 2009 - 16:45 - 353

Impact des recommandations sur la prise en charge de la grippe A/H1N1 chez l'adulte : expérience du CHU Ambroise Paré

A. Blaise Stevens[3], S. Oozer[6], C. Guyot[6], A. Abgessi[6], M. Leruez[8], M. Ben M'rad[7], D. Cobarzan[4], J. Leporrier[3], F. Espinasse[2], B. Page[5], P. Aegerter[1], C. Dupont[3], E. Rouveix[3]
[1]Service de Santé Publique et d'Information Médicale, Boulogne Billancourt [2]Equipe Opérationnelle d'Hygiène [3]Médecine Interne 2 [4]Pneumologie [5]Réanimation [6]Service d'Accueil des Urgences, Boulogne-Billancourt [7]Médecine Interne 3, CHU Ambroise Paré [8]Virologie, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France

Introduction : Au printemps-été 2009, le virus A/H1N1 responsable d'une épidémie mondiale de grippe circulait en France de façon limitée. Notre étude avait pour objectifs l'analyse descriptive des patients consultants pour suspicion de grippe au CHU Ambroise Paré (AP-HP) et la vérification de

l'adéquation diagnostique et thérapeutique avec les recommandations nationales relayées localement par la cellule «grippe».

Matériels et méthodes : Étude descriptive rétrospective des patients adultes s'adressant à la consultation hospitalière dédiée «grippe» entre le 23/06/09 et le 14/08/09, 24h/24 grâce à une collaboration urgentistes/médecins spécialisés.

Résultats : 71 patients dont 7 soignants ont consulté, 64 pour suspicion de grippe, et 7 pour contact: 39 femmes, 32 hommes, âge médian 33 ans. Le nombre de consultations « grippe » a significativement diminué après le 23/07 (0,8/jour vs 1,8/j avant le 23/07), date de prise en charge de la pathologie par les médecins généralistes (p<0.01). 52 patients avaient de la fièvre (73%), 33 des signes respiratoires (46%), symptômes dont la durée médiane d'évolution étaient de 48h. Seuls 21/71(30%) avaient de la fièvre associée à des symptômes respiratoires (définition InVS). Un seul patient présentait des signes de gravité. Les 24 prélèvements nasopharyngés (PNP) réalisés ont confirmé 5 grippes à virus A dont 4 à virus A/H1N1. Au total, 24/71(34%) ont été traités par Tamiflu, 4 hospitalisés, et 22 (30%) ont eu un arrêt de travail (moyenne 4j). L'adéquation aux recommandations était médiocre: 66% des PNP réalisés à tort et moins de 50% des traitements justifiés. Toutefois, après le 23/07, et malgré les faibles effectifs, elles semblent être mieux appliquées.

Conclusion : Le faible nombre de consultants, en diminution après le 23/07, et la relative bénignité des cas, interroge sur la justification de la mise en place d'une consultation dédiée en début de période estivale dans l'ouest parisien. L'évolution rapide des recommandations entre le 23/06 et le 23/07 n'a pas permis d'obtenir l'adéquation diagnostique et thérapeutique souhaitable et a généré des coûts et/ou des prescriptions peu justifiés. Cela correspond possiblement au temps nécessaire à la formation des équipes à la prise en charge de cette pathologie, fortement médiatisée.

152/38o — 3 décembre 2009 - 17:00 - 353

Évolution des propriétés enzymatiques de la neuraminidase des virus influenza A (H1N1) : la clef de l'émergence des virus H1N1 résistants à l'oseltamivir ?

J.S. Casalegno[1-2], O. Ferraris[2], M. Sabatier[2], M. Valette[1], B. Lina[1], V. Escuret[1-2]
[1]Laboratoire de Virologie, Centre de Biologie Est, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron [2]Virologie et Pathologie Humaine, CNRS FRE 3011, Université Lyon 1, Lyon, France

Introduction : L'émergence massive de virus influenza A H1N1 résistants à l'oseltamivir au cours de la saison 2007/2008 a surpris l'ensemble de la communauté scientifique. Malgré de nombreuses études les mécanismes sous-jacents à la diffusion de cette résistance restent encore hypothétiques. La résistance est associée à la mutation H274Y sur la neuraminidase connue de longue date pour conférer une résistance à l'oseltamivir et altérer le fitness du virus en perturbant l'activité enzymatique de la neuraminidase. De manière concomitante à cette résistance une nouveau variant a émergé : la souche H1N1 A/Brisbane/59/2007. Le but de cette étude était de caractériser les propriétés de cette neuraminidase et de les comparer aux souches de références H1N1 de 1977 à 2009.

Matériels et Méthodes : La séquence de la neuraminidase et les constantes enzymatiques (constante d'affinité et vitesse maximale) des souches de références H1N1 de 1977 à 2007 et des isolats H1N1 circulants en 2005/2006, 2007/2008 et 2008/2009 ont été déterminés et comparés.

Résultats : De 1977 à 2007 l'affinité de la neuraminidase des virus H1N1 pour son substrat est restée stable dans les différents lignages (Km moyen 44,9 ± 5,0µM). Par comparaison la neuraminidase des souches sensibles A/Brisbane/59/2007 se caractérise par une affinité significativement plus élevé (Km moyen 22,6±4,7µM). La neuraminidase des souches A/Brisbane/59/2007 résistantes pour l'oseltamivir, présente du fait de la mutation H274Y, une affinité plus faible que les souches sensibles (Km moyen 38,9±9,2µM). Aucune autre mutation que H274Y n'a été associée sur la neuraminidase ou l'hémagglutinine au phénotype de résistance à l'oseltamivir.

Conclusions : La neuraminidase de la souche A/Brisbane/59/2007(H1N1) présente une affinité plus élevée pour son substrat par rapport aux virus H1N1 antérieurs. La mutation H27Y conférant la résistance à l'oseltamivir, diminue cette affinité et permet à la neuraminidase de ces virus résistants de retrouver une affinité « idéale ». Cette hypothèse permettrait d'expliquer pourquoi les virus H1N1 apparentés à A/Brisbane/59/2007 résistants à l'oseltamivir ont en l'absence de pression de sélection réussis à mieux diffuser et remplacer les souches sensibles à l'oseltamivir.

153/38o — 3 décembre 2009 - 17:15 - 353

Évaluation d'un nouveau test permettant la détection simultanée de 17 virus respiratoires par PCR-ADN *microarray* chez des nourrissons hospitalisés pour bronchiolite aiguë

F. Renois[4-2], A. Huguenin[4-2], L. Moutte[4-2], M. Abely[3], K. Bessaci[3], T. Nenninger[4-2], N. Lévêque[4-2], F. Carrat[1], L. Andréoletti[4-2]
[1]Service de Santé publique, Hôpital Saint-Antoine, AP/HP, Université Pierre et Marie Curie ; INSERM U707, Paris [2]Laboratoire de Virologie Médicale et Moléculaire [3]Service Pédiatrique, Centre Hospitalier Universitaire [4]EA 4303/IFR53, Faculté de Médecine de Reims, Reims, France

Contexte : La détection rapide d'une infection virale chez les nourrissons hospitalisés pour bronchiolite est nécessaire afin d'organiser l'isolement des enfants hospitalisés et d'orienter la prise en charge thérapeutique. Actuellement les techniques de culture cellulaire et d'immunofluorescence autorisent la détection de 6 ou 7 virus respiratoires. Une nouvelle trousse utilisant la technologie de PCR-ADN microarray permettant de détecter simultanément 17 virus respiratoires pathogènes à ARN ou à ADN, a été évaluée en testant des échantillons cliniques de nourrissons hospitalisés pour bronchiolite.

Méthodes : Entre Octobre 2007 et Décembre 2008, nous avons rétrospectivement sélectionné 138 nourrissons (âgés de 0 à 12 mois) admis au service pédiatrique (CHU de Reims, France) pour une bronchiolite aiguë. Les aspirations naso-pharyngées ont été testés par les techniques virologiques classiques et par PCR-ADN microarray (Clart Pneumovir Version 3.0, Genomica, Madrid, Espagne).

Résultats : La fréquence de détection des virus respiratoires était significativement plus élevée en utilisant le test PCR-ADN microarray par rapport aux techniques virologiques classiques (89% vs 70%, $p<10^{-3}$). Le test PCR-ADN microarray a détecté 84 (68%) co-infections virales dont les plus fréquentes étaient; VRS-Bocavirus (32%) VRS-Adenovirus (18%) et Bocavirus-Adenovirus (13%). Aucune association virale n'est apparue comme significativement associée à la sévérité de la maladie, à la récidive de bronchiolite aiguë ou la survenue d'un asthme dans les 6 mois après la date de l'inclusion. De plus, 85% des enfants infectés par le VRS A/B n'ont pas présenté de récidive, et une association négative entre l'infection a VRS A/B et la survenue de nouveaux épisodes de bronchiolite a été mise en évidence (p=0.036). Seule la présence d'une atopie personnelle a été significativement associée à la récidive de bronchiolite (p=0.005) et à la survenue d'un asthme infantile (p=0.02).

Conclusion : L'utilisation de ce nouveau test de PCR-ADN microarray permet une détection rapide des virus respiratoires classiques et nouvellement découverts chez des nourrissons hospitalisés pour une bronchiolite aiguë. La technologie de PCR-ADN microarray présente un intérêt majeur pour le développement des futures stratégies thérapeutiques et préventives contre les causes virales de la bronchiolite infantile.

154/38o — 3 décembre 2009 - 17:30 - 353

Évaluation des puces à ADN Clart® Pneumovir pour la détection de virus respiratoires en réanimation pédiatrique

V. Escuret[1-3], E. Frobert[1-3], E. Javouhey[2], M. Bouscambert-Duchamp[1-3], C. Moulinier[1], 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]Service de Pédiatrie, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon [3]Virologie et Pathologie Humaine, CNRS FRE 3011, Université Lyon 1, Lyon, France

Objet de l'étude : Nous avons utilisé le test Clart® Pneumovir (Genomica, R-Biopharm, France) chez des enfants hospitalisés en réanimation présentant des infections respiratoires. Ce test permet la détection simultanée de 11 virus respiratoires (17 types et sous-types) : influenza virus A, B, C, parainfluenza virus (1, 2, 3, 4a, 4b), respiratory syncytial virus (RSV) (A et B), rhinovirus, adénovirus, entérovirus, bocavirus, coronavirus, métapneumovirus (A et B).

Méthodes : Ce test est basé sur l'amplification par deux RT-PCR multiplex de fragments des génomes viraux puis la visualisation des fragments amplifiés après hybridation et précipitation des produits de PCR sur des micro puces portant des sondes ADN spécifiques des fragments amplifiés. Ce test a été comparé à nos techniques habituelles de diagnostic qui associent une RT-PCR multiplex en temps réel détectant influenza virus A, B et RSV (ProFlu-1® Real Time Assay de Prodesse, Argène, France) associé à une RT-PCR maison en temps réel détectant les rhinovirus. Tous les prélèvements ont été inoculés en culture cellulaire (lignées LLCMK2, MDCK, Hep-2, Vero et cellules MRC5).

Résultats : Entre décembre 2008 et mars 2009, 77 échantillons ont été testés. Avec le test Clart® Pneumovir, un virus ou plusieurs virus ont été détectés pour 61 échantillons (79% de positivité) : 45 RSV, 14 rhinovirus, 8 bocavirus, 6 adénovirus, 2 influenza virus A, 1 influenza virus B, 2 parainfluenza virus, 2 métapneumovirus, 1 entérovirus. En considérant les virus détectés par les deux stratégies (RSV, rhinovirus, influenza virus A et B) 38 virus ont été détectés par les RT-PCR en temps réel et 62 virus ont été détectés par Clart® Pneumovir. La sensibilité globale des deux RT-PCR en temps réel (Proflu-1® et rhinovirus maison) était de 59% contre 98% pour Clart® Pneumovir.

En conclusion : Le test Clart® Pneumovir a une plus grande sensibilité que l'association des RT-PCR en temps réel Proflu-1 et rhinovirus maison et permet une détection plus large des virus respiratoires. Cependant, les RT-PCR en temps réel sont plus rapides et plus simples à utiliser en routine. Le test Clart® Pneumovir est utile dans les cas d'infections respiratoires graves pour lesquels aucun virus n'a été détecté par d'autres techniques.

155/38o — 3 décembre 2009 - 17:45 - 353

Niveau de couverture vaccinale des soignants de l'hôpital Necker en 2008

M. Burgard[4], E. Lancien-Mainot[3-2-1], X. Nassif[3-2-1], J.R. Zahar[3-2-1]
[1]CLIN [2]Equipe Opérationnelle d'Hygiène [3]Laboratoire de Bactériologie [4]Laboratoire de Virologie, Hôpital Necker, Paris, France

Objet : Définir la prévalence des vaccinations (Vac) contre les infections à risque nosocomial chez les soignants (S) et les facteurs les favorisant afin d'améliorer le niveau de couverture.

Méthodes : Distribution d'un auto-questionnaire aux S en contact avec les patients. Tests non paramétriques.

Résultats : 352 réponses ont été reçues, de 226 S. paramédicaux (Para) et 88 médecins (Med). Le statut vaccinal n'était pas renseigné par 3% des S. pour la

Vac hépatite B (HepB), 17% la Vac varicelle (Varic), 8% la Vac Grippe et 42% le rappel <10 ans de Vac coqueluche (Coq). 29% des S. ne connaissaient pas le résultat de l'IDR à la tuberculine.

3% des S n'ont pas été vaccinés contre l'HépB. Le motif était : absence de proposition (45%), peur des complications (45%), activité non à risque (9%).

Parmi les 19% de S sans antécédent (atcd) connu de Varic, 41% ont été vaccinés. 35% des S ont été vaccinés contre la grippe depuis moins d'1 an. 36% des S de nourrissons et 20% des S d'adultes immuno-déprimés sont immunisés contre la Coq (rappel vaccinal ou atcd <10 ans).

Les vaccinations HépB, Varic et Coq (S de patients à risque) ne sont pas liées à l'age, à la profession (Med/Para), au type de service (médecine ou chirurgie, adultes ou enfants, immuno-déprimés ou non), au délai depuis la cs en médecine du travail.

La Vac grippe < 1 an est liée au service (47% en médecine vs 22% en chirurgie, p<0.0001), à la profession (53% des Med vs. 29% des Para, p=0.0002) et à l'age des Para. (40% si > à la médiane : 36 ans vs. 20%, si <, p=0..002).

La motivation des S pour la Vac grippe ou Coq n'inclut pas la protection des patients chez 11% des Para et 0% des Med (p=0.02).

Au total, dans cet échantillon non aléatoire, un statut vaccinal conforme aux recommandations est décrit par 14 et 24% des S en fonction de la nécessité ou non d'immunisation Coq. Il s'agit de 22% des S en médecine et 9% en chirurgie (p=0.03).

Conclusion : Cette étude souligne la nécessité d'améliorer l'accès aux Vac, et la responsabilisation des S. par l'information sur la gravité potentielle de ces infections et sur les recommandations vaccinales. Pour la Vac grippe, l'information doit être ciblée sur la chirurgie et les Para jeunes, les moins vaccinés et très à risque d'avoir à domicile un enfant infecté.

170/43o — 4 décembre 2009 - 09:15 - 342B

Précautions aériennes au cours des tuberculoses (Tb) pulmonaires bacillifères (ED+). Bilan de 7 années de surveillance dans un hôpital universitaire

S. Diamantis, R. Ruimy, C. Deblangy, S. Belorgey, I. Lolom, E. Bouvet, J.C. Lucet
GH Bichat-Cl. Bernard, Paris, France

Introduction : Malgré les scores d'aide à l'isolement précoce des patients atteints de tuberculose (Tb) ED+ (présence de BAAR à l'examen direct d'un prélèvement respiratoire), des retards sont encore observés.

Objectif : Etablir les facteurs associés à un retard à l'isolement des Tb ED+ dans un hôpital universitaire situé dans un bassin de population à prévalence élevé de tuberculose.

Méthodes : Les résultats des ED+ sont téléphonés par laboratoire de bactériologie en temps réel au service clinique. Le respect des mesures d'isolement est ensuite audité à J5-J6 de la date du prélèvement (délai de mise en œuvre et audit des mesures mises en place). L'étude rétrospective des dossiers médicaux sur 7 ans (2002-2008) a permis compléter le recueil de données, et d'établir les facteurs clinico-radiologiques, socio-démographiques et organisationnels associées à un retard à l'isolement (délai > 0j.) des patients ED+.

Résultats : Sur 866 épisodes de Tb documentée concernant 852 patients, 341 (39%) étaient ED+ (dont 1 ORL), et 329 sont évaluables. Les mesures d'isolement sont respectées dans l'immense majorité des cas. Pour 64 cas (19%), un retard a été observé (délai = 1 j. chez 27/64), en diminution dans le temps : 22 et 25% en 2002 et 2003, 7 et 12% en 2007 et 2008. En analyse univariée, les variables associées à un retard étaient : âge >65 ans (RR= 2,3 ; p= 0,005), toxicomanie i.v. (2,57, 0,01), pathologie chronique lourde (2,43, 0,0005), séropositivité VIH avec CD4<100 (2,0, 0,02), absence de sueurs nocturnes (2.56, <0.0001), de toux (3.34, <0,0001), d'anomalie radiologique caractéristique (2.50, <0.0001), le caractère disséminé de l'atteinte tuberculeuse (2.76, <0.0001), l'hospitalisation par le SAU sans diagnostic évoqué (3,49 ; p<0.0001) et l'admission directe dans un service pour un motif autre qu'une suspicion de Tb (4.2 ; 0.005). L'analyse des facteurs indépendants est en cours.

Conclusions : La réalisation d'un audit systématique des mesures d'isolement des patients ED+ a contribué à la baisse du nombre de retards à leur mise en œuvre. Les facteurs favorisant le retard à l'isolement sont les atypies clinico-radiologiques et les modes d'entrée dans l'hôpital.

(n, %)	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	Total
Retard	14 (22)	15 (25)	7 (17)	13 (22)	8 (15)	2 (7)	5 (12)	64
Sans Rtd	48	43	33	41	41	25	34	265
ND	2	0	1	5	3	0	1	12
Total	64	58	41	59	52	27	40	341

171/43o — 4 décembre 2009 - 09:30 - 342B

Risque aspergillaire et travaux : que retiennent les soignants de nos formations ?
Expérience du CHU Necker Enfants Malades

I. Le-Guinche[1], P. Husson[1], S. Zornoza[1], I. Alaabouche[1], X. Nassif[2], J.R. Zahar[2-1]
[1]Equipe opérationnelle d'Hygiène Hospitalière [2]Microbiologie-Hygiène hospitalière, APHP, CHU Necker Enfants Malades, Paris, France

Introduction : En période de travaux, le risque aspergillaire engendré par les poussières ne peut être maitrisé sans la mise en place de mesures environnementales relayées par les professionnels. Ce qui nécessite la participation du plus grand nombre de soignants. Dans le cadre d'une campagne de lutte contre le risque aspergillaire lié à des travaux de gros œuvre, l'Equipe Opérationnelle d'hygiène à mis en place des séances de formations dans les 21 services de notre établissement. Un questionnaire individuel d'évaluation des connaissances était remis aux soignants, en début et en fin de séance.

Objectifs : Evaluer, le niveau de connaissance des soignants avant (Avt) et après (Apr) la formation.

Résultats : Des 3900 soignants de notre établissement 631 personnels médicaux et paramédicaux ont participé aux 16 réunions organisées par l'EOH. Respectivement 204 (32%) Avt et 367 (58%) Apr ont répondu au questionnaire. Il s'agissait de 344 (60%) soignants travaillant en médecine, 153 (27%) en chirurgie, 39 (7%) transversaux, et 35 (6%) des services médico techniques. Respectivement 156 (76%) et 271 (74%) signalaient Avt et Apr la présence de patients à risque dans leurs unités (NS). Le Plan aspergillaire élaboré par l'EOH était connu de 30 (15%) soignants Avt et 156 (43%) Apr (p<0,0000001). Avant la formation 97(46%) des soignants étaient en mesure de citer au moins 1 pathologie exposant au risque d'aspergillose, alors que 292 (80%) répondaient correctement après la formation (p<0,0000001). De même 94 (46%) des soignants étaient en mesure de citer les périodes de travaux à haut risque Avt alors qu'ils étaient 267 (80%) Apr (p<0,0000001). De plus la principale mesure de lutte contre l'empoussièrement était connue de 125 (61%) des soignants avant la formation et 294(80%) Apr (p=0,000002). La moyenne des bonnes réponses était significativement augmentée après la formation passant de 36,5% ± 21,5% (Avt) à 66,9% ± 17% (Apr), p< 0,00001.

Conclusion : Le niveau de connaissance avant formation semble être insuffisant pour impliquer les soignants dans la lutte contre le risque aspergillaire. Une formation spécifique permet d'améliorer le niveau de connaissance. Une évaluation à 6 mois est en cours afin de savoir si le niveau de connaissance persiste à distance.

172/43o — 4 décembre 2009 - 09:45 - 342B

Impact d'un système de traitement d'air sur la contamination aérienne en réanimation médicale

C. Bonnal[4], M. Maison[4], I. Lolom[4], C. Deblangy[4], M. Pairault[2], W. Guerinot[4], C. Chochillon[1], F. Gosso[3], M. Wolff[2], B. Regnier[2], J.C. Lucet[4]
[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [2]Réanimation Médicale et Infectieuse [3]Service Biomédical [4]Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

Introduction : Le risque aspergillaire augmente dans des secteurs et/ou chez des patients réputés à moindre risque, hors neutropénie ou hématologie. Les secteurs non protégés accueillent de plus en plus souvent ces patients.

Objectif : Mesurer l'impact d'un système mobile de traitement d'air sur la contamination d'une unité de réanimation où sont survenus des cas groupés et récurrents de colonisation et infection aspergillaire.

Méthodes : Le service de réanimation comprend deux unités séparées de 10 chambres individuelles (60m3 chacune), servies par une zone de soins centrale et des réserves (320 m3). Il existe un traitement d'air (filtration 95% ; 4 à 6 vol/h. ; très faible surpression chambre/zone de soins, surpression plus importante zone de soins /extérieur). Trois unités Plasmair® (débit 1300 m3/h) ont été installées durant un mois dans une unité : aux deux extrémités de la zone de soins et dans une chambre en face de l'entrée. Les portes de l'unité étaient constamment fermées, celles des chambres restaient ouvertes. Les Plasmair® étaient mis en route un jour sur deux. Deux prélèvements ont été réalisés chaque jour en un point central de la zone de soins : compte bactériologique et fongique filamenteux (Air test Omega®, 500 l.) et particulaire (3 fois 1 min, 0.5 et 5 µm, Handilaz ®).

Résultats : 40 prélèvements ont été réalisés, 20 sans et 20 avec Plasmair® en fonctionnement. Les comptes bactériologiques médians étaient respectivement de 170 (1/20 < 100) et 108 (7/20 <100) UFC/m3 ; les comptes fongiques de 2 (9/20 négatifs) et 2 (9/20 négatifs) UFC/m3; les comptes particulaires à 0,5 µm de 5,78 et 2,06 million/m3, à 5 µm de 491 000 et 296 000/m3.

Conclusion : Dans des conditions habituelles de fonctionnement, notamment une intense circulation des personnels, un traitement d'air mobile (environ 4 vol./h.) visant à décontaminer une unité de 1000m3, en complément d'un traitement d'air insuffisant, permet une réduction significative des comptes bactériens et particulaires d'environ 40%, mais pas significativement des comptes fongiques. Il pourrait cependant écrêter des pics de contamination (« nuage aspergillaire »). Ces données suggèrent que les systèmes mobiles de traitement d'air sont plus efficaces pour traiter des faibles volumes.

173/43o — 4 décembre 2009 - 10:00 - 342B

Intérêt de la désinfection des surfaces par voie aérienne dans un secteur protégé d'hématologie

F. Delfosse[1], E. Ostojski[1], E. Fréal[2], C. Wolf[3], J.P. Jouet[3], B. Grandbastien[1], I. Yakoub-Agha[3], N. Henoun Loukili[1]
[1]Gestion du Risque Infectieux et des Vigilances [2]Parasitologie Mycologie [3]Service d'Hématologie, CHRU, Lille, France

I. Introduction : Les recommandations de prévention du risque aspergillaire chez l'immunodéprimé requièrent un bionettoyage complet (BN) de la chambre avant l'admission d'un nouveau patient. Dans notre établissement, ce BN est

suivi d'un prélèvement mycologique de l'air (PMA). En 2008, 5% des résultats étaient non-conformes conduisant à de nouveaux BN et PMA. Dans ce contexte, nous avons étudié prospectivement l'intérêt de la désinfection des surfaces par voie aérienne (DSVA) après l'étape de BN sur la contamination des chambres.

II. Matériel et méthode :

- Période de l'étude: Janv. - Oct.09

- Lieu: les 20 chambres du secteur protégé d'hématologie ayant un SAS d'entrée, une pièce de vie, un sanitaire et un traitement d'air.

- Essai : après chaque sortie de patient, la chambre subit un BN, suivi de PMA. Ensuite la DSVA est mise en œuvre, et est suivi de nouveaux PMA et de prélèvements bactériologiques des surfaces (PBS).

Table 1 : Points de prélèvements dans la chambre

Prélèvement	SAS	Pièce de vie	Sanitaire
PMA	1	2	1
PBS	1	4	1

- La DSVA: effectuée à l'aide du couple produit-machine DAISI DHV-500 Sapoxim®, France
- Les PMA: effectués à l'aide du biocollecteur Sampl'air AES Chemunex®
- Les PBS: effectués sur des géloses Count Tact Biomérieux®
- Statistiques: comparaison du nombre de colonies fongiques et bactériennes avant et après la DSVA (α< 0,05)

III. Résultats : 57 chambres ont fait l'objet d'une DSVA et de prélèvements : 660 PBS et 408 PMA.

1. Prélèvements mycologiques de l'air: 2 étaient positifs avec des pathogènes (2 et 4 colonies respectivement) avant la DSVA *versus* 0 après la DSVA.

2. Prélèvements bactériens de surface

Table 2 : résultats de l'analyse statistique avant/après DSVA

Local	**Delta (+)** = (Avant DSVA – après DSVA)	p
Global chambre	47	<0.001
SAS	34	<0.001
Pièce de vie	36	<0.001
sanitaire	16	<0.01

IV. Discussion-conclusion : Après un BN, mais avant la DSVA, les PBS montrent une persistance de la contamination bactérienne de l'environnement proche du patient immunodéprimé. Suite à la DSVA, le niveau de contamination des surfaces baisse significativement (p< 0.001). Ce résultat est en faveur de l'efficacité de la DSVA malgré les conditions aéroliques des chambres (cinétique de décontamination < 10 min, taux de renouvellement d'air > 25 volumes/heure).

La contamination aérienne fongique avant la DSVA est très faible. Ceci est principalement lié à la qualité du traitement d'air de la chambre. Deux prélèvements sont revenus contaminés avec des pathogènes suggérant que le BN est efficace dans 96% (55/57) des cas seulement. Après la DSVA, aucun pathogène n'a été retrouvé. Ce dernier résultat nécessite d'être évalué sur un échantillon plus grand afin de permettre une comparaison objective.

174/44o — 4 décembre 2009 - 09:00 - 343

Comparison of ETEST® and Disc Diffusion for anaerobic susceptibility testing

I. Wybo, K. Vandoorslaer, C. Barquero Godinho, D. Pierard, S. Lauwers
Microbiology and Infection Control, UZ Brussel, Brussels, Belgique

Purpose of the study: Disc diffusion is generally considered as inappropriate for anaerobic susceptibility testing. The Etest®, a practical alternative to the reference dilution techniques is very expensive. In order to lower our costs for routine testing, we reevaluated disc diffusion.

Methods: Hundred twenty three strict anaerobic clinical isolates were included with the following genus distribution: *Bacteroides* spp. (59), *Clostridium* spp. (33), *Fusobacterium* spp. (7) and *Prevotella* spp. (24). Susceptibility to clindamycin (CLI), meropenem (MEM), amoxycillin/clavulanate (AMC), piperacillin/tazobactam (TZP) and metronidazole (MTZ) was tested. Supplemented Brucella blood agar was used. The MIC values were obtained by Etest® using manufacturer's recommendations. Disc diffusion was performed with CLSI potency Neo-Sensitabs (Rosco) except for TZP for which paper dics were used, Rosco 75/10 µg being unavailable. Plates were inoculated with 1 MacFarland and incubated for 48 hours at 35°C. MICs (EUCAST breakpoints) and diameters were interpreted according SFM recommendations (2009).

Results obtained: Overall concordance between Etest® and disc diffusion was 80%. Concordance was only 59% for AMC and *Bacteroides* spp with 25% minor errors (I/S) and 15% very major errors (R/S). For TPZ and *Bacteroides* spp. concordance was even less (49%) with 7% minor errors (I/S) and 44% very major errors (R/S). Concordance for CLI was 81% with 15% major (S/R) and 3% very major errors (R/S). For MTZ concordance was 73 % with 26% major (S/R) and 0.8% very major errors (R/S). Concordance was 93% for MEM but only 2 of 11 non-susceptible MEM isolates were detected with disc diffusion.

Discussion: Disc diffusion is not a suitable technique for AMC and TZP. For CLI and MTZ, 3 and 0.8% very major errors (R/S) and 15 and 26% major errors (S/R) were observed; the latter could be improved by systematically checking resistant results by Etest®. For MEM, as much as 9 out of 11 non-susceptible strains were classified as susceptible, but by checking strains with a zone < 28 mm, only two intermediate strains would have been categorised as susceptible.

In conclusion: Although not adequate for AMC and TZP, by controlling some results by Etest®, the disc diffusion can be a valuable alternative to Etest®.

175/44o — 4 décembre 2009 - 09:15 - 343

Détection of CTX-M type ESBLs by testing with MicroScan ESBL confirmation panels

J. Jorgensen[1], M. Mc Elmeel[1], L. Fulcher[1], B. Zimmer[2]
[1]University of Texas Health Sciences Centre, San Antonio [2]Siemens Healthcare Diagnostics, W. Sacramento, Etats-Unis

Purpose of the Study: CTX-M extended spectrum beta-lactamases (ESBLs) have emerged as the most common type of ESBL globally, easily surpassing the incidence of SHV and TEM ESBLs in most locales. CTX-M-producing *E. Coli* has been reported as an important cause of community-associated UTIs in some communities in the U.S., Canada, and Europe. It is imperative that diagnostic systems accurately detect this emergent class of ESBL. This study has compared the performance of two MicroScan ESBL dried panels withCLSI reference broth microdilution and disk diffusion methods on a collection of genetically-characterized ESBl producing isolates.

Methods: A group of 64 isolates of the family *Enterobacteriaceae* that produced CTX-M8, 14, 15, or 16 based upon PCR and sequencing of the *bla* gene, 17 isolates that produced a SHV or TEM ESBL, and 19 with both CTX-M and SHV ESBL were included in the study. Each isolate was tested by a frozen reference microdilution panel that included cefotaxime and ceftazidime tested aloe or with a fixed concentration of 4 mcg/ml of clavulanate, the same two substrates tested alone and with clavulanate by the disk method, and with MicroScan ESBL *plus* Confirmation and a routine panel containing streamlined ESBL confirmation dilutions (Neg MIC type 32).

Results Obtained: The disk diffusion method detected all ESBL-producing isolates, the frozen reference panel detected 89% of isolates (1 missed, 10 could not be deteremined because of off-scale MICs that exceeded the concentrations in the panel), the ESBL *plus* detected 98% (1 missed, 1 off-scale) and the Streamlined ESBL 95% (1 missed, 5 off-scale). Very high MICs with a few strains that produced SHV or both CTX-M and SHV ESBLs precluded noting the required three 2-fold dilution differences with clavulanate needed to confirm an ESBL. All but two strains producing a CTX-M ESBL were readily detected by the MicroScan panels.

Conclusions: Both formats of the MicroScan dried ESBL confirmation panels effectively detected CTX-M-producing isolates. A few strains with potent SHV or combinations of SHV and CTX-M ESBLs yielded very high offf-scale MICs that precluded confirmation by the broth microdilution panels.

176/44o — 4 décembre 2009 - 09:30 - 343

Augmentation de la résistance de *Mycoplasma pneumoniae* aux macrolides en France mise en évidence par une nouvelle technique de PCR en temps réel

O. Peuchant[2], A. Ménard[1], H. Renaudin[2], M. Morozumi[3], K. Ubukata[3], C. Bébéar[2], S. Pereyre[2]
[1]INSERM U853, Laboratoire de Bactériologie, Université Victor Ségalen Bordeaux 2 [2]Laboratoire de Bactériologie, EA 3671, Université Victor Ségalen Bordeaux 2 et CHU de Bordeaux, Bordeaux, France [3]Laboratory of Molecular Epidemiology for Infectious Agents, Kitasato Institute for Life Sciences, Kitasato University, Tokyo, Japon

Objectifs : *Mycoplasma pneumoniae* est un mycoplasme respiratoire pathogène pour l'homme, responsable de 15% à 20% des pneumopathies communautaires, chiffre pouvant s'élever à 40% chez l'enfant. Les antibiotiques du groupe MLSK (macrolides, lincosamides, streptogramines et kétolides) sont les antibiotiques de choix pour le traitement des infections à *M. pneumoniae*. En France, seules deux souches de *M. pneumoniae* résistantes aux macrolides ont été décrites en 1999. Depuis l'an 2000, plusieurs publications font état d'une augmentation du nombre de souches résistantes, en particulier au Japon. Les mutations A2058G (numérotation *Escherichia Coli*), A2058C, A2059G, A2062G, C2611A et C2611G au sein du domaine V de l'ARNr 23S sont associées *in vivo* et *in vitro* à cette résistance. L'objectif de notre étude était d'estimer la prévalence des souches de *M. pneumoniae* résistantes aux macrolides en France.

Méthodes : Nous avons développé deux techniques de PCR en temps réel : une PCR duplex permettant la détection des six mutations associées à la résistance aux macrolides chez *M. pneumoniae* et une PCR simplex pour l'identification de la mutation A2058G, la plus fréquemment rencontrée. Ces deux méthodes reposent sur un transfert d'énergie de fluorescence (FRET) couplé à une analyse de courbes de dissociation et sont directement appliquées aux échantillons cliniques. La PCR duplex, validée sur 40 souches de *M. pneumoniae* génétiquement caractérisées, a ensuite été appliquée à 248 échantillons respiratoires français collectés entre 1998 et 2008.

Résultats : Parmi les échantillons positifs pour *M. pneumoniae* collectés avant 2005, aucune souche résistante n'a été détectée. En revanche, parmi 51 échantillons collectés entre 2005 et 2007, cinq souches, soit 9,8%,

présentaient un génotype de résistance, suggérant une récente augmentation des souches de *M. pneumoniae* résistantes aux macrolides en France. La mutation A2058G a été identifiée dans 60% des cas.

Conclusion : Une surveillance épidémiologique rapprochée de l'apparition de souches de *M. pneumoniae* résistantes aux macrolides est devenue nécessaire en France et en Europe, et sera facilitée par l'utilisation des techniques développées.

177/44o — 4 décembre 2009 - 09:45 - 343

Dépistage en routine des bêta-lactamases à spectre étendu chez *Pseudomonas aeruginosa* (PA) : la méthode universelle ?

D. Hocquet, B. Dehecq, X. Bertrand, P. Plésiat
CNR Résistance chez Pseudomonas, CHU, Besançon, France

Objet de l'étude : *PA* résiste aux céphalosporines de troisième génération en surproduisant sa céphalosporinase chromosomique AmpC, en produisant une bêta-lactamase (BL) acquise à spectre étendu, ou en combinant ces deux mécanismes. Les tests de dépistage usuels sont basés sur l'inhibition de l'activité enzymatique des BLs à spectre étendu de la classe A d'Ambler (BLSE, inhibées par l'acide clavulanique, AC) et des BLs de classe B (métallo-BLs, MBL, inhibées par les chélateurs de cations divalents). Les oxacillinases à spectre étendu (OXA) de classe D, faiblement inhibées pas l'AC et par l'imipenème (IMP), sont plus difficiles à mettre en évidence. Il n'existe pas de recommandations consensuelles pour la recherche de toutes ces enzymes en routine. Le but de cette étude est de proposer un test phénotypique simple permettant de détecter l'ensemble des BLs à spectre étendu produites par les souches françaises de *PA*.

Méthodes : Une précédente étude nationale, réalisée en 2007 sur 140 souches (CMI ceftazidime, CAZ 32 mg/l), a permis de définir 15 isolats produisant une ou plusieurs BLSE (n=6), MBL (n=4) ou OXA (n=7), associée ou non à la surproduction d'AmpC. Les 125 souches restantes surproduisaient AmpC isolément. Des souches de référence produisant OXA-11, -14, 15, -16, -17, -19, et -32 ont également été testées. Les diamètres d'inhibition (d) autour des disques contenant céfépime (FEP, 30 µg), AC (10 µg), CAZ (30 µg), IMP (10 µg) et EDTA (5 µmol) ont été préalablement définis par la méthode CA-SFM sur gélose Mueller-Hinton. Un test de synergie est ensuite réalisé par la même méthode par l'alignement des disques contenant FEP, AC, CAZ, IMP et EDTA. La distance entre les disques (d/2 + d'/2) est ajustée pour chaque souche et chaque couple de disques. Une zone de synergie entre un disque d'antibiotique (FEP, CAZ, IMP) et un inhibiteur (AC, IMP, EDTA) positive le test.

Résultats obtenus : Le test a détecté toutes les souches produisant une BLSE ou une MBL, et la plupart des isolats produisant une OXA (11/14). Le test est resté négatif pour les 125 souches surproductrices d'AmpC.

Conclusion : Ce test de synergie, simple et économique, permet de détecter en routine toutes les classes de BLs à spectre étendu produites par les souches de *PA* isolées en France.

178/44o — 4 décembre 2009 - 10:00 - 343

Évaluation du milieu de culture SM2i spécifique de *Stenotrophomonas maltophilia* sur des prélèvements broncho-pulmonaires

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

Objectifs : Évaluer le milieu de culture SM2i (*S. maltophilia* Selective Medium with coloured Indicator), spécifique de *Stenotrophomonas maltophilia* (Smalto) sur des prélèvements broncho-pulmonaires.

Matériel et Méthode : SM2i a été mis au point dans le cadre d'un projet hospitalier de recherche clinique. Prédictif pour la recherche de Smalto dans l'environnement, il a été évalué sur 129 prélèvements broncho-pulmonaires, brosse télescopique (BT), lavage broncho-alvéolaire (LBA), prélèvement trans-trachéal protégé (PTP), aspiration bronchique (Ab), piège bronchique (Pb), expectoration, du 25 mai au 26 juin 2009, au CHU d'Amiens. Tous les germes isolés sur SM2i ont été identifiés sur galerie API ID 32 GN, puis comparés à ceux obtenus sur géloses usuelles au sang et au sang cuit.

Prévalence de Smalto dans les prélèvements analysés, et sensibilité, spécificité, valeurs prédictives positive (VPP) et négative (VPN) de SM2i ont été déterminées.

Résultats : 129/148 prélèvements reçus ont été analysés. Sur 15 prélèvements positifs sur SM2i - 11 PTP, 2 Ab, 1 LBA et 1 Pb - 7 prélèvements dont 5 PTP (p = 0,93) ont permis d'isoler Smalto sur SM2i. 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. Des souches d'*Enterobacter cloacae, Enterobacter aerogenes, Pseudomonas aeruginosa,* sensibles à l'imipénème ont poussé sur Sm2i. Sur milieux usuels, la présence de Smalto n'a été notifiée que pour 4 des 7 prélèvements SM2i+. La prévalence de Smalto dans ces prélèvements était de 5,4 %. Comparativement aux géloses usuelles, sensibilité, spécificité, VPP et VPN de SM2i étaient respectivement de 100/100/100/100 % et les rapports de vraisemblance positif et négatif de ¥ et de 0. Sm2i apparaît aussi sélectif, spécifique, prédictif pour rechercher Smalto environnementaux que ceux des prélèvements broncho-pulmonaires. L'isolement d'autres espèces bactériennes imipénèmes-sensibles sur Sm2i restent à explorer, néanmoins, Sm2i apparaît meilleurs que le milieu VIA-méropénème pour la recherche de Smalto.

Conclusion : SM2i, milieu spécifique et prédictif pour rechercher et identifier Smalto dans les prélèvements environnementaux et cliniques, pourrait être utilement intégré aux géloses usuelles en bactériologie. L'aspect coloré des Smalto sur SM2i évite toute confusion d'avec d'autres bactéries susceptibles de s'y développer.

179/44o — 4 décembre 2009 - 10:15 - 343

Suivi macroépidémiologique des infections a *Clostridium Difficile* par Multilocus Sequence Typing (MLST) : développement et mise en ligne d'une base de données sur le site de l'institut Pasteur

L. Lemee[4], S. Brisse[1], B. Dupuy[2], F. Barbut[3], E. Bernard[4], C. Tran[1], J.M. Thiberge[1], C. Eckert[3], J.L. Pons[4]
[1]Genotyping of Pathogens and Public Health (PF8) [2]Unité Toxines et Pathogénie Bactérienne, Institut Pasteur [3]EA 2392, Université Pierre et Marie Curie, Paris [4]Institut Hospitalo-Universitaire de Recherche Biomédicale, GRAM EA2656, Rouen, France

Clostridium difficile (CD) est une cause majeure de diarrhées associées à l'antibiothérapie et de colites pseudomembraneuses. Les possibilités de suivi macroépidémiologique sont limitées par le manque de méthodes robustes et exportables de génotypage des souches. Le génotypage basé sur des données de séquences nucléotidiques, comme le MultiLocus Sequence Typing (MLST), peut combler ces lacunes. A partir de notre schéma MLST initial pour CD (Lemée et al., J. Clin. Microbiol. 2004), nous avons étendu notre analyse à une large collection européenne d'isolats. Le nouveau schéma MLST, légèrement modifié, qui cible 7 gènes domestiques (*aroE*, *dutA*, *gmk*, *groEL*, *recA*, *sodA* and *tpi*), a été appliqué à des isolats bien caractérisés, correspondant à 57 PCR-ribotypes (PR) différents. Cinquante "sequence types" différents ont été identifiés parmi les 358 isolats analysés, ce qui confirme le faible taux de recombinaisons génétiques au sein de cette espèce. L'analyse phylogénétique révèle plusieurs lignées divergentes : une correspodant aux souches de PR 078 ou 126 (A+B+CDT+/Tox. V), une autre aux souches de PR 017 (A-B+CDT-/Tox. VIII), et une autre aux souches de PR 023 (A+B+CDT+/Tox. IV). Toutes les souches de PR 027 (A+B+CDT+/Tox. III) apparaissent regroupées dans une lignée proche de la population majoritaire au sein de l'espèce CD. Les gènes codant la toxine binaire sont retrouvés uniquement chez les isolats très divergents (sauf la lignée PR 017) et dans le « cluster » 027. L'analyse par MLST fourni des données de séquences nucléotidiques, non ambiguës quel que soit le lieu de leur réalisation, qui peuvent donc être stockées et partagées à partir d'une base de données commune. Dans ce but, nous avons mis en ligne une base de données publique sur le site de l'institut Pasteur (http://www.pasteur.fr/mlst). Les données MLST reflètent la phylogénie des souches et des lignées et cette méthode peut s'avérer puissante pour le suivi macroépidémiologique des infections à CD.

181/45o — 4 décembre 2009 - 09:30 - 351

Tuberculose associée au VIH et immigration en France : incidence et facteurs de risque dans les années récentes

S. Abgrall[5-6-1], P. Del Giudice[3], G. Melica[2], D. Costagliola[5-6-4]
[1]SMIT, Hôpital Avicenne, Bobigny [2]Immunologie clinique, hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil [3]SMIT, CHI Fréjus-Saint Raphaël, Fréjus [4]SMIT, GH Pitié-Salpêtrière, AP-HP [5]U943, INSERM [6]UMR-S 943, UPMC Université Paris VI, Paris, France

Introduction : Dans les pays industrialisés, le risque de survenue d'un premier événement SIDA dans l'année suivant l'introduction d'une HAART a augmenté de 35% chez les patients infectés par le VIH dans les années récentes (2002-03) par rapport à 1998, en lien avec un triplement du risque de tuberculose (TB) au cours de cette même période.

Méthode : Au sein de la base des données hospitalières françaises sur l'infection à VIH, 68869 patients sans antécédent de TB ayant au moins une visite de suivi et une valeur de CD4 et de charge virale entre le 01/01/1997 et le 31/12/2008 ont été sélectionnés. Les taux d'incidence (TI) et les facteurs de risque (FDR) de TB ont été évalués au cours de cette période.

Résultats : Un total de 2625 patients ont présenté une TB soit à l'entrée dans l'étude (N=932) soit au cours du suivi (N=1693). Pendant un suivi total de 427957 patients-années (PA), le TI de TB est de 0,40/100PA globalement, 0,28 chez les non migrants, et 1,03 chez les migrants, avec un risque ajusté de TB 2,01 fois plus élevé chez les migrants que chez les non migrants (IC95%1,79-2,26). Le TI ajusté de TB augmente significativement à partir 2000 chez les migrants et 2001 chez les non migrants, avec des risques ajustés de TB de 2,51 (IC95%1,55-4,07) et 1,85 (IC95%1,27-2,70) respectivement en 2008 par rapport à 1997. Les autres FDR indépendants de TB sont un suivi < 6 mois, un statut SIDA, l'absence de traitement antirétroviral antérieur, des CD4 bas, une charge virale élevée. Les patients non migrants appartenant à d'autres groupes de transmission du VIH que le risque homosexuel ou résidant en région parisienne ou dans les départements français d'Amérique sont également à risque plus élevé de TB.

Conclusions : En France, l'incidence de la TB augmente au cours du temps chez les patients infectés par le VIH, à la fois chez les migrants non migrants, ceci par rapport à 1997, début de l'utilisation généralisée des HAART. Ceci est en partie du aux migrants originaires d'Afrique sub-Saharienne qui

représentent une part croissante de la population des patients infectés par le VIH en France, et également à l'accès au soin retardé de certains patients. Une prescription ciblée d'une chimioprophylaxie anti-TB associée à une HAART pourrait être bénéfique chez ces patients.

182/45o — 4 décembre 2009 - 09:45 - 351

Lower respiratory tract infections (LRTI) in HIV-infected patients : Interest of extensive virological evaluation

J. Dina[3], M. Pakenham[1], E. Bergot[2], S. Dargere[1], A. Vabret[3], R. Verdon[1]
[1]Department of Infectious Diseases [2]Department of Pneumology [3]Department of Virology, University Hospital of Caen, Caen, France

Background: Few studies have investigated the role of viruses in LRTI in HIV-infected patients

Methods: Between April 2003 and April 2008 all HIV-infected patients required broncho-alveolar lavage (BAL) because of symptoms consistent with LRTI had an extensive evaluation for detection of bacteria (including *Nocardia* and *Rhodococcus* species), fungus, parasites, mycobacteria and viruses. The decision to perfom BAL was based on clinical grounds. Samples were stored at -80°C. Emphasis was placed on virological studies using molecular techniques to identify adenoviruses, influenza viruses A B C, parainfluenzaviruses 1-4, RSV, hMPV, BK and JC viruses, coronaviruses OC43 and 229E, enteroviruses, rhinoviruses, CMV, HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, HHV-6, and newly identified viruses coronaviruses NL63, HKU-1, bocavirus, polyomaviruses WU and KI.

Results: 37 HIV-infected pts required BAL. The median (range) age, CD4 count and log10 HIVRNA viral load were: 43 y (28-65), 35/mm3 (0-1023), 4.7 log cp/mL (1.7-5.7). Antibiotic-resistant community-acquired pneumonia (CAP) was present in 7 pts, in whom *Streptococcus pneumoniae* (1 pt) and *Mycoplasma pneumoniae* (1) were found. In other pts, the bacteriological, mycological and/or parasitological studies found an opportunistic pneumonia (OP) in 15 pts (*Pneumocystis jiroveci* 13, *Cryptococcus neoformans* 2) and nosocomial pneumonia (NP) in 4 pts. In the remaining 11 pts, various respiratory conditions (VRC) were eventually found (interstitial pneumonia of unknown origin, cancer, e.g.).

Viruses were identified in 18/37 (47%) patients: CMV (12 pts), HSV-1 (7), rhinovirus (4), enterovirus (2), coronavirus (OC43 1, NL63 1), RSV (1). Viral co-detections were identified in 8 pts: CMV and enterovirus (1 pt), HSV-1 and rhinovirus (1), HSV-1 + CMV (2), CMV + coronavirus NL63 (1), CMV + rhinovirus (1), CMV + HSV + RSV (1), CMV + rhinovirus + coronavirus OC43 (1). Viruses other than CMV / HSV (detection of which may represent asymptomatic reactivation) were found in 8 pts: 4/7 with CAP, 1/4 with NP, 2 /15 with OP, 1/11 with VRC.

Conclusions: A virus was detected in 18/37 pts with LRTI who had a BAL exploration. When excluding CMV and/or HSV, a respiratory virus was found in 8/37 (22%) pts, especially those with a clinical presentation of CAP or NP.

183/45o — 4 décembre 2009 - 10:00 - 351

Conséquences de la non-observance au Norvir® sur la réponse virologique

S. Lacassie[1], M.A. Vandenhende[2], S. Pédeboscq[1], P. Mercier[3], I. Louis[2], F. Bonnet[2], P. Morlat[2], J.P. Pometan[1]
[1]Pharmacie [2]Service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses [3]Service de Médecine Interne et Maladies Tropicales, Hôpital Saint-André, CHU de Bordeaux, Bordeaux, France

Objectif : Lors d'une précédente étude (résumé 148/oc RICAI 2007) nous avions mis en évidence un taux de non-observance au Norvir®, utilisé comme booster des Inhibiteurs de Protéases, de 71,2%.

L'objectif de la présente étude est de déterminer les conséquences de cette non-observance sur la réponse virologique.

Méthode : Il s'agit d'une étude de cohorte prospective débutée en 2005, incluant les patients suivis en ambulatoire au sein de notre structure, et pour lesquels le Norvir® leur est exclusivement rétrocédé par les pharmacies du CHU (suivi des délivrances avec le logiciel de rétrocession PHARMATIP).

La non-observance est définie par un nombre de gélules délivrées ne permettant pas d'assurer plus de 336 jours de traitement sur 365.

Notre objectif est de comparer selon l'observance le pourcentage de patients ayant présenté des rebonds virologiques [patient ayant une charge virale indétectable (CV<40 copies/ml) puis devenant détectable sur 2 bilans consécutifs espacés de 3 mois], et celui des patients en échec virologique (2 CV détectables à 3 mois d'écart).

Résultats : A ce jour, nous avons pu inclure 80 patients que nous avons séparés en 2 groupes aux vues de la quantité de Norvir® qui leur a été délivrée sur une durée de 3 ans :

Observants = 50 patients

Non-observants = 30 patients

		Observants N=50	Non-observants N=30
Pourcentage de patients avec CV indétectable	Bilan initial	18%	20%
	Bilan au dernier suivi	72%	56%
Pourcentage de patients ayant présenté un ou des rebonds virologiques		18%	27%
Pourcentage de patients avec CV indétectable stable durant les 6 derniers mois		60%	47%
Pourcentage de patients en échec virologique durant les 6 derniers mois		18%	37%
Pourcentage de patients en échec virologique au cours des 3 ans de suivi		50%	60%

Conclusion : Ces résultats intermédiaires sont en faveur d'une conséquence virologique délétère de la non-observance au Norvir® booster.

Sans attendre les données finales de l'étude prévues en 2010, il semble nécessaire que les personnels médical et paramédical réalisent une information spécifique sur le Norvir®, qu'un certain nombre de patients considère comme ayant un rôle secondaire dans le traitement antirétroviral.

184/45o — 4 décembre 2009 - 10:15 - 351

Évaluation de la tolérance de l'association Ténofovir/Emtricitabine + Lopinavir/Ritonavir comprimés (Truvada® + Kaletra®) utilisée dans le cadre de la prophylaxie post-exposition au risque de transmission du VIH (TPE)

W. Tosini[4-6], Y. Quertainmont[5], B. Christian[2], E. Peyrouse[1], G. Benabdelmoumen[6], T. Prazuck[3], P. Muller[2], E. Bouvet[4-6], C. Rabaud[4-2]
[1]Hôpital Sainte Marguerite, Marseille [2]COREVIH Lorraine Champagne Ardenne, CHU, Nancy [3]Centre Hospitalier Régional, Orléans [4]GERES [5]Hôpital Bicêtre [6]Hôpital Bichat Claude-Bernard, Paris, France

Depuis 1998, nous avons évalué successivement, en ayant toujours recours à la même méthodologie, la tolérance de différents TPE associant 2 NUC et une IP : zidovudine/lamivudine (Combivir®) + nelfinavir (ZDV/3TC+NFV); Combivir® + lopinavir/ritonavir (Kaletra® capsules) (ZDV/3TC+LPV/r soft gel); lamivudine + tenofovir + atazanavir boosté par le ritonavir (3TC+TDF+ATV/r) en une prise journalière. La tolérance restant dans tous les cas médiocre, nous avons décidé d'évaluer une nouvelle association : tenofovir/emtricitabine (Truvada®) + lopinavir/ritonavir (Kaletra® comprimés) (TDF/FTC+LPV/r cp). Entre Novembre 2006 et Juin 2008, 249 personnes ont accepté de se voir prescrire TDF/FTC+LPV/r cp après exposition au risque de transmission du VIH. L'âge moyen de ces personnes était de 31,5 ± 10 ans ; le sex-ratio H/F de 1,96. Il s'agissait d'expositions professionnelles (AES) dans 40 cas (16%) et d'expositions sexuelles dans 204 (82%). Dans 22 cas, le TPE a du être interrompu du fait de l'apparition d'effets indésirables parmi lesquels 2 éruptions cutanées attribuées au ténofovir, une lithiase rénale attribuée au Kalétra® et une rhabdomyolyse. Parmi les 166 personnes qui ont poursuivi leur TPE pendant 28 jours, la tolérance a été considérée comme bonne par 96 d'entre eux (58%), moyenne par 59 (35%) et mauvaise par 11 (7%). Les effets indésirables les plus souvent cités furent la diarrhée (78% des personnes décrivant un effet indésirable du TPE ont signalé une diarrhée), l'asthénie (78%) et les nausées (59%). Le sexe féminin est apparu significativement associé à une moindre tolérance au TPE ; que l'analyse soit réalisée sur l'ensemble des personnes incluses dans cette étude (p<0,02) ou sur le seul sous groupe des personnes venues consulter après une exposition hétérosexuelle (p<,006). Aucun lien significatif n'a été mis en évidence entre la tolérance et l'âge, le type d'exposition ou le fait de connaître ou non la sérologie du patient source. Au total, il est apparu que le taux d'arrêt de traitement pour intolérance était significativement plus faible avec cette nouvelle association Truvada® + Kaletra® comprimés que ce que nous avions mis en évidence avec les traitements évalués antérieurement : ZDV/3TC+NFV (p<,0001), ZDV/3TC+LPV/r SEC (p<,01) et 3TC+TDF+ATV/r (p<,05).

196/50o — 4 décembre 2009 - 11:00 - 342A

Quantification des *Legionella* viables dans les échantillons d'eau par PCR : développement d'un pré-traitement des bactéries au propidium monoazide (PMA) directement sur la membrane de filtration

S. Slimani[2], C. Ginevra[2], M. Molmeret[2], E. Dusserre[2], C. Mazure[3], M. Vialette[1], M. Reyrolle[2], J. Etienne[2], S. Jarraud[2]
[1]Institut Pasteur, Lille [2]Centre National de Référence des Légionelles, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon - Université Lyon1, Lyon [3]Bio-Rad, Marnes-La-Coquette, France

La méthode de quantification des légionelles dans l'environnement par PCR en temps réel (norme NF T90-471) permet de détecter les légionelles intègres indépendamment de leurs états physiologiques (viables, mortes et les légionelles viables et non cultivables en s'affranchissant des problèmes liés à la croissance des légionelles). C'est une méthode fiable, rapide, sensible et spécifique mais qui reste cependant limitée par son incapacité à distinguer qualitativement et quantitativement l'ADN provenant de la fraction vivante, responsable du risque sanitaire de celui provenant de la fraction morte d'une population de légionelles cible.

Récemment, l'Ethidium et le Propidium MonoAzide (E/PMA) ont été proposé pour réduire le signal PCR issu des bactéries mortes en pénétrant sélectivement dans les cellules endommagées et en bloquant l'amplification PCR de l'ADN bactérien après photoactivation.

Objet de l'étude : L'objectif de cette étude était de développer un prétraitement au PMA des *Legionella* d'un échantillon d'eau, applicable directement sur les membranes de filtration, suivi d'une quantification par PCR quantitative ciblant les *Legionella* viables.

Méthodes : Des échantillons d'eau chargés avec 10^6 bacteries/mL de *Legionella* viables ou tuées à la chaleur ont été utilisés pour définir les conditions optimales de prétraitement au PMA. Différentes concentrations de

Legionella viables, des échantillons complexes avec différentes concentrations de *Legionella* viables ou tuées à la chaleur, avec ou sans *Pseudomonas aeruginosa* (mimant la flore interférente aqueuse) ont été utilisées. Tous les échantillons ont été quantifiés en utilisant le kit iQ-Check™ Qanti *L. pneumophila* Kits (Bio-Rad).

Résultats : Le prétraitement optimal au PMA des échantillons contenant 10^6 bacteria/mL implique une série de 2 incubations de 5 minutes chacun avec 6 µM de PMA à l'obscurité chacun suivi de 5 minutes d'exposition à la lumière dans la glace. L'effet inhibiteur du prétraitement au PMA sur la quantification des *Legionella* était de -0.23 log +/- 0.08 sur les *Legionella* viables et de -3.86 log +/- 0.29 sur les *Legionella* tuées par la chaleur. La sur-estimation des *Legionella* viables apparaît pour une concentration de 10^8 bacteria/mL de *Legionella* tuées par la chaleur. Dans les conditions utilisées dans cette étude, la flore interférente n'a eu aucun effet.

Conclusion : Dans les conditions contrôlées de laboratoire, le prétraitement au PMA appliqué directement sur la membrane de filtration suivi d'une PCR en temps réel permet une quantification rapide et fiable des *Legionella* viables.

197/50o — 4 décembre 2009 - 11:15 - 342A

Molecular diagnosis of bone and joint infections (BJIs) : New approach using microarray assay directly on clinical samples

E. Allais[3-2], S. Boisset[2-1], A.M. Freydiere[2], T. Ferry[5], S. Lustig[4], J. Etienne[2-1], S. Tigaud[3], F. Vandenesch[2-1], F. Laurent[3-1]
[1]INSERM U851, Faculté de Médecine Laënnec [2]Laboratoire de bactériologie, Groupement Hospitalier Est [3]Laboratoire de bactériologie, Groupement Hospitalier Nord [4]Service d'Orthopédie, Groupement Hospitalier Nord [5]Service des Maladies infectieuses, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Objectives: The aim of our study was to evaluate the performance of the Prove-it™ Sepsis assay (PISA) (Mobidiag®) for the rapid detection and identification of bacteria directly from BJI clinical samples, compared to conventional culture and universal 16S rDNA PCR. This new PCR and microarray assay was initially developed to identify bacterial species (n>50) in positive blood cultures in less than 3 hours.

Methods: We selected 130 clinical samples (67 articular fluids and 63 biopsies), for which microbiological diagnosis had been previously established either by culture (C+) or by PCR16S-sequencing (C-/PCR+). All these positive samples were chosen within the spectrum of bacteria included on the array. Sixteen negative clinical samples (C-/PCR-) were also included. DNA was extracted with the automated MagNa Pure System (Roche Diagnostics®).

Results:

. C-/PCR_{16S}- (n=16): 15 samples were negative by using PISA; 1 sample was positive with *S.epidermidis* which has been confirmed by the specific amplification and sequencing of the *tuf* gene

. C+/PCR_{16S}+ (n=32): 23 samples (71.9%) were positive by using PISA with concordant identification, 3 samples were positive and concordant but revealed the presence of a second species; 6 samples remained negative

. C+/PCR_{16S}- (n=20): 5 samples (25%) were positive and concordant by using PISA, 15 samples were negative according to the PCR results

. C-/PCR_{16S}+ (n=62): 36 samples (58.1%) were positive by using PISA with concordant identification, 4 samples were positive with a mix of 2 to 4 species, 22 samples remained negative.

Conclusion: These preliminary and promising results indicate that this new commercial and cost-effective method allows a rapid and reliable detection of bacteria involved in BJIs. After providing additional probes relevant in BJIs (such as *Kingella kingae, Propionibacterium acnes*) on the array and after optimizing DNA extraction/amplification, it could replace conventional 16S rDNA PCR for the diagnosis of BJIs.

198/50o — 4 décembre 2009 - 11:30 - 342A

Real-time PCR assay for detection of *Nocardia* directly from human clinical specimens

H. Salord[1], M. Laurent[1], C. Filipelli[1], M. Pérouse de Montclos[2], V. Rodriguez-Nava[3], C. Roure Sobas[1], P. Boiron[3], S. Tigaud[1], F. Laurent[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon [2]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Sud [3]Observatoire Français des Nocardioses, Laboratoire de mycologie Fondamentale et Appliquée, UMR 5557, ISBPL, Lyon, France

Nocardiosis is an infection associated with severe morbid conditions especially in immunocompromised patients. The diagnosis, classically based on direct examination and conventional cultures, is difficult, time consuming and often delayed or prevented due to the relatively slow growth of these bacteria, and the empiric therapeutic decision before sampling. We previously described a PCR assay for the rapid detection of *Nocardia* directly from human clinical samples based on 16S-specific amplification combined with a chemiluminescent hybridization. Because of the complexity of this technique, we have developed a new analytical approach based on a real-time PCR.

DNA was extracted from clinical samples by using the NucliSens *easyMAG* instrument and analysed by real-time PCR on the ABI Prism SDS 7000 system, using i) Premix Ex taq (Takara) ii) two 16S genus specific primers (NG1 and NG2), iii) a genus specific TaqMan LNA probes, iv) Diagenode's DNA extraction & inhibition control corresponding to a virus culture containing a 1.000 TCID50/ml. The sensitivity tests performed with artificially contaminated clinical samples revealed detection limits of 5 CFU/specimen. The specificity was validated on a large number of isolates belonging to the 10 most common nocardial species and to 15 isolates belonging to the most related genus (*Mycobacterium, Tsukamurella, Gordonia, Dietzia*). The use of this assay in the diagnosis human nocardiosis was then evaluated by investigating clinical human samples. No amplification was observed in 12 clinical samples that were negative by culture for *Nocardia* spp. The 5 culture-positive clinical specimens provided a positive PCR signal as well as one sample (cerebral abscess) from a patient receiving antimicrobial treatment and having past history of cerebral nocardiosis. These results highlighted the specificity and sensitivity of the PCR protocol described in this study. It appeared useful in the rapid diagnosis of nocardiosis directly from clinical samples without culture, resulting in improvement of patient care (timely and appropriate) and favorable patient outcomes, and in significant savings.

199/50o — 4 décembre 2009 - 11:45 - 342A

Développement d'une PCR quantitative en temps réel ciblant le gène *yidC* pour la détection de *Mycoplasma hominis*

C. Férandon[2], O. Peuchant[2-1], C. Janis[2], A. Bénard[1-3], H. Renaudin[1], S. Pereyre[2-1], C. Bébéar[2-1]
[1]CHU de Bordeaux [2]Bactériologie EA 3671 [3]INSERM U897, CIC-EC 7, Université Victor Segalen Bordeaux 2, Bordeaux, France

Mycoplasma hominis est responsable d'infections gynécologiques, d'infections durant la grossesse et néonatales. Il prolifère dans les vaginoses bactériennes et est à l'origine d'infections extra-génitales chez les immunodéprimés. Sa détection par culture est la méthode de référence mais n'est pas adaptée à tous les prélèvements, en particulier extra-génitaux. *M. hominis* pouvant être présent à l'état commensal, il est nécessaire de réaliser des cultures quantitatives à partir des prélèvements des voies génitales basses. Des techniques de PCR ciblant l'ARNr 16S ou le gène *gap* ont été développées. Les séquences de ces gènes pouvant varier au sein de l'espèce *M. hominis*, la sensibilité de ces PCR est insuffisante. Ayant séquencé le génome de *M. hominis*, nous avons développé une PCR TaqMan quantitative spécifique de *M. hominis* et l'avons comparée à la culture. Le gène *yidC* codant pour une translocase de protéine de membrane a été sélectionné. Sa conservation au niveau nucléotidique a été vérifiée sur 31 souches de *M. hominis*. Des amorces et une sonde ont été dessinées et un plasmide de calibration construit. La limité de détection de la PCR est de 7 copies/µl, la spécificité analytique de 100% avec une très bonne reproductibilité intra- et inter-essai. Appliquées à 153 échantillons des voies urogénitales hautes et basses, la PCR et la culture ont respectivement détecté 55 et 45 échantillons positifs (p=0.004). Parmi les 45 échantillons positifs par les deux techniques, il existe une corrélation entre les résultats quantitatifs de la PCR et ceux de la culture quantitative (p<0.001). En conclusion, la PCR en temps réel ciblant le gène *yidC* est spécifique de *M. hominis* et présente une sensibilité clinique supérieure à celle de la culture, avec des résultats quantitatifs corrélés à ceux de la culture. Elle pourrait être utilisée à partir des prélèvements des voies génitales basses pour lesquels une quantification est nécessaire pour apprécier le pouvoir pathogène. Elle semble prometteuse pour la détection de *M. hominis* à partir des prélèvements des voies génitales hautes et des prélèvements extra-génitaux pour lesquels la culture est moins sensible.

200/50o — 4 décembre 2009 - 12:00 - 342A

Étude de prévalence de portage fécal d'entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) au décours d'une épidémie hospitalière à l'aide du Xpert vanA/vanB sur le système GeneXpert®

N. Bourdon[1], R. Bérenger[1], R. Lepoultier[1], A. Mouet[3], C. Lesteven[3], F. Borgey[2], M. Fines[1], V. Cattoir[1], R. Leclercq[1]
[1]Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, Laboratoire associé entérocoques et résistances particulières des streptocoques [2]Réseau régional d'hygiène-Antenne régionale de lutte contre les infections nosocomiales de Basse-Normandie [3]Service d'Hygiène hospitalière, CHU Côte de Nacre, Caen, France

Objectif : Estimer 3 mois après une épidémie de 36 cas à ERV survenue au CHU de Caen, la prévalence de portage d'ERV parmi les patients hospitalisés dans 24 services par culture et par un test de PCR temps-réel (qRT-PCR) Xpert vanA/vanB sur GeneXpert (Cepheid).

Méthodes : Les écouvillonnages rectaux des patients hospitalisés ont été déchargés au laboratoire dans 1 ml d'eau stérile. La qRT-PCR et l'ensemencement d'un bouillon avec aztréonam (A) (10 mg/L) et vancomycine (V) (3 mg/L) incubé 24 h puis isolé sur une gélose chromID VRE (bioMérieux) ont été faits en parallèle. L'identification des colonies suspectes d'être des ERV a été faite par PCR sur les gènes *ddl* et *van*. Le reste de la suspension a été congelé à –80°C. Pour 15 suspensions congelées avec qRT-PCR *vanB* positive/culture négative, 2 bouillons Schaedler, l'un additionné de A et l'autre de A et V (3 mg/L) ont été ensemencés puis isolés après 48h d'incubation sur géloses au sang en anaérobiose avec A ± V 6 mg/L à la recherche d'anaérobies contenant *vanB.*

Résultats : 804 échantillons ont été analysés. Pour les 2 seuls qui contenaient des inhibiteurs de PCR, la qRT-PCR a été refaite avec succès après dilution. 127 (122 patients) ont été positifs en qRT-PCR (12 *vanA* et 115 *vanB*). Onze (6 patients) ont été confirmés par culture d'ERV (8 *E. faecium vanA* et 3 *E. faecium vanB*). Les négatifs en qRT-PCR sont négatifs en culture ERV. En

référence à la culture, les résultats sont les suivants

%	Sensibilité	Spécificité	VPN	VPP
vanB	100	86	100	2,6
vanA	100	99,5	100	66,7
vanA/vanB	100	85,4	100	8,7

Pour les positifs *vanA* en qRT-PCR, les valeurs de CT sont toujours inférieures à celles du témoin positif quand la culture ERV est positive alors qu'elles sont supérieures en cas de culture négative. Il n'a pas été trouvé dans les 15 prélèvements *vanB* positifs/culture négative d'anaérobies contenant *vanB*.

Conclusion : La basse fréquence de portage (0,7%) confirme l'efficacité des mesures de contrôle de l'épidémie. La technique GeneXpert est de mise en œuvre très aisée avec un résultat en 45 mn. L'excellente VPN pour les ERV permet de diminuer la charge de travail en ne contrôlant que les résultats positifs. Les résultats qRT-PCR positifs doivent être confirmés par culture particulièrement pour les *vanB* positifs du fait de la basse VPP pour les ERV.

201/50o — 4 décembre 2009 - 12:15 - 342A

Mise au point et application d'une technique de dépistage par PCR quantitative de *Blastocystis* dans des échantillons de selles

P. Poirier[1-3], A. Albert[1], I. Wawrzyniak[2], F. Delbac[2], V. Livrelli[1-3]
[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Gabriel Montpied [2]Laboratoire Micro-organismes : Génome et Environnement, UMR CNRS 6023, Université Blaise Pascal [3]JE2526, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Objet de l'étude : Le protiste *Blastocystis* est un parasite ubiquitaire anaérobie capable de coloniser le tractus digestif de l'Homme et de divers animaux. Des études récentes ont montré que certains génotypes du parasite pourraient être responsables de syndromes digestifs. Cependant, peu de données sont actuellement disponibles sur la prévalence et la diversité génétique des isolats en France. Ceci tient principalement à la difficulté de mise en évidence de *Blastocystis*. En effet, la méthode de référence consiste en une culture en anaérobiose de selles fraîches. Cette technique étant lourde à mettre en place pour un grand nombre d'échantillons, la méthode de diagnostic la plus utilisée reste l'examen microscopique des selles dont la sensibilité est de l'ordre de 15 à 20 %. L'objectif de notre travail était de développer une méthode de diagnostic moléculaire et de génotypage de *Blastocystis*.

Méthodes : Un couple d'amorces a été désigné afin d'amplifier un fragment (environ 330 pb) du gène codant l'ARNr18S de *Blastocystis*. Les réactions de qPCR sont réalisées sur Rotorgen-6000® en utilisant le LightCycler FastStart DNA Master SYBR Green I_Roche®. L'ADN est extrait à partir des selles à l'aide du kit QIAamp DNA Stool Mini Kit_Qiagen®. Les amorces choisies permettent *in silico* de dépister l'ensemble des génotypes connus du parasite, ce que nous avons vérifié en pratique. La méthode devant être très sensible, nous avons réalisé une gamme d'extraction allant de 10^8 à 10^1 *Blastocystis*/g de selles. Enfin, la séquence amplifiée a été sélectionnée afin de permettre un génotypage par séquençage du produit de PCR.

Résultats et conclusion : Nous avons détecté l'ADN des génotypes 1 à 9 et l'analyse des courbes de fusion a montré une bonne spécificité. La sensibilité a été évaluée à 10^2 *Blastocystis*/g de selles. Afin de comparer la fiabilité de cette technique par rapport à la méthode culturale, ainsi que son application au génotypage, une étude a été réalisée sur les selles de 100 patients. Les résultats obtenus montrent une bonne sensibilité de la qPCR que nous avons développée, ce qui nous permet d'envisager la mise en place d'études épidémiologiques, et l'exploration du rôle des différents génotypes dans la pathogénicité.

206/52o — 4 décembre 2009 - 11:00 - 343

Diversification des clones de *Pseudomonas aeruginosa* dans la mucoviscidose

L. Vettoretti[2], P. Cholley[3], T. Köhler[4], C. Llanes[2], C. Bailly[1], X. Bertrand[3], P. Plésiat[2-1]
[1]CHU Jean Minjoz - CNR "Résistance bactérienne aux antibiotiques", Laboratoire associé Pseudomonas aeruginosa [2]CHU Jean Minjoz - Laboratoire de Bactériologie [3]CHU Jean Minjoz - Service d'Hygiène Hospitalière, Besançon, France [4]Centre Médical Universitaire, Genève, Suisse

Soixante quatre des 110 patients atteints de mucoviscidose (CF) suivis par le CRCM de Besançon sont actuellement colonisés, de façon chronique ou intermittente, par *Pseudomonas aeruginosa* au niveau broncho-pulmonaire. L'analyse rétrospective d'une collection de souches constituée sur une dizaine d'années par le laboratoire de Bactériologie du CHU a révélé une faible variation de sensibilité des souches de *P. aeruginosa* aux antibiotiques chez les malades colonisés de façon intermittente (n=34). Au contraire, chez la plupart des porteurs chroniques (n=30), on observe une diversification parfois extrême des profils de résistance dans le temps (jusqu'à 21 chez un même patient). L'analyse comparative d'isolats séquentiels, recueillis au cours de la colonisation, par différentes techniques de génotypage (MLVA, PFGE, Clondiag®) a conduit à des résultats similaires. Aucun clone n'était partagé entre les 7 patients étudiés, indiquant l'absence de contamination croisée pendant la période considérée (1998-2006). Chez 6/7 patients, la souche de primo-colonisation, à l'origine sensible aux antibiotiques, a donné naissance à des sous-populations pouvant évoluer vers des phénotypes de multirésistance ou paradoxalement d'hypersensibilité. Ainsi, dans près de 30 % des cas (53/189 isolats étudiés) et chez prés de un patient sur deux (25/46 patients étudiés), les souches deviennent hypersensibles à certaines ß-lactamines (ticarcilline, aztréonam) par un déficit fonctionnel dans le système d'efflux actif MexAB-OprM. Au contraire, chez 1/7 patient, le phénotype de sensibilité de la souche primo-colonisatrice est resté stable au cours du temps. Ce travail montre que l'évolution des souches de *P. aeruginosa* au cours de la colonisation bronchique n'est pas uniforme chez les patients CF et peut donner naissance à des sous-populations très diverses. L'adaptation est à la fois souche- et patient-dépendante. Par ailleurs, les résultats des tests *in vitro* ne sont pas prédictifs de l'efficacité des antibiotiques *in vivo* au stade de la colonisation chronique.

207/52o — 4 décembre 2009 - 11:15 - 343

SARM et mucoviscidose : acquisition communautaire ou intra-hospitalière ?

J. Gorret[3], C. Beloncle[2], B. Branger[1], E. Deneuville[2], C. Belleguic[4], G. Jouve[3], M. Roussey[2], P.Y. Donnio[3-5]
[1]Réseau Périnatalité, Nantes [2]Département de Médecine de l'Enfant et de l'Adolescent [3]Service de Bactériologie-Virologie et Hygiène Hospitalière [4]Service de Pneumologie, CHU [5]EA1254 Risques Infectieux, Université Rennes 1, Rennes, France

La prévalence de l'infection à SARM chez les patients atteints de mucoviscidose a fortement augmentée ces 10 dernières années, concomitamment à l'émergence des SARM communautaires. Peu d'études se sont intéressées à l'origine de la contamination, intra-hospitalière ou communautaire, alors que les conséquences en termes de contrôle du risque sont très différentes. Nous rapportons ici une étude moléculaire des souches de SARM retrouvées en 2008 chez les patients suivis par les 2 CRCM du CHU de Rennes, suivie d'une recherche de facteurs de risques cliniques pour l'acquisition de souches de lignées génétiques différentes.

Les souches collectées chez les 22 patients infectés (âges extrêmes : 2,1-35 ans) ont été typées par détermination des séquences *spa*, complétée par typage des cassettes SCC*mec*. La présence des gènes codant pour la leucocidine de Panton-Valentine et la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) a été recherchée par PCR. Les données cliniques collectées ont été analysées grâce au logiciel Epidata 2.1.

La prévalence de SARM parmi les patients suivis était de 11,9% en 2008. Les isolats possédaient une cassette de type IV et tous (sauf un) se répartissaient en 2 groupes : lignées C (12 isolats, *spa* t002 ou apparenté) et J (9 isolats, *spa* t008 ou apparenté). Trois produisaient TSST-1 et aucun la LPV. La comparaison des données cliniques n'a pas permis la mise en évidence de différence significative entre les patients colonisés (Tableau).

Tous les patients sauf un étaient infectés par un SARM appartenant à l'un des 2 clones majoritaires dans les hôpitaux français : la lignée J correspondant à des souches hospitalières et la lignée C à des souches acquises aussi bien en ville qu'en milieu hospitalier. L'absence de souches productrices de LPV et l'absence de différences cliniques entre ces 2 groupes de patients sont en faveur d'une acquisition survenant majoritairement au cours d'une hospitalisation.

Lignée SARM	ΔF508 (%)	Sexe (n)	Dépistage néonatal (%)	Âge acquisiition (médiane, années)	BMI	Insuff. pancréat. (%)	Colonisation PA (%) primo / chronique	ABPA (%)	EFR FEV1 (%)	N hosp°/N Trait. ATB IV (médiane)
C	83.3	5F/7M	33.3	13.6	17.3	91.7	100 / 50	60	82	5 / 6
J	88.9	6F/3M	66.7	12.5	16.1	88.9	77.8 / 55.6	66.7	78	7 / 3

208/52o — 4 décembre 2009 - 11:30 - 343

Effets indésirables du vaccin BCG SSI® : suivi d'une cohorte d'enfants pendant 1 an

M.A. Dommergues[7-3], F. De La Rocque[6], C. Guy[5], A. Lécuyer[6], A. Jacquet[4], N. Guérin[7], J.P. Fagot[4], M. Boucherat[6], P. d'Athis[2], R. Cohen[1-7]
[1]Bactériologie, CHIC, Créteil [2]Biostatistique, Université de Dijon, Dijon [3]Hôpital de Versailles, Le Chesnay [4]Afssaps, Saint Denis [5]Pharmacovigilance, CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne [6]ACTIV [7]Infovac France, Saint-Maur des Fossés, France

Objet de l'étude : Les recommandations françaises de vaccination antituberculeuse sont ciblées sur les enfants à risque élevé de contamination tuberculeuse. Depuis 2006, le BCG SSI® est le seul vaccin disponible en France. En février 2007, une étude observationnelle a été mise en place à la demande de l'Afssaps pour évaluer la fréquence et la nature des réactions locorégionales de ce vaccin.

Méthodes : Entre février et juin 2007, 227 médecins ont vacciné 2599 enfants âgés de moins de 6 ans. Les effets indésirables (EI) locorégionaux (réaction>10mm) ont été rapportés de façon prospective sur une durée de 12 mois. Une analyse multivariée a évalué l'association entre les EI et les facteurs suivants : âge et sexe des enfants, expérience des médecins concernant les injections intradermiques, facteurs liés à la vaccination (lieu d'injection, dose vaccinale injectée, visualisation d'une papule lors de la vaccination, effraction capillaire, agitation de l'enfant, modalités de contention, nécessité de repiquer).

Résultats obtenus : Parmi les 2435 enfants ayant au moins une visite de suivi, 433 (17.8%) ont présenté un EI: érythème (12.4%), induration (12.2%), abcès (2.5%), ulcération (0.9%) ou adénopathie (0.1%). Aucune adénite

suppurée n'a été rapportée. Deux abcès ont été incisés chirurgicalement et un a été ponctionné à l'aiguille. Une ténosynovite secondaire à une piqûre accidentelle a été rapportée chez un médecin. Les facteurs associés à une diminution du risque d'EI étaient : l'âge lors de la vaccination <1 an versus >1 an (OR = 0.35 [0.2-0.6] pour les enfants <28 jours, OR = 0.29 [0.2-0.42] pour les enfants de 29 jours à 2 mois; et OR = 0.53 [0.37-0.74] pour les enfants de 3 à 11 mois), la visualisation d'une papule (OR = 0.48 [0.36-0.63]), un sous-dosage (OR=0.42 [0.31-0.58]). Les enfants sans aucune réaction locale et sans cicatrice représentaient 5.6% des enfants suivis.

Conclusion : Les effets indésirables du BCG SSI® ont été fréquents (en particulier les abcès), mais peu sévères. Une vaccination précoce et une injection strictement intradermique du vaccin pourraient diminuer le risque de telles réactions.

209/52o — 4 décembre 2009 - 11:45 - 343

Épidémiologie prospective des infections ostéoarticulaires aiguës dans un service de chirurgie orthopédique pédiatrique

A. Ferroni[2], Z. Péjin[1], H. Al Khoury Salem[1], E. Bille[2], H. Lecuyer[2], T. Odent[1], C. Cadilhac[1], P. Berche[2], C. Glorion[1]
[1]Chirurgie Orthopédique Pédiatrique [2]Microbiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

L'épidémiologie des infections ostéoarticulaires aiguës (IOA) chez l'enfant a beaucoup évolué ces dernières années, essentiellement grâce à l'amélioration du diagnostic microbiologique. Afin de vérifier l'adéquation de leur traitement probabiliste, nous avons voulu disposer d'une épidémiologie bactérienne récente de ces infections, en mettant en oeuvre les techniques moléculaires actuellement disponibles. Nous avons ainsi entrepris une étude prospective clinique et microbiologique des IOA chez les enfants suivis dans le service de chirurgie orthopédique de l'hôpital Necker Enfants Malades.

Méthodes : toutes les IOA cliniquement et radiologiquement suspectées d'origine infectieuse ont été incluses, à l'exception des drépanocytoses. Le diagnostic étiologique a reposé sur les hémocultures, les ponctions articulaires, les biopsies synoviales, les ponctions osseuses, et la sérologie antistreptodornase (ASDOR). Les prélèvements locaux ont été ensemencés sur milieux solides et inoculés en flacons d'hémoculture. Devant une culture négative, des PCR en temps réel ont été systématiquement réalisées : PCR universelle ARNr 16S, PCR spécifiques Staphylococcus aureus, Kingella kingae, PCR autolysine et pneumolysine (Streptococcus pneumoniae).

Résultats : du 17/03/07 au 26/02/09, 210 suspicions d'IOA ont été incluses : 93 arthrites septiques, 88 ostéomyélites, 25 ostéo-arthrites et 4 spondylodiscites. La PCR a permis d'augmenter de 50% le rendement du diagnostic bactériologique. Parmi les germes retrouvés en culture ou en PCR, les principaux pathogènes étaient Kingella kingae (âge < 30 mois, 52%), Staphylococcus aureus (28%), S. pyogenes (7%), Streptococcus pneumoniae (3%), et Streptococcus agalactiae (âge < 1 mois, 2%). Dans 8 cas, une sérologie ASDOR isolée a permis de suspecter le diagnostic d'arthrite à Streptocoque A. Tous les germes cultivés étaient sensibles au traitement probabiliste utilisé dans le service (céfamandole + gentamycine).

Conclusion : la PCR universelle ou ciblée représente un gain incontestable dans le diagnostic des arthrites septiques de l'enfant, en particulier pour la mise en évidence rapide d'ADN de K. kingae, qui est devenu le premier germe responsable des infections ostéoarticulaires de l'enfant.

210/52o — 4 décembre 2009 - 12:00 - 343

Épidémie de gale en pouponnière - Retard de diagnostic et coûts associés à sa maîtrise

S. Ducki[1], D. Machecourt[3], P. Hugel[3], G. Noblot[3], L. Deroudille[2]
[1]Unité d'Hygiène - RIPIN, CHU [2]DDASS, Grenoble [3]Foyer Charmeyran, La Tronche, France

Objet de l'étude : La gale est une maladie très contagieuse due à un parasite, Sarcoptes scabiei hominis, pouvant être responsable d'épidémies dans les collectivités. Ces dernières années de nombreuses épidémies dans les établissements de santé et maisons de retraite, ont amené le Conseil Supérieur d'Hygiène de France à publier des recommandations sur la prise en charge de la gale. Nous relatons une épidémie de gale survenue dans une pouponnière dont le cas index est un nourrisson de 2 mois atteint de gale profuse, en exposant les raisons qui ont conduit à l'ampleur de cette épidémie et les coûts associés à sa maîtrise.

Méthodes : Le diagnostic de gale a été retenu sur la présence de signes cliniques évocateurs et/ou un examen parasitologique cutané positif (sa négativité n'excluant pas le diagnostic de gale).

En parallèle de la prise en charge, l'ensemble des moyens utilisés pour maîtriser cette épidémie a été colligé : médicaments et éléments de protection (gants, surblouse…).

Résultats obtenus : Sur une période d'un mois 17 cas secondaires on été recensés soit onze enfants sur plusieurs sites, 4 soignants, un conjoint et un enfant de personnel soignant.

Après analyse des causes, le retard de diagnostic du nourrisson (traitement initial par antiseptique pour lésions cutanées puis traitement corticoïde pour eczéma) associé à une succession de dysfonctionnements dans la prise en charge (absence de mesures barrières lors du diagnostic, absence de traitement préventif des cas contact, absence de prise en charge de l'environnement, posologie des traitements non respectée) ainsi qu'à une promiscuité ont contribué à une transmission croisée de la gale qui a perduré pendant 4 semaines avant que la situation soit définitivement maîtrisée.

Le coût estimé des mesures mises en œuvre (traitements médicamenteux, gants, surblouse, produits désinfectants scabicides pour l'environnement) pour maîtriser cet épisode a été estimé à environ 7000 euros auquel il faut ajouter l'impact psychologique engendré par l'épidémie et la difficulté de prise en charge de jeunes enfants.

Conclusion : Cette épidémie met en exergue non seulement les difficultés diagnostic de la gale chez le nourrisson mais aussi la méconnaissance des mesures à mettre en œuvre dès le premier cas.

219/56o — 4 décembre 2009 - 11:00 - 353

Mécanismes de résistance et synergie des antibiotiques chez *Pseudomonas aeruginosa*

K. Jeannot, B. Dehecq, P. Plésiat
Service de Bactériologie, CNR Associé Résistance aux Antibiotiques, Besançon, France

Introduction : L'utilisation d'une bithérapie est recommandée dans les infections sévères pour diminuer rapidement la charge bactérienne et prévenir l'émergence de résistance. Toutefois, l'effet synergique entre deux antibiotiques repose sur des mécanismes souvent encore mal élucidés. Dans cette étude, nous avons cherché à évaluer l'impact de différents mécanismes de résistance sur l'activité des associations d'antibiotiques chez P. aeruginosa.

Méthode : La synergie entre la pipéracilline/tazobactam (TZP) ou la ceftazidime (CAZ), d'une part, et l'amikacine (AN) ou la ciprofloxacine (CIP), d'autre part, a été déterminée sur 5 souches de référence et 27 isolats cliniques dont 5 sauvages, 15 résistants uniquement à AN, TZP ou CAZ et 7 multirésistants. Les mécanismes de résistance de ces souches ont été caractérisés par RT-qPCR (transcrits des gènes mexB, mexY et ampC) et séquençage (QRDRs de GyrA, GyrB et ParC). Les interactions entre antibiotiques ont été analysées à l'aide de la technique de l'échiquier et la méthode E-test "side by side".

Résultats : Les résultats de la méthode E-test se sont révélés reproductibles et comparables à ceux de la technique de référence (2 discordances sur 128 associations testées). Globalement, il a été noté que 31 (24,2%) interactions antibiotiques étaient synergiques, 97 (75,8%) additives et 0 antagonistes. L'association ß-lactamine/amikacine était plus souvent synergique (18,7%) que l'association ß-lactamine/ciprofloxacine (5,5%). Par ailleurs, l'étude a montré que l'effet synergique entre deux antibiotiques est indépendant du niveau et du mécanisme de résistance de la souche vis-à-vis de chacun des produits entrant dans l'association.

Conclusion : Étant donné (i) qu'il existe une bonne corrélation entre la méthode de l'échiquier et la méthode E-test "side by side" et (ii) que la synergie entre deux antibiotiques est imprévisible au regard des mécanismes et des niveaux de résistance, la méthode E-Test peut être recommandée pour l'étude en routine des interactions antibiotiques chez P. aeruginosa. La pertinence clinique des tests *in vitro* reste toutefois à établir dans les infections sévères

220/56o — 4 décembre 2009 - 11:15 - 353

ISCR20, une nouvelle séquence d'insertion impliquée dans l'acquisition et l'expression d'un gène codant la bêta-lactamase à spectre étendu, TLA-1

B. Berçot[1-2], L. Poirel[1], J. Silva[3], 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 [3]Departamento de Resistencia Bacteriana, Instituto Nacional de Salud Publica, Centro de Investigaciones Sobre Enfermedades Infecciosas, Cuernavaca, Mexique

Objet de l'étude : TLA-1 est une β-lactamase à spectre étendu (BLSE) de classe A décrite en 2000 à Mexico à partir d'une souche clinique d'Escherichia coli. Le but de notre étude était de caractériser les éléments génétiques permettant l'acquisition du gène blaTLA-1 à partir d'une collection d'entérobactéries isolées dans différents hôpitaux de Mexico entre 1991 et 2000.

Méthodes : La détection des gènes blaTLA-1 a été effectuée par PCR. Les plasmides ont été extraits par la technique de Kieser et typés en groupe d'incompatibilité par PCR. Les transconjugants obtenus dans *E. Coli* J53 ont été sélectionnés sur gélose trypticase-soja contenant de l'azide (100 mg/ml) et du céfotaxime (8 mg/ml). La comparaison des souches productrices de TLA-1 a été effectuée par électrophorèse en champ pulsé après restriction de leur ADN par XbaI. Le site +1 de transcription a été déterminé par le kit 5′ rapid amplification of cDNA ends PCR system (Invitrogen).

Résultats : Pour les 9 souches cliniques non répétitives d'entérobactéries productrices de TLA-1, le gène blaTLA-1 était situé sur un plasmide conjugatif de tailles variables (110 kb ou 150 kb) de groupe d'incompatibilité IncA/C. Les transconjugants obtenus exprimaient un phénotype de BLSE et étaient également résistants aux sulfamides, au triméthoprime, au chloramphénicol, à la tétracycline avec un phénotype de résistance variable aux aminosides. L'analyse des séquences encadrant le gène blaTLA-1 n'a pas mis en évidence de structure de type intégron ou transposon. En revanche, une nouvelle

séquence d'insertion appartenant à la famille des ISCR, appelée ISCR20, dont la transposase a respectivement 33%, 30% et 27% d'identité avec celle des ISCR1, ISCR2 et ISCR3, a été mise en évidence en amont du gène blaTLA-1 dans toutes les souches étudiées. Cette séquence est insérée 232 pb en amont du codon d'initiation de blaTLA-1 et apporte le promoteur TTGACA(N17)TTAAAG.

Conclusion : Notre étude a mis en évidence une nouvelle séquence d'insertion de type ISCR qui serait impliquée dans l'acquisition ainsi que l'expression du gène blaTLA-1. De manière originale, les membres de la famille ISCR transposent par un processus singulier dit de « rolling-circle transposition » et sont capables de mobiliser des gènes de résistance aux antibiotiques.

221/56o — 4 décembre 2009 - 11:30 - 353

Régulation de l'expression des bêta-lactamases naturelles de *Ralstonia pickettii*

D. Girlich[1], A. Kolb[2], T. Naas[1], P. Nordmann[1]
[1]Bactériologie, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre [2]Unité de Génétique Moléculaire, CNRS URA2172, Institut Pasteur, Paris, France

Objectif : Les deux beta-lactamases chromosomiques et naturelles de *Ralstonia pickettii,* OXA-22 et OXA-60 sont inductibles par l'imipénème et la céfoxitine. L'interruption de la phase ouverte de lecture, *orf rp3,* localisée en amont du gène bla_{OXA-60}, abolit l'induction des deux oxacillinases et diminue la résistance de *R. pickettii* aux variations du pH et de l'osmolarité ainsi que sa survie en phase stationnaire, suggérant que RP3 pourrait être un régulateur global. Le but de cette étude était de mieux caractériser ce nouveau régulateur.

Méthode : Les interactions entre RP3, OXA-22, and OXA-60 ont été analysées au niveau transcriptionnel et protéique par des expériences de RT-PCR en temps réel et de footprinting. Des souches déficientes en RP3 ont été obtenues par clonage et recombinaison homologue. Des expériences de trans-complémentation ont été réalisées à l'aide du vecteur navette pLAFR-3. La protéine RP3 a été purifiée après clonage du gène et sur-expression à l'aide du système pET-SUMO.

Résultats : Les analyses par RT-PCR ont montré que l'expression du gène *rp3* et des gènes bla_{OXA} était régulée positivement : le niveau d'expression des transcrits des gènes *rp3,* bla_{OXA-22} et bla_{OXA-60} était augmenté respectivement de 20-, 100- et 2000-fois après l'induction à l'imipénème. Les expériences d'interaction de RP3 avec l'ADN de *R. pickettii* ont montré que RP3 se fixait spécifiquement sur des séquences répétées en tandem localisées en amont des gènes bla_{OXA-22} et bla_{OXA-60}. Curieusement, le site de liaison localisé en amont du gène bla_{OXA-60} comprend la région –35 du promoteur de *rp3*, alors que la région nécessaire à l'induction est localisée dans le début de l'*orf-rp3.*

Conclusion : Ces résultats indiquent que RP3 serait plus probablement un des éléments d'un nouveau système de régulation impliqué dans l'expression des beta-lactamases de *R. pickettii.*

222/56o — 4 décembre 2009 - 11:45 - 353

A single patient colonized by five distinct imipenem resistant (Ip-R) Gram-negative bacilli producing VIM-1 or KPC-2

L. Drieux[3], C. Lawrence[2], F. Brossier[3], J. Cremniter[1], B. Heym[1], J.L. Gaillard[1], V. Jarlier[3], W. Sougakoff[3]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt [2]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches [3]Laboratoire de Bactériologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Background: Five Ip-R strains were successively isolated from a single patient hospitalized in the intensive-care unit (ICU) of a French hospital after transfer from the ICU of a Greek hospital. Molecular basis of resistance to beta-lactam antibiotics of these strains were investigated.

Methods and Results: A Klebsiella pneumoniae strain was isolated at admission (Day1). A synergy between IP and clavulanate suggested the production of a class A carbapenemase, identified by PCR as KPC-2. The strain also carried genes encoding SHV-12 extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) and TEM-1. At D7, strains of Pseudomonas aeruginosa and Providencia stuartii were isolated showing patterns suggesting the presence of a class B metallo-carbapenemase, identified as VIM-1. In each of these strains, VIM-1 gene was located on distinct class I integrons. The P.stuartii isolate, which exhibited synergy between aztreonam and clavulanate, was also found to carry gene encoding SHV-5 ESBL. At D82, two additional strains (Escherichia coli, Proteus mirabilis), both co-producing VIM-1 and SHV-5, were isolated. Plasmid DNA analysis indicated that bla-VIM-1 and bla-SHV-5 were located on the same conjugative plasmid in these two strains as well as in P.stuartii isolated at D7, the bla-VIM-1 gene being harbored on the same class I integron.

Conclusion: Our results highlight the capacity of in-patient transfer of carbapenemases from species to species.

223/56o — 4 décembre 2009 - 12:00 - 353

Résistance à la pénicilline G des streptocoques animaux : *S. uberis* est-il semblable à *S. pyogenes* ou à *S. pneumoniae* ?

M. Haenni[1], L. Galofaro[1], M. Ythier[2], P. Majcherczyk[2], M. Giddey[2], P. Moreillon[2], J.Y. Madec[1]
[1]Antibiorésistance et Virulence Bactériennes, AFSSA, Lyon, France [2]Département de Microbiologie Fondamentale, Université de Lausanne, Suisse

Objectif : *S. uberis*, du groupe *pyogenes*, est un pathogène majeur de mammites bovines. Ces infections sont souvent traitées par la pénicilline G, mais aucun phénotype de résistance n'a encore été décrit. Des souches de sensibilité diminuée ont été détectées chez les bovins et l'objectif de cette étude était d'en identifier les déterminants, en recherchant les mutations des PLPs (Protéines Liant la Pénicilline) chez ces souches de terrain et chez des mutants expérimentaux.

Méthode : Les mutants ont été obtenus sous pression de sélection par cyclages à la pénicilline G. Les mutations ont été détectées chez les mutants et les souches de terrain par séquençage du domaine de transpeptidation des PLP1A, 2B et 2X identifiées *in silico*. Les PLPs ont été visualisées par marquage à la bocillin-FL et les modifications de la structure du peptidoglycane analysées par HPLC.

Résultats : *S. uberis* possède 5 PLPs fortement homologues à celles des autres streptocoques (PLP1A, 1B, 2A de classe A; PLP 2B, 2X de classe B). En environ 30 cycles, les CMI ont progressé de 0.016 mg/L à 2 mg/L. En parallèle, des mutations se sont accumulées dans la PLP2X (dont la substitution $Q_{554}E$ caractéristique des streptocoques), 2B et 1A. Sept mutations ont systématiquement été conservées dans les mutants de laboratoire (CMI=2 mg/L). L'effet de ces modifications sur l'affinité des PLPs pour la pénicilline et sur la structure du peptidoglycane a été démontré. Ces mutations spécifiques ont aussi été détectées dans les isolats cliniques non cyclés (CMI de 0.125-0.25 mg/L). Par ailleurs, aucune PLP mosaïque n'a été identifiée.

Conclusion : *S. uberis* peut résister à la pénicilline G par cyclages successifs, contrairement à *S. pyogenes*. La sensibilité diminuée est toujours associée à des mutations ponctuelles (dont 7 hautement conservées) dans les PBP2X, 2B et 1A, sans PLP mosaïque. *S. uberis* est donc apte à développer cette résistance *in vitro* comme dans l'environnement. A ce jour chez les bovins, la résistance à la pénicilline G chez *S. uberis* n'a pas le succès connu pour *S. pneumoniae* chez l'homme, dont la cavité buccale est probablement plus propice aux échanges génétiques que la mamelle, mais ces résultats soulignent désormais la nécessité d'un suivi renforcé de ce phénotype dans cette filière animale.

224/56o — 4 décembre 2009 - 12:15 - 353

Impact du traitement par linézolide sur les microbiotes intestinal, cutané, oropharyngé et nasal de patients hospitalisés

G. Defrance[6], N. Bourgeois-Nicolaos[6-1], A. Lefort[2-7], V. Noel[8], E. Senneville[9], B. Fantin[2-7], T.T. Nguyen[5], F. Mentré[5], X. Duval[4], A. Andremont[3-7], F. Doucet-Populaire[6-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béclère, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris-Sud XI, Clamart [2]Médecine Interne, Hôpital Beaujon, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Clichy [3]Laboratoire de Bactériologie, Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard Assistance Publique-Hôpitaux de Paris [4]CIC [5]INSERM EMI E 0357, Groupe Hospitalier Bichat-Claude, Bernard Assistance Publique-Hôpitaux de Paris [6]EA 4065, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes [7]EA 3964, Université Paris 7, Paris [8]Médecine interne, CHU Robert Debré, Reims [9]Maladies infectieuses et du Voyageur, CH Dron, Tourcoing, France

Objectif : Nous avons évalué chez 28 patients hospitalisés, l'impact d'un premier traitement par le linézolide (LZ), une oxazolidinone active sur les bactéries à Gram positif, sur les différents microbiotes.

Méthodes : La colonisation, par les entérocoques fécaux, les streptocoques pharyngés et les staphylocoques nasaux et cutanés a été étudiée à l'aide de milieux sélectifs, additionnés ou non de LZ, avant la mise sous traitement, puis à J7, à J14 si poursuite du traitement et à l'arrêt ou à la sortie du service. Nous avons déterminé le phénotype de résistance des différentes souches isolées et caractérisé le mécanisme de résistance au LZ (détermination de la CMI, séquençage des gènes *rrl* et recherche du gène *cfr* codant une méthyltransférase). Le fitness des souches LZ-résistantes a été comparé à celui des souches sensibles.

Résultat : Le traitement a diminué la colonisation par les entérocoques, les staphylocoques et les streptocoques au sein des différents microbiotes. A J0, 4 patients (14,2%) étaient colonisés au sein des microbiotes nasal et intestinal par des souches de *Staphylococcus aureus* (n=3) et de *Enterococcus faecalis* (n=2) LZ-résistantes, non retrouvées par la suite. L'émergence de souches LZ-résistantes a été observée chez 11% (3/28) des patients, uniquement dans le microbiote intestinal (entérocoques) après au moins 14 jours de traitement.

Au total, 9 souches LZ-résistantes ont été isolées : 3 *S. aureus* (CMI du LZ=64 mg/L) et 6 *E. faecalis* (CMI du LZ= 8 à 32 mg/L). Toutes les souches de *S. aureus* hébergent la mutation G2576T au sein des gènes *rrl*. Quatre (67%) souches de *E. faecalis,* hébergent la mutation G2447T tandis que, pour 2 souches, nous n'avons pas retrouvé de mutations au sein des gènes *rrl* ni détecté la présence du gène *cfr.* Le temps de génération des souches de

staphylocoques (50,4 min) et d'entérocoques (34,5 min) LZ-résistantes est allongé par rapport aux souches de staphylocoques (28,9 min) et d'entérocoques (29,9 min) LZ-sensibles.

Conclusion : L'impact du traitement par LZ sur la disparition et/ou l'émergence des cocci à Gram positif résistants dépend du microbiote et de la durée du traitement. Cette dynamique devra être analysée par rapport aux concentrations de LZ présentes aux différents sites, en cours d'étude.

240/61o — 4 décembre 2009 - 14:00 - 342B

Évaluation de l'activité antibactérienne de l'association AZT-gentamicine

A. Doléans-Jordheim[1], E. Bergeron[1], F. Bereyziat[1], O. Dumitrescu[3], J. André[1], F. Morfin[4], C. Dumontet[2], L.P. Jordheim[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Faculté de Pharmacie, ISPB, UCBL [2]INSERM 590, UCBL [3]INSERM U851 & Centre National de Références des Staphylocoques, UCBL [4]Laboratoire de Virologie et Pathogénèse humaine, FRE 3011, CNRS, UCBL, Lyon, France

L'émergence constante de résistances aux antibiotiques impose la découverte de molécules aux modes d'actions différents de ceux déjà existants. Les analogues de nucléoside, médicaments utilisés en cancérologie et en virologie, représentent une voie de recherche attractive en bactériologie.

Objectifs: Nos travaux décrivent l'activité antibactérienne de la zidovudine (AZT), antirétroviral utilisé dans le traitement du VIH. Les résistances issues de l'utilisation de cette molécule ont été analysées.

Méthodes : L'activité antibactérienne de l'AZT a été évaluée grâce à la méthode des concentrations minimales inhibitrices (CMI). L'activité bactéricide de l'AZT seul ou en association avec la gentamicine a été déterminée grâce à des courbes de survie réalisées avec la souche *E. coli* ATCC 25922. L'efficacité de l'association AZT + gentamicine a été évaluée par la technique des échiquiers. Le taux de résistance à l'AZT de la souche *E. coli* ATCC 25922 a été obtenu par la réalisation de mutants spontanés. Ces résistances ont été analysées quant à leur stabilité, leur impact sur d'autres antibiotiques et leur origine au niveau génétique.

Résultats : L'AZT est active sur les entérobactéries (CMIs entre 4 à 16 µM). Cette molécule est rapidement bactéricide (moins de 4 h), mais d'action limitée dans le temps (réapparition de la multiplication bactérienne au bout de 4 h). En revanche, la bactéricidie de l'association AZT+gentamicine persiste au-delà de 24 h. Le taux de souches spontanément résistantes à l'AZT est équivalent à ceux des antibiotiques classiques (10^{-6}-10^{-7}). Sur 10 souches résistantes, aucune ne présente de résistances croisées avec d'autres antibiotiques. Sept d'entre elles possèdent un niveau de résistance inchangée après subcultures sur milieu agar sans AZT (CMI> 500µM). Ces 10 souches présentent un gène de la thymidine kinase modifiée par rapport à la souche mère : pour 8 souches, ce sont des mutations ponctuelles entrainant des changements au niveau protéique ; pour 2 souches une séquence d'insertion similaire à l'IS*911* de *Shigella dysenteriae* interrompt le cadre de lecture du gène.

Conclusion : L'utilisation de l'AZT (ou de molécule dérivées) peut être envisagée en association avec des antibiotiques classiques dans la lutte contre les résistances bactériennes.

241/61o — 4 décembre 2009 - 14:15 - 342B

***In Vitro* Assessment Using Time-kill Curves of CXA-101 (CXA)/Tazobactam (TAZ), against *Escherichia Coli* (EC), Klebsiella pneumoniae (KP), and Pseudomonas aeruginosa (PA) Strains**

C. Jacqueline[2], C. Desessard[2], V. Le Mabecque[2], A.F. Miegeville[2], Y. Ge[1], G. Potel[2], J. Caillon[2]
[1]Calixa Therapeutics Inc., San Diego, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

Background: CXA is a novel parenteral cephalosporin with potent *in vitro* activity against *Enterobacteriaceae* and *P. aeruginosa* strains, including multi-resistant strains. The aim of this work was to evaluate the *in vitro* activity of CXA/TAZ against EC, KP, and PA.

Methods: 4 EC (2 ESBL+), 4 KP (2 ESBL+), and 6 PA (exhibiting different resistance phenotypes to ceftazidime (CAZ) and imipenem (IMP)) were studied. CXA was studied at 2, 4, and 8 times the MIC in combination with TAZ at a fixed concentration of 4 mg/L. Using an inoculum of 5.10^6 CFU/mL, surviving bacteria counts were performed after 0, 2, 4, 6 and 24h of incubation at 37°C. $\Delta\log_{10}$ CFU/mL (as compared to the initial inoculum) was counted at 2, 4, 6 and 24h.

Results: CXA/TAZ demonstrated potent *in vitro* activity against all the strains studied. Results (CXA/TAZ at 8 times the MIC) from killing curve study were as follows:

				$\Delta\log_{10}$ CFU/mL			
Bacterial strains			CXA/TAZ MICs (mg/L)	2h	4h	6h	24h
EC	ESBL -	1	0.25	-1.3	-2.2	-2.6	-5.1
		2	0.25	-1.7	-3.3	-4.4	-4.9
	ESBL +	3	0.25	-1.1	-1.8	-2.5	-4.9
		4	1	-2.5	-3.0	-3.1	-5.0
KP	ESBL -	5	0.25	-0.8	-1.9	-3.2	-4.3
		6	0.25	-0.3	-2.3	-3.4	-4.7
	ESBL +	7	0.5	-1.0	-2.3	-3.3	-5.0
		8	1	-0.2	-2.6	-3.5	-2.0
PA	CAZ-S	9	0.25	-0.9	-2.0	-2.4	-3.3
		10	0.5	-0.2	0.1	0.1	-1.0
	CAZ-R	11	2	-0.5	-1.2	-1.3	-0.8
		12	2	-0.4	-0.6	-0.7	-2.5
	IMP-R	13	0.5	-0.6	-1.5	-2.6	-2.8
		14	0.5	-0.5	-2.2	-2.3	-2.9

Conclusions: 1. CXA/TAZ exhibited high bactericidal activity against EC strains, including ESBL-producing strains ($\Delta\log = -5\log_{10}$ CFU/mL). 2. Bactericidal activity was observed with CXA/TAZ against KP strains, including ESBL-producing strains, except for KP8 strain (regrowth at 24h). 3. CXA/TAZ showed *in vitro* activity >2.5 $\log_{10}$ CFU/mL against PA9, PA12, PA13, and PA14 strains, while killing activity against PA10 and PA11 strains was relatively moderate (1 to 1.3 $\log_{10}$ CFU/mL). CXA/TAZ exhibited time-dependent, often bactericidal, activity vs. this set of challenging strains.

242/61o — 4 décembre 2009 - 14:30 - 342B

Souches productrices d'IRT et de CMT: l'association pipéracilline tazobactam est-elle toujours bactéricide?

M. Krebs[2-1], F. Robin[2-1], J. Delmas[2-1], D. Dubois[2-1], R. Bonnet[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie Clinique, CHU Clermont-Ferrand [2]Laboratoire de Bactériologie Clinique, Université d'Auvergne, JE2526, USC INRA2018, Clermont-Ferrand, France

L'utilisation intensive des associations de pénicillines et d'inhibiteurs des b-lactamases a entrainé l'émergence de b-lactamases de type TEM présentant une sensibilité diminuée à ces inhibiteurs : les Inhibitor Resistant TEM (IRT) et les Complex Mutant TEM (CMT). Face aux souches produisant ce type d'enzymes, l'association pipéracilline-tazobactam apparaît, malgré tout, généralement active avec les tests usuels évaluant l'activité bactériostatique des antibiotiques.

Nous avons testé l'efficacité de cette association sur 17 souches cliniques d'*Escherichia coli* productrices de différentes enzymes IRT (n=13) et MC (n=4) bien caractérisées. Nous avons d'abord déterminé l'activité bactériostatique de l'association par trois techniques différentes (automate Vitek2, diffusion en milieu gélosé et CMI), puis nous avons évalué son activité bactéricide en cinétique sur 24h à partir d'un inoculum initial standard (5.10^5 UFC/ml) et d'un inoculum lourd (5.10^6 UFC/ml).

La majorité des souches testées (n=16) étaient sensibles *in vitro* à l'association pipéracilline-tazobactam en bactériostase. Cependant au cours de l'étude cinétique de l'activité bactéricide, l'association pipéracilline-tazobactam n'est apparue bactéricide que sur les souches produisant les IRT-1, -2, -10 et -15 et sur celles produisant les CMT TEM-109, TEM-125 et TEM-151, soit seulement sept souches sur dix sept. Lors de l'utilisation de l'inoculum lourd (5.10^6 UFC/ml), l'activité bactéricide n'était obtenue sur aucune des souches produisant des TRI et pour seulement deux des souches productrices de CMT (TEM-109 et TEM-151).

Ces résultats suggèrent une activité limitée de cette association sur les souches produisant des enzymes de type TEM présentant une sensibilité diminuée aux inhibiteurs. Cette perte d'activité bactéricide pourrait être à l'origine d'échec clinique, en particulier chez des patients immunodéprimés.

En l'absence d'étude clinique permettant d'attester de l'efficacité *in vivo* de l'association pipéracilline-tazobactam sur des souches d'entérobactéries suspectes de produire une enzyme de type IRT ou CMT, ne faut-il pas interpréter les résultats sensibles de cette association en intermédiaire ou signaler le risque d'absence de bactéricidie ?

243/61o — 4 décembre 2009 - 14:45 - 342B

Activité bactéricide de la Colistine, de la Tigecycline et de leur association vis-à-vis de Bacilles à Gram Négatif fermentant et non fermentant

H.B. Drugeon[2], A. Michaud-Nerard[1]
[1]Drug R&D, Angers Technopole, Beaucouzé [2]Faculté de Médecine, Nantes, France

Objectif : Devant l'augmentation des résistances bactériennes chez les bacilles à Gram négatif, des antibiotiques anciens tel que la colistine sont associés à des antibiotiques récents tel que la tigécycline. Dans cette étude, l'activité bactéricide de la colistine, de la tigécycline ainsi que celle de leur association a été évaluée par la méthode des cinétiques de bactéricidie vis-à-vis de 14 souches de bacille à Gram négatif.

Méthodes : 2 souches (une de phénotype sauvage et une de phénotype BLSE ou Case) de chaque espèce (*E. coli, K. pneumoniae, E. cloacae, E. aerogenes, S. marcescens, P. aeruginosa, A. baumannii*) ont été étudiées par la méthode des cinétiques de bactéricidie. L'association est réalisée selon le schéma de l'échiquier dans des microplaques de 96 cupules, les concentrations variant de 0.125 à 8 mg/L pour la colistine et de 0.015 à 16 mg/L pour la tigécycline. Les bactéries survivantes ont été dénombrées à T0, T2, T4, T6, T8 et T24 heures.

Résultats : l'activité bactéricide (>2 log $_{10}$ CFU/ml) de la colistine s'observe dans les premières heures avec 2-4 mg/L et se confirme à 24h pour l'ensemble des souches à l'exception de *S. marcescens* vis-à-vis desquelles elle est inactive. L'activité de la tigécycline varie selon les espèces : elle est faible dans les premières heures et se renforce à 24h à l'exception de *P. aeruginosa* vis-à-vis desquelles elle n'est pas active ; elle présente un phénomène de rebond très net : la bactéricidie est plus intense à 1 x CMI qu'avec des concentrations supérieures. L'association est complexe : dans les

premières heures, l'activité de la colistine est diminuée par des concentrations élevées (non physiologiques) de tigécycline 2 -16 mg/L reproduisant un effet de rebond. A 24h, on observe surtout des images d'addition (FIC compris entre 0.5 et 1) avec des concentrations de colistine ¡Ý 1x CMI. Toutefois, avec des concentrations subinhibitrices (0.5-0.25 x CMI), la colistine inhibe en partie l'activité maximale de la tigécycline supprimant cette image de rebond,

Conclusion : L'association colistine-tigécycline présente à 24 heures principalement des images d'addition mais la dynamique de l'activité bactéricide présente des phénomènes complexes témoignant de la pluralité des mécanismes d'action.

244/61o 4 décembre 2009 - 15:00 - 342B

Évaluation de l'activité intracellulaire d'antibiotiques seuls et en association sur *Legionella pneumophila* par PCR quantitative, sur la lignée cellulaire U-937

G. Descours, C. Ginevra, F. Forey, M. Molmeret, S. Jarraud, J. Etienne
Centre National de Référence des légionelles, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon – Université Lyon1, Lyon, France

L. pneumophila, bactérie intracellulaire facultative, est responsable de plus de 95% des légionelloses. Elle est caractérisée par une grande sensibilité aux antibiotiques couramment utilisés dans le traitement des légionelloses, ne rendant pas pertinente la réalisation systématique d'un antibiogramme. Cependant, des échecs thérapeutiques sont régulièrement observés chez des patients correctement traités. Par ailleurs, plusieurs études ont montré la facilité avec laquelle des souches résistantes au traitement pouvaient être sélectionnées *in vitro*. Il n'est ainsi pas exclu que les légionelles puissent acquérir une résistance au cours d'un traitement, ou dans l'environnement hydrique.

L'activité extracellulaire des antibiotiques est étudiée par des méthodes conventionnelles basées sur la détermination des CMI sur milieu gélosé par Etest® ou en milieu liquide, qui ne considèrent pas la pénétration intracellulaire de l'antibiotique. Pour évaluer l'activité intracellulaire des agents antimicrobiens, le concept de concentration extracellulaire minimale inhibant complètement la multiplication intracellulaire de *L. pneumophila* (CMIE) a été défini.

Objectifs : Comparer les CMIE de souches de référence et de souches sauvages, et évaluer l'activité intracellulaire d'associations d'antibiotiques.

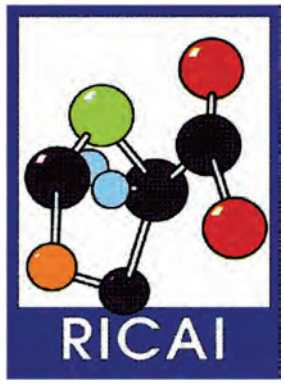
Méthode : Les CMIE de la lévofloxacine (Lvx), de l'érythromycine (E), et de la rifampicine (Rf) ont été déterminées sur trois souches de référence de *L. pneumophila* sérogroupe 1 (Lp1) endémiques (souches Paris, Lorraine et Louisa) et sur la souche Lp1 épidémique Lens, ainsi que sur deux souches de patients ayant présenté un échec thérapeutique. Les associations d'antibiotiques (Lvx/E, Lvx/Rf et Rf/E) ont été étudiées sur la souche Paris. La croissance bactérienne a été évaluée 72h après infection des cellules U-937, par PCR quantitative en temps réel (kit IQ-Check™ Quanti *L. pneumophila*, Bio-Rad).

Résultats : Les quatre souches de référence présentent des CMIE similaires : 0,016-0,032 mg/L pour Lvx ; 0,5-1 mg/L pour E ; 0,001-0,002 mg/L pour Rf. Les deux souches sauvages ne présentent pas de sensibilité diminuée aux antibiotiques. Pour la souche Paris, l'association Rf/E, et de façon beaucoup plus discrète, l'association Lvx/E sont synergiques, ce qui n'est pas le cas de l'association Lvx/Rf (indifférence).

Conclusion : Bien que réservée à des laboratoires spécialisés, la détermination des CMIE par PCR quantitative peut être proposée pour des souches de patients en échec thérapeutique et peut être appliquée à l'étude d'associations d'antibiotiques.

RÉSUMÉS
SESSIONS D'AFFICHES LIBRES

ABSTRACTS
FREE PAPERS FOR POSTERS SESSIONS



253/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Pratiques de prescription des antifongiques systémiques : enquête un jour donné à l'hôpital Saint-Louis

C. Jansen[3], M. Lafaurie[4], E. Raffoux[2], P. Ribaud[1], S. Touratier[3]
[1]Greffe de Moelle [2]Hématologie Adultes [3]Pharmacie [4]Référent anti-infectieux, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

Objectif : Cette étude a pour objectif d'évaluer la prévalence et la conformité des traitements antifongiques systémiques (TAF) à l'hôpital Saint-Louis.

Méthode : Une enquête un jour donné a été réalisée en mai 2009 dans l'ensemble des services d'hospitalisation, portant sur les TAF chez les adultes. Etaient relevées les informations concernant les patients, l'indication et les modalités d'utilisation des TAF. Les indications étaient validées avec le référent anti-infectieux selon le référentiel de l'hôpital.

Résultats : Quarante prescriptions de TAF étaient relevées (9% des 433 patients hospitalisés). Vingt-neuf patients (75%) étaient traités pour une hémopathie maligne et 14 avaient bénéficié d'une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Les TAF prescrits étaient : fluconazole (FCZ) (44%), posaconazole (PCZ) (25%), caspofungine (CAS) (18%), voriconazole (10%) et amphotéricine B liposomale (3%). Les TAF étaient prescrits en prophylaxie primaire (PP) chez 16 malades (41%), en curatif chez 20 patients (51%) et dans le cadre d'une neutropénie fébrile chez 3 malades (8%). Quatre patients étaient traités pour une aspergillose invasive, 14 pour une candidose (buccale : 6, œsophagienne : 2, urinaire : 3, candidémie : 2, autre : 1) et 2 pour infection fongique autre. Le TAF empirique était la CAS dans tous les cas. Le FCZ représentait 65% des prescriptions de TAF curatifs.

La prescription n'était pas conforme dans 9 cas (22%) : indication non-conforme dans 4 cas (2 prescriptions de CAS en PP, 2 de PCZ en PP pour neutropénie prolongée), posologies inadaptées dans 5 cas (candidoses orales traitées par FCZ).

Conclusion : Les prescriptions non-conformes étaient nombreuses (22%), liées soit à des situations cliniques non traitées dans le référentiel de l'hôpital (PP des neutropénies prolongées ou au cours d'une réaction du greffon contre l'hôte lorsque la voie orale impossible) soit à une erreur de posologie de FCZ pour traiter une candidose orale.

254/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Pratiques de la prescription des antibiotiques

A. Akpabie[6-7], H. Naga[3], A. Droulers[2], K. Giraud[4], J. Verdavainne[1], E. Etienne[1], C. Duche[5], L. Lakroun[3], J.C. Delacour[1], V. Routon[1], T. Haine[4]
[1]Gérontologie 1 [2]Gérontologie 2 [3]Gérontologie 3 [4]Gérontologie 4 [5]Laboratoire [6]Microbiologie [7]UHLIN, Hôpital Emile Roux, Limeil-Brévannes, France

Contexte : Hôpital de 903 lits d'hospitalisation complète ayant mis en place une campagne antibiotique et des recommandations locales de prescription des antibiotiques. Les prescriptions sont nominatives sur un logiciel sans dispositif incitant les prescripteurs à revoir leur prescription à J3 et J7.

Objectif : Estimer la conformité des prescriptions d'antibiotiques aux bonnes pratiques.

Méthode : L'étude porte sur les antibiothérapies systémiques instaurées, chez les patients en hospitalisation complète, du 1er au 30 juin 2009. Il s'agit d'un audit clinique basé sur le référentiel de la Haute Autorité de Santé - Stratégie d'antibiothérapie et prévention des résistances bactériennes en établissement de santé - Avril 2008. Les nouvelles antibiothérapies sont repérées sur le logiciel de prescription. A partir du dossier patient et pour chaque traitement antibiotique, une grille de recueil est complétée pour les critères suivants : la prescription initiale de l'antibiothérapie est inscrite dans le dossier patient, la réévaluation de l'antibiothérapie entre la 24ème heure et la 72ème heure est inscrite dans le dossier patient, la poursuite de l'antibiothérapie au-delà de 3-4 jours a été soumise à l'avis d'un médecin senior, la poursuite d'une antibiothérapie probabiliste au-delà de 3-4 jours est motivée. La justification de l'antibiothérapie dépassant 7 jours est appréciée sur le logiciel de prescription d'après l'indication ou la re-prescription. Les résultats attendus pour chaque critère : 100%.

Résultats : L'étude concerne 166 prescriptions. Les indications sont formulées pour chacune d'elles. La prescription initiale de l'antibiothérapie est inscrite dans 83% des dossiers patient. La réévaluation de l'antibiothérapie entre la 24ème heure et la 72ème heure est inscrite dans 63% des dossiers patient. Les internes ont réalisés 31 (19%) prescriptions et la poursuite de l'antibiothérapie au-delà de 3-4 jours est soumise à l'avis d'un médecin senior dans 84% des cas. L'antibiothérapie probabiliste concerne 105 (90%) prescriptions dont la poursuite au-delà de 3-4 jours est motivée dans 96% des cas. La durée de l'antibiothérapie est supérieure à 7 jours pour 92 (55%) prescriptions et une justification est disponible pour 51 (55%) d'entre elles. Les bêta-lactamines totalisent 59% des molécules prescrites et les fluoroquinolones 10%.

Conclusion : Dans cette étude, l'usage d'un logiciel garantit la prescription nominative et la mention de l'indication. Les critères examinés dépendent du prescripteur. Les résultats peuvent être considérés comme satisfaisants pour 3 items sur 5.

255/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

La prescription antibiotique à l'hôpital : connaissances, opinions et perception des médecins

J.C. Lucet[2], M.H. Nicolas-Chanoine[1], C. Roy[2], O. Riveros[2], S. Diamantis[2], J. Le Grand[1], E. Papy[2], A. Lefort[1], B. Fantin[1], C. Rioux[2], P. Ravaud[2]
[1]Hôpital Beaujon, Clichy [2]GH Bichat Claude Bernard, Paris, France

Introduction : L'observance des recommandations de bon usage des antibiotiques (BUA) reste faible dans les hôpitaux. Nous avons exploré les connaissances, les opinions et la perception sur le BUA.

Méthodes : Dans deux hôpitaux universitaires (950 et 470 lits), les chefs de service ont été sollicités pour participer à une enquête par questionnaire. Les médecins volontaires, prescripteurs en hospitalisation, ont complété (<1 h.) dans une réunion des services volontaires : (1) 4 cas cliniques (case vignettes) présentant des situations infectieuses caractéristiques, et explorant 4 aspects de la prescription : indication du traitement et choix du traitement à J0, réévaluation à J3, durée de traitement, et (2) un questionnaire explorant les opinions et la perception du BUA, comprenant 9 questions, cotées sur une échelle de Likert. Un score global (/20) a été calculé pour les cas cliniques, en combinant les réponses aux 4 cas. Une analyse multivariée par régression logistique a identifié les facteurs cognitifs associés à un score au dessus de la médiane.

Résultats : 31/41 (75%) services ont accepté de participer, et 206/412 (50%) médecins : 114 seniors (PH, PUPH) et 92 juniors (internes et CCA), 100 en médecine, 49 en chirurgie, 37 en anesthésie-réanimation (AR) et 20 aux urgences. Le score médian était de 11,4 (IIQ : 8,9-14,3). Les variables associées avec un score médian au dessus de la moyenne était : AR (ORa=3,33 ; IC95%=1,28-9,08 ; P= 0,01), chirurgien (0,14 ; 0,06-0,38 ;<0.0001), la perception qu'une antibiothérapie inappropriée est à risque pour le patient (3,17 ; 1,14-8,77 ; 0,03) et la perception d'être capable de respecter les recommandations (2,74 ; 1,35-5,57 ; 0,005).

Conclusion : La participation était élevée, et suggère un intérêt à la question du BUA dans ces deux hôpitaux. Les case vignettes sont un moyen simple pour évaluer les connaissances théoriques des prescripteurs, et sera à confronter avec leur pratiques réelles. Elles ont permis d'identifier les chirurgiens comme un groupe nécessitant des actions de formation ciblée. Au niveau individuel, il est possible d'identifier des éléments de perception qui peuvent aider à améliorer les pratiques d'antibiothérapie.

256/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Référent en antibiotiques et politique de bon usage : état des lieux dans 258 établissements de santé du Sud-Ouest de la France en 2008

C. Dumartin[2-1], M. Péfau[1], B. Amadeo[2], A.G. Venier[2-1], P. Parneix[2-1], A.M. Rogues[2-1]
[1]CCLIN Sud-Ouest [2]INSERM U657, Université Bordeaux 2, Bordeaux, France

Pour assurer le bon usage des antibiotiques (AB), les établissements de santé (ES) appliquent un programme d'actions conformément aux recommandations nationales. Le centre de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales du Sud-Ouest (CCLIN SO) organise une surveillance annuelle de l'utilisation des AB dont un objectif est de décrire les politiques de bon usage dans les ES et d'identifier les pistes de progrès. Un auto-questionnaire a été complété par 258 ES volontaires en 2008, soit 58% des ES de l'interrégion. Des mesures concernant l'organisation et la diffusion d'informations étaient en place dans plus de 80% des ES : instance de bon usage des antibiotiques, liste des antibiotiques disponibles, contrôle de la dispensation, surveillance de la consommation, suivi de l'écologie bactérienne, existence de recommandations locales. D'autres mesures comme la formation, l'évaluation des pratiques et l'informatisation étaient déclarées dans moins de 60% des ES. Un référent en antibiotique avait été désigné dans 82% ES, avec des variations selon le type d'ES (moins de 75% dans les hôpitaux locaux, ES de long séjour et ES psychiatriques). Il était titulaire d'un des diplômes recommandés dans 39% des cas et le temps médian consacré était de ½ journée hebdomadaire. Il était entouré d'une équipe multidisciplinaire dans 40% des ES mais le temps hebdomadaire médian consacré par l'équipe était de 4 heures seulement. Des dispositions sur le bon usage des AB figuraient dans les contrats de pôle dans moins d'un ES sur 5 ; des collaborations avec les médecins libéraux étaient formalisées dans 15 ES seulement. Cette enquête a permis d'apporter des informations complémentaires à celles de l'indicateur ICATB du tableau de bord des infections nosocomiales, utilisé pour suivre la mise en œuvre de la politique nationale. Des progrès restent à accomplir en matière de temps consacré par le référent en antibiotique et de ressources à sa disposition pour conduire davantage d'évaluations et de formations. Les équipes multidisciplinaires se développent depuis 2007 autour du référent. L'animation de réseaux de référents pourrait constituer un axe de travail au niveau régional pour promouvoir le partage d'expériences et la collaboration inter-ES et avec les médecins libéraux.

257/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation de la prescription antibiotique dans un centre hospitalier universitaire français

X. Bertrand[2], I. Patry[1], C. Slekovec[2], M. Thouverez[2], E. Curlier[3], J. Leroy[3]
[1]Bactériologie [2]Hygiène hospitalière, CHU Besançon [3]Maladies Infectieuses, CHU de Besançon, Besançon, France

Objectif : Évaluer la prescription antibiotique dans un centre hospitalier universitaire français.

Matériel et méthodes : Dans le cadre du projet européen ESAC, notre hôpital a participé à une enquête internationale comprenant une étude longitudinale mesurant la consommation antibiotique mensuelle de 2000 à 2008 et 3 enquêtes de prévalence au jour donné réalisées en 2006, 2008 et 2009. Tous les patients en hospitalisation complète présents le jour de l'enquête ont été inclus. L'adéquation des traitements antibiotiques a été évaluée en prenant pour référentiel les recommandations disponibles au sein de notre hôpital et les recommandations de bonnes pratiques.

Résultats : Entre 2000 et 2008, la consommation antibiotique globale est restée stable (approximativement 600 doses définies journalières pour 1000 journées d'hospitalisation). Les enquêtes de prévalence montrent qu'en moyenne 25% des patients reçoivent 1 ou plusieurs antibiotiques. La proportion de monothérapies a augmenté de 51 à 56% entre 2006 et 2009. Les infections communautaires représentent la première indication de traitement (de 42% en 2006 à 54% en 2009), les infections nosocomiales ne représentant qu'un tiers des prescriptions alors que les antibioprophylaxies chirurgicale et médicale cumulent 20 % des traitements. En 2009, les infections pulmonaires sont les plus fréquentes (30%) devant les infections de la peau et tissus mous (13%), les bactériémies (12%) et les infections osteo-articulaires (11%). Les b-lactamines sont la famille d'antibiotique la plus prescrite, représentant plus de 50% de l'ensemble des antibiotiques prescrits. Entre 2006 et 2009, la proportion de prescriptions de fluoroquinolones et de l'association amoxicilline-acide clavulanique a diminué, alors que celle des pénicillines sans inhibiteurs et des céphalosporines de troisième génération a augmenté. L'évaluation globale des traitements antibiotiques montre qu'environ 75% des antibiothérapies prescrites sont conformes aux recommandations sans amélioration entre 2006 et 2009.

Conclusions : Ce type d'étude ayant pour objet un audit global de la prescription antibiotique est très intéressant, en complément des mesures de consommation globale, pour suivre l'impact des actions de bon usage, identifier des points critiques et proposer des axes d'amélioration aux prescripteurs.

258/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Analyse de la prescription des antibiotiques dans deux CHU de l'Est algérien

A. Trima[1], F. Bousaha[2], F. Belhani[2], A. Aouati[3], M. Laouar[1]
[1]Maladies infectieuses [2]Pharmacie centrale, Annaba [3]Maladies infectieuses, CHU, Constantine, Algérie

Introduction : La part des antibiotiques dans la consommation globale des médicaments représente 37.6% pour le C.H.U de Constantine et 35.2% pour le C.H.U d'Annaba. Cette importance de l'antibiothérapie tient à de multiples facteurs épidémiologiques socio-économiques et professionnels.

Paradoxalement cette classe de molécules n'a pas vu la mise en place d'instruments de contrôle visant à rationaliser la consommation et la prescription. Dans le cadre d'un projet de recherche sur l'antibiothérapie, ils nous a paru judicieux d'étudier la prescription des antibiotiques dans ces deux C.H.U.

Méthodologie : Notre enquête s'est déroulée dans 5 services hospitaliers des C.H.U d'Annaba et de Constantine (4 services de médecine et un service de chirurgie).

Les dossiers des patients sortants ont été examinés sur un mois selon une fiche d'enquête. Sur 405 dossiers examinés, 359 ont été retenus. L'existence ou non d'un traitement antibiotique a été notée.

L'indication de la prescription est soit prophylactique soit thérapeutique. Dans un certain nombre de cas la prescription est qualifiée d'empirique. Finalement chaque prescription est estimée comme discutable, correcte ou incorrecte.

Résultats : L'étude des indications thérapeutiques montre que le % d'infections cliniques documentées varie de 0% (chirurgie et cardiologie) à 48% (maladies infectieuses).

Le % d'infections cliniques non prouvées bactériologiquement oscille de 29,4% (Réanimation) à 61% (Médecine interne). Le tau de prescriptions prophylactiques varie de 2,8% (Maladies infectieuses) à 52% (chirurgie). Le % de prescription empirique fluctue de 3,4% à 14,7%.

Les modalités thérapeutiques montrent que la monothérapie est variablement utilisée de 10% (chirurgie) à 78% (cardiologie). Le % de patients sous bithérapie varie de 34,5% à 64%

La trithérapie est utilisée dans 15,6% à 31%. Les traitements quadruples ne se voient qu'en réanimation (5,8% à18,7%).

Pour ce qui est de l'estimation de la prescription : dans les services de médecine, le % de traitements incorrects ou inappropriés varie de 24% à 39 %.

On peut considérer en moyenne que le % de traitement correct varie de 26% à 51.7%, il ne dépasse les 60% que pour les deux services des maladies infectieuses.

Les plus forts % de traitements prophylactiques sont retrouvés en cardiologie et en chirurgie (52%) ; or, plus de la moitié des traitements inappropriés le sont dans une indication prophylactique.

Il est cependant difficile de comparer entre eux les résultats obtenus quand au caractère justifié ou non de la prescription : le mode de recrutement des patients varie d'un hôpital à l'autre, l'orientation des services variables d'un hôpital à un autre expliquent en partie ces variations.

Conclusion : Cette enquête montre que les antibiotiques sont trop et souvent mal prescrits y compris en milieu hospitalier.

De nombreux auteurs ont noté qu'il n y avait pas de différence entre l'usage des antibiotiques dans un hôpital universitaire et non universitaire.

La mise en place d'une politique antibiotique à l'hôpital et d'instruments de contrôle en milieu libéral ne peut qu'améliorer la qualité d'usage des antibiotiques et diminuer la facture de ces molécules qui grève lourdement le budget médicament des établissements de santé.

259/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Pertinence et réévaluation de l'antibiothérapie à l'hôpital Louis Mourier

V. Fihman[3], V. Manceron[2], A. Courpon[3], G. Barnaud[3], B. Mesples[4], F. Bertrand[5], F. Benselama[1], L. Salomon[6], C. Branger[3], et les Membres de la Comission des Anti-Infectieux[3]
[1]Gérontologie [2]Médecine Interne [3]Microbiologie [4]Pédiatrie [5]Réanimation Médico-Chirurgicale [6]Santé Publique, CHU Louis Mourier, APHP, Colombes, France

Objectifs : Dans le cadre du bon usage des antibiotiques, l'hôpital Louis Mourier distribue un guide de poche d'antibiothérapie (ATB) depuis 2006. Le but de cette étude était d'évaluer la pertinence et le suivi des prescriptions d'antibiotiques à visée curative afin de définir des axes prioritaires de formation.

Méthodes : Une enquête prospective observationnelle « un jour donné » de traitement antibiotique pour une infection bactérienne suspectée ou documentée a été menée dans tous les services d'hospitalisation en juin 2009. Les critères d'adéquation portaient sur l'indication de traitement, le choix des antibiotiques, les doses prescrites. Pour toute prescription d'antibiotique en cours depuis plus de 72h, la qualité de la réévaluation du traitement a été également observée.

Résultats : Sur 368 patients présents, 64 patients (17%) recevaient au moins un antibiotique à visée curative. Parmi ces patients, en MCO, 40 adultes [âge médian 69 ans (15-95 ans)] avaient une durée d'hospitalisation moyenne avant ATB de 7 jours, 12 enfants [<1 an (0-8 ans)] de 1 jour et en SSR-SLD, 12 adultes [78 ans (56-93 ans)] de 739 jours.

Les infections communautaires représentaient 61% des indications de traitement. Les infections les plus fréquentes étaient : digestives (21%), pulmonaires (20%), urinaires (19%) et materno-foetales (9%). L'ATB était prescrite avant documentation dans 78% des cas. Les classes d'antibiotiques les plus prescrites en probabiliste étaient les Céphalosporines de 3ème génération (44% des cas) et les Pénicillines+Inhibiteurs (22%). Une association était prescrite dans 50% des cas, fréquemment avec un aminoside (22%), un imidazolé (14%) ou un macrolide (8%).

L'ATB initiale était utile dans 97% des cas **mais** non conforme dans 18% des cas, notamment en termes de choix de molécule (16%) ou de dose (13%). Parmi les 64 patients, 42 recevaient une ATB depuis plus de 72h. Une réévaluation de l'ATB était notée dans le dossier dans 14 cas (33%) alors qu'elle était nécessaire dans 24 cas (57%) au vue de la documentation et/ou de l'évolution clinique.

Conclusion : Ce travail montre un bon respect des recommandations et une faible prescription de fluoroquinolones (6%). Des actions correctives doivent être mise en œuvre pour inciter à la réévaluation du traitement à 48-72h.

260/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Qualité des prescriptions antibiotiques (fluoroquinolones, aminosides et amoxicilline-acide clavulanique) ; évaluation dans les secteurs de médecine d'un CHRU

S. Mechkour[2], A. Vinat[2], M. Yilmaz[1], K. Faure[3], B. Grandbastien[2]
[1]Pharmacie centrale [2]Service de gestion du risque infectieux et des vigilances [3]Service des maladies infectieuses, CHRU, Lille, France

Les résistances bactériennes aux antibiotiques sont en constante évolution. L'utilisation excessive ou inappropriée des antibiotiques en est le déterminant essentiel. L'optimisation du bon usage des antibiotiques dans les établissements de santé est d'ailleurs un indicateur du tableau de bord des infections nosocomiales.

Objectif : Evaluer la qualité des prescriptions de fluoroquinolones, d'aminosides et de l'amoxicilline-acide clavulanique au sein des secteurs de médecine.

Méthodes : Recueil un jour donné des prescriptions antibiotiques ciblées sur ces molécules. Comparaison aux recommandations locales et aux manuels de références. Evaluation des antibiothérapies sur le choix de la molécule, les conditions d'administration (posologies, voies et rythmes d'administration, durées de traitement), la réévaluation des traitements à 48-72h, l'adaptation posologique des aminosides selon les dosages sériques.

Résultats : Un jour donné, 63 patients ont été évalués pour 67 antibiotiques

« cibles ». Les prévalences des patients sous antibiotiques ou sous antibiotiques « cibles » étaient respectivement de 24,4% et 14,6. Le choix de la molécule était conforme pour 67% des prescriptions. Les posologies administrées étaient adéquates pour 94% des traitements, de même que les rythmes d'administration pour 97%. Le relais per os dés que possible a été réalisé pour un patient sur deux. Les durées prévisibles de traitement ont été respectées pour 94% des prescriptions. La réévaluation des antibiothérapies à 48-72h a été réalisée dans 66% des cas. L'adaptation posologique des aminosides, quand elle était nécessaire, a été réalisée une fois sur trois. Pour l'ensemble des critères de qualité mesurés, le niveau de conformité globale des prescriptions était de 44%.

Conclusion : La qualité de l'antibiothérapie en médecine peut être améliorée. Différentes actions pourraient être envisagées : diffusion large de protocoles, réévaluation systématique des traitements antibiotiques à 48-72h, formation des jeunes prescripteurs, évaluation périodique de l'antibiothérapie et rétro-information des cliniciens pour réajuster les points défaillants, renforcement du rôle des correspondants médicaux en antibiothérapie, des infectiologues et de leurs partenaires hospitaliers.

Mots clefs : Antibiotique, bon usage, indicateur, prévalence.

261/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Analyse de la prescription des antibiotiques en médecine interne : bilan sur 5 ans d'audits

A. Le Bris[3], C. Billon[3], A. Greder-Belan[2], B. Pangon[1], A. Therby[2], F. Samdjee[3]
[1]Bactériologie [2]Médecine Interne [3]Pharmacie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France

Objectif : Depuis octobre 2004, une étude sur la prescription des antibiotiques est réalisée plusieurs fois par an dans le service de médecine interne du Centre Hospitalier de Versailles (32 lits en 2008). En 2009, un bilan a été réalisé après cinq ans d'audits, afin d'évaluer l'impact de ces enquêtes.

Méthodes : L'étude des prescriptions d'antibiotiques est une enquête prospective, pendant un mois, réalisée par l'externe en pharmacie. Elle permet de vérifier l'adéquation de la prescription avec le référentiel local ou avec les bonnes pratiques (choix de la molécule, posologie, voie d'administration), la corrélation entre la microbiologie et l'antibiothérapie, et la durée de traitement. L'analyse de l'audit est effectuée par un microbiologiste, un pharmacien, le référent infectiologue et la présidente de la commission des anti-infectieux (COMAI), tous deux médecins dans ce service. Les résultats sont présentés par l'externe en pharmacie au staff du service, afin que des mesures correctives soient éventuellement apportées.

Résultats : Neuf audits ont été analysés. En moyenne 59 lignes d'antibiotiques sont prescrites par enquête (30 patients, 54% femmes, âge 67 ± 4 ans). Le taux de conformité global n'évolue pas de façon significative entre les différentes périodes (86%), de même que les taux de conformité de chaque critère (choix de la molécule : 92%, adaptation au germe : 96%, posologie : 96%, voie d'administration : 99%, durée de traitement : 92%).

Conclusion : L'analyse des audits de prescription de 2004 à 2008 montre que les taux de conformité ne sont pas modifiés d'une période à l'autre, malgré les mesures correctives apportées (ex : proposition par la COMAI de durées de traitement dans le livret d'antibiothérapie). Ceci peut s'expliquer par le fait que ces pourcentages sont déjà élevés en comparaison avec d'autres études similaires réalisées dans d'autres centres hospitaliers [1,2,3]. Cependant, ces audits sont réalisés dans un service spécialisé en pathologies infectieuses. La méthodologie de l'étude étant validée, il nous est paru pertinent de proposer cette enquête à d'autres services moins impliqués dans l'antibiothérapie (service de cardiologie en 2009).

[1] Sur la route du bon usage : le guide des anti-infectieux
S. Gupta, J. Raffin, I Peyron, S. Gallah, A. Sarfati, E. Pautas.
27 et 28 novembre 2008- XXXèmes Journées d'Étude de Pharmacie Hospitalière A.P.H.I.F
[2] Prescriptions d'antibiotiques : évaluation du guide d'antibiothérapie
Edme P, Roche JL, Smycz J, Saufnai C, Mounier M
27 et 28 novembre 2008- XXXèmes Journées d'Étude de Pharmacie Hospitalière A.P.H.I.F
[3] Antibiothérapie du sujet agé : évaluation du plan d'amélioration
M. bourdelin, T. Henon, J. Leroy, M. Becker, S. Limat, MC. Woronoff-lemsi
27 et 28 novembre 2008- XXXèmes Journées d'Étude de Pharmacie Hospitalière A.P.H.I.F

262/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Surveillance des consommations d'antibiotiques (CAB) dans un centre régional de lutte contre le cancer (CRLCC) sur une période de 4 ans

M. Dupon[1-2], C. Donamaria[2], F. Chomy[2], A. Laschéras-Bauduin[2], F. Dauchy[1], C. Cazanave[1]
[1]CHU Pellegrin [2]Institut Bergognié, Bordeaux, France

Introduction et objectifs : Etudier les CAB sur 4 ans afin d'évaluer l'impact de la politique de bon usage des antibiotiques basée sur une prescription et un référentiel informatisés (Antibiogarde), un référent local en antibiothérapie et un consultant infectiologue, ainsi qu'une pharmacienne référente.

Matériel et méthodes : Le CRLCC comprend 158 lits d'hospitalisation conventionnelle dont 100 de médecine ; il ne pratique pas de greffes médullaires. Les tumeurs malignes les plus représentées sont les cancers du sein, de l'appareil génital, digestif, des voies aériennes, des tissus mous.

Les CAB sont exprimées en DDJ pour 1 000 journées d'hospitalisations ou pour 100 admissions et détaillées selon. L'hospitalisation conventionnelle >24h est retenue pour l'analyse.

Résultats :

	2005	2006	2007	2008
DDJ totales	13214	14536	17442	16882
DDJ/1000 JH	305	367	403	397
DDJ/100 Admissions	178	182	225	207

L'étude des variations observées avec des différences entre l'évolution des ddj/1000 et des ddj/100 admissions est complexe. Elle nécessite une interprétation prenant en compte le type de service (différences médecine ou chirurgie), la fermeture temporairesd'unités (année 2006), le type d'hospitalisation (24h avec une augmentation de la prise en charge en hospitalisation de jour), le type de tumeurs et de chimiothérapies (plus agressives en termes de neutropénies pour hémopathies, sarcomes, tissus mous ; tumeurs digestives), le type de molécules (stabilité pour les pénicillines, augmentation pour fluoroquinolones due essentiellement à une optimisation posologique).

Conclusion : La surveillance informatisée des CAB dans un CRLCC nécessite une interprétation prenant en compte différents paramètres explicatifs.

263/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Incidence des souches de *Staphylococcus aureus* résistantes aux antibiotiques (SARM et SASM) dans 43 Centres Hospitaliers et corrélation avec la consommation antibiotique

A.V. Apery[3], P.Y. Donnio[3-4-1], A. Gaschet[3-4], A. Le Coustumier[2], Col BVH[1]
[1]Collège de Bactériologie-Virologie-Hygiène des Hôpitaux de France [2]Laboratoire de Biologie, CH, Cahors [3]Service de Bactériologie-Virologie et Hygiène Hospitalière, CHU [4]EA124 Risques Infectieux, Université Rennes1, Rennes, France

Lors d'une étude menée en 2004 nous avions prouvé que plus de 90% des souches de SASM avec 2 mécanismes de résistance aux antibiotiques dérivaient de SARM par excision de la cassette SCC*mec*, support mobile du gène *mecA*. L'étude des caractéristiques moléculaires avait également permis d'objectiver leur diffusion épidémique dans certains établissements. Afin de mieux comprendre les facteurs favorisant l'apparition de ces souches, nous avons mené une étude rétrospective et confronté les données d'incidence à celles de la consommation antibiotique pour la même période.

Quarante-trois hôpitaux (39 CH et 4 CHU) ont rapporté le nombre de patients hospitalisés chez qui une souche de *S. aureus* avait été isolée en 2007 d'un prélèvement diagnostique et nous avons analysé les données concernant 2 catégories de souches : SARM et SASM résistants (SASM-R) définis comme résistant aux fluoroquinolones ou résistant à la fois aux MLS et aux aminosides.

Contrairement à l'étude initiale, aucun établissement ne présentait une situation épidémique. Une forte corrélation (r^2 = 0,77) était retrouvée lors de l'analyse entre le nombre de SARM et celui de SASM-R par centre. Dans l'échantillon pris dans sa globalité existait une relation linéaire (r^2 = 0,98) entre les 2 catégories, une fois considérée la correspondance des phénotypes avant et après excision de SCC*mec*.

La confrontation avec la pression antibiotique a permis de retrouver une corrélation entre incidences de SARM et quantités globales d'antibiotiques (r^2 = 0,28), de β-lactamines (r^2 = 0,25) et de fluoroquinolones (r^2 = 0,20) consommés. Il n'existait pas de corrélation entre incidence de SASM-R et consommation de ces antibiotiques, mais les coefficients de détermination retrouvés pour les 2 catégories agrégées (SARM+SASM-R) étaient légèrement supérieurs à ceux obtenus pour les SARM seuls : respectivement 0,33, 0,30 et 0,22.

En conclusion, il n'existe pas, en situation non épidémique, de relation entre incidence des SASM-R et consommation antibiotique, contrairement aux SARM. Il existe par contre une relation étroite entre incidences de SARM et de SASM-R. Ces derniers font partie intégrante du paysage staphylococcique des hôpitaux français et doivent être pris en compte dans la surveillance de la résistance aux antibiotiques.

264/65A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Utilisation des antibiotiques par secteur d'activité clinique dans 357 établissements de santé : données 2007 du réseau de surveillance inter-CCLIN

C. Dumartin[2-1], F. L'hériteau[5], M. Péfau[1], X. Bertrand[4], S. Boussat[4], P. Jarno[6], P. Angora[6], L. Lacavé[5], K. Saby[4], A. Savey[3], F. Nguyen[3], A. Carbonne[5], A.M. Rogues[2-1]
[1]CCLIN Sud-Ouest [2]Unité INSERM 657, Université Bordeaux 2, Bordeaux [3]CCLIN Sud-Est, Lyon [4]CCLIN Est, Nancy [5]CCLIN Paris-Nord, Paris [6]CCLIN Ouest, Rennes, France

Afin de promouvoir le bon usage des antibiotiques (AB), les établissements de santé (ES) doivent développer un programme d'actions comportant une surveillance de la consommation des AB. Les centres de coordination de la lutte contre les infections nosocomiales (CCLIN) ont coordonné un réseau de surveillance en 2007 dont les objectifs étaient de décrire la consommation des AB et de permettre à chaque ES d'analyser ses consommations par rapport à

un ensemble comparable. Les consommations des antibiotiques à visée systémique de la classe J01 de la classification Anatomical Therapeutic Chemical (ATC), ainsi que la rifampicine et les imidazolés per os dispensés en hospitalisation complète, ont été exprimées en nombre de doses définies journalières (DDJ) et rapportées à l'activité pour 1000 journées d'hospitalisation (JH) selon les recommandations nationales et de l'OMS (système ATC-DDD, 2007). Les données ont été collectées par secteur d'activité clinique dans 357 ES représentant 26 millions de JH.

La consommation médiane d'AB variait de 60 DDJ/ 1000 JH en psychiatrie à 1466 DDJ/ 1000 JH en réanimation. Les quantités observées en médecine et chirurgie étaient comparables (553 et 583 DDJ/1000 JH respectivement), mais les profils de consommations différaient. Les consommations étaient plus faibles en pédiatrie (333), gynécologie-obstétrique (308), soins de suite et de réadaptation (SSR) (213) et soins de longue durée (76). L'amoxicilline-acide clavulanique était l'antibiotique le plus consommé sauf en gynécologie-obstétrique et en pédiatrie où l'amoxicilline seule était plus consommée. Les fluoroquinolones occupaient la seconde place en médecine, chirurgie, réanimation et SSR (13 à 19% des antibiotiques selon le secteur). La rifampicine et les imidazolés per os représentaient 1 à 2% et 0,3 à 1,3% respectivement. Pour un même secteur d'activité, les consommations variaient selon le type d'établissement.

Cette surveillance en réseau des consommations d'AB détaillées par secteur d'activité a permis d'obtenir des informations sur un grand nombre d'établissements et constitue un référentiel permettant à chaque ES surveillant sa consommation d'AB de se situer par rapport aux autres et de prioriser des actions d'amélioration des pratiques.

265/66A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Culture d'*helicobacter pylori* : étude rétrospective de 2004 à 2009

S. Trombert-Paolantoni, P. Figarella, L. Maury
Microbiologie, Laboratoire Cerba, Cergy Pontoise, France

Objet de l'étude : Suivre l'évolution de la prescription et l'évolution de la résistance aux antibiotiques *d'H. pylori*.

Méthodes : La ou les biopsies, antrale et fundique, sont acheminées dans un milieu de transport Portagerm pylori (bioMérieux) conservé à +4°C ou congelées à sec dans un tube stérile transporté dans de la carboglace. Chaque biopsie est découpée en deux fragments : un pour l'examen direct au Gram et le test à l'urée, un autre broyé dans un broyeur de Potter pour la mise en culture. L'ensemencement est réalisé sur gélose Columbia additionnée de 10% de sang de cheval et sur gélose Columbia au sang de cheval additionnée d'un mélange antibiotique de vancomycine (10mg/L), triméthoprime (5mg/L), amphotéricine B (5 mg/L), polymyxine (5mg/L). Les cultures sont lues après 4 jours et 12 jours d'incubation à 37°C en atmosphère microaérobie (Campygen®, Oxoïd). L'identification repose sur l'aspect macroscopique et microscopique des colonies, les caractères oxydase, catalase et uréase positifs. L'antibiogramme est réalisé à partir d'une suspension bactérienne de Mc Farland 3 par la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques et E-test).

Résultats : De janvier 2004 à mai 2009, le nombre de biopsies mises en culture est respectivement de 15 et 38 par mois. Dans le même intervalle, le pourcentage de cultures positives est respectivement de 44% et de 61%. La biopsie gastrique est réalisée en moyenne après 1 à 2 tests à l'urée marquée positifs. La résistance de 2004 à 2009 est respectivement de 76.8% et de 79.0% pour la clarithromycine, de 78.6% et de 81.5% pour le métronidazole, de 17.8% et de 26.4% pour la lévofloxacine et de 1.4% et de 2.5% pour la rifampicine.

Conclusion : En 6 ans, on note une augmentation de 60% de la prescription. De plus on observe une augmentation de près de 20% des cultures positives, témoignant d'une meilleure phase préanalytique. La résistance à la clarithromycine et au métronidazole évolue peu et est d'emblée élevée, reflet des échecs des antibiothérapies de première et de seconde ligne. La résistance à la rifampicine est faible et stable alors que la résistance aux fluoroquinolones concerne un quart des souches. Enfin, aucune résistance à l'amoxicilline et aux tétracyclines n'a été détectée.

266/66A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation de 3 tests de diagnostic rapide de *Campylobacter jejuni* et *C. coli* à partir d'échantillons fécaux

L. Keller, S. Cohen-Bacrie, C. Valmary, M.F. Prère
Laboratoire de Bacteriologie - Unité de Pédiatrie, CHU de Toulouse, Toulouse, France

Les *Campylobacter jejuni* et *C. coli* sont une des causes bactériennes les plus communes de syndrome diarrhéique. Cependant, la symptomatologie peut être atypique et égarer vers un tableau chirurgical. De plus, une antibiothérapie adaptée est nécessaire précocément dans les cas sévères. Ainsi, la mise en place d'un test de diagnostic rapide se justifie.

Trois nouveaux tests sont disponibles pour détecter les deux espèces :

- Ridascreen Campylobacter® (r-biopharm), test immunoenzymatique
- PREMIER CAMPY® (Méridian), test immunoenzymatique
- Immunocard STAT ! CAMPY® (Méridian), test unitaire immunochromatographique.

Nous avons évalué ces trois tests en période de campylobactériose sur 30 échantillons fécaux d'enfants hospitalisés à l'hôpital des enfants CHU de Toulouse pour un tableau abdominal. Les échantillons consistaient en 6 selles et 24 écouvillonages rectaux (en milieu de transport). La coproculture a été réalisée avec recherche des différents pathogènes classiques dont *Campylobacter sp.* sur milieu Campylosel® (Biomérieux).

Les résultats ont été les suivants :

1. aucune discordance entre les résultats des trois tests
2. aucune discordance entre culture et tests rapides : 15 positifs (en culture : 12 *C. jejuni* et 3 *C. coli*) et 15 négatifs
3. la présence d'une bactérie pathogène entérique telle que *Salmonella sp.*, *C. difficile*, EPEC, EHEC, ainsi que celle des bactéries de la flore commensale n'ont pas faussement positivé le test.
4. le test a pu être pratiqué avec succès à partir d'échantillons rectaux.

En conclusion, en raison de sa facilité de réalisation, de la rapidité de la réponse (≤20 minutes) et de l'avantage incontestable d'un test unitaire adapté en routine de laboratoire, le test Immunocard STAT!Campy® (Méridian) constitue un outil de diagnostic performant permettant d'orienter immédiatement la prise en charge du patient.

267/66A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Performance of GenoType® HelicoDR, a novel molecular assay for the detection of *Helicobacter pylori* in gastric biopsy specimens and the determination of clarithromycin and fluoroquinolone resistance

C. Roure Sobas[2], M. Pérouse de Montclos[1], O. Raulin[2], L. Boulet[2], A. Baudouin[2], H. Salord[2], J.P. Rasigade[2], F. Laurent[2], S. Tigaud[2]
[1]Bactériologie, Groupe Hospitalier Sud [2]Bactériologie, Hôpital Croix Rousse, Lyon, France

Background: Routine diagnosis of *Helicobacter pylori* (Hp) infection generally relies on histology and culture of biopsies obtained during endoscopy. Hp culture lacks sensitivity due to transport delay or the presence of a viable but noncultivable Hp strain. In this context, molecular testing for Hp is potentially more convenient and reliable. GenoType® HelicoDR (Hain Lifescience, Nehren, Germany) allows Hp DNA detection and the determination of clarithromycin and fluoroquinolone resistance, through specific probe hybridization of the mutated and wild-type 23S rRNA and *gyrA* genes.

Objectives: To assess the performance of the novel GenoType® HelicoDR molecular assay for Hp detection in gastric biopsy specimens, and compare it with that of histology. To describe clarithromycin and fluoroquinolone resistance rates in Hp strains detected through this molecular assay.

Methods: One hundred and seventy-five gastric biopsy specimens from 118 patients were collected from January to July, 2009. HelicoDR assay and histology were performed on all specimens. Culture and phenotypic antibiotics resistance profiling were not performed. Antibiotics resistance rates were assessed from the HelicoDR results.

Results: Eighty-four of 175 specimens (48%) were Hp-positive through HelicoDR assay, whereas histology yielded 47 Hp-positive specimens (26.8%). Thirty-nine specimens (22.2%) were Hp-positive through the HelicoDR assay but not through histology. Only two specimens (1.1%) were histology positive but HelicoDR negative. Of 57 HelicoDR positive specimens after exclusion of duplicates, 26 (45.6%) and 3 (5.3%) were positive for clarithromycin and fluoroquinolone resistance, respectively. Clarithromycin resistance was mostly associated with the A2147G mutation of the 23S rRNA gene. Fluoroquinolone resistance was associated with mutations at codons 87 or 91 of the *gyrA* gene. Co-resistance to both clarithromycin and fluoroquinolone was not found.

Conclusions: GenoType® HelicoDR is a rapid and convenient method for Hp infection screening in gastric biopsies and for genotypic determination of clarithromycin and fluoroquinolone susceptibility. Further experiments are needed to estimate the correlation between HelicoDR antibiotics resistance assay and phenotypic resistance profiling.

268/66A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Séquencage du génome de deux souches de *Helicobacter pylori* à l'aide de la technologie Roche FLX Titanium : nouvelles données sur la diversité génétique et la virulence de cette bactérie

P. Lehours[2-1-3], A. Anderson[4-3], M. Bjursell[5], R. Advani[3], O. Melefors[3], S. Glavas[3], F. Mégraud[2-1], L. Engstrand[3-4]
[1]Centre National de Référence des Campylobacters et des Helicobacters, CHU Pellegrin [2]Laboratoire de Bactériologie, INSERM U853, Université Victor Ségalen Bordeaux 2, Bordeaux, France [3]Swedish Institute for Infectious Disease Control, Solna [4]Department of Microbiology, Tumor and Cell Biology, Karolinska Institute [5]KTH Royal Institute of Technology, Stockholm, Suède

Les génomes de deux souches de *Helicobacter pylori* isolées de patients souffrant de lymphome gastrique du MALT (souches B45 et B49) ont été séquencés : B45 (*cag*PAI(+)) a été isolée en France d'un homme de 41 ans, B49 (*cag*PAI(-)) d'un homme de 29 ans.

La technologie Roche FLX Titanium a été utilisée pour le séquençage. Les séquences obtenues on été alignées à l'aide du logiciel d'assemblage Newbler. Le logiciel d'analyse bioinformatique AMIgene a été utilisé pour prédire les régions codantes (CDS) dans les contigs obtenus. Les CDS ont été comparées aux 7 génomes de référence 26695, J99, HPAG1, G27, P12, Shi270 et B38 de la base Pyloriscope disponible dans MAGE (www.genoscope.cns.fr/agc/mage/).

Pour B45 un total de 119 093 séquences (42 053 698 bases) ont été obtenues (couverture d'environ 26X) et pour B49, 167 745 séquences (48 908 440

bases, couverture d'environ 30X) : 63 et 39 contigs respectivement ont été construits, représentant un total de 1 602 587 et 1 624 271 bases.

Au total 1607 CDS ont été prédits pour B45, 1647 pour B49. B45 partage en moyenne 1315 CDS aux 7 souches de référence, et B49 en moyenne 1326. Le génome de B45 possède une région génomique de 30 kb environ, présentant de fortes homologies avec un prophage décrit dans *Helicobacter acinonychis*. Une PCR ciblant une intégrase de ce prophage a permis d'identifier 30% de souches positives. Il s'agit ici de la première description de la présence dans le génome de *H. pylori* d'un prophage de grande taille. Le génome de B49 contient une zone dite "de plasticité" qui comporte de nombreux homologues du gène *vir* et forme un système de sécrétion de type IV. Cette région contient deux copies d'un homologue du gène JHP0950 préalablement identifié comme un marqueur génétique des souches de lymphome (Lehours et al, Gut 2004). Ces deux différentes régions génomiques partagent la même séquence d'insertion nommée IS*Hp608*.

En conclusion la technologie Roche FLX Titanium est parfaitement adaptée au séquençage de génomes bactériens. Nous posons l'hypothèse que la zone de plasticité dans la souche B49 forme un nouvel îlot de pathogénicité. Les données obtenues suggèrent la participation de prophages dans la diversité génétique de *H. pylori* et potentiellement dans la virulence de cette bactérie.

269/66A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Evaluation of reverse hybridisation strip for the detection of *Helicobater pylori* and of the mutations associated with fluoroquinolones and macrolides resistance

P. Bogaerts, W. Bouchahrouf, H. Nizet, Y. Glupczynski
Service de Bactériologie, Cliniques Universitaires UCL de Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

Purpose of the study: To evaluate the performance of the Genotype® HelicoDR kit for the detection of *Helicobacter pylori* (HP) and of the mutations associated with resistance to quinolones and macrolides directly from gastric biopsy specimens.

Methods: Between 19/12/2008 and 13/02/2009, 396 gastrics biopsies were obtained mostly from outpatients followed at an hospital-base endoscopy clinic. Antral and fundus gastric biopsy specimens were processed for *H. pylori* culture on selective agar plates (Pylori plate BioMérieux) under microaerobic conditions (5% O_2, 10% CO_2, 85% N_2). Minimal inhibitory concentrations (MICs) were determined on HP isolates by Etest (bioMérieux). HP Isolates with MIC values ≥ 1mg/L against chlarithromycin (CLAR) and levofloxacin (LEVO) were considered as resistant (R). DNA extracts from positive and negative biopsies were genotyped (amplified and revealed by reverse hybridization on strip) with Genotype® HelicoDR kit (Hain) according to instructions of the manufacturer. Results obtained with phenotypic reference method and genotypic methods were compared.

Results: Among 396 gastric biopsies, 68 (17%) were positively detected by culture. Among those, 52 were randomly selected for analysis with HelicoDR, Additionnally, we also tested 11 randomly chosen HP negative biopsies. Overall, 51 out of 52 HP positive biopsies were detected by HelicoDR (98.1% sensitivity) and 1 out of 11 of HP negative biopsies was considered as positive by HelicoDR (specificity 90.9%). Sensitivities and specificities of detection of resistance to CLAR by HelicoDR was 100% and 94.9% respectively and 78.6 and 91.9% for LEVO. The apparently lower concordance percentages observed for LEVO could be ascribed to 3 "non interpretable" results with Hain strip (absent or faint bands on the strip), 1 strain sensitive (S) by Etest but R with HelicoDR strip and 2 strains phenotypically R reported S by HelicoDR

Conclusion: The Genotype® HelicoDR simultaneously detects the presence of HP and of the point mutations associated with the resistance to quinolones and macrolides without sequencing directly from gastric biopsy specimens. The analytical performances of the test are satisfactory. The results can be obtained within 1 working day VS 7 to 10 days with conventional culture and antimicrobial susceptibility testing at a cost of about 30 € VS 10 € for culture. This test may represent an interesting alternative at least for laboratories which are not equipped for HP culturing but it necessitates specific PCR equipments. Additional studies are required to evaluate its clinical added value in routine conditions.

270/66A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Polycolonization and distribution of virulence factors of *Helicobacter pylori* among Tunisian subjects

K. Ben Mansour[5], C. Burucoa[1], M. Zribi[5], A. Masmoudi[5], M. Labbène[3], A. Meherzi[8], A. Filali[6], N. Ben Memi[7], T. Najjar[4], T. Sfar[2], C. Fendri[5]
[1]EA,3807 Diversité génétique et antigénique, Hp, Pôle Biologique et Santé, Poitiers, France [2]Pédiatrie, Hôpital Tahar Sfar, Mahdia [3]Unité de gastroentérologie, Hôpital Menzel Bourguiba, Menzel Bourguiba [4]Unité de gastroentérologie, Hôpital Charles Nicolle [5]Laboratoire de Microbiologie [6]Unité de gastroentérologie A [7]Unité de gastroentérologie B, Hôpital la Rabta [8]Pédiatrie, Hôpital Mongi Slim, Tunis, Tunisie

Objective: *Helicobacter pylori* infections are frequent in Tunisia in the course of gastric pathologies : symptomatic children (60%) and ulcerous adults (70 to 80%). Several virulence factors are thought to be important (*vacA*, *cagA*, *iceA*, *oipA*…) among Tunisian patients and its prevalence in the Tunisian population merits to be recognized. Than, it is important to investigate the situation with regard to infection with multiple strains of *H pylori*.

Methods: In our prospective study, we have established the prevalence of *H pylori* virulence factors and polycolonization of *H pylori* from 281 patients infected by strains isolated from antral (250) and/ fundus (236) mucosa biopsies taken from Tunisian symptomatic patients having different gastric pathologies, and others who are asymptomatic models.

A total of 486 strains were studied by PCR for differences in the genotypes of *cagA*, *oipA*, *iceA* and *vacA*.

Results: The *cagA* gene was detected in 61.5% (173 patients) of *H pylori* with a discordance of 9.6% between antral and fundic strains. The *oipA* gene was detected in 90% (254 patients) with a discordance antre/fundus of 8.5%. The *iceA*1, *iceA*2 genes were detected in 56.5% and 16% of our *H.pylori* respectively. 52 strains of *H. pylori* were found to have both *iceA*1 and *iceA*2. In our *H.pylori,* we isolated 20% of strains of the common *vacA* genotype m1s1/m2s1 and, 44.8% were found to be *vacA* m2s2. 30.6% was found to have both *vacA* m1 and m2. The *vacA* gene puts in evidence a coinfection with 2 different strains of *H. pylori*.

Conclusion: These results found the situation among Tunisian patients with regard to infection with multiple strains of *H. pylori*. Than, they showed the presence of a correlation between our study and others having described the distribution of several virulence factors and the polycolonization of *H. pylori*.

271/66A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Détection rapide par culture de *Streptococcus agalactiae* dans les prélèvements vaginaux sur un nouveau milieu chromogène : CHROMagar StrepB

J. Charron, E. Demondion, P. Laudat
Microbiologie, Laboratoire Arnaud, Tours, France

Objectif : Évaluer la sensibilité et spécificité technique d'un nouveau milieu chromogène CHROMagar StrepB pour la recherche des streptocoques du groupe B (SGB) dans les prélèvements vaginaux, au cours du dépistage lors du dernier trimestre de grossesse (N=143) et en dehors d'un contexte de grossesse (N=178) ainsi que sur une collection de 66 souches connues de *Streptococcus spp* et *Enterococcus spp*.

Méthodes : Sensibilité technique : un total de 321 écouvillons de prélèvements vaginaux réalisés hors (N=178) ou en cours de grossesse (N=143) sont mis en culture suivant les recommandations (HAS) sur un milieu gélosé non sélectif (gélose au sang-TS 5% sang de mouton- BD) par isolement en vue d'évaluation semi quantitative de l'abondance du portage. En parallèle et dans les mêmes conditions est ensemencé le milieu chromogène, CHROMagar StrepB. Les cultures sont incubées à 36°C avec 5% de CO2 et lues après une nuit d'incubation (< à 24 H) selon les recommandations du fabricant (puis à 48H pour confirmation).

Spécificité technique : un total de 66 souches conservées congelées ou isolées au cours de la période d'évaluation (avril à juin 09) ont été isolées en parallèle sur gélose au sang et sur milieu CHROMagar StrepB et incubées à 36°C, avec et sans CO2, et lues après une nuit d'incubation (18H) : il s'agit de *S. pyogenes* A(n=19), *S.agalactiae* (n=22), *S.porcinus* (n=2), *Enterococcus spp*. (n=10), Streptocoques béta-hémolytiques (G n=7 et C n=2) ou non (n=4).

Résultats : Sensibilité lecture après une nuit d'incubation (<24H).

N= 321	CHROMagarStrepB =0	Positive +	Positive ++	Positive +++
G sang = 0	**277**	**4****	**1****	
Positive +	**1***	**10**		
Positive ++			**13**	
Positive +++				**15**

Au total 44 positifs (13,7%) soit 13,3% en dépistage grossesse et 14,04% hors grossesse : 38 sur les 2 milieux, uniquement sur gélose au sang (1*) ou sur CHROMagar StrepB (5**).

Taux de sensibilité de la gélose au sang et du milieu CHROMagar StrepB : 88,4 et 97,4% respectivement.

Spécificité avec les 66 souches : aspects conformes à SGB (colonie mauve à rose), Strepto B 22/22, Strepto A 19/19, *S porcinus* 2/2, Strepto G 3/7et pour les autres absences de culture 6 ou coloration bleue 10 (*Enterococcus spp)*. La lecture n'est pas influencée par le CO2.

Les colonies de couleur suspecte doivent être caractérisées par sérogroupage ou spectrométrie de masse.

Conclusion : Au total le milieu CHROMagar StrepB s'avère particulièrement intéressant (lecture < 24h) et discriminant pour la mise en évidence des streptocoques impliqués dans les infections materno-foetales, *S. Agalactiae* (SGB) mais aussi *S. Pyogenes* (SGA) et *S. Porcinus*.

272/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Intérêt de la mise en place de la recherche des gènes *Van A* et *Van B* par technique de PCR en temps réel en système clos (Xpert *Van A/Van B* Cepheid®) dans un laboratoire de microbiologie dans le cadre de la gestion d'une épidémie à *Enterococcus faecium* résistant à la vancomycine (EfRV)

S. Dekeyser[1], E. Beclin[3], D. Descamps[1-2]
[1]CH Béthune, Laboratoire [2]CH Béthune, Présidente du Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales [3]CH Béthune, Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales, Béthune, France

Objet : Le premier cas d'EfRV a été dépisté au centre hospitalier de Béthune en Mars 2008. Face aux difficultés rencontrées dans la gestion de cette épidémie (isolement des patients porteurs d'EfRV et contacts en zones de regroupement avec personnel dédié, renforcement des mesures d'hygiène, suivi du statut des patients…), le laboratoire a étudié l'intérêt de rechercher les gènes Van A et Van B par PCR en temps réel par rapport à la mise en culture (technique de référence utilisée en routine), afin d'améliorer le délai de réponse.

Méthode : Pour 75 patients, prélèvement de 2 écouvillons (écouvillonnage rectal profond) : 1 pour la culture sur milieu sélectif (ChromID VRE® Biomérieux) après enrichissement (VRE bouillon® AES laboratoire), et 1 pour la PCR Xpert Van A/Van B Cepheid®. Cette technologie PCR temps réel en système clos qui utilise des cartouches unitaires avec standard interne permettant l'extraction, l'amplification et la détection, ne nécessite pas d'organisation technique particulière.

Résultats : La sensibilité et la valeur prédictive négative de la technique PCR sont de 100% chacune, la valeur prédictive positive et la spécificité sont respectivement de 26,3% et 79,3% (avec des variations possibles selon les services prescripteurs). Les résultats sont obtenus en 1 heure pour 4 échantillons analysés simultanément versus 72h pour une culture après enrichissement.

Conclusion : intégration facile en routine qui ne nécessite pas de contraintes techniques particulières. Cette technologie, malgré son coût réactif, représente un outil diagnostic important à l'échelon de l'établissement : amélioration de la gestion des lits des zones de regroupement, transferts inter-services et inter-structures facilités, adaptation des mesures d'isolement et de l'orientation des patients à risque à l'admission, diminution de la charge de travail du laboratoire. La culture reste cependant indispensable pour confirmer tout résultat positif pour le gène Van B obtenu en PCR et suivre épidémiologiquement la sensibilité des souches.

273/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Intérêt de la PCR en temps réel GeneXpert (Cepheid) dans la gestion d'une épidémie à ERV

L. Cavalié[1], D. Clavé[1], M.F. Prère[1], S. Malavaud[4], M. Metais[4], J.M. Conil[2], N. Kamar[3], L. Lavayssiere[3], L. Rostaing[3], N. Marty[1]
[1]Bactériologie-Hygiène [2]CLIN [3]Néphrologie-Transplantation [4]UOH, CHU, Toulouse, France

Le CHU de Toulouse a été confronté à une épidémie d'*E.faecium* résistant à la vancomycine (ERV) de type van B de fin octobre 2008 à avril 2009 ayant entraîné la mise en place du dépistage par PCR-tr.

A la suite de la présence d'un ERV au niveau d'un ECBU d'un patient de soins intensifs néphrologie, un dépistage de tous les patients contact et entrants (de néphrologie) a été entrepris avec mise en place des précautions complémentaires contact et de 3 secteurs dédiés (porteurs, contacts et entrants) avec cohorting. Le dépistage des patients a été réalisé par écouvillonnage de la marge anale et ensemencement d'une gélose BEA vanco ou chromID™ VRE (Biomérieux), incubation 24-48 H, repiquage, identification des colonies suspectes par Vitek 2 et antibiogramme. La confirmation éventuelle des souches van B ou van A était réalisée par biologie moléculaire (Génotype® *Enterococcus*, Hain Lifescience).

Le dépistage a ensuite été réalisé par PCR en temps réel Cepheid (GeneXpert) avec les kits Xpert™ *vanA/vanB* afin d'accélérer le rendu des résultats. Les écouvillons étaient pour la PCR avec une mousse imbibée de milieu de Stuart liquide (doubles écouvillons Copan 139C) et avec milieu de transport gélosé pour la culture (Transwab®).

Nous avons dépisté 1000 patients différents (toutes techniques confondues) en 10 mois dont certains plusieurs fois. Nous obtenons 31 *E.faecium* van B (épidémie), 2 *E.faecium* van A et 1 *E.faecalis* vanA.

Nous avons eu 182 doubles dépistages (PCR-culture):121 double négatifs, 19 double positifs, 38 positifs en PCR et négatifs en culture et 1 négatif en PCR et positif en culture soit une sensibilité de 95%, une spécificité de 76.1%, une VPP de 33.3% et une VPN de 99.1%. Ces résultats nous ont conduit à rendre négatif toutes les PCR négatives sans réalisation de la culture. Les PCR positives sont quant à elles ensemencées à l'aide de l'autre écouvillon conformément aux recommandations de Cepheid.

Le dépistage des ERV par PCR est très intéressant pour sa VPN. En situation épidémique, un résultat négatif peut être rendu en moins d'une heure limitant et levant ainsi l'isolement des nouveaux patients entrants, la culture pouvant prendre jusqu'à 5 jours. Le surcoût de l'analyse est ainsi à mettre en balance avec le coût de l'isolement (chambres, matériel, personnel). Une PCR positive implique la réalisation de la culture et le maintien du patient en isolement jusqu'au résultat.

274/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Utilisation du système GenXpert® pour la détection de *Staphylococcus aureus* (SA) et des SA résistants à la méticilline (SARM) dans des prélèvements cliniques

F. Garnier[2], O. Barraud[2], D. Chainier[2], S. Blot[2], J. Vignaud[2], C. Duchiron[1], B. François[1], F. Denis[2], M.C. Ploy[2]
[1]Centre d'Investigation Clinique [2]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France

Objectif : une documentation bactériologique précoce est primordiale dans l'adaptation de l'antibiothérapie lors des chocs septiques. Les méthodes bactériologiques actuelles demandant 36 à 48h pour un résultat définitif ne peuvent remplir cette tâche. La PCR en temps réel pourrait nous permettre d'obtenir une identification du pathogène de façon précoce. *Staphylococcus aureus* sensible ou résistant à la Méthicilline (SASM et SARM) sont fréquemment impliqués dans les sepsis. Le kit Xpert MRSA/SA BC® (Cepheid) utilisé sur l'appareil GeneXpert® (Cepheid) a été développé pour permettre une détection rapide (50 min) de SA et SARM dans les hémocultures. Notre étude évalue l'utilisation de ce kit directement sur différents liquides biologiques autres que le sang.

Méthode : nous avons testé 27 prélèvements cliniques (13 prélèvements respiratoires, 4 ponctions d'abcès, 1 écouvillon d'escarre, 5 urines, 3 cathéters et 1 sérum) desquels SA a été isolé. Nous avons réalisé cet essai sans préparation au préalable des échantillons.

Résultats : une complète concordance a été obtenu pour 20 des 27 échantillons. Pour 4 échantillons (3 prélèvements respiratoires et 1 abcès cérébral), un message « erreur système » est survenue et aucun résultat n'était disponible. Un traitement préalable des 3 prélèvements respiratoires extrêmement visqueux avec du Digest-EUR® (EUROBIO) et une lyse mécanique avec le Fast Prep® (MP Biomedicals) pour l'abcès cérébral nous a permis d'obtenir des résultats concordants. Finalement nous avons obtenu des discordances pour seulement 4 échantillons, 1 sérum, 1 abcès cutané et 2 prélèvements respiratoires. Pour le sérum et l'abcès, le résultat était négatif pour la détection de SA et de SARM alors que la culture avait permis d'isoler une souche de SA. Pour les prélèvements respiratoires, un SARM a été détecté par le kit Xpert MRSA/SA BC® alors que les souches isolées étaient des SASM.

Conclusion : cette étude semble prometteuse quant à l'utilisation de ce kit directement sur les prélèvements. La plateforme GeneXpert® associé au kit Xpert MRSA/SA BC® pourrait être un outil pour la détection rapide de SA et des SARM pour les patients d'unités de soins intensifs présentant des sepsis sévères. Nos résultats demandent à être confirmés par une étude plus large.

275/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Utilisation du kit Xpert MRSA/SA BC® sur des hémocultures positives à cocci à Gram positif en amas : nécessité d'une dilution au 1/1 000 ?

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

Objectif : Les septicémies sont des syndromes nécessitant une prise en charge rapide avec une antibiothérapie adaptée. Les méthodes bactériologiques demandent 24 à 36 heures pour obtenir une identification et un antibiogramme à partir d'une hémoculture positive. Les staphylocoques sont des bactéries fréquemment isolées d'hémocultures notamment lors d'infections nosocomiales. La notion de méthicillino-résistance est primordiale pour une antibiothérapie adaptée. Le kit Xpert MRSA/SA BC® (Cepheid) utilisé sur l'appareil GeneXpert® (Cepheid) a été développé pour permettre une détection rapide (50 min) de *S. aureus* (SA) ou de *S. aureus* résistant à la Méthicilline (SARM) directement à partir de flacons d'hémocultures positives. Notre étude a évalué l'utilisation de ce kit en routine à partir de flacons d'hémocultures positives à cocci à Gram positif en amas.

Méthode : Nous avons testé 44 hémocultures positives à cocci à Gram positif en amas, provenant de malades ayant plusieurs séries positives. Le résultat obtenu avec le kit Xpert MRSA/SA BC® a ensuite été comparé à celui obtenu par les tests conventionnels réalisés à partir du repiquage de l'hémoculture.

Résultats : sur les 21 premiers essais, 19 résultats étaient totalement concordants tandis que pour 2, le résultat du kit était SA positif alors qu'à la culture nous obtenions une souche de SARM. Ces 2 échantillons ont alors été dilués au 1/000ème puis réanalysés avec le kit, nous permettant alors d'avoir des résultats concordants. Une seconde phase où 17 hémocultures ont été testées après dilution a montré des résultats concordants. Lors d'une dernière phase, 6 hémocultures ont été testées à la fois pures et diluées. Pour 4 d'entre elles, le résultat était concordant aussi bien sur l'échantillon pur que dilué tandis que pour 2 autres, une concordance a été observée que sur le prélèvement dilué.

Conclusion : L'utilisation du kit Xpert MRSA/SA BC® sur les 44 hémocultures positives nous a permis d'obtenir une détection rapide de SA et/ou SARM pour 40 prélèvements. Les 4 discordances (non détection de la présence de SARM) étaient dues à la présence d'un inoculum trop important. La dilution au 1/1000 de l'échantillon que nous recommandons pour l'utilisation de ce kit a permis de lever ces discordances.

276/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Evaluation of the new ATB STAPH EU (08) devices for oxacillin resistance detection in *Staphylococci*

V. Vernet-Garnier[2], J. Madoux[2], O. Bajolet[2], T. Guillard[2], C. De Champs[2], L. Bridon[1], E. Pillon[1], R. Martelin[1], G. Zambardi[1]
[1]Biomérieux, La Balme Les Grottes [2]Laboratoire de Bactériologie, CHU Robert Debré, UFR Médecine, Reims, France

Objectives : Reliable, simple, rapid and low cost phenotypic methods are still needed for the oxacillin resistance detection in *Staphylococcus* isolates. Due to an heterogeneous expression, this detection is still challenging as demonstrated by the various protocols that have been proposed : NaCl complementation (2–5%), decreased temperature (30°C) or increased length of incubation (48 h), increased inoculum size, specific agar screen test, breakpoints redefinition according to the species and use of alternative markers (cefoxitin, moxalactam). The aim of this study was to evaluate the sensitivity and specificity of ATB STAPH EU (08) (ref. 14328) devices (bioMérieux) versus the *mec*A gene detection (gold standard) and the cefoxitin (30 mcg) disk diffusion (DD) tests according to CA-SFM 07 and CLSI 2007 guidelines (CXT CA, CXT CL).

Methods : 210 *S. aureus* (105 *mec*A+, 105 *mec*A-) strains and 110 coagulase negative *Staphylococci* (CNS) (55 *mec*A+, 55 *mec*A-) were tested with all the four methods. For CXT DD, when an Intermediate (non conclusive) category was obtained, the result was considered S or R according to, respectively, the absence or presence of the *mec*A gene.

Results : Sensitivity and specificity results for oxacillin resistance detection of each method, versus *mec*A, are shown in the Table :

		ATB STAPH EU (08) (24h)	CXT DD CA (*) (24h)	CXT DD CL (24h)
S. aureus (n=210)	Sensitivity (%)	95.2	90.5	79.1
	Specificity (%)	99.1	100	100
All species (n=320)	Sensitivity (%)	96.9	93.1	85.6
	Specificity (%)	99.4	100	100

(*) For the CXT DD CA test, non conclusive results were obtained for 6% of the strains and needed PLP2a or *mec*A testing.

Conclusions : This study highlights that ATB STAPH EU (08) device performs as well as the CXT DD (CA-SFM 2007) test and is superior to the CXT DD (CLSI 2007) test ($p<0,05$) for the sensitivity of detection of oxacillin resistance in *Staphylococci*. These results show the equal specificity as well ($p=1$). Compared to CXT DD CA test, ATB STAPH EU (08) is more simple because it doesn't require additional testing.

277/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation du kit Génotype® BC (BIOCENTRIC) pour le diagnostic moléculaire des endophtalmies post-opératoires

M. Chartres[3], Y. Benito[1], H. Meugnier[1], S. Boisset[1], P.L. Cornut[2], F. Vandenesch[1]
[1]Bactériologie, Centre de Biologie Est [2]Service d'Ophtalmologie, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon [3]IUT, Département de Génie Biologique, Université Claude Bernard, Lyon I, Lyon, France

Objectif : Le kit Genotype® BC (Hain, LifeScience, Allemagne ; Biocentric, France) permet d'identifier rapidement, à partir de flacons d'hémoculture, 22 bactéries à Gram$^+$ et 19 bactéries à Gram$^-$ ainsi que les gènes *mec*A et *van* (A, B, C1, C2/C3) de résistance aux antibiotiques. Dans notre étude, ce kit a été évalué pour le diagnostic d'endophtalmies post chirurgie de la cataracte à partir d'ADN extraits de prélèvements intra-oculaires. Les résultats ont été comparés aux résultats de la PCR pan-bactérienne 16S effectuée sur ces mêmes extraits d'ADN et de la culture. D'autres prélèvements, dans le cas d'infections suppuratives profondes non diagnostiquées par culture, ont aussi été testés

Méthodes : Nous avons analysé 16 ADN extraits de prélèvements intra-oculaires (humeurs aqueuses et vitrés) et 11 ADN extraits de prélèvements suppuratifs. Le kit consiste en une amplification multiplexe de l'ADN bactérien suivie d'une hybridation inverse sur membrane sur laquelle sont fixées les sondes spécifiques.

Résultats : Le kit GenoType® BC a montré une grande concordance avec les résultats obtenus par culture et/ou PCR 16S-séquençage (22 cas sur 27). Il s'est avéré plus sensible que la culture dans 15 cas et que la PCR 16S dans 7 cas. Un prélèvement négatif en culture et en PCR 16S s'est révélé positif à *Staphylococcus epidermidis* avec le kit Genotype®BC. Par rapport aux résultats obtenus après séquençage de l'ADNr 16S, le kit GenoType® BC permet d'obtenir une réponse plus rapidement (6h *versus* 48-72h). Il a permis une identification plus précise au niveau de l'espèce dans 6 cas où des espèces phylogénétiquement proches n'étaient discriminées par la séquence de l'ADNr16S (4 entérobactéries, 2 *Streptococcus pneumoniae*, *mitis* ou *oralis* et 1 *Staphylococcus aureus* ou *haemolyticus*). Ainsi, le kit GenoType® BC permet le diagnostic d'urgence des infections à *S. aureus* et *S. pneumoniae* ainsi que la résistance à la méticilline.

Conclusions : Le kit GenoType® BC s'est révélé être sensible et fiable pour une utilisation à partir d'ADN extraits de prélèvements. Il s'agit d'un outil de diagnostic moléculaire simple et rapide qui pourrait être facilement utilisé dans les laboratoires peu équipés techniquement ou pour le diagnostic d'urgence.

278/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Deletion of resistance genes amongst clonal populations of *Staphylococcus aureus* and *Escherichia coli* : A pitfall for microbiological testing?

D. Dupont, C. Doit, P. Mariani-Kurkdjian, P. Bidet, S. Bonacorsi, E. Bingen
Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Using standard microbiological methods, we report the isolation, in the oro-tracheal flora of a 3 month old child, of two subclones of *Staphylococcus aureus* carrying the same antibiotic resistance markers – macrolides (MLSb inducible) ofloxacin, kanamycin and tobramycin – besides resistance to methicillin. The probable loss of the mecA cassette must have led to a second subpopulation of this same clone, sensitive to methicillin.

We also report in the urines of a one year old child the isolation of a strain of *Escherichia coli* with Extended Spectrum Beta-Lactamase, resistance to cotrimoxazol and to aminoglycosides. After further analysis, it appears that 2% of this strain have lost the putative plasmid containing the resistance genes and is therefore only carrying a TEM plasmid. It is thus becoming, as compared to the aforementioned one, susceptible to third generation cephalosporins, cotrimoxazol and aminoglycosides.

These two discrepancies were shown after further analyses, as standard microbiological tests are usually conducted on one isolated colony. They highlight the risk of underestimating antibiotic resistance. This leads us to discuss in some specific cases, the applications of direct antibiotics susceptibility test on human body fluid samples.

279/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Identification d'antigènes protéiques pour le sérodiagnostic d'infections sur prothèses articulaires à *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis*

H. Nuyttens[1], D. Thomas[1], J. Rogé[1], N. Desplaces[2], C. Cyncynatus[1]
[1]InGen Biosciences, Chilly Mazarin [2]Hôpital de la Croix Saint-Simon, Paris, France

Objectifs : Nous avons procédé à l'analyse immunoprotéomique des protéines sécrétées dans le milieu de culture (sécrétome) de souches de *Staphylococcus aureus* et *Staphylococcus epidermidis,* afin d'identifier des antigènes protéiques candidats pour le sérodiagnostic des infections sur prothèses articulaires (IPA) par ces bactéries.

Matériels et méthodes : Les protéines sécrétées dans le surnageant de culture de *S. aureus* (souche Mu50) et *S. epidermidis* (souche RP62A), deux souches résistantes à la méthicilline, ont été isolées puis analysées sur des gels d'électrophorèse à deux dimensions. Des Western blots ont été réalisés à l'aide de sérums de patients porteurs d'une prothèse de hanche ou de genou, sains ou atteints d'IPA à *S. aureus* et *S. epidermidis*. Les protéines antigéniques isolées à partir des gels ont été identifiées en spectrométrie de masse par la technique d'analyse d'empreinte peptidique.

Résultats : On observe que le nombre de protéines sécrétées est plus important chez *S. aureus* que chez *S. epidermidis*. Les analyses immunoprotéomiques ont permis d'identifier un total de 52 protéines antigéniques : 42 antigènes chez *S. aureus* et 10 chez *S. epidermidis*. La comparaison des sécrétomes et l'analyse des séquences protéiques ont permis de montrer que 23 antigènes identifiés chez *S. aureus* et 4 chez *S. epidermidis* sont spécifiques de l'espèce bactérienne étudiée. Certaines protéines antigéniques identifiées sont des facteurs de virulence connus (α-hémolysine, Enterotoxine A, Immunodominant antigen A, leucocidine…), d'autres ne présentent aucune similarité avec des protéines de fonction connue. La majorité des protéines est impliquée dans le métabolisme et divers processus cellulaires de la bactérie.

Conclusions : L'analyse immunoprotéomique a permis de mettre en évidence des profils de sécrétion différents entre *S. Aureus* et *S. Epidermidis* et a abouti à l'identification d'antigènes communs et spécifiques des deux espèces. Les antigènes identifiés seront produits sous leur forme recombinante et testés à l'aide d'un large panel de sérums documentés par des techniques d'immuno-essais, afin d'évaluer leur utilité pour le développement d'un test de sérodiagnostic d'IPA à *S. Aureus* et *S. Epidermidis*.

280/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Développement d'une méthode de PCR Multiplex pour la détection des bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE), des céphalosporinases plasmidiques, et des carbapénémases

C. Dallenne, A. Da Costa, D. Decré, C. Favier, G. Arlet
Bactériologie, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

Objectif : Développement d'un outil rapide et fiable par PCR multiplex pour la détection des ß-lactamases les plus fréquemment rencontrées en clinique : les ß-lactamases à spectre élargi (BLSE) comprenant les familles CTX-M, TEM et SHV ; les céphalosporinases plasmidiques ; les carbapénémases de classes A et B (KPC, VIM, et IMP). Une PCR multiplex pour les ß-lactamases émergentes a également été créée (VEB, GES, et PER).

Méthodes : Des amorces ont été dessinées et testées à l'aide de 41 souches de contrôle. La méthode a été optimisée afin de créer un ensemble de 5 PCR multiplex et une PCR simplex.

Le procédé a ensuite été appliqué sur une collection de 31 souches cliniques parisiennes isolées en 2006 pour leur résistance vis-à-vis des céphalosporines de troisième génération (C3G), et/ou des céphamycines, et/ou pour leur susceptibilité réduite aux carbapénèmes. L'utilisation directe des produits de PCR pour le séquençage a également été contrôlée.

Résultats : Les souches de contrôle ont confirmé la spécificité de l'ensemble des PCR multiplex. La possibilité de réaliser directement le séquençage à partir des produits de PCR a été confirmée. A l'exception de la PCR multiplex ciblant les carbapénémases, l'ensemble des autres PCR multiplex ainsi que la PCR simplex possèdent les mêmes conditions d'amplification et peuvent ainsi être réalisées simultanément.

Parmi les 31 souches cliniques sélectionnées, 22 d'entre-elles produisaient une BLSE, principalement de type CTX-M-15 ; 6 autres produisaient une céphalosporinase plasmidique (5 DHA-1 et 1 CMY-2) ; enfin trois souches coproduisaient à la fois une BLSE (SHV-12 ou CTX-M-15) et une céphalosporinase plasmidique DHA-1.

Conclusion : Nous rapportons le développement d'une méthode composée de 5 PCR multiplex et d'une PCR simplex pour la détection rapide des ß-lactamases les plus fréquentes. Cette méthode permet :

- La caractérisation des ß-lactamases au sein d'un(e) groupe/famille après électrophorèse.

- Le séquençage direct des produits de PCR afin d'accéder au génotype.

281/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Importance de la PCR dans la gestion d'une épidémie à *Mycoplasma pneumoniae* au CH de Béthune (Pas-de-Calais)

S. Dekeyser[1], C. Bonnel[2], A. Martinet[2], D. Descamps[1]
[1]CH Béthune, Laboratoire [2]CH Béthune, Service de Pédiatrie, Béthune, France

Objet : Les infections à mycoplasmes sont la 1ère cause de pneumonies communautaires chez l'enfant de plus de 5 ans. L'utilisation des techniques de biologie moléculaire (PCR) constitue une aide rapide et spécifique pour le diagnostic différentiel des infections respiratoires.

Méthode : Le diagnostic d'infections à mycoplasme était posé sur la positivité de la PCR (Chlamylège® Argène) et / ou du sérodiagnostic (technique ELISA). L'amplification génique était effectuée sur aspiration nasopharyngée pour les enfants, prélèvements respiratoires ou écouvillonnage nasophayngé pour les adultes.

Résultats : 39 cas d'infections à mycoplasme ont été diagnostiqués : 31 entre septembre et décembre 2008 (30 enfants et 1 adulte) et 8 depuis juin 2009 (3 adultes et 5 enfants). La CIRE a été alertée en octobre 2008 pour étude épidémiologique. Les enfants (3,6 ans) ont été hospitalisés dans 88,6% des cas pendant 2,9 jours pour atteinte respiratoire basse (pneumopathie [55,3%], bronchite [15,8%], bronchiolite [2,6%]) et rhinopharyngite (8,6%) avec surtout un échec de traitement aux bétalactamines dans 65,7% des cas. Les 4 adultes (29,5 ans) ont présenté une pneumopathie, 3 d'entre eux ont été hospitalisés dont un en réanimation. Sur les 39 infections diagnostiquées, 28 PCR se sont avérées positives (71,8%) : 13 sans sérologie associée, 8 sérologies négatives, 5 avec des IgG et des IgM, et pour 2 d'entre eux, des IgG seuls. 7 patients ont été diagnostiqués sur la sérologie uniquement (PCR non réalisée) : IgM +/- IgG. Pour 2 enfants les IgM étaient positives de façon isolée : un prélèvement paucicellulaire pouvant être à l'origine d'une PCR faussement négative.

Conclusion : La sensibilité de la sérologie dans le diagnostic des infections à mycoplasmes reste limité : apparition des IgM une semaine après le début des signes cliniques et le plus souvent absents chez l'adulte, élévation des IgG tardive par rapport à la primoinfection ou aux réinfections. L'utilisation de la PCR mycoplasme dans le diagnostic précoce des pneumopathies de l'enfant a permis de mettre en évidence rapidement ce phénomène épidémique (limité aux enfants hospitalisés ou en consultation à l'hôpital) et d'adapter les thérapeutiques.

282/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison de différentes PCR en temps réel pour l'identification de *Neisseria meningitidis*

F. Garnier[1], P. Lanotte[3], C. Burucoa[2], M.C. Ploy[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges [2]Laboratoire de Bactériologie, Centre Hospitalier Universitaire de Poitiers, Poitiers [3]Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Bretonneau - Centre Hospitalier Universitaire de Tours, Tours, France

Objectif : Les infections invasives à *Neisseria meningitidis* (IINM) sont des infections graves nécessitant une prise en charge rapide par injection d'une céphalosporine de troisième génération avant tout prélèvement. De ce fait, l'isolement de la bactérie à partir des prélèvements est impossible. Seule une technique d'amplification génique peut alors permettre la détection du germe par l'intermédiaire de son ADN. Depuis quelques années, la PCR en temps réel a surclassé la PCR en point final. Le but de notre étude est de comparer la sensibilité de trois PCR en temps réel pour la détection de N. meningitidis à partir de divers prélèvements.

Méthode : 23 prélèvements (LCR, sérum, plasma, tissu, sang total et gorge) provenant de patients atteints d'IINM, ont été étudiés. Trois PCR en temps réel ont été utilisées sur l'appareil Smart Cycler II®(Instrumentation Laboratory) : une en SYBR Green avec les primers *98-17* (TCAAATGAGTTTGCGAATAGAAGGT) et *98-18* (CAATCACGATTTGCCCAATTGAC) ciblant le gène *crgA* et deux en sonde taqman, une avec les primers *Mn1* (GTTCAAGTGGTGGAAAGCGG) et *Mn2* (TTTTCCTCCAGCCGTTTGAC) avec la sonde *MNS* (CAGTTGGCGATGGCA) ciblant le gène *crgA* et l'autre avec les primers *ctrAF* (GCTGCGGTAGGTGGTTCAA) et *ctrAR* (TTGTCGCGGATTTGCAACTA) et la sonde *ctrAS* (CATTGCCACGTGTCAGCTGCACAT) ciblant le gène *ctrA*. Chaque prélèvement a été extrait à l'aide du kit QIAamp DNA Mini kit® (Qiagen) et chaque extrait a été utilisé simultanément pour chacune des PCR. Les CT (nombres de cycles à partir desquels apparaissent les fragments amplifiés) obtenus ont ensuite été comparé entre eux.

Résultats : une amplification par les trois PCR a pu être obtenue pour 15 des 23 prélèvements testés. Par contre, pour 4 prélèvements nous n'avons obtenu une amplification qu'avec la PCR utilisant les amorces *ctrAF* et *ctrAR* associées à la sonde *ctrAS*, alors que pour les 4 restants, aucune amplification n'a pu être obtenue avec la PCR utilisant les amorces *98-17* et *98-18*. Il est à noter qu'à chaque fois, les CT étaient plus faibles avec la PCR ciblant le gène *ctrA*.

Conclusion : notre étude a permis de montrer que sur les trois PCR testées, celle ciblant le gène *ctrA* est apparue la plus sensible ce qui nous a amené à l'utiliser définitivement en routine.

283/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Multiplex PCR for fast and easy o Serogroup determination in Stec in Hus patients

P. Mariani-Kurkdjian[2-1], S. Ait-Ifrane[1], P. Bidet[2], C. Courroux[2], S. Bonacorsi[1-2], E. Bingen[2-1]
[1]Centre National de Référence E. coli [2]Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris, France

Detection of Shiga toxin-producing Escherichia coli (STEC) is usually limited to serogroup O157. However, several others serotypes also harbour Shiga toxins and are responsible for HUS in children. Traditional serotyping methods are costly and time consuming. To assess the relative importance of STEC non-O157 serogroups, we have developed a simple alternative molecular method for determination of the most frequent O types in STEC based on allele-specific polymerase chain reaction amplification of the O antigen polymerase gene wzy. Genes encoding O-antigen polymerase (*wzy*) in the O-antigen gene cluster are specific for each O antigen and are suitable targets for serogroup-specific PCR. In order to develop a specific PCR assay for identifying *E. coli* strains harboring a somatic antigen identical to that expressed by STEC strains, we designed specific primers for *wzy* for O157, O26, O55, O91, O103, O111 and O145 serogroups.

Template DNA for the PCR assays was prepared by mixing bacterial colony in 500 µl of sterile water and heating at 100°C for 10 min. Then, the suspension is centrifuged at 11,000 x *g* for 3 min at 4°C, and the supernatant containing DNA is used for PCR. PCR is performed in a final volume of 50 µl using a Qiagen Multiplex PCR kit with 5µl of template DNA, 0.3 µM concentration of each *wzy* primers. PCR is performed in an Icycler (Bio-Rad, Marnes la Coquette, France) as follows: denaturation at 95°C for 15 min; 30 cycles of 94°C for 30 s, 55°C for 90 s, and 72°C for 90 s; and final extension at 72°C for 10 min. The PCR products is electrophoresed in 2% standard agarose gels. The gels are stained with ethidium bromide and visualized under UV light. Positive samples are identified from the presence of bands of the expected sizes compared to results obtained with control group strains.

A total of 125 STEC strains isolated in HUS patients from 1996 to 2008 are in process with this PCR serotyping method (O 157 (n = 40), O 26 (n = 15), O 55 (n=5) , O 91 (n=5), O 103 (n=5), O111 (n=5), and non typable strains (n=50)); Control strains are kindly provided by Ingrid Filliol (Institut Pasteur, Paris, France). This O genotyping approach has several advantages, including low cost, rapidity, and detection of strains with the O antigen of interest. Our PCR test could be used to detect the virulent STEC in the microflora of patients with bloody diarrhea or in HUS patients.

284/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Mise en place d'un étalon primaire d'ADN pour la détection de *Legionella* par PCR quantitative dans les prélèvements environnementaux

M. Baume[3], L. Garrelly[5], P. Guarini[2], H. Host[2], H. Frenkiel[4], S. Bouton[1], C. Yardin[6], M. Reyrolle[3], S. Jarraud[3]
[1]Pall-GeneSystems, Bruz [2]AGLAE, Lille [3]Centre National de Référence des légionelles - Centre de Biologie Est - Hospices civils de Lyon - Université Lyon 1, Lyon [4]Bio-Rad, Marnes-La-Coquette [5]GL Biocontrol, Parc Scientifique et technique Georges Besse, Nimes [6]LNE, Paris, France

La méthode de détection des légionelles dans l'environnement par PCR en temps réel est utilisée en France (norme NF T90-471) mais également à l'étranger (rédaction d'une norme ISO en cours). C'est une méthode fiable et plus rapide que la culture, ce qui permet d'effectuer un suivi optimal des installations à risque, d'anticiper techniquement une colonisation généralisée, et d'avoir une meilleure réactivité en cas d'épidémie. Cependant, la variabilité des résultats observée lors d'essais inter laboratoire serait due au manque de standardisation de l'étape de quantification de l'ADN, expliqué en grande part par l'effet des disparités entre étalon PCR (données non publiées). Il a donc semblé nécessaire de développer un étalon primaire d'ADN de *Legionella* pour que les résultats obtenus dans différents laboratoires soient comparables.

Choix de l'ADN : Neuf ADN de *Legionella* commercialisés ont été évalués selon les critères requis pour un étalon primaire : ADN génomique extrait d'une culture de *Legionella pneumophila* ATCC 33152 (pureté prouvée par migration sur gel d'agarose et rapport de DO), stabilité dans le temps, quantité par tube comprise entre 2.10^6 et 8.10^6 UG. Trois ADN ont été retenus pour une étude technique à laquelle 10 laboratoires pratiquant la PCR *Legionella* sur les différents systèmes de PCR existant ont participé. L'analyse des résultats quant à l'homogénéité et la précision de la quantification a permis de choisir le fournisseur de l'étalon primaire.

Certification de l'étalon primaire : Douze laboratoires ont effectué un protocole commun de PCR sur des dilutions limites (4 séries de 5 niveaux de dilution répétés 6 fois) de l'ADN afin de déterminer le nombre d'unités génome par tube d'ADN étalon. La stabilité et l'homogénéité du lot certifié ont également été validées.

Utilisation de l'étalon primaire : Il devra être utilisé au moins une fois par an par tous les laboratoires effectuant la PCR *Legionella* pour valider leur système de quantification et chaque nouvelle solution calibrante utilisée devra être raccordée à l'étalon primaire (par le laboratoire utilisateur ou par le fabricant de solution calibrante). La méthode de raccordement est décrite dans la norme NF T90-471. Cet étalon primaire sera distribué par le Centre National de Référence des Légionelles sous la référence SRM_LEGDNA_01.

Conclusion : L'intérêt de cet étalonnage est d'harmoniser les ADN commerciaux et de fournir aux laboratoires un étalon unique leur permettant de valider leur propre ADN étalon.

La mise en place de cet étalon est financée par la Direction Générale de la Santé.

285/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation bi-centrique du système Xpert® *C.difficile* (Cepheid) pour le diagnostic des infections à *Clostridium difficile (ICD)*

V. Lalande[3-2], C. Eckert[2], H. Huang[4], A. Weintraub[4], J.P. Canonne[1], C.E. Nord[4], D. Chassaing[2], F. Barbut[3-2]

[1]Service de Microbiologie, Hôpital de Lens, Lens [2]Laboratoire Clostridium difficile associé, CNR des bactéries anaérobies et du botulisme [3]Service de Microbiologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France [4]Department of Laboratory Medicine, Karolinska Institute, Stockholm, Suède

Introduction : *Clostridium difficile* est la principale cause de diarrhées nosocomiales. Depuis 2003, un clone hypervirulent (PCR-ribotype «027») a émergé en Europe et en Amérique du Nord et a été responsable d'épidémies de formes sévères d'infections. Un diagnostic fiable et rapide est indispensable pour une prise en charge optimale des patients infectés.

Méthodes : Le système Xpert® *C. difficile* (Cepheid) est une méthode de PCR multiplex en temps-réel qui permet simultanément :

- le diagnostic des infections à *C. difficile* (ICD) par mise en évidence du gène de la toxine B (*tcd*B)

- l'identification présomptive du clone épidémique 027 par mise en évidence d'une délétion en 117 dans *tcd*C et du gène de la toxine binaire.

Cette méthode a été comparée dans deux centres (Paris et Stockholm) au test de cytotoxicité (CTA) et à la culture toxigénique (CT). Le CTA a été réalisé par inoculation d'un filtrat de selles sur cellules MRC-5 et la culture a été réalisée sur milieu TCCA (taurocholate, cyclosérine, céfoxitine agar). Le pouvoir toxinogène de chaque isolat a été recherché directement à partir d'une suspension de colonies (=CT) par le test de cytotoxicité. Toutes les souches ont été caractérisées par PCR-ribotypage.

Résultats : L'étude a porté sur 333 selles diarrhéiques (prenant la forme du pot) consécutives et non répétitives (119 selles à Paris et 214 à Stockholm). Le CTA était positif pour 28 échantillons (8.45%) et la CT pour 37 échantillons (11.1%). La sensibilité et spécificité de Xpert® *C. difficile* pour le diagnostic d'ICD était respectivement de 96,4% et 91,1% par rapport au CTA et de 100% et 93.9% par rapport à la CT. Aucune souche 027 n'a été isolée pendant l'étude et la spécificité du test Xpert® vis à vis du clone 027 était de 99.7% (un seul faux positif). Par ailleurs, 4 selles congelées à –80°C issues de patients connus pour avoir une infection avec la souche 027 ont été testées et se sont révélées positives en toxine B par le test Xpert®, avec identification présomptive du clone épidémique.

Conclusion : Le test Xpert® *C. difficile* offre une sensibilité et une spécificité comparables à celles des deux méthodes de référence actuelles. Avec un résultat disponible en moins d'heure, Xpert® permet un diagnostic rapide et fiable.

286/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison d'une méthode semi-automatisée de rep-PCR avec le PCR-ribotypage pour la caractérisation des souches de *Clostridium difficile*

C. Eckert[3-2], J. Van Broeck[1], P. Spigaglia[4], B. Burghoffer[3], M. Delmée[1], P. Mastrantonio[4], F. Barbut[3-2]

[1]Unité de microbiologie, Université Catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique [2]Laboratoire associé C. difficile, Hôpital Saint-Antoine, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris [3]UPRES n°EA2392, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France [4]Department of Infectious, Parasitic and Immune-mediated Diseases, Instituto Superiore di Sanità, Rome, Italie

Objectif : De nombreuses méthodes de typage (*i.e.* analyse par restriction enzymatique, électrophorèse en champ pulsé et PCR-ribotypage) peuvent être utilisées pour détecter l'émergence de nouveaux clones de *C. difficile* et pour investiguer des épidémies. Cette étude a comparé une méthode semi-automatisée de rep-PCR (DiversiLab™, bioMérieux) avec la PCR-ribotypage classiquement utilisée en Europe pour caractériser les souches de *C. difficile* (Bidet *et al.* JCM 2000).

Méthode : L'étude a porté sur une collection de 67 souches de *C. difficile* de PCR-ribotypes connus. Celle-ci incluait 20 souches belges de PCR-ribotype 027, 10 souches italiennes précédemment caractérisées par rep-PCR manuelle (Spigaglia *et al*., JCM 2003) et 37 souches non épidémiologiquement reliées provenant de 35 hôpitaux de 14 pays européens. Les études de reproductibilité ont été réalisées à partir de 2 autres souches. L'ADN de chaque souche a été extrait en utilisant le kit UltraClean™ Microbial DNA Isolation. Après amplification, les produits de PCR ont été séparés par électrophorèse réalisée dans un système microfluidique (labos-sur-puce/LabChip) et analysés en utilisant le logiciel Diversilab à interface web. Les profils ont été comparés en calculant les index de similarité de Kullbeck-Leibler et de corrélation de Pearson. Les électrophorégrammes ont été interprétés manuellement et 2 rep-PCR-types ont été considérés comme différents s'ils présentaient au moins une bande de différence.

Résultats : Les tests de reproductibilité ont donné des index de similarité allant de 93,2% à 99,9% pour la souche 1 et de 97,4% à 99,7% pour la souche 2. Les pouvoirs de discrimination (calculés grâce à l'index de Hunter et Gaston) étaient de 0,997 pour la rep-PCR et de 0,959 pour la PCR-ribotypage. Parmi les 10 souches italiennes, 9 profils de rep-PCR ont pu être définis; la rep-PCR était plus discriminante que la PCR-ribotypage et la rep-PCR manuelle. Parmi les souches belges de PCR-ribotype 027, différents sous-types ont pu être distingués par la rep-PCR semi-automatisée. En conclusion, la rep-PCR a montré un pouvoir discriminant élevé; cependant l'interprétation visuelle des profils de rep-PCR s'est révélée fastidieuse.

287/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Génotypage des souches de *Clostridium difficile* par MLVA

F. Vromman[4], C. Eckert[4-3], A. Halkovich[4], D. Trivier[1], F. Barbut[3-2]

[1]Hygiène hospitalière, CH Lens, Lens [2]UHLIN, Hôpital Saint Antoine [3]Laboratoire Clostridium difficile associé au Centre National de Référence des Bactéries Anaérobies et du Botulisme, Hôpital Saint-Antoine [4]UPRES n°EA2392, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

Objectif : Parmi les nombreuses méthodes utilisées pour investiguer les épidémies à *C. difficile*, certaines ont un pouvoir discriminant médiocre notamment lorsqu'un clone devient endémique dans un hôpital ou un pays (comme le PCR-ribotype 027). L'objectif de cette étude était d'évaluer la technique du MLVA pour typer les souches de *C. difficile.*

Méthodes : 27 souches ont été étudiées incluant 13 souches de toxinotype III (3 de PCR-ribotype 027 « historique » et 10 de PCR-ribotype 027 isolées de 3 hôpitaux différents), 9 souches de toxinotype V (incluant 3 PCR-ribotype 078 et 3 PCR-ribotype 126) et 5 souches de toxinotype 0 (incluant des souches suspectées d'être impliquées dans une transmission soigné-soignant). Après extraction de l'ADN, 7 loci ont été amplifiés par PCR puis séquencés. La distance entre 2 souches a été calculée en utilisant le STRD (summed tandem repeat difference) défini par le nombre total de différences dans les répétitions en tandem. La diversité génomique a été évaluée en utilisant la technique du minimum spanning tree (arbre couvrant minimum) qui rapproche les MLVA-types en fonction de leur plus petit STRD (Bionumerics 5.1).

Résultats : Parmi les 27 souches de *C. difficile* analysées, 26 MLVA-types ont été identifiés suggérant un pouvoir discriminant élevé. Cinq clusters (définis par un STRD ≤ 10) ont été identifiés incluant 7, 4, 3, 2 et 2 souches. Une bonne concordance a été observée entre le typage par MLVA et le toxinotypage. Le MLVA a permis de regrouper les souches de PCR ribotype 027 en fonction de leur origine hospitalière et de mettre en évidence des microévolutions des souches au sein d'une épidémie. Les résultats obtenus montrent également que les souches de toxinotype V sont étroitement reliées quelque soit leur PCR-ribotype.

Conclusion : Le MLVA est une méthode de génotypage très discriminante utile pour investiguer les épidémies dues à *C. difficile*. Elle reste une méthode longue et onéreuse mais semble intéressante pour sous-typer les souches de *C. difficile.*

288/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison des performances du test PCR Xpert *C. difficile*, du test immuno-enzymatique Immuno*Card* et de la culture pour la détection de *C. difficile* dans les selles

Z. Ould Hocine, N. Launay, F. Maillebuau, J.M. Le Glaunec, L. Deforges, P. Legrand

Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Henri Mondor, Créteil, France

Différents tests de diagnostic permettent de détecter la présence de *C.difficile* et/ou de ses toxines dans les selles afin d'établir le diagnostic étiologique des diarrhées post-antibiotique. De nombreux laboratoires utilisent en routine un test immuno-enzymatique rapide. Récemment le test Xpert *C.difficile* effectué par le système automatisé de PCR en temps réel GeneXpert (Cepheid), très simple et rapide à utiliser, s'est avéré d'une excellente sensibilité (au moins égale au test de cytotoxicité). Il permet la détection des gènes de la toxine B, de la toxine binaire et la délétion *tcdC* nt 117. C'est pourquoi nous avons voulu évaluer le gain diagnostique apporté par le test Xpert par rapport au test immuno-enzymatique Immuno*Card* Toxins A & B (IC) (Meridian Bioscience)

dans la pratique courante du laboratoire. Une culture sur milieu CCFA (bioMérieux) était également réalisée avec mise en évidence du caractère toxinogène de la souche par méthode immuno-enzymatique.

172 selles de diarrhées post-antibiotique ont été testées consécutivement sur une période de quatre mois par Xpert, IC et culture. Pour 34 selles (19,8%), au moins l'une des techniques a détecté un *C. difficile* toxinogène et aucun autre entéropathogène n'a été mis en évidence. La détection de *C.difficile* a été faite dans 19,2% des selles (33/172) par Xpert, 15,7% (27/172) par IC et 16,9% (29/172) par culture.

Sept selles étaient positives par Xpert et négatives par IC (gain diagnostique de 20,6%). Trois d'entres elles avaient une culture positive à *C.difficile* toxinogène. Seule une selle positive par IC et culture a été initialement interprétée négative par GeneXpert, puis positive lors d'un deuxième test effectué après homogénéisation de la selle. Aucun *C. difficile* toxinogène n'a été isolé des selles Xpert négatives.

Pour une souche Xpert a mis en évidence la toxine binaire et une délétion *tcdC* caractéristique du ribotype PCR O27 (confirmé par ribotypage-PCR de la souche).

Conclusion : Le test Xpert est nettement plus sensible que le test IC. Aussi facile d'utilisation, il donne un résultat en moins d'une heure et permet de détecter les souches ribotype O27. Il peut donc contribuer à un meilleur diagnostic étiologique des infections à *C.difficile* et à en limiter la propagation.

289/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Hétérogénéité intraspécifique et intragénomique du gène de l'ARN ribosomal 16S chez des souches bactériennes isolées des voies respiratoires de patients atteints de mucoviscidose

A.L. Michon[3], A. Imbert[3], H. Marchandin[3-2], L. Aleyrangues[2], R. Chiron[1], F. Counil[1], E. Jumas-Bilak[3]
[1]Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose (CRCM) [2]Laboratoire de Bactériologie, CHU [3]EA 3755 - Laboratoire de Bactériologie-virologie, UFR de pharmacie, Montpellier, France

La PCR ADNr 16S-TTGE (Temporal Temperature gradient Gel Electrophoresis) est une technique indépendante de la culture permettant l'étude de communautés bactériennes normales et pathologiques. Une limite de cette technique est la variabilité de l'ADNr 16S entre les souches d'une même espèce (intraspécifique) mais aussi entre les différentes copies d'une même souche (intragénomique). Le but de cette étude est d'évaluer les niveaux d'hétérogénéité chez les principales espèces bactériennes isolées dans les voies respiratoires des patients atteints de mucoviscidose.

Les souches bactériennes ont été isolées de prélèvements respiratoires de patients suivis au CRCM du CHU de Montpellier. 130 souches appartenant à 7 espèces ont été étudiées: *Pseudomonas aeruginosa* (n=27, 11 patients), *Staphylococcus aureus* (n=27, 13 patients), *Haemophilus influenzae* (n=26, 19 patients), *Achromobacter xylosoxidans* (n=21, 11 patients), *Streptococcus pneumoniae* (n=10, 8 patients), *Moraxella catarrhalis* (n=10, 10 patients) et *Stenotrophomonas maltophilia* (n=9, 6 patients). Après extraction de l'ADN total et amplification par PCR de la région V3 de l'ADNr 16S, les amplicons sont séparés par TTGE.

Par cette technique simple et rapide, différents niveaux d'hétérogénéité ont été démontrés. Les souches de *M. catarrhalis*, *P. aeruginosa* et *S. pneumoniae,* présentent une bande unique spécifique d'espèce témoignant d'une absence de variabilité intraspécifique et intragénomique. Chez *S. aureus*, *S. maltophilia* et *A. xylosoxidans,* un faible niveau de diversité intraspécifique est observé et respectivement, 26%, 56% et 100% des souches possèdent des hétérogénéités intragénomiques (profils à 2 bandes). Enfin, pour *H. influenzae*, un très fort niveau de variabilité intraspécifique a été mis en évidence (17 profils différents) et 57% des souches présentent des profils complexes constitués de 2 à 5 bandes.

Cette étude montre que le polymorphisme intraspécifique et intragénomique de l'ADNr 16S est un phénomène fréquent qu'il est important d'étudier afin d'interpréter au mieux les résultats des techniques d'empreinte moléculaire pour l'analyse des microflores bactériennes.

290/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Biological diagnosis of *Bordetella* species by Real-Time PCR

A. Zouari[2], H. Smaoui[2], E. Njamkepo[1], N. Guiso[1], A. Kechrid[2]
[1]Unité des Bordetella, Institut Pasteur, Paris, France [2]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunis, Tunisie

Introduction: Pertussis is a highly contagious respiratory disease that has re-emerged worldwide as a cause of substantial morbidity and mortality in infants, contaminated by adolescents and adults, despite high vaccination rates of children. It is caused by the Gram-negative bacillus *Bordetella pertussis*. Pertussis-like symptoms are also caused by the related species *Bordetella parapertussis,* and sometimes by *Bordetella bronchiseptica and Bordetella holmesii*. The aim of our study was to compare the detection of *Bordetella* species by culture and Real- Time PCR.

Materials and Methods: Between March 2007 and January 2009, a total of 117 nasopharyngeal aspirates (NPAs) were collected from infants and children with a cough or a respiratory illness compatible with the diagnosis of pertussis. Each NPA was cultured on Bordet-Gengou medium, its DNA extracted and detection by Real-Time PCR, of two insertion sequences *IS481* and *IS1001* specific of *B. pertussis, bronchiseptica, holmesii* or *B. parapertussis* respectively, was carried out on each DNA.

Results: During the study period, culture was negative in all cases but IS sequences were detected in 58 (49.6%) DNA. However, *IS481* detection was positive in 46 DNA, *IS1001* in one DNA and both *IS481* and *IS1001* in 11 DNA. In 31% of the cases, detection of *Bordetella* DNA occurred in NPAs from two months old infants, too young to have been eligible for pertussis vaccination.

Conclusion: Real-time PCR is an invaluable tool for both enhanced epidemiological surveillance and for rapid diagnosis of pertussis necessary for patient and contact management. Our data indicate that *Bordetella* species, most probably *pertussis and parapertussis,* are still circulating in Tunisia. The high number of co-infections observed will be discussed. As in other regions where children coverage is high, detection occurred in infants most probably contaminated by their siblings and parents which immunity waned.

291/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Développement d'un test de détection rapide de *Legionella pneumophila* à l'échelle du sérogroupe dans l'eau

N. Merault[3-1], C. Rusniok[3], S. Jarraud[2], E. Brachet[3], M. Marin[3], C. Cazalet[3], L. Gomez-Valero[3], J.L. Gaillard[1], J.L. Herrmann[1], J. Etienne[2], C. Lawrence[1], C. Buchrieser[3]
[1]Laboratoire de Microbiologie EA 3647, APHP, CHU R. Poincaré, Garches [2]Centre National des Légionelles, INSERM U851, Faculte de médecine, IFR128, Lyon [3]Biologie des bactéries intracellulaires, CNRS URA 2171, Institut Pasteur, Paris, France

Legionella pneumophila sérogroupe 1 (Sg1) est associée à 80% des cas de légionellose. La prévention se concentre sur la détection et l'élimination de ce pathogène dans les réseaux d'eau et tours aéroréfrigérantes. Il est donc nécessaire de développer des tests pour détecter rapidement la présence de légionnelles dans les réseaux d'eau, mais également pour identifier les espèces et sérogroupes présents, afin d'estimer au mieux le risque.

Un travail précédent a montré que les gènes codant pour les protéines de biosynthèse du lipopolysaccharide (LPS) permettent de discriminer les différents Sg. Le séquençage de ce cluster de gènes chez des souches de différents Sg de *L. pneumophila*, a permis une analyse comparative des séquences des Sg1, 6, 10, 12, 13 et 14. Cette étude a permis de montrer que le cluster LPS du Sg1 est particulièrement différent des autres Sg (Cazalet et al., *Genome research*, 2008). Nous avons pu identifier des séquences spécifiques du Sg1 et des Sg2-14. Des amorces et sondes de PCR quantitative en temps réel (qPCR) ont été dessinées et leur spécificité a été testée sur 370 *L. pneumophila* de tous Sg, 49 *Legionella* sp. non-*pneumophila* et 43 autres espèces ordinairement présentes dans l'eau, selon les recommandations de la norme expérimentale AFNOR T90-471. Un test de qPCR spécifique du Sg1 de *L. pneumophila* a ainsi été développé. La sensibilité et l'efficacité de la méthode ont été comparées à celles de la culture et d'un kit commercial (Biorad, Marnes-le-Coquette, France) sur des prélèvements d'eau chaude sanitaire. Notre méthode est aussi sensible et efficace que la méthode commerciale, mais présente en plus l'avantage d'être spécifique à l'échelle du sérogroupe.

Le test de qPCR développé ici pour la surveillance de la contamination des réseaux d'eau constitue un nouvel outil rapide et spécifique du Sg1 qui pourrait améliorer l'estimation du risque et par conséquent aboutir à une meilleure prévention de la légionellose.

292/67A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Dépistage préopératoire du SARM en CCV par RT PCR, évaluation sur 8 mois des infections à SARM

J.L. Galinier
Microbiologie, Clinique Pasteur, Toulouse, France

Objet de l'étude : Le portage de SARM est un facteur de risque important d'auto-infection post chirurgicale. Pour la chirurgie cardiaque les recommandations françaises et internationales préconisent son dépistage et l'adaptation de l'antibioprohylaxie. Dans le cadre d'une EPP pluridisciplinaire à la clinique PASTEUR –TOULOUSE, le dépistage du SARM par RT PCR de la cassette SSC-Mec sur le GeneXpert® a été effectué à l'admission la veille au soir de l'intervention sur tous les patients admis pour remplacement valvulaire ou chirurgie des coronaires. Le test est réalisé immédiatement et le résultat transmis le soir même à l 'anesthésiste. En cas de positivité l'antibioprohylaxie est alors complétée par de la vancomycine.

Méthodes : De Décembre 2008 à juillet 2009, 942 dépistages ont été effectués, parallèlement au test GeneXpert® un examen bactériologique a été effectué en utilisant des milieux de culture classiques et chromogènes, sélectifs du SARM.

Résultats : 13 souches de SARM ont été identifiées par la méthode GeneXpert® et 12 souches de SARM par bactériologie, 11 étaient concordantes. Les sensibilités, spécificité, valeur Prédictive Positive et valeur Prédictive Négative étaient respectivement de 91.7%, 99,8%, 84,6% et 99.8 %.

Pour les patients ayant eu une CEC durant cette période de décembre à juillet aucune infection à SARM n'a été diagnostiquée, alors que sur les mêmes périodes en 2008 et 2007 deux infections à SARM par période avaient été comptabilisées.

L'analyse des données sur les premiers semestres 2007, 2008 et 2009 montret que les trois populations présentent les mêmes caractéristiques et que

le nombre de CEC réalisées sont sensiblement identique.

Conclusion : La diminution du nombre d'infection à SARM observée est à mettre en relation avec la mise en place du dépistage par la méthode GeneXpert. L'économie du surcoût du aux infections couvre le coût de la mise en place de cette nouvelle technologie.

293/68A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparison of the Diversilab System and multi-locus sequence typing for the characterization of invasive strains of *Streptococcus agalactiae*

M. Alnakib[2-1], M. Longo[2-1], A. Tazi[2-1], N. Dmytruk[2-1], A. Billoët[2-1], J. Raymond[2], P. Trieu-Cuot[1-3], C. Poyart[2-1-3]
[1]Centre national de référence des Streptocoques [2]Service de Bactériologie, Hôpital Cochin, APHP, Université Paris Descartes [3]Institut Pasteur, Paris, France

Background: To compare the Diversilab® system with MLST for determining the relatedness of strains of *Streptococcus agalactiae*.

Methods: We analyzed 183 *S. agalactiae* strains, 179 were non-duplicate strains collected from various geographical regions over a two-years period and isolated from adult (n= 108) and neonatal (n=72) invasive infections, 4 were reference strains. For all strains, capsular typing was performed by PCR. MLSTyping was performed on all adult invasive isolates, whereas all neonatal isolates were ST-17 as determined by ST17-specific PCR. Each isolate was analyzed using the semi-automated rep-PCR Diversilab® system. The relatedness was determined by cluster analysis and guidelines provided by the manufacturer.

Results: The distribution of the capsular type for the 179 invasive strains was as follows: Ia (27), Ib (15), II (12), III (103), IV (2), V (19), VI (1). The most frequent MLST Clonal Complexes (CC) were CC 17 (83, all ST-17), CC 23 (35), CC 1 (21), CC 9 (19), CC 19 (14), and CC 6 (3), 4 strains were single STs. The 183 strains were differentiated into 12 rep-PCR clusters and 9 unique rep-PCR types (comprising a total of 116 different fingerprints). Cluster IX included 94 strains (51.4%), for which 48 (51%) were ST-17. Cluster VIII contained 26 strains (14.2%) that almost entirely belong to CC 23 (92.3%). Nine clusters were defined by strains belonging to different CCs. On the other hand, the 3 remaining clusters (II, IV, XII) were exclusively constituted by ST-17 strains (n=14 ; 7.7%) and 84.7% of ST-17 strains were distributed in 3 rep-PCR clusters (IX, II, V) indicating that this ST is genetically diverse.

Conclusion: Our preliminary results suggest that the level of discrimination for rep-PCR and MLST are similar. As expected, the concordance is not 100%. Some MLST clusters are separated using rep-PCR and some rep-PCR types contain more than one MLST type.

294/68A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation préliminaire du test ATB® Norfloxacine chez *Streptococcus pneumoniae*

M. Chomarat[2], R. Martelin[1], F. Breysse[2], M.T. Albertini[1], G. Zambardi[1]
[1]Biomérieux, La-Balme-Les-Grottes [2]Bactériologie, CHU Lyon-Sud, Pierre-Bénite, France

Objectifs: Les souches de *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones (SD-FQ) présentent soit des mutations sur la topoisomérase IV (*par*C ou *par*E), soit des phénomènes d'efflux actif, alors que les souches résistantes ont des mutations combinées *par*C ou *par*E et gyrase (*gyrA).* Le test ATB Norfloxacine (ATB-NOR), dédié à la future galerie ATB STREP EUCAST (08) doit permettre de différencier les souches « sauvages » S aux FQ des souches SD-FQ. Le but de cette étude était de déterminer la concentration ATB NOR permettant une classification optimale des souches en comparaison au test norfloxacine en diffusion (CA-SFM).

Méthodes: 94 souches de *S. pneumoniae* étaient testées. La méthode de référence (CMI) était la DEG norfloxacine + /- réserpine (diagnostic de la résistance par efflux). Une souche est déclarée Résistante si la CMI est > 16 mg/L ou si le diamètre d'inhibition est <10 mm (CA-SFM). Les galeries incluant le test ATB-NOR étaient composées d'une série de dilutions de norfloxacine (6; 8,5; 10; 12; 14; 17; 20 mg/L) incubées 18 et 24h et lues visuellement ou automatiquement à l'aide de l'instrument miniAPI^{O}. 32 souches de CMI ≥ 8 mg/L en DEG, ou discordantes par une des méthodes testées, étaient caractérisées par séquençage des gènes *parC, par*E *et gyr*A. La comparaison des calculs de sensibilité et spécificité était faite à l'aide des tests statistiques de Mac Némar ou Binomial.

Résultats: 90 souches de *S. pneumoniae* étaient caractérisées « sauvages » et 4 « SD-FQ ». Aucune différence significative sur les résultats du test ATB NOR n'était observée selon le mode de lecture ou la durée d'incubation. A la concentration 12 mg/L, 3 des 4 souches R étaient détectées par le test ATB-NOR, et à 10 ou à 8,5 mg/L toutes étaient bien détectées. Avec le test de diffusion, ces 4 souches étaient aussi correctement détectées. Concernant la spécificité, aucune différence statistiquement significative entre les deux méthodes n'était notée aux concentrations allant de 8,5 à 14 mg/L.

Conclusion: Le test ATB-NOR montre potentiellement de bonnes performances aux concentrations comprises entre 8,5 et 12 mg/L. Cependant, en raison du nombre restreint de souches SD-FQ, une étude complémentaire sur un plus grand nombre de souches résistantes apparaît nécessaire.

295/68A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation de la formation du biofilm chez *Streptococcus agalactiae* par la méthode du BioFilm *Ring Test*®

L. Mereghetti[1-2], M. André[1], G. Baty[1], P. Lanotte[1-2], V. Morange[1], A. Goudeau[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie, CHU de Tours [2]EA 3854, Bactéries et risque materno-foetal, Université François Rabelais de Tours, Tours, France

La formation du biofilm est un phénomène connu depuis de nombreuses années chez diverses espèces bactériennes. Malgré son rôle important en pathologie humaine, il n'a été décrit que très récemment chez *Streptococcus agalactiae*.

Notre objectif a été d'évaluer la formation du biofilm chez *S. agalactiae* par la méthode du BioFilm *Ring Test*®. Le BioFilm *Ring Test*® permet de suivre la formation du biofilm de façon simple et rapide, sans lavage ni coloration, en microplaques 96 puits. Le principe repose sur la co-incubation d'une suspension bactérienne avec des microbilles, dont la mobilité est freinée par la formation du biofilm. La formation du biofilm est mesurée par un indice biofilm (BFI), qui correspond à la différence de mobilité des microbilles mesurée à deux temps différents (l'indice BFI diminue progressivement avec la formation du biofilm).

Au cours d'une première étape du travail, nous avons comparé plusieurs milieux de culture et nous avons observé que les meilleurs résultats étaient obtenus avec l'utilisation de bouillon cœur-cervelle avec des microbilles de 2,8 µm chargées négativement. Au cours d'une deuxième étape, nous avons montré qu'il existait une variabilité importante dans la cinétique de formation du biofilm entre plusieurs espèces de cocci à Gram positif (*Streptococcus agalactiae*, *Streptococcus pyogenes*, *Streptococcus pneumoniae*, *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, staphylocoques à coagulase negative), même si *Pseudomonas aeruginosa* était plus biofilmogène que les autres espèces testées. Enfin, nous avons évalué la formation du biofilm de 65 souches de *S. agalactiae* isolées d'écosystèmes différents (humain, bovin), et provenant de colonisation (colonisation vaginale) ou d'infections (meningites, infections ostéo-articulaires, endocardites, infections pulmonaires, mammites bovines). Nous avons observé des différences significatives dans la capacité à former un biofilm en fonction des souches.

En conclusion, notre travail montre une variation de la capacité de formation du biofilm entre souches de *S. agalactiae*. Il montre également que le BioFilm *Ring Test*® est un outil performant pour l'évaluation du biofilm, permettant un screening rapide d'un nombre important d'échantillons.

296/68A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

***Helicobacter pylori* IgG - Évaluation comparative de vingt neuf dispositifs médicaux de diagnostic *In Vitro* disponibles en France en 2008**

N. Charlier-Bret[5], B. Boucher[5], M. Duran Cordobes[5], M. Fromage[5], F. Poisson[5], T.D. Ly[3], C.J. Soussy[2], F. Zerbib[1], A. Courillon Mallet[4], J.D. De Korwin[4], J.L. Fauchère[4], F. Mégraud[4], J. Raymond[4], J.C. Delchier[4]
[1]Hépatogastroentérologie, Hôpital Saint André, Bordeaux [2]Bactériologie, Hôpital Henri Mondor, Créteil [3]Laboratoire Biomnis, Ivry-sur-Seine [4]Groupe d'étude français des Helicobacter (GEFH), Paris [5]Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé (AFSSAPS/DEDIM), Saint Denis, 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 92 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 47 négatifs (patients non infectés).

Pour les tests ELISA, les résultats ont montré une sensibilité diagnostique, un test mis à part (57,8%) allant de 86,7 à 100%, une spécificité diagnostique de 57,4 à 97,9% et une performance diagnostique (pourcentage de sérums bien classés) allant de 73,9 à 97,8%. La valeur prédictive négative (VPN) est en général excellente s'échelonnant, sauf pour 1 test de 93,2 à 100%. Pour les tests de diagnostic rapide, les résultats ont montré une plus grande hétérogénéité avec une sensibilité diagnostique allant de 46,7 à 97,8%, une spécificité diagnostique de 70,2 à 100%, une performance diagnostique de 66,7 à 87,9% et une VPN de 67,1 à 97,5%.

Suite à la phase contradictoire avec les industriels, il a été constaté des améliorations de performances et la mise en conformité des notices au regard de la directive 98/79/CE.

Les résultats de ce contrôle permettent de mieux situer le niveau de performance des 29 tests sérologiques de l'infection à *H.pylori* concernés.

297/68A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Enterococcus faecium résistant à l'ampicilline au CHU Mustapha Bacha d'Alger

F. Djennane, H. Ziane, H. Tachet, S. Ouzani, R. Khelifa, M. Neggazi, N. Ramdani-Bougessa, M. Tazir
Microbiologie médicale, CHU Mustapha Bacha, Alger, Algérie

Objectifs : L'acquisition de plus en plus de résistance aux antibiotiques par le genre Enterococcus pose un problème important en milieu hospitalier. Dans ce travail nous nous sommes intéressés à l'apparition de souche d'*Enterococcus faecium* résistant à l'ampicilline (EFRA) au CHU Mustapha et à étudier leurs phénotypes de résistance vis-à-vis des différents antibiotiques.

Méthodes : Neuf (9) EFRA sur 53 *Enterococcus faecium* ont été isolés de janvier 2006 à juin 2009. l'identification biochimique des isolats a été faite par API strep et les antibiogrammes par la méthode de diffusion. L'étude des CMI à l'Ampicilline, Vancomycine et Teicoplanine a été réalisée par méthode de E-Test, selon les recommandations du CLSI. La détection de la béta lactamase à été recherché par méthode de Nitrocefine.

Résultats : 6/9 EFRA isolés provenaient des unités de soins intensifs des services de chirurgie ; 7/9 souches isolées ont présenté des CMI à l'ampicilline ¡Ý 16 et toutes les souches étaient sensibles à la vancomycine et teicoplanine avec des CMI ¡Ü 4 et CMI ¡Ü 8 respectivement. D'autre part aucune production de bétalactamase n'a été retrouvé pour les 9 souches isolées.

L'étude du profil de résistance vis à vis des autres antibiotiques a montré que 7/9 souches présentaient des résistances de haut niveau à la gentamicine et streptomycine et toutes (9/9) étaient résistantes à l'érythromycine.

Les renseignements recueillis sur les fiches de prélèvement ont indiqué que la plupart des isolats provenaient des prélèvements d'urine et de suppuration et que 7/9 EFRA provenaient de patients déjà sous antibiothérapie de la famille des bétalactamines.

Conclusion : L'émergence d'EFRA dans les unités de soins intensifs du CHU Mustapha rend compte de la pression de sélection exercée par l'utilisation abusive des antibiotiques. Une surveillance régulière de la sensibilité aux antibiotiques ainsi que l'observation des règles d'hygiène est nécessaire pour limiter la diffusion de ces souches. La mise en place de méthodes moléculaires permettra un suivi de la diffusion clonale de cette espèce.

298/68A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Activité _in vitro_ des antibiotiques vis-à-vis des souches de _Streptococcus pneumoniae_ (SP) isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine en 2008/2009 : analyses globale et régionale

H.B. Drugeon[2], A. Michaud-Nerard[1]
[1]*Drug R&D, Angers Technopole, Beaucouzé* [2]*Faculté de Médecine, Nantes, France*

Objectif : 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 38 laboratoires de microbiologie hospitaliers français répartis en 8 régions administratives.

Méthodes : Les CMI des souches sont 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), télithromycine (TEL), pristinamycine (PRI) et lévofloxacine (LVX) Les taux de souches sensibles (S), intermédiaires (I) et résistantes (R) ont été calculés conformément aux recommandations 2009 du CA-SFM.

Résultats : Parmi les 979 souches isolées d'octobre 2008 à mars 2009, 42.3% sont de sensibilité diminuée à PEN dont 4.2 % sont résistantes et 35.5% possèdent un mecanisme de résistance à ERY. Concernant l'amoxicilline, 3.1 % des souches sont résistantes avec une CMI >2mg/L. La co-résistance PEN et ERY est présente dans 31.8% des souches.

Les pourcentages de S/R nationaux et en fonction de la région administrative sont les suivants:

	PEN	AMX	CFM	ERY	TEL	PRI	LVX
Total (n=979)	57.7/4.2	74.5/3.1	67.0/31.5	64.5/35.1	97.2/1.5	99.9/0.0	99.6/0.4
IDF (n=206)	54,4/4.9	73,3/4.4	67,0/33.0	63,1/36.9	97,1/1.5	99.5/0.0	99.0/1.0
Est (n=15559)	61,0/3.8	78,6/3.1	69,2/27.7	62,9/35.8	97,5/1.9	100/0.0	100/0.0
Rhône-Alpes-Auvergne (n=100)	61,0/4.0	83,0/2.0	74,0/24.0	68,0/31.0	98,0/2.0	100/0.0	100/0.0
Méditerranée (n=113)	57,5/5.3	71,7/6.2	66,4/31.9	62,8/37.2	98,2/0.0	100/0.0	100/0.0
Nord-Normandie (n=119)	53,8/6.7	65,5/1.7	60,5/38.7	59,7/39.5	93,3/4.2	100/0.0	99.2/0.8
Ouest (n=111)	55,9/4.5	73,0/2.7	64,9/33.3	66,7/33.3	97,3/0.9	100/0.0	100/0.0
Centre (n=94)	57,4/2.1	71,3/1.1	64,9/35.1	69,1/30.9	97,9/1.1	100/0.0	100/0.0
Sud-Ouest (n=77)	64,9/0.0	81,8/1.3	70,1/26.0	67,5/32.5	100,0/0.0	100/0.0	98.7/1.3

Conclusion : Les niveaux de résistance aux macrolides diminuent de manière importante par rapport à la campagne précédente (35.5% versus 43.3%) alors que la résistance à la pénicilline augmente très légèrement (42.3% versus 41.4%). La résistance à l'amoxicilline reste stable (3.1% versus 2.5%). LVX, PRI et TEL conservent une bonne activité sur SP en 2008/09.

299/69A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Les Isolats pathogènes opportunistes d'_Agrobacterium radiobacter/Agrobacterium tumefaciens_ forment une sous-population distincte des isolats environnementaux

F. Aujoulat[3], F. Salle[3], C. Teyssier[3], D. Faure[1], C. Segonds[4], A. Masnou[3], H. Marchandin[3-2], E. Jumas-Bilak[3]
[1]*ISV-CNRS, Gif-Sur-Yvette* [2]*Laboratoire de Bactériologie, CHRU de Montpellier* [3]*EA3755-DIBOP – Université Montpellier 1, Montpellier* [4]*Laboratoire de Bactériologie, CHU de Toulouse, Toulouse, France*

Le genre *Agrobacterium* regroupe des bactéries le plus souvent isolées de l'environnement, certaines souches étant phytopathogènes par tumorogénèse. Ces bactéries sont également opportunistes de l'homme mais leur pouvoir pathogène reste à évaluer. La taxonomie et la nomenclature dans le genre *Agrobacterium* restent controversées. Par convention, les souches cliniques sont nommées *Agrobacterium radiobacter* alors que la plupart des souches environnementales sont appelées comme *Agrobacterium tumefaciens*, sans qu'il s'agisse de deux espèces distinctes. Le génome d'*A. tumefaciens* / *A. radiobacter* est totalement séquencé, il présente un chromosome circulaire et un chromosome linéaire.

Nous proposons une analyse phylogénétique couplée à une approche Multi Locus Sequence Typing (MLST) afin d'étudier la structure de population d'*A. tumefaciens* / *A. radiobacter*. L'étude est menée sur une collection de 22 souches environnementales, phytopathogènes ou non, et sur 35 souches cliniques auxquelles sont ajoutées les souches de référence d'*A. tumefaciens* et d'*A. radiobacter*. Le schéma MLST est basé sur la séquence partielle de 6 gènes de ménage (*atpD*, *zwf*, *trpE*, *groEL*, *dnaK* et *rpoB*) présents sur le chromosome circulaire.

Les 47 souches se repartissent en 36 séquence-types formant 7 complexes clonaux, chacun comprenant exclusivement soit des souches environnementales, soit des souches cliniques. Une analyse phylogénétique basée sur les séquences concaténérisées des 6 gènes (2834 pb) révèle l'existence de 2 clades majeurs et robustes. Le premier comprend 21 souches dont 18 sont environnementales (soit 82% de la totalité des souches environnementales). Le second clade regroupe 23 souches cliniques et une souche environnementale.

La phylogénie et la structure de population montrent une séparation nette entre la sous-population clinique et la sous-population environnementale. Cette organisation suggère une adaptation particulière de certains clades et/ou complexes clonaux à l'homme et au comportement pathogène opportuniste.

300/69A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison des profils antigéniques de quatre _immunoblots_ commercialisés pour la confirmation sérologique de la borréliose de Lyme

K. Barrial[1], C. Roure Sobas[1], O. Raulin[1], A. Carricajo[2], H. Salord[1], F. Laurent[1], S. Tigaud[1]
[1]*Laboratoire de Bactériologie, Hôpital de la Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Lyon* [2]*Laboratoire de Bactériologie, Hôpital de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France*

Introduction : L'immunoblot (IB) est utilisé comme test de confirmation sérologique de la borréliose de Lyme. Les IBs diffèrent par le nombre d'Ag, le mode de fabrication et les souches de *Borrelia* utilisées. L'ajout récent de protéines recombinantes comme la VlsE permet d'augmenter la sensibilité et la spécificité des IBs mais leur pertinence a rarement été évaluée en pratique clinique.

Objectifs : Comparer les résultats obtenus avec 4 IBs commercialisés pour étudier la réactivité des antigènes utilisés, en particulier VlsE (IgG) et OspC (IgM). Rechercher une corrélation profil sérologique/stade clinique.

Méthode : Nous avons comparé 4 IB IgG/IgM : Europe Line® (Virotech ; Ingen), Ecoblot® (Virotech ; Meridian), EU Lyme WB® (MarDx ; Trinity Biotech) et Recomblot® (Mikrogen ; Diasorin). Les sérums de 42 patients à des stades précoces (n=12) ou tardifs (n=30) de la maladie ont été testés. Tous les sérums étaient positifs ou douteux en dépistage IgG et/ou IgM Enzygmost® (Siemens).

Résultats : En excluant les érythèmes migrants (EM), les IBs IgG sont positifs dans 73%, 73%, 67% et 77% des cas respectivement avec Europe Line®, Ecoblot®, EU Lyme WB® et Recomblot®. L'IB IgM confirme seulement dans 50% des cas la spécificité des Ac au stade EM. Il est inconstamment positif aux autres stades : 60%, 57%, 70% et 73%. Les IgG dirigées contre la VlsE sont précoces (souvent isolées au stade EM) et persistent aux stades tardifs. Elles sont présentes dans 81%, 83%, 38% et 79% des cas, contrairement aux autres Ag cibles qui atteignent rarement 50%. Les IgM anti-OspC, majoritaires, sont respectivement présentes dans 48%, 50%, 67% et 47%. Les recommandations européennes incluant p83/100, p58, p39, DbpA et VlsE sont respectées par les fabricants, hormis l'absence de p58 dans Recomblot®. L'inclusion d'Ag supplémentaires complique la lecture et n'améliore pas la sensibilité de l'IB. Le nombre d'Ag détectés augmente dans les stades tardifs mais aucune association antigénique ne semble prédominer.

Conclusion : Malgré l'effort récent de standardisation, les compositions antigéniques des réactifs restent hétérogènes en Europe, expliquant la difficulté de comparer les IBs entre eux. Notre choix retient Europe Line® et Recomblot® pour leurs performances dans notre population et leur possibilité d'automatisation.

301/69A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Clonalité et profil de virulence des souches d'*Escherichia coli* responsables d'infections invasives chez le cirrhotique

B. Ouattara[2], F. Bert[2], J.R. Johnson[1], E. Marcon[2], M.H. Nicolas-Chanoine[2]
[1]Minneapolis VA Medical Center, Minneapolis, Etats-Unis [2]Microbiologie, Hôpital Beaujon, Clichy, France

Objectif : Les infections invasives à *E. Coli* sont une complication majeure au cours de la cirrhose. L'objectif du travail était d'étudier la clonalité et le profil de virulence des souches d'*E. Coli* responsables de bactériémies et/ou d'infections d'ascite chez le patient cirrhotique.

Méthodes : Nous avons étudié 125 souches isolées d'hémocultures et/ou de prélèvements d'ascite de patients cirrhotiques à l'hôpital Beaujon (1997-2006). Le groupe phylogénétique a été déterminé par PCR triplex. Un score de virulence (nombre de gènes de virulence détectés par PCR sur 22 gènes testés) a été établi. Les profils obtenus par ERIC2-PCR ont été comparés afin d'identifier les souches clonales (profil identique chez au moins deux souches provenant de patients non liés). La séquence type (ST) des souches clonales majoritaires a été déterminée par MLST.

Résultats : Les groupes phylogénétiques B2, D, A et B1 ont été identifiés chez 47%, 26%, 24% et 3% des souches, respectivement. Le score de virulence moyen était de 9.1, variant de 19.9 pour les souches B2 à 4.3 pour les souches A et B1. Au total, 79 profils ERIC2 ont été observés, dont 61 avec chacun une seule souche et 18 profils partagés correspondant à 64 souches clonales. Les souches B2 étaient plus souvent clonales que les souches non-B2 (71.2% vs 33.3%, p<0.001). Les ST les plus fréquentes parmi les souches clonales B2 étaient ST95 (n=9), ST14 (n=8), ST73 (n=6), ST19 (n=4), ST131 (n=3) et ST141 (n=3). Le score de virulence des souches clonales était significativement plus élevé que celui des souches non clonales (10.8 vs 7.4, p<0.001). Les gènes de virulence significativement associés aux souches clonales étaient *papG* (51.5% vs 24.6%, p<0.01), *vat* (62.5% vs 26.2%, p<0.001), *iroN* (54.7% vs 31.1%, p<0.01), *ire (*39% vs 18%, p<0.01) *usp* (65.6% vs 31.1%, p<0.001) et *omp*T (81.2% vs 59%, p<0.01). La mortalité hospitalière n'était pas significativement différente chez les patients infectés par une souche clonale (44.3%) et ceux infectés par une souche non clonale (49.1%).

Conclusion : Malgré la diversité de souches d'*E. Coli* responsables d'infections invasives chez le cirrhotique, environ 50% des épisodes sont dus à des souches clonales appartenant surtout au groupe B2 et possédant davantage de gènes de virulence.

302/69A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Distribution of Subtilase cytotoxin among clinical verocytotoxin-producing *Escherichia coli* isolates

G. Buvens, D. Pierard, S. Lauwers
Department of Microbiology, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels, Belgique

Purpose of the study: Verocytotoxin (vtx)-producing *Escherichia coli* (VTEC) frequently cause sporadic and epidemic foodborne infections ranging from watery to bloody diarrhea, and may lead to the hemolytic uremic syndrome (HUS). A new cytotoxin called Subtilase cytotoxin (SubAB) was recently described in VTEC strains lacking the 'locus of enterocyte effacement' (LEE) pathogenicity island. Intraperitoneal injection of purified SubAB is lethal in mice, and results in widespread microvascular injury, thrombosis, and necrosis in brain, kidneys, and liver. The striking resemblance between the pathology caused by SubAB in mice, and vtx in humans suffering from HUS raises the question whether SubAB contributes to human disease particularly in LEE-negative VTEC. We assessed the role of this virulence factor in Belgium by searching for its presence in both LEE-negative and LEE-positive human VTEC.

Methods: A PCR primer pair targeting the *subA* sequence of the SubAB operon was used to investigate the prevalence of SubAB in 208 VTEC belonging to 75 different serotypes isolated from human stools in our laboratory between 1990 and 2008. All isolates were also examined for the presence of *vtx*, intimin (*eaeA*), enterohemolysin (*ehxA*), and the STEC auto-agglutinating antigen (*saa*).

Results: Seven (3.4%) isolates were positive for *subA*, comprising serotypes O105:H18 (2 isolates), O113:H21 (two isolates), O162:H28, O178:H19, and OX183:H18 (one isolate each). The *vtx1* gene was present in 105 (50.5%) isolates, 73 (35.1%) carried *vtx2*, and 30 (14.4%) were positive for both *vtx1* and *vtx2*. The *eaeA* and *ehxA* genes were present in 143 (68.8%) and 160 (76.9%) isolates, respectively. Thirteen (6.3%) isolates were *saa* positive. All *subA*-positive VTEC harboured *vtx2* (in combination with *vtx1* in two isolates), were LEE-negative, but carried *ehxA* and *saa*. One O178:H19 isolate was recovered from a 76-year-old HUS patient, while the other *subA*-positive isolates were associated with uncomplicated diarrhea.

Conclusion: VTEC isolates carrying SubAB are rare in Belgium. The presence of SubAB in an O178:H19 isolate recovered from an HUS patient suggests that this virulence factor might in some cases contribute to the development of HUS when LEE is absent.

303/69A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Production d'une génotoxine, la Colibactine, par des isolats cliniques de *Citrobacter koseri*

O. Baron[3-4-5], J.P. Nougayrede[4], U. Dobrindt[1], L. Armand-Lefèvre[2], M.F. Prère[3-5], A. Andremont[2], N. Marty[3-5], E. Oswald[3-4-5]
[1]Institut für Molekulare Infektionsbiologie, Universität Würzburg, Würzburg, Allemagne [2]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris [3]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU de Toulouse [4]INRA, UMR1225, F-31076 Toulouse, Université de Toulouse, ENVT, UMR1225, F-31076 Toulouse [5]Université Paul Sabatier, Toulouse, France

La Colibactine est un métabolite secondaire hybride polykétide-peptide non-ribosomique récemment identifié chez *Escherichia coli*. C'est une génotoxine capable d'induire des cassures doubles brin dans l'ADN de cellules eucaryotes. La machinerie nécessaire à la production de la Colibactine est codée par un îlot génomique de 54 kb appelé îlot *pks*. L'îlot *pks* est présent chez 9,5% des souches d'*E.coli,* avec une forte prévalence (~50%) dans les isolats extra-intestinaux où elle est fréquemment associée à d'autres facteurs de virulence.

Des études récentes recherchant la Colibactine dans différentes espèces d'entérobactéries ont permis de mettre en évidence la présence de l'îlot *pks* dans une souche récemment séquencée de *Citrobacter koseri* (anciennement *C. diversus*).

Les *Citrobacter* d'origine digestive sont considérés comme peu pathogène mais peuvent être à l'origine d'infections diverses. *C. koseri* possède un fort tropisme pour le système nerveux central chez le jeune enfant, pouvant entraîner des méningites néonatales létales dans un tiers des cas. Environ 75% des enfants souffrant de méningite à *C. koseri* développent un abcès cérébral entraîneant des séquelles neurologiques chez la moitié des survivants. Nous disposons actuellement de très peu de données sur les facteurs de virulence de *C. koseri*.

Nous avons étudié par PCR la prévalence de la Colibactine dans une collection de 47 souches de *C. koseri* d'origine clinique. Nous avons également recherché par PCR multiplex d'autres facteurs de virulence associées aux isolats extra-intestinaux d'*E. coli*, tel que différentes adhésines, sidérophores, et toxines. La production de toxines à également été évaluée par des tests phénotypiques sur des cellules eucaryotes en culture.

51% des isolats de *C. koseri* étudiés possèdent l'îlot *pks*. Toutes les souches *pks*+ étaient capables d'induire des cassures doubles brins dans l'ADN des cellules eucaryotes. Toutes les souches étudiées possèdent l'opéron *mrk* qui code pour des fimbriae de type III impliqués dans la production de biofilm et l'opéron codant pour un sidérophore, la yersiniabactine. Aucun des autres facteurs de virulence testés n'a été identifié.

Cette étude à ainsi pu mettre en évidence la distribution de facteurs de virulences potentiels et avérés au sein des souches de *C. koseri* d'origine clinique.

304/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Epidemiology and molecular typing of *Candida* spp in Morocco

K. Sdoudi[3], N. Chaib[2], M. Hassar[3], D. Diogo[1], C. D'enfert[1], M.E. Bougnoux[1], A. Razki[3]
[1]Unité Biologie et Pathogénicité Fongiques, Institut Pasteur, Paris, France [2]Mycologie, Faculté des Sciences Ben M'Sik [3]Pathologie Fongique, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

Candida albicans is a facultative commensal yeast of the human gastrointestinal and genital mucosa. Medical progress in developing countries has been accompanied by an increase in opportunistic candidiasis. In the present study, we have investigated the prevalence of *Candida* commensal carriage in 697 asymptomatic Moroccan women between 2006 and 2008.

Aims of th study:

-Assess through sampling the prevalence of vaginal colonization by *Candida* species in asymptomatic healthy women living in Morocco.

-Evaluate the species distribution from this collection of *Candida* isolates

-Determine the genetic diversity of *C. albicans* strains isolated from vaginal samples in Morocco.

-Examine genetic relationships among *C. albicans* recovered during vaginal colonization from healthy women from 3 countries representing 3 continents: Morocco (North Africa), France (Western Europe) and Brazil (South America).

Materials and methods:

-144 out of 697 vaginal cultures from asymptomatic women examined at the consultation of Institut Pasteur Casablanca from 2006 to 2008.

-Identification of *Candida* species was performed using: API 20C galleries, CHROMAgar Candida identification and PCR ITS with sequencing of ITS1&2 regions.

-All *C. albicans* isolates obtained were typed by MLST.

Results: We found 144 clinical isolations of *Candida* spp. indicating a prevalence of 20.7% for genital carriage in the investigated population. Phenotyping and PCR analysis showed that 68 were *C. albicans* (47%) and 76 were other species (*C. glabrata*, 34%; *C. tropicalis*, 4.1%; *C. parapsilosis*, 4.1%; *C. dubliniensis*, 2.0%). This confirmed the predominance of *C. albicans* in genital specimen. Molecular typing of *Candida* spp. was done by MLST and indicated that *C. albicans* isolates had a phylogenetic distribution mostly similar

to that observed in developed countries.

Conclusion:

-MLST of *C. albicans* isolates originated from Morocco revealed an extensive diversity.

-MLST showed that the distribution in clades of *C. albicans* vaginal isolates sampled in Morocco, France and Brazil did not differ significantly.

305/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Émergence de candidémies à *Candida parapsilosis* à l'hôpital Cochin. Recherche de facteurs de risque et caractérisation des isolats

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

De 2003 à 2007, la proportion de *C. parapsilosis* parmi les espèces non-albicans isolées d'hémocultures dans notre hôpital est passée de 17% à 39%. Cette espèce est devenue, par sa fréquence d'isolement, la deuxième, dépassant *C. glabrata*. Pour comprendre les raisons de cette émergence nous avons rétrospectivement réalisé une enquête cas-témoins et caractérisé les isolats.

Matériel : Automate d'hémoculture BacT/ALERT^{O} (bioMérieux), flacons standard d'isolement. Galerie biochimique d'identification API 32C^{O} (bioMérieux). Mileu de culture chromogénique CHROMagar^{O} Candida (Becton Dickinson). Technique d'antifongigramme par bandelettes Etest^{O} (AB Biodisk).

Méthode : Etude cas-témoin pour comparer les facteurs de risque des patients ayant eu une candidémie à *C. parapsilosis* avec ceux de témoins (candidémie à *C. albicans*). Analyse phénotypique (aspect sur milieu chromogénique, profil biochimique, sensibilité aux antifongiques) et génotypique (amplification et séquençage de la région ITS de l'ADN ribosomal) des isolats.

Résultats : 26 patients avaient une candidémie à *C. parapsilosis*. L' étude cas-témoins a permis de mettre en évidence la présence d'une antibiothérapie à large spectre, significativement plus fréquente lors d'une candidémie à *C. parapsilosis* par rapport aux candidémies à *C. albicans* (OR=3 [1,1-8]). L'analyse génotypique des isolats n'a pas retrouvé les nouvelles espèces *C. orthopsilosis* et *C. metapsilosis,* phénotypiquement identiques à *C. paraspislosis*.

Discussion et conclusion : *C. parapsilosis* se caractérise par sa présence habituelle sur la peau, son affinité pour les matières plastiques (cathéters) et sa capacité à produire un biofilm. *C. parapsilosis* est un complexe d'espèce dont les nouvelles espèces *C. orthopsilosis* et *C. metapsilosis* sont très rarement isolées des hémocultures. A la différence de *C. albicans* les bilans de colonisation permettent rarement son isolement avant l'apparition de candidémies. L'émergence de cette espèce, observée depuis quelques années dans nombre de centres hospitaliers apparaît contemporaine de l'introduction d'une nouvelle famille d'antifongiques, les échinocandines. Cette espèce a, *in vitro*, un niveau de sensibilité vis-à-vis des échinocandines (caspofungine) nettement plus faible que ceux observés avec les autres espèces de *Candida*. Bien que les résistances cliniques soient exceptionnelles, il convient de s'interroger sur l'impact de la prescription de ce nouvel antifongique sur l'épidémiologie fongique et de surveiller attentivement la fréquence et le niveau de sensibilité des souches de *C. parapsilosis* isolées en milieu hospitalier.

306/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Prévalence de *Candida parapsilosis*, *C. orthopsilosis* et de *C. metapsilosis* au sein des candidémies depuis 2004 au CHU de Nantes et profil de sensibilité à trois échinocandines (caspofungine, micafungine et anidulafungine) par la méthode E-test

G. Thierry[1], F. Morio[1], F. Gay-Andrieu[1], P. Le Pape[1], O. Barre[2], M. Miegeville[1]
[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [2]Laboratoire de Virologie, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

Candida parapsilosis, espèce fréquemment impliquée dans les candidémies, présente *in vitro* une sensibilité diminuée aux échinocandines mais les techniques classiques d'identification ne permettent pas la distinction avec *C. orthopsilosis* et *C. metapsilosis*, espèces proches mais présentant cependant des profils de sensibilité différents aux antifongiques.

Objectifs : Déterminer la prévalence de *C. parapsilosis*, *C. orthopsilosis* et *C. metapsilosis* dans les candidémies sur une période de 5 ans au CHU de Nantes (mai 2004 à juillet 2009). Evaluer la sensibilité *in vitro* des isolats vis à vis de la caspofungine, de la micafungine et de l'anidulafungine par la méthode E-test.

Matériel et méthodes : Sur la période étudiée, 187 épisodes de candidémies ont été répertoriés. L'identification mycologique a été obtenue grâce au système d'identification VITEK®. La recherche de *C. orthopsilosis* et de *C. metapsilosis* a été menée par séquençage de la région ITS sur toutes les souches identifiées comme *C. parapsilosis*. La sensibilité aux échinocandines à été évaluée par la méthode E-test. La recherche de mutations associée à la résistance (gène FKS1) a été réalisée sur toutes les souches non-sensibles (CMI>2µg/mL).

Résultats : *C. parapsilosis* a été impliqué dans 27 épisodes de candidémies (14.4%) arrivant au second rang après *C. albicans* (102/187, 54.5%). Aucun *C. orthopsilosis* ni *C. metapsilosis* n'a été identifié. En accord avec la littérature, l'ensemble des isolats présentaient des CMI relativement élevées vis à vis des trois échinocandines (>0.19µg/mL). Toutefois, les isolats restaient sensibles (CMI≤2µg/mL) à la caspofungine et à la micafungine avec une bonne concordance entre les résultats obtenus à 24h et 48h (CMI_{50}=0.75, CMI_{90}=1.5µg/mL). En revanche, si l'ensemble des isolats étaient également sensibles à l'anidulafungine en 24h (CMI_{50}=1, CMI_{90}=1.5µg/mL), 14 isolats (52%) apparaissaient non-sensibles à 48h. Toutefois, aucune mutation associée à la résistance n'était retrouvée sur ces isolats.

Conclusion : Cette étude souligne la faible prévalence de *C. orthopsilosis* et *C. metapsilosis* dans les candidémies. La résistance *in vitro* aux échinocandines est faible. Les difficultés d'interprétation de la CMI pour l'anidulafungine par la méthode E-test sont discutées.

307/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Rôle potentiel de CRH11 dans les mécanismes de résistance à la caspofungine chez *Candida albicans*

C. Dunyach-Remy[2], S. Bertout[2], P. Drakulovski[2], J. Reynes[1], M. Mallié[2]
[1]Maladies infectieuses et Tropicales, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», CHU Gui de Chauliac [2]Laboratoire de Parasitologie et Mycologie Médicale, UMR 145, Université Montpellier I-IRD, «VIH/SIDA et maladies associées», Faculté de Pharmacie, Montpellier, France

Objet de l'étude : Malgré un taux de résistance réduit, l'utilisation de plus en plus large des échinocandines laisse présager l'émergence d'isolats cliniques résistants à ces antifongiques. Cette résistance est souvent liée à des mutations au niveau du gène FKS1 qui code pour la cible d'action des échinocandines. Cependant, d'autres mécanismes pourraient également être impliqués dans cette résistance. L'objectif de ce travail est d'étudier, au niveau moléculaire, les mécanismes responsables de l'acquisition de résistance à la caspofungine (CAS) chez *C. albicans* lors d'une exposition prolongée à cet antifongique.

Méthodes : Pour ce faire, nous avons comparé une souche de *C. albicans* de référence (ATCC 90028) et un isolat de *C. albicans* (CaIn-R) de Concentration Minimale Inhibitrice élevée (CMI=8µg/ml) obtenu par pression de sélection à partir de la souche ATCC 90028 initialement sensible. Tout au long de la pression de sélection, sept clones notés de CaR-1 à CaR-7 de CMI intermédiaires ont été isolés. Deux gènes ont été étudiés: le gène FKS1 et le gène CRH11 décrits également comme impliqués dans la synthèse de la paroi. Ces gènes ont été clonés, purifiés et séquencés pour les souches CaIn-R, ATCC 90028, et pour les clones CaR-1 à CaR-7.

Résultats : Aucune mutation n'est retrouvée au niveau du gène FKS1 pour l'isolat CaIn-R et les clones CaR-1 à CaR-7. Par ailleurs, nous avons mis en évidence des délétions au niveau d'une région riche en sérines (S310®S340) de la protéine Crh11p. En effet, pour CaIn-R, la séquence protéique est tronquée au niveau de P318, T321, T322 et de S335 à S340 comparativement la souche de *C. albicans* de référence (ATCC 90028). Le séquençage de CRH11 pour les clones de CMI intermédiaires montre que ces délétions ont une cinétique d'apparition corrélée à l'augmentation de la CMI. En effet, CaR-2 qui a une CMI à la CAS de 1µg/mL ne présente pas de délétion au niveau de CRH11 alors que CaR-7 qui a une CMI de 4µg/mL présente toutes les délétions décrites pour CaIn-R (excepté pour la T32).

Conclusion : Cette étude montre que des délétions au niveau du gène CRH11 peuvent apparaître chez une souche initialement sensible à la CAS après une exposition prolongée à cet antifongique entraînant une diminution de sensibilité de cet isolat à la CAS.

308/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Analyse épidémiologique des scabioses diagnostiquées à l'hôpital Henri Mondor : étude prospective sur 2 ans

P.M. Collin, F. Foulet, C. Dichamp, G. Cremer, A. Perignon, A. Benammar, M. Bagot, S. Bretagne, F. Botterel
Parasitologie-Mycologie, APHP, Créteil, France

La gale ou scabiose est une ectoparasitose cosmpolite contagieuse, due à *Sarcoptes scabiei* var *hominis*.

Le but de notre étude était d'analyser l'épidémiologique et la thérapeutique des patients pris en charge à Créteil.

Matériels et méthodes : Il s'agit d'une étude prospective sur une période de 2 ans (2007-2008) portant sur les cas de gale confirmés par un prélèvement parasitologique dans le service de Parasitologie – Mycologie au sein du service de Dermatologie de l'hôpital Henri Mondor. Les données épidémiologiques, la clinique et le traitement étaient relevés et les patients reconvoqués à J14.

Résultats : Au total, 526 prélèvements cutanés (420 patients) ont été effectués. Parmi ceux-ci, 145 (27.5%) étaient positifs (130 patients) soit une incidence moyenne de 65 cas/an. L'analyse des données a été faite sur 122 patients (non compliance chez 8 patients). L'âge moyen était de 29.5 ans (1 mois – 85.5 ans) avec un âge médian de 23 ans. Le sex ratio était de 1.35 (70 hommes/52 femmes). Le prurit était le motif de consultation le plus fréquent (119/122) avec un prurit dans l'entourage dans 53.3% des cas. La contamination était familiale dans 36.1%, sexuelle dans 20,5%, non identifiée dans presque 50% des cas. L'ancienneté des lésions lorsqu'elle était renseignée (35.2%) était de 82 jours. Les lésions étaient spécifiques dans 85% des cas avec des vésicules, des sillons siégeant au niveau des poignets et des espaces interdigitaux. Six patients avaient une gale profuse dont 4 en maison de retraite et 2 atteints de Psoriasis sévère. Certains patients (43/122) avaient

bénéficié d'un traitement antérieur par dermocoticoides et/ou scabicides. Les patients atteints de forme hyperkératosique (4/6) ont été hospitalisés en Dermatologie. Les traitements donnés étaient le Stromectol® associé à l'Ascabiol® (51,6%), l'Ascabiol® seul (23%) et le Stromectol® seul (15.5%). Seulement 54 patients ont été revus à J18 en moyenne (7j – 3 mois). Dix étaient encore positifs malgré un traitement bien conduit.

Discussion : Nos données cliniques et épidémiologiques rejoignent celles de la littérature. Néanmoins les patients sont vus tardivement souvent après une errance diagnostique et/ou un traitement mal conduit ce qui justifie la fréquence de l'association par Stromectol® et Ascabiol®.

309/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Stratégies thérapeutiques face aux infections mycosiques de la cornée

E.N.N. Borsali, P. Goldschmidt, C. Chaumeil, L. Battellier
Laboratoire, Hôpital des Quinze-Vingts, Paris, France

Introduction : Les infections cornéennes à champignons (kératomycoses, souvent secondaires à un traumatisme ou au port de lentilles de contact) se présentent généralement sous forme de lésions grisâtres puis d'infiltrats stromaux. L'efficacité des traitements dépend de la rapidité du diagnostic et du choix des antimycosiques.

Objectifs et méthodes : Étude rétrospective de 23 kératomycoses traitées au Centre Hospitalier National d'Ophtalmologie des Quinze-Vingts (CHNO) ; un prélèvement de cornée pour l'isolement de bactéries et champignons, un antibiogramme ainsi que la mesure des CMI des antifongiques ont été effectués.

Résultats : Pour les kératomycoses débutantes à filamenteux, l'efficacité clinique a été obtenue par traitement topique avec l'Amphotéricine B (Ampho) + Voriconazole (Vori). Pour les infections débutantes à levures, les réponses cliniques ont été obtenues avec Fluconazole (Flu)+ 5-Fluorocytosine (5FC) topiques. Pour les infections cornéennes profondes un traitement antifongique par voie générale a été associé (Vori oral) et, sans efficacité clinique au bout de 7 jours, le pronostic visuel a pu être amélioré par l'association de Caspofungine (IV et topique) au Vorico.

Conclusion : Cette étude a permis d'établir un choix thérapeutique rationnel pour les kératomycoses (sensibilité aux antimycosiques et réponses cliniques); toutefois le nombre réduit de cas nécessite une confirmation par d'autres études.

310/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Endocardite à *Histoplasma capsulatum var. capsulatum* chez un homme immunocompétent âgé de 80 ans

A.S. Ibara[2], M.C. Receveur[1], T. Pistone[1], D. Malvy[1]
[1]*Service de médecine tropicale, CHU de Bordeaux, Bordeaux* [2]*Laboratoire, Centre hospitalier de Morlaix, Morlaix, France*

Nous présentons le cas d'une endocardite à *Histoplasma capsulatum var. capsulatum* chez un sujet âgé de 80 ans ayant séjourné en Afrique de l'ouest (Guinée-Conakry et Côte d'Ivoire) 50 ans auparavant et ayant comme antécédent principal une arythmie par fibrillation auriculaire traitée par choc électrique externe. Le patient n'avait plus quitté la France métropolitaine après son séjour en Afrique. Il était indemne de pathologie ou de traitement immunodépresseurs.

L'histoire commence en septembre 2002 avec l'installation d'un tableau de dyspnée, douleurs thoraciques et fièvre, 10 jours après morsure par une taupe. L'examen clinique objective une insuffisance cardiaque confirmée par imagerie avec cardiomégalie et stase pulmonaire. Il existait un syndrome inflammatoire (leucocytes circulants=12600/mm3, VS=55mm à la première heure, CRP=53mg/l), une cytolyse hépatique (ASAT=42UI/l, ALAT=24UI/l, LDH=619UI/l) et une hémoculture positive en faveur d'un streptocoque alpha-hémolytique non groupable. Un traitement par amoxicilline et gentamicine était associé à une amélioration clinique.

Le 3 septembre 2003, le patient était pris en charge pour altération de l'état général avec perte de 6 kg sans insuffisance cardiaque associée. L'examen radiologique pulmonaire retrouvait un syndrome alvéolo-interstitiel bilatéral et l'échographie trans-oesophagienne une image filamenteuse de 5 mm évoquant une végétation au niveau de la valve mitrale. Le bilan biologique retrouvait un syndrome inflammatoire (CRP=65mg/l) et des anomalies du bilan hépatique (bilirubine totale=28mg/l, bilirubine conjuguée=10mg/l, ASAT=77UI/l, ALAT=33UI/l, gGT=519UI/l, PAL=553UI/l). L'analyse du LBA a permis la mise en évidence de levures d'*Histoplasma capsulatum var. capsulatum* à l'examen direct et de sa forme filamenteuse à la culture. Le patient est décédé le 23 septembre malgré l'instauration d'un traitement par Amphotéricine B. L'analyse histopathologique des pièces autopsiques objectivait la présence de levures d'*Histoplasma capsulatum var. capsulatum* au niveau de la valve mitrale, des poumons et des ganglions lymphatiques.

L'installation de l'endocardite à *Histoplasma capsulatum var. capsulatum* est ici mise en rapport avec une réactivation d'histoplasmose 50 ans au moins après un séjour infectant en zone d'endémie. L'antécédent de morsure de taupe était sans rapport avec une transmission par inoculation ou avec l'hypothèse d'une histoplasmose autochtone, la présence d'*Histoplasma capsulatum* n'étant jamais objectivée dans l'environnement de la France métropolitaine. Cette forme disséminée d'histoplasmose survient habituellement chez le sujet immunodéprimé. Dans le cas rapporté, le grand âge est le seul facteur de diminution de la réponse immunitaire retrouvé.

311/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Mucormycose et infection rénale, rare mais possible. A propos d'un cas

P. Honderlick[2], P. Charles[2], F. Thaler[2], P. Cahen[2], J. Gravisse[2], F. Dromer[1], O. Lortholary[1]
[1]*Institut Pasteur, Centre National de Référence Mycoses et Antifongiques, Paris* [2]*Microbiologie, Médecine Interne, Réanimation, Chirurgie Cardiaque, Hôpital Foch, Suresnes, France*

Une patiente de 64 ans hospitalisée en mai 2009 pour néphropathie et myocardite lupique présentera au décours de son passage une aggravation avec insuffisance rénale progressive et sepsis. La décision d'explorer et de drainer les voies excrétrices montrera que les urines de cystoscopie du rein gauche et droit cultiveront avec un champignon filamenteux de l'ordre des mucorales. Il s'agit donc d'une zygomycose rénale primitive. La recherche de l'étiologie de sa maladie cardiaque conduira à la placer sous corticoides et endoxan. Le liquide péricardique ponctionné cultivera à Mycobactérium tuberculosis, antécédent de tuberculose connu en 1971. Concernant le mucorale, le matériel sondes urétérales et vésicale seront positifs 8 jours après la mise au traitement par amphotéricine B liposomale mais des urines de contrôle réalisées à J15 resteront négatives. Un redon et un prélèvement de scarpa liés à l'intervention de chirurgie cardiaque se positiveront à Rhizopus. Les urines ultérieures jusqu'à J 80 resteront négatives sur milieu de sabouraud. Même si il n'y a pas eu d'arguments francs pour la mise en évidence d'un foyer sinusien, de fortes doses initiales d'amphotéricine liposomale ont été utilisées 300 mg/j un relai par posaconazole 400 mg x 2/j. Cette pyélonéphrite compliquée d'une infection cutanée à Rhizopus microsporus sur un terrain immunodéprimé intriquant de nombreux problèmes organiques illustre encore une fois à quelle vitesse une infection microbienne peut devenir disséminée et en compliquer une autre. En étudiant l'anamnèse il semble probable que la tuberculose évoluait depuis plusieurs mois déjà ; perte de 8 kg et sueurs nocturnes 2 mois auparavant. Bien que les localisations rhinocérébrales, pulmonaires et cutanées soient les plus fréquentes, bien que déjà observées les mucormycoses rénales restent rares et surviennent habituellement dans un tableau d'infection fongique disséminée.

312/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Ostéo-arthrite à *Pseudallescheria boydii (Scedosporium apiospermum)* : à propos d'un cas

D. Fasquelle[1], P. Romand[3], P. Gioghi[2], S. Jacquier[1]
[1]*Biologie Médicale* [2]*Chirurgie Orthopédique et Traumatologique* [3]*Pneumologie-Infectiologie, Hôpitaux du Léman, Thonon-Les-Bains, France*

P. boydii représente la forme de multiplication sexuée de S. apiospermum.

Les infections à S. apiospermum sont rares mais cependant pas exceptionnelles. Parmi les sites anatomiques pouvant être touchés, il y a les articulations, en particulier à la suite d'une inoculation du champignon lors d'un traumatisme. Les conséquences peuvent alors être fâcheuses pour l'articulation atteinte.

Nous rapportons le cas d'une patiente de 53 ans, contaminée par P. boydii lors d'une fracture ouverte. La patiente chute de sa hauteur dans le jardin de son domicile le 30/05/2008. Lors de cette chute, son coude gauche heurte un bac à fleurs comportant des pierres apparentes, ce qui occasionne une fracture ouverte de l'olécrane. La plaie est souillée par de nombreux débris (terre, gravier et herbe). Elle est hospitalisée en urgence et fait l'objet d'une prise en charge chirurgicale. L'évolution est satisfaisante et la patiente sort du service de chirurgie le 06/06/2008 avec une immobilisation de son membre supérieur gauche et une antibiothérapie par amoxicilline – acide clavulanique + ofloxacine. Après plusieurs semaines d'antibiothérapie, une nouvelle intervention chirurgicale pour lavage permet de mettre en évidence dans le pus prélevé au niveau de l'articulation un champignon identifié comme Pseudallescheria boydii. Le CNR de la Mycologie et des Antifongiques (Institut Pasteur, Paris) confirme l'identification. Un traitement antifongique est alors instauré par Voriconazole 400 mgx2 /j le 24/07/2008. Il doit être rapidement arrêté à cause d'une toxidermie et remplacé par du Posaconazole. Lors de l'intervention chirurgicale au 6ème mois pour ablation du matériel, les prélèvements microbiologiques permettent à nouveau d'isoler P. boydii. Le dosage sanguin de posaconazole (pic à 0,7 mg/l) réalisé début décembre est en faveur d'une posologie inefficace, pouvant expliquer l'évolution peu favorable. La posologie est donc portée à 600 mgx2 / j. Malgré cela, l'évolution reste défavorable avec persistance d'une cicatrice inflammatoire, un coude restant douloureux et une impotence fonctionnelle. Au total, la patiente souffre d'une ostéo-arthrite du coude non guérie un an après la chute initiale, nécessitant une prise en charge spécialisée avec une nouvelle intervention chirurgicale prévue.

313/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Otomycose invasive à *Aspergillus niger* : à propos d'un cas

C. Martinaud[1], T. Gaillard[1], L. Allali[2], S. Pons[1], P. Brisou[1]
[1]*Fédération des Laboratoires* [2]*Fédération Face et Cou, HIA Sainte Anne, Toulon, France*

Les otomycoses sont habituellement considérées comme des infections bénignes du conduit auditif externe dont l'évolution est favorable. Cependant, lorsqu'elles surviennent sur des terrains à risque, l'évolution peut être gravissime. Nous rapportons le cas d'une femme de 60 ans, sans

immunodépression, ni diabète, souffrant d'une otite moyenne chronique bilatérale. Après plusieurs semaines d'évolution, et l'instauration en ville d'une biantibiothérapie inefficace, associant une céphalosporine de 3ème génération et une fluoroquinolone, elle est adressée à la consultation spécialisée de notre hôpital. L'examen ORL met en évidence une otorrhée purulente bilatérale avec perforation tympanique subtotale bilatérale associée à une lyse ossiculaire, avec un aspect de clou mycosique. L'audiogramme retrouve une surdité de transmission importante (de -30 à -40 dB) prédominant à droite. Les prélèvements locaux répétés, réalisés sous microscope après lavage local, ont permis d'isoler *Aspergillus niger*, sans bactérie associée. Après détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour les principaux antifongiques, un traitement par voriconazole par voie intraveineuse pendant 7 jours est instauré, avec un relai par voie orale pour une durée totale de 6 mois. L'évolution a été rapidement favorable, avec disparition de l'otorrhée, restauration des membranes tympaniques, mais persistance d'une hypoacousie de -10dB.

Les otomycoses représentent en zone tempérée de 5 à 10% des otites externes. *Aspergillus niger* est impliqué dans 20 à 40% des cas. Les otomycoses avec lyse ossiculaire bilatérale sont exceptionnelles en France. Les principaux facteurs de risques de ces infections sont les traumatismes, la iatrogénie (antibiothérapie ou corticothérapie locale, chirurgie tympanique) ou un terrain particulier (diabète et immunodépression). Notre patiente ne présentant aucun de ces facteurs de risque. Au laboratoire, l'isolement du champignon est aisé, la croissance rapide, et l'identification simple. La co-infection avec une bactérie est fréquente. La détermination des CMI est en revanche indispensable, et relève de centres spécialisés. L'étude de la sensibilité aux antifongiques retrouve habituellement une sensibilité aux imidazoles (itraconazole et voriconazole) et à l'Amphotéricine B. Le traitement de ces formes invasives impose l'hospitalisation pour une initiation par voie générale, avec une durée complète de plusieurs semaines à plusieurs mois. Les séquelles fonctionnelles sont fréquentes avec parfois la nécessité d'une chirurgie reconstructrice. En conclusion, ces exceptionnelles otomycoses invasives succèdent généralement à des formes localisées bénignes qu'il importe de traiter efficacement et précocement. En l'absence de cette prise en charge thérapeutique précoce adaptée, le pronostic fonctionnel de l'oreille peut être engagé, et le patient exposé à une thérapeutique longue, contraignante et couteuse.

314/70A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

A propos d'un cas de bactériémie à *Cryptococcus neoformans* chez une patiente diabétique

M. Joncquel[1], S. Dekeyser[1], S. Nguyen[2], D. Descamps[1]
[1]*Laboratoire* [2]*Unité d'infectiologie, CH Béthune, Béthune, France*

La cryptococcose est une mycose cosmopolite due à une levure encapsulée : *Cryptococcus neoformans*. Elle survient habituellement chez les individus immunodéprimés, notamment chez les patients séropositifs pour le VIH. La localisation clinique la plus fréquente est méningo-encéphalique, des atteintes pulmonaires, cutanées, osseuses ainsi que des formes disséminées ont également été décrites.

Nous rapportons ici l'observation d'une fongémie à Cryptococcus neoformans survenue chez une patiente de 82 ans, hospitalisée en mai 2009 pour douleurs basithoraciques droites et nausées. La patiente, diabétique de type 2 insulinorequérant, avait été hospitalisée auparavant pour décompensation cardiaque sur une cardiopathie ischémique. A l'admission, elle est dyspnéique et présente des marbrures au niveau de la poitrine, des membres inférieurs et supérieurs. Son bilan d'entrée montre une hyperleucocytose à $13{,}4.10^9$/L et une CRP à 12,2 mg/L. La radiographie thoracique montre un foyer pulmonaire en base droite ce qui confirme le diagnostic de pneumopathie. La patiente décède en 24 heures malgré un traitement antibiotique débuté par lévofloxacine.

Les hémocultures prélevées à l'entrée se positivent en 3 jours. La coloration de Gram montre des levures sans mycélium ni pseudomycélium. Des colonies muqueuses de couleur blanche sont observées sur gélose Sabouraud après 48 heures d'incubation à 37°C. L'identification est réalisée sur Vitek2 avec la carte YST. L'examen microscopique entre lame et lamelle d'une goutte de sang d'hémoculture avec de l'encre de chine permet d'observer la capsule spécifique du genre *Cryptococcus*. L'antifongigramme est réalisé par méthode E-test sur milieu RPMI pour le fluconazole, le voriconazole et la caspofungine. La souche est envoyée au CNR pour sérotypage et confirmation de l'antifongigramme.

Bien que plus fréquente chez les patients fortement immunodéprimés, la cryptococcose pulmonaire est également décrite chez des sujets apparemment immunocompétents : en cas d'altération du système immunitaire secondairement à un diabète, un tableau clinique et radiologique trompeur peut être responsable d'un diagnostic souvent difficile.

315/71A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Vancomycine : comparaison des administrations par perfusion continue et discontinue dans une population pédiatrique

T. Tritz[3], B. Cassard[3], R. Clément[3], J.R. Zahar[2-1], P. Bourget[3]
[1]*Equipe Mobile d'infectiologie* [2]*Microbiologie-Hygiène* [3]*Pharmacie, CHU Necker Enfants malades, Paris, France*

Introduction : A l'Hôpital Necker Enfants Malades, une grande hétérogénéité des taux résiduels plasmatique de vancomycine dans la population pédiatrique a été observée. Le suivi des taux résiduels plasmatiques est un outil permettant d'évaluer l'efficacité et la tolérance du traitement.

Objectif : Comparer les taux obtenus ainsi que leur variabilité après administration de vancomycine en perfusion continue ou discontinue. Etudier la relation entre la posologie (mg/kg) et la concentration résiduelle en fonction du type d'administration.

Méthode : Il a été menée une étude rétrospective entre Janvier et Juin 2009, incluant des patients âgés d'un mois à 18 ans, avec une fonction rénale normale et ayant eu au moins un dosage plasmatique de vancomycine après la 48ème heure de traitement. Il a été relevé la date d'instauration, la posologie (mg/kg/jr), les adaptations posologiques et les dosages effectués entre le 2ème et le 10ème jour de traitement.

Résultats : 91 patients ont été inclus. 31 (34%) bénéficiaient d'une administration par perfusion continue et 60 (66%) d'une administration par perfusion discontinue, les posologies médianes étant respectivement de 57 et 50 mg/kg/jr. 25 patients (27.5%) ont eu au moins une adaptation posologique au cours du traitement, sans différence significative entre les 2 groupes. Une concentration cible (20 mg/L pour la perfusion continue et 10 mg/L pour la perfusion discontinue) a été atteinte au moins une fois chez 19 (61%) et 30 (50%) des patients respectivement sous perfusion continue et discontinue. Ce taux a été maintenu au cours du traitement chez 6 (60%) et 6 (30%) des patients respectivement sous perfusion continue et discontinue, et ayant eu au moins 2 dosages.

Une corrélation linéaire entre posologie (mg/kg) et taux résiduel plasmatique a été observée chez les patients ayant une administration continue (p= 0.03), alors qu'elle n'existe pas lors d'une administration discontinue (p= 0.34).

Conclusion : La perfusion continue de vancomycine présente une meilleure stabilité des taux plasmatiques par rapport à la perfusion discontinue. La pharmacocinétique de la vancomycine chez l'enfant présentant une grande variabilité interindividuelle, l'utilisation de la perfusion continue devrait être privilégiée dès que cela est possible.

316/71A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Relation dose/concentration de pristinamycine : résultats d'une étude de phase I avec administration de doses uniques croissantes de pristinamycine chez 20 volontaires sains

O. Petitjean[1], H.B. Drugeon[2]
[1]*Hôpital Avicenne, Bobigny* [2]*Faculté de Médecine, Nantes, France*

Objet de l'étude : déterminer le profil pharmacocinétique des deux composants de la pristinamycine (pristinamycine IA - PIA) et pristinamycine IIA - PIIA) après administration orale de doses croissantes (1, 2, 3 et 4g) de pristinamycine

Méthode : il s'agit d'une étude de phase I, monocentrique, en cross-over avec une période de wash out de 7 jours entre l'administration de 4 doses uniques croissantes de pristinamycine chez 20 volontaires sains. Les échantillons sanguins étaient collectés avant administration puis à 0.5, 1, 1.5, 2, 2.5, 3, 4, 6, 8, 10 et 12 heures après la prise. Les concentrations de PIA et PIIA étaient déterminées par LC-MS/MS.

Résultats : le tableau ci-dessous décrit les principaux paramètres pharmacocinétiques [moy (CV%)]

Dose (g)	Analyse	Cmax (ng/mL)	Tmax (h)	ASC (0-t) (ng.h/mL)	ASC (ng.h/mL)	T1/2λz (h)
1	PIA	508 (56)	1 (0.5-3)	1374 (54)	1405 (53)	1.22 (19)
	PIIA	273 (37)	0.5 (0.5-2.5)	523 (44)	550 (42)	1.17 (43)
2	PIA	1292 (51)	1.75 (0.5-4)	5070 (63)	5112 (63)	1.37 (16)
	PIIA	441 (42)	0.75 (0.5-2)	1189 (44)	1223 (43)	1.83 (50)
3	PIA	1988 (41)	2.5 (0.5-4)	9367 (57)	9481 (57)	1.41 (9)
	PIIA	541 (38)	1.25 (0.5-6)	1745 (39)	1806 (38)	2.66 (50)
4	PIA	2309 (40)	2.5 (0.5-6)	11964 (56)	12174 (58)	1.43 (14)
	PIIA	557 (35)	1.25 (0.5-6)	2076 (33)	2171 (34)	3.34 (81)

Conclusions : l'aire sous la courbe concentration-temps [ASC (0-t)] augmente de façon linéaire pour des doses comprises entre 1 à 4g pour PIIA et de 2 à 4g pour PIA mais, entre 1 et 2g, [ASC (0-t)] PIA est augmente d'un facteur 4. La concentration maximale (Cmax) de PIA augmente proportionnellement à la dose alors que le Cmax de PIIA n'augmente pas linéairement suggérant une saturation de son absorption à partir de 2 g. Les concentrations obtenues après une dose de 1g sont rapidement bactéricides *in vitro* sur le pneumocoque ; la dose de 2g pourrait être plus optimale notamment dans les infections graves à staphylocoques, d'autant que la pristinamycine présente un effet post antibiotique très long (bactériopause) permettant l'administration 2 fois par jour.

317/71A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Intérêt du suivi thérapeutique pharmacologique de la ceftriaxone prescrite à forte dose ?

D. Navas[4-3], C. Fontenoy[1], E. Dailly[2], G. Deslandes[2], N. Asseray[4], G. Potel[4]
[1]*Centre Régional de Pharmacovigilance* [2]*Laboratoire de Pharmacologie Clinique* [3]*Pharmacie Hôtel-Dieu, CHU Hôtel-Dieu* [4]*UPRES EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Faculté de Médecine, Nantes, France*

La 17ième conférence de consensus relative à la prise en charge des méningites bactériennes aiguës communautaires recommande la prescription de ceftriaxone à la dose de 100 mg/kg, sans limitation de dose, contrairement à ce qui est préconisé dans le rapport de l'EMEA et dans le Résumé des Caractéristiques du Produit (4 et 6 g/jour maximum, respectivement). La

ceftriaxone est éliminée par voie rénale (50 à 60%) et par voie biliaire (40 à 50%), et possède par ailleurs une pharmacocinétique non linéaire au delà de 4 g/jour. Pourtant, il n'est pas préconisé d'adapter la posologie si la clairance de la créatinine est supérieure à 5 ml/min. Nous avons donc voulu évaluer le risque de surdosage en ceftriaxone.

Ce travail a consisté à étudier rétrospectivement les dossiers des patients pour lesquels un dosage de ceftriaxone a été demandé entre le 01/01/2008 et le 31/05/2009.

Au cours de cette période, 35 dosages ont été effectués (25 dosages plasmatiques et 10 dans le LCR) pour 18 patients. 14 patients ont eu des dosages plasmatiques, 8 dans le LCR.

La justification de demande de dosage était précisée dans 78% des cas : insuffisance rénale (65%), suivi systématique (14%), inefficacité du traitement (7%), apparition d'effets secondaires (convulsions, confusion, lithiase biliaire) (14%).

27.8% des patients (5) avaient une concentration plasmatique supérieure à 100 mg/L (surdosage). Ces 5 patients avaient une insuffisance rénale avérée : clairance de la créatinine calculée selon la formule de Cockroft entre 9 et 50 ml/min, mais jamais inférieure à 5 ml/min.

Ces données préliminaires incitent à la prudence lors de la prescription de doses de ceftriaxone supérieures à 6 g/jour, plus particulièrement en cas d'insuffisance rénale. Pour ces patients, un suivi thérapeutique des concentrations plasmatiques résiduelles de ceftriaxone semble nécessaire pour adapter la posologie et éviter les surdosages.

318/71A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Effets secondaires liés aux antibiotiques au sein d'une cohorte de patients d'Infectiologie

P.M. Roger, E. Cua, R.M. Chichmanian, R. Farhad, E. Bernard, C. Pulcini, F. De Salvador
Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

Les informations sur les effets secondaires (ES) des antibiotiques sont parcellaires car leur enregistrement systématique est difficile. Nous entretenons depuis Juillet 2005 un tableau de bord (TB) de l'activité d'hospitalisation dans lequel les ES antibiotiques sont enregistrés. Nous rapportons ici les observations des ES liés aux antibiotiques depuis 4 ans.

Patients et méthode : Notre TB enregistre 24 paramètres parmi lesquels le diagnostic définitif, l'antibiothérapie et leurs ES observés durant l'hospitalisation, définis par la nécessité de moduler la posologie ou modifier le traitement. Pour connaître la fréquence des ES en infectiologie, nous avons retenu les hospitalisations liées formellement à des diagnostics infectiologiques. Toutes les molécules anti-bactériennes, anti-virales, anti-parasitaires et anti-mycotiques étaient considérées.

Résultats : En 4 ans, 5493 hospitalisations étaient réalisées, dont 4474 avaient pour diagnostic formel une infection (81%), au cours desquelles 3361 (75%) traitements antibiotiques étaient institués. Les ES étaient au nombre de 240, soit 7,1% des traitements entrepris. Les 5 premières molécules ou familles d'antibiotiques concernées étaient la rifampicine dans 36 cas (15%), les fluoroquinolones dans 35 cas (14,6%), les pénicillines dans 25 cas (10,4%), les céphalosporines et le cotrimoxazole dans 20 cas chacun (8,3%). Les 3 type d'ES les plus fréquemment observés étaient les toxidermies dans 60 cas (25%), les ES digestifs dans 58 cas (24,1%) et les troubles hématologiques dans 35 cas (14 ,6%). La durée moyenne d'hospitalisation des patients bénéficiant d'une antibiothérapie était de 11±9 jours, étant de 18±13 jours en cas d'ES ($p < 0,0001$).

Conclusion : Les ES liés aux antibiotiques sont fréquents, liées avant tout aux béta-lactamines et aux fluoroquinolones. Leur impact justifie la mise en place de stratégies d'évitement.

319/71A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Étude rétrospective de l'utilisation du linézolide en association à la rifampicine au CHU de Nantes

C. Lebland[1], J. Caillon[2], D. Navas[1-2], N. Asseray[2]
[1]Pharmacie Hôtel Dieu, CHU de Nantes [2]EA 3826. Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Faculté de Médecine, Nantes, France

Suite à la publication d'un article décrivant une diminution des taux plasmatiques du linézolide lorsqu'il est associé à la rifampicine*, nous avons analysé rétrospectivement tous les dossiers des patients hospitalisés au CHU de Nantes ayant reçu cette association sur une période de deux ans (années 2007 et 2008). L'objectif de ce travail était de recueillir l'indication, ainsi que les données d'efficacité et de tolérance de ce traitement.

Cette association a été prescrite pour 21 patients, après avis d'un médecin référent en infectiologie dans 76% des cas. Les principales indications étaient les infections ostéo-articulaires (38.1%), les endocardites (28.6%), les bactériémies sur cathéter (19%) et les abcès (14.3%). Les infections étaient documentées dans 95.2% des cas : les germes retrouvés étaient des SASM (17.4%), des SARM (21.7%), des SCN (39.1%, dont 77.8% de SERM). L'association de ces deux antibiotiques était le traitement principal de l'infection dans 57% des cas (durée moyenne : 23 ± 21.6 jours). La prescription de cette association intervient en deuxième voire troisième ligne de traitement, justifiée par l'apparition d'une insuffisance rénale sous glycopeptides, d'un échec de l'antibiothérapie précédente, l'état clinique du patient ou pour effectuer un relais oral.

L'évolution a jugé favorable dans 81% des cas. Toutefois, l'association n'a pas été bien toléré par 43% des patients du fait de la toxicité hématologique du linézolide (44.4%), de la toxicité hépatique de la rifampicine (22.2%) ou d'une intolérance aux deux antibiotiques (un tiers des cas). Cette intolérance a été à l'origine de l'arrêt du traitement dans 25% des cas (75% imputable au linézolide et 25% à la rifampicine).

L'association du linézolide à la rifampicine constitue une alternative thérapeutique intéressante dans des situations cliniques complexes, mais nécessite une surveillance étroite de la tolérance au cours du traitement.

*** Decreased serum linezolid levels in a critically ill patient receiving concomitant linezolid and rifampin.Gebhart BC**, **Barker BC**, **Markewitz BA**.Department of Pharmacy Services, University Hospitals and Clinics, Salt Lake City, Utah 84132, USA.

320/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Species distribution, genomic diversity and antibiotic susceptibility patterns among staphylococci causing infective endocarditis: Analysis of a one-year survey in France (EI2008)

F. Laurent[2-3-1], O. Dumitrescu[2-3-1], M. Celard[2], M. Bes[2-1], P. Tatevin[4], M.E. Reverdy[2-1], A. Tristan[2-3-1], T. Doco-Lecompte[5], H. Meugnier[2-1], G. Lina[2-3-1], J. Etienne[2-3-1], F. Vandenesch[2-3-1], The French Aepei Study Group on Infective Endocarditis[2]
[1]INSERM U851 [2]National Reference Centre for Staphylococci, Hospices Civils de Lyon [3]Université de Lyon, Lyon [4]Service des Maladies Infectieuses et Réanimation Médicale, CHU Pontchaillou, Rennes [5]Maladies infectieuses et tropicales, Hôpitaux de Brabois, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

Background: The changing epidemiology of staphylococci worldwide, with the emergence of community acquired MRSA called for a thorough analysis of the staphylococci isolated during the French national survey on infective endocarditis (IE) conducted in 2008.

Methods: We analyzed 170 non-duplicate straphylococcal isolates. For all strains, we performed: genomic identification (*agr*/*tuf*), PCR for *mec*A, antibiotic susceptibility testing, population analysis for determination of glycopeptide heteroresistance, *spa*-typing and DNA microarray (300 genes and alleles).

Results: There were 131 *S. aureus* (SA) (17 *mec*A+, 13%), 30 *S. epidermidis* (15 mecA+), 4 *S. capitis* (1 mecA+), 3 *S. lugdunensis*, 2 *S. haemolyticus* (1 mecA+), and 2 *S. hominis* (1 mecA+). MRSA were frequently resistant to levofloxacin (15/17, 88%), kanamycin and tobramycin (8/17, 47%), and to erythromycin (6/17, 35%). Four of the 17 MRSA were categorized as hVISA. MSSA were seldom resistant to erythromycin (16/114, 1.4%) and almost fully susceptible to all other antibiotics. Only 5 *S. epidermidis* strains showed altered susceptibility to glycopeptides (MIC teico ≥8mg/l).

All SA isolates were assigned to 19 sequence type (ST). Their ST diversity evaluated by the l modified Simpson was not different when compared to a set of 114 SA invasive isolates collected throughout France during EARSS study in 2006-2007 (88,31% vs 91,09%). No strain belongs to any CA-MRSA clone. Genomic DNA microarray comparison of the 114 MSSA IE isolates with 152 MSSA nasal carriage isolates highlighted that several specific determinants or gene alleles (e.g., bone sialoprotein (*bbp*), elastin binding protein (*ebps*), hyaluronate lyase (*hys*A) and modulins (*ssl*), etc.) were preferentially harbored by MSSA IE isolates.

Conclusions: No major change was noticed in either the distribution of species or clones of staphylococci responsible for IE. SA remains the leading species of staphylococci and is susceptible to antistaphylococcal antibiotics; MRSA are infrequent. The genetic diversity of SA strains from IE suggests that there is no specific background strain associated with IE; however some virulence traits are highlighted; it remains to be determined whether some specific genetic traits of the human host favor the occurrence of *S. aureus* IE.

321/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Étude phénotypique et génotypique de 9 souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides, isolées chez des enfants atteints de mucoviscidose

O. Dumitrescu[3-2-4], M.E. Reverdy[3-2], M. Bes[2-4], H. Meugnier[3-2-4], C. Ploton[3], A.M. Freydiere[3], P. Reix[1], G. Bellon[1], F. Vandenesch[3-2-4], J. Etienne[3-2-4]
[1]Service de Pneumologie, HFME, Hospices Civils de Lyon, Bron [2]Centre National de Référence des Staphylocoques [3]Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie Est, Hospices Civils de Lyon [4]U851, INSERM, Lyon, France

Objectif : Depuis mars 2007 la détection de souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides (hGISA) est effectuée sur les souches de *S. aureus* isolées sur milieu chromogène MRSA à partir de prélèvements respiratoires des enfants atteints de mucoviscidose. Ce travail porte sur la caractérisation phénotypique et génotypique de souches hGISA isolée au cours de l'année 2008.

Méthodes : Les souches ont été testées pour la sensibilité aux antibiotiques par des méthodes automatisées de microdilution en milieu liquide BD Phoenix ainsi que par dilution en milieu gélosé.

La détection de la sensibilité diminuée aux glycopeptides a été réalisée par la technique de l'analyse de populations après induction en milieu cœur cervelle

contenant 2, 4, 6 et 8 mg/L de vancomycine.

L'étude génotypique des souches hGISA a été réalisée à l'aide d'une technologie d'hybridation sur puces ADN StaphyType™ Kit Clondiag. Le typage moléculaire à visée épidémiologique a été complété par de techniques basées sur le séquençage : spa typing et Multi Locus Sequence Typing.

Résultats : En 2008 ont été isolées 906 souches de *S. aureus* ; après dédoublonnage ont été retenues et analysés : 202 SASM (1 par patient) et 46 SARM différents (appartenant à 33 patients) (soit 18,5%). Parmi la totalité de souches, nous avons identifié 9 souches hGISA (8 SARM et 1 SASM).

Le typage moléculaire des 8 SARM hGISA a montré une distribution oligoclonale des souches avec 5 souches appartenant au clone majoritaire de SARM diffusant actuellement dans les hôpitaux français, le clone Lyon (agr1, ST8, t008 ou t351), 2 souches appartenant au clone SARM Archaïque / Ibérique (agr1, ST247, t121) et 1 souche représentant un clone minoritaire de SARM appartenant au complexe clonal 5 (agr2, ST5, t002). La souche SASM hGISA appartient à ce même complexe clonal (agr2, ST5, t539).

Conclusions : Nos résultats confirment l'émergence de souches hGISA chez les patients atteints de mucoviscidose. La caractérisation épidémiologique de ces souches reflète la faible diversité déjà décrite au sein des souches SARM d'origine hospitalière.

322/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Détection de la première souche de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides à l'hôpital la Rabta de Tunis

M. Zribi[3], J. Etienne[1], D. El Euch[2], H. Zribi[2], M. Bes[1], H. Meugnier[1], A. Masmoudi[3], A. B Osman[2], C. Fendri[3]
[1]Centre de Biologie Est, INSERM, U851, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France [2]Dermatologie [3]Microbiologie UR04SP08, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

La découverte en 1997 au japon du premiers cas de *S aureus* de sensibilité intermédiaire aux glycopeptides (GISA) et de ses variants *S aureus* « résistance hétérogène à la vancomycine» hVISA, a suscité de nombreuses questions concernant leur signification clinique, les méthodes de détection de ces phénotypes et la définition de cette résistance.

Une souche de *S aureus* de sensibilité diminuée à la teicoplanie a été isolée à partir d'une hémoculture d'une patiente atteinte de pemphigus. L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les normes standard du CA - SFM (3). La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été déterminée pour la vancomycine et la teicoplanine par la technique du E-test. Pour les 2 souches de *S aureus* isolées de pus et d'hémoculture, des PCR multiplex ont été réalisées pour la détection du gène mecA, la détermination des gènes des facteurs de virulence, la détermination du système agr, du type spa (protéine A) et du type de cassette. Elles ont été également analysées par « multilocus sequence typing » (MLST). La CMI vis à vis de la teicoplanine de la souche de SARM isolée d'hémoculture était de 16. C'est la première souche GISA décrite dans notre hôpital et dans le grand Tunis. Cette souche appartient au complexe clonal CC8, elle est rattachée au clone pandémique ibérique (agr1, entérotoxine A positive, ST 247, type spa t052).

L'apparition de souches de h GISA et GISA est associée à un traitement prolongé aux glycopeptides. Les souches GISA et hGISA semblent associées aux groupes agr 1 et 2. La multirésistance du clone ibérique, majoritaire en Espagne et au Portugal, pourrait être expliquée par la présence de plusieurs gènes de résistance.

323/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Des souches de *S. aureus* hébergeant la SCCmec V isolées dans un hôpital de Constantine/Algérie

Z. Ouchenane
Bactériologie, Hôpital Militaire Universitaire de Constantine, Constantine, Algérie

Introduction : « Staphylococcal cassette chromosome mec », *SCCmec* est l'élément génétique mobile hébergeant le gène mecA qui code pour la résistance à la méticilline. Chez les staphylocoques, à ce jour, 7 types de cassettes de I à VII ont été identifiés. Ils diffèrent par leur taille et leur composition génétique.

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude prospective étalée sur 3 années (2005-2007), réalisée à l'Hôpital Militaire de Constantine à l'est de l'Algérie. L'étude a porté sur 64 souches non redondantes de *S.aureus* résistant à la méticilline (SARM).

Le typage des cassettes chromosomiques a été réalisé par PCR en temps réel.

Résultats : 50% des isolats hébergent la *SCCmec* type IV, 43,75% hébergent la *SCCmec* type V.

Les *SCCmec* type I, II, et III étaient absentes parmi nos isolats.

Conclusion : La *SCCmec* V rare à travers le monde est retrouvée avec un fort taux (43,75%) parmi nos isolats

324/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison génétique entre souches de *S. aureus* résistant à la méticilline isolées des sites d'infection et du portage au CHU Ibn Rochd Casablanca - Maroc

S. Bouhali Zriouil[1-3], K. Zerouali[1], M. Timinouni[2], M. Bekkali[3], J.D. Perrier-Gros Claude[2], S. Breurec[4], B. Garin[4], N. El Mdaghri[1]
[1]Microbiologie, CHU Ibn Rochd [2]Institut Pasteur [3]Université Hassan II, Faculté des Sciences Ain Chock, Casablanca, Maroc [4]Institut Pasteur, Dakar, Sénégal

Introduction : Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) est un germe pathogène pouvant être isolé de différents sites d'infection comme il peut être isolé du portage nasal. En milieu hospitalier ce portage constitue un facteur de risque pour une infection endogène à SARM.

Objectif : Notre étude, réalisée entre Janvier et Juillet 2007, a porté sur la détermination de la fréquence du portage nasal du SARM chez les patients infectés à ce germe ainsi que la comparaison du profil génétique des souches isolées.

Matériel et méthodes : Pour chaque souche de SARM isolée à partir de différents prélèvements pathologiques, un écouvillonnage nasal a été effectué chez les patients infectés pour un dépistage de SARM. La sensibilité à 16 antibiotiques a été déterminée pour toutes les souches isolées. La recherche du gène mecA a été réalisée par PCR simplex. Le typage du système agr, de la cassette staphylococcique SCCmec et des toxines a été réalisé par PCR multiplex.

Résultats : Au cours de cette période 29 souches de SARM ont été isolées à partir de différents produits pathologiques. Le dépistage de SARM à partir du portage nasal a montré un taux de 68,9% soit (20/29) des prélèvements positifs. L'antibiogramme a révélé la présence de 7 profils différents en ce qui concerne les souches de l'infection contre 5 en ce qui concerne celles du portage, ces derniers font partie des 7 profils de l'infection. Les souches étudiées présentent le même profil génétique : agr type1, SCCmecIII +/- mercury, toxines : sek, selq, +/- sea ou selp. A l'exception de deux souches isolées respectivement à partir d'un site d'infection et du portage nasal chez un même patient qui étaient agr type 2, SCCmec IV et portaient le gène *pvl* de la toxine de Panton Valentin Leucocidin. Au total, 80% (16/20) des souches SARM du portage nasal ont présenté des caractéristiques phénotypiques et génétiques similaires à celles des souches SARM isolées au niveau du site de l'infection chez le même patient.

Conclusion : La fréquence élevée du portage de SARM ainsi que l'homologie retrouvée entre les souches isolées de l'infection et celles du portage chez les mêmes patients, confirment le risque élevé de développer une infection endogène à SARM. Le dépistage nasal et l'application des bonnes conditions d'hygiène s'avèrent nécessaires pour surveiller et prévenir la diffusion clonale de SARM dans le milieu hospitalier.

325/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évolution du portage nasal de staphylocoques à coagulase négative résistants à la méticilline dans une population isolée de Sud-Guyane

D. Lebeaux[3-2], F. Barbier[3-2], E. Ruppé[3-2], B. Felix[1], A. Andremont[3-2], R. Ruimy[3-2]
[1]Institut National de Recherche en Agronomie, Jouy-en-Josas [2]EA3964, Université Paris 7-Diderot [3]Bactériologie, Laboratoire Associé CNR Résistance dans les Flores Commensales, Hôpital Bichat-Claude Bernard (AP-HP), Paris, France

Objet de l'étude : La résistance à la méticilline (RM) est due, chez *Staphylococcus* spp., au gène *mecA* porté par la cassette chromosomique SCC*mec.* Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) constitueraient un réservoir de résistance pour *S. aureus* mais peu de données sont disponibles concernant la diversité et la dynamique de ce réservoir. Ce travail a pour objectif d'évaluer la diversité d'espèce et de SCC*mec* des SCN-RM en portage nasal communautaire dans une population isolée ainsi que son évolution au cours du temps.

Méthodes : Les narines d'une cohorte de 154 amérindiens vivant dans un village isolé en Sud-Guyane ont été écouvillonnées en 2006 et en 2008 (projet EREAS) selon une méthodologie standardisée et ensemencées sur gélose chromogène sélective chromID™ MRSA. Quatre colonies blanches ont été prélevées à 48h de culture. Après confirmation de leurs identifications en SCN-RM par RT-PCR triplex, chaque souche a été évaluée selon trois modalités : diagnostic d'espèce (Maldi-Tof), antibiogramme et typage du SCC*mec* par deux PCR multiplex (Kondo *et al* 2007). Les *S. epidermidis*-RM ont été typés par MLVA.

Résultats obtenus : La prévalence de portage nasal de SCN-RM était de 51.9% en 2006 et de 46.8% en 2008 (ns). La proportion de *S. epidermidis*-RM diminue (de 39.6 à 24.8%, p<0.02) alors que celle de *S. saprophyticus*-RM augmente (de 1.4 à 18.8%, p<0.001). Entre 2006 et 2008, la proportion de sujets porteurs de souches résistantes à l'ofloxacine augmente (3% *versus* 24% p<0.001). Le typage du SCC*mec* montre une proportion importante d'associations nouvelles de *ccr* ou de *ccr* multiples (18% en 2008). Le type V prédomine, augmente au cours du temps (17.4% *versus* 30.8%, p=0.0049) et est associé à *S. haemolyticus*. La proportion de porteurs permanents d'une même espèce est faible. Sur 90 souches de *S. epidermidis,* 38 génotypes ont été retrouvés et seuls trois individus portent le même génotype en 2006 et en 2008

Conclusion : Dans cette population, la prévalence du portage nasal de SCN méti-R est importante et stable dans le temps. La grande diversité des structures SCC*mec* renforce l'idée d'un rôle de réservoir de résistance des

SCN-RM. La dynamique de portage des SCN-RM semble correspondre à un brassage permanent d'espèces au sein du microbiote nasal.

326/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Caractérisation des souches de *S. aureus* isolées lors d'un épisode de toxi-infection alimentaire

L. Cavalié[3], N. Constantin[1], C. Pottier[1], F. Jandot[1], L. Lamarque[2], E. Oswald[3], M.F. Prère[3], N. Marty[3]
[1]Laboratoire de biologie [2]UOH, CH, Lourdes [3]Bactériologie-Hygiène, CHU, Toulouse, France

Les *S.aureus* sont après les *Salmonella* les bactéries le plus souvent incriminées dans les toxi-infections alimentaires collectives (TIAC).

Un épisode de TIAC s'est déroulé dans une EHPAD touchant 38 % des résidents soit 42 malades avec apparition des premiers signes cliniques 7 heures après le dernier repas.

Lors de cet épisode, l'investigation bactériologique au laboratoire du CHR a permis de mettre en évidence la présence de *S.aureus* dans les coprocultures de 14 patients (sur les 25 recherches effectuées).

L'étude au laboratoire d'hygiène et épidémiologie du CHU a consisté en la caractérisation phénotypique et génotypique des 14 souches isolées. La présence de cinq gènes d'entérotoxine *se* (*sea, seb, sec, sed* et *see*) a été recherchée par multiplex PCR. Les génomes des souches ont été comparés par APPCR. Les antibiotypes ont été déterminés par mesure des CMI. La recherche du gène *mec*A a été effectuée à l'aide du système GénotypeMRSA® (HAIN LIFE SCIENCE) que permet de détecter également le gène de la toxine LPV et de confirmer l'identification d'espèce *S.aureus*.

Les résultats de l'étude ont été les suivants : 1- 12 souches possédaient le gène *sed* de l'enterotoxine D, une seule le gène *sec* de l'enterotoxine C, et dans une souche aucun des gènes recherchés n'était détecté. 2- des différences dans les profils génomiques pouvaient être distinguées 3- le gène *mec*A était présent dans 13 souches dont 11 *sed*+. Il n'y avait pas d'association avec le gène de la LPV.

L'analyse bactériologique des plats par les services vétérinaires (recherche de *Campylobacter, Salmonella, Shigella*, Staphylocoque coagulase positive, *C perfringens*, *B.cereus*, *E coli* b glucuronidase positive) n'a pas mis en évidence de pathogène particulier. L'enquête bactériologique rétrospective du portage pharyngé et fécal de *S.aureus* chez le personnel des cuisines (10 personnes) n'a trouvé qu'une seule souche de *S.aureus mec*A- dépourvue de gène d' entérotoxine D dans le prélèvement pharyngé d' un cuisinier.

L'analyse prenant en compte les différents caractères des souches suggère de façon non surprenante l'implication de plusieurs souches dans cet épisode.

327/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Sensibilité d'isolats récents de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) vis-à-vis de la vancomycine (VAN), de la quinupristine/dalfopristine (Q-D), et du ceftobiprole (BPR) dans un Centre hospitalo-universitaire belge

S. Lemaire[2], F. Van Bambeke[2], P. Tulkens[2], D. Pierard[1]
[1]Laboratorium voor microbiologie, Universitair Ziekenhuis Brussel [2]Unité de pharmacologie cellulaire et moléculaire, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique

Objectifs de l'étude : Plusieurs communications récentes suggèrent une diminution de la sensibilité des SARM vis-à-vis de la VAN (CMIs > oiu = à 2 mg/L), justifiant l'usage d'autres molécules comme la Q-D ou de nouveaux antibiotiques comme le BPR. Cependant, peu d'études ont examiné la sensibilité des SARM à ces 3 antibiotiques de façon strictement comparative. Par ailleurs, la valeur des CMI est très dépendante de la méthode utilisée.

Méthodes : (i) 42 isolats uniques de SARM de patients avec infection staphylococcique cliniquement confirmée et obtenus en 2008 dans un CHU urbain (ii) mesure des CMI suivant la méthode CLSI (microdilution [5 x 10^5 UFC/mL] en bouillon Müller-Hinton] et, pour la vancomycine, également par E-test (AB BIODISK; suivant les recommandations du producteur [suspension 0.5 McFarland soit 1.25 x 10^8 UFC/mL]).

Results : La table montre les CMIS observées après stratification des isolats par type d'infection et, pour la vancomycine, suivant les 2 méthodes utilisées. Aucun VRSA ni aucun isolat VISA n'a été détecté.

Type d'infection	CMI: moyenne géométrque (min – max) mg/L			
	VAN		Q-D	BPR
	microdilution	E-test		
Bacteriémie (n=8)	0.7 (0.56-1.12)	1.9 (1.5-2.0)	0.4 (0.25-0.5)	0.6 (0.3-1.25)
Respiratoire (n=17)	0.7 (0.56-0.87)	1.7 (1.0-2.0)	0.4 (0.25-1.0)	0.6 (0.3-1.0)
Plaie (n=17)	0.7 (0.56-1.12)	1.9 (1.5-3.0) *	0.4 (0.25-0.5)	0.6 (0.37-1.5)
Analyse statistique (analyse de variance à un facteur): pas de différence significative entre isolats en fonction de leur origine mais différence significative pour la VAN entre les résultats de microdilution et d'E-test * 2 isolats avec CMI > 2 mg/L				

La microdilution montre que tous les isolats sont sensibles à la vancomycine (CMI < 1.2 mg/L). L'E-test montre des valeurs 2-3 fois supérieures (> 2 mg/L dans 2 cas). Les CMIs de la Q-D et du BPR sont basses et très inférieures aux points critiques EUCAST (1 et 4 mg/L).

Conclusions : Nous n'observons pas de diminution de sensibilité des SARM vis-à-vis de la vancomycine dans l'institution étudiée. L'E-test peut générer une fausse alerte concernant la vraie sensibilité des SARM à la vancomycine. La décision de modifier les prescriptions en faveur de la Q-D ou du BPR doit prendre en compte la méthode utilisée pour évaluer la sensibilité des SARM à la vancomycine.

328/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Infections de stimulateurs cardiaques : place des staphylocoques et sensibilité aux antibiotiques

E. Jan[3], F. Camou[1], J.L. Pellegrin[5-2], J. Texier-Maugein[4-2]
[1]Réanimation médicale, CHU de Bordeaux, Hôpital Saint-André [2]Université Victor Ségalen Bordeaux II, Bordeaux [3]Cardiologie [4]Laboratoire de bactériologie [5]Médecine interne et maladies infectieuses, CHU de Bordeaux, Hôpital Haut-Lévêque, Pessac, France

Les infections sur matériel de stimulation cardiaque, dont l'incidence croît, requièrent une antibiothérapie probabiliste avant l'explantation du matériel. Les staphylocoques représentent l'espèce la plus fréquemment impliquée dans ces infections. Le but de l'étude était de confirmer la prédominance des staphylocoques et de tester leur sensibilité vis-à-vis de différents antibiotiques, notamment des nouvelles molécules anti-Gram positif, afin d'optimiser le traitement probabiliste.

De janvier 2005 à décembre 2008, une documentation bactériologique a été obtenue dans 252 infections, incluant plus de 50% d'endocardites sur sonde (39% par hémocultures et 69% par culture du matériel). Les staphylocoques représentaient 85,3% des souches bactériennes isolées (26 *S. aureus* et 190 staphylocoques Coagulase Négative). Les Concentrations Minimales Inhibitrices ont été déterminées par dilution en milieu gélosé Mueller Hinton et interprétées selon les recommandations du CA-SFM.

Les résultats sont exprimés dans le tableau suivant.

antibiotique	CMI_{50}	CMI_{90}	CMI extrêmes	% sensibles	% I/R
oxacilline	≤0,25	2	≤0,25 - 4	68,5	-/31,5
céfoxitine	4	>16	4 - >16	70,4	3,8/25,8
vancomycine	≤4	≤4	4 - 4	100	0/0
teicoplanine	≤4	8	4 - 16	85,2	8,6/6,2
Pristinamycine	≤0,5	≤0,5	0,5 - 0,5	100	0/0
rifampicine	0,04	>64	≤0,01 - >64	86,4	2,5/11,1
ofloxacine	0,4	64	≤0,02 - 64	76,4	1,1/22,5
linézolide	2	≤4	1 - 4	100	-/0
daptomycine	0,5	1	≤0,12 - 2	99,4	-/0,6
tigécycline	0,25	0,5	≤0,12 - 1	98,1	-/1,9
dalbavancine	0,5	2	≤0,06 - 8	-[a]	-[a]

[a] *: concentrations critiques non connues*

L'étude confirme la prépondérance des staphylocoques dans les infections de stimulateurs cardiaques, notamment des staphylocoques Coagulase Négative (75% des infections). Les staphylocoques méticilline-résistants représentent un tiers des souches. 20% d'entre eux restent sensibles aux fluoroquinolones. Près de 15% des souches sont résistantes à la teicoplanine (exclusivement des staphylocoques Coagulase Négative) et à la rifampicine. Les résistances à la daptomycine et la tigécycline sont très rares dans ces infections, et inexistantes pour le linézolide.

Les résultats *in vitro* sont prometteurs dans les infections de stimulateurs cardiaques, et motivent la réalisation d'études cliniques dans cette indication.

329/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Surveillance of antibiotic resistance and report of the increasing presence of the *mef*A gene in non-invasive clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* collected in Belgium during winter 2008-2009

R. Vanhoof[1], S. De Craeye[1], F. Fux[1], J. Van Eldere[3], J. Verhaegen[3], T.H.H. Belgian Sp Study Group[2]
[1]Unit of Antibiotics, Institute Public Health [2]Microbiology, SP Study Group, Brussels [3]Microbiology, University Hospital Gasthuisberg KUL, Leuven, Belgique

A total of 429 isolates of *Streptococcus pneumoniae* collected by 15 laboratories were tested for their susceptibility by a microdilution following CLSI recommendations. The following antibiotics were tested: penicillin G (PEN), ampicillin (AMP), amoxicillin (+/-clavulanic acid in a 2/1 ratio) (AMX, AMC), cefuroxime (CRX), cefaclor (CFC), cefotaxime (CTX), ceftazidime (CTZ), cefepime (CPM), imipenem (IMI), ciprofloxacin (CIP), levofloxacin (LEV), moxifloxacin (MOX), ofloxacin (OFL), erythromycin (ERY), azithromycin (AZI), telithromycin (TEL), clindamycin (CLI) and tetracycline (TET). Insusceptibility rates (IR%) were as follows: PEN 11.4 [1.9 %R], AMP 11.4 [5.8], AMX and AMC 0.2 [0], CFC 11.0 [10.3], CRX 11.0 [10.5], CRX-axetil 10.5 [9.8], CTX, CTZ, CPM 2.3 [0.4], IMI 1.4 [0], CIP 3.7 [1.9], LEV 0.9 [0.5], MOX 0 [0], OFL 3.7 [1.1], ERY 41.5 [41.0], AZI 41.3 [41.1], TEL 0.2[0.2], CLI 29.6 [28.9], TET 25.6 [14.4]. The commonest resistance phenotype was insusceptibility to ERY-TET (17%), ERY (14.7 %) and PEN-ERY-TET (6.1 %). Multi Drug Resistance (≥2AB) was present in 27.2% of the isolates. There were only minor differences in IR rates according to sampling site, admission type and gender. TET-IR was significantly higher in isolates from Children than in those from adults (35%/23.6%). IR was always higher in children except for CIP. Significant differences in IR between North (N), South (S) and Brussels (B) existed: PEN (B>N), CIP (N>S), ERY (S>N) and TET (S,B>N). In PEN-IR isolates, MICs of all beta-lactams rose with those of PEN though cross-

resistance between PEN and other beta-lactams was incomplete. Most of these isolates remained fully susceptible to AMX/C (98 %) and IMI (87.8%). Compared to the last surveys, IR rates for beta-lactams remained fairly stable, CIP decreased markedly and a significant increase was noted for ERY. This increase was accompanied with an important increase in the prevalence of the *mef*A gene. This gene was present in 25.8% of the ERY-IR isolates (1990-2008: approx. 15%). Regional distribution in ERY-IR was: N 30.3%, B 25%, S 22.9%. Its presence in children was 16.7%, in adults 28.2%. None of these differences were significant. Isolated *mef*A was found in 16.3% (MIC: 0.5-1), *erm+mef* in 10% (MIC: 1-≥64) and *erm* in 72.5% (MIC: 16-≥64).

330/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évolution des sérotypes de souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine : comparaison entre 2006/2007, 2007/2008 et 2008/2009

H.B. Drugeon[2], A. Michaud-Nerard[1]
[1]Drug R&D, Angers Technopole [2]Faculté de Médecine, Nantes, France

Objectif : Présenter l'évolution des sérotypes des pneumocoques isolés au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine : comparaison 2006/2007, 2007/2008 et 2008/2009.

Méthodes : Le réseau de suivi évalue la sensibilité aux antibiotiques des souches de pneumocoque isolées d'infections respiratoires. Depuis la campagne 2006/2007 les sérotypes sont systématiquement déterminés par une méthode PCR qui détermine 29 sérotypes différents. L'analyse porte sur 3031 souches provenant de 42 laboratoires. La séparation des sérotypes 6A et 6B a été réalisée par gonflement de capsule. Les CMI des antibiotiques testés ont été réalisées par microdilution.

Résultats : En moyenne 13.1% des souches n'ont pu être déterminées bien que possédant les gènes de capsule. Durant ces 3 campagnes, 15 sérotypes ont une fréquence ≥ 2% : 6 ont une fréquence haussière (1, 3, 7F, 15A, 18C, 19A), 6 ont une fréquence baissière (6A, 9V, 14, 19F, 22F, 23F) et 3 sont stationnaires (6B, 11A, 35B). Lors de la dernière période janvier-mars 2009, les principaux sérotypes sont 19A (12.9%), 3 (11.5%), 7F (7.4%) 14 et 19F (4.5%), 1(4.3%). La résistance à la pénicilline est retrouvée constamment avec les sérotypes 6A, 6B, 9V, 14, 15A , 18C, 19A, 19F, 23F, 33F, 35B. Vis-à-vis des macrolides, un mécanisme de résistance est retrouvé respectivement chez ces mêmes sérotypes et chez le 11A.. Depuis janvier 2008, quelques souches résistantes à l'érythromycine et /ou à la pénicilline sont retrouvées avec le sérotype 3 habituellement sensible aux antibiotiques.

Conclusion : La fréquence de certains sérotypes épidémiques et notamment ceux contenus dans le vaccin heptavalent (6B, 9V, 14, 19F, 23F) diminue régulièrement. Des sérotypes pour le moment non vaccinaux voient leur fréquence augmentée (1, 3, 7F, 15A, 19A). L'apparition de souches résistantes chez le sérotype mucoïde 3 doit être surveillée.

331/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Activité des nouveaux antibiotiques sur les souches d'entérocoques résistants aux glycopeptides isolées en France

R. Bérenger, N. Bourdon, M. Auzou, R. Leclercq, V. Cattoir
CHU Côte de Nacre, Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, Laboratoire associé entérocoques et résistances particulières des streptocoques, Caen, France

Objectif : Déterminer l'activité *in vitro* de nouveaux antibiotiques sur des souches cliniques humaines d'entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG) d'origine française.

Méthodes : Le travail a été réalisé sur 60 souches épidémiologiquement non reliées (pulsotypes différents) de *Enterococcus faecium* résistantes à la vancomycine (génotype *vanA* ou *vanB*) reçues au CNR entre 2006 et 2008. L'activité *in vitro* de six antibiotiques (linézolide, LIN ; tigécycline, TIG ; quinupristine-dalfopristine, Q-D ; daptomycine, DPT ; ceftobiprole, CFT ; télavancine, TLV) a été déterminée par la méthode de microdilution en milieu liquide. L'interprétation a été effectuée selon les concentrations critiques du CA-SFM pour le LIN, la Q-D, la TIG et celles du CLSI pour la DPT.

Résultats : Toutes les souches étaient sensibles au LIN (CMI_{50} et CMI_{90} à 2 et 4 mg/L, respectivement) et à la DPT (CMI_{50} et CMI_{90} à 1 et 2 mg/L, respectivement). Elles étaient pour la plupart (98,3 %) sensibles à la TIG (CMI_{50} et CMI_{90} à 0,25 mg/L) avec une seule souche classée intermédiaire (CMI = 0,5 mg/L). Par contre, elles étaient modérèment sensibles à la Q-D (CMI_{50} et CMI_{90} à 0,5 et 4 mg/L, respectivement) avec 26,6 % et 1,7 % de souches catégorisées intermédiaires (CMI = 2-4 mg/L) et résistantes (CMI = 16 mg/L), respectivement. Enfin, le CFT et la TLV présentaient une activité limitée avec des CMI_{50} de >=64 et 4 mg/L et des CMI_{90} de >=64 et 8 mg/L, respectivement.

Conclusion : La majorité des souches d'ERG testées dans ce travail sont sensibles au LIN, à la DPT et à la TIG, antibiotiques potentiellement utilisables dans le traitement des infections dues à ces bactéries. Par contre, l'association Q-D n'est raisonnablement pas utilisable en première intention. Enfin, même si aucune concentration critique n'est encore disponible, les nouvelles molécules à spectre anti-Gram positif (CFT et TLV), actuellement en études cliniques de phase III, ne semblent pas représenter une thérapeutique prometteuse pour le traitement des infections à ERG.

332/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

La combinaison du séquençage du gène *sic* et du profil toxinique permet d'identifier les cas groupés d'infections invasives à streptocoques du groupe A de sérotype M1

P. Bidet[2-1], E. Lesteven[1], C. Doit[1-2], S. Liguori[2], P. Mariani-Kurkdjian[1-2], S. Bonacorsi[1], E. Bingen[1-2]
[1]Microbiologie, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Robert Debré [2]CNR-Strep, Laboratoire associé au CNR des Streptocoques – Infections à Streptocoque du groupe A de l'enfant, Paris, France

L'investigation de cas groupés d'infections invasives à streptocoques du groupe A (SGA) de sérotype M1 (génotype *emm*1) constitue un problème complexe pour deux raisons :

1. Ce sérotype est le plus fréquemment retrouvé dans les infections invasives de l'enfant où il représente un tiers des souches. C'est également un sérotype fréquent au sein des souches de portage et d'infections bénignes.
2. Les ¾ des souches de ce sérotype impliquées dans les infections invasives appartiennent à un clone de diffusion mondiale et sont indifférentiables par les techniques classiques de génotypage comme l'électrophorèse en champ pulsé, la PCR aléatoire, le ribotypage et, plus récemment, la technique du Multi-Locus Sequence Typing (MLST – ST28).

Pour ces raisons, les techniques usuelles de génotypage et de sous-typage sont fréquemment mises en défaut lors de l'analyse de cas groupés d'infections invasives à SGA.

Hoe et coll. avaient montré que les souches de ce clone présentaient un polymorphisme de séquence du gène de virulence *sic* codant une protéine inhibitrice du complément sérique. Nous avons combiné cette technique de génotypage par séquençage du gène *sic* à la recherche de gènes de toxines pour analyser 4 épisodes de cas groupés d'infections invasives à SGA de sérotype M1 (9 souches) et étudié la variabilité de ce gène au sein d'une collection de 38 souches témoins non-reliées épidémiologiquement responsables, en France, d'infections invasives chez l'enfant.

La combinaison du séquençage du gène *sic* et du profil toxinique nous a permis de distinguer 24 génotypes différents au sein de 47 souches de sérotype M1 et nous a permis de résoudre les quatre épisodes de cas groupés.

333/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

A cluster of invasive and non-invasive infections caused by an *emm*-type 44 clone of *Streptococcus pyogenes*

C. Plainvert[1-2], A. Cady[4], P.Y. Donnio[4], D. Huguenet[6], R. Demillac[3], M. Revest[5], C. Poyart[1], A. Bouvet[1-2]
[1]Centre National de Référence des Streptocoques, Université Paris Descartes [2]Hôtel Dieu, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris [3]Cellule interrégionale d'Epidémiologie Ouest [4]Laboratoire de Bactériologie, CHU Pontchaillou [5]Service des Maladies Infectieuses, CHU Pontchaillou [6]Veille sanitaire DDASS d'Ille-et-Vilaine, Rennes, France

Background: In January 2009, increase in referrals to the National Reference Center for Streptococci of isolates from patients with invasive and non-invasive skin infections indicated the emergence of an *emm*-type 44 clone of *Streptococcus pyogenes* (or group A Streptococci, GAS) in the region of Rennes.

Objectives: To characterize and compare new isolates to the epidemic *emm*44 GAS strain.

To identify the source of contamination in order to prevent further spread of the virulent strain.

Methods: GAS isolates were characterized by biotype, T-serotype, *emm* sequence type, presence of genes encoding SpeA, SpeB, SpeC, Ssa and SmeZ exotoxins or superantigens.

Molecular subtyping was performed by pulse-field gel electrophoresis (PFGE) with *Sma*I restriction enzyme.

Antibiotic susceptibility to penicillins, tetracycline, macrolides, aminoglycosides, glycopeptides, and fluoroquinolones was tested by disk diffusion method according to the CA-SFM guidelines. Tetracycline MICs and gene determinants were analyzed on resistant strains.

Results: Fourteen GAS strains isolated between January and July shared the same markers: biotype 3, T serotype 11 or 11/12, *emm* subtype 44.0, *spe*B gene, tetracycline resistance (MICs 16-32 mg/L) and *tet*(M) gene. All isolates were susceptible to all other antibiotics tested. The clonal origin of the strains was confirmed by an original PFGE pattern 44-A1.

Strains were isolated from wounds (10), soft tissue specimens (3) or blood (1). The clinical presentations involved mainly skin and soft tissue lesions: suppurative wounds (7), abscesses (3), necrotizing fasciitis (1), erysipela (1), septic arthritis (1) and hygroma (1).

All the patients were men (mean age 42), mostly marginal and presenting one or several risk factors: homeless (11), injection drug users (8) and alcoholism (12).

Conclusion: These results indicate that an outbreak of invasive or non-invasive GAS infection in an urban marginal population occurred in the region of Rennes.

This study confirms the interest of molecular markers to identify the responsible strain.

Local investigations confirmed the spread of this *emm*44 emerging GAS strain and the role of skin lesions in frequent transmission between persons living in poor conditions and sharing multiple risk factors of GAS severe infections.

334/72A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Clostridium difficile chez le nourrisson : caractéristiques des souches de portage intestinal

C. Rousseau[2-1], A. Le Monnier[2-3], I. Poilane[1], A. Collignon[2-1]
[1]*Microbiologie, CHU Jean Verdier, AP-HP, Bondy* [2]*EA4043, Faculté de Pharmacie, Université Paris-Sud-11, Châtenay-Malabry* [3]*Microbiologie, Centre Hospitalier de Versailles, Le Chesnay, France*

Introduction : *Clostridium difficile* est souvent présent dans le tube digestif de l'enfant en bas âge. Cependant, cette colonisation est rarement associée à une infection à *C. difficile*.

Objectif : Le but de cette étude était de redéfinir la prévalence de colonisation par *C. difficile* chez le nourrisson et d'analyser la biodiversité et les facteurs de virulence de ces souches.

Méthode : Le portage digestif de *C. difficile* a été recherché par mise en culture sélective de selles d'enfants de 0 à 2 ans prélevés dans deux hôpitaux d'Ile-de-France. Les données démographiques ont été recueillies prospectivement. Les souches de *C. difficile* ont été caractérisées 1/Phénotypiquement par la culture toxigénique, par leur profil de sensibilité aux antibiotiques et par un test de cytotoxicité sur cellules MRC5 ; 2/Génotypiquement par PCR-ribotyping et détection des gènes codant pour les toxines par PCR (*tcdA, tcdB, cdtA, cdtB*).

Résultats : Cinquante souches de *C. difficile* ont été isolées chez les 139 nourrissons dépistés au CHU Jean verdier. La prévalence de portage de *C. difficile* a été estimée à 36% (50/139) et dans le cas d'une souche toxinogène à 9,4% (13/139) pour l'ensemble des enfants, mais variait de façon importante entre classes d'âge. Le caractère toxinogène de ces 13 souches, déterminé par test rapide sur culture, a été confirmé par le test de cytotoxicité et par la présence des gènes *tcdA* et *tcdB* pour toutes les souches. Aucune souche *tcdA-/tcdB+* n'a été détecté. Parmi les souches toxinogènes seulement une possédait également les gènes codant pour la toxine binaire. Concernant la caractérisation génotypique, les 50 souches se répartissaient en huit PCR-ribotypes distincts distribués de façon homogène entre les différentes classes d'âge. La majorité des souches toxinogènes se regroupaient au sein d'un même PCR-ribotype. La comparaison de ces PCR-ribotypes avec ceux de 4 souches (dont 2 toxinogènes) isolées au CH Versailles a montré que les mêmes PCR-ribotypes circulaient sur ces deux sites. Les PCR-ribotypes de ces souches isolées chez le nourrisson différaient des ribotypes les plus communément retrouvés lors d'infections chez l'adulte.

335/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

L'effet modulateur des antibiotiques actifs sur *S. aureus* résistant à la méticilline sur l'expression des exotoxines staphylococciques

O. Dumitrescu[1-2-3], C. Badiou[2-3], M. Bes[1-2-3], M.E. Reverdy[1-2-3], J. Etienne[1-2-3], F. Vandenesch[1-2-3], G. Lina[1-2-3]
[1]*Centre National de Référence des staphylocoques* [2]*U851, INSERM* [3]*Université de Lyon, Lyon, France*

Objectif : *S. aureus* est un pathogène responsable d'infections potentiellement sévères. Depuis le début des années 2000, nous assistons à une émergence et diffusion de souches *S. aureus* résistantes à la méticilline d'origine communautaire (SARM-C). Ces souches produisent un facteur de virulence particulier, la leucocidine de Panton Valentine (PVL) à l'origine d'infections tel que la pneumonie nécrosante et l'ostéomyélite compliquée récidivante. Dans ce travail nous avons évalué l'effet de principales molécules anti-SARM (vancomycine, tygécicline et linézolide) sur la production de facteurs de virulence staphylococcique solubles, la PVL et l'hémolysine alpha (Hla).

Méthodes : Nous avons cultivée deux souches de SARM-C sans et en présence des antibiotiques à la concentration minimale inhibitrice et nous avons suivi l'effet bactéricide en fonction du temps. Après 4, 6 et 8 heures d'incubation, nous avons prélevé des aliquotes pour le dénombrement bactérien et le dosage de la PVL et Hla par méthode ELISA.

Résultats : Nous avons observé un effet antibactérien comparable avec le linézolide et la vancomycine d'approximativement -1,5 logUFC, tandis que la tigécycline était seulement faiblement bactériostatique.

Sans antibiotiques, les concentrations de PVL et Hla ont suivi une progression temps dépendante. Les cultures incubées avec la vancomycine ont présenté une production d'exotoxines similaire au témoin de croissance sans antibiotiques. La tigécycline et le linézolide ont fortement inhibé la production de PVL au trois temps étudiés. En ce qui concerne la production d'Hla, le linézolide a exercé une inhibition plus importante que la tigécycline : 12 à 40 fois moins versus 2 à 3 fois moins.

Conclusion : Nous avons montré que, contrairement à la vancomycine, les nouveaux antibiotiques anti-SARM, le linézolide et la tigécycline modulent l'expression des exotoxines staphylococciques. La tigécycline, faiblement bactériostatique, conduit à une diminution spécifique de la production de PVL, tandis que le linézolide inhibe fortement la production de PVL et Hla, probablement aussi en relation avec son effet antibacterian.

Nos résultats suggèrent que la tigécycline et le linézolide peuvent avoir un effet positif dans les infections sévères à SARM-C.

336/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Rôle des autolysines dans l'activité bactéricide de l'association d'amoxicilline et de gentamicine

V. Dubée[1], A. Lefort[1], F. Chau[1], M. Arthur[2], B. Fantin[1]
[1]*EA 3964, Université Paris VII* [2]*INSERM U872, Université Paris VI, Paris, France*

Objet : Nous avons évalué le rôle des autolysines dans l'activité bactéricide de l'amoxicilline (Amx) et de la gentamicine (Gm) vis-à-vis de *E. faecalis* JH2-2 (JH2-2) et d'un mutant isogénique Δ*ABC*, construit par délétion des gènes codant pour les autolysines AtlA, AtlB et AtlC et ne comportant pas d'activité autolytique détectable par zymogramme.

Méthodes : Nous avons déterminé les CMI et CMB de l'Amx et de la Gm vis-à-vis des deux souches. Des cinétiques de bactéricidie de l'Amx aux concentrations de 0,5, 2 et 16 µg/ml (soit 1, 4 et 32 fois la CMI) et de l'association d'Amx 2 µg/ml et de Gm 32 µg/ml (soit ¼ fois la CMI) ont été réalisées vis-à-vis d'un inoculum standard (10^6) et élevé (10^8CFU/ml). Δ*ABC* formant des chaînes bactériennes, une procédure de sonication à faible énergie a été utilisée pour séparer les cellules.

Résultats : Les CMI d'Amx vis-à-vis de JH2-2 et de Δ*ABC* sont de 0,5 µg/ml. Δ*ABC* est tolérant à l'Amx (CMB > 1024 µg/ml), contrairement à JH2-2 (CMB = 2 µg/ml). La concentration d'Amx la plus bactéricide est de 2 µg/ml pour les deux souches. A cette concentration et avec l'inoculum standard, l'Amx est significativement moins bactéricide vis-à-vis de Δ*ABC* que de JH2-2 (après 6 h d'incubation, ΔlogCFU = 2,48±0,14 contre 3,15±0,32, respectivement; P=0,02). La différence est plus prononcée avec l'inoculum élevé (1,00±0,25 contre 2,82±0,32; P=0,008). L'association d'Amx et de Gm est synergique et bactéricide vis-à-vis des deux souches. Cependant, la délétion des gènes *atlA*, *atlB* et *atlC* codant pour les autolysines diminue significativement l'activité bactéricide de l'association vis-à-vis de l'inoculum élevé (ΔlogCFU = 4,32±0,45 pour Δ*ABC* contre 6,65±0,72 pour JH2-2; P=0,002).

Conclusions : L'association de l'Amx et de la Gm est bactéricide et synergique vis-à-vis de JH2-2 et du triple mutant ABC. Cependant, l'activité bactéricide de l'association est significativement réduite vis-à-vis du triple mutant en présence d'un fort inoculum bactérien. Ce dernier résultat démontre que (i) : les autolysines contribuent en partie à l'effet bactéricide de l'association ; (ii) : l'activité bactéricide de l'association est réduite en présence d'une souche tolérante par délétion des autolysines.

337/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Analyse par cytométrie de flux (CMF) de l'impact de l'exposition à la vancomycine (Vm), la daptomycine (D), la télavancine (T), et d'une vancomyquine PA1409 sur la paroi bactérienne chez *Enterococcus faecalis*

F. Chau[3], A. Lefort[3], V. Dubée[3], S. Benadda[2], M. Sanchez[1], B. Meunier[1], B. Fantin[3]
[1]*Palumed, Castanet-Tolosan* [2]*IFR02, INSERM* [3]*EA3964, Université Paris 7, Paris, France*

Objectif : Analyser la réponse physiologique et morphologique de souches de *E. faecalis* sensibles ou résistantes à la Vm après exposition à différents lipo- et glycopeptides.

Méthodes : La vancomyquine (PA1409) a été obtenue par liaison covalente entre la Vm et une 4-aminoquinoléine. Les CMI de la Vm, D, T, et PA1409 ont été déterminées par la méthode de macrodilution pour *E. faecalis* JH2-2 et ses transconjuguants VanA BM4316 et VanB BM4275. Les bactéries ont été exposées aux antibiotiques pendant 30, 60 et 90mn, à des concentrations de 0.25 à 1XCMI. Les paramètres étudiés en CMF sont : la taille bactérienne, le potentiel membranaire (sonde cationique $DiOC_6$), la perméabilité membranaire (Kit Baclight Live/Dead® reposant sur la compétition de 2 fluorochromes : iodure de propidium marqueur des bactéries mortes et Syto9 marqueur des bactéries mortes et vivantes). La morphologie des bactéries marquées par le Kit Baclight a été observée en microscopie confocale.

Résultats : Les CMI (mg/ml) de la Vm, D, T, et PA1409 sont respectivement pour JH2-2 de 4, 2, 1, 0.5 ; pour BM4316 de 512, 2, 4, 4 ; pour BM4275 de 256, 2, 1, 2. La D (0,25 à 1xCMI) augmente la taille bactérienne des 3 souches étudiées dès 30 mn d'exposition. La Vm augmente seulement la taille de la souche sensible JH2-2, après 60 mn d'exposition. La T et PA1409 n'ont pas d'effet sur la taille des bactéries. La D entraîne la formation de chaînes dysmorphiques. Une augmentation de la perméabilité membranaire de 3 à 4 fois est observée après 60mn d'exposition à 0.5-1 x CMI de Vm, T, et PA1409. La D (0.25-1 x CMI) diminue nettement le potentiel de membrane de BM4275 dès 30 mn d'exposition. Cet effet est moins prononcé pour JH2-2 et BM4316.

Conclusion : La D agit sur la taille, le potentiel de membrane et la morphologie bactérienne. La Vm ne modifie la taille que de la souche sensible à la Vm. La T et PA1409 induisent une augmentation marquée de la perméabilité membranaire.

338/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Characterization of CSP-1, a novel extended-spectrum beta-lactamase produced by a clinical isolate of *Capnocytophaga sputigena*

H. Guillon, F. Eb, H. Mammeri
Bactériologie, CHU d'Amiens, Amiens, France

Objectives: The *Capnocytophaga sputigena* isolate NOR was recovered in peripheral blood cultures from a 6-year old child suffering from malignant hemopathy. It was resistant to amoxicillin, cefalotin, cefuroxime, but remained susceptible to co-amoxiclav and imipenem. The aim of this study was to characterize the mechanism of resistance to beta-lactams.

Methods: Cloning experiment was performed. The whole-cell DNA content of *C. sputigena* NOR isolate was partially digested by Sau3AI and the fragments were ligated into pBK-CMV. The recombinant plasmids were transformed into *E. coli* TOP10. A recombinant plasmid was extracted and its insert was sequenced. The kinetic paramaters of the beta-lactamase, which was purified from a recombinant clone, were spectrophotometrically determined. The detection of the novel bla_{CSP-1} gene was attempted by PCR in two *C. sputigena* reference strains.

Results: An extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) gene from *C. sputigena isolate* NOR was cloned and expressed in *E. coli* TOP10. The recombinant strain was highly resistant to ceftazidime, had a reduced susceptibility to cefotaxime, cefepime, and aztreonam, and remained fully susceptible to cefoxitin and imipenem. Its activity was inhibited by clavulanic acid and tazobactam. Sequence analysis of the cloned DNA fragment revealed an open reading frame (ORF) of 918-bp encoding a protein of 305 amino acids. Sequence analysis showed that this beta-lactamase, named CSP-1, is a novel ESBL of the Ambler class A group sharing only 52% and 49% identities with the ESBLs CME-1 and VEB-1, respectively. CSP-1 belongs to a subgroup of class A beta-lactamases which are characterized structurally by an aspartic residue at position 136 and a four amino acids insertion at position 238, and biochemically by a high hydrolytic activity against cephalosporins (Bush functional group 2e). The detection of the bla_{CSP-1} gene in two reference strains and its genetic environment suggested that it was very likely chromosomally located.

Conclusion: *C. sputigena* is an opportunistic pathogen responsible for systemic infections in immunocompromised patients. It harbors the *csp-1* gene that encodes an ESBL hydrolyzing extended-spectrum cephalosporins. Imipenem/cilastatin should be preferred in these cases.

339/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Dominance of CTX-M-type extended spectrum beta-lactamases and detection of the *qnr* genes in *Escherichia coli* isolates from children

S. Réjiba[3-4], P.S. Mercuri[1], E. Cambau[2], A. Kechrid[4]
[1]Laboratoire de Macromolécules Biologiques, Centre d'Ingénierie des Protéines, Institut de Chimie B6a, Universié de Liège, Liège, Belgique [2]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France [3]Département des Sciences Biologiques, Faculté de Sciences [4]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie

We analyzed 35 non repetitive cefotaxime-resistant clinical isolates of *Escherichia coli*, collected from the Children's Hospital in 2006 (Tunis, Tunisia). For all isolates, the double-disk diffusion test revealed synergy between clavulanate and cefotaxime and/or ceftazidime, suggesting the production of extended-spectrum beta lactamases (ESBLs). By PCR experiments performed on plasmid DNA and sequencing, bla_{CTX-M} genes were identified in 34 isolates: $bla_{CTX-M-15}$ (33 isolates) and $bla_{CTX-M-3}$ (1 isolate). The bla_{SHV-12} gene was detected either alone (1 isolate) or with $bla_{CTX-M-15}$ gene (1 isolate). Furthermore, the insertion sequence IS*Ecp1* was found upstream from the bla_{CTX-M} genes in 14 isolates. Since a frequent association of bla_{CTX-M} and the plasmid-mediated quinolone resistance (*qnr*) genes has been noticed, the clinical isolates of *E. coli* were screened for *qnrA*, *qnrB* and *qnrS*. The *qnrB* and *qnrS* genes were found in two isolates harbouring $bla_{CTX-M-15}$ gene, whereas *qnrA* gene was not detected. Our investigation showed the dominance of CTX-M-type ESBLs, with CTX-M-15 particularly common, and the presence of *qnr* genes in *E. coli* isolates from children.

340/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Épidémie de *Providencia stuartii* productrices de CMY-16 et QnrA6 dans un service de Brûlés d'un Hôpital de Tunis

C. Arpin[1], L. Thabet[3], A. Messadi[4], J. Boukadida[2], V. Dubois[1], L. Coulange[1], C. André[1], C. Quentin[1]
[1]CNRS UMR 5234, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France [2]Laboratoire de Microbiologie et Immunologie, CHU Farhat-Hached, Sousse [3]Laboratoire de Biologie [4]Unité de Brûlés, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

But de l'étude : *Providencia stuartii* est une entérobactérie relativement rare en clinique, productrice d'enzymes de résistance aux antibiotiques [AmpC et AAC(2')-I], généralement exprimées à bas niveau. Sur une période de 2 ans (2005-2006), de nombreuses *P. stuartii* multirésistantes, notamment aux céphalosporines de 3ème génération (C3G), ont été isolées dans une unité de Brûlés d'un Hôpital de Tunis. Le but de l'étude était d'analyser les mécanismes de résistance aux antibiotiques et les relations épidémiologiques de ces souches.

Méthodes : La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par diffusion et dilution en gélose. Les résistances aux ß-lactamines et aux quinolones ont été étudiées par PCR et séquençage. Les expériences de conjugaison ont été effectuées par une méthode sur filtre. Les souches ont été typées par PFGE, après digestion par *Sma*I.

Résultats : Les 64 souches étudiées (58 isolats de 58 patients, et 6 d'un système de ventilation assistée) se répartissaient en 4 antibiotypes (ATB) et 3 pulsotypes. Toutes les souches, sauf celle d'ATB4, étaient résistantes aux C3G (ceftazidime, CMI 32-64 mg/l), par production de la céphalosporinase plasmidique CMY-16. Un total de 48 souches, incluant 5 souches du système de ventilation, appartenait à l'ATB1 et au pulsotype A. Les 15 souches restantes se répartissaient en 2 pulsotypes et présentaient des résistances similaires aux souches d'ATB1, avec en plus une résistance aux quinolones conférée par la présence du gène *qnrA6*. Les 11 isolats d'ATB2 différaient des souches d'ATB1 et d'ATB3 par leur sensibilité à la gentamicine. La résistance aux ß-lactamines, ainsi que nombreuses co-résistances, incluant les quinolones, étaient transférées par conjugaison à une fréquence d'environ 10^{-5}. L'analyse de l'environnement du gène bla_{CMY-16} a révélé la présence d'une IS*Ecp1*-like en amont.

Conclusion : L'épidémie de *P. stuartii* était due à la dissémination de 3 clones producteurs de CMY-16, suggérant une épidémie de plasmide concomitante. L'acquisition d'*ampC* plasmidique et les gènes *qnr* n'ont jamais été décrits dans cette espèce. La présence d'AmpC transférables doit être suspectée dans des espèces naturellement productrices de ce type d'enzyme, lorsque la résistance aux C3G est inhabituellement élevée.

341/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Presence of *qnr* genes in *Enterobacteriaceae* strains resistant to third generation cephalosporin isolated from patients in Tunisia

N.H. Jlili[3], S. Réjiba[2], H. Smaoui[3], E. Cambau[1], A. Kechrid[3]
[1]Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Médecine de Bichat, Paris, France [2]Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences [3]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'Enfants, Tunis, Tunisie

Objectives: This study aimed to investigate *qnr* genes in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* strains from peadiatric patients in a children's Tunisian hospital.

Methods: A total of 113 non repetitive clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae,* resistant to third generation cephalosporins, were collected from patients at the Children's Hospital of Tunisia in 2003 (72 strains) and 2007 (65 strains). Quinolone resistance patterns were determined by antibiograms on Muller-Hinton agar plates with disc diffusion method and interpreted according to the guidelines of the French Society of Microbiology. Four antimicrobial agents were tested: ciprofloxacin, nalidixic-acid, levofloxacin and ofloxacin. The isolates were screened for the plasmid-meditated quinolone resistance genes *qnr*A, *qnr*B and *qnr*S by PCR. *K. pneumonia* 3877 strain, susceptible to quinolones, was used as negative control and the positive controls were *E. coli*$_{TC}$ HM13 for *qnr*A1, *E. coli* J53 for *qnr*B and CFTS1 for *qnr*S1.

Results: An increase in the level of quinolone resistance was detected from 2003 to 2007 in Enterobacteriacea isolates: from 5.5% to 15.3% for ciprofloxacin, from 20.8% to 27.7% for nalidixic-acid, from 6.9% to 27.7% for ofloxacin and from 4.2% to 15.3% for levofloxacin. Four nalidixic-acid resistant isolates, including two *E. coli* and 2 *K. pneumoniae* isolates were positive for the *qnr* genes and had extended-spectrum beta lactamases. The *qnr*B1 gene was found in two ioslates of *E. coli* and one isolate of *K. pneumoniae*. The *qnr*S1 gene was found in one *K. pneumonia* strain, which is resistant to ciprofloxacin. None of the isolates produced *qnr*A gene. These four *qnr* positive strains were isolated in 2007 (6.15%) and none of the strains isolated in 2003 was *qnr* positive.

Conclusion: Resistance to quinolones increased from 2003 to 2007 in isolates from children although these antibiotics are not advised for peadiatric patients younger than 16 years old. *qnr* genes were detected in isolates of 2007.

342/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Prevalence of plasmid- mediated quinolone resistance determinants Qnr A, Qnr B and Qnr S among extra-intestinal *Escherichia Coli* at Charles Nicolle University Hospital of Tunisia

S. Ferjani, M. Saïdani, I. Boutiba-Ben Boubaker, A. Kamoun, S. Ben Redjeb
Faculté de Médecine de Tunis, Laboratoire de Recherche "Résistance aux anti-microbiens", Tunis, Tunisie

Objective: Since the first plasmid-mediated quinolone resistance determinant (Qnr) description in 1998, three major groups of Qnr (QnrA, QnrB, and QnrS) have been identified mainly in extended spectrum β -lactamase producing (ESBL) *Enterobacteriaceae.* Our objective was to evaluate the prevalence of the 3 groups of *qnr* genes among ESBL producing and ESBL non producing *E.coli.*

Methods: Eighty-three ESBL producing and 83 ESBL non producing *E.coli* with different quinolone susceptibility phenotypes were collected from 2006 to 2009. Identification was done by conventional methods, antimicrobial susceptibility by disk diffusion method and ESBL by the standard disk synergy test. The detection of *qnr A*, *B* and *S* was done by multiplex PCR.

Results: Strains were recovered mainly from urine (88.5%). Nalidixic acid resistance phenotypes among ESBL producing strains were: susceptible n=

20, intermediate n=1 and resistant n=62 and among ESBL non producing *E.coli* were: susceptible n=54, intermediate n=0 and resistant n=29. The distribution of *qnr* genes among ESBL and non ESBL producing strains according to their nalidixic acid susceptibility phenotypes is shown in the table below:

Table1: Distribution of *qnr* genes among ESBL and non ESBL producing strains according to their nalidixic acid susceptibility phenotypes

	Number of isolates carrying *qnr* genes		
	qnr A	***qnr B***	***qnr S***
ESBL (n= 83)	**1**	**9**	**0**
Nal S n=20	0	5	0
Nal I n=1	1	0	0
Nal R n=62	0	4	0
Non producing ESBL (n= 83)	**0**	**3**	**2**
Nal S n=29	0	3	2
Nal R n=54	0	0	0

Nal S: nalidixic acid susceptible, Nal I: intermediate, Nal R: resistant

Conclusion: This study show the emergence of plasmid mediated quinolone resistance in our hospital. The frequency of quinolones resistance plasmidic genes among ESBL producing strains and even in quinolone phenotypically susceptible strains implies a systematic detection of these determinants, especially when a fluoroquinolone will be prescribed, since they favourite quinolone high resistant mutant selection.

343/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Prévalence des gènes de résistance plasmidique aux quinolones chez des entérobactéries communautaires isolées au Maroc

L. Jamali[3-2], F. Haouzane[3-4], K. Zerouali[1], A. Soukri[2], J.D. Perrier-Gros Claude[3], M. Timinouni[3]

[1]Laboratoire de Microbiologie, Faculté de médecine et pharmacie [2]Laboratoire de Physiologie et Biologie Moléculaire, faculté des Sciences Ain Chock [3]Laboratoire de Bactériologie Moléculaire, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca [4]Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences d'El Jadida, El Jadida, Maroc

Objectifs : évaluer l'émergence et la diffusion des gènes de résistance plasmidique aux quinolones (*qnr*, *qepA* et *aac (6')-Ib-cr*) en milieu communautaire chez des entérobactéries uropathogènes isolées dans différentes régions du Maroc.

Méthodes : 303 souches d'entérobactéries uropathogènes ont été collectées au niveau des laboratoires privés d'analyses médicales. La résistance aux antibiotiques (Méthode de diffusion et CMI) et la détection des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) ont été réalisées selon les recommandations de la Société Française de Microbiologie. La recherche des gènes de résistance aux quinolones (*qnrA*, *qnrB*, *qnrS* et *qepA*), des gènes BLSE (TEM, SHV, CTX-M) et de bêt-lactamases de type AmpC a été effectuée par PCR. Le gène *aac (6')-Ib-cr a* été identifié par PCR-RFLP. Tous les produits de PCR ont été séquencés dans les deux sens. Les expériences de conjugaison ont été réalisées en utilisant la souche d'*E.coli* $K_{12}J_5$ résistante à l'azide de sodium comme souche réceptrice.

Résultats : Parmi les 303 souches sélectionnées, 26,3% présentent une résistance à au moins 5 antibiotiques. Sept souches présentent un phénotype de BLSE. La prévalence des entérobactéries porteuses des gènes PMQR est de 12% : Le gène *qnr* est retrouvé chez 12 souches avec un taux de 1,32% pour *qnrB* (B5, B6) et 2,64% pour *qnrS1*. Le gène *aac(6')-Ib-cr* à été détecté chez 9,6% des isolats. Aucune souche ne possédait le gène *qnrA* et *qepA*. Les expériences de conjugaison ont montrées que *qnrS1*, *aac(6')-Ib-cr* et *CTX-M-15* ont été co-transférés ensemble et que ces gènes sont portés par des plasmides conjugatifs de haut poids moléculaire.

Conclusion : Cette étude montre la présence de PMQR en milieu communautaire au Maroc. Le haut niveau de résistance aux antibiotiques font craindre un risque élevé de la transmission de bactéries multirésistantes et interpellent les autorités pour une politique de surveillance de la résistance.

344/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Recherche des gènes *qnr* de résistance aux fluoroquinolones chez des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu, isolées au Centre national de greffe de moelle osseuse de Tunis

A. Mannai, A. Touati, A. Mechergui, R. Baaboura, A. Ben Hassen

Laboratoires, Centre National de Greffe de Moelle Osseuse, Tunis, Tunisie

Objectif : Les gènes *qnr* codent pour des protéines QNR, membres de la famille des *pentapeptide repeat family* qui protègent l'ADN gyrase de l'action des fluoroquinolones (FQ). Ces gènes plasmidiques ont été identifiés dans différentes espèces d'entérobactéries et sont souvent associés à la production de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). L'objectif de notre étude était d'estimer la fréquence des gènes *qnr* chez les entérobactéries productrices de BLSE, isolées au CNGMO entre 1998 et 2008.

Matériel et Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective sur 10 ans qui a porté sur 38 souches non répétitives d'entérobactéries productrices de BLSE isolées chez des patients hospitalisés au CNGMO. L'antibiogramme a été réalisé selon la technique de diffusion en milieu gélosé et la détection des BLSE par le test de double synergie. Les CMI vis-à-vis de l'acide nalidixique (Nal), de la ciprofloxacine (Cip) et de l'ofloxacine (Ofx) ont été effectuées par la méthode de dilution en milieu gélosé afin d'apprécier le niveau de résistance à ces antibiotiques. Une PCR multiplex a été réalisée pour la détection des gènes *qnr* (*qnr*A, B et S).

Résultats : 57,89% (22/38) des souches étudiées étaient sensibles aux trois quinolones testées (SSS) respectivement Nal, Cip et Ofx ; 28,94% (11/38) étaient résistantes (RRR) et 13,15% (5/38) présentaient des phénotypes intermédiaires avec une sensibilité diminuée à au moins une FQ (IIR, ISS, III, RSS, SSI).

La fréquence globale des gènes *qnr* était de 13,15% (5/38). Les gènes *qnr*B et *qnr*S ont été retrouvés dans respectivement 10,52% (4/38) et 2,63% (1/38) des cas. La répartition de ces gènes était de 12,5% (3/24) chez *K. pneumoniae* et 28,57% (2/7) chez *E. coli*.

Parmi les 4 souches possédant le gène *qnr*B, une souche était sensible sur l'antibiogramme (SSS), la deuxième souche était résistante (RRR) et les deux autres présentaient des phénotypes intermédiaires (IIR et ISS respectivement). La souche portant le gène *qnr*S était de phénotype RRR.

Conclusion : L'acquisition des gènes *qnr*B et *qnr*S chez *K. pneumoniae* et *E. coli* BLSE, isolées de patients neutropéniques, serait à surveiller vu leur déterminisme plasmidique.

345/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Activité *in vitro* de la tigécycline vis-à vis des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3e génération, d'*Acinetobacter baumannii* et des *Bacteroides* du groupe *fragilis* : expérience au CHRU de Montpellier

S. Godreuil[3-1], M.N. Rousseau-Didelot[3], B. Compan[3], H. Darbas[3], H. Marchandin[3-2], M. Brun[3], C. Carriere[3], H. Jean-Pierre[3-2]

[1]GEMI, UMR CNRS-IRD 2724, Centre IRD de Montpellier [2]Faculté de Pharmacie, Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Université Montpellier 1, EA3755 [3]Laboratoire de Bactériologie, hôpital Arnaud de Villeneuve, Université Montpellier 1, EA4205, Montpellier, France

Objectif : La tigécycline (TGC), première glycylcycline, possède une activité antibactérienne vis-à-vis des bactéries aéro-anaérobies et anaérobies strictes à Gram négatif et positif y compris certaines espèces multirésistantes. Notre laboratoire teste en routine l'activité *in vitro* de la TGC vis-à-vis d'isolats cliniquement significatifs d'entérobactéries résistantes aux C3G (EC3R), d' *Acinetobacter baumannii* (sensibles et résistants à la ticarcilline) et de *Bacteroides* du groupe *fragilis* (BGFR). Nous rapportons les résultats obtenus durant 1,5 an.

Méthodes : Entre janvier 2008 et juillet 2009, 332 isolats d'EC3R (188 souches productrices de BLSE et 144 hyperproductrices de céphalosporinase), 28 isolats d'*A. baumannii* (dont 21 multirésistants) et 260 isolats de BGFR ont été testés. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées par la méthode E-test et interprétées selon les recommandations du CA-SFM.

Résultats : L'activité de la TGC sur les isolats étudiés est présentée dans le tableau ci-dessous.

	CMI de tigécycline (µg/ml)			
Bactéries (n=620)	% sensibilité	CMI50	CMI90	Extrême
Citrobacter spp. (n=14)	84,6	0,5	2	0,25-2
Enterobacter (n=128)	74,2	1	4	0,25-4
E.aerogenes (n=54)	70,4	1	2	0,5-4
E.cloacae (n=74)	78,4	1	4	0,25-4
E. coli (n=162)	96,3*	0,25	1	0,06-4
H. alvei (n=5)	100	0,5	1	0,25-1
Klebsiella spp. (n=14)	42,85	1	4	0,25-8
P. mirabilis (n=3)	0	8	16	4-16
M. morganii (n=4)	0	4	16	2-16
BGFR (n=260)	90	0,5	4	0,03-32
A. baumannii (n=28)		2	16	0,12-32
Ticar S (n=7)	ND**	0,5	2	0,25-2
Ticar R (n=21)		4	16	0,12-32

* : les 2 isolats dont la CMI est de 4 µg/ml sont hyperproducteurs de céphalosporinase

** : l'absence de concentrations critiques ne permet pas de déterminer le pourcentage de sensibilité : 50% des souches ont une CMI £2 µg/ml

Conclusion : La tigécycline est active *in vitro* vis-à-vis des *E. coli* multirésistants, mais son activité n'est pas constante sur les autres entérobactéries, en particulier *Klebsiella spp.* et *Enterobacter spp.*. Les résultats obtenus pour les 28 *A. baumannii* sont très variables, justifiant de dèterminer la CMI de la TGC pour les souches totorésistantes. Enfin, 10% des souches de BGFR ont une CMI > 4 µg/ml, résistance dont on ignore les conséquences cliniques dans les infections intra-abdominales, une des indications de la tigécycline.

346/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison de l'activité du doripénème, imipénème et méropénème sur 145 souches de *Pseudomonas aeruginosa*

J. Caillon[2-1], A. Maitte[1], C. Bretonnière[2], D. Boutoille[2]

[1]Bactériologie, CHU de Nantes [2]UPRES EA 3826, Université Nantes Atlantique, Nantes, France

P. aeruginosa est une des bactéries pathogènes les plus fréquemment responsables de pneumopathies acquises sous ventilation mécanique et elle

est particulièrement impliquée dans les infections respiratoires des patients souffrant de mucoviscidose. La gravité des infections à *Pseudomonas aeruginosa* est liée en grande partie à sa capacité de cumuler de multiples mécanismes de résistance aux antibiotiques : le clinicien dispose donc d'un arsenal thérapeutique limité pour lutter contre ces infections. Le doripénème, nouveau carbapénème, a obtenu une AMM européenne en juillet 2008 pour les infections de pneumonies nosocomiales.

L'objectif : de ce travail est de comparer l'activité du doripénème (DP) à l'imipénème (IMP) et méropénème (MEM) sur 145 souches de *P.aeruginosa*.

Méthodes : Les CMI ont été déterminées par la méthode de dilution en milieu gélosé. Les souches ont été classées en sensibles, intermédiaires et résistantes selon les recommandations du CASFM 2009

Résultats : 80 souches sensibles à IMP (CMI<4 mg/L) étaient également toutes sensibles au doripénème. 5 souches étaient intermédiaires au méropénème. Les CMI du DP étaient plus basses que celles de IMP. Plus de 65% des souches avaient une CMI ≤ 0.5 mg/L. Parmi les 50 souches résistantes à IMP, 29 étaient résistantes à DP, 20 étaient intermédiaires et 1 seule souche était sensible avec une CMI = 1 mg/L. Et les 15 souches intermédiaires à IMP (CMI entre 4-8 mg/L) étaient aussi intermédiaires au DP et MEM (CMI=4mg/L).

Conclusion : Le doripénème présente une bonne activité sur *P.aeruginosa* avec des CMI basses sur les souches de sensibles à l'imipénème. Mais dès que les souches sont résistantes à l'imipénème, elles le sont aussi au doripénème.

347/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

In vitro activity of meropenem, colistin and tigecycline against _Achromobacter xylosoxidans_ isolated from cystic fibrosis (CF) patients

J. Caillon[2-3], V. Le Mabecque[3], J. Carrere[1], M.P. Pelletier[4], E. Batard[3], C. Jacqueline[3]
[1]CRCM Giens, Giens, Hyères [2]CRCM-CHU de Nantes [3]UPRES EA 3826, Université de Nantes, Nantes [4]CRCM Roscoff, Roscoff, France

Background: Increasing incidences of some uncommon respiratory pathogens, such as Achromobacter xylosoxidans were observed in the patients with cystic fibrosis. These bacteria showed high rates of antimicrobial resistance to aminoglycosides, ciprofloxacin, ticarcillin and cephalosporins. And they were sometimes susceptible to some antibiotics (imipenem and piperacillin/tazobactam). The aim of this study was to determine the *in vitro* activity of meropenem (MEM), colistin (CS) and tigecycline (TGC) against *A.xylosoxidans* strains isolated from CF sputum.

Methods: We collected 50 non-duplicate *A.xylosoxidans* (AX) isolates These strains originated from three CF centers (Nantes, Roscoff and Giens). Minimum inhibitory concentrations (MICs) to MEM, CS and TGC were determined by using Etest method.

Results: The MIC ranges for MEM and CS were 0.125 to > 32 µg/ml. For TGC the ranges were 0.19 to 4 µg/ml. Susceptibility rate to MEM were only 52 % with MIC ≤2 µg/ml. 44% of AX were resistant to MEM with MIC > 32 µg/ml. For CS 28% were resistant with MIC > 256 µg/ml. For TGC, 28 strains (56%) were inhibited at 1µg/ml. 18 AX were inhibited at 2 µg/ml and for 4 (8%) strains MIC were > 4 µg/ml. The highest MICs of TGC were 4mg/l. If we take into account the critical concentration of 2 mg / l, 92% of AX were susceptible to TGC.

Conclusions: *A.xylosoxidans* isolated from sputum of cystic fibrosis patients exhibited a high level of resistance to meropenem. *A.xylosoxidans* were more and more resistant to colistin after using aerosolized colistin solution. Tigecycline demonstrated a relative good activity against. Therefore, it seems to be a promising drug for the treatment of infections caused by this pathogen. The combinations must be studied in order to prevent the resistance.

348/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Étude comparative de la sensibilité au doripénème (DOR), à l'imipénème (IPM) et au méropénème (MEM) de souches de _Pseudomonas aeruginosa_ collectées chez des patients souffrants de pneumonie nosocomiale dans 5 hôpitaux belges (2004-2008)

M. Riou[1], F. Van Bambeke[1], P. Tulkens[1], J. Broughall[2]
[1]Unité de pharmacologie cellulaire et moléculaire, Université catholique de Louvain, Bruxelles, Belgique [2]Janssen-Cilag Ltd, High Wycombe, Royaume-Uni

Introduction : La résistance aux carbapenèmes (CP) utilisés en milieu hospitalier est en augmentation constante, y compris vis-à-vis de *P. aeruginosa* (P.a.), un des principaux agents responsables d'infections nosocomiales. Le DOR est un nouveau CP introduit récemment en Europe. Ce travail a pour objectif de faire une comparaison entre DOR, IPM et MEM sur une collection de P.a. provenant des 5 hôpitaux belges.

Matériel et Méthodes : (i) détermination des CMI de 137 souches de P.a. (suivant les normes CLSI) provenant de patients souffrant de pneumonie nosocomiale (confirmée par analyse des données cliniques) et hospitalisés aux Services des soins intensifs des hôpitaux collaborant à l'étude; (ii) évaluation de la sensibilité et attribution du caractère S (sensible), I (intermédiaire, ce qui, pour l'EUCAST, implique une posologie élevée), ou R (résistant) sur base des concentrations critiques de l'EUCAST ou du CLSI (FDA pour le DOR).

Résultats : Une analyse directe des résultats (distribution des effectifs cumulés des CMIs pour DOR, MEM et IPM) montre une séquence DOR > MEM > IPM pour les CMI_{50} et DOR > MEM = IPM pour les CMI_{90} (différence moyenne: une dilution). Sur base des concentrations critiques et dans l'ordre DOR - MEM - IPM, les isolats sont

- selon l' EUCAST: "**S**" à 65, 66 et 68 %, "**I**" à 17, 12 et 9 % et "**R**" à 18, 22 et 22 %:

- selon le CLSI/FDA, "**S**" à 76, 75 et 69 %, "**I**" à 2 (MEM) et 9 % (IPM) [pas de catégorie "**I**" pour DOR selon la FDA], et "**R**" à 24, 23 et 22 % (toutes les valeurs sont arrondies à l'unité).

Une analyse isolat par isolat montre que 20 % d'isolats MEM "R" sont DOR "**I**", et 30 % de MEM "I" sont DOR "**S**" (résultats similaires pour une analyse IMP *vs*. DOR).

Conclusion : Dans cette collection où la résistance aux CP est élevée, le DOR montre des valeurs de CMIs constamment plus basses par rapport au MEM et à l'IPM. Tenant compte des concentrations critiques, la différence entre ces 3 antibiotiques apparaît minime, mais pourrait être fortement influencée par l'épidémiologie locale et concerner un nombre limité mais significatif d'isolats. Une surveillance au niveau de chaque hôpital ou service est donc souhaitable pour le choix rationnel de l'un ou l'autre de ces carbapenèmes.

349/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Antianaerobic activity of doripenem against anaerobic bacteria

L.J. Dubreuil[5], S. Mahieux[5], C. Muller-Serieys[4], H. Jean-Pierre[3], H. Marchandin[3], C.J. Soussy[1], A. Miara[2]
[1]Henri-Mondor Hospital, Créteil [2]Janssen-Cilag, Issy-Les Moulineaux [3]CHU, Montpellier [4]Bichat hospital, Paris [5]Hospital, Tourcoing, France

Background: This study examines the antianaerobic activity of Doripenem (DOR) a new carbapenem compound compared with amoxicillin-clavulanic acid (AMC), piperacillin + tazobactam (PTZ), imipenem (IMP) clindamycin (CLN) and metronidazole (MTR) against 316 anaerobes.

Methods: Inoculum preparation and agar dilution method were performed according to the CLSI method for anaerobes (M11A7).

Results: MIC_{50}s and MIC_{90}s (µg/ml) are listed in table I

Drug	B.fragilis Group (127)	Prev/Por/ Fusob (42)	C. perf (25)	C. difficile (41)	Anaer G + Cocci (51)	All G+ Anaer (145)	All strains (316)
AMC	0.5/32	0.125/4	≤0.06/0.5	1/2	0.06/0.25	0.125/1	0.25/4
PIP+TAZ	0.5/4	0.5/4	≤0.06/2	16/32	0.06/0.5	0.25/16	0.5/16
DOR	0.5/2	0.125/0.5	≤0.03/0.25	2/2	≤0.03/0.25	0.125/2	0.25/2
IMP	0.25/2	0.125/0.5	0.125/0.5	8/8	≤0.03/0.25	0.125/8	0.125/4
CLN	0.5/>64	0.06/16	≤0.06/2	8/64	0.125/2	0.5/16	0.5/>64
MTR	1/2	0.5/2	0.5/1	0.25/0.5	0.5/2	0.5/8	0.5/2

At a concentration of 4 µg/ml DOR and IMP inhibited 122 (96%) and 126 (99%) strains of the *B. fragilis* group, respectively. In contrast, DOR appeared more potent than IMP against gram-positive anaerobes inhibiting at the same concentration of 4 µg/ml 145/145 strains (100%) vs. 115/145 for IMP (79,3%). Against 316 anaerobe strains, the investigational carbapenem DOR had an MIC_{50} of 0.25 µg/ml and an MIC_{90} of 2 µg/ml. Results were similar to those for IMP (MIC_{50} of 0.125 µg/ml and MIC_{90} of 4 µg/ml). If we consider the resistant breakpoints of the two carbapenems as defined by EUCAST, the resistance rate for DOR (MIC > 4 µg/ml) 1.6% is similar to that of IMP (MIC > 8 µg/ml) 1.3%.

Conclusions: Thus independently of the PK/PD parameters, two of the carbapenems studied: DOR and IMP demonstrated very closed activity ; DOR was more potent on gram-positive anaerobes slightly less potent against gram-negative anaerobes mainly the *B. fragilis* group. Further clinical studies are needed to assess its applicability in patients.

350/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

FIC index determination of CXA-101 (CXA)/tazobactam (TAZ) in combination with amikacin (AMK), aztreonam (ATM), meropenem (MEM), levofloxacin (LVX), and tigecycline (TGC) against _Escherichia coli_ (EC), _Klebsiella pneumoniae_ (KP), and _Pseudomonas aeruginosa_ (PA) strains

C. Jacqueline[2], C. Desessard[2], Y. Ge[1], G. Potel[2], J. Caillon[2]
[1]Calixa Therapeutics Inc., San Diego, Etats-Unis [2]UPRES EA 3826, Nantes, France

Background: CXA is a novel parenteral cephalosporin with potent *in vitro* activity against EC and KP (including extended-spectrum â-lactamase (ESBL)-producer) as well as PA (including multi-resistant strains). The aim of this work was to evaluate the *in vitro* activity of CXA/TAZ in combination with AMK, ATM, MEM, LVX, and TGC against EC, KP, and PA strains.

Methods: 4 EC (2 ESBL+), 4 KP (2 ESBL+), and 6 PA strains (exhibiting different resistance phenotypes to ceftazidime (CAZ) and imipenem (IMP)) were studied. CXA and partner drugs were studied from 1/8xMIC to 8xMIC and dispensed in a checkerboard fashion. TAZ was used at a fixed concentration of 4 mg/L. Readings were performed and the FIC index was determined for each combination and each strain.

Results:

Bacterial strains			CXA/TAZ MIC (mg/L)	FIC index ATM	MEM	AMK	LVX	TGC
EC	ESBL -	1	0.25	1.0 / AD	0.75 / AD	1.25 / I	0.75 / AD	0.75 / AD
		2	0.25	0.75 / AD	0.75 / AD	0.75 / AD	1.0 / AD	0.75 / AD
	ESBL +	3	0.25	<0.5 / S	0.62 / AD	0.62 / AD	1.0 / AD	1.0 / AD
		4	1	<0.5 / S	0.75 / AD	0.5 / S	1.0 / AD	0.52 / AD
KP	ESBL -	5	0.25	0.62 / AD	1.0 / AD	0.75 / AD	0.75 / AD	0.62 / AD
		6	0.25	0.75 / AD	0.75 / AD	0.62 / AD	1.12 / I	0.5 / S
	ESBL +	7	0.5	<0.5 / S	0.32 / S	0.28 / S	0.75 / AD	0.53 / AD
		8	1	<0.5 / S	0.37 / S	0.75 / AD	0.56 / AD	0.75 / AD
PA	CAZ-S	9	0.25	0.53 / AD	1.0 / AD	0.32 / S	0.75 / AD	1.0 / AD
		10	0.5	0.75 / AD	0.62 / AD	0.5 / S	0.75 / AD	1.0 / AD
	CAZ-R	11	2	1.0 / AD	0.75 / AD	0.56 / AD	0.5 / S	0.37 / S
		12	2	0.75 / AD	1.0 / AD	1.0 / AD	0.62 / AD	0.5 / S
	IMP-R	13	0.5	1.0 / AD	0.56 / AD	1.0 / AD	1.0 / AD	1.0 / AD
		14	0.5	0.62 / AD	0.62 / AD	0.62 / AD	0.62 / AD	0.31 / S

S: synergism; AD: additivity; I: indifference.

Conclusions: (1) No antagonism was detected with CXA/TAZ in combination with AMK, ATM, MEM, LVX, and TGC. (2) Additivity was the main interaction observed between CXA/TAZ and studied partner drugs. (3) Synergy was observed with the addition of ATM to CXA/TAZ against ESBL-producing strains due to the inhibition of ESBL by the â-lactamase inhibitor. (4) MEM combined with CXA exhibited a synergistic interaction against ESBL+ KP strains. (5) The combination of CXA/TAZ with TGC appears to be synergistic against 3 PA strains, including CAZ-R isolates. Further studies are needed to explore these positive interactions between CXA/TAZ and partner drugs.

351/73A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Étude de la sensibilité de bactéries isolées d'infections hospitalières vis-a-vis des composés JCA 250 et JCA 251 issus de la recherche Aromatechnologies

M. Kempf[1], F. Kowalczyk[1], E. Rossines[2], G. Panhelleux[2], M.L. Joly-Guillou[1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU d'Angers, Angers [2]Aromatechnologies, Romorantin Lanthenay, France

Objectif : il a été de déterminer le spectre antibactérien de JCA250 et JCA251, deux composés d'origine naturelle issus de la recherche AROMATECHNOLOGIES, sur une population bactérienne représentant des espèces issues d'isolats cliniques.

Méthode : 235 souches bactériennes ont été testées dont 41 entérobactéries, 33 aérobies stricts, 43 bacilles à Gram négatif à croissance lente, 12 *Campylobacter,* 59 Cocci à Gram positif, 27 bacilles à Gram positif, et 20 anaérobies stricts. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des composés JCA250 et JCA251 ont été déterminées par la méthode de référence en milieu gélosé selon les recommandations du Comité Français de l'Antibiogramme (CA-SFM). Les tests ont été réalisés en triple.

Résultats : La valeur moyenne des CMI était de 0,159% ± 0,01 pour JCA250 et de 0,116% ± 0,01 pour JCA251. JCA251 présentait régulièrement une meilleure activité quelle que soit l'espèce bactérienne. Toutes les entérobactéries ont été inhibées à des concentrations inférieures ou égales à 0,15% pour JCA250 ou 251. Pour les aérobies stricts, les valeurs des CMI ont été plus étalées. Deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* se distinguaient de la population avec des CMI de JCA251 de 0,25% et 0,30%. Dans la population de Cocci à Gram positif, les souches bactériennes étaient toutes inhibées par des concentrations de produit ≤ 0,25%. La population la plus résistante était la population d'entérocoques, qui présentait des CMI proches de 0,20%. Les anaérobies présentaient des CMI très groupées pour un groupe bactérien hétérogène, à 0,15% pour JCA251 et à 0,20% pour JCA250. Une souche de *Propionibacterium acnes* se détachait du groupe et était inhibée à des concentrations supérieures à 0,5%. Les valeurs des CMI obtenues étaient indépendantes des phénotypes de résistance aux antibiotiques des différentes souches bactériennes.

Conclusion : L'ensemble des résultats a montré une activité antibactérienne de ces substances à des concentrations faibles sur les bactéries isolées de prélèvements cliniques. La moindre sensibilité des souches commensales comme les lactobacilles a révélé un aspect particulièrement intéressant à exploiter dans cette étude, dont l'objectif est d'orienter la recherche vers de nouvelles thérapeutiques.

352/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Performance of flow-cytometry to quantify microorganisms and cells for UTI diagnosis

N. Blondiaux[1], A. Aubry[3], O. Baron[5], R. Courcol[1], V. Jarlier[4], N. Marty[5], M.H. Nicolas-Chanoine[3], H. Aldebert[2]
[1]Pôle de Microbiologie, CHU de Lille, Lille [2]Biomérieux, Marcy l'Etoile [3]Laboratoire de Bactériologie, CHU Beaujon [4]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Pitié-Salpêtrière, Paris [5]Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU de Toulouse, Toulouse, France

Background: Bacterial and cell counts are required to confirm urinary tract infection (UTI). Beside the reference method using hemocytometer chamber, flow-cytometry systems are recently available to quantify bacteria, yeasts and cells in uncentrifuged urine. Performance of such a system, the UF-1000i (bioMérieux, France), was evaluated within four hospitals.

Methods: 985 urine samples collected from patients with signs of UTI were analyzed. Parameters evaluated were the counts of bacteria, yeasts, leukocytes and red blood cells. Clinical data and antimicrobial treatments were also recorded. Urines samples were seeded onto CPS chromogenic medium (bioMérieux) using the quantitative streaking method. Results of the microscopic reference method and culture were compared with those obtained with the UF-1000i. For cultures, the criterion for defining significant bacteriuria or funguria was the presence of $\geq 10^5$ CFU/ml of urine.

Results: There were good correlations between hemocytometer chamber and UF-1000i data for bacteria, yeasts, leukocytes, red blood cells as well as between bacterial counts determined by the UF-1000i and quantitative culture results ($P < 0.05$). Cultures were positive in 18.4 %. Compared to culture results, sensitivity and specificity of the UF-1000i for bacterial counting were equal to 92 % and 80 %, respectively. For fungal cultures, sensitivity and specificity were 48 % and 92 %, respectively.

Conclusion: Counting of bacteria, yeasts and urine cells by the UF-1000i were correlated with the microscopic reference method and urine culture results. Implementing such a system is a technical advance at a time when many laboratories are being restructured and are confronted to drastic savings. The system allows to enhance the whole organization of the laboratory. Technical staff is deployed to other tasks with higher added value.

353/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation des performances analytiques de l'automate urinaire IQ200® Elite (Iris Diagnostics)

D. Harrois, G. Dewulf, E. Mazars, C. Cattoen, F. Canis
Laboratoire de microbiologie, CH de Valenciennes, Valenciennes, France

Objectifs : Analyser les performances analytiques de l'automate urinaire IQ200® Elite en vue d'une validation des méthodes selon la norme ISO 15189. Cette évaluation a été réalisée sur des échantillons patients, en comparaison avec le protocole proposé par le fabricant (kit iQ®Precision) selon les recommandations du guide de validation des méthodes semi quantitatives (Document LAB GTA 04 du COFRAC).

Méthode : La répétabilité a été étudiée sur les leucocytes (GB) et les hématies (GR) en utilisant 3 niveaux d'échantillons patients passés successivement 15 fois. La reproductibilité a été réalisée par passage du contrôle positif interne (CQI) pendant 15 jours, 2 fois par jour. La contamination inter-échantillon a été déterminée par le passage de 3 échantillons de valeur haute en GR et GB suivis de 3 blancs échantillons. La linéarité a été testée sur des échantillons patients pour les GB et les GR. L'ensemble de ces résultats a été comparé à ceux obtenus avec le kit iQ®Precision, analysant un décompte de particules.

Résultats : Le tableau présente les tests de répétabilité (CV=coefficient de variation)

	Echantillons patients GR (nb/µl)		Echantillons patients GB (nb/µL)		Kit iQ®Precision Particules (nb/µL)	
	Valeur	CV (%)	Valeur	CV (%)	Valeur	CV (%)
Bas	14,4 (± 3,8)	26,48	11,1 (± 2)	17,9	NR	NR
Moyen	91,1 (± 7,6)	8,33	121,8 (± 7,8)	6,41	514 (± 19,3)	4,6
Haut	230,7 (± 22,6)	9,78	824,9 (± 83,8)	10,16	950 (± 25,8)	3,3

L'essai de reproductibilité ne montre pas de différence significative entre le CQI passé le matin (CV=4,4%) et l'après midi (CV=4,6%). La contamination inter-échantillon apparaît très faible avec un pourcentage de 0,11% pour les GR, 0,21 % pour les GB et de 0,3% pour les particules.

La linéarité est conservée jusque 903 GR/µL (R^2= 0,99), 1029 GB/µL (R^2= 0,98). Le kit du fabricant montre une linéarité de 984 particules/µL (R^2=0,99).

Conclusion : Le kit iQ®Précision fournit par le fabricant est une alternative rapide et simple pour répondre aux exigences de la norme mais ce protocole utilise uniquement le décompte de particules qui n'est pas le reflet exact d'une utilisation en routine.

354/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison de trois automates de cytologie urinaire au sein d'un laboratoire de bactériologie : évaluation des caractéristiques analytiques et de la capacité à détecter une infection urinaire

O. Dauwalder, A.M. Freydiere, D. Fournier, L. Selman, J. Corbasson, T. Pierre, P. Girardo, J. Etienne, G. Lina, F. Vandenesch
Laboratoire de bactériologie – Institut de microbiologie – Centre de Biologie et Pathologie Est – Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon-Bron, France

Objectifs : Comparaison de trois automates de cytologie urinaire : évaluation des caractéristiques analytiques ; des capacités de détection d'une leucocyturie (**LEU**), d'une hématurie (**HEM**), d'une bactériurie (**BAC**), de diagnostic d'une infection urinaire (**IU**) ; et de la praticabilité.

Matériels et Méthodes : 290 urines (**CBU**) ont été analysées simultanément sur 3 automates : UF1000i (bioMérieux) (**UF**), IRIS iQ 200 Elite (IRIS Diagnostic) (**IRI**) et URISED (I2A) (**URI**). En parallèle, les CBU ont été traitées selon les recommandations du REMIC par 2 personnes indépendantes, avec numération microscopique des leucocytes (**GB**) et des hématies (**GR**) réalisée, examen direct après coloration de Gram (**ED**) et culture (**CULT**). La capacité de diagnostic d'une **IU** a été évaluée en associant la **LEU** et la **BAC** en comparaison à la numération des GB et la combinaison **ED** + **CULT**.

Résultats : Au plan analytique, les corrélations des numérations des **LEU** et **HEM** par rapport à la microscopie figurent dans le tableau suivant.

Eléments	UF	IRI	URI
LEU	0,93	0,94	0,84
HEM	0,75	0,72	0,74

Les capacités des automates à détecter une **LEU** (>10/µL), une hématurie (**HEM**) (>10/µL) et une **BAC** (>10^3 bactéries en **CULT**) sont données dans le tableau suivant.

LEU	Se (%)	Sp (%)	VPP (%)	VPN (%)
UF *(seuil 10/µL)*	94,4	79,1	88,1	89,6
IRI *(seuil 10/µL)*	95	69	89,4	83,4
URI *(seuil 10/µL)*	88,3	88,2	92,4	82,2
HEM				
UF *(seuil 25/µL)*	53,7	93,2	94,8	52,8
IRI *(seuil 10/µL)*	74,6	70,7	85,2	55,2
URI *(seuil 10/µL)*	57,7	92,1	94,3	49,1
BAC				
ED *(+ si rare)*	85,7	87,2	83,7	88,8
UF *(seuil 50/µL)*	82,8	90,9	86,3	86,3
IRI *(Alarme Bact + et/ou petites particules≥5000/µL)*	79,5	70,7	66,9	80
URI *(seuil 75/µL)*	78,7	57,8	57,1	77,9

La cohérence de l'association des résultats (**LEU**+**BAC**) par rapport aux résultats de la numération microscopique des **GB**, de l'**ED** et/ou de la **CULT** a été déterminée montrant 73% de résultats concordant pour l'**UF** *versus* 61% pour l'**IRI** et l'**URI**. Au plan de la praticabilité, une dilution fut requise dans 1%, 5% et 12,4% des cas pour l'**UF**, l'**IRI** et l'**URI**. L'**UF** nécessita un contrôle microscopique dans 13% des cas et l'**IRI** une reclassification manuelle dans 22% des cas.

Conclusions : Au plan analytique, les 3 automates apparaissent de performances proches. L'**UF** montre une capacité de diagnostic d'une **IU** légèrement supérieure à l'**IRI** et l'**URI** qui sont équivalents.

355/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Routine evaluation of an automated streaking system: the Previ-Isola

K. Despretz, S. Lepoutre, L. Lerat, V. Montois, R. Courcol
Pôle de Microbiologie, CHU Lille, Lille, France

Objective: Proper inoculation of bacterial media is a crucial step in the processing of samples for diagnostic microbiology. So far, automation in microbiology was limited to instruments used for blood cultures, microorganism identification and antimicrobial susceptibility testing. Now, there are few automated systems allowing inoculation of culture media. This study evaluates the performance of such a system in routine laboratory, the PREVI™ Isola (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

Methods: PREVI™ Isola is an automated streaking system inoculating onto media selected according to the kind of sample. It lays down a radial inoculum onto the Petri dish and performs circular streaking with a single-use plastic applicator. The automatic streaking was compared to manual streaking for the following specimen: urines, vaginal secretions, stools, catheter, sputum and bronchoalveolar lavages. The comparison criteria were the ability to yield isolated colonies (sensitivity and reproducibility), the easiness of the reading and cross contamination. For samples requiring quantification, such as urine, Petri dish was divided in 7 quadrants. Time saving between both methods was also evaluated.

Results: Sensitivity, reproducibility and easiness of the reading for both methods were equivalent from 10^2 CFU/ml to 10^5 CFU/ml. Automated streaking was better than manual for bacterial counts equal or greater than10^6 CFU/ml. For instance, at 10^8 CFU/ml, 55 colonies were readily isolated with PREVI Isola instead of 30 with manual method. This advantage has an interest in achieving susceptibility testing requiring enough colonies. No cross contamination was observed. Besides the quality of the streaking, the other advantage of the system was its integration in the laboratory workflow. The system allows to enhance the whole organization of the laboratory.

Conclusion: The PREVI Isola system provided a regular and homogeneous streaking equivalent to the manual method. It is a technical advance occurring at a time when many laboratories are being restructured and are confronted to drastic savings. This might the redeployment of technical staff to other tasks with higher added value.

356/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Peut-on standardiser l'ensemencement en bactériologie ? A propos de l'automate PREVI™ Isola (bioMerieux®)

J.M. Rousée, C. Rieder-Monch, T. Gueudet
Microbiologie, Laboratoire Schuh Bio 67, Strasbourg, France

Objet de l'étude : Le PREVI™ Isola (bioMerieux®) est un nouveau système d'ensemencement automatisé de boîtes de Pétri à partir de prélèvements microbiologiques afin d'en réaliser la culture. Cette étude a pour but d'évaluer cet automate lors de sa phase d'installation et au cours de son utilisation au quotidien au sein de notre laboratoire.

Méthodes : Lors de la phase de validation de l'automate, nous avons réalisé un ensemencement en parallèle par l'automate et manuellement des différentes catégories de prélèvements (ECBU, vagins, ORL et selles).

Nous avons ensuite effectué un suivi de l'automate pendant plusieurs mois afin d'apprécier ses performances et sa praticabilité au quotidien.

Résultats obtenus : Pour l'ensemble des catégories de prélèvements testées, le dénombrement des colonies après culture est comparable entre les deux méthodes d'ensemencement. La répartition des diverses espèces bactériennes au sein d'une flore est similaire. Par contre, la qualité d'isolement des colonies après ensemencement par le PREVI™ Isola est supérieure, assurant ainsi, un meilleur confort de lecture des géloses et une diminution du nombre de ré-isolements nécessaires à la poursuite des analyses. La standardisation de l'ensemencement des géloses obtenue grâce au PREVI™ Isola est très appréciable, notamment pour la lecture quantitative des ECBU.

Conclusion : La période d'utilisation de quelques mois de l'automate et son caractère novateur ne nous permettent pas encore d'apprécier complètement sa robustesse. Par contre, l'intégration de l'automate dans une véritable chaîne analytique nous a permis un gain de temps technicien important. La standardisation de l'ensemencement et la qualité d'isolement des colonies sont deux améliorations apportées par l'automate.

Des améliorations sont encore en attente concernant notamment le logiciel de gestion de l'automate (modification des panels de boite, possibilité de passer plusieurs fois un même échantillon).

Au final, le PREVI™ Isola nous a apporté un gain de temps technicien, une meilleure standardisation et une amélioration de la qualité de nos isolements.

357/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation du nouveau milieu chromogène chrom-ID pour l'identification directe de *Pseudomonas aeruginosa* dans les expectorations des patients atteints de mucoviscidose

D. Fournier, C. Bailly, D. Hocquet, K. Jeannot, P. Plésiat
Laboratoire de Bactériologie, CHU de Besançon, Besançon, France

Objectif : Évaluer et comparer le nouveau milieu chromogène chromID P. aeruginosa (bioMérieux) au milieu cétrimide (Bio-Rad) pour la détection de *Pseudomonas aeruginosa* (PA) dans les expectorations des patients atteints de mucoviscidose.

Méthodes : Quatre-vingt-dix expectorations ont été analysées (61 patients). Les 2 milieux, ensemencés en parallèle, ont été incubés à 37°C et examinés tous les jours pendant 5 jours. Toutes les colonies de bacilles à Gram négatif, oxydase positive, ont été identifiées à l'aide de galeries d'identification biochimique (API-32GN, bioMérieux) ou par séquençage du gène *oprL* et de l'ARN 16S.

Résultats : Après 5 jours d'incubation, respectivement 32 et 31 prélèvements étaient positifs à PA sur chromID et cétrimide (34 prélèvements étaient positifs sur au moins un des milieux). Sur le milieu chromID, un plus grand nombre de morphotypes de PA a été observé et la production d'alginate par les souches muqueuses est apparue atténuée. A l'exception de 2 souches sur chromID et d'une souche sur cétrimide, toutes les colonies de PA ont produit une coloration caractéristique. La sensibilité de coloration était optimale après 3 à 4 jours d'incubation, ceci quel que soit le milieu. Le milieu chromID est apparu un peu moins sélectif que le milieu cétrimide. Exceptée une souche de *Achromobacter xylosoxidans*, la flore annexe n'a pas produit de pigmentation caractéristique sur chromID et n'a pas perturbé la détection de PA.

Conclusion : Les résultats de cette étude montrent que le milieu chromID est comparable au milieu cétrimide en termes de fertilité, sensibilité et spécificité. Ainsi, ce milieu est adapté pour l'isolement et l'identification directe de PA dans les expectorations de patients atteints de mucoviscidose. Par ailleurs, le fait que ce nouveau milieu induise la production d'un plus grand nombre de morphotypes est une observation intéressante et pourrait permettre la détection de sous populations résistantes de PA. Une étude pourrait être menée ultérieurement afin de confirmer cette observation.

358/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Utilisation de la sonication à faible énergie pour comparer des comptes bactériens chez des souches de *Enterococcus faecalis* formant des chaînes de longueur différente

V. Dubée, F. Chau, B. Fantin, A. Lefort
EA 3964, Université Paris VII, Paris, France

Objet : Deux souches bactériennes formant des chaînes de longueur différente ne peuvent être comparées par la technique de numération par étalement sur milieu gélosé : par cette approche, une cellule isolée et une chaîne constituée d'un grand nombre de cellules forment une seule colonie. Afin de comparer les comptes bactériens chez des souches de *E. faecalis* formant des chaînes de longueur différente, nous avons développé une procédure de sonication vis-à-vis de *E. faecalis* JH2-2 et de son mutant délété dans les gènes codant pour les autolysines AtlA, AtlB et AtlC (Δ*ABC*) formant de longues chaînes.

Méthodes : Des cultures de JH2-2 et de Δ*ABC* en phase exponentielle (PE) et stationnaire (PS) de croissance ont été soumises à une sonication (S) à 8 W pendant 20 secondes. La taille des éléments bactériens a été évaluée avant et après S par microscopie optique et cytométrie de flux (CMF). La viabilité des bactéries a été évaluée par culture sur milieu gélosé. Une perméabilisation membranaire induite par la S a été recherchée par microscopie confocale et CMF après marquage par le kit Live/Dead *Bac*light. Un effet bactériolytique a

été recherché par spectrophotométrie et cytométrie capillaire.

Résultats : Avant S, la proportion (%) d'éléments de petite taille (diplocoques), moyenne taille (chaînes de 3 à 6 éléments) et grande taille (chaînes de plus de 6 éléments) est respectivement de 90 ±9, 9±7 et 1±2 chez JH2-2, contre 19±4, 23±7 et 58±11 chez Δ*ABC*. Après S, elle est de 95±2, 5±2 et 0±0 chez JH2-2, contre 89±9, 10±8 et 1±1 chez Δ*ABC*. La taille moyenne, évaluée par CMF, avant et après S est respectivement de 5,6±0,5 et 4,4±0,5 pour JH2-2, contre 36±4 et 5,9±0,6 pour Δ*ABC*. Le nombre moyen de CFU (log_{10}/ml) avant et après S est respectivement de 6,3±0,1 et 6,5±0,1 en PE, 9,3±0,2 et 9,2±0,3 en PS chez JH2-2, contre 5,6±0,1 et 6,3±0,2 en PE, et 8,4±0,2 et 9,4±0,1 en PS chez Δ*ABC*. La S n'entraîne pas de perméabilisation membranaire ni de bactériolyse détectable.

Conclusions : La S à faible énergie est une procédure simple, efficace et sans effet bactéricide ou bactériolytique, qui permet de séparer les bactéries regroupées au sein de chaînes et de comparer les comptes bactériens de souches formant des chaînes de longueur différente.

359/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation du nouvel automate WalkAway® *plus* (Siemens) pour l'identification et l'antibiogramme des bacilles à Gram négatif (BGN) isolés en routine

L. Armand-Lefèvre, C. Moreau, M. Perrot, A. Andremont, C. Muller-Serieys
Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

Le WalkAway® ***plus*** est un système automatisé d'identification bactérienne et d'antibiogramme en milieu liquide.

Objectif : Évaluer les performances du système WalkAway® ***plus*** pour l'identification et l'antibiogramme des Entérobactéries (Eb) et BGN non fermentaires (Nf) isolés en routine.

Méthodes : Les plaques MicroScan® Neg Fermenteur Combo Type 47 et Neg Non fermenteur Combo Type 48 ont été testées respectivement pour les Eb et les Nf. Le référentiel était, pour l'identification, les galeries API 20E (Eb) ou API 20NE (Nf) (Bio-Merieux), et pour l'antibiogramme, la méthode de diffusion en milieu gélosé (Mueller-Hinton, Biorad). Les résultats ont été catégorisés en S, I, R selon les recommandations du CA-SFM 2007 puis expertisé par le logiciel Sir (I2A). Toute discordance a été contrôlée par les deux méthodes puis résolue par séquençage du gène ARNr16S pour l'identification, et par mesure de la CMI (E-test) pour la sensibilité aux antibiotiques. Ont été considérés comme discordants les résultats rendus S pour I, S pour R et inversement.

Résultats : Au total, 331 Eb (144 *E. coli*, 58 *Klebsiella spp*, 45 *Proteus spp*, 44 *Enterobacter spp*, 16 *Citrobacter spp*, 13 *S. marcescens*, 11 autres) et 105 BGN Nf (84 *P. aeruginosa*, 8 *A. baumannii*, 4 *S. maltophilia*, 9 autres) ont été testés. Les identifications étaient concordantes pour 98,2% (325/331) des Eb et 97,1% (102/105) des Nf. La concordance (c) pour la sensibilité aux antibiotiques des Eb était de 90,6 à 99,4% pour les béta-lactamines, de 95,5 à 97,3% pour les aminosides, de 98,8% pour les fluoroquinolones et de 97,7 à 99,1% pour les autres antibiotiques. la concordance la plus faible était retrouvée pour les aminosides et le genre *Proteus* (c : 83,8%). Le système a tendance à surexprimer les pénicillinases, majorant la résistance à l'amoxicilline+acide clavulanique (c : 90,6%). Sur 15 souches productrices de BLSE, 4 (toutes du genre *Enterobacter*) n'ont pas été identifiées par l'automate. La concordance de sensibilité aux antibiotiques de *P.aeruginosa* était de 95,2 à 100% pour les béta-lactamines, de 95,2 % pour les aminosides et de 98,8% pour la ciprofloxacine.

Conclusion : Le nouveau système **WalkAway®*plus***, est un automate performant pour l'identification et l'antibiogramme des BGN isolés en pratique courante.

360/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation d'un nouveau système de bandelettes (Cica-Beta-Test) permettant la détection rapide des entérobactéries productrices de bêta-lactamases

J.P. Lavigne[2-1], C. Pfeiffer[2], A. Sotto[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie, CHU Caremeau [2]Espri 26, INSERM, Nîmes, France

Objet de l'étude : Évaluer la sensibilité et la spécificité d'un nouveau système de diagnostic rapide (Cica-Beta-Test, Kanto Chemical, Japan) permettant la détection rapide des céphalosporinases déréprimées (Cases), des β-lactamases à spectre étendu (BLSE) et des métallo-β-lactamases (MBL).

Méthodes : 200 bacilles à Gram négatif multirésistants ont été étudiées : 67 E. coli (56 producteurs de différentes BLSE), 52 Enterobacter sp. (21 BLSE), 26 P. aeruginosa (7 BLSE), 21 Klebsiella sp. (5 MBL et 12 BLSE) et 34 autres entérobactéries (Proteae, Salmonella sp. …) (19 BLSE). Le test consistait à prélever une colonie bactérienne ayant été mise en culture la veille à 37°C sur un milieu gélosé de type Muller-Hinton et à la déposer sur une bandelette préalablement imprégnée d'une goutte de substrat. Les bandelettes étaient alors observées après une incubation de 2 à 15 min. Un virage chromogénique (rouge) indiquait la positivité du test. Trois tests ont été utilisés: Cica Beta Test I pour la détection des bactéries multirésistantes (BMR); Cica Beta Test MBL pour la détection des bactéries productrices de MBL et Cica Beta Test CVA pour la différenciation entre BLSE et Case.

Résultats : Le Cica-Beta-Test I a permis de détecter 194 BMR (sensibilité 97%), le Cica-Beta-Test MBL a objectivé la présence des 5 MBL testées (sensibilité 100%). Deux souches non MBL étaient faussement négatives (spécificité 99%). Enfin le Cica-Beta-Test CVA a permis de différencier les souches productrices de BLSE (106/115) des souches productrices de Cases (71/80) soit une sensibilité de 92%, une spécificité de 89%. Neuf souches productrices de BLSE n'ont pas été détectées dont 4 *E. coli* (7% des souches d'E. coli sécréteurs de BLSE). Neuf souches présentant une Case ont été faussement positives dont 8 E. aerogenes (25% des souches d'E. aerogenes ayant une Case).

Conclusion : En raison de leur caractère épidémiogène, les BMR font l'objet d'un dépistage et nécessitent l'isolement des patients porteurs. L'utilisation simultanée de 3 bandelettes permettrait en moins de 15 min. de déterminer la présence de BMR et notamment de BLSE et de MBL. Le dépistage rapide des BMR permet d'éviter ainsi leur transmission et limiter l'utilisation des antibiotiques à large spectre.

361/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Serotyping, antibiotic susceptibility and surface protein gene determination of *Streptococcus agalactiae* isolated from neonate infections and vaginal carriage at Charles Nicolle Hospital of Tunis

W. Klai, M. Saïdani, S. Ferjani, A. Kamoun, S. Ben Redjeb
Laboratoire de Recherche "Résistance aux anti-microbiens", Faculté de Médecine de Tunis, Tunis, Tunisie

Objective: *Streptococcus agalactiae* (GBS) is a leading cause of neonatal infections due to variety of virulence factors such as the capsule and surface proteins (SP). Our objective is to evaluate the distribution of serotypes and SP genes among invasive and colonizing GBS isolates.

Methods: Eighty GBS strains (30 invasive isolates from neonates, 50 colonizing isolates from vaginal swabs from pregnant women) were prospectively collected between 2005-2009. Identification was done by conventional methods, antibiotic susceptibility by disc diffusion method and strain serotyping by latex agglutination test (PASTOREX Strepto BI, BII, BIII, Biorad). SP genes: C alpha (*bca*), C alpha-like proteins 2 and 3 (*alp2 and alp3*), Rib (*rib*), epsilon protein (*alp1*) and *alp4* were detected by multiplex PCR.

Results: Among invasive and colonizing strains, resistance rates were respectively: chloramphenicol (7.1%; 14.3%), co-trimoxazole (10.7%; 24.5%), erythromycin (46.4%; 44.9%) clindamycin (35.7%; 32.6%), rifampin (7.1%; 4%) and gentamicin (7.1%; 2%), serotype distribution was: serotype I (26.6%; 14%), serotype II (13.3%; 20%), serotype III (50%; 44%) and non typeable (10%; 22%) and the SP genes were : *bca* (23.3%; 2%), *alp1* (16.6%; 30%), *rib* (6.6%; 22%) and *alp2/3* (26.6%; 22%). Frequencies of SP genes among GBS serotypes were: serotype I (*rib* 6.6%, *alp2/3* 20%, *alp1* 40% and *bca* 6.6%), serotype II (*rib* 7.1%, *alp2/3* 7.1%, *alp1* 28.5% and *bca* 28.5%), serotype III (*rib* 21.6%, *alp2/3* 32.4%, *alp1* 16.2% and *bca* 8%). Significant associations were found between invasive strains and *bca* gene (p=0.002), serotype III and *alp2/3* (p=0.04) and serotype II and *bca* gene (p=0.02).

Conclusion: These results suggest that *bca* gene mainly found in invasive infections could be considered as a potential virulence marker and the serotype - surface protein gene combinations observed may reflect the diffusion of clonal GBS groups which remains to confirm.

362/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Précision de la lecture automatique des CMI en milieu gélosé chez *Streptococccus pneumoniae* par le SIRSCAN

P. Grohs[2], C. Janoir[1], S. Grondin[1], S. Simon[1], G. Bonnet[1], L. Gutmann[2-1], E. Varon[2-1]
[1]Centre National de Référence des Pneumocoques [2]Microbiologie, HEGP, Paris, France

Objet de l'étude : Évaluer la précision du Sirscan2000 pour la lecture automatique des CMI de béta-lactamines et de vancomycine en milieu gélosé sur *S. pneumoniae*.

Méthodes : L'étude a été menée entre mars et août 2009. Pour chaque série de CMI, 75 à 94 souches de *S. pneumoniae* ont été ensemencées via un "Steers replicator" sur gélose de Mueller-Hinton au sang de cheval additionnée de concentrations croissantes (0,008 à 16 µg/ml) de pénicilline (PEN), amoxicilline (AMX), céfotaxime (CTX), ceftriaxone (CRO) et vancomycine (VAN). La valeur de CMI lue par l'automate a été comparée à celle lue par l'opérateur. Si la différence entre les 2 CMI n'excédait pas une dilution, la lecture était considérée conforme. Les souches ont été catégorisées sensible (S), intermédiaire (I) et résistant (R) selon les concentrations critiques définies par le CASFM. Les discordances de lecture automate/référence ont été définies comme suit: S/R=erreur très majeure (ETM), R/S=erreur majeure (EM), et erreur mineure (Em) dans tous les autres cas.

Résultats : 60 séries correspondant à un total de 5468 CMI ont été effectuées chez 1178 souches de *S. pneumoniae*. La lecture de l'automate correspondait exactement à celle de l'opérateur dans 82,4% des cas, tandis qu'elle était conforme dans 91,9% des cas. Pour CTX, VAN, PEN, CRO, et AMX, la lecture était conforme dans respectivement 95,9, 95,8, 91,2, 89,3 et 87,5% des cas. Le nombre de CMI sous-estimées par l'automate était significativement plus important que celui des CMI surestimées (9,6% vs 1%, p<0,001). Le % de CMI conformes par série variait de 30 à 100% suivant la série et l'antibiotique considéré. Pour 49 séries sur 60, les CMI étaient conformes dans plus de 90% des cas. Aucune ETM ou EM n'a été observée. Les taux d'Em pour VAN,

CRO, PEN, AMX, et CTX, étaient respectivement de 0, 0,6, 1,1, 1,9, et 2,7 et correspondaient dans 80% des cas a une Em de type S/I.

Conclusion : Les difficultés de lecture de l'automate sont principalement liées à l'opacité du milieu de culture, à l'hémolyse et la réfringence des colonies de *S. pneumoniae*. La précision de cette lecture nécessite d'être encore optimisée afin de réduire le temps de validation technique, mais le module "Sirscan steers" est cependant un outil bien adapté à la réalisation de grandes séries de CMI en milieu gélosé.

363/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Intérêt de l'utilisation de flacons d'hémoculture pour l'analyse bactériologique des prélèvements tissulaires en chirurgie orthopédique

A. Velay[2], J. Gaudias[1], F. Schramm[2], B. Jaulhac[2], P. Riegel[2]
[1]*Centre de chirurgie orthopédique et de la main* [2]*Laboratoire de Bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France*

Objet de l'étude : évaluer l'intérêt de l'incubation en flacons d'hémoculture pour l'analyse bactériologique de prélèvements tissulaires en chirurgie orthopédique.

Méthodes : 155 échantillons (72 patients dont 22 avec prothèse) ont été étudiés dont 125 tissus ostéo-articulaires (fragments, biopsies). Les prélèvements tissulaires, acheminés en tube sec, sont broyés avec du bouillon Cœur-Cervelle (BCC). Le liquide de broyat est ensemencé sur gélose au sang (incubation 24 h), Drigalski (24h), chocolat PVX (5% CO_2, 4 j), anaérobie (5j), bouillon PGY (10 j), BCC (2 j) et pour cette étude, dans un flacon d'hémoculture pédiatrique Bactec Ped+ (7 j).

Résultats : Le flacon pédiatrique a été positif pour 70 % (87/125) des échantillons tissulaires contre de 22 à 54 % selon les autres milieux. Si le flacon n'avait pas été réalisé, seulement 62% (78/125) des tissus seraient positifs (au moins 1 milieu classique positif) (p>0.05). Pour 14 échantillons tissulaires seul le flacon Ped est positif, et pour 6 tissus seuls les milieux classiques sont positifs.

Milieux positifs	Echantillons				Total positif	Total négatif
	Tissus n=125	Liquides articulaires n=19	Autres liquides n=7	Biomatériaux n=5		
Flacon Ped	**87**	**10**	**7**	**5**	**109**	**46**
Gélose au sang	**44**	3	7	4	58	97
Gélose Drigalski	**27**	2	2	3	34	121
Gélose PVX	**50**	4	4	4	62	93
Gélose Hémine	**50**	3	3	2	58	97
BCC	**68**	4	4	4	80	75
Milieu ana PGY	**56**	3	4	2	65	90
Total positif	**93**	10	7	5	115	/
Total négatif	**32**	9	0	0	/	40
Total	**125**	19	7	5	/	155

Le flacon Ped est intéressant pour 14 patients, dont 7 avec infection sur prothèse : 7 patients pour lesquels seul le flacon Ped était positif et 7 patients en terme de délai de positivité. Il a permis de confirmer le diagnostic d'infection certaine pour 3 patients.

Conclusion : Les flacons d'hémocultures Ped montrent des performances supérieures à celles de chacun des autres milieux pour l'isolement de bactéries à partir d'échantillons tissulaires en chirurgie orthopédique. L'utilisation de plusieurs milieux classiques permet en partie de combler cette différence. Une comparaison des coûts doit être entreprise.

364/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Corrélation de la capacité de bactéries à former des biofilms avec leur impact clinique

M. Thouvenin[2], G. Fumagalli[3], P. Mayer[1], T. Bernardi[1], G. Dine[3], V. Genty[3]
[1]*BioFilm Control, Saint-Beauzire* [2]*Microbiologie, Centre Hospitalier* [3]*Institut Biotechnologique de Troyes, Troyes, France*

La capacité des bactéries à former des biofilms est un des phénomènes qui pourrait expliquer les différents profils infectieux et les différences de réponses aux traitements observés en clinique lors des infections. Nous proposons d'explorer cette voie en utilisant une nouvelle technique d'analyse rapide des biofilms ne nécessitant pas d'appareillage lourd, ni procédures de lavages / coloration : le Biofilm Ring Test®. Cette technologie permet d'évaluer l'immobilisation de billes magnétique, soit directement à cause de bactéries adhérentes, soit à cause des substances visqueuses sécrétées par ces mêmes bactéries, et donc de suivre la formation d'un biofilm au cours du temps. Utilisable en routine grâce à un mode opératoire assez simple ainsi qu'en format haut débit, il est ainsi possible de tester de nombreuses conditions et de réaliser des cinétiques fines à l'échelle de l'heure permettant de différencier et de classifier les souches pathogènes selon des critères représentatifs de l'impact potentielle des biofilms sur leur virulence et leur résistance.

Dans cette étude, nous avons isolé des souches à partir de prélèvements effectués chez des patients souffrant d'infections urinaires ou souffrant de mucoviscidose, ainsi qu'un patient porteur d'un Pseudomonas aeruginosa durant toute son hospitalisation en réanimation. Les souches isolées à partir des échantillons ont été remises en culture à partir de gélose molle de conservation, quantifiées puis évaluées avec le Biofilm Ring Test® avec des temps de culture de 2 à 6 heures. Ces données sont rapprochées des informations cliniques afin de relier les typologies biofilm aux paramètres cliniques des infections étudiées.

Les différentes souches étudiées présentent des caractéristiques cinétiques différentes qui permettent de distinguer plusieurs phénotypes biofilm. Ces données sont rapprochées des informations cliniques afin de relier les typologies biofilm aux paramètres cliniques des infections étudiées.

Les corrélations observées permettent d'envisager l'utilisation de cette technique comme outil prédictif de la sévérité des infections, par exemple la virulence d'une souche donnée, et de la réponse au traitement. Des études plus poussées avec des recrutements de plus grande taille seront nécessaires en vue d'affiner la signifiance statistique des prédictions et de préciser la pertinence de certains phénotypes. Enfin, il est envisagé d'étendre l'usage de cette méthode de caractérisation à la hiérarchisation de traitements antibiotiques pour les infections étudiées. Le BioFilm Ring Test permet ainsi de réaliser des études cliniques du phénotype biofilm de façon standardisée et efficace, ouvrant des perspectives nouvelles en infectiologie.

365/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Que faire des urines limpides envoyées au laboratoire pour ECBU ?

Y. Péan[3], N. Desplaces[1], N. Pradier[1], L. Gutmann[2], M.D. Kitzis[2]
[1]*Laboratoire de Biologie Médicale, GH Diaconnesses-Croix Saint Simon* [2]*Service de Microbiologie Médicale, GH Paris Saint Joseph* [3]*Laboratoire de Biologie Médicale, Institut Mutualiste Montsouris, Paris, France*

L'examen cytobactériologique des urines (ECBU) est une des analyses microbiologiques les plus prescrites, sachant qu'à l'hôpital la moitié des prélèvements d'urines adressés au laboratoire pour ECBU sont limpides.

L'ECBU dans la nomenclature des actes de biologie médicale (NABM) comporte un examen cytologique et une mise en culture. Dans l'examen cytologique, deux aspects sont à prendre en compte : l'aspect quantitatif permettant de dénombrer les éléments figurés dans un volume donné d'urine (leucocytes, hématies) associés à la recherche de cellules urothéliales ou de cellules épithéliales, l'aspect qualitatif à la recherche de microorganismes après coloration d'un frottis au Gram. La mise en culture consiste en un dénombrement des bactéries présentes associé à un isolement sur un ou des milieux de culture solides en fonction de l'examen microscopique.

Objectif : Décider s'il faut déployer au laboratoire les mêmes techniques pour les urines limpides et les urines troubles.

Matériel et méthodes : 600 résultats d'ECBU consécutifs (200 par laboratoire ; doublons exclus) représentant 4% des ECBU annuellement techniqués dans les 3 laboratoires ont servi de base à cette étude rétrospective.

Résultats : Plus de 50% des urines envoyées au laboratoire pour ECBU étaient macroscopiquement limpides .

ECBU (n = 600)			
Identification et antibiogramme			
Urines troubles (n =287)		Urines limpides (n =313)	
faits	non faits	faits	non faits
106	181	13	300

Sur les 313 urines limpides, 300 n'ont fait l'objet d'aucune identification ni d'antibiogramme en l'absence de culture significative. La valeur prédictive négative du caractère limpide des urines est égale à 0,96 ce qui parait acceptable pour appliquer aux urines limpides une technique d'analyse réduite.

Conclusion : Dans ce cadre, il peut être proposé de supprimer pour les urines limpides, en première intention, l'examen cytologique quantitatif et qualitatif et de réduire l'ensemencement à une gélose de dénombrement. Ces propositions ne sont valables qu'après avoir évalué la VPN des urines limpides reçues par chaque laboratoire. Si cette approche est validée, une modification de la NABM devrait être discutée.

366/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation de l'intérêt de réaliser identifications bactériennes et antibiogrammes pendant les horaires de nuit dans le laboratoire de bactériologie d'un centre hospitalier universitaire

M. Eveillard, C. Lemarié, J. Cottin, H. Hitoto, C. Mahaza, M. Kempf, M.L. Joly-Guillou
Bactériologie-hygiène, CHU d'Angers, Angers, France

Objet de l'étude : Si elle existe, l'activité de nuit dans un laboratoire de bactériologie (LB) se limite le plus souvent à l'ensemencement des prélèvements envoyés et la réalisation d'examens directs, suivant ou non une liste limitative de prélèvements. Depuis 4 ans, un système de fonctionnement en continu (FC) a été mis en place au LB du CHU d'Angers. En plus d'une activité de garde classique, les cultures en milieu gélosé des hémocultures positives, des urines et des liquides de ponction sont systématiquement examinées la nuit par le technicien de garde. Si ces cultures sont positives, des identifications bactériennes (IB) et des antibiogrammes (AB) sont réalisés. Notre objectif était d'évaluer l'intérêt de ce FC.

Méthodes : Pour chaque prélèvement pour lequel une IB et/ou un AB ont été réalisés la nuit, le bénéfice pour la prise en charge thérapeutique du patient a été évalué en comparant le délai de restitution des résultats obtenu avec le FC avec un délai de restitution estimé en l'absence de FC (en tenant compte des

délai de culture enregistrés et des horaires du laboratoire hors FC) d'une part, et en relevant les décisions thérapeutiques prises dans les services en présence des résultats d'autre part. Deux types de bénéfices ont été définis : un gain de temps sur la mise en place d'un traitement efficace (GTTE) et un gain de temps sur l'économie de ce qui est habituellement défini comme antibiotiques de réserve (GTAR). Ces gains de temps étaient de 24 ou même parfois 48 heures.

Résultats : Pendant les 4 mois d'étude, une IB et/ou un AB ont été réalisés pour 430 prélèvements. Un GTTE a été observé pour 97 prélèvements (22,6%), représentant un gain total de 111 jours. Pour 49 patients, le GTTE correspondait au changement d'un traitement inefficace, et pour les 48 autres, il correspondait à la mise en place d'un traitement efficace chez un patient non traité. Un GTTE a été observé pour 20,8% des ECBU, 37,9% des hémocultures, et 17,9% des ponctions concernés par le FC. Un GTAR a été observé pour 23 prélèvements (5,4%) représentant 29 journées de traitement.

Conclusion : Même si une étude économique serait utile, un système permettant la réalisation d'IB et/ou d'AB la nuit pour certains prélèvements présente un intérêt pour la prise en charge thérapeutique des patients.

367/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Multicenter evaluation of a MicroScan dried overnight panel for susceptibility testing of tigecycline against *Enterobacteriaceae* using EUCAST breakpoint criteria

J. Hindler[1], M. Lewinski[1], J. Tjhio[2], P. Schreckenberger[2], J. Rothberg[3], M. Weinstein[3], M. Bacsafra[4], J. Johnston[4], B. Zimmer[4], L. Mann[4]
[1]UCLA Medical Center, Los Angeles [2]Loyola University Medical Center, Maywood [3]Robert Wood Johnson Medical School, New Brunswick [4]Siemens Healthcare Diagnostics, W. Sacramento, Etats-Unis

Purpose of the Study: The accuracy of MicroScan Dried Overnight Gram Negative panels for susceptibility testing of tigecycline was evaluated using EUCAST breakpoint criteria (/=4 R) with fresh, stock and challenge isolates of *Enterobacteriaceae*.

Methods: MicroScan panels were evaluated at three sites by comparing MICs obtained on a test panel to MICs obtained using a CLSI broth microdilution reference method. During the efficacy phase, a total of 307 fresh (289) or stock (18) *Enterobacteriaceae* isolates (*E. coli* (92), *K. pneumoniae* (79), *E. cloacae* (45) and other *Enterobacteriaceae* species (91 excluding *P. mirabilis*) were tested using the turbidity standard method of inoculation. Panels were read visually. During the challenge phase, 75 isolates were tested and MICs were compared to a pre-determined result. The panels were inoculated with either the turbidity or the Prompt methods of inoculation, and were read by the WalkAway System, autoSCAN-4 instrument, and visually.

Results Obtained: In the efficacy phase, essential agreement (EA) between test and reference results was 98.7% (303/307). Categorical agreement was 96.7% (297/307). There were 10 (3.3%) minor but no major or very major errors. EA for challenge isolates tested with the turbidity inoculation method was 100% (75/75) for visual readings and the WalkAway instrument and 98.7% (74/75) for autoSCAN-4 instrument. EA with the Prompt method was 96.0% (72/75) for all read methods. Categorical agreement was >/= 90% for all combinations.

Conclusion: This study shows that MIC results obtained using a MicroScan Dried Overnight Gram Negative panel correlate well with MICs obtained using a CLSI broth microdilution reference method for susceptibility testing of tigecycline and *Enterobacteriaceae* other than *P. mirabilis*.

368/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Activité *in vitro* de la tigécycline vis-à-vis de 340 souches d'entérobactéries isolées au CHU d'Angers - Le programme TEST 2006-2009

C. Bris, M. Kempf, F. Kowalczyk, M. Eveillard, M.L. Joly-Guillou
Laboratoire de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU d'Angers, Angers, France

Objectif : La tigécycline (TGC), antibiotique de la famille des glycylcyclines, a un spectre d'activité recouvrant la plupart des bactéries à GRAM négatif, y compris les entérobactéries produisant une β-lactamase à spectre étendu (BLSE). Le laboratoire de bactériologie du CHU d'Angers participe depuis 2006 au programme mondial de surveillance *Tigecycline Evaluation Surveillance Trial* (TEST). Le but de la présente étude a été d'évaluer l'efficacité de la TGC sur un panel de souches d'entérobactéries isolées entre 2006 et 2009, présentant différents profils de résistance aux β-lactamines.

Méthode : Au total, 340 isolats cliniques ont été testés : 100 *Escherichia Coli* (11% de BLSE et 2% présentant une céphalosporinase hyperproduite [Case+]), 100 *Enterobacter* spp (1% de BLSE et 35% de Case+), 100 *Klebsiella* spp (8% de BLSE et 3% de Case+) et 40 de *Serratia marcescens* (2% de Case+). Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la TGC ont été déterminées par dilution en microplaques Microscan (Dade-Berhing), selon les indications du fabricant. La sensibilité des isolats à la TGC a été interprétée selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

Résultats : 93,2% des isolats testés étaient sensibles à la TGC (CMI ≤ 1mg/L), 5,6% présentaient un profil de résistance intermédiaire et 4 isolats étaient résistants (CMI > 2mg/L) : il s'agissait de 3 isolats *d'Enterobacter cloacae* dont 2 Case+ et d'un isolat de *Klebsiella pneumoniae* Case+. Les CMI 50 et CMI 90 étaient respectivement : 0,25mg/L et 0,5mg/L pour les *E. coli*, 0,5mg/L et 1mg/L pour les *Enterobacter* spp, 0,25mg/L et 1mg/L pour les *Klebsiella* spp, et 1mg/l et 2mg/L pour les *S. marcescens*. Il n'a pas été observé d'augmentation du nombre de souches intermédiaires ou résistantes au cours de cette période.

Conclusion : Les CMI de la TGC semblaient plus élevées chez les entérobactéries des groupes 2 et 3 que chez les entérobactéries du groupe 1. Néanmoins, la TGC était efficace sur la majorité des souches étudiées, quel que soit leur profil de résistance vis-à-vis des β-lactamines. La TGC peut être considérée comme une alternative de choix dans le traitement de patients infectés par des entérobactéries hautement résistantes aux β-lactamines.

369/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation en pratique quotidienne de la concentration urinaire sur la performance de trois tests de détection de l'antigène urinaire de *Legionella pneumophila* de sérogroupe 1

E. Sauter, C. Plainvert, J.C. Nguyen Van
Microbiologie Médicale, Groupe Hospitalier Paris Saint Joseph, Paris, France

Objectifs de l'étude : Cette évaluation a pour de mesurer les bénéfices et/ou les inconvénients de la concentration des urines sur la performance de trois trousses de détection des antigènes urinaires de *Legionella pneumophila* de sérogroupe 1, *Legionella pneumophila* Binax Now® (Inverness Medical), Uni-Gold™ Legionella Urinary Antigen (Trinity Biotech) et SAS™ Legionella (Meridian).

Matériel et méthode : 94 urines de patients hospitalisés au Groupe Hospitalier Paris Saint-Joseph de septembre à décembre 2008 ont été étudiées. Dans un premier temps, chaque échantillon d'urine est testé suivant les modes opératoires fournis par les fabricants. Dans un deuxième temps, les urines bouillies à 100°C pendant 5 minutes et centrifugées sont testées sur les trois trousses après concentration sur filtre Amicon® pendant dix minutes à 4300g .

Résultats : Sans concentration urinaire, la concordance des résultats est de 100% puisque les 94 échantillons sont restés négatifs avec les trois trousses testées. Après concentration, un échantillon urinaire est faiblement positif avec les trois kits, deux échantillons sont positifs avec le kit SAS™ et un échantillon est positif avec le kit Uni-Gold™.

		Uni-Gold Legionella Urinary Antigen (urines concentrées)		Total
		+	-	
Legionella pneumophila	**+**	1 [2]	0	1
Binax Now® (urines concentrées)	**-**	1 [1]	92	93
Total		2	92	**94**

[1]Patient sans contexte infectieux, hospitalisé pour une embolie pulmonaire avec Uni-Gold

[2]Patient positif pour les 3 tests après concentration

		SAS Legionella (urines concentres)		Total
		+	-	
Legionella pneumophila	**+**	1 [2]	0	1
Binax Now® (urines concentrées)	**-**	2 [3]	91	93
Total		3	91	**94**

[3]Deux patients positifs après concentration sur SAS

Conclusion : La technique de concentration après dénaturation thermique permet d'augmenter la sensibilité du test d'antigène urinaire. Outre que cette technique alourdit le mode opératoire initial, il peut s'accompagner d'un défaut de spécificité avec certains kits.

370/74A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Spermocultures : bilan et intérêt dans la prise en charge des couples consultant en centre d'Assistance Médicale à la Procréation, au CHU de Nantes

M. Leterrier[1], T. Freour[2], M.E. Juvin[1], P. Barriere[2], A. Reynaud[1-3], D. Lepelletier[1-3], S. Corvec[1-3]
[1]Service de Bactériologie-Hygiène [2]Service de Médecine de la Reproduction, CHU de Nantes [3]EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Faculté de Médecine, Nantes, France

Objet de l'étude : Depuis 10 ans, le nombre de couples consultant un centre d'Assistance Médicale à la Procréation (AMP) pour infécondité augmente régulièrement. Quand une fécondation *in vitro* (FIV) est envisagée, une spermoculture est réalisée. Notre but était d'en évaluer les résultats et l'intérêt potentiel, sur une période de 6 ans.

Méthodes : Une aliquot de sperme pur et dilué au 1/10ème a été ensemencée sur gélose au sang (à 37°C + CO_2), pour numération totale (<10^3 - >10^3-<3.10^3 - >3.10^3 UFC/mL) et évaluation du nombre de types microbiens. Identification et antibiogramme n'étaient réalisés que sur les entérobactéries, *Staphylococcus aureus* et *Corynebacterium seminale*. A partir de 3 types différents, seule la numération était fournie, avec le nombre de types

microbiens observés.

Résultats : L'accroissement du recours à l'AMP a entraîné une augmentation d'activité de 45% en 6 ans : 14119 spermocultures ont été réalisées pour 7723 patients. Plus de la moitié (55%) a donné lieu à un dénombrement inférieur au seuil de 10^3 UFC/mL, 11% comportaient 10^3 à 3.10^3 UFC/mL et 34 % plus de 3.10^3 UFC/mL. Les bactéries isolées étaient essentiellement des contaminants ou des bactéries colonisantes (69% : streptocoques α-hémolytiques, staphylocoques blancs, entérocoques). Quelle que soit la numération, 77% des prélèvements étaient polymicrobiens. Parmi les entérobactéries (23%), *Escherichia coli* représentait 60% des souches. Sur 1376 antibiogrammes (9,75%), seules 10 bactéries multi-résistantes ont été observées. Chaque résultat bactériologique considéré comme positif a généré une adaptation de prise en charge pré-FIV.

Conclusion : L'activité de spermoculture a significativement progressée en 6 ans (1850 à 2670/an), la proportion de cultures fournissant un résultat > 10^3 UFC/mL restant stable. On note une prédominance de bactéries contaminantes, d'où l'importance des consignes fournies pour le recueil de sperme. Malgré les évolutions de comportement des bactéries à l'égard des antibiotiques, dans le domaine communautaire, la plupart des souches étudiées présentaient un phénotype sauvage. Il conviendra de suivre l'impact d'une nouvelle stratégie de communication destinée à améliorer la qualité des prélèvements, engagée par le service de Biologie de la reproduction.

371/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation d'une nouvelle trousse commerciale permettant la détection simultanée de 7 virus neurotropes par PCR-DNA *microarrays*

A. Van Haecke[1-2], A. Sandré[1-2], L. Moutte[1-2], A. Huguenin[1-2], F. Renois[1-2], V. Brodard[1], L. Andréoletti[1-2], N. Lévêque[1-2]
[1]Laboratoire de Virologie médicale et moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire [2]EA 4303/IFR53, Faculté de médecine, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

Objectifs : Les virus constituent l'étiologie principale des infections du système nerveux central. Il s'agit toujours d'un diagnostic virologique d'urgence devant permettre la mise en place rapide d'une thérapeutique adaptée. Les outils diagnostiques actuellement utilisés font appel à la détection moléculaire des virus pathogènes dans le liquide céphalo-rachidien. Ce travail a permis l'évaluation d'un nouveau système d'hybridation ADN/ADN sur micro puce permettant la détection simultanée des 7 principaux virus neurotropes : les virus HSV1 et 2, le VZV, l'EBV, le CMV, l'HHV6 et les entérovirus.

Matériels et méthodes : La trousse Entherpex® (Genomica, Madrid) comprend une étape d'amplification (PCR et RT-PCR) suivie d'une hybridation des amplifiats obtenus sur des sondes ADN spécifiques de chacun des virus recherchés disposées en spots sur une micropuce. L'évaluation de la trousse Entherpex® a été réalisée dans un premier temps à partir des contrôles de qualité du Quality Control for Molecular Diagnostics (Glasgow, Scotland). Six contrôles dont les valeurs étaient comprises entre 10^2 et 10^3 copies/ml ont été testés afin de définir la sensibilité et la reproductibilité de la technique. L'analyse rétrospective de 20 LCR initialement trouvés positifs pour la présence d'un entérovirus par la trousse Andiatech® (RT-PCR en temps réel) et de 27 LCR positifs pour les différents virus du groupe Herpes (7 HSV1, 2 HSV2, 8 VZV, 4 EBV, et 6 HHV6) diagnostiqués par la trousse Herpes Consensus® (Argène Biosoft) a permis de compléter l'évaluation de la trousse. La charge virale rachidienne de chacun de ces virus a également été mesurée.

Résultats : La trousse Entherpex® a détecté dans 100% des cas les contrôles de qualité > 500 copies/ml pour l'HHV6 et > 1000 copies/ml pour les autres *Herpesviridae* testés. La limite de sensibilité a été estimée entre 166 copies/ml pour l'HHV6 (détecté 3 fois sur 4) et 220 copies pour l'HSV1 (détecté 2 fois sur 3). Pour les entérovirus, les contrôles de qualité équivalents à 280 et 390 copies/ml n'ont jamais été détectés lors des 4 analyses pratiquées tandis qu'une charge virale de 1480 copies/ml l'a été dans 75% des cas (3 fois sur 4). Ces résultats placent Entherpex® au même niveau de sensibilité que les techniques commerciales évaluées dans le cadre du QCMD. A partir des échantillons cliniques, la trousse entherpex a détecté 26 des 27 infections du système nerveux central à *Herpesviridae* et l'intégralité des 20 LCR entérovirus positifs sélectionnés. Seule une infection à EBV caractérisée par une charge virale non détectable (<500 copies/ml) n'a pas été diagnostiquée.

Conclusion : Cette nouvelle trousse constitue donc une technique sensible et spécifique permettant la détection rapide (en une journée de travail) et simultanée des principaux virus neurotropes qu'ils soient à ARN (entérovirus) ou à ADN (*Herpesviridae*).

372/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison entre deux techniques de Génotypage du virus de l'hépatite B

N. Hannachi[1], O. Bahri[2], N. Ben Fredj[1], S. Mhalla[1], H. Triki[2], J. Boukadida[1]
[1]Laboratoire de microbiologie-immunologie, Unité de recherche UR 02SP13, CHU F. Hached, Sousse [2]Laboratoire de virologie clinique, Laboratoire de Recherche « Hépatites et maladies virales épidémiques », Institut Pasteur, Tunis, Tunisie

Introduction : L'évolution génétique du virus de l'hépatite B (VHB) a conduit à l'émergence d'au moins huit génotypes principaux (A à H) caractérisés par une divergence de leurs séquences nucléotidiques d'au moins 8%. A coté du séquençage partiel ou complet du génome, plusieurs techniques ont été développées pour identifier ces génotypes. Le but de notre travail est de comparer deux techniques de génotypage qui sont une technique d'analyse du polymorphisme des produits de restriction enzymatique (RFLP) et une technique de PCR multiplexe.

Méthodes : Les génotypes du VHB ont été analysés pour 68 patients porteurs d'un Ag HBs positif. La première technique de génotypage a constitué en une 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. La deuxième technique était une PCR multiplexe utilisant des amorces spécifiques situées également dans la région pré-S ; deux mix d'amorces étant disponibles, le premier pouvant séparer les génotypes A, B et C et le deuxième identifie les génotypes D, E et F. Un séquençage a été réalisé pour les discordances entre les deux techniques.

Résultats : Par la technique de RFLP, 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 concordance a été retrouvée avec la technique de PCR multiplexe concernant les génotypes D et A. Néanmoins, les prélèvements ayant eu un profil de restriction B ont été identifiés comme étant du génotype D par la technique de PCR multiplexe. Le séquençage des souches discordantes et la comparaison avec les données de GenBank ont montré une identité de plus de 98% avec le génotype D.

Conclusion : La prédominance du génotype D concorde avec les données de la littérature tunisienne. Les deux techniques RFLP et PCR multiplexe constituent des moyens plus simples et moins couteux que le séquençage pour l'identification des génotypes viraux. Ces deux techniques sont généralement concordantes, mais une meilleure spécificité a été obtenue avec la technique de PCR multiplexe. Le séquençage reste la technique de référence à utiliser lors de profils génotypiques inhabituels.

373/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation de la linéarité, de la répétabilité et de la reproductibilité de la trousse de quantification de l'antigène HBs Architect Abbott pour des échantillons dépassant le domaine initial de linéarité

V. Mackiewicz[3], R. Moucari[2], A. Dauvergne[1], M. Vidaud[1], P. Marcellin[2], M.H. Nicolas-Chanoine[3]
[1]Biochimie [2]Hépatologie [3]Microbiologie, Hôpital Beaujon - AP-HP, Clichy, France

Objet de l'étude : La quantification de l'antigène HBs (AgHBs) apparaît être un paramètre utile pour la prise en charge thérapeutique de l'hépatite B chronique. Comme les taux d'AgHBs peuvent être élevés dans cette pathologie, des dilutions du sérum s'imposent pour obtenir une mesure exacte de ce marqueur. L'objectif de ce travail était de vérifier que la technique de quantification Architect AgHBs est robuste y compris pour des échantillons présentant des taux élevés d'Ag HBs.

Méthodes : Le taux d'AgHBs a été mesuré avec la trousse Architect AgHBs (Abbott diagnostics) chez 9 patients atteints d'hépatite B chronique dont 8 présentant des taux élevés (> 250 UI/mL). La linéarité a été évaluée par analyse de série de dilutions d'ordre 2 sur 5 échantillons dont 2 pré-dilués au 1/20 et 2 au 1/500. La répétabilité (20 mesures dans une même série) et la reproductibilité (12 mesures indépendantes avec 2 lots de réactifs différents) ont été évaluées à partir de 4 autres échantillons pré-dilués au 1/100 et au 1/1000 (pré-dilution répétée avant chaque mesure).

Résultats : La linéarité de la technique Architect AgHBs est confirmée, sans effet crochet, quel que soit le taux d'AgHBs initial (2 échantillons à 3031 et 4031 UI/mL dilués du 1/20 au 1/1280 et 2 échantillons à 72239 et 97739 UI/mL dilués du 1/500 au 1/32000). Le CV de répétabilité varie de 4,7% à 6,9% et de 4,0% à 5,9% pour les sérums dilués au 1/100 et 1/1000 respectivement. Le CV de reproductibilité varie de 5,1% à 11,0 % et de 4,7% à 7,7% pour les sérums dilués au 1/100 et 1/1000 respectivement (valeurs moyennes des 4 échantillons étudiés : 205, 1312, 13871, 82974 UI/mL respectivement).

Conclusion : Globalement, les résultats montrent que la robustesse analytique de la trousse Architect AgHBs observée pour les faibles taux d'AgHBs (< 250 UI/mL) est aussi observée pour des taux élevés d'AgHBs. Par ailleurs, les pré-dilutions choisies, à savoir 1/100 et 1/1000, nous ont permis d'obtenir des mesures de taux d'AgHBs fiables (répétabilité et reproductibilité). Ces dilutions peuvent donc être utilisées en première intention chez les patients non porteurs et porteurs antigène HBe, respectivement, ces derniers présentant les taux d'AgHBs les plus élevés.

374/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Développement et utilisation d'une RT-PCR quantitative pour la détection et la quantification du virus *Influenza A* à partir d'un écouvillon nasal dans le cadre de l'essai GripMask

F. Renois[4-3], A. Sandré[4-3], A. Van Haecke[4-3], L. Moutte[4-3], A. Huguenin[4-3], M. Bouscambert-Duchamp[1], N. Lévêque[4-3], P. Ferrari[2], F. Carrat[2], L. Andréoletti[4-3]
[1]Laboratoire de Virologie, Hospices Civils, Lyon [2]Service de Santé Publique, Hôpital Saint-Antoine, AP/HP Paris ; Université Pierre et Marie Curie ; INSERM U707, Paris [3]Laboratoire de Virologie Médicale et Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire [4]EA 4303/IFR53, Faculté de Médecine de Reims, Reims, France

Contexte : La détection et la quantification par RT-PCR des virus *Influenza A* à partir d'un écouvillon nasal permet de confirmer le diagnostic de grippe et d'évaluer l'infectiosité d'un patient. Cette mesure de la charge virale est

actuellement un outil indispensable dans le cadre d'études clinico-virologiques sur la grippe.

Objectifs : Nous avons développé une RT-PCR quantitative du gène M du virus *Influenza A* avec une normalisation par rapport à la GAPDH à partir d'un simple écouvillon nasal (Virocult®).Cette technique a été utilisée dans le cadre de l'essai GripMask sur l'efficacité du port du masque chirurgical dans la prévention de la transmission de la grippe A dans les foyers.

Matériels et méthodes : La sensibilité de la RT-PCR quantitative en temps réel sur le gène M de la grippe a été réalisée à partir d'une gamme de dilution d'un plasmide portant une partie de la séquence de ce gène. La spécificité a été évaluée grâce à des échantillons cliniques positifs pour les virus *Influenza A* (A/H3N2 et A/H1N1) ainsi que des prélèvements négatifs. Une RT-PCR quantitative du gène de la GAPDH a été réalisée à partir de cellules MRC-5 pour normaliser la charge virale par µl de prélèvement selon le calcul suivant: (RT-PCR M/RT-PCR GAPDH) x moyenne RT-PCR GAPDH.

Résultats : Le seuil de détection de quantification de la RT-PCR M a été compris entre 20 et 2.10^8 copies. Au cours de l'essai GripMask nous avons détecté 20 écouvillons positifs sur 111. La valeur moyenne de détection de la RT-PCR M était de $1{,}4.10^3$ copies /µl de prélèvement ($7–8.10^3$). La RT-PCR GAPDH a détecté en moyenne 9.10^3 copies/µl de prélèvement ($1–10^5$) et nous a permis de valider la qualité des prélèvements ainsi que de normaliser ; la valeur des charges virales était en moyenne de $6{,}4.10^4$ copies/µl de prélèvement ($5–10^6$). Au cours de l'essai, la charge virale moyenne du premier prélèvement positif des cas index était de $2{,}6.10^3$ copies/µl de prélèvement alors que celle des cas contacts était de $1{,}4.10^3$ copies /µl (p=0,42).

Conclusions : Nous avons développé une technique permettant de confirmer le diagnostic de grippe, de suivre l'infectiosité d'un patient au cours du temps et de comparer la dynamique de la transmission intrafamiliale du virus *Influenza A* avec ou sans utilisation du masque chirurgical.

375/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation d'une technique d'extraction et d'amplification de l'ARN viral Delta à partir des taches de sang et de sérums séchés sur papiers buvards

C.T. Hamed[1-3], W. Mansour[1], E. Ahmed-Tijani[3], S. Amadou-Mody[3], F. Le Gal[2], E. Gordien[2], A. Ducancelle[1], M.A. Bollahi[3], F. Lunel-Fabiani[1]
[1]Laboratoire de Virologie, Laboratoire HIFIH UPRES EA 3859, CHU d'Angers, Angers [2]Laboratoire de virologie, associé au CNR des hépatites B, C et Delta, CHU Avicenne, Bobigny, France [3]Centre National de Transfusion Sanguine (CNTS), Nouakchott, Mauritanie

Objectif : Ce travail avait pour but d'évaluer une technique d'extraction et de détection et quantification des ARN viraux du virus de l'hépatite Delta (VHD) à partir de taches de sang total et de sérums séchés sur papiers buvards.

Matériel et Méthodes : Le travail a porté sur 64 échantillons de sang total (AgHBs positifs) et 24 sérums (Ac Delta positifs) séchés sur papiers buvards (Schleicher & Schuell #903) 5 taches de 50 µl par échantillon.)

Chaque papier buvard a été conservé dans une enveloppe fermée pour éviter les contaminations entre les échantillons.

La détermination des anticorps totaux anti-VHD a été réalisée par la trousse DiaSorin® (ETI-AB-DELTAK-2) pour tous les échantillons.

L'extraction des acides nucléiques du VHD a été effectuée sur l'automate EasyMag (bioMérieux®).

La détection et la quantification de l'ARN du VHD ont été réalisées pour tous les échantillons par PCR qualitative et par PCR en temps réel TaqMan.

Afin de valider les résultats, les analyses faites à la fois sur les échantillons séchés sur papiers buvards et sur les sérums correspondant des sujets de l'étude.

Résultats : Dix des 64 échantillons de sang total séchés sur papiers buvards, étaient Anticorps totaux anti-VHD positifs. Quatre d'entre eux avaient des ARN-VHD détectables et quantifiables sur sérum et sur taches de sang séchées avec une différence moyenne de charge virale inférieure à 1 log.

L'ARN viral Delta a été détecté dans 14 des 24 sérums prélevés sur buvards (et conservés à la température ambiante) avec une charge virale moyenne comparable à celle observée dans les sérums (différence inférieure de 1 log).

Afin d'évaluer la sensibilité de cette technique d'extraction et de quantification de l'ARN-VHD, les expériences ont été réalisées sur des dilutions au dixième (de 10 à 10^{-6}) d'un sérum de charge virale élevée. L'ARN du VHD a été détecté sur les dilutions (des sérums et des sérums déposés sur buvards) allant jusqu'à 10^{-4}.

Conclusion : Ces résultats préliminaires suggèrent que cette technique d'extraction, de détection et de quantification de l'ARN viral Delta (et éventuellement de l'ADN du VHB) pourrait constituer une alternative de choix pour les pays en voie de développement.

376/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Vers un test de diagnostic rapide (TDR) et spécifique de la mononucléose infectieuse

M. Baccard Longère[1], T. Paper[3], S. Charles[3], C. Blin[3], R. Germi[1-2], M. Habib[2], E. Drouet[2], J.M. Seigneurin[1-2], P. Morand[1-2]
[1]Laboratoire de Virologie, CHU de Grenoble [2]UMI 3265 UJF-EMBL-CNRS, Grenoble [3]Biosynex, Strasbourg, France

Objet de l'étude : La sérologie EBV, indispensable pour le diagnostic de la mononucléose infectieuse (MNI), est effectuée le plus souvent avec des techniques assez longues et/ou nécessitant un appareillage spécifique. L'immunofiltration permet un dépistage sérologique plus rapide sans matériel particulier. Nous avons évalué les performances d'un test (Immunoquick Filtration EBV M Biosynex) détectant les IgM anti VCA(viral capsid antigen p18) et anti ZEBRA (p130) en moins de 5 minutes.

Méthode : La sensibilité du test Immunoquick a été déterminée à partir du 1er sérum prélevé chez 254 patients ayant une MNI, confirmée sérologiquement (présence d'IgM VCA+ en l'absence d'IgG EBNA avec ou sans Ac hétérophiles).

La spécificité du test a été évaluée sur 3 panels: (i) 58 patients avec une sérologie EBV négative en ELISA; (ii) 88 patients avec un profil sérologique d'infection EBV ancienne; (iii) 108 patients présentant des pathologies dont les IgM peuvent interférer avec la détection d'IgM EBV (facteur rhumatoïde, primo infection à CMV ou à parvovirus, hépatite A aiguë, primo-infection VIH).

Résultats : Sur le premier sérum prélevé chez les 254 MNI, 225 (88.6%) sont + en IgM Immunoquick. Si la détection des Ac hétérophiles est ajoutée au test rapide, 241/254 patients (94.9%) ont un profil sérologique compatible avec une MNI. Sur les 29 prélèvements initialement négatifs, 7 on pu être testés sur un 2e sérum prélevé dans la semaine et 4/7 sont + en IgM Immunoquick Les 58 patients avec une sérologie EBV négative sont négatifs en Immunoquick. Sur les 88 patients avec une infection ancienne, 1 présentait des IgM (spécificité 98,8%). Sur les 108 patients avec des pathologies potentiellement interférentes, 22 étaient IgM +(spécificité 80 %). Sur ces 22 sérums, 11 correspondaient à des primo-infections à CMV, 5 des primo-infections à Parvovirus et 3 à des hépatites A aiguës.

Conclusion : La bonne sensibilité de ce test sur des sérums de MNI très précoces en fait une alternative intéressante aux tests immunoenzymatiques habituels dans le diagnostic de la MNI. La détection simultanée sur le même support d'Ac hétérophiles et la possibilité d'effectuer ce test sur sang total devraient encore améliorer la sensibilité et la faisabilité de ce test.

377/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Développement d'une méthode de quantification de la transcription du gène tardif *U100* de l'HHV6 par PCR temps réel

V.A. N'Guyen[2], B.M. Imbert-Marcille[2-1], E. André-Garnier[2-1], C. Bressollette-Bodin[2-1]
[1]Service de Virologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes [2]EA4271, UFR de Pharmacie, Université de Nantes, Nantes, France

L'HHV6 persiste dans l'organisme sous forme latente, notamment dans les cellules mononucléées sanguines. Le diagnostic virologique d'une infection active repose actuellement sur la quantification de l'ADN viral dans le sang. L'intégration du génome viral au génome cellulaire a été décrite chez un faible pourcentage de sujets. Chez ces patients, le diagnostic d'infection active est difficile car l'ADNémie est toujours très élevée. Une alternative est la recherche de transcrits viraux tardifs permettant d'affirmer l'existence d'une multiplication virale complète et réelle.

Deux techniques de RT-PCR qualitatives validées pour la détection des ARNm U100 épissé de l'HHV6 et du transcrit cellulaire G6PD ont été adaptées à une détection en temps réel (One Step SYBRÒ PrimeScriptÔ RT-PCR kit, TaKaRa). Les deux transcrits sont amplifiés dans deux tubes différents au cours du même programme d'amplification sur le thermocycleur Rotor-GeneÔ 6000 (Corbett Research). Un témoin positif a été produit à partir de 10^6 cellules lymphocytaires MT4 infectées à 10 moi avec la souche HST. Après extraction manuelle (RNeasy Mini Kit, Qiagen), une gamme de dilution du témoin positif a été testée pour valider les performances de la technique.

L'absence de modification significative de la transcription du gène G6PD au cours de l'infection a été vérifiée en comparant les C_T obtenus entre cellules infectées ou non. La reproductibilité et la répétabilité de la PCR ont été testées sur les dilutions 10^{-1}, 10^{-2}, 10^{-3} du témoin pour les deux transcrits sur 10 replicates. Les coefficients de variation des C_T étaient toujours inférieurs à 5%. La bonne reproductibilité des réactions permet d'utiliser dans chaque série une dilution du témoin positif en tant qu'échantillon calibrateur et de mesurer ainsi la transcription du gène U100 selon une technique de quantification relative.

Cette méthode est un nouvel outil pour l'étude de la multiplication *in vitro* de l'HHV6 sur différents types cellulaires. Chez des patients présentant de fortes charges virales évocatrices d'une intégration du génome viral dans le génome cellulaire, la quantification de l'ARN_m U100 permettra également de détecter l'existence ou non d'une activité transcriptionnelle signant une multiplication active du virus.

378/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Quantification du cytomégalovirus dans le liquide céphalo-rachidien sur l'automate SmartCycler

J. Grosjean, M. Goudard, B. Boyer, S. Hantz, S. Alain
Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Hygiène, CHU de Limoges, Centre National de Référence du Cytomégalovirus, Limoges, France

Objectifs : Les manifestations neurologiques des infections à CMV à type d'encéphalite ou de méningoencéphalite, bien que décrites, sont rares chez l'immunocompétent. Les méningites sont exceptionnelles. Toutefois ces infections sont plus fréquentes chez le sujet VIH + au stade SIDA, et peuvent être également rencontrées chez les receveurs d'organe ou de cellules souches hématopoiétiques.

Nous proposons un diagnostic rapide et sensible de ces encéphalites par PCR

temps réel adaptée à l'amplification sur Smart Cycler, pour permettre un diagnostic unitaire en urgence combiné avec la détection d'autres virus sur le même appareil (HSV, entérovirus, VZV).

Méthode : Les amorces et la sonde ont été choisies dans le gène codant la glycoprotéine d'enveloppe gH, dans des régions consensus encadrant des régions variables entre les différents génotypes gH du CMV. La gamme a été réalisée par dilutions successives d'un plasmide UL75-gH de 10e7 copies à 1 copie/mL. Les contrôles (10e4 et 10e2 copies/mL de LCR) ont été préparés par dilution d'un prélèvement de salive fortement chargée (>10e7 copies/ml préalablement quantifiée par PCR temps réel dans le gène UL83) en CMV dans du LCR négatif. Après extraction manuelle à l'aide du kit DNA blood mini kit (Qiagen), les PCR ont été réalisées sur automate SmartCycler avec le kit Faststart (Roche) en présence d'UDG.

Résultat : La sensibilité de la PCR est évaluée à 10e2 copies/mL de LCR. L'absence d'amplification de l'ADN d'HSV1 et 2, VZV et HHV-6 atteste de la spécificité. La gamme de quantification linéaire est comprise entre 500 et 109 copies/mL de LCR. La reproductibilité des CT testée sur 5 manipulations sur 5 jours est satisfaisante.

Conclusion : Cette technique permet un diagnostic rapide (en moins de 3 heures), sensible et reproductible des encéphalites ou méningo-encéphalites à CMV. Elle permet aussi de suivre la décroissance de la charge virale sous traitement. Le choix d'amplifier une région variable du gène UL75 à l'aide d'amorces consensus permettra à terme d'utiliser cette PCR pour génotyper les souches de CMV.

379/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation de l'extraction du système VERSAN™T kPCR (Siemens Healthcare Diagnostics) pour réaliser le génotypages HIV-1 (TRUGENE™ HIV1)

C. Chaplain, F. Fleury, S. Mene, I. Gros
Microbiologie, Hôpitaux de Saint-Denis, Saint Denis, France

Objectifs : La nécessité d'obtenir et de maintenir une charge virale (CV) indétectable chez les patients infectés par le VIH est reconnue, aussi nous sommes amenés à réaliser des génotypage de résistance sur des prélèvements ayant des CV de plus en plus faibles, souvent inférieures à 1000 copies/mL. C'est pourquoi nous avons étudié la façon d'améliorer la sensibilité de la technique d'extraction utilisée dans notre laboratoire en routine

Méthodes : L'extracteur utilisé est le Versant™ KPCR SP dont la technique est basée sur une capture des acides nucléiques par des billes magnétiques de silice.

Dans un premier temps nous avons testé le seuil de sensibilité de l'extraction en diluant 2 plasmas, un de sous type B et un de sous type CRF 02, afin d'obtenir des CV égales à 1000, 500 et 250 copies/mL. Puis nous avons extrait 40 plasmas de patients, tout venant, infectés par le VIH1 dont les CV étaient comprises entre 88 et 254816 copies/mL. Pour les CV < 500 copies nous avons réalisé une ultra centrifugation sur 1 mL de plasma, comme nous procédons, en routine, pour l'extraction manuelle.

Les extraits ont ensuite été amplifiés et séquencés avec la trousse TRUGENE™ HIV1.

Résultats : Nous avons pu séquencer les 2 plasmas dilués jusqu'à la dilution de 250 copies.

Le tableau suivant montre les résultats obtenus sur les 40 plasmas et ceux obtenus sur 130 plasmas avec la technique manuelle QIAamp™ de Qiagen utilisée en routine.

	Extraction manuelle (n = 130)			Extraction kPCR (n=40)		
	<500	500<X<1500< P>	>1500	<500	500<X<1500< P>	>1500
Nb de plasmas extraits	9	17	104	8	7	25
Nb de plasmas génotypés (%)	2 (22)	16 (94)	101 (97)	6 (75)	4 (57)	24 (96)

Le tableau suivant montre les différents sous types étudiés :

Nombre	B	CRF02	Autres	Inconnu
40 (%)	6 (15)	11 (28)	17 (43)	6 (15)

Conclusion : Même ci la prise d'essai est supérieure (500µl) à celle utilisée pour la technique manuelle (140µl), l'extraction par l'automate nous permet à la fois un gain de temps, une meilleure qualité de chromatogrammes et une meilleure rentabilité pour les CV < à 500, notre seuil étant de 88 copies/mL

380/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison de deux extractions automatisées, Easy mag (Biomérieux) et QiaSymphony (Qiagen) pour la recherche de virus dans le liquide céphalo-rachidien

B. Boyer[2], I. Traccard[1], S. Grosse[1], J. Grosjean[2-1], S. Hantz[2-1], S. Alain[2-1]
[1]Bactériologie-Virologie-Hygiène [2]CNR Cytomégalovirus, CHU, Limoges, France

Introduction : L'étape d'extraction des ADNs et ARNs viraux est une étape essentielle du diagnostic moléculaire en virologie, qui peut influencer la sensibilité d'une méthode de PCR. Le diagnostic moléculaire des méningites et encéphalites virales est un diagnostic d'urgence, qui peut bénéficier d'une extraction automatisée. Nous avons comparé la méthode Qiagen manuelle aux automates Easy mag (bioMérieux) avec un kit générique ARN/ADN, sur silice micronisée magnétique et QiaSymphony (Qiagen) avec le kit Virus/Bacteria mini kit, sur billes magnétiques.

Matériel et méthodes : Trois gammes de virus (herpès simplex (HSV1), entérovirus, et cytomégalovirus (CMV)) ont été réalisées par dilution de surnageant de culture virale dans un pool de LCRs acellulaires, négatif pour la recherche de virus ou de bactéries et conservées à -80°C avant extraction. Les extraits, obtenus simultanément par les trois méthodes ont été amplifiés le jour même pour le CMV et l'HSV1 et après congélation à -80°C pour les entérovirus. L'extraction manuelle a été effectuée avec la trousse Qiagen DNA blood mini kit pour les virus à ADN et Qiagen ARN mini kit pour les entérovirus. La prise d'essai a été de 200 µL pour l'extraction manuelle et l'automate Easy Mag. Un ajout de diluant (LCR) pour atteindre une prise d'essai de 350 µL a été nécessaire avec le QiaSymphony. Le volume d'élution, identique, était de 60 µL. Les extraits ont été amplifiés dans une même manipulation, par les techniques de routine respectives: «HSV1-2 typing» et «enterovirus» Smart Cycler (Cepheid) et par une PCR CMV artisanale dans le gène *UL83*.

Résultats : Les résultats en terme de sensibilité diffèrent selon le virus considéré. La sensibilité est équivalente (HSV1) ou supérieure de 1 $\log_{10}$ (entérovirus, CMV) après extraction Easy Mag par rapport à l'extraction manuelle. La sensibilité apparaît plus faible que la technique manuelle pour les trois virus après extraction avec le QiaSymphony.

Conclusion : Cette évaluation illustre la nécessité de valider un protocole d'extraction donné avec chaque technique utilisée au laboratoire. Les résultats obtenus avec le QiaSymphony sont à nuancer du fait des conditions expérimentales. Une optimisation des protocoles dédiés au LCR est en cours sur cet automate.

381/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Surveillance épidémiologique de la grippe dans les armées : comparaison de la RT-PCR et d'une technique de diagnostic rapide par immunochromatographie

P. Dubrous, X. Roux, A. Chemoul, P. Leroy, B. Soullié, J.L. Koeck
Biologie clinique, HIA Robert Picqué, Villenave d'Ornon, France

Introduction : Dans le cadre de la surveillance virologique de la grippe, une comparaison des performances de la technique de RT-PCR en temps réel avec celles du TDR a été réalisée dans les unités militaires participant à la surveillance épidémiologique de la grippe.

Méthode : La détection des virus grippaux a été effectuée à partir d'échantillons nasopharyngés ou de gorge au moyen d'un test de diagnostic rapide par immunochromatographie (TDR). Au cours des trois dernières saisons grippales (2006-2009), tous les échantillons issus des patients suspects de grippe ont fait l'objet d'un TDR (Xpect Flu A et B de REMEL) et d'une RT-PCR en temps réel sur LightCycler 2 pour la détection des virus influenza A (gène codant la protéine M) et B. Le gold-standard permettant d'évaluer les performances du TDR et de la RT-PCR de détection était constitué par la réunion des résultats des tests de sous-typage pour le virus A (gènes codant l'hémagglutinine et la neuraminidase), de détermination de la séquence nucléotidique pour le virus B et de la culture virale.

Résultats : Au sein des 5 unités sentinelles, 112 sujets ont été prélevés au cours des trois saisons. Les virus influenza A et B étaient détectés i) respectivement chez 10 sujets et 3 sujets par TDR et ii) respectivement chez 45 sujets et 6 sujets par RT-PCR. Les sensibilités du TDR et de la RT-PCR pour la détection des virus influenza A ou B s'élevaient donc respectivement à 25,5 % et 100 %. Cette meilleure sensibilité a permis de préciser les dates de début et de fin des épidémies au sein des unités et de mettre en évidence la circulation du virus au sein d'unités qui auraient pu être considérées a tort comme indemnes de grippe. Par ailleurs, la charge virale était nettement plus élevée dans les échantillons nasopharyngés que dans les écouvillonnages de gorge, avec un écart de 3 CT (cycles seuils) en moyenne (Wilcoxon W=17, p = 0,0006).

Conclusion : La RT-PCR est la technique de référence pour la détection des virus influenza A H1N1 2009. Les résultats de cette étude montrent qu'il s'agit d'un test utile dans le cadre de la surveillance virologique de la grippe saisonnière. Son utilisation dans les enquêtes d'efficacité vaccinale ou les essais cliniques permettrait d'améliorer la fiabilité des résultats.

382/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Quantification du génome du cytomégalovirus dans le sang total avec les trousses CMV Artus et CMV R-gene après extraction sur l'automate QiaSymphony. Effet de la conservation des prélèvements sur la quantification

B. Boyer[2], M. Goudard[2], M.C. Ploy[1], S. Alain[2-1]
[1]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren [2]CNR Cytomégalovirus, 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 et peut nécessiter la reprise en parallèle de certains échantillons. Nous avons comparé les performances de 2 trousses sur sang total: CMV Artus (Qiagen) et CMV R-gene (Argène), et étudié l'impact de l'extraction automatisée sur la quantification et la conservation des échantillons.

Méthodes : Les deux méthodes ont été évaluées en référence à la PCR Taqman UL83 de routine du laboratoire (Mengelle et al., J Med. Virol., 2003). L'extraction a été effectuée en parallèle sur l'automate Qiasymphony (Qiagen) avec le kit générique, à partir d'une gamme de 1 à 10^E6 copies/mL (dilution en sang total d'un prélèvement de salive à10^E8 copies/ml), d'une gamme de virions AD169 diluée en sang total (10^E8 à10^E4copies/mL), et de prélèvements cliniques (7 positifs faibles entre 10^E2 et 10^E4 copies /ml et 5 de titre variable, à 3, 19, 52, 374 et 459 cellules pp65 positives en antigénémie). Les extraits ont été testés immédiatement puis aliquotés et conservés 6 mois à +4°C et à -20°C.

Résultats : La conservation à +4°C ou à -20°C après extraction automatisée n'affecte pas la quantification avec la trousse CMV Artus. Les extraits conservés à -20°C après extraction sur Qiasymphony ont donc été utilisés pour les trousses R gene et CMV Artus et pour la PCR UL83. Les coefficients de corrélation entre la trousse Artus et la PCR UL83, la trousse R-gene et la pCR UL83, et entre les deux trousses sont respectivement pour la gamme de 1 à 10^E6 copies : R^2 = 0,94, 0,85 et 0,97 ; pour la gamme de virions 0,98, 0,99 et 0,98 et pour les échantillons cliniques 0,82, 0,60 et 0,96. Ceci illustre la moins bonne sensibilité de la PCR UL83 sur les échantillons cliniques au voisinage de 10^E3 copies/mL.

Conclusion : La bonne corrélation entre les deux trousses permet d'envisager, sur des études plus larges, de définir, pour une extraction automatisée donnée, des corrélations entre les charges virales obtenues avec des trousses standardisées différentes.

383/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation de l'extracteur QIAcube et du test Artus EBV RG PCR kit (Qiagen) pour la mesure de la charge virale EBV dans le sang total

R. Germi[1-2], T. Semenova[1], N. Magnat[1], J.M. Seigneurin[1-2], P. Morand[1-2]
[1]Laboratoire de virologie, CHU de Grenoble [2]UMI UJF-CNRS-EMBL 3265, Grenoble, France

Introduction : La quantification par PCR en temps réel de la charge virale (CV) du virus d'Epstein-Barr (EBV) dans le sang est un outil indispensable chez les patients transplantés pour le diagnostic et le suivi des syndromes lymphoprolifératifs post-transplantation (SLPT). La CV EBV peut-également être utile dans d'autres maladies associées à l'EBV. Des tests commerciaux fiables devraient permettre la mesure et le suivi de la CV EBV plus facilement.

Méthode : Nous avons évalué pour la mesure de la CV EBV dans le sang total une solution commerciale intégrée comportant une extraction par l'automate QIAcube avec le kit QiAamp DNA mini kit (Q) suivi d'un test PCR « Artus EBV RG PCR kit » (Qiagen), utilisant la plateforme d'amplification Rotor-Gene. Cette stratégie a été comparée à notre PCR « maison » utilisée en routine combinant une extraction automatisée (MagnaPur, MP) et une amplification sur la plateforme LightCycler 2.0 (Roche Diagnostics).

Résultats : Deux cent prélèvements de sang total correspondant à 124 patients (transplantés d'organe solide ou de cellules souches hématopoïétiques, HIV, primo-infection à EBV, SLPT) on été testés. Parmi ces 200 prélèvements, 81 correspondaient à des suivis de la CV EBV de 8 patients.

La comparaison des 2 plateformes d'extraction entre elles en utilisant la même PCR (PCR Maison) montre une corrélation moyenne (R^2>0.77).

La comparaison des deux plateformes PCR entre elles après extraction par l'extracteur Q montre une bonne corrélation entre les deux techniques (R^2>0.85).

La comparaison des 2 solutions intégrées (MP+PCR Maison versus Q+kit Artus) montre une corrélation moyenne (R^2>0.72).

Les résultats discordants (+/-) sont observés exclusivement pour les CV<1000 copies/mL: Parmi les 10 prélèvements discordants entre les deux PCR 7 sont + en PCR Maison et - en Artus ; inversement 3 sont + en Artus et - en PCR Maison. Parmi les 26 prélèvements discordants entre les deux solutions intégrées 20 sont + en MP+PCR Maison et - en Q+Artus ; inversement 6 sont positifs en Q+Artus et négatif en MP+PCR.

Conclusion : La plateforme Q+Artus permet une mesure fiable de la charge virale EBV dans le sang total mais cette étude confirme la nécessité de suivre la CV d'un même patient par une seule et même technique.

384/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Intérêt de la PCR temps réel Cepheid Xpert SARM/SA sur GeneXpert DX System dans la prise en charge de la bactériémie à staphylocoque

A. Scanvic[1], J.P. Sollet[2], L. Courdavault[1], F. Le Turdu[1]
[1]Biologie [2]Unité d'antibiothérapie, CH V. Dupouy, Argenteuil, France

Sur une période de 18 mois (de févier 2008 à juillet 2009) au centre hospitalier d'Argenteuil, 51 PCR temps réel Cepheid Xpert SARM/SA sur GeneXpertÒ DX System ont été réalisées sur des flacons d'hémocultures présentant un examen direct positif à staphylocoque. Le résultat de la PCR était transmis au clinicien par la microbiologie; la présence d'une antibiothérapie probabiliste était notée et modifiée si nécessaire après discussion entre le clinicien et le référent antibiothérapie.

23 PCR étaient positives pour *S. aureus* dont 2 résistants à la méthicilline, 28 étaient du staphylocoque coagulase négative. Aucune discordance entre l'identification (S. aureus) et la résistance à la méticilline n'a été observée.

Parmi les 32 bactériémies cliniquement significative (23 à *S. aureus* et 9 à staphylocoque coagulase négative) : 17 (53%) patients avaient une antibiothérapie inadaptée (11 patients sans antibiothérapie, 6 sous béta-lactamines). Pour ces 17 patients, une antibiothérapie adaptée a été mise en place après transmission du résultat de la PCR au clinicien.

15 patients avaient une antibiothérapie probabiliste adaptée au moment de la transmission du résultat. Parmi ces 15 patients, 11 ont bénéficié d'un changement d'antibiothérapie large spectre pour une restriction du spectre par un antistaphylococcique (oxacilline).

Parmi les 19 bactériémies à staphylocoque coagulase négative considérées comme non cliniquement significative : 4 patients étaient déjà sous antibiothérapie pour d'autres infections et leur traitement n'a pas été modifié. 13 antibiothérapies probabilistes ont été évitées chez des patients ayant un contexte clinique compatible avec une bactériémie à staphylocoques (escarres multiples, antécédent de portage ou d'infection à SAMR ou SAMS, néoplasie fébrile, hémodialysé, présence de matériel intravasculaire ou de prothèse).

La PCR temps réel Cepheid Xpert SARM/SA sur GeneXpertÒ DX System est devenu un outil incontournable au sein de notre laboratoire dans l'accompagnement du rendu d'une hémoculture positive à staphylocoque. Ce test est rapide (50 minute) et fiable et permet d'optimiser l'antibiothérapie au sein de notre hôpital. Malheureusement, son coût reste non négligeable car il est de 61 euros par test.

385/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Place de la PCR quantitative dans le diagnostic et le suivi d'une infection à Parvovirus B19

A. Paquin, S. Ranarijaona, M. Coste-Burel
Service de Virologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France

Le virus B19 est associé à un spectre large de pathologies : mégalérythème épidémique, arthralgies, crises érythroblastopéniques chez des patients atteints d'anémie hémolytique constitutionnelle, anasarques foeto-placentaires ; l'infection aiguë peut évoluer vers la chronicité chez le patient immunodéprimé et se traduire par une anémie persistante. La sérologie (IgG, IgM) reste l'examen de première intention mais le recours à la détection génomique qualitative est nécessaire dans un grand nombre de cas. La place de la PCR quantitative reste encore mal définie dans ce diagnostic. Une étude rétrospective a été effectuée sur les prélèvements sanguins positifs en PCR virus B19 entre juin 2007 et juin 2009 au laboratoire de virologie du CHU de Nantes. Une partie de ces échantillons, correspondant à différents profils cliniques, a été ré-analysée à l'aide d'une PCR quantitative développée au laboratoire.

L'analyse moléculaire amplifie un fragment de 81pb (amorces choisies dans la région NS1 du génome viral) par PCR temps réel sur Rotorgen 3000 (Qiagen) en sonde Taqman. L'intégration du produit de PCR dans le plasmide pCR 2.1 (TOPO TA cloning (Invitrogen) a permis la construction d'une gamme d'étalonnage et la mise au point de la quantification ADN.

85 PCR+, issues de 42 patients (H/F=1 , âge moyen=24 ans, immunodépression:52%), ont été répertoriées sur la durée de l'étude. Les paramètres hématologiques (GB, Hb, Pq) de 2 groupes de patients immunocompétents établis sur la base de la charge virale (< ou > 6.4log copies/ml) ont été étudié. Seule l'hémoglobine est significativement associée à l'intensité de la charge virale (p=0.0004). Parmi les patients immunodéprimés, 2 ont bénéficié de prélèvements itératifs permettant une étude cinétique de la décroissance de leur charge virale ; celle-ci diminue fortement le 1er mois (> - 4 log) puis très lentement par la suite.

La PCR qualitative du virus B19 est un examen complémentaire à la sérologie, particulièrement utile pour le diagnostic précoce d'une infection aiguë ; l'intérêt de la virémie quantitative semble être restreint au suivi du sujet immunodéprimé, à risque d'évolution vers une forme chronique, chez qui l'intervention thérapeutique pourrait être adaptée à la cinétique de décroissance de la charge virale.

386/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Relevance of a predictive rule in the management of acute common adult meningitis

C. Rapp[2], L. Bochu[2], C. Ficko[2], S. Duron[1], F. Méchai[2], M. Billhot[2], C. De Moreuil[2], P. Imbert[2], D. Delarbre[2]
[1]Ecole du Val de Grâce, DESP Nord, Paris [2]Maladies infectieuses, HIA Bégin, Saint Mandé, France

Introduction: The differential diagnosis between bacterial meningitis (BM) and viral meningitis (VM) is sometimes difficult. In order to distinguish between these two groups, clinical and practical guidelines have been established in adults. This study aimed first to assess the Dijon scale efficiency in acute adult meningitis at emergency departments. Then second, to compare it to the Hoen and Nigrovic scoring tools.

Methods: We retrospectively included all patients admitted for BM or aseptic meningitis between January 1, 2002 and December 31, 2008. Immunocompromised persons (HIV, splenectomy) and patients suffering from tuberculous meningitis or Lyme disease were excluded. The intrinsic performances [sensitivity (Se), specificity (Sp), positive predictive value (PPV), negative predictive value (NPV)] of the three scoring tools (Dijon, Hoen and Nigrovic) were retrospectively evaluated then compared to each other.

Results: One hundred seventy two patients were included. Twenty patients

(11.6%) had a BM (*N. meningitidis, S. pneumoniae, Listeria, M. pneumoniae*). One hundred and eight (63%) had a certain or probable VM (Enterovirus; 69, Herpes *viridae*; 17, HIV; 2, other; 20). In 44 cases, the origin could not be determined. Among the 103 patients classified as low risk of bacterial meningitis (scale < 6), only two cases had a BM (leptospirosis and *M. pneumoniae*). The scoring tool had a Se of 90% and a Sp of 95.4%. PPV and NPV were respectively of 78,3% and 98,1%. The exclusion of two rare causes of meningitis improved the performances (Se 100% and NPV 100%). The intrinsic performances of the Dijon scoring tool were comparable to those of the Hoen scoring tool and higher than those of the Nigrovic scoring tool which had a Sp and PPV of 84.3 and 50% respectively. The use of the Dijon scoring tool would probably have reduced of 7,6% the number of hospitalization days and avoided 48,0% of unnecessary presumptive antibiotherapies.

Conclusions: The use of a scoring tool is a useful supplement in the acute meningitis global diagnostic chart of the adult. In adults, intrinsic performances of the Dijon scoring tool were comparable to those of the Hoen scoring tool recommended by national guidelines. Due to its simplicity, its daily use in emergency wards would help reduce hospitalization duration and unnecessary antibiotics prescription.

387/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Prévalence du CMV au cours des phases d'exacerbation des maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin. Intérêt de la quantification virale à partir des biopsies coliques

T. Reig[3-4], H. Brixi-Benmansour[2], F. Renois[3-4], A. Lukaszewiez[1], C. De Champs[3], V. Brodard[3], L. Andréoletti[3-4], M.D. Diebold[1], N. Lévêque[3-4]
[1]Laboratoire d'Anatomopathologie [2]Service de Gastro-entérologie [3]Unité de Virologie Médicale et Moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire [4]EA4303/IFR53, Faculté de Médecine, Reims, France

Contexte : Les maladies inflammatoires cryptogénétiques de l'intestin (MICI) comprennent la rectocolite ulcéro-hémorragique (RCH), la maladie de Crohn (MC) et les colites non classées. Les MICI touchent essentiellement le sujet jeune. Leur prévalence a doublé au cours des cinquante dernières années et est évaluée en Europe occidentale entre 1/500 et 1/2000 habitants. Cette maladie chronique évolue sous forme de poussées entrecoupées de périodes de rémission. Depuis la première observation d'inclusions caractéristiques du CMV retrouvées dans les biopsies coliques d'un patient atteint de RCH en 1961, une vingtaine d'articles publiés sur le sujet ont rapporté une prévalence de l'infection à CMV plus élevée chez les patients MICI que dans les populations contrôles suggérant un rôle aggravant du virus dans l'évolution clinique de la maladie.

Patients et Méthodes : Soixante-huit biopsies coliques prélevées au cours d'une poussée de MICI entre Mai 2005 et Mai 2009 chez 53 patients (20 RCH et 33 MC; sexe ratio M/F : 0,77; Age moyen : 59 ans) ont été rétrospectivement analysées. Après une étape préliminaire de broyage et de fluidification de la biopsie à l'aide de la protéinase K, l'ADN total a été extrait grâce à l'automate NucliSens easyMAG (BioMérieux, France) puis dosé sur spectrophotomètre. Une PCR GAPDH a permis de vérifier la bonne qualité de l'ADN extrait avant détection et quantification du CMV par PCR en temps réel. Les charges virales mesurées ont été exprimées en nombre de copie/µg d'ADN extrait et confrontées aux données cliniques collectées (sévérité de la poussée, mise en place d'un traitement antiviral…). Le groupe contrôle était constitué de 15 biopsies coliques prélevées chez des patients adultes ayant bénéficié d'une transplantation rénale (sexe ratio M/F: 2,75; Age moyen: 45 ans).

Résultats : Une infection à CMV a été retrouvée chez 13,2% des patients souffrant de MICI en phase d'exacerbation (8 biopsies positives provenant de 7 patients). Les charges virales mesurées étaient alors respectivement comprises entre 197 et 1146 copies/µg d'ADN extrait. Aucune corrélation entre la détection du CMV, le niveau de charge virale et les marqueurs de gravité n'a pu être établi (p>0.05). La prévalence du CMV dans la population contrôle a été estimée à 13,3%.

Conclusion : Cette étude rétrospective portant sur une période de 4 ans n'a pas permis de mettre en évidence une prévalence significativement supérieure du CMV chez les patients atteints de MICI par rapport au groupe contrôle. De plus, la détection du CMV à de faibles niveaux de charge virale chez 7 patients n'a pu être reliée à une modification de la prise en charge thérapeutique ni à une évolution clinique spécifique. Le rôle du CMV en tant que facteur aggravant ou déclenchant de la poussée de MICI ne semble donc pas clairement établi.

388/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évolution de la séroprévalence de la rubéole chez la femme en âge de procréer de 1995 à 2009 :
analyse rétrospective des données du laboratoire de virologie de Lyon

J.S. Casalegno, Y. Mekki, V. Escuret, M. Bouscambert-Duchamp, E. Frobert, B. Lina
Laboratoire de Virologie, Centre de Biologie Est, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Introduction : Le virus de la rubéole, est responsable chez la femme enceinte d'infections congénitales pouvant entraîner une atteinte sévère du fœtus. La vaccination a d'abord été introduite dans le calendrier vaccinal français en 1983 puis à partir de 1996 un rappel a été recommandé. Malgré ces recommandations une partie de la population est toujours insuffisamment vaccinée et reste exposée au risque d'infection congénitale. L'objectif de cette étude a été de mesurer à partir des données du laboratoire la séroprevalence des patientes en age de procréer pour la rubéole.

Matériels et Méthodes : Entre le 01/01/1995 et le 05/08/2009 6101 analyses de sérologie rubéole IgG ont été réalisées au sein de notre laboratoire pour des patientes de sexe féminin. Une analyse rétrospective de ces 14 années de données a été conduite pour évaluer la séroprévalence de ces anticorps. La population étudiée à une moyenne d'âge de 28,7 ans (15 à 50 ans) et est constituée uniquement de femmes. Elle provient principalement des services de Gynécologie (consultation 44,8% et hospitalisation 15,8%).

Résultats : La séroprévalence moyenne est de 84,6 %(83,6; 85,5 IC95%), plus 8,1% de patientes avec des valeurs limites inférieures au seuil de positivité (définies comme IgG limite) soit 7,3%de patientes séronégatives ce qui est cohérent avec les estimations actuelles. Le pourcentage de patientes séronégatives varie fortement en fonction de la date de naissance et l'âge au moment du prélèvement. La séronégativité est maximale pour les patientes âgées de 15 à 19 ans au moment du prélèvement notamment pour les patientes nées entre 1980 et 1985 (19,2%) contre 14,7% pour les patients nées entre 1980 et 1985 et 8,9% pour les patients nées entre 1975 et 1979. Puis cette séronégativité diminue dans la tranche d'age des patientes de 20 à 25 ans pour atteindre 6,4% pour les patientes nées entre 1980 et 1985 et 8,2% pour les patientes nées entre 1975 et 1979.

Conclusions : Ces résultats confirment l'existence d'une actuelle d'une population réceptive à la rubéole notamment dans la classe d'age de 15 à 19 ans. Celle-ci s'est constituée essentiellement après l'introduction du vaccin en 1983. Il apparaît donc important de veiller à la bonne application des recommandations du calendrier vaccinal et de s'assurer si nécessaire par un contrôle sérologique du statut immunitaire des patientes en age de procréer.

389/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Intérêt du diagnostic moléculaire dans le domaine des infections respiratoires à entérovirus.
Apport de la PCR et du génotypage pour une meilleure approche de la circulation des souches en Basse-Normandie au cours de l'année 2008

J. Petitjean Lecherbonnier, A. Ancelle, J. Dina, S. Gouarin, A. Vabret
Laboratoire de Virologie humaine et moléculaire, CHU, Caen, France

Alors que la place de la PCR est bien reconnue pour le diagnostic des infections neuroméningées à entérovirus (EV), leur place en pathologie respiratoire est encore mal définie et relève plutôt d'un intérêt épidémiologique.

En 2008, au laboratoire de virologie, CHU Caen, 3614 aspirations nasales (AN) ont été analysées séquentiellement avec :

1/ une recherche systématique par isolement en culture cellulaire MRC5 (n= 3614)

2/ sur les AN négatives à l'immunofluorescence directe, une inoculation sur cellules HuH7, suivie en cas de lyse à J4, d'une PCR picornavirus (PEVRV) sur le surnageant de culture (n = 821). La différentiation entre rhinovirus (RV) et EV se fait sur la longueur du segment amplifié.

Une recherche systématique par une RT-PCR temps réel maison (PEV) a été réalisée sur 324 des 3614 AN : tous les nouveaux-nés < 2 mois (n = 306) et 18 enfants (2 mois à 2 ans) hospitalisés pour détresse respiratoire ou syndrome méningé. Sur 92 AN ont été réalisées PEVRV et PEV.

Un génotypage EV a été réalisé sur 65 isolats (Nix et al, 2006)

Résultats

- 37 EV ont été isolés par culture (1%)

- PEVRV et PEV permettent d'identifier respectivement 41 « picornavirus » et 23 EV supplémentaires, portant le nombre de positif à 101 (2.8 %)

- sur les 324 AN testées par PEV : 34 sont positives (10.5%) alors que la culture ne permet d'isoler que 7 picornavirus (6 EV et 1 RV).

- sur les 92 AN testées par PEVRV et PEV: 45 sont négatives, 26 sont uniquement positives en PEVRV (25 RV, 1 EV+RV) et 21 sont positives par les 2 PCR (4 EV, 12 RV et 5 EV+RV). Ces 21 AN ont été contrôlées positives avec la trousse temps réel Enterovirus R-gene *Argène*.

- la distribution des AN 'EV positives' montre un pic en octobre-novembre (42%)

- les EV les plus souvent identifiés sont : EV68 (29.7%), CB3 (18.7%), E3 (14.1%), CA9 (9.4%), CB1 (9.4%). On note un pic automnal très net d'isolement EV68 (17 cas vs 18 cas-RSE).

Les méthodes moléculaires permettent de détecter et d'identifier les EV non détectés en culture cellulaire. La grande similitude génétique entre certains EV et RV fait qu'il est parfois difficile de les différentier par les techniques PCR (5'NC). Aussi au niveau du tractus respiratoire, il conviendrait de rendre présence de « picornavirus ». Seul le génotypage permettra de les identifier de façon précise.

En conclusion l'application de ces techniques moléculaires permet une meilleure appréhension de la place des EV dans les infections respiratoires et donne une image plus précise de la circulation des souches EV.

390/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Épidémiologie des infections virales dans les atteintes neuroméningées chez les immunocompétents en Tunisie

I. Nahdi[5], B.M. Imbert-Marcille[2-1], S. Hammami[3], F. Ben Romdane[4], M. Aouni[5], C. Bressollette-Bodin[2-1]
[1]Service de Virologie, Centre Hospitalier Universitaire de Nantes [2]EA 4271, UFR de Pharmacie, Université de Nantes, Nantes, France [3]Service de Pédiatrie [4]Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Universitaire Fattouma Bourguiba [5]Laboratoire des Maladies Transmissibles et substances Biologiquement Actives, LR99-ES 27, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir, Monastir, Tunisie

Les affections neuroméningées aiguës non bactériennes sont souvent liées à des infections virales, notamment par un entérovirus (EV) mais également par un herpesvirus. L'infection par le cytomégalovirus humain (CMV), habituellement bénigne chez l'immunocompétent, peut être responsable d'atteintes du système nerveux central ou périphérique.

Une étude rétrospective a été réalisée chez des patients hospitalisés à Monastir (Tunisie) afin de déterminer l'épidémiologie des infections virales dans les atteintes neuroméningées non bactériennes. Les liquides céphalo-rachidiens (LCR) de 79 enfants (< 15 ans) et 47 adultes immunocompétents, tous séronégatifs pour le VIH, ont été collectés entre septembre 2007 et juin 2009. Les tableaux cliniques étaient respectivement: méningite (n=77), méningo-encéphalite (n=9), convulsion hyperthermique (n=22), neuropathie aiguë périphérique (n=18). Les arguments en faveur de l'origine virale étaient: absence de bactéries dans le LCR, protéinorachie normale ou modérément augmentée sans hypoglycorachie, CRP modérément augmentée (<30 mg/ml). Les recherches des génomes viraux du CMV, de l'Herpes humain type 6 (HHV6), des Herpes simplex 1 et 2 (HSV1/2), du virus de la varicelle zona (VZV) ainsi que des EV ont été réalisées par PCR temps réel « maison ».

Au moins un génome viral a été détecté dans 59 des 126 LCR analysés (46.8%). Il s'agissait d'un EV dans 26.2% des cas (n=33), majoritairement dans un contexte de méningite chez des enfants ou adultes jeunes. Le CMV était le seul pathogène dans 15 cas de méningites lymphocytaires, deux encéphalite, une atteinte périphérique. Il a également été détecté en association à un EV (4 méningites) et à l'HSV2 (2 méningites). L'HSV1 était détecté dans 3 méningites, l'HSV2 dans 5 méningites et une encéphalite. Le VZV était détecté chez 4 patients présentant un syndrome méningé associé à une varicelle. Enfin, l'HHV6 était détecté chez deux patients.

Dans cette cohorte tunisienne de patients immunocompétents, le CMV représentait le deuxième agent isolé dans le LCR après les EV. Le CMV peut réactiver secondairement à une infection par un autre agent pathogène, mais cette étude souligne également son implication possible comme agent directement responsable d'une pathologie neuroméningée aiguë.

391/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Clinical features of rotavirus infection and relation with the RNA electropherotypes and genotypes detected between 2000 and 2007 in Tunisian children

A. Chouikha, I. Fodha, M. Ben Hadj Fredj, I. Methlouthi, I. Brini, F. Messadi, M. Hachicha, M. Zribi, A. Bouaziz, S. Bousnina, A. Harbi, T. Sfar, S. Chouchène, N. Boujaafar, A. Trabelsi
Virologie, Hôpital Sahloul, Sousse, Tunisie

Background: Group A rotavirus is associated with acute infectious diarrhoea in children. The clinical manifestations of rotavirus infection are classified as mild, moderate and severe and could be the results of differing rotavirus serotypes. Attempts have been made to correlate the severity of the infection with specific rotavirus strains, but the results have been inconclusive. The objective of the present study was to correlate the severity of the rotavirus infection with the strains of rotavirus isolated and with age and gender of the patients.

Methods: 2050 faecal specimens collected from children between 2000 and 2007 were examined by ELISA for the presence of group A rotavirus antigen. The rotavirus-positive samples were subjected to polyacrylamide gel electrophoresis to characterize the electrophoretic pattern, and to nested reverse-transcription-PCR to determine the G and P types. The severity of clinical symptoms was assessed using a scoring system.

Results: Rotavirus detection rate was 21.4%. The statistical analysis showed no significant difference in the clinical manifestations of rotavirus infection with either the electrophoretic or genotype characteristics of the rotavirus isolates. However, the severity of clinical illness was correlated with the age of the children (P= 0.04). Moreover, community acquired infections caused significantly more severe disease than nosocomial infections (P<0.001).

Conclusion: Whatever was the viral strain isolated, rotavirus infection was usually mild in neonates and children older than 2 years of age, whereas it was severe in 6 to 12 months' old children.

392/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

L'HHV7 : co-facteur des infections méningées à entérovirus ?

A. Van Haecke[1-2], A. Sandré[1-2], L. Moutte[1-2], A. Huguenin[1-2], F. Renois[1-2], V. Brodard[1], L. Andréoletti[1-2], N. Lévêque[1-2]
[1]Unité de Virologie médicale et moléculaire, Centre Hospitalier Universitaire [2]EA4303/IFR53, Faculté de médecine, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

Introduction : L'évaluation d'un nouveau système d'hybridation ADN/ADN sur micro puce permettant la détection simultanée de 8 virus à ADN (les virus HSV1 et 2, le VZV, l'EBV, le CMV, l'HHV6, 7 et 8) et de virus à ARN, les entérovirus, a permis la mise en évidence d'un nombre important de co-infections entérovirus/HHV7 chez des enfants hospitalisés pour méningite aseptique au cours de l'année épidémique 2005.

Patients et méthodes : Trente liquides céphalorachidiens (sexe ratio M/F : 5; Age moyen : 7 ans) initialement trouvés positifs pour la présence d'un entérovirus par la trousse Andiatech® (RT-PCR en temps réel) et 10 LCR négatifs pour la présence d'un entérovirus (sexe ratio M/F : 1,5; Age moyen : 6 ans) prélevés chez des patients hospitalisés pour syndrome méningé fébrile entre juillet et août 2005 au CHU de Reims ont été sélectionnés et rétrospectivement analysés avec la trousse Entherpex® (Genomica, Madrid). Les données cliniques et épidémiologiques relatives à chaque patient ont été recueillies. La charge virale rachidienne des LCR entérovirus-positifs a été mesurée.

Résultats : Neuf co-infections par l'HHV7 ont été détectées parmi les 30 LCR positifs pour la présence d'un entérovirus. L'HHV7 n'a été retrouvé que dans un seul prélèvement entérovirus-négatif (30% vs 10%, $p<10^{-3}$). Les niveaux de charge virale entérovirus mesurés chez les patients co-infectés s'échelonnaient entre 914 et 51500 copies/ml tandis qu'ils étaient compris entre 212 et 163000 copies/ml dans les cas de mono-infections. Les taux d'interféron alpha ainsi que les caractéristiques cliniques (évolution clinique et durée d'hospitalisation) n'étaient pas significativement différentes entre mono-infections par un entérovirus seul et co-infections entérovirus/HHV7.

Conclusion : Il s'agit de la première description de co-infections entérovirus/HHV7 chez des patients présentant un tableau de méningite aseptique en période estivale. Si le statut de pathogène neurotrope des entérovirus est connu depuis longtemps, celui de l'HHV7 reste encore à démontrer. De futures études à plus large échelle devront confirmer ces résultats préliminaires et déterminer les conséquences en termes de pronostic clinique et de prise en charge thérapeutique de la co-infection par l'HHV7.

393/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Séroprévalence des infections à HSV-1 et HSV-2 en France métropolitaine

J. Le Goff[3], Y. Le Strat[4], P. Morand[1], Y. Mekki[2], M. Baccard Longère[1], A. Gallay[4], F. Barin[5], C. Semaille[4]
[1]Laboratoire de virologie, CHU, Grenoble [2]Laboratoire de virologie Est, Hôpitaux civils de Lyon, Lyon [3]Laboratoire de microbiologie, Hôpital Saint-Louis, Paris [4]Insititut de veille sanitaire, Saint Maurice [5]Laboratoire de virologie, CHU Bretonneau, Centre National Référence du VIH et INSERM U966, Tours, France

Introduction : Les données de la prévalence des infections à herpes simplex virus type 1 (HSV-1) et type 2 (HSV-2) en France étaient parcellaires et concernaient en majorité des populations spécifiques. La seule étude réalisée au sein de la population générale date de 1996 et ne concernait que les femmes de plus de 35 ans et les hommes de plus de 45 ans.

Objectifs : L'objectif principal est d'estimer la séroprévalence des infections-HSV-1 et HSV-2 dans la population générale française adulte âgée de 18 à 60 ans. Les objectifs secondaires sont d'estimer ces prévalences par sexe, classe d'âge et par régions et d'étudier les facteurs sociaux démographiques associés à une séropositivité HSV-1 ou HSV-2.

Méthodes : L'institut de veille sanitaire a conduit en 2004 en France métropolitaine une étude de séroprévalence des hépatites auprès d'un échantillon aléatoire d'assurés sociaux du régime général. A partir des 5 777 sera des personnes âgées de 18 à 60 ans, la détection des anticorps anti-HSV-1 et anti-HSV-2 a été réalisée avec les trousses HerpeSelectÒ 1 ELISA IgG et HerpeSelect 2Ò ELISA IgG (Focus Diagnostics) respectivement, conformément aux recommandations du fabricant.

Résultats : La prévalence moyenne de l'infection HSV-1 est de 67%, 70,4% (IC95%; 67,8–72,9) chez les femmes et 63,5 % (60,7–66,3) chez les hommes. En analyse multivariée, les facteurs de risque d'infection à HSV-1 sont l'âge, le sexe féminin (OR=1,5), le niveau d'éducation (sans baccalauréat, OR=1,94), d'avoir séjourné hors de France métropolitaine (OR=1,67). La prévalence moyenne de l'infection HSV-2 est de 15,3%, 19,3% (17.4–21.4) chez les femmes et de 11,4 % (9.8–13.1) chez les hommes et plus fréquente dans la région de l'Ile de France (20%) et dans la région Sud-Est (18,5%). En analyse multivariée, les facteurs de risque d'infection à HSV-2 sont le sexe féminin (OR=2,5), d'avoir séjourné hors de France métropolitaine (OR=1,4), d'être usage de drogue intraveineuse (OR=4,1), d'avoir plus de 10 partenaires sexuels dans sa vie (OR=2,2).

Conclusion : Cette étude confirme une prévalence élevée et stable des infections à virus herpes simplex en France. Les résultats confirment aussi que le sexe féminin et le nombre de partenaires sexuels représentent des facteurs de risque importants d'infection à HSV-2.

394/75A — 3 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Rougeole, oreillon, rubéole : nous sommes tous exposés mais sommes-nous protégés ?

J.S. Casalegno, Y. Mekki, G. Billaud, F. Morphin-Sherpa, B. Lina
Laboratoire de virologie, Centre de Biologie Est, Hôpital Femme-Mère-Enfant, Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Introduction : Le vaccin trivalent ROR rougeole, oreillon, rubéole, a été introduit en 1986 dans le calendrier vaccinal pour tous les nourrissons puis un rappel a été recommandé à partir de 1996. Cette stratégie a permis de réduire considérablement la morbidité et la mortalité associées à ces trois maladies. Cependant la couverture vaccinale apparaît encore insuffisante dans certaines régions favorisant la survenue d'épidémies. En tant que personnel de santé nous sommes les premiers exposés à ces virus extrêmement contagieux. L'objectif de cette étude a été d'estimer à partir des données du laboratoire la protection du personnel de santé pour ces trois agents viraux.

Matériels et Méthodes : Entre le 01/01/1997 et le 05/08/2009 540 analyses de sérologie rubéole, oreillon, rougeole IgG ont été réalisées au sein de notre laboratoire pour les services de médecine du travail. Une analyse rétrospective de ces données a été conduite pour évaluer la séroprévalence de ces anticorps. La population étudiée a une moyenne d'âge de 33,6 ans, et est essentiellement féminine (89,3% de sexe féminin).

Résultats : Pour la rougeole (n= 256) la séroprévalence moyenne est de 92,2% (88,2 ; 95,2 IC95%) avec 3,1% du personnel avec des valeurs limites inférieures au seuil de positivité (définies comme IgG limite) soit 7,3% du personnel séronégatif. Pour les oreillons (n=28) la séroprévalence moyenne est de 71,4%(51,3 ; 86,8 IC95%) avec 21,4% du personnel séronégatif. Pour la rubéole (n=312) la séroprévalence est de 91% (87,3; 94 IC95%) avec 3,2% du personnel IgG limite soit 7,3% du personnel séronégatif.

Conclusions : A l'hôpital il apparaît donc qu'une partie non négligeable du personnel soignant ne présente pas d'anticorps détectables contre les virus de la rougeole, de la rubéole et des oreillons. Devant une recrudescence ces dernières années des épidémies, notamment de rougeole, il est nécessaire de prendre conscience de la vulnérabilité d'une partie de notre personnel soignant devant ces pathologies très contagieuses. Les conséquences possibles sur la santé du personnel et le risque nosocomial nous impose de connaître si nécessaire par la sérologie l'état de nos « défenses immunitaires ».

395/76A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Émergence de l'infection à VIH/sida chez l'enfant dans l'Ouest algérien

F. Razik, F. Bensaadoune, S. Kouid Belkadi, K. Erouane, C. Abderahim, N. Mouffok, A. Bouabdellah, S. Abidi
Maladies Infectieuses, Centre Hospitalo-Universitaire d'Oran, Oran, Algérie

Introduction : En Algérie, on assiste ces dernières années à l'émergence de l'infection à VIH/sida chez l'enfant, notamment dans la région Ouest ou on retrouve plus de la moitié des cas pédiatriques notifiés à l'échelle nationale.

Objectif : Rapporter la situation épidémiologique, clinique et évolutive de l'infection à VIH/sida chez l'enfant dans la région Ouest de l'Algérie.

Matériels et méthodes : Étude rétrospective de 1997 à 2008, concernant les dossiers de 68 enfants infectés par le VIH suivis dans le service des maladies infectieuses du centre hospitalo-universitaire d'Oran, centre de référence des IST/ VIH/sida de l'Ouest Algérien.

Résultats : Nous avons notifié 21 enfants infectés par le VIH pour la période de 14 ans (1991-2004), alors que pour la période de 4 ans (2005-2008) nous avons enregistré 47 nouveaux cas soit 70% de notre effectif. L'âge des enfants est compris entre 20 jours et 14 ans avec une moyenne de 28 mois ; au moment du diagnostic, 55 cas (80%) avaient moins de cinq ans, le sex ratio est de l'ordre de 1,95 (45 garçons / 23 filles), la notion de vaccination complète à la naissance est retrouvée chez 35 enfants (51,47%), la transmission verticale est documentée pour 64 cas (94%) ; l'allaitement maternel est retrouvée chez 59 enfants (87%), la symptomatologie clinique est faite : d'amaigrissement 53 cas (78%), d'adénopathies persistantes 49 cas (72%), diarrhée chronique 43 cas (6 3,66%), candidoses oropharyngés 31cas (44,65%), infections pulmonaires 29 cas (42,64%), otites purulentes 28 cas (41,17%), retard staturo-pondérale 17 cas (25 %), hépatosplénomégalie 17cas (25%). molluscum contagiosum diffus 16 cas (23,50%), tuberculose 14 cas (20,58%), fièvre inexpliquée 14 cas (20,58%), pneumonie lymphoïde interstitielle 8 cas (11,76%), et manifestations neurologiques 7 cas (10,29%) ; Le traitement antirétroviral est initié chez 32 enfants (47%), 18 cas (24,47%) sont décédés et 10 cas (14,70 %) sont perdus de vue.

Conclusion : L'infection à VIH /sida chez l'enfant devient de plus en plus importante dans notre région, cette infection doit être évoquée et rechercher systématiquement devant toute symptomatologie chronique chez l'enfant, au même titre que les autres pathologies pédiatriques afin de réaliser un diagnostic précoce et d'améliorer la prise en charge.

396/76A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Prise en charge tardive de l'infection par le VIH : comment progresser ?

E. Libbrecht[5], C. Rouger[3], D. Rey[4], B. Christian[1], T. May[2]
[1]CHR, Metz [2]Nancy [3]Reims [4]CHU, Strasbourg [5]Médecine Interne, CH, Troyes, France

Introduction : Les prises en charge (PEC) tardives, de l'infection par le VIH, concernent les patients au stade C ou d'immunodépression avérée (CD4 inférieurs à 200 ou 15%). Elles demeurent nombreuses en France : 1/3 des cas (Journal Du Sida n° 185, juin 2006). Elles sont associées à une morbi-mortalité nettement aggravée et à un risque de transmission accru.

Méthode : Une enquête prospective débutée en 2008 étudie ces patients par questionnaire proposé aux centres de la COREVIH Lorraine Champagne Ardenne. L'enquête est élargie en 2009 au groupe ICONE : **In**ter **CO**REVIH **N**ord-**E**st. Les objectifs sont de décrire ces patients et d'identifier les freins potentiels à une PEC plus précoce.

Résultats : 84 patients sont recensés. Il s'agit pour majorité d'hommes (66%), d'âge mûr entre 30 et 50 ans (60%), autochtones (68%) avec facteurs de contamination sexuelle prédominant (82%). La séropositivité pour le VIH est découverte de façon récente dans 60% des cas. Elle est connue depuis plus de 5 ans pour 27 %. Le stade C représente 55% des cas (39% d'infections opportunistes et 16% de néoplasies).

La moyenne des CD4 est de 96, la moyenne de la charge virale de 377000 copies.

Les motifs de retard (plusieurs items possibles : total 141), l'enquête identifie :

1 – **des personnes** qui se sentent **peu concernées** (43%**)**, soit parce qu'elles sont **asymptomatiques**, soit parce qu'elles **méconnaissent** les facteurs de risque ou le **rapport bénéfice/risque** hautement favorable d'une PEC précoce, y compris en terme de **transmission**.

2 – des **personnes dans la crainte, le déni, la difficulté de dire** (50%) : crainte de savoir, crainte vis à vis du **secret,** crainte des **préjugés**, de l'évolution, de la **lourdeur du suivi**, des **effets indésirables potentiels** du traitement, réticence à changer …

3 – 7% des réponses seulement révèle en priorité des difficultés « **sociales** ».

Conclusion : Les PEC tardives représentent une **perte de chance** d'autant plus évidente que la maitrise de l'infection par le VIH n'a jamais été aussi sûre et efficace. Un grand travail de **communication** en vue d'une meilleure **acceptabilité**, de **réassurance** des patients potentiels, mais également des professionnels de santé et de la population en général, ainsi que de **nouvelles opportunités de dépistage** apparaissent nécessaire pour progresser.

397/76A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Risk factors for hepatotoxicity of ARV in HIV/HCV co-infected patients with a 6 years follow-up after a completion of a full course anti-HCV treatment

E. Krastinova[3], F. Bani-Sadr[3], S. Pol[5], P. Cacoub[4], E. Rosenthal[2], C. Perronne[1], F. Carrat[3]
[1]Versailles University, Raymond Poincaré University Hospital, Garches [2]Archet Hospital, Nice [3]INSERM U 707, Pierre and Marie Curie University [4]University Paris 6, East Hospital Group University [5]INSERM U370, West Hospital Group University, Paris, France

Background: Hepatotoxicity of antiretroviral drugs is one of the main causes of morbidity in HIV-infected patients with hepatitis C (HCV) virus coinfection. The aim of the present study was to identify the risk factors associated with severe elevation of liver enzymes in HIV/HCV-coinfected patients under antiretroviral therapy, after a completion of a full course anti-HCV treatment.

Methods: Cox proportional-hazards models were used to identify factors associated with the primary endpoint. ARV treatments were included in the model as time dependant variables.

The hepatotoxicity was defined as more than 3.5-fold increase of alanine aminotransferase and/or aminotransferase compared to baseline during the follow-up. Liver fibrosis was assessed by liver biopsy performed at baseline of the cohort study and after completion of a full course treatment of 48 weeks with IFN ribavirine based therapy.

Results: A total of 248 patients were included in the **ANRS HC EP10 RIBAVIC,** a multicenter prospective cohort study with a 6 year follow-up (75% men; mean age, 41 years). Overall 30% had advanced liver fibrosis (METAVIR score F3F4) and 29% achieved an SVR. A total of 64 patients presented episodes of liver toxicity during a mean of 58 months of follow-up.

In cox proportional-hazards models with ARV treatments as time dependant variables, the lack of SVR (HR=31.8 IC 95% [4.4;229]; p<0.001), the use of dydeoxynucleosides (namely, didanosine and/or stavudine) (HR=12.3 IC 95% [1.6 ; 91]; p=0.01) were independent predictors of hepatotoxicity.

Conclusion: Sustained HCV clearance after IFN-ribavirine based treatment reduced the risk of liver toxicity of anti-retroviral therapy. In patients with non HCV sustained viral response, dydeoxynucleosides were associated with a high risk of hepatotoxicity.

Séro-surveillance sentinelle chez les consultants IST de la commune de Tizi-Ouzou 2007-2008

F. Toudeft[4], F. Bélatèche[1], B. Arridj[4], N. Bekri[4], N. Halli[4], L. Ainas[3], M. Ardjoun[2], L. Taleb[6], H. Saheb[5], A. Beddek[6], F. Dahmoun[3], N. Ouar[3]
[1]Epidémiologie et Médecine Préventive, CHU Hussein Dey [2]Centre de transfusion sanguine, Hôpital Central de l'Armée, Alger [3]Centre de transfusion sanguine [4]Epidémiologie et Médecine Préventive, CHU Tizi-Ouzou [5]Dermatologie [6]Gynécologie, Médecine libérale, Tizi-Ouzou, Algérie

Dans tous les pays du monde, les IST sont en pleine recrudescence comme en témoignent les chiffres récents de l'OMS qui estiment à plus de 350 millions le nombre de cas annuels dans le monde. Cette augmentation de l'incidence des IST coïncide avec l'explosion de l'épidémie mondiale du VIH /sida dont les chiffres estimatifs au 31 décembre 2005 sont de 40, 3 millions de personne vivants avec le VIH.

En Algérie, il existe une sous déclaration manifeste de ces pathologies pour diverses raisons : d'une part, l'automédication des patients, d'autre part, pour des raisons de discrétion, les patients préfèrent consulter dans des cabinets privés lesquels ne participent à la déclaration obligatoire malgré l'arrêté et l'instruction ministérielle de 1990 fixant les modalités de déclaration des maladies. Par ailleurs, il n'existe pas d'enquête permettant de déterminer la prévalence des IST, mais certains travaux (Naim et coll) ont souligné la fréquence des IST : ainsi, en 1995, dans une étude réalisée en milieu militaire, il a été retrouvé une fréquence des urétrites de 4.1‰ à Alger et Constantine (région du Nord) et de 8.0 ‰ à Tamanrasset (région du Sud algérien).

A Tizi-Ouzou, les quelques études menées enregistrent des taux assez alarmants :

- Dans une enquête sur la fréquence des IST réalisée en 1994 dans des pharmacies d'Alger et de Tizi-Ouzou, les IST sont représentées majoritairement par les gonocoques, le Chlamydia, et qui sont décapitées par des traitements antibiotiques intempestifs

- Dans le travail du Pr Fares sur la séro surveillance de l'infection VIH chez trois groupes de populations (Femmes enceintes, patients consultant pour IST et Professionnel(le)s du sexe), la prévalence de l'infection à VIH, enregistrée sur l'ensemble des sites, était supérieure à 1% en 2004 et prés de 2.5% en 2007 de l'ensemble des porteurs d'IST dépistés au niveau des différents sites. A Tizi-Ouzou ce taux de prévalence passe de 6,25% en 2004 à 0,92% en 2007. La prévalence de la syphilis sur l'ensemble des sites est passée de 2,37% en 2004 à 5,87% en 2007 ; celle de la wilaya de Tizi-Ouzou de 0% en 2004 à 0.92 % en 2007.

C'est pourquoi, il nous est paru intéressant de mener une enquête de séro-surveillance chez ce groupe de population, à risque élevé de contamination par le VIH.

Objectifs :

- Déterminer le taux de prévalence des infections à VIH, aux hépatites B et C et à syphilis dans la wilaya de Tizi-Ouzou chez les patients consultant pour IST.

- Définir les tranches d'âge à risque de transmission de ces infections.

- Proposer des recommandations pour les méthodes de surveillance.

Matériel et Méthode : Deux enquêtes de séro surveillance ont été menées en début 2007 et 2008. Le recrutement s'est fait sur une durée de trois mois d'étude dans les cabinets privés de médecins volontaires, pour lesquels des fiches d'enquête ont été mises à leur disposition après les avoir informés par courrier et par entrevue, de l'enquête et de ses objectifs. Les patient(e)s, après avoir été préalablement informé(e)s de l'objectif de l'enquête et donné leur accord, ont bénéficié d'un prélèvement de façon anonyme et non corrélé.

Les prélèvements, acheminés au CTS du CHU de Tizi-Ouzou et au CTS de l'HCA, ont fait l'objet d'un examen à double aveugle à la recherche des anticorps vis-à-vis du VIH, de la syphilis, des hépatites B et C. Les cas douteux ont bénéficié d'un deuxième prélèvement, les cas positifs, ont été adressés au Laboratoire National de Référence pour les IST/VIH/sida pour confirmation.

Résultats : Des séropositivités à HIV ont été retrouvées au cours des deux enquêtes avec un cas notifié à chaque fois, et des taux de prévalences passant de 0,8 à 0,83% (DNS).

La répartition des cas selon les tranches d'âge de UNGASS, montre que le premier cas est retrouvé chez les moins de 25 ans (6,7%), le deuxième cas chez les plus de 25 ans (1,01%) ; cela incite à réfléchir à une éventuelle mise en place d'un dépistage précoce systématique chez ce groupe de patients.

Quant aux facteurs favorisants la survenue de cette infection, aucun lien n'est retrouvé entre ces derniers et la séropositivité, ceci serait dû au manque d'informations chez les cas, étant donné que le recueil s'est effectué dans les cabinés privés de la commune de Tizi-Ouzou.

Pour la syphilis, qui représente le lit de l'infection VIH, les taux de prévalence enregistrés dans notre étude sont en augmentation (2,5% (2007) et 12,5%(2008)), et restent nettement supérieurs aux taux retrouvés dans les enquêtes de 2004 (0%) et 2007 (0,92%), les tests statistiques retrouvent une différence significative entre les résultats de la dernière enquête nationale et notre dernière enquête ($p<10^{-4}$).

Par ailleurs, nous avons enregistré dans notre travail, des taux de prévalence des infections HBV et HCV en augmentation passant respectivement de 2,5% à 10,83% (ε=2.62 $p=8*10^{-3}$ DS) et de 0,82% à 3,3% (DS) entre la première et la deuxième enquête.

Ces taux de prévalence d'IST en augmentation dans notre région, montrent bien que notre wilaya court un véritable risque de propagation de l'épidémie du VIH/sida.

Identification de PER-6 chez *Aeromonas allosaccharophila* isolé de la Seine

D. Girlich, L. Poirel, P. Nordmann
Bactériologie, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objectif : L'objectif de l'étude était de rechercher des bactéries productrices de beta-lactamases à spectre étendu (BLSEs) dans l'eau de la Seine, à Paris.

Méthodes : Des échantillons d'eau ont été filtrés et étalés sur des géloses MacConkey contenant de la ceftazidime (2 µg/ ml). Les bactéries sélectionnées ont été identifiées par les techniques biochimiques classiques et séquençage des ARNs 16S. Le clonage a été réalisé par digestion partielle de l'ADN total, introduction dans le plasmide pBKCMV et expression dans *E. coli* DH10B. La caractérisation biochimique a été réalisée par spectrophotométrie.

Résultats : Une souche de *Aeromonas allosaccharophila*, résistante aux céphalosporines à large spectre et sensible à la céfoxitine et au moxalactam a été identifiée. L'observation d'une image de synergie entre les disques contenant de l'acide clavulanique et une céphalosporine de large spectre suggérait la présence d'une BLSE. Le clonage et le séquençage ont permis d'identifier le gène codant pour une nouvelle BLSE, bla_{PER-6}, de localisation chromosomique. Aucun intégron ou transposon n'a été identifié encadrant le gène de la beta-lactamase bla_{PER-6}, mais le gène codant pour une ribonucléase E de *P. putida* a été identifié en amont et le gène de résistance à la tétracycline *tetA* en aval. PER-6 possède 86% d'identité en acides aminés avec PER-1, bien connu chez de nombreuses espèces de bacilles à Gram négatif d'isolats cliniques (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*...), mais aussi de *Aeromonas media* de l'environnement. PER-6 hydrolyse les pénicillines et les céphalosporines à large spectre, dont la ceftazidime et le céfotaxime, et son activité est inhibée par l'acide clavulanique.

Conclusion : Cette étude souligne la large dissémination de ce type de BLSE dans l'environnement.

Sélection de *Klebsiella pneumoniae* (Kp) de sensibilité diminuée aux β-lactamines sous l'action de fluoroquinolones

S. Bialek-Davenet, V. Leflon-Guibout, E. Marcon, M.H. Nicolas-Chanoine
Service de Microbiologie, AP-HP, Hôpital Beaujon, Clichy, France

Objet de l'étude : Nous avons récemment décrit chez Kp une résistance croisée aux β-lactamines et à d'autres familles d'antibiotiques, liée à une surexpression d'un système d'efflux. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'impact des fluoroquinolones sur la sélection *in vitro* de mutants de moindre sensibilité aux β-lactamines.

Méthodes : A partir de 3 souches de Kp sensibles aux antibiotiques (révertants spontanés de 3 souches décrites précédemment avec une surexpression d'efflux), des mutants ont été sélectionnés en présence de concentrations sub-inhibitrices, puis égales à 4 fois la CMI, de ciprofloxacine (CIP) ou de lévofloxacine (LEV). Les CMI de CIP et de LEV ainsi que celles de 6 β-lactamines, du chloramphénicol (CMP) et de la tétracycline (TET), ont été déterminées vis-à-vis de ces mutants, d'une part par la méthode de référence de dilution en gélose et d'autre part en milieu liquide en présence d'inhibiteurs d'efflux. La région QRDR des gènes *gyrA* et *parC* de ces mutants a été amplifiée et séquencée.

Résultats : Pour 12 mutants étudiés, il a été observé que (i) les CMI de CIP et de LEV étaient augmentées d'un facteur 4 à 32, passant de 0,03 à 0,125-1 mg/l, sans que des mutations dans la région QRDR des gènes *gyrA* et *parC* aient été identifiées, et que (ii) les CMI des β-lactamines, sauf pour l'amoxicilline seule ou associée au clavulanate, étaient significativement augmentées, passant de 2 à 8-64 mg/l pour la céfoxitine, de 1 à 2-8 mg/l pour la céfazoline, de 32-128 à 128-512 mg/l pour la ticarcilline et de 0,125 à 0,25-1 mg/l pour la ceftazidime. De plus, tous les mutants étaient résistants à CMP (CMI > 8 mg/l) et de sensibilité intermédiaire ou résistants à TET (CMI > 4 mg/l). La surexpression d'un système d'efflux, suspectée devant la multirésistance des mutants obtenus, a été confirmée par la décroissance des CMI des différents antibiotiques en présence d'inhibiteurs d'efflux.

Conclusion : Cette étude met en évidence chez Kp la sélection *in vitro* par CIP et LEV de mutants présentant une surexpression d'un système d'efflux responsable d'une résistance croisée de bas niveau à des β-lactamines utilisées en traitement curatif (ceftazidime) ou prophylactique (céfoxitine, céfazoline), aux fluoroquinolones, à CMP et à TET.

Amoxicillin-clavulanate as a useful marker for the detection of extended-spectrum beta-lactamase producing *E. coli* and *K. pneumoniae* by the BD Phoenix System

M.P. Lebitasy, A. Simon, T.D. Huang
Laboratoire de microbiologie, Cliniques universitaires Saint-Luc, Bruxelles, Belgique

Objective: To investigate the relevance of amoxicillin-clavulanate susceptibility as confirmatory of ESBL production in *E coli* and in *K pneumoniae* isolates detected as ESBL positive by the automated Phoenix (Becton-Dickinson) susceptibility testing.

Methods: Antimicrobial susceptibility results of all clinical isolates of *E coli* and *K pneumoniae* determined by the Phoenix Sytem from July 2008 to June 2009 in our hospital were reviewed. 416 *E coli* and 64 *K pneumoniae* isolates detected as ESBL positive by Phoenix panels were checked for confirmatory test with the combined disc diffusion method using Neosensitabs antibiotic tablets (Rosco). Of these,

E coli (n = 312), and *K pneumoniae* (n = 53) isolates with amoxicillin-clavulanate MIC ≤ 16/8 µg/ml (I or S) were selected and theirs MIC of ceftazidime and ceftriaxone (cephalosporins ESBL indicators) were recorded. The results were classified according to the cephalosporins MICs level. Agreement or discrepancy between the screening and the confirmatory ESBL test were recorded. Reliability of the automated Phoenix ESBL test according to the cephalosporins ESBL indicators MICs associated with the amoxicillin-clavulanate susceptibility (MIC ≤16/8 µg/ml) was evaluated.

Results: For *E coli,* all isolates reported as ESBL positive by the Phoenix testing and having ceftazidime and/or ceftriaxone MIC ≥16 µg/ml associated with amoxicillin-clavulanate MIC ≤16/8 µg/ml (n = 243) were all confirmed by the combined disc method. A specificity of 99.99% were observed as well in *K pneumoniae* when one of the cephalosporins ESBL indicators displayed MIC >16µg/ml (n = 44). Discrepancies between the screening and the confirmatory ESBL tests were noted for *E. coli* if the MICs of ceftazidime and ceftriaxone were ≤1 µg/ml and ≤ 2 µg/ml respectively (n = 64). The same phenomenon was observed for the *K pneumoniae* with cephalosporins MICs ≤16 µg/ml (n=9).

Conclusion: Phoenix ESBL screening test result is reliable and highly specific (99.99 %) if amoxicillin-clavulanate (MIC ≤16/8 µg/ml = clavulanate inhibitory effect) and one third generation cephalosporins MIC ≥16 µg/ml for *E coli* and > 16 µg/ml for *K pneumoniae* were considered. The combination of these criteria could avoid unnecessary ESBL confirmatory test.

402/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison du Vitek-2™ AIX (V2-AIX) *versus* Vitek-2™ PC (V2-PC) par l'étude des phénotypes de résistance (R) des entérobactéries (E) aux bêta-lactamines (bêta-lac)

S. Lefevre, V. Cocquerelle, P. Riegel, J.M. Scheftel, B. Jaulhac, F. Jehl
Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Laboratoire de bactériologie, Strasbourg, France

V2-AIX et V2-PC n'ont pas les mêmes règles d'interprétation phénotypique.

Objectif : Vérifier que les CMI brutes déterminées par V2-AIX *vs* V2-PC permettent au biologiste de conclure au même phénotype de R, puis comparer les interprétations phénotypiques du biologiste avec celles des deux systèmes.

Matériel et méthodes : Nous avons recruté 137 souches d'E de tous phénotypes mais ne produisant ni β-lactamase à spectre étendu (BLSE), ni céphalosporinase à haut niveau (CHN) (groupe 1), puis 101 souches d'E produisant exclusivement une BLSE et/ou une CHN (groupe 2). Ces souches proviennent de patients hospitalisés entre 2008 et 2009 et ont été testées simultanément sur les deux types de V2 à partir du même inoculum calibré. Nous avons comparé ensuite leurs phénotypes de R aux β-lac.

Résultats : Pour les souches du groupe 1, le biologiste conclue dans 99.3% des cas au même phénotype de R par l'interprétation des résultats bruts du V2-AIX *vs* PC. L'interprétation phénotypique du biologiste est différente de celle du V2 dans respectivement 40% *vs* 43% des cas pour les versions AIX et PC. Ainsi lorsque le biologiste conclue à un phénotype sauvage, on observe 5.7% de discordance avec l'interprétation du V2-AIX *vs* 13.8% avec le V2-PC. Lorsque le biologiste conclue à la présence d'une pénicillinase de bas ou de haut niveau, les V2 proposent systématiquement un phénotype de R différent : soit ils ne distinguent pas ces deux types de pénicillinase et les regroupent sous le terme de pénicillinase acquise, soit ils proposent un phénotype réellement discordant avec celui du biologiste (8.3% des cas pour le V2-AIX *vs* 27.1% pour le V2-PC).

Pour les souches du groupe 2, le biologiste conclue dans 100% des cas au même phénotype de R par l'interprétation des résultats bruts du V2-AIX *vs* PC. Dans 51.5% des cas, les V2 concluent à un phénotype précis alors que le biologiste estime devoir recourir à l'épreuve de synergie par diffusion (SD). Les résultats de cette technique mettent en avant 29% de discordance avec les deux types de V2. Enfin lorsque les V2 concluent à la présence d'une BLSE seule, ce résultat est systématiquement confirmé par SD.

Conclusion : Le passage du V2-AIX au V2-PC ne modifie en rien les résultats de l'interprétation phénotypique du biologiste.

403/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Evolution and molecular epidemiology of CTX-M- bêta-lactamases producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in pediatrics

K. Mamlouk, I. Boutiba-Ben Boubaker, A. Kamoun, S. Ben Redjeb
Bactériologie, Laboratoire de Recherche "Résistance aux Antimicrobiens" - Faculté de Médecine, Tunis, Tunisie

At the beginning of the 1990s, a novel type of extended spectrum b-lactamases (ESBL), the CTX-M enzymes, emerged worldwide. The over 50 CTX-M enzymes so far reported may be grouped into five main subgroups according to amino acid sequence identity (CTX-M-1, -M-2, -M-8, -M-9, and -M-25). In this study, a molecular detection assay for the identification of CTX-M-â-lactamases genes was performed to type and to evaluate the prevalence of these enzymes among clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* species in the pediatric ward of Charles Nicolle hospital of Tunis.

Isolates were identified using conventional methods. Antimicrobial susceptibility testing was performed by disk diffusion method according to CLSI guidelines. ESBL were detected using the standard disk synergy test. The CTX-M phenotype of ESBL producers screened was based on a similar or smaller inhibition zone with cefotaxime than with ceftazidime. Characterization of CTX-M-â-lactamases groups M-1 and M-9 (most reported groups) was conducted by PCR. Fingerprinting analysis was performed by pulsed field gel electrophoresis (PFGE) with genomic DNA digested with XbaI.

From 2000 to 2008, 114 strains (58 *E. coli* and 56 *K. pneumoniae)* were recovered. They were mainly associated with urinary tract infection (n=101). CTX-M producing *E. coli* and *K. pneumoniae* strains represented 12 % and 0 % of ESBL producers, respectively, belonging to the same species in 2000, compared to 54% and 55% in 2008. All isolates showed a positive synergy test and had associated resistance to gentamicin (82%), netilmicin (55%), amikacin (42%), tetracycline (77%), ciprofloxacin (23%) and trimethoprim-sulphamethoxazole (63%). All strains were CTX-M positive (78% of group M-1 and 22% of group M-9). PFGE typing demonstrated great diversity in isolates, no predominant clone was identified.

One of the most interesting findings of this study may be the size of the reservoir of CTX-M producers in pediatric patients. Although, the predominance of group M-1, CTX-M enzymes were mostly from clonally nonrelated isolates suggesting the horizontal transfer of plasmid-borne bla_{CTX-M} genes.

404/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing bla_{OXA-23} gene in Tunisia

R. Ghozzi, S. Hammami, A. Abid Kamoun, S. Ben Redjeb
Microbiologie, Faculté de Médecine, Tunis, Tunisie

Acinetobacter baumannii has emerged worldwide as an important nosocomial pathogen, causing outbreaks particularly in intensive care units. Carbapenems are among the drugs of choice for treatement of nosocomial infections due to multidrug–resistant *A. baumannii* isolates. However, their efficacy is being increasingly compromised by the emergence of carbapenem–hydrolysing β-lactamases of molecular Ambler class B and class D.

The aim of this study was to identify the carbapenemase genes and analyze genetic relatedness of *A. baumannii* isolates.

Fifty carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates were collected from patients hospitalized between January 2007 and December 2007 at Charles Nicole Hospital.

MICs were performed by an agar dilution technique and interpreted according to the CLSI recommendation. Metallo-b-lactamase (MBL) production was evaluated using imipenem-EDTA disc synergy test.

PCR and sequence analysis were used to identify OXA genes and PFGE to determine genetic relatedness

Most of the isolates were obtained from patients from Intensive Care Units (44%) and surgery (40%). The majority of *A. baumannii* isolates showed high level of resistance to imipenem (MIC_{50}=512µg/ml), meropenem (MIC_{50}=128µg/ml), aztreonam (MIC_{50}=512µg/ml), ceftazidime (MIC_{50}=512µg/ml), ticarcilline (MIC_{50}>2048µg/ml), ticarcilline – clavulanic acid (MIC_{50}>1024µg/ml) and cefepime (MIC_{50}=256µg/ml). MBL production test was negative for all isolates. $Bla_{oxa-23-like}$ was present in 41 isolates and all isolates possessed a $bla_{OXA-51-like}$ gene. No genes encoding OXA-24-like and OXA-58-like β-lactamases were found. Sequencing confirmed the presence of bla_{OXA-23} and bla_{OXA-69} genes. Eight distinct PFGE patterns were observed (A: 41 isolates, B: 1 isolate, C: 1 isolate, D: 1 isolate, E: 1 isolate, F: 2 isolates, G: 1 isolate, H: 2 isolates).

Bla_{oxa-23} producing *A. baumannii* is an important concern in our hospital. Its emergence represents serious therapeutic and epidemiological problems. Strict measures are required to control further spread of carbapenemases in Tunisia.

405/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates expressing bla_{OXA-23} gene in Tunisia

R. Ghozzi, S. Hammami, A. Abid Kamoun, S. Ben Redjeb
Microbiologie, Faculté de Médecine, Tunis, Tunisie

Acinetobacter baumannii has emerged worldwide as an important nosocomial pathogen, causing outbreaks particularly in intensive care units. Carbapenems are among the drugs of choice for treatement of nosocomial infections due to multidrug–resistant *A. baumannii* isolates. However, their efficacy is being increasingly compromised by the emergence of carbapenem –hydrolysing β-lactamases of molecular Ambler class B and class D.

The aim of this study was to identify the carbapenemase genes and analyze genetic relatedness of *A. baumannii* isolates.

Fifty carbapenem-resistant *A. baumannii* isolates were collected from patients hospitalized between January 2007 and December 2007 at Charles Nicole Hospital.

MICs were performed by an agar dilution technique and interpreted according

to the CLSI recommendation. Metallo-b-lactamase (MBL) production was evaluated using imipenem-EDTA disc synergy test.

PCR and sequence analysis were used to identify OXA genes and PFGE to determine genetic relatedness

Most of the isolates were obtained from patients from Intensive Care Units (44%) and surgery (40%). The majority of *A. baumannii* isolates showed high level of resistance to imipenem (MIC_{50}=512µg/ml), meropenem (MIC_{50}=128µg/ml), aztreonam (MIC_{50}=512µg/ml), ceftazidime (MIC_{50}=512µg/ml), ticarcilline (MIC_{50}>2048µg/ml), ticarcilline – clavulanic acid (MIC_{50}>1024µg/ml) and cefepime (MIC_{50}=256µg/ml). MBL production test was negative for all isolates. $Bla_{oxa\text{-}23\text{-}like}$ was present in 41 isolates and all isolates possessed a $bla_{OXA\text{-}51\text{-}like}$ gene. No genes encoding OXA-24-like and OXA-58-like β-lactamases were found. Sequencing confirmed the presence of $bla_{OXA\text{-}23}$ and $bla_{OXA\text{-}69}$ genes. Eight distinct PFGE patterns were observed (A: 41 isolates, B: 1 isolate, C: 1 isolate, D: 1 isolate, E: 1 isolate, F: 2 isolates, G: 1 isolate, H: 2 isolates).

$Bla_{oxa\text{-}23}$ producing *A. baumannii* is an important concern in our hospital. Its emergence represents serious therapeutic and epidemiological problems. Strict measures are required to control further spread of carbapenemases in Tunisia.

406/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Interactions moléculaires des céphalosporines avec les CTX-M

J. Delmas, D. Leyssène, F. Robin, D. Dubois, E. Vazeille, R. Bonnet
Bactériologie, JE 2526 USC INRA, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France

La dissémination mondiale des b-lactamases à spectre étendu (BLSE) CTX-M constituent un problème majeur de santé publique. Une meilleure connaissance des interactions moléculaires entre les b-lactamines et ces b-lactamases pourrait contribuer à lutter efficacement contre ces enzymes. Le cefotaxime est un bon substrat des enzymes CTX-M alors que la céfoxitine n'est pas hydrolysée par ces enzymes.

L'objectif de ce travail était de comparer la structure de CTX-M-9 en complexe Michaelien avec la céfoxitine et le cefotaxime, afin de mieux comprendre les interactions des céphalosporines avec les enzymes CTX-M.

CTX-M-9 a été hyperproduite et purifiée. La b-lactamase a été cristallisée en complexe avec la céfoxitine et le cefotaxime. Les structures ont été résolues par remplacement moléculaire. Le réseau de liaisons électrostatiques maintenant ces deux molécules présentait de nombreuses similarités mais aussi des différences majeures qui permettaient l'accommodation du groupement 7a-méthoxy spécifique de la céfoxitine. Ces dernières contribuaient à un positionnement différent des deux molécules dans la poche catalytique, qui pourrait concourir à une activité différente des enzymes CTX-M sur ces deux céphaloporines.

407/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants in *Enterobacteriaceae* from Tunisia

S. Dahmen[1-2], L. Poirel[1], W. Mansour[2], N. Boujaafar[2], P. Nordmann[1], O. Bouallègue-Godet[2]
[1]*Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin Bicêtre, Paris, France* [2]*Laboratoire de Microbiologie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie*

Objective: Plasmid-mediated quinolone resistance (PMQR) determinants has not yet been documented in Tunisia. The aim of this study was to evaluate the prevalence of PMQR determinants (*qnr*-like, *aac(6')-Ib-cr* and *qepA* genes) among a collection of ESBL and non-ESBL producing enterobacterial isolates, being all resistant to nalidixic acid and isolated from Sahloul Hospital, Sousse, Tunisia.

Methods: The study collection was made of 281 non-duplicate nalidixic-acid resistant enterobacterial isolates collected from September 2005 to December 2007. The antibiotic susceptibility was determined by the disc diffusion method. The ESBL detection was performed by a double-disc synergy test and the $bla_{CTX\text{-}M}$, bla_{SHV}, bla_{TEM}, *qnrA*, *qnrB, qnrS*, *qepA* and *aac(6')-Ib* genes were screened by PCR and by direct sequencing of the PCR products. The genetic support of the qnr genes were determined by hybridization experiments.

Results: Among those 281 nalidixic-acid resistant isolates, 45 were found to be *qnr*-positive (16%). Seven out of these 45 isolates (15%) were *qnrS*-positive, twelve (27%) were *qnrA*-positive and twenty six (58%) were *qnrB*-positive. Sequencing identified the *qnrS1* and *qnrA6* alleles, respectively. Among the 26 *qnrB*-positive isolates, 15 harboured the *qnrB1* gene and 11 the *qnrB2* gene. Most *qnr*-positive isolates were extended-spectrum ß-lactamase (ESBL) producers, being by far of the CTX-M-15 type (19 isolates), and then of the SHV-28 (6 isolates)and SHV-12 (2 isolates) types. The qnr genes were located on plasmids ranging from 55 to 150 kb. The search for *qepA* in all isolates and *aac(6')-Ib-cr* genes among qnr-positive isolates remained negative.

Conclusion: This study underlines the large spread of Qnr-like determinants in Tunisia, with a worrying association with ESBL CTX-M-15 in human clinical isolates.

408/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Detection of plasmid-mediated AMP C bêta-lactamases in *Escherichia coli, Klebsiella et Proteus mirabilis* at Charles Nicolle Hospital of Tunis-Tunisia

T. Cherif, M. Saïdani, S. Ben Redjeb
Faculté de Médecine de Tunis, Laboratoire de recherche "Résistance aux anti-microbiens", Tunis, Tunisie

Objective: Plasmid- mediated AmpC â-lactamases (PMAB) constitute an emerging therapeutic problem. These enzymes confer resistance to all â-lactam antibiotics except cefepime, cefpirome and carbapenems. Six major families of PMAB (ACC, FOX, MOX, DHA, CIT and EBC) have been identified to date. The objective of this study is to identify the type of enzyme produced in *E. Coli*, *Klebsiella* spp and *P.mirabilis* isolates phenotypically characterized as putative AmpC producers for these enzymes.

Methods: A retrospective study was conducted from January 2005 to April 2009 at the laboratory of microbiology of Charles Nicolle hospital. Isolates were selected, based on their negative result for extended spectrum â-lactamase production. All isolates were tested by cloxacillin (75 g/l) as inhibitor of AmpC enzymes. The conjugation experiment was carried out in mixed broth culture; rifampicin- resistant *Escherichia coli* J53-2 was used as the recipient strain. MICs of 6 antibiotics (ticarcillin, piperacillin, cefoxitin, cefotaxime, ceftazidime, cefepime) were performed by dilution method on Muller-Hinton agar according to the CLSI recommendations. PMAB were detected both on original isolates and their transconjugants by multiplex PCR using specific primers.

Results: Among the 11393 isolates tested (*E. Coli* =7504, *klebsiella* spp =2905 and *P.mirabilis* =984) a total of 64 isolates (0.56 %) were positive for the cloxacillin test: *E. Coli* (n=30), *Klebsiella* spp (n=20), *P.mirabilis* (n=14). The transfer of cephalosporin resistance from *E.coli* and *P.mirabilis* isolates to *E.coli* J53-2 was successful only for 9 isolates of a total of 22. The MICs values were as follows: ticarcillin (CMI_{50} >2048 µg/ml), piperacillin (CMI_{50}=128µg/ml), cefoxitin (CMI_{50}=64µg/ml), cefotaxime (CMI_{50}=32µg/ml), ceftazidime (CMI_{50}=32µg/ml) and cefepime (CMI_{50}=1µg/ml). Only 31 isolates (48.4%) were AmpC-PCR-positive: *Klebsiella* spp (n=8), *E.coli* (n=12) and *P.mirabilis* (n=11). Both original strains and their transconjugants presented the same results in PCR. PMAB identified were: ACC (n=7), FOX (n=11); MOX (n=11), DHA (n=1), CIT (n=12) and EBC (n=8).The co-existence of CIT, MOX and FOX was detected in 8 isolates.

Conclusion: These data indicate that CIT, MOX and FOX were the most frequent PMAB, usually found in association. The existence of other PMAB may explain the negative PCR results in our study.

409/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Augmentation de la prévalence des souches cliniques de *Escherichia Coli* produisant une céphalosporinase chromosomique AmpC à spectre élargi (ESAC), isolées au CHU de Nantes

L. Crémet[1], N. Caroff[2], A. Guillouzouic[1-2], C. Giraudeau[1], S. Dauvergne[2], D. Lepelletier[1-2], A. Reynaud[1-2], S. Corvec[1-2]
[1]*Service de bactériologie-hygiène hospitalière, CHU de Nantes* [2]*EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Nantes, France*

Objet de l'étude : Chez *E. coli*, certaines mutations au sein du promoteur ou de l'atténuateur du gène chromosomique *ampC* sont responsables d'une hyperproduction de la β-lactamase naturelle AmpC et donc d'une diminution de sensibilité à l'égard des céphalosporines de 3ème génération. La survenue de mutations au sein du gène *ampC* peut, de plus, conduire à la production d'une céphalosporinase à spectre élargi (ESAC), capable d'hydrolyser les céphalosporines dites de 4ème génération (céfépime). Le but de ce travail était de suivre l'évolution, sur 5 ans, des souches cliniques de *E. coli* produisant une β-lactamase de type ESAC.

Méthodes : Les isolats cliniques ont été sélectionnés sur la base de leur phénotype de résistance : CMI Ceftazidime ≥ 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 électrophorèse en champs pulsés (PFGE).

Résultats : 41 souches ont été sélectionnées parmi 25861 isolées au CHU de Nantes, durant la période 2004-2008. 23 isolats produisaient une AmpC plasmidique de type CMY-2, les 18 autres hyperproduisaient leur enzyme chromosomique en raison de mutations dans le promoteur et/ou l'atténuateur du gène *ampC*. Parmi ces 18 isolats, 9 de sensibilité diminuée au céfépime (2 collectés en 2004-2005, 7 collectés en 2007-2008), présentaient une mutation clé, à proximité du site actif de l'enzyme AmpC (H296P pour 6 isolats, S287N pour 3 isolats). Pour 2 autres isolats, collectés en 2007-2008, de nouvelles modifications ont été détectées au niveau du site de liaison R2 de l'enzyme AmpC (mutation A292V ou insertion LAA en position 295), responsables d'une extension du spectre d'hydrolyse de l'enzyme au céfépime. Les 11 isolats producteurs d'ESAC appartenaient tous au groupe phylogénétique A. L'analyse par PFGE a montré une population hétérogène (7 pulsotypes).

Conclusion : Malgré une prévalence qui reste faible, ces résultats suggèrent l'émergence de souches cliniques de *E. coli* producteurs d'ESAC, particulièrement ces 2 dernières années, avec la découverte de deux nouveaux variants.

410/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Epidemiology of *Escherichia coli* clinical isolates producing AmpC plasmidic bêta-lactamase over a 5-year period in a French teaching hospital

S. Corvec[1-2], L. Crémet[1], S. Dauvergne[2], A. Reynaud[1-2], D. Lepelletier[1-2], N. Caroff[2]
[1]Service de Bacteriologie-Hygiène Hospitalière, CHU de Nantes [2]EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Nantes, France

Background: Even if ESBL, and particularly CTX-Ms have emerged in the recent years as a major public health problem, high-level resistance to extended-spectrum cephalosporins can also be caused in *E. coli* by the production of plasmidic AmpC β-lactamases. The aim of the study was to evaluate the real prevalence, the spread and epidemiology of *E. coli* clinical strains producing plasmidic AmpC.

Methods: Clinical isolates were selected during the period 2004-2008 on the basis of their ceftazidime resistance phenotype (MIC≥64 µg/mL) without positive synergy test and without any mutations in the promotor of the chromosomal *ampC* gene. Different AmpC cephalosporinases were searched by PCR and sequencing. Positive isolates were submitted to phylogenetic grouping, genotyping and MLST analysis (http://mlst.ucc.ie/mlst/dbs/Ecoli).

Results: 23 out of 23260 *E. coli* isolated were selected (6 : 2004, 6 : 2005, 5 : 2006, 2 : 2007, 4 : 2008). They all produced a CMY-2 β-lactamase with a plasmid size of about 135 kb. Between 2004-2006 most CMY-2 producing isolates belonged to phylogenetic group B1, mostly caused by a spread of a ST156 clone (8 isolates) harbouring a truncated chromosomal cephalosporinase at aminoacid 309. In the 2 last years 2007-2008 isolates were more distributed between phylogenetic groups and sequence types : 3 A (2 ST46, 1 ST167), 1 B2 (ST978) and 2 D (ST117, ST354).

Conclusion: Using our selection criteria, the prevalence and the diversity of plasmidic AmpC does not seem to increase in our hospital in the last years. Isolates producing CMY-2 β-lactamase belong to the four different phylogenetic groups, with a slightly higher prevalence for the commensal groups A and B1. As shown by the detection of 8 isolates B1 (ST156) during the first period, a survey is needed to detect the dissemination of such resistant isolates.

411/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

International spread of plasmid-mediated *blaOXA-48* carbapenemase gene

A. Carrer[1], L. Poirel[1], M. Disbay[4], G. Cuzon[1], G. Matar[3], P. Honderlick[2], P. Nordmann[1]
[1]Laboratoire de bactériologie, CHU de Bicêtre, INSERM U914, Le Kremlin Bicêtre [2]Hôpital Foch, Suresnes, France [3]American University of Beirut, Beirut, Liban [4]Department of Infectious Diseases, Istanbul Faculty of Medicine, Istanbul, Turquie

Background: The OXA-48 carbapenemase has been described mainly in Enterobacteriaceae from Turkey and once in a Klebsiella pneumoniae isolate from Belgium. Worryingly, OXA-48 producing K. pneumoniae have been involved in hospital outbreaks. The blaOXA-48 gene is located within the composite transposon Tn199, bracketed by two copies of IS 1999 The aim of this work was to describe the genetic support of the blaOXA-48 gene detected in various Enterobacteriaceae species from several countries, highlighting the emerging spread of this class D carbapenemase.

Method: Bacterial isolates: 17 Enterobacteriaceae isolates producing OXA-48 were included in the study: 11 K. pneumoniae, 1 Citrobacter freundii, 1 Providencia rettgeri, 1 Escherichia coli and 3 Enterobacter cloacae recovered from Turkey, Lebanon, Belgium, France and Egypt.

Clonal relationship of the K. pneumoniae and E. cloacae isolates was evaluated by PFGE.

Plasmid analysis was performed using the Kieser method and mating- out assays. Plasmids were compared by digestion and hybridization. Structure of the transposon Tn1999 and its genetic environment were analyzed by PCR and sequencing.

Results: Seven pulsotypes were identified among the 11 K. pneumoniae isolates and 2 distinct pulsotypes were obtained for the 3 E. cloacae isolates. A similar in size blaOXA-48 positive plasmid (70 kb) was identified in all isolates except in P. rettgerii for which a larger 150 kb plasmid was found. The 70 kb-plasmids exhibited a very similar restriction pattern after digestion. On those plasmids the transposon Tn1999 carrying blaOXA-48 was always inserted in the same Tir gene encoding a putative transfer inhibition protein.

Conclusion: The blaOXA-48 gene might be spread by similar 70 kb conjugative plasmids in all the strains studied. The overall genetic context we observed strongly suggests the dissemination of a plasmid rather than the mobilization the transposon Tn1999.

412/77A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Défaut de porine F chez *Bacteroides thetaiotaomicron* résistant à l'association amoxicilline/acide clavulanique

A.C. Hochart-Behra[2-1-4], M. Leprince[2-4], H. Drobecq[3-4], M.L. Reynaert[2-4], L. Dubreuil[2-4], J. Behra-Miellet[2-4]
[1]Centre Hospitalier, Armentières [2]Laboratoire de Bactériologie Clinique, Faculté de Pharmacie [3]Institut de Biologie [4]Université Lille Nord de France, Lille, France

Objet : Notre équipe a précédemment montré que la résistance de certaines souches de *Bacteroides thetaiotaomicron* à l'amoxicilline couplée à l'acide clavulanique (AMC) pouvait être due à un défaut de porine. Il s'agit ici de comparer les protéines de membrane externe d'une souche S de cet anaérobie sensible à l'AMC et d'une souche R y étant résistante par ce mécanisme puis d'identifier les protéines faisant défaut à la souche résistante.

Méthodes : Après culture des 2 souches sur milieu gélosé Brucella supplémenté en vitamine K, lavages et pesées des culots bactériens récoltés, des extraits des 2 souches anaérobies sont obtenus par sonication, action d'un détergent doux, d'un appareil de Potter et centrifugations successives. La fraction d'intérêt est censée contenir des protéines de membrane externe et quelques protéines du périplasme. Six cultures et extractions sont menées séparément. Chaque extrait subit, après quantification protéique, dessalage et lyophilisation, une/des électrophorèse(s) bidimensionnelle(s). Les images de 7 gels par souche (contenant chacun 500 µg de protéines) sont analysées statistiquement pour obtenir 2 cybergels Masters (PDQuest®, BioRad). Les identifications protéiques sont réalisées selon la technique des cartes peptidiques massiques.

Résultats : La fraction d'intérêt de R contient environ moitié moins de protéines que celle de S à quantités bactériennes recueillies égales. Cette différence de production protéique est statistiquement significative (test de Mann et Whitney au seuil de 5%). De plus, la comparaison des gels Masters de S et R montre qu'un spot protéique est absent pour la souche R aux alentours de 40 kDa. La protéine correspondante est identifiée avec une excellente probabilité comme porine F pour la souche S. Son absence a d'ailleurs déjà été mise en cause dans l'imperméabilité aux bêta-lactamines des genres *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Escherichia*.

Conclusion : La résistance de *B. thetaiotaomicron* à l'AMC semble impliquer plusieurs mécanismes allant de la diminution d'expression globale des protéines de structure de la membrane externe à l'absence de production de la porine F, comme cela a déjà pu être démontré pour les bacilles à Gram négatif aérobies.

413/78A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Spectrométrie de masse MALDI-TOF et identification des *Aeromonas*

B. Lamy[4], A. Kodjo[3], C.O.O. Bvh[1], F. Laurent[2]
[1]Collège de Bactériologie Virologie et Hygiène des Hôpitaux, Le Chesnay [2]Bactériologie, Hospices Civils de Lyon, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon [3]Ecole Nationale Vétérinaire de Lyon, Marcy L'Etoile [4]Laboratoire, CH du Bassin de Thau, Sète, France

Le genre *Aeromonas* comprend des espèces à la fois très proches entre elles et phénotypiquement très variables. L'identification au niveau d'espèce est en pratique problématique ou fastidieuse. La spectrométrie de masse (MS) MALDITOF apparait comme une alternative séduisante bien que non encore évaluée pour ce genre.

Objectif : évaluer les performances du MALDITOF MS pour identifier les souches d'*Aeromonas*.

Méthode : i) après extraction par éthanol/acide formique, identification de 168 souches d'*Aeromonas* par MALDITOF MS avec le logiciel MALDI Biotyper (Brucker-Daltonics) (89 souches cliniques représentatives de l'épidémiologie française, 49 souches environnementales, 30 souches types ou de référence), ii) comparaison des résultats à ceux obtenus par séquençage du gène *rpoB*, iii) évaluation de la robustesse de l'identification au moyen de l'écart de score entre les 2 1ers résultats proposés.

Résultats : 100% et 91,3% des souches ont été correctement identifiées au niveau du genre et d'espèce, même si la robustesse de résultat a été très faible (écart de score <0,05 pour 56% et <0,1 pour 95% des souches lorsque les 2 1ères identifications proposées différaient (n=39, 29%)). On peut regretter i) l'absence de 3 souches types dans la base de données, ii) l'identification incomplète de certains représentants de la base, iii) une lisibilité du résultat en partie brouillée par l'utilisation d'une taxonomie non actualisée. Malgré ces limites, le MALDITOF MS est apparu plus performante que les méthodes phénotypiques couramment utilisées en microbiologie (performances 73-82% pour: ID69 Phoenix, BD Diagnostic systems; NFC47 Microscan, Siemens Healthcare; VITEK2-GN, bioMérieux), égalant celles de la meilleure méthode commercialisée, l'API32GN, bioMérieux (performance: 92%).

Conclusions : En l'état, la méthode MALDITOF MS est performante pour identifier les *Aeromonas*, mais, du fait du très faible pouvoir discriminant observé au sein de ce genre, nous recommandons l'utilisation d'un protocole d'extraction protéique pour l'identification au niveau d'espèce. Une mise à jour de la base de données, le développement d'un algorithme complémentaire & spécifique du genre *Aeromonas* et la clarification de la taxonomie utilisée sont souhaitables pour améliorer performance et fiabilité

414/78A 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Utilisation de la spectrométrie de masse dans un laboratoire hospitalier de microbiologie : l'expérience mulhousienne

A. Gravet, C. Lohmann, F. Schmitt, J.M. Delarbre
Laboratoire de Microbiologie, CH de Mulhouse - Hôpital Emile Muller, Mulhouse, France

La technique maldi-tof (Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time Of Flight) est une technique récente en plein essor d'identification des microorganismes. La spectrométrie de masse permet d'obtenir un spectre des protéines ribosomales et de membranes en fonction de leur poids, ce spectre est comparé à une base de donnée. Fin mai 2009, le laboratoire de Microbiologie du CH de Mulhouse a fait l'acquisition d'un spectromètre de masse Axima® (Shimatzu) couplé au logiciel Saramis®, base de données (Anagnostec), l'intégration à l'informatique du laboratoire se faisant via le logiciel SirWeb® (société I2A).

Une partie de la colonie bactérienne est déposée directement sur une plaque d'acier polie, une matrice permet la séparation des bioprotéines et la formation de cristaux. Dans la grande majorité des cas aucune extraction n'est nécessaire. Le spectre obtenu est comparé aux superspectres de la base, spectres moyens pour une bactérie donnée obtenus après plusieurs passages de plusieurs souches dans des conditions et des temps différents de culture. En cas de similitude non satisfaisante, le spectre est comparé à l'ensemble des spectres. Chaque plaque peut comprendre 40 dépôts, 2 dépôts étant réservés à une souche de référence utilisée comme contrôle de la calibration du spectromètre. Chaque projet peut regrouper jusqu'à 4 plaques. La programmation des plaques se fait directement aux postes de travail via logiciel SirWeb®, avec accès direct au dossier du patient. La validation de l'identification se fait également aux postes de travail avec accès aux antériorités, à l'antibiogramme lu sur un SirScan® automatique. Pendant quelques semaines l'identification des bactéries a été réalisée en double, puis les galeries d'identification ont été abandonnées, la technique de dépôts ayant rapidement été acquise. La majorité des bactéries rencontrées en bactériologie de routine sont parfaitement identifiées. En cas d'identification inattendue nous vérifions avec les techniques classiques (galerie, tests simples) voire par la biologie moléculaire. Cette technique rapide permet de gagner 24 à 48h. Son faible coût en réactif permet d'améliorer la réponse aux cliniciens : identifications multiples pour argumenter un polymicrobisme ou la pureté d'une culture…

415/78A 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation de la spectrométrie de masse MALDI-TOF en routine. L'expérience bordelaise

E. Bessède[1-2], M. Angla-Gre[1], Y. Delagarde[1], S. Sep Hieng[1], A. Ménard[1-2], F. Mégraud[1-2]
[1]Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Pellegrin [2]Laboratoire de Bactériologie, Université Victor Ségalen Bordeaux 2, Bordeaux, France

La spectrométrie de masse permet actuellement une identification rapide et à faible coût de souches bactériennes. Notre but a été de définir et d'évaluer l'apport de cette technique dans une activité de routine en comparaison aux techniques utilisées classiquement.

Méthode : 1013 souches bactériennes issues de prélèvements bactériologiques à visée diagnostique, réalisés chez des patients hospitalisés à l'hôpital Pellegrin de Bordeaux, au cours du printemps 2009, ont été identifiées par les différentes techniques de routine habituellement pratiquées au laboratoire (Phoenix, Beckton Dickinson, ou galeries Api, bioMérieux). En parallèle, ces mêmes bactéries ont été identifiées en un seul passage sur le spectromètre de masse MALDI-TOF (Ultraflex II, Bruker Daltonics, Wissembourg), sans étape d'extraction dans un premier temps, puis après extraction quand le score obtenu après passage dans le spectromètre de masse invalidait le résultat. Enfin, les souches pour lesquelles les identifications obtenues avec les 2 méthodes présentaient des discordances majeures ont été soumises à un séquençage du gène de l'ARNr 16S.

Résultats : 83,34% des souches ont été identifiées au niveau de l'espèce par le MALDI-TOF sans l'étape d'extraction, et 98,12% des souches après extraction. Les bactéries pour lesquelles l'étape d'extraction était indispensable ont été majoritairement les cocci à gram positif, ce qui permet de ne pas réaliser cette étape pour les bacilles à gram négatif. La concordance entre les 2 méthodes a été de 94,47% au niveau de l'espèce et de 98,22% au niveau du genre en considérant les identifications obtenues après extraction quand celle-ci était nécessaire. 75% des souches séquencées ont été correctement identifiées au niveau de l'espèce grâce au MALDI-TOF, mais seulement 25% par les techniques de routine.

En conclusion : Cette étude montre que l'on peut le plus souvent s'affranchir de l'étape d'extraction pour obtenir un diagnostic fiable. Par ailleurs, le MALDI-TOF apparaît plus performant que les techniques de routine classique, ce qui en fait un outil efficace et rapide pour l'identification bactérienne au sein d'un laboratoire.

416/78A 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Microbial identification by MALDI-TOF MS : Challenges and perspectives

M. Kostrzewa
MALDI Biotyper Research and Development team, Bruker Daltonik GmbH, Bremen, Allemagne

Introduction: MALDI-TOF MS (Matrix-Assisted-Laser-Desorption/Ionisation Time-Of-Flight Mass Spectrometry) is becoming a widely used tool for routine microbial identification, in particular in the clinical microbiology field. This is mainly due to its speed, specificity and broad target spectrum of identifications. The principle of the technology is the generation of a profile of the most abundant proteins of the bacterial cells. Because the masses of these proteins represent the translated DNA sequence of the respective gene, the method is a molecular approach with a phylogenetic view on relationships. Various studies have demonstrated the superiority of the MALDI-TOF MS in comparison of biochemical testing, in terms of time-to-result and quality of result.

The MALDI Biotyper is a complete system enabling MALDI-TOF identification of microorganisms, including hardware, software, standard procedures and dedicated databases. Here we present the next challenges/evolutions of this platform.

Material/results: The talk will focus on several evolutions of the MALDI-TOF technology in microbiology which aim to broaden the applicability and usefulness in this field. Extension of the databases and improved preparation methods, i.e. for filamentous fungi will be presented. The development of standardized and simplified methods for direct samples analyses, in particular of positive blood cultures, will be described as well as the potential of automated mixed culture detection. Approaches and results about antibiotic resistance detection will be discussed and several subtyping data will be presented which may lead to the extension of MALDI-TOF, profiling towards further applications in the microbiology laboratories. The potential of an integration into upcoming laboratory automation systems which may lead to fundamental changes in clinical microbiology will be outlined.

Conclusion: The MALDI-TOF technology has the potential to become the reference method for microbial identification in clinical settings. With further developments and improvements in the fields of hygiene and epidemiology, it may become a key element of the clinical microbiology lab.

417/78A 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Analyse de mélanges de cultures par spectrométrie de masse MALDI-TOF

T. Wenzel[1], S. Klepel[1], S. Stumpf[1], T. Maier[1], M. Kostrzewa[1], P. Mogabure[2]
[1]Bruker daltonik GmbH, Bremen, Allemagne [2]Bruker Daltonique, Wissembourg, France

La spectrométrie de masse MALDI-TOF a récemment émergé comme une technique révolutionnaire d'identification microbienne en microbiologie clinique. Avec seulement une colonie et une préparation très simple, le profil protéique caractéristique d'un microorganisme inconnu est généré, et l'identification est réalisée par une comparaison bioinformatique avec une base de données dédiée. Un des inconvénients de la technologie est que dans le cas de cultures mixées, par exemple lors de contaminations de la colonie prélevée, généralement un seul microorganisme est identifié lors d'analyses automatiques ; dans certains cas aucune identification n'est possible à cause du mélange de profils dans le spectre de masse. D'un autre côté, une évaluation attentive visuelle du spectre de masse obtenu dans le cas de mélange de 2 ou même 3 microorganismes permet d'identifier celui-ci. Ici, une approche bioinformatique pour l'élucidation de mélanges microbiens est présentée. Des mélanges bactériens ont été préparés, allant du ratio 1 : 1 à 1 : 10 puis ensuite analysés en utilisant le spectromètre de masse Microflex (Bruker Daltonique) et en respectant la procédure standard de préparation. Les spectres ainsi acquis ont été analysés par la solution logicielle MALDI Biotyper, et en parallèle par un nouvel algorithme calculant la probabilité d'un mélange. En complément, des spectres provenant de cultures pures ont été soumis à cet algorithme pour évaluer le risque de fausse détection de mélanges. Après optimisation de certains paramètres, des spectres connus comme étant issus de mélanges microbiens retrouvés dans des échantillons de routine, détectés à l'œil nu (utilisateur averti), ont été soumis à ce nouvel algorithme de détection des mélanges. Les résultats montrent l'applicabilité générale de cette nouvelle approche sur des échantillons réels si les paramètres sont bien définis.

418/78A 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Analyse épidémiologique par spectrométrie de masse MALDI-TOF, potentiel et limites : perspectives

I. Burckhardt[2], S. Schütt[2], T. Maier[1], S. Zimmermann[2], C. Wendt[2], P. Mogabure[3]
[1]Bruker Daltonik GmbH, Bremen [2]University Hospital of Heidelberg, Institute of Hygiene, Department of Medical microbiology and Hygiene, Heidelberg, Allemagne [3]Bruker Daltonique, Wissembourg, France

Entre décembre 2008 et janvier 2009, des *Klebsiella pneumoniae* productrices de carbapénémase ont été isolées de 9 patients différents d'un hôpital universitaire. Comme ce type de profil de résistance est encore assez rare,

une épidémie fut suspectée, confirmée et donc analysée. Dix isolats issus de cette épidémie- un patient ayant été colonisé par 2 isolats phénotypiquement différents- ont été typés par électrophorèse en champ pulsé (ECP). Au contraire de l'ECP, la spectrométrie de masse MALDI-TOF est basée sur une analysée protéique, est rapide, peu coûteuse, et des souches supplémentaires peuvent facilement être ajoutées plus tard à l'analyse. Les souches ont été cultivées sur gélose au sang, extraites par un protocole basé sur l'acide formique et l'éthanol ; pour chacune de ces souches 24 spectres ont été réalisés. En utilisant le spectromètre de masse Microflex (Bruker Daltonique) et la solution logicielle standard (MALDI Biotyper 2.0), trois analyses bioinformatiques ont été effectuées : la génération de dendogrammes, le sous-typage et l'analyse en corrélation.

Ces trois analyses ont correctement identifiées les souches liées à cette épidémie, par rapport à des souches sans aucun lien épidémiologique. Cependant, la classification de ces souches entre elles diffèrent par rapport à l'ECP.

419/78A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Optimization of the acceptance criteria for identification results of Gram negative rods obtained with matrix-assisted laser description ionization-time of flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS)

A. De Bel, I. Wybo, K. Vandoorslaer, P. Rosseel, S. Lauwers
Department of Microbiology and Infection Control, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels, Belgique

Background: Recently, matrix-assisted laser-desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS, MALDI Biotyper, Bruker®) has shown to be a useful and simple method for the rapid identification of microorganisms. The MALDI Biotyper output is a log score in the range of 0 – 3.0. Initially, we used the acceptance criteria cited in the literature (LAC): a log score ≥1.7 and ≥2.0, respectively, are the thresholds for a match at the genus and the species level. However, the described criteria of the Bruker manual (BAC) are more stringent.

Purpose of the study: The present study aimed to optimize the acceptance criteria used for identification of *Enterobacteriaceae* and non-fermenters obtained with MALDI Biotyper.

Methods: During the validation phase the results of conventional phenotypical identification of the isolates were used as a reference. 16S rRNA gene sequencing was performed for strains that gave discrepant results. The results of 73 *Enterobacteriaceae* and 77 non-fermenters routine strains included in the validation phase, were reanalyzed to formulate alternative acceptance criteria (AAC).

After implementation of the system using the LAC, the theoretical impact of the AAC was retrospectively analyzed on 461 consecutive routine isolates (381 *Enterobacteriaceae* and 80 non-fermenters).

If more then one species gave a log score ≥2.0, additional biochemical tests were performed to differentiate between the suggested species.

Results obtained: To reduce the number of biochemical tests and to increase specificity, the need for a 0.200 log difference between species discrepancies was proposed in addition to the LAC.

276 out of 461 strains (59.9%) were identified to species level without additional tests when using the BAC, in comparison to 86.1% and 92.8% of the strains when using the LAC or the AAC. By introducing the 0.200 log condition, the requirement of additional biochemical tests could be reduced from 12.8% (LAC) to 6.1% (AAC) without loss of accuracy. One misidentification (0.2%) was prevented by using the AAC instead of the LAC.

Conclusion: The proposed AAC are less stringent than the BAC and more specific than both the BAC and the LAC. They require less additional biochemical tests for Gram negative rod identifications.

420/78A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation du spectromètre de masse AXIMA SARAMIS SIRWEB-MALDI-TOF pour l'identification d'espèce des légionelles par MALDI-TOF-MS

C. Ginevra[1], O. Dauwalder[1], N. Baida[2], H. Meugnier[1], A.M. Freydiere[1], F. Vandenesch[1], J. Etienne[1], S. Jarraud[1]
[1]Hospices civils de Lyon, Centre National de Référence des Légionelles, Groupement Hospitalier Est, Lyon [2]I2A, Perols, France

Le genre *Legionella* contient plus de 50 espèces différentes, parmi lesquelles certaines se divisent en plusieurs sérogroupes. L'identification de ces bactéries au niveau de l'espèce est réalisée dans des laboratoires spécialisés soit par des méthodes phénotypiques (immunofluorescence indirecte avec des anticorps spécifiques de chaque espèce), soit par des méthodes moléculaires (RAPD et séquençage de gènes spécifiques).

Objectif : Evaluer la capacité d'identification au niveau de l'espèce des bactéries du genre *Legionella* par MALDI-TOF-MS à l'aide du Spectromètre de masse AXIMA (Shimadzu) couplée à la base de données spectrales SARAMIS (Anagnostec) et intégrée au sein du logiciel SIRWEB-MALDITOF (I2A).

Méthodes : 178 isolats de *Legionella* de 23 espèces différentes parmi lesquelles 18 présentes dans la base de données SARAMIS ont été testés pour l'identification par MALDI-TOF-MS. Chaque isolat a été déposé 4 fois sur la plaque directement à partir de la colonie bactérienne conjointement avec une matrice d'α-cyano-4-hydroxy-cinnamique. Les identifications discordantes ont été vérifiées par séquençage du gène *mip*.

Résultats : Parmi les espèces présentes dans la base de données, 131 (79%) isolats ont une identification confirmée (homologie >30% pour au moins 2 réplicats), 19 (11%) une identification probable (homologie <30% ou >30% pour un seul réplicat), 11 (7%) pas d'identification et 5 (3%) une identification incorrecte. Parmi les espèces absentes de la base des spectres, 9 ne sont pas identifiées, et 3 sont identifiées de façon incorrecte.

Conclusion : Le spectromètre de masse AXIMA couplée à la base de données spectrales SARAMIS permet une identification par MALDI-TOF-MS des espèces de *Legionella* présentes dans la base de données dans 90% des cas. Compléter la base de données par des spectres des espèces manquantes permettrait d'optimiser l'identification d'espèce des *Legionella* par cette méthode.

421/78A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Identification bactérienne par spectrométrie de masse AXIMA SARAMIS SIRWEB-MALDI-TOF : application à un laboratoire hospitalier de bactériologie médicale

H. Meugnier[1], A.M. Freydiere[1], N. Baida[2], Y. Benito[1], M. Badoz[1], M. Chomarat[3], S. Boisset[1], P. Girardo[1], M.E. Reverdy[1], J. Etienne[1], G. Lina[1], F. Vandenesch[1], O. Dauwalder[1]
[1]Laboratoire de bactériologie – Institut de microbiologie – Centre de Biologie et Pathologie Est – Groupement Hospitalier Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon-Bron [2]I2A, Parc de la Méditerranée – Agglomération de Montpellier, Perols [3]Laboratoire de bactériologie – Centre de Biologie de Pathologie Sud – Groupement Hospitalier Sud, Hospices Civils de Lyon, Pierre Bénite, France

Objectif : Comparaison de l'identification bactérienne (**IB**) à l'espèce obtenue par la technique de spectrométrie de masse MALDI-TOF (**SM**) aux méthodes biochimiques d'identification conventionnelle (**IC**) de 323 souches isolées dans un laboratoire hospitalier de bactériologie médicale.

Matériels et Méthodes : 323 souches isolées au laboratoire pendant une semaine et nécessitant une identification bactérienne ont été incluses dans l'étude. Elles provenaient de divers prélèvements : hémocultures (16%), urines (29%), prélèvements pulmonaires (20%) ou cutanés (12%), autres (23%) et étaient isolées de milieux variés (GS, BCP, chromogènes, *etc.*) incubées pendant 24 à 72h. Les souches ont été identifiées à l'aide de galeries biochimiques (**IC**) : Phoenix (BD) ou API (bioMérieux) ; et par **SM** AXIMA (Shimadzu) couplée à la base de données spectrales SARAMIS (Anagnostec) et intégrée au sein du logiciel SIRWEB-MALDITOF (I2A). Les souches ont été testées en dépôt unique avec une matrice d'α-cyano-4-hydroxy-cinnamique et celles ne présentant pas d'**IB** lors du premier passage furent retestées en double dépôts. Seules quatre souches non identifiées ont été extraites à l'aide d'acide formique. Les souches présentant une identification discordante ont été identifiées par techniques moléculaires (**BM**) [PCR/séquençage, le BIBI (www.*pbil.univ-lyon1.fr/bibi*)].

Résultats : Sur les 323 souches testées, l'**IB** rendue par **SM** fut concordante avec celle obtenue par **IC** dans 305 cas (94,4%). Dans 87,6%, une **IB** a été obtenue en moins d'une minute par puits par analyse des super spectres. 23,5% des souches ont été retestées une seconde fois. Dans 4 cas, la **SM** ne rendait aucune **IB**, y compris après extraction à l'acide formique. Dans 14 cas, une **IB** discordante fut obtenue requérant le recours aux **BM :** dans 6 cas, la **SM** donnait une **IB** correcte au genre ou à l'espèce ; dans 5 cas, c'est l'**IC** qui donnait une **IB** correcte au genre ou à l'espèce. Enfin, dans 3 cas, l'**IB** obtenue par **IC** et par **SM** était différente de celle obtenue par **BM**.

Conclusion : L'utilisation de la **SM** pour l'identification de bactéries isolées apparaît comme une technique performante en comparaison de l'**IC** permettant un gain de coût et de temps.

422/78A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Identification des bactéries par MALDI-TOF-MS au laboratoire de microbiologie : état des lieux après une utilisation de 6 mois en routine

A. Ferroni, B. Dauphin, J.L. Beretti, J. Meyer, P. Descamps, E. Bille, H. Lecuyer, P. Berche, X. Nassif
Microbiologie, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France

L'identification des bactéries est actuellement réalisée par des techniques phénotypiques complétées le cas échéant par une identification moléculaire. Au laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Necker-Enfants malades, nous utilisons depuis plusieurs mois la spectrométrie de masse Matrix Assisted Laser Desorption Ionisation Time-Of-Flight mass spectrometry (MALDI-TOF-MS), qui a montré ses performances dans l'identification bactérienne à partir de colonies. Notre but était de supprimer les identifications phénotypiques de routine par galeries biochimiques, et de permettre l'identification des bactéries difficilement cultivables. Notre recul est à présent assez suffisant pour pouvoir établir le bilan de cette nouvelle technologie.

Du 1/2/09 au 31/07/09, nous avons procédé à l'identification en routine par MALDI-TOF-MS de 6096 bactéries d'intérêt clinique cultivées à partir des prélèvements de malades, à l'exception des *Escherichia Coli* cultivés sur milieux chromogène, des bacilles à Gram positif et des mycobactéries dont les bases de données sont en cours de validation. Certaines espèces retrouvées rarement ont bénéficié d'une confirmation d'identification par biologie moléculaire.

Après 24H ou 48H de culture, une identification sommaire des colonies a été réalisée (Gram et catalase pour les cocci à Gram positif, Gram et oxydase

pour les bacilles à Gram négatif), suivie d'une identification MALDI-TOF-MS et d'un antibiogramme à partir de ces mêmes colonies.

Les résultats obtenus ont montré, pour la grande majorité des bactéries, une bonne qualité des spectres à J1 quel que soit le milieu de culture utilisé, et la concordance des résultats MALDI-TOF-MS avec le profil de sensibilité aux antibiotiques. A ces performances s'ajoutent un gain de temps, un coût dérisoire en dehors de l'acquisition de l'appareil et une faisabilité tout à fait adaptée à la routine d'un laboratoire. Par ailleurs, cette méthode permet de donner une identification précise des espèces jusqu'alors identifiées de façon sommaire en routine. Les points faibles sont l'obligation, pour les streptocoques et les bactéries de croissance difficile, de disposer d'une culture assez dense pour obtenir des spectres interprétables, et la nécessité d'une maintenance trimestrielle de l'appareil.

423/78A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Identification de l'espèce *S. aureus* par spectrométrie de masse : comparaison avec d'autres techniques

Z. Ouchenane, F. Smati, J.M. Rolain, D. Raoult
Bactériologie, Hôpital Militaire Universitaire de Constantine, Constantine, Algérie

Introduction : Depuis une quinzaine d'années, la spectrométrie de masse notamment la technique MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Désorption /Ionisation Time Of Flight), permet l'analyse des acides nucléiques en quelques secondes. Elle est basée sur l'ionisation puis sur la fragmentation d'une cible en la bombardant d'électrons. Le ratio masse/charge des fragments moléculaires obtenus par désintégration de la cible est analysé dans un second temps, ce qui permet d'établir une signature moléculaire.

Matériel et méthodes : 64 souches non redondantes de *S.aureus* ont été identifiées par spectrométrie de masse. Ces souches ont fait l'objet au préalable d'une identification par les techniques conventionnelles, les techniques automatisées, ainsi que les techniques de biologie moléculaire (PCR en temps réel).

Résultats : La concordance entre les résultats de la spectrométrie de masse, l'identification automatisée par le vitek2, et la recherche du gène de la thermonuclease par PCR en temps réel est de 100%. La concordance n'est que de 80% avec les techniques conventionnelles.

Conclusion : Les techniques conventionnelles sont parfois sujettes à des erreurs, elles doivent être complétées par des techniques automatisées ou mieux encore par des techniques de biologie moléculaire, c'est le meilleur garant d'un diagnostic fiable.

424/78A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Performances de la spectrométrie de masse pour l'identification des staphylocoques à coagulase négative isolées d'hémocultures

J.L. Donay[2], R. Lepeule[2], L. Raskine[1], M. Lafaurie[2], E. Cambau[2]
[1]Microbiologie, Hôpital Lariboisière [2]Microbiologie, Hôpital Saint-Louis, Paris, France

Objet de l'étude : Dans le cadre de l'évaluation de l'impact d'une Unité Mobile en Infectiologie sur la prescription d'une antibiothérapie liée aux hémocultures positives à staphylocoques à coagulase négative (SCN), nous avons déterminé si plusieurs hémocultures d'un même patient positives à SCN étaient dues à la présence d'une ou de plusieurs souches. Afin d'obtenir une identification précise et rapide des SCN, nous avons utilisé deux spectromètres de masse et comparé leurs performances.

Méthodes : Sur une première période de 2 mois, nous avons inclus 131 souches de SCN isolées de 131 flacons d'hémocultures provenant de 67 patients. Sur une deuxième période de 2 mois, nous avons inclus 144 flacons d'hémocultures provenant de 72 patients. A l'aide de deux spectromètres de masse (SHIMADZU et BRUKER) nous avons identifié les 131 souches isolées sur milieu gélosé ainsi que les 144 SCN directement extraits des flacons positifs. Les antibiogrammes en diffusion ont été expertisés par le lecteur OSIRIS, puis comparés. Nous avons considéré qu'il s'agissait d'une unique souche si plusieurs isolats présentaient la même identification par les 2 spectromètres, et comportaient moins de 3 différences mineures au niveau de l'antibiogramme.

Résultats : A partir des colonies isolées sur milieu gélosé, le spectromètre SHIMADZU donne une identification d'espèce pour 96,9% des souches. L'analyse des « super-spectres » a été nécessaire dans 9% des cas. Le spectromètre BRUKER donne une identification d'espèce « hautement probable » dans 99,2% des cas. L'étude comparée des deux spectromètres montre une concordance d'identification pour 97% des souches testées ; les identifications discordantes seront vérifiées par le séquençage du gène *sodA*. A partir des flacons d'hémocultures, le spectromètre SHIMADZU donne une identification dans 37% des cas, tandis que le spectromètre BRUKER montre une performance de 8%.

Conclusion : A partir des souches isolées, les performances des deux spectromètres sont comparables ; le taux d'identification de l'espèce est satisfaisant et comparable aux données de la littérature. L'identification à partir du flacon positif est médiocre quel que soit le spectromètre utilisé et paraît donc peu pertinente pour une application en routine.

425/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Faut-il procéder à un dépistage du portage de *Pseudomonas aeruginosa* dans les services de réanimation ?

C. Slekovec, M. Thouverez, X. Bertrand, D. Talon
Hygiène hospitalière, CHU de Besançon, Besançon, France

Objectif : Pseudomonas aeruginosa (*Pa*) est un pathogène opportuniste majeur dans les services de réanimation où il est responsable de 18% des infections nosocomiales. L'objectif de cette étude était d'évaluer l'intérêt potentiel du dépistage de *Pa* à l'admission ainsi qu'en cours d'hospitalisation dans la prise en charge des patients de réanimation.

Matériel et méthodes : Cette étude rétrospective observationnelle a été réalisée en 2007, dans les deux services de réanimation adulte du CHU de Besançon. Le dépistage du portage de *Pa* a été réalisé à l'admission et en cours d'hospitalisation, il s'agissait d'un écouvillonnage nasal et rectal plus ou moins une aspiration trachéale si le patient était intubé. Les prélèvements à visée diagnostique (hémoculture, pulmonaire profond et urine) positifs à *Pa* ont été recueillis.

Un délai de positivité de 48 heures entre l'admission en réanimation et le premier prélèvement positif a permis de différencier les cas acquis (délai > 48h) des cas importés (délai ≤48h). L'analyse des données a été faite à l'aide du logiciel Epi-info 6.04.

Résultats : Au total, 754 patients ont été inclus dans l'étude, parmi eux 146 ont présenté un dépistage positif soit une incidence moyenne de 19,4 pour 100 patients. Quarante cas étaient importés et 106 acquis. Cinquante neuf patients ont présenté au moins un prélèvement clinique positif soit une incidence de 6,56 pour 100 patients admis. La sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positive et négative du dépistage comme indicateur prédictif d'une infection ultérieure, étaient respectivement de 57,6%, 83,9%, 23,3% et 95,9%.

Conclusion : Les prélèvements de dépistage sont indispensables pour déterminer le niveau d'endémicité de *Pa* dans les services de réanimation. L'excellente valeur prédictive négative du dépistage peut apparaître comme un bon argument pour la réduction de l'usage des antibiotiques anti-pyocyaniques, toutefois l'intérêt cette stratégie ainsi que celui de la décontamination digestive et oro-pharyngée restent à évaluer.

426/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Risque infectieux à *Pseudomonas aeruginosa* associé aux soins : 3 années de suivi au CHU d'Amiens

C.C. Adjidé[2], M. Biendo[2-1], S. Abraham[2], R. Weiss[2], O. Obin[2], F. Lamory[2], C. Lesueur[1], L. Trouillet[2], H. Mammeri[1], F. Eb[1], J. Merlin[2], O. Ganry[2]
[1]Laboratoire de bactériologie [2]Unité d'hygiène et épidémiologie hospitalière, service d'hygiène hospitalière, d'épidémiologie et de santé publique, CHU, Amiens, France

Objectif : Évaluer, sur 3 années, le risque infectieux associé à *Pseudomonas aeruginosa* (Psa) au CHU d'Amiens.

Matériel et méthode : Étude rétrospective réalisée, de 2006 à 2008, au CHU d'Amiens. Les données étudiées - âge, sexe, service, site de prélèvement, délai au CHU et dans le service avant prélèvement - portent sur 2466 patients hospitalisés, dont 69 en longs séjours (LS), ayant eu un prélèvement diagnostique positif à Psa durant la période d'étude. Une seule souche par patient et son type de résistance ont été étudiés. Et, 67 souches chronologiques, une par patient et par type de prélèvement clinique (C-Psa) et 20 environnementales (E-Psa) ont été génotypées par ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus)-PCR avec l'amorce ERIC2: 5'-AAG-TAA-GTG-ACT-GGG-GTG-AGC-G-3' et électrophorèse des produits d'amplification en gel d'agarose à 1%. Les données ont été analysées avec SPSS 11.0 pour Windows, comparées à l'aide du test du Khi-deux pour les qualitatives et du test de Wilcoxon Mann-Whitney pour les quantitatives, jugés significatifs à $p<0,05$.

Résultats et discussion : Les patients, hors LS, avaient un âge médian à 71 ans, sex ratio à 1,1 et avaient été diagnostiqués 6 et 5 jours après l'admission au CHU et dans le service respectivement. 1/3 des patients étaient admis au CHU avec une infection à Psa. L'incidence des infections acquises à Psa, comparable d'une année sur l'autre ($p=0,2$), était de 1,1 pour 1000 journées d'hospitalisation. Les patients âgés de 50 ans ou plus apparaissent plus vulnérables à Psa, OR = 1,39 [1,14-1,71], et les hommes plus que les femmes ($p=0,003$).

Les Psa, parmi lesquels 19,4% sont ticarciline-résistants et 4,1% ceftazidime-résistants, étaient isolés de urines (27,3%), arbre trachéo-broncho-pulmonaire (24,7%), pus (15,8%) et coprocultures (14,7%), chez des patient hospitalisés en réanimation 23,2%) notamment polyvalente (7,1%), chirurgicale (4,3%), respiratoire (3,9%), néphrologie (2,6%), en médecine gériatrique (10,4%), pneumologie (5,2%), urologie (4,5%) et médecine interne (4,4%).

Les souches de C-Psa et E-Psa se distribuent en 34 et 6 profils ERIC-PCR respectivement. Les C-Psa sont polyclonales avec peu de profils épidémiques et les E-Psa sont constituées de 3 groupes génétiquement liés. Les profils C1 et E6 sont génétiquement liés mais peu de liaison génétique établie entre les C et E-Psa. L'infection à Psa est majoritairement d'origine endogène.

Conclusion : L'infection à Psa est majoritairement nosocomiale. L'étude génétique n'établit pas un important transfert de contamination environnement-patient et indique un portage important des C-Psa à l'admission.

Le niveau élevé du risque infectieux à Psa associé aux soins et multirésistance croissante des souches aux antibiotiques nous incitent à plus de vigilance et maintenir ce germe sous une constante surveillance épidémiologique.

427/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Impact du traitement antibiotique sur le niveau de résistance des souches de *Pseudomonas aeruginosa* (P.a.) collectées par paires sur des patients souffrant d'une pneumonie nosocomiale dans cinq hôpitaux belges

M. Riou[7], S. Carbonnelle[7], L. Avrain[8], Y. Glupczynski[9], J. Pirnay[5], D. De Vos[5-1], A. Simon[3], S. Pierard[6], F. Jacobs[4], A. Dediste[2], P. Tulkens[7], F. Van Bambeke[7]
[1]Vrije Universiteit Brussel, Brussel [2]Laboratoire de microbiologie, Centre hospitalo-universitaire Saint-Pierre [3]Laboratoire de microbiologie, Cliniques universitaires St-Luc [4]Service des maladies infectieuses, Hôpital Erasme [5]Queen Astrid Military Hospital [6]Laboratorium voor microbiologie, Universitair Ziekenhuis Brussel [7]Unité de pharmacologie cellulaire et moléculaire, Université catholique de Louvain, Bruxelles [8]Coris Biococept s.a., Gembloux [9]Laboratoire de microbiologie, Cliniques universitaires UCL de Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

Introduction : L'émergence de résistance aux antibiotiques durant les thérapies est un inquiétant problème mettant souvent en jeu la vie du patient. Ce phénomène est retrouvé chez les germes responsables d'infections nosocomiales tels que le *Pseudomonas aeruginosa* (P.a.). Ce travail a pour objectif de montrer l'impact du traitement sur la modification de sensibilité aux antibiotiques utilisés contre le P.a. responsable de pneumonies nosocomiales dans des services de soins intensifs.

Matériel et méthodes : (i) 62 paires d'isolats provenant de 59 patients hospitalisés en soins Intensifs avec diagnostic confirmé de pneumonie nosocomiale (isolat 1: au moment du diagnostic [J0]; isolat 2: pendant le traitement (Jx [≥ 3 jours]); (ii) analyse phylogénétique par REP-PCR (Diversilab®) pour confirmation de clonalité (≥ 95 % d'identité); (iii) mesure des CMIs selon les normes CLSI et évaluation de la sensibilité sur base des concentrations critiques (CC) EUCAST et CLSI.

Résultats :

Tableau : Antibiotiques utilisés et sensibilité des paires collectées (n=62) selon les CC avant et durant le traitement [a]

	% d'utilisation des antibiotiques durant le traitement [a]	% S / I / R (EUCAST CC) [b]		% S / I / R (CLSI CC) [c]		Perte de sensibilité (%) durant le traitement [c]	
		Jour 0	Jour ³ 3	Jour 0	Jour ³ 3	EUCAST	CLSI
GEN	8,8	79,0 / 0,0 / 21,0	71,0 / 0,0 / **29,0**	79,0 / 8,1 / 12,9	71,0 / 12,9 / 16,1	8,0	8,0
AMK	21,9	87,1 / 1,6 / 11,3	72,6 / 11,3 / 16,1	88,7 / 0,0 / 11,3	83,9 / 4,8 / 11,3	14,5	4,8
MEM	18,4	64,5 / 12,9 / 22,6	50,0 / 14,5 / **35,5**	75,8 / 1,6 / 22,6	58,1 / 6,5 / **35,5**	14,5	17,7
FEP	14	59,7 / 0,0 / **40,3**	45,2 / 0,0 / **53,2**	59,7 / 12,9 / **27,4**	46,8 / 8,1 / **45,1**	12,9	12,9
PTZ	24,5	66,1 / 0,0 / **33,9**	46,6 / 0,0 / **53,2**	82,3 / 0,0 / 17,7	67,7 / 0,0 / **32,3**	19,5	14,6
CAZ	3,5	64,5 / 0,0 / **35,5**	53,2 / 0,0 / **46,8**	64,5 / 8,1 / **27,4**	53,2 / 8,1 / **38,7**	11,3	11,3
CIP	8,8	69,4 / 4,8 / **25,8**	59,7 / 4,8 / **35,5**	74,2 / 3,2 / 22,6	64,5 / 6,5 / **29,0**	9,7	9,7
						r = 0,72[d] **p = 0,02**	r = 0,27[d] p = 0,69

[a] Antibiotiques utilisés durant le traitement (%, n = 114)
[b] les chiffres en gras indique le niveau de résistance des antibiotiques excédant 25 % pour toutes les souches et selon les concentrations critiques (CC) correspondantes :
- EUCAST ≤S / R>: gentamicine (GEN): 4 / 4; amikacine (AMK): 8 / 16; méropénème (MEM): 2 / 8; céfépime (FEP): 8 / 8 ; pipéracilline - tazobactam (PTZ): 16 / 16; ceftazidime (CAZ): 8 / 8; ciprofloxacine (CIP): 0.5 / 1.
- CLSI ≤S / R³: gentamicine (GEN): 4 / 16; amikacine (AMK): 16 / 64; méropénème (MEM): 4 / 16; céfépime (FEP): 8 / 32; pipéracilline - tazobactam (PTZ): 64 / 128; ceftazidime (CAZ): 8 / 32; ciprofloxacine (CIP): 1 / 4.
[c] Pourcentage des souches passant de sensible à intermédiaire/résistante entre le jour J0 et le jour JX.
[d] Test non paramétrique de Spearman entre le pourcentage d'utilisation des antibiotiques et la perte de sensibilité (%).

La résistance initiale est élevée et une perte de sensibilité pour tous les antibiotiques est observée (plus de 25 % des souches devenant résistantes suite à une exposition de 3 jours ou davantage pour 2 antibiotiques [MEM, GEN] selon l'EUCAST et pour 3 antibiotiques [CIP, MEM, TZP] selon les normes CLSI). La corrélation entre l'utilisation d'un antibiotique donné et la perte de sensibilité vis-à-vis de cet antibiotique sur base des concentrations critiques de l'EUCAST est statistiquement significative.

Conclusion : Nous observons une augmentation de la résistance de P.a. aux antibiotiques durant le traitement, ce qui confirme et étend des travaux antérieurs. Cependant, l'interprétation des résultats est variable selon les systèmes d'évaluation utilisés.

428/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Facteurs individuels et collectifs associés à la prévalence des patients infectés par *Pseudomonas aeruginosa* dans les établissements de santé de l'inter-région Est : une approche multiniveau

H. Gbaguidi-Haore[1-2], P. Cholley[1-2], X. Bertrand[1-2], C. Rabaud[3], D. Talon[3-1-2]
[1]Service d'Hygiène Hospitalière, CHU de Besançon [2]UMR CNRS 6249, Université de Franche-Comté, Besançon [3]CCLIN-EST, Nancy, France

Objectif : *Pseudomonas aeruginosa* (*Pa*) arrive au 3e rang des pathogènes nosocomiaux selon l'enquête nationale de prévalence (ENP) 2006. Le but de cette étude était de déterminer les facteurs individuels et collectifs associés à la prévalence (Pr) des patients infectés par *Pa* (cas) dans les établissements de santé (ES ≥ 300 lits) de l'inter-région Est (IR-Est).

Matériel et méthodes : A partir des données de l'ENP 2006 pour l'IR-Est, nous avons réalisé une analyse statistique utilisant des modèles de régression logistique multivariée multiniveau. Ces modèles permettaient de tenir compte de la structure hiérarchique des données : niveau 1 (individuel/patient : l'âge, le sexe, le score de McCabe…) et niveau 2 (collectif/ES : le type d'ES, la région, les proportions de patients exposés à un dispositif invasif [sonde urinaire, cathéter vasculaire ou intubation/trachéotomie] ou sous traitement antibiotique…). Les données ont été analysées à l'aide des logiciels Stata v.10 (analyses descriptives) et MLwiN v. 2.02 (analyses multiniveaux).

Résultats : Au total, 25533 patients issus de 51 ES (médiane = 376 patients ; extrêmes = 224-1964 patients) ont été inclus dans l'étude. La Pr globale des cas était de 0,37% (médiane = 0,25% ; extrêmes = 0-1,65%) correspondant à 94 cas pour 98 infections (dont 32% respiratoires, 32% urinaires et 15% peau/tissus mous ; 28% des souches de *Pa* étaient résistantes à la ceftazidime). La modélisation multiniveau a révélé que 14% de la variabilité totale de la Pr était expliquée par les différences entre les ES et que les caractéristiques des patients retenues dans les modèles finaux expliquaient 52% de cette variabilité. En définitive, les paramètres associés significativement et positivement à la Pr du *Pa* étaient un score de McCabe ≥ 1 [p<0,001], une hospitalisation en réanimation [p<0,001], une intervention chirurgicale récente [p<0,01], le sexe masculin [p<0,05] et des proportions élevées de patients exposés à au moins un dispositif invasif [p<0,05] ou aux antibiotiques anti-pyocyaniques [p<0,01], notamment les aminoglycosides [p<0,01].

Conclusion : Un effet de composition (caractéristiques des patients), beaucoup plus qu'un effet contextuel (caractéristiques écologiques) explique la grande variabilité de la Pr du *Pa* dans les ES de l'IR-Est.

429/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Étude multicentrique prospective des prélèvements positifs à bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGN-NF) : données cliniques

H. Jacquier[9], S. Corvec[5], A. Le Monnier[4], J.R. Zahar[7], F. Jauréguy[1], E. Carbonnelle[6], V. Finhman[3], J. Tankovic[8], V. Cattoir[2]
[1]Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Avicenne, AP-HP, Bobigny [2]Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen [3]Microbiologie-Hygiène, CHU Louis Mourier, AP-HP, Colombes [4]Laboratoire de Microbiologie, CH Versailles, Le Chesnay [5]Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes, Nantes [6]Microbiologie, CHU Européen Georges Pompidou [7]Microbiologie-Hygiène, CHU Necker-Enfants Malades, AP-HP [8]Bactériologie-Virologie, CHU Saint-Antoine, AP-HP, [9]Bactériologie-Virologie, Groupe Hospitalier Lariboisière-Fernand Widal, AP-HP, Paris, Paris, France

Les bacilles Gram négatif non fermentant sont régulièrement isolés de prélèvements cliniques. A l'exception de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter baumannii* il est souvent difficile d'évaluer leur réelle implication dans un processus infectieux évolutif.

Sur 6 mois, nous avons recueilli prospectivement dans 9 hôpitaux français les caractéristiques des patients pour lesquels un bacille Gram négatif non fermentant (hors *P. aeruginosa* et *A. baumannii*) avait été isolé de prélèvements cliniques. Ces données incluent les caractéristiques démographiques et de l'hospitalisation des patients

Résultats : Au total, 199 patients ont été inclus : le sexe ratio H/F était de 1.9 et l'âge médian de 55 ± 32 ans. Parmi ces patients, 165 (86%) étaient suivis pour une pathologie chronique, 60 (30%) présentaient une immunodépression et 20 (10%) étaient souffraient de mucoviscidose.

82 patients (46%) avaient été récemment hospitalisés et 44 (25%) avaient reçu une antibiothérapie dans les 3 derniers mois. Pour 61 d'entre eux (40%), une antibiothérapie avait été instituée au cours de l'hospitalisation avant la réalisation du prélèvement. 103 patients (58%), avaient au moins une procédure invasive (intubation, sondage, cathéter central) en cours et 49 patients (28%) avaient eu un geste chirurgical préalable.

Les sites les plus fréquemment concernés étaient le poumon (38%), le sang (19%), les urines (14%) et la peau (10%).Il s'agissait de prélèvement monomicrobien dans 106 (55%) cas. Dans 66 cas (33%), le prélèvement concerné avait été réalisé dans les 48 premières heures après l'admission. Seuls 69 patients (40%) étaient fébriles au moment du prélèvement. Néanmoins, si 62 (31%) présentaient des signes cliniques compatibles avec une pathologie infectieuse, ce microorganisme avait été reconnu comme responsable de l'infection par les cliniciens dans seulement 43 cas (22%).

Conclusions : Les bacilles à gram négatif non fermentant constituent un groupe hétérogène d'espèces bactériennes mal connues et le plus souvent négligés sur le plan infectieux. Cependant, ces microorganismes préférentiellement isolées au décours d'une antibiothérapie et chez des patients présentant de multiples comorbidités sont responsables de véritables infections.

430/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation du risque infectieux associé aux *Stenotrophomonas maltophilia* isolés de prélèvements à visée diagnostique : *étude rétrospective sur 4 ans au CHU d'Amiens*

C.C. Adjidé[2], S. Abraham[2], M. Biendo[2-1], R. Weiss[2], O. Obin[2], F. Lamory[2], C. Lesueur[1], L. Trouillet[2], F. Eb[1], O. Ganry[2]
[1]Laboratoire de bactériologie [2]Unité d'hygiène et épidémiologie hospitalière, service d'hygiène hospitalière, d'épidémiologie et de santé publique, CHU, Amiens, France

Objectif : évaluer, sur 4 années, le risque infectieux associé au *Stenotrophomonas maltophilia* (Smalto), au CHU d'Amiens.

Matériel et méthode : étude rétrospective réalisée sur 4 ans, de 2005 à 2008, au CHU d'Amiens. Les données étudiées - âge, sexe, service, site de

prélèvement, durées de séjour au CHU et dans le service - concernent 319 patients dont 3 en longs-séjours, ayant eu un prélèvement diagnostique positif à Smalto. Durant la période d'étude, une seule souche par patient et son type de résistance, ont été étudiés. Les données ont été analysées avec SPSS 11.0 pour Windows, les données qualitatives ont été comparées à l'aide du test du Khi-deux et les quantitatives à l'aide du test Wilcoxon Mann-Whitney, jugés significatifs à p<0,05.

Résultats et discussion : les patients sont en moyenne âgés de 61 ans, médiane à 67 ans, ont séjourné 11 jours au CHU et 8 jours dans le service, en médiane, avant le diagnostic. Une infection à Smalto était présente chez 21% des patients à l'admission au CHU. Le sex-ratio moyen de 1,6, varie entre 2,1 et 1,3 (p=0,03). Les patients âgés de 50 ans ou plus apparaissent plus vulnérables au Smalto y compris hors longs séjours, OR=3,1 [1,7-5,5] et les hommes le sont plus que les femmes sur la période étudiée ($p<10^{-6}$). Le risque infectieux associé à Smal entre 2005 et 2008 est de 0,13 pour 1000 journées d'hospitalisation (JH), passant de 0,15 à 0,13 pour 1000 JH entre ces deux années (p=0,4).

Les Smalto sont isolés de la sphère broncho-pulmonaire (59,6%), des urines (14%) et des pus (10%). C'est dans les réanimations (41,7%), notamment polyvalente (17%), chirurgicale (8,5%) et pneumologique (7,2%), qu'on observe le plus d'infectés. En moyenne 95% des Smalto sont ticarciline-résistants et 30% sont ceftazidime-résistants, taux stables sur la période, p=0,07 et p=0,23 respectivement.

Conclusion : les infections à Samlto sont pour la plupart acquises au cours du séjour hospitalier, avec des incidences d'infections acquises comparables d'une année à l'autre durant la période d'étude. Le risque infectieux associé aux soins et lié à Smalto est de ce fait particulièrement élevé, et ce dès l'âge de 50 ans. Il mérite d'être mieux pris en compte au cours des soins et ses modes et voies de transmission mieux explorés. Ce d'autant que près du tiers des souches de Smalto étudiées sont ticarcillne-ceftazidime résistantes.

431/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Pseudomonas (anciennement _Flavimonas_) _oryzihabitans_, à propos de 5 cas d'infection sur cathéter

V. Fihman[2], M.H. Odièvre[3], C. Deschamps[2], E. Sanni[3], A. Courpon[2], G. Barnaud[2], B. Mesples[3], B. Coffin[1], N. Parez[3], C. Branger[2]
[1]Hépato-Gastro-Entérologie [2]Microbiologie [3]Pédiatrie, CHU Louis Mourier, APHP, Colombes, France

Objectifs : *P. oryzihabitans* est un pathogène rare provoquant des infections chez les immunodéprimés. Nous rapportons 5 cas d'infections nosocomiales sur cathéter survenus principalement chez des immunocompétents entre 2006 et 2009.

Méthodes : L'analyse a consisté en la revue rétrospective des dossiers, la confirmation de l'identification obtenue par API 20NE à l'aide du séquençage du gène de l'ARNr 16S, la détermination des CMI aux beta-lactamines, aminosides et ciprofloxacine, le typage moléculaire par ERIC-PCR et électrophorèse en champs pulsé, et une enquête environnementale.

Résultats : Parmi les 5 cas analysés, 4 étaient des enfants hospitalisés en Pédiatrie Générale et le dernier, 1 adulte en Gastro-entérologie. Dans 4 des 5 cas, le patient souffrait de troubles digestifs à type de diarrhée et/ou vomissements nécessitant une réhydratation par voie intraveineuse périphérique. Le 5ème cas correspondait à une bactériémie sur cathéter central chez un enfant souffrant d'une tumeur solide. Entre 72 et 96 heures après la pose la perfusion, une inflammation locale et une fièvre > 39°C apparaissaient. Les hémocultures étaient positives en moyenne en 27 heures (14 à 30h). L'identification de *P. oryzihabitans* était confirmée dans tous les cas par l'analyse moléculaire. Les analyses des selles à la recherche d'une translocation digestive étaient négatives. L'enquête environnementale n'a pas permis d'isoler *P. oryzihabitans* à partir des prélèvements d'eaux ou de siphons réalisés à proximité des patients, ni des flacons d'antiseptiques utilisés dans les services de Pédiatrie et de Gastro-entérologie.

Le typage moléculaire a montré que les souches n'étaient pas reliées. La détermination des sensibilités aux antibiotiques montre une sensibilité constante à l'Imipénème (CMI : 0,25 mg/l) et à la Ciprofloxacine (CMI : 0,047-0.19mg/l) et une faible activité des Céphalosporines de 3ème Génération (CMI Céfotaxime : 1,5-8 mg/l ; Ceftazidime : 6-32 mg/l).

Conclusions : *P. oryzihabitans* est un pathogène rare qui peut être responsable d'infections nosocomiales sur cathéter périphérique chez l'immunocompétent. L'enquête environnementale ne permet pas toujours d'identifier une source commune. Une antibiothérapie appropriée a conduit à une évolution favorable dans tous les cas.

432/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Impact of _Acinetobacter baumannii_ infection on mortality of burn patients

L. Thabet[2], K. Bousselmi[1], R. Ghanem[2], A. Messadi[1]
[1]Burn Intensive Care, Tunis [2]Laboratory, Traumatology and Burn Center, Tunisia, Tunisie

Introduction: *Acinetobacter baumannii* (Ab) is recognized as an important cause of nosocomial infections. Althought Ab can be associated with multidrug resistance; its impact on mortality in burn patients has not been fully elucidated.

We performed a retrospective cohort study of all patients admitted to the burn intensive care unit in a Tunisian center to determine the effect of *Acinetobacter baumannii* infection on mortality.

Patients and methods: In a retrospective cohort study assessing medical records and microbiology laboratory data at burn center, we evaluated all patients admitted to the burn intensive care between January 2005 and December 2007. Data collected included age, severity of burn, length of stay, and survival to hospital discharge. In addition, microbiology data were reviewed to determine which patients were infected with *Acinetobacter baumannii* during the study period. These data were then used to compare patients infected with Ab to patients no infected. Statistic analysis was performed to determine which patient's characteristics were associated with increased mortality.

Results: From January 2005 through December 2007, 607 patients were admitted to the burn intensive care. 47 (7.7%) patients had nosocomial infection with *Acinetobacter baumannii.*

Bacteremia was the most common type of infection accounting for 42 (89%) to 47.Among these patients 24 were female and 23 were male. Their mean age was 32+/-14 years. Mean TBSA was 50+/-20%.The median length of stay was 75 days (range 9-367 days). The septic mortality in this group was 46.8%. When compared to the patients without Ab infection, the patients infected with Ab had more severe burns and comorbidities, and had longer lengths of stay. Morover, mortality in infected patients with Ab was higher compared with those without infection (relative risk=2.44,p=0.00002). Most of the *Acinetobacter baumannii* isolates were multiresistant to the mainly antibiotics used in the burn unit and were only susceptible to colistin.The inappropriate antibiotherapy, particularly the later use of colistin was significantly associated with mortality.

Conclusion: *A.baumannii* infections appear to associated with increased mortality, as they typically occur in patients with severe injuries and more extensive burns.

The inappropriate empiric antibiotherapy was significantly associated with mortality. Clinicians should consider these data when treating A b infections in the future.

433/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Intérêt de la tigécycline dans le traitement des infections ostéo-articulaires à _Staphylococcus epidermidis_ résistant à la méticilline (SERM)

N. Asseray[2], P. Bemer[1], S. Corvec[1], D. Boutoille[2], S. Touchais[3], D. Navas[4]
[1]Bactériologie [2]Maladies Infectieuses [3]Orthopédie-Traumatologie [4]Pharmacie Hospitalière, CHU Hôtel Dieu, Nantes, France

Objet de l'étude : La TIGECYCLINE, antibiotique récemment mis sur le marché, conserve parfois une efficacité sur certaines souches multi-résistantes de *S. epidermidis*. L'équipe pluridisciplinaire pour la prise en charge des infections ostéo-articulaires du CHU de Nantes a dû faire appel à cette molécule à plusieurs reprises. Il s'agit ici de réaliser un bilan de l'efficacité et de la tolérance de cette molécule.

Méthode : Les dossiers ont été rétrospectivement revus sur la base des compte-rendus standardisés des réunions de concertations pluridisciplinaires, des ordonnances nominatives, et des données bactériologiques.

Résultats : Entre juillet 2007 et août 2008, cinq patients ont été traités par la tigécycline (3 femmes et deux hommes, âgés de 38 à 77 ans). Il s'agissait dans 4 cas d'infections de prothèse (3 hanches et 1 épaule) et d'une infection de clou. Les cinq patients ont été repris chirurgicalement pour ablation complète du matériel infecté, dans un délai de 1 à 5 mois après le début de l'infection. De 4 à 8 prélèvements per-opératoires ont été faits, dont 3 à 4 étaient positifs à SERM (à l'exception d'une patiente pour laquelle la souche était sensible à la méticilline mais multirésistante). Pour deux patients, il s'agissait d'infection plurimicrobienne (SASM, flore multimicrobienne). Le choix de la tigécycline s'est imposé du fait de l'absence d'alternative sur l'antibiogramme dans 2 cas ou de contre-indications à d'autres molécules dans trois cas.

Pour 4 patients, le succès était obtenu (confirmation après au moins un an de suivi) après 70 à 90 jours de traitement en monothérapie (1 patient) ou en association (fosfomycine, cotrimoxazole ou linezolide). Pour une patiente, l'échec de traitement était finalement affirmé après 5 mois de traitement, suite à de nombreuses complications post-opératoires (infection multimicrobienne sur des hématomes post-opératoires itératifs chez une patiente hémophile).

Conclusion : La TIGECYCLINE a été utilisée avec succès pour le traitement d'infections ostéo-articulaires complexes à SERM multi-résistant. Sa bonne tolérance a permis son utilisation malgré la contre-indication à d'autres antibiotiques.

434/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

High-dose vancomycin continuous infusion for methicillin-resistant staphylococcal Pprosthetic hip infection : A prospective study

V. Dubée[3], V. Zeller[2], L. Lhotellier[2], M.D. Kitzis[1], S. Klouche[2], P. Leclerc[2], P. Mamoudy[2], J.M. Ziza[3], N. Desplaces[4]
[1]Service de Bactériologie, Fondation Hôpital Saint Joseph [2]Service de chirurgie osseuse et traumatologie [3]Service de médecine interne et rhumatologie [4]Service de microbiologie, Groupe Hospitalier Diaconesses Croix Saint Simon, Paris, France

Background: Treatment of methicillin-resistant (MR) staphylococcal prosthetic hip infection (PHI) is a therapeutic challenge, as failure rates vary from 20 to

50%. We conducted a prospective cohort study to evaluate the feasibility, efficacy and tolerance of prolonged high-dose vancomycin continuous infusion (HDVCI).

Methods: Between 2004 and 2007, 42 patients (pts), 36 to 88 years old, with PHI caused by MR staphylococci (*S. aureus*: 5, *S. epidermidis:* 37, others: 4) were treated for ≥ 3 weeks with HDVCI. 16 pts had vancomycin (V) reduced susceptibility strains with 4 to 16 mg/L MICs (VRSS). After thorough excisionnal surgery: exchange arthroplasty (1-stage:15, 2-stage:25) or resection arthroplasty (2), all pts received 6 weeks of IV combination antimicrobial therapy followed by a 6-week oral regimen. Serum levels of V were monitored twice a week and dosage was adapted to reach target serum concentration of 30-40 mg/L (at least 4-8 times the MIC). Outcome was defined as probable cure (absence of clinical, biological, radiological signs of PHI after at least a 2-year follow-up), relapse and reinfection (another pathogen). All grade 2-5 adverse events (AE) considered by the treating physician related to HDVCI were recorded.

Results: (median [range]): Follow-up was 28 [24-49] months. Of the 42 pts, probable cure was obtained in 30 pts (71%; 8/10 VRSS), reinfection occurred in 7 pts (17%; 2/10 VRSS),1 pt with MRSA-PHI relapsed, 4 pts died (septic shock :1, unrelated causes: 3). Daily HDVCI dose was 3 g (42 mg/kg, [10-70]), duration of HDVCI was 41 [21-89] days. AE related to HDVCI occurred in 8 pts (19%): grade 2 renal insufficiency (4), fever (2) and grade 3 neutropenia (2). After a hospital stay of 26 days [18-119], 23 pts received HDVCI as outpatient parenteral antibiotic therapy.

Conclusions: HDVCI is feasible if monitored closely. It appears effective for MR staphylococcal PHI even for strains with high V MICs.

435/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Optimisation de la prescription d'antibiotiques liée aux hémocultures positives à staphylocoques à coagulase négative : intérêt d'une équipe mobile

R. Lepeule, M. Lafaurie, J.L. Donay, E. Cambau
Microbiologie, Hôpital Saint Louis, Paris, France

Introduction : Les staphylocoques à coagulase négative (SCN) sont les premiers germes responsables de contaminations représentant de 70 à 80% de toutes les hémocultures contaminées. Le traitement par excès de ces contaminations est associé de manière indépendante à une surconsommation d'antibiotiques.

Objectifs : L'objectif principal de cette étude était d'évaluer l'adéquation des diagnostics (contamination versus infection) et des traitements chez les patients ayant une hémoculture positive à SCN.

L'objectif secondaire était d'évaluer la surconsommation d'antibiotiques liée au traitement d'hémocultures contaminées par des SCN dans notre établissement.

Méthodes : Il s'agit d'une étude prospective observationnelle menée à l'hôpital saint louis incluant les adultes hospitalisés, présentant une hémoculture positive à SCN. L'inclusion des patients était réalisée en cas de première hémoculture positive à SCN ou de nouvelle hémoculture positive à SCN plus de 5 jours après la précédente. Chaque hémoculture était définie par les investigateurs comme infection ou comme contamination suivant l'algorithme décisionnel de Beekmann et al partiellement modifié. Etaient étudiés les caractéristiques des patients, le diagnostic retenu par les cliniciens et les modalités thérapeutiques. L'adéquation des traitements antibiotiques était validée par l'équipe mobile en antibiothérapie. Celle ci n'intervenait pas dans la prise en charge des patients.

Résultats : Du 12 janvier au 12 mars 2009 129 épisodes ont été étudiés, représentant 494 hémocultures positives à SCN dont 81 étaient des contaminations (63 %) et 48 des infections avérées.

Neuf épisodes de contaminations (11%) étaient traités, représentant 46 jours de traitement par vancomycine.

Par ailleurs 4 épisodes d'infections (8%) avait été considérés par les cliniciens comme des contaminations et non traités. Au total, l'inadéquation des traitements en terme d'indication était de 13/129 soit 10%.

Conclusion : L'inadéquation des traitements et en particulier le nombre de contaminations traitées inutilement était sensiblement plus faible comparé aux données de la littérature. L'intervention systématique de l'équipe mobile lors d'une hémoculture positive à SCN, avec l'objectif d'économiser des prescriptions d'antibiotiques, ne semble pas une priorité.

436/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Infections à *Clostridium difficile* (ICD) : étude de l'impact de l'antibiothérapie par approche comparative prospective de type cas-témoins

C. Leprince, C. Bourigault, M.E. Juvin, A. Reynaud, S. Corvec, D. Lepelletier
Bactériologie-Hygiène, Centre Hospitalier Universitaire, Nantes, France

Objet de l'étude : Les objectifs de notre étude étaient, d'une part de mesurer l'incidence, les récurrences, les formes sévères et la mortalité des ICD et d'autre part de déterminer l'impact de l'antibiothérapie et d'autres facteurs liés à l'hôte et à l'hospitalisation sur le risque d'ICD d'acquisition nosocomiale.

Méthodes : Nous avons réalisé une surveillance prospective des cas d'ICD de janvier à décembre 2008 au CHU de Nantes selon la méthodologie proposée par l'InVS. Pour chaque cas nosocomial, deux témoins diarrhéiques avec recherche de toxine négative ont été inclus et appariés sur le service d'hospitalisation et la durée de survenue de la diarrhée. Les facteurs de surveillance inclus dans l'étude ont été analysés par une modélisation de Cox ajustée sur la durée à risque d'exposition (logiciel STATA®). L'analyse microbiologique comportait la recherche des toxines A et B par une technique immuno-enzymatique rapide.

Résultats : En 2008, 2 302 prélèvements de selles ont été analysés pour la recherche de toxines de *C. difficile* chez 1 466 patients, dont 121 se sont avérés positifs pour la toxine de *C. difficile.* La densité d'incidence était de 1,4 / 10 000 JH, variant de 2,4 en MCO à 0,1 en SLD; 17 cas sévères (14%) dont 9 colites pseudo-membraneuses et 6 décès associés ou imputables (5%) ont été identifiés; 16 (8%) patients ont présenté une récurrence d'ICD; 7 souches étaient résistantes à la moxifloxacine, sans signes de gravité ni identification du clone O27. Pour l'analyse comparative, les 74 cas nosocomiaux ont été comparés à 132 témoins. Par modélisation de Cox, l'exposition aux céphalosporines de 3e génération (C3G) (RRi 2,20) était le seul facteur de risque associé aux ICD.

Conclusion : Cette étude a montré que les ICD induisent une morbi-mortalité non négligeable comparable à celle de la littérature et que seule l'exposition aux C3G était associée au risque d'ICD, sans identification de l'impact d'autres antibiotiques, ni de facteurs liés à l'hôte ou à l'hospitalisation. Le choix des témoins et la méthode d'appariement peuvent expliquer ce résultat. La comparaison pharmaco-épidémiologique des consommations de C3G et de l'incidence des ICD permettra de définir des stratégies d'antibiothérapie et de prévention des ICD dans notre établissement.

437/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Cas groupés d'infections nosocomiales à *Escherichia coli* producteur de bêta-lactamase à spectre étendu (*E. coli* BLSE) suite à un cathétérisme rétrograde des voies biliaires : importance de la collaboration entre infectiologue, équipe opérationnelle d'hygiène et laboratoire

E. Beclin[5], S. Dekeyser[3], S. Nguyen[2], B. Quesnel[1], C. Plane[1], D. Descamps[3-4]
[1]Hépato-Gastroentérologie [2]Infectiologie [3]Laboratoire [4]Présidente du Comité de Lutte contre les Infections Nosocomiales [5]Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales, CH Germon et Gauthier, Béthune, France

En juin 2009 au CH Béthune, l'infectiologue signale à l'équipe opérationnelle d'hygiène (EOH) 2 cas d'infections à *E.coli* BLSE chez des patients hospitalisés dans des services différents mais ayant eu auparavant un cathétérisme rétrograde des voies biliaires (CRVB). Une enquête est réalisée par l'EOH afin de définir si le même duodénoscope a été utilisé chez ces 2 patients.

Le patient 1 hospitalisé en mai 2009 pour une pancréatite aiguë, subit un premier CRVB (duodénoscope A) le 27/05/09 qui se complique précocement par des douleurs abdominales et une hyperthermie. Une réintervention est nécessaire le 03/06/09 (duodénoscope B) montrant une bile sale et purulente ; le patient est bactériémique (hémoculture positive à *E.coli* BLSE).

Le deuxième patient (patient 2), hospitalisé le 03/06/09 pour lithiase et cholécystite, subit un CRVB le 04/06/09 avec le duodénoscope A. Ce patient 2 est opéré le lendemain d'une cholécystectomie pour pyocholecyste : la ponction de liquide biliaire retrouve un *E.coli* BLSE avec un antibiogramme proche phénotypiquement de l'*E. coli* retrouvé chez le patient 1.

Une mise en quarantaine immédiate du duodénoscope A est décidée pour réalisation de prélèvements microbiologiques par le laboratoire, un recensement des patients ayant eu un CRVB jusqu'à cette date est effectué.

L'infectiologue déclenche une seconde alerte le 09/06/09 suite à la positivité d'une hémoculture à *E.coli* BLSE (même antibiogramme) chez un autre patient (n°3). Celui-ci avait subi un CRVB avec le duodénoscope B, qui est mis en quarantaine pour prélèvements microbiologiques.

Les cultures microbiologiques des endoscopes n'ont pas permis de retrouver l'*E.coli* BLSE, mais les résultats obtenus étaient non conformes et ont conduit à un arrêt de l'utilisation des appareils. Les 3 souches identifiées chez les patients ont été envoyées pour génotypage. Une campagne de prélèvements microbiologiques de l'ensemble du parc d'endoscopes a également été réalisée, et des actions correctives concernant les procédures de nettoyage-désinfection de ces matériels débutées. Grâce à la collaboration entre l'infectiologue, l'EOH et le laboratoire, cette alerte a donc pu être rapidement suivie d'actions d'amélioration de la qualité des soins.

438/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Contrôle microbilogique des endoscopes au CHU de Brest : bilan de janvier 2007 à mai 2009

P. Saliou[1], R. Baron[1], M. Cosse[1], B. Lejeune[1-2]
[1]Laboratoire d'Hygiène Hospitalière, CHRU de Brest [2]Santé Publique, CS 93837, Université de Bretagne Occidentale, Brest, France

Objet : Évaluer la conformité de la désinfection des endoscopes en fonction de différents facteurs (type d'appareil, procédure de désinfection, contexte du contrôle).

Connaître l'évolution du taux de conformité.

Méthode : Étude rétrospective de tous les contrôles microbiologiques des endoscopes digestifs et de pneumologie (CHU de Brest, janvier 2007 – mai 2009).

Résultats : 113 contrôles non-conformes (26,7%)

	Nombre	Taux de non conformité (%)
coloscope	75	44,0
duodénoscope	64	35,9
Echo-endoscope	51	21,6
fibroscope	135	17,0
gastroscope	98	23,5
	423	

Résultats par type d'endoscope

9,5% des contrôles des appareils de prêt sont non conformes (4/42)

	2007	2008	2009	
	Taux de NC	Taux de NC	Taux de NC	
Endoscopes digestifs	22/94 (23,4%)	41/150 (27,3%)	31/60 (51,6%)	P=0,003
Pneumologie	14/63 (22,2%)	6/40 (15,0%)	1/16 (6,2%)	N.S
Ensemble	22,7%	24,7%	39,4%	P=0,02

Évolution du taux de non-conformité

	Nombre de contrôles positifs	% des contrôles non conformes
S.aureus	4	3,3
Entérobactérie	20	16,7
P.aeruginosa	37	30,8
Autres Pseudomonas	11	9,2
S.maltophilia	8	6,7
Acinetobacter sp	8	6,7
Candida sp	10	8,3

Répartition des principaux micro-organismes indicateurs

Type	Colo-scope	Duodéno-scope	Echo-endo-scope	Fibro-scope	Gastro-scope	
Nombre	74	64	47	20	91	
Taux de non-conformité (%)	44,6	35,9	23,4	10,0	25,3	P=0,007

Résultats par type d'endoscope digestif

Désinfection	LDE	Manuelle	
Nombre	191	106	
Taux de non-conformité (%)	24,6	42,5	P=0,002

Résultats selon la procédure de désinfection en endoscopie digestive

		Contrôle avant utilisation	Contrôle programmé	Après prélèvement non conforme	Retour de maintenance	
	Nombre	40	74	85	103	
Endoscopie digestive	Taux de non-conformité (%)	12,5	29,7	47,0	23,3	P=0,0005
	Nombre	12	43	20	44	
Pneumologie	Taux de non-conformité (%)	0	13,9	30,0	20,5	NS

Résultats selon le contexte du contrôle

	Pentax (n=96)	Storz (n=39)	
Taux de non-conformité (%)	20,8	7,7	N.S

Résultats selon les marques des fibroscopes en pneumologie

Conclusion : La désinfection par machine est meilleure en endoscopie digestive.

Les endoscopes complexes ont de moins bons résultats.

Le taux de non conformité tend à augmenter en endoscopie digestive et diminuer en pneumologie.

P.aeruginosa, germe le plus fréquemment rencontré, oriente vers une contamination liée à l'eau.

439/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Bactériologie des prélèvements trachéaux au service de soins intensifs au CHU Constantine, 2007-2008

Y. Atia, C. Bentchouala, A. Bendjama, H. Laouar, A. Lezzar, K. Benlabed, F. Smati
Service de Microbiologie, CHU Constantine, Constantine, Algérie

Les pneumopathies ou pneumonies nosocomiales représentent la deuxième infection nosocomiale en en soins intensifs. Leur morbidité et mortalité sont liées, d'une part la virulence et la résistance des germes isolés, et d'autre part à l'état du malade mis sous ventilation assistée.

Notre travail, qui étudie les prélèvements trachéaux provenant de services de soins intensifs du CHU de Constantine durant deux ans (2006 et 2007), a pour but de déterminer la fréquence des germes isolés dans ces pneumonies nosocomiales ainsi que sa résistance aux antibiotiques.

415 prélèvement sont resensis en deux ans, soit 13,93%, dont le taux de positivité est de 68,93% et 20,96% de contaminations.

Les BNF occupe la première place (45,45%), suivis des entérobactéries (39%). Le tableau suivant montre les taux de résistance :

Germes	Taux d'isolement	Taux de résitance			
		C3G	IMP	GEN	CIP/PEF
P. aeruginosa	24,93%	23%	16%	17%	0%
Acinetobacter. Sp	19,06%	93%	51%	71%	68%
Entérobactéries	39%	77%	0,8%	71%	24,5%
K. pneumoniae	12,90%	77%	0%	75%	11%
S. aureus	8,21%	**SARM** = 57%		44%	61%

Les taux importants de résistance aux antibiotiques nécessitent un suivi en mettant en place une collaboration Clinicien - Microbiologiste avec un consensus bien établi, afin d'améliorer ces résultats.

440/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Épidémiologie et traitement antibiotique des bactériémies à entérocoques au CHU de Brest

M. Guillouët[2], R. Le Berre[3], G. Héry-Arnaud[1]
[1]Laboratoire de microbiologie [2]Service d'anesthésie réanimation [3]Service de maladies infectieuses, Brest, France

Objectif : Décrire l'épidémiologie des bactériémies à entérocoques et comparer les thérapeutiques administrées aux recommandations en vigueur.

Patients et méthodes : Nous avons recueilli les données concernant les bactériémies à entérocoques durant l'année 2007 au CHU de Brest : les antécédents du patient, l'origine de l'infection, l'espèce de l'entérocoque ainsi que son phénotype de résistance aux antibiotiques et les thérapeutiques administrées. L'antibiothérapie instituée a été évaluée à J0, correspondant au jour de prélèvement des hémocultures, et à la réception de l'antibiogramme.

Résultats : 33 cas de bactériémies survenant chez 33 patients ont été analysés. L'âge moyen était de 67 ans. Trois comorbidités prédominaient : le diabète (33,3%), une immunodépression (30,3%) et un cancer (51,5%). Une endocardite était associée dans 12.12% des cas. Les principales origines de la bactériémie étaient abdomino-pelviennes (33,3%) et urinaires (42,4%). *Enterococcus faecalis* et *E. faecium* représentaient respectivement 60,6% et 27,3% des cas. Aucune des bactéries n'était résistante à la vancomycine. Le taux de mortalité s'élevait à 39,4%. Les thérapeutiques administrées étaient adaptées dans 56,25% des cas à J0 et 86,6% des cas après réception de l'antibiogramme.

Conclusion : L'épidémiologie décrite dans ce travail est comparable à celle mentionnée dans les autres études (Poh, 2006 ; Lavigne, 2005). On peut cependant souligner l'absence d'entérocoque résistant à la vancomycine. Enfin, l'étude des thérapeutiques administrées a révélé une connaissance insuffisante des recommandations, aussi la mise en place d'une évaluation des pratiques professionnelles semble nécessaire.

441/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Méningite à *E. coli* produisant une bêta-lactamase à spectre étendu dans un contexte de portage digestif épidémique dans un service de néonatalogie

B. Salauze[1], D. Moissenet[1], D. Mitanchez[2], E. Bingen[3], G. Arlet[4], A. Mérens[5], H. Vu-Thien[1]
[1]Service de Microbiologie [2]Service de Néonatologie, Hôpital Armand Trousseau [3]Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré [4]Service de Microbiologie, Hôpital Tenon, Paris [5]Laboratoire de Biologie, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France

Objet de l'étude : investigations au cours d'une épidémie de portage digestif d'*E. Coli* produisant une ß-lactamase à spectre étendu (BLSE) dans un service de néonatologie, avec survenue d'une méningite néonatale chez un prématuré.

Méthodes : Tous les enfants admis dans le service de néonatalogie ont eu un dépistage de bactéries BLSE par écouvillonage rectal. Les isolats d'*E. Coli* BLSE ont été comparés par électrophorèse en champ pulsé (ECP) et randomly amplified polymorphic DNA (RAPD) analysis, et leur groupage phylogénétique par PCR déterminé. La ßLSE a été caractérisée par PCR et séquençage.

Résultats obtenus : le 9 avril 2009, 9 cas de colonisation à *E. Coli* BLSE ont été signalés dans le service de néonatologie. Malgré un renforcement des mesures d'hygiène et la mise en place de mesures spécifiques (regroupements des cas et des enfants contacts, limitation des admissions et des visites), de nouveaux cas de colonisation digestive ont été détectés le 21 avril. Le 12 avril, un cas de méningite néonatale était survenu chez une enfant prématurée de 34 semaines à J10 de vie, colonisée à J5 par *E. Coli* BLSE. Elle a été traitée avec succès par imipénème (21 jours), gentamicine (72h) et ciprofloxacine (6 jours).

L'étude des isolats montre qu'ils sont identiques par ECP et RAPD. L'analyse phylogénétique a révélé que les isolats appartiennent au groupe phylogénétique A, avec seulement 3 facteurs de virulence positifs: fuyA, aérobactine et Iron. La BLSE est TEM-52.

Conclusion : au total, entre le 24 mars et le 27 avril 2009, sur 59 patients admis, 27 cas de colonisation digestive à *E. Coli* BLSE (taux d'attaque=45,7%) ont été signalés en néonatalogie. Dans ce contexte, est apparu un cas de méningite néonatale à *E. Coli* non K1, productrice de BLSE TEM-52, d'évolution favorable.

442/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Infections de pontages vasculaires : étude rétrospective sur 7 ans au CHU de Rouen

C. Tabone Ledan, J.L. Pons, N. Frebourg
Laboratoire de Bactériologie, CHU, Rouen, France

Le sepsis de pontage vasculaire, veineux ou prothétique, est une pathologie rare mais sévère. Cette étude rétrospective sur 7 ans a collecté les données épidémiologiques, cliniques et bactériologiques de 52 patients de Chirurgie Vasculaire du CHU de Rouen. Chez ces patients âgés (23% de plus de 80 ans) et souvent diabétiques (plus de 50%), les sepsis concernaient majoritairement des pontages synthétiques (75%). Ils étaient essentiellement distaux (77%) et de survenue tardive (61%). Les prélèvements étaient le plus souvent polymicrobiens, impliquant majoritairement *S. aureus* (46%), des staphylocoques à coagulase négative (25%) et des entérobactéries (29%), avec une prévalence de bactéries résistantes supérieure à celle du CHU. L'espèce *S. aureus* était significativement plus isolée dans les sepsis distaux. Les infections précoces étaient significativement favorisées par une chirurgie initiale en urgence, et les infections tardives par des reprises itératives. Les comparaisons des sepsis précoces et tardifs, veineux et synthétiques, et d'évolution favorable et défavorable, n'ont pas montré de différence significative pour les facteurs de risque étudiés ni pour les bactéries isolées. Près de la moitié des patients (45%) ont été traités par une allogreffe. L'antibiothérapie probabiliste des sepsis était adaptée chez 62% des patients, et secondairement adaptée à la bactériologie dans tous les cas à l'exception de 3 patients. Parallèlement, l'étude de l'écologie des cicatrices de Scarpa a montré qu'elles étaient essentiellement colonisées ou infectées par des entérobactéries (38%) et *S. aureus* (37%). Les "Scarpas donneurs" (de pontages distaux) s'infectaient significativement plus que les "Scarpas receveurs" (de pontages aortiques). Une confrontation clinico-biologique, éventuellement guidée par l'écologie des Scarpas, et des recommandations d'antibiothérapie probabiliste seraient bénéfiques à l'optimisation de la prise en charge des patients infectés.

443/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Enquête de prévalence des infections nosocomiales au CHU de Tizi-Ouzou : évaluation au cours de l'année 2008

F. Toudeft[1], N. Bekri[1], D. Haouchine[2], A. Azzam[2], M. Saadi[1], N. Zahem[1], S. Khati[1], N. Halli[1], B. Arridj[1], L. Bellil[1]
[1]Epidémiologie et Médecine Préventive [2]Microbiologie, Centre Hospitalo-Universitaire, Tizi-Ouzou, Algérie

Introduction : Le CHU de Tizi-Ouzou est un hôpital à caractère universitaire, d'une capacité de 1000 lits, desservant une population de 3,4 millions d'habitants, répartis sur quatre wilayas (Tizi-Ouzou, Béjaia, Bouira et Boumerdès). Le taux annuel moyen d'occupation par lit est de 60%, et les infections nosocomiales constituent depuis quelques années déjà, une complication préoccupante de l'activité hospitalière dans ses services.

Un programme de surveillance (2003 – 2004), est venu compléter les actions déjà mises en place depuis 1999 (date de création du CLIN de l'établissement). Ce programme a démarré après formation des référents en hygiène hospitalière, et a permis d'appuyer les différents systèmes d'évaluation du programme de lutte contre ces infections dans cet établissement.

L'un des volets d'évaluation reste la mise en place d'enquêtes de prévalence des IN ponctuelles ; de ce fait, une quatrième enquête a été menée en octobre 2008.

Objectifs :

- Déterminer le taux de prévalence des IN au sein du CHU de Tizi-Ouzou pour l'année 2008.

- Déterminer les services à haut risque ainsi que les sites les plus fréquemment atteints.

- Identifier les micro-organismes les plus impliqués après les différentes actions de lutte menées depuis plusieurs années.

Matériel et méthode : Une étude transversale descriptive d'une durée d'une semaine a été menée du 18 au 22 octobre 2008, sur la base d'un questionnaire identique portant sur l'identification du patient, les facteurs de risque intrinsèques et extrinsèques et la présence ou non d'un IN.

La documentation des infections a été assurée par l'équipe du laboratoire de microbiologie du CHU. La collecte et l'analyse des données ont été effectuées par l'équipe du SEMEP sur logiciel Epi Info version 6.

Résultats : 463 patients ont été enquêtés dont 36 infectés, soit un taux de prévalence de 7,8%. Comparativement aux années précédentes, ce taux est passé de 12,06% en 2003, à 9,2% en 2005, à 5,9% en 2006.

Parmi ces infections, 61,1% sont de sexe masculin et 30,9 de sexe féminin ; Elles demeurent l'apanage de l'enfant et de l'adulte jeune ; les services les plus touchés sont ceux de pédiatrie (25%), rééducation fonctionnelle (16,7%), d'hématologie (13,9%) et d'endocrinologie (11,1%).

L'infection urinaire et les gastro-entérites viennent en première position (25%), suivies des ISO (16,67%) puis des septicémies et des infections cutanées (13,89%).

La prévalence des INC est multipliée par 8 lorsque la durée de séjour est supérieure ou égale à un mois.

Le sondage urinaire reste le facteur de risque le plus important dans plus du 1/3 des cas, suivi par la dénutrition (22,22%) qui multiplie par 4 le risque d'INC; et la neutropénie (22,22%) qui le multiplie par 2.

Les gestes invasifs multiplient par 3 le risque de survenue d'INC; L'intervention chirurgicale contribue dans la survenue de l'INC dans prés de ¼ des cas, en effet la prévalence des INC chez les opérés est estimée à 22,66%. Et le risque est multiplié par 4 lorsqu'il s'agit d'une chirurgie sale.

Les germes les plus prévalents sont représentés par E.coli isolé (23%), suivi d'Acinétobacter sp (15,4%), de Proteus mirabilis et Staphylocoque aureus (15,4% chacun) ; ces germes sont caractérisés par leur multi résistance aux antibiotiques.

Conclusion : Malgré une nette diminution du taux de prévalence des IN au CHU de Tizi-Ouzou, qui serait le reflet des efforts fournis par les équipes de terrain, la persistance des facteurs de risques invasifs et surtout des germes manu portés, reflètent bien l'insuffisance d'application de mesures de lutte chez le personnel soignant marquées notamment par la désinfection hygiénique des mains.

L'implication effective de tous les acteurs avec une réflexion pluridisciplinaire aux méthodes à entreprendre est fortement recommandée (qualité des soins ??).

Toutefois, la lutte contre les BMR reste impérative par la rationalisation de l'utilisation des ATB et l'utilisation systématique de la solution hydro alcoolique.

444/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Aérosol d'eau colonisée généré par les lavabos : risque de légionellose nosocomiale

M. Reyrolle[1], C. Landelle[2], C. Mazure[3], M.C. Nicolle[2], C. Ginevra[1], S. Jarraud[1], J. Etienne[1], P. Vanhems[2]
[1]Centre de référence des légionelles GHE, institut de microbiologie INSERM U851 HCL, Bron [2]Unité d'épidémiologie HEH, UMR CNRS 5558, Lyon [3]RD, Bio rad, Marnes La Coquette, France

La prévention des cas de légionellose nosocomiaux reste un problème de santé publique car la mortalité peut atteindre 20% pour les patients immunodéprimés. Alors que l'eau chaude colonisée des douches est une source de contamination bien connue, la contamination lors de la toilette des patients au lavabo est peu documentée. Néanmoins de nombreuses investigations épidémiologiques réalisées pour des cas nosocomiaux semblent incriminer l'eau du robinet de la chambre des patients.

Objectif : Le but de cette étude a été d'évaluer par une approche analytique le risque lié à des aérosols générés par un robinet contaminé par des *Legionella*.

Méthodes : Les aérosols issus de l'eau chaude d'un robinet (24°C à 50°C) ont été collectés pendant 30 minutes à l'aide de 2 collecteurs d'aérosol : Impinger (Arelco) et CIP10M (Bio-Rad). L'aérosol était collecté dans un tampon stérile sans ADN (Bio-Rad). Dix séries d'analyses ont été réalisées. Les *Legionella* ont été quantifiées par culture (NFT90-431) et par PCR (XPT 90-471) en utilisant le kit iQ-Check™ Qanti (Bio-Rad) pour 20 eaux et 40 aérosols. L'ATP (Aqua-tools), la flore totale 22°C et 37°C et *Pseudomonas aeruginosa* (ISO 16266) ont été quantifiés pour 3 séries. Pour 3 autres séries, la présence de *Legionella* a été évalué par un marquage immunofluorescent spécifique (*Lp* 1, *L .anisa*) et la viabilité des bactéries dans l'eau et les aérosols a été évaluée avec le kit Live/Dead BacLight bacterial (Invitrogen).

Résultats : L'eau du robinet était positive en culture entre 10^2 et 10^4 UFC/L de *Lp* 1 et *L. anisa* et en PCR entre 10^3 et 10^4 UG/L pour *L. pneumophila* et *L. spp*. Les cultures des aérosols sont restées négatives. En PCR, 18/40 aérosols étaient positifs pour *L. spp* (3 à 57 UG/puits) et pour 5/40 aérosols une présence d'ADN de *L. pneumophila* > à la LD (2,5 UG/puits) mais < à la LQ (15 UG/puits) a été détectée. Dans les aérosols, de rares Lp1 et *L. anisa* ont été détectés par immunomarquage ainsi que de très rares bacilles viables. Pour l'eau et les aérosols les concentrations d'ATP étaient comprises entre 0.8 à 5.2 pg/ml avec une flore bactérienne négative.

Conclusion : Les aérosols générés par l'eau colonisée d'un robinet contiennent de l'ADN de *Legionella* ainsi que de rares *Legionella* intègres. De très rares bacilles viables ont été observés dans ces aérosols. Ces résultats confortent les hypothèses épidémiologiques concernant cette source de contamination pour des patients à hauts risques.

Nous remercions les sociétés Bio-Rad et Aqua-tools pour leur soutien financier.

445/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation du risque tuberculeux chez le personnel soignant du service des Urgences du CH de Meaux grâce au dosage de l'interféron gamma

F. Faibis[3], D. Castelain[4], M.C. Moreau[4], J. Tellier[4], A. Dekimeche[1], H. Ittah-Desmeulles[2], A. Fiacre[3], M.C. Demachy[3]
[1]Centre de Lutte Anti-Tuberculeuse [2]Equipe Opérationnelle d'Hygiène Hospitalière [3]Laboratoire de Microbiologie [4]Service de Santé au Travail, CH de Meaux, Meaux, France

Objet de l'étude : déterminer l'incidence de l'infection tuberculeuse chez le personnel soignant du service des Urgences du Centre Hospitalier de Meaux et évaluer le risque de contamination en le comparant à deux services témoins : le service de Chirurgie Orthopédique (service de référence à faible risque) et le service de Pneumologie (service de référence à haut risque).

Méthodes : prélèvement anonymisé, sur la base du volontariat, de tout

membre du personnel des trois services concernés par le service de Santé au Travail. Dosage de l'interféron gamma par le test "Quantiferon-TB gold" (Cellestis, Australie).

Résultats obtenus : sur les 141 personnes qui ont été prélevées (76 aux Urgences, 31 en Chirurgie Orthopédique et 34 en Pneumologie), 16 ont un test Quantiferonâ positif (> 0,35 UI/ml) : neuf aux Urgences (13 %), six en Pneumologie (20 %) et une en Chirurgie Orthopédique (3 %). La mobilisation des personnels a été forte car plus de 66 % des agents (141/213) des trois services réunis ont été dépistés. La proportion de personnels soignants ayant un test Quantiferonâ positif est significativement plus importante (p<0,05) en Pneumologie qu'en Chirurgie Orthopédique alors qu'il n'y a pas de différence significative (p=0,15) entre les personnels du service des Urgences et de Chirurgie Orthopédique.

Conclusion : Nos résultats montrent que, dans un territoire de santé où l'incidence de la tuberculose maladie est faible et proche de la moyenne nationale (9,6 cas pour 100 000 habitants en Seine et Marne contre 9,2 cas pour 100 000 habitants en France en 2004), la prévalence de l'infection tuberculeuse chez le personnel soignant du service des Urgences est modérée et que les mesures de prévention doivent être poursuivies.

446/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) : nos messages sont-ils audibles ? Expérience de l'Equipe Opérationnelle (EOH) du CHU Necker-Enfants Malades

L. Letourneur[1-2], H. Lecuyer[1], A. Talbi[1], I. Alaabouche[2], S. Zornoza[2], P. Husson[2], P. Descamps[1], X. Nassif[1], J.R. Zahar[1-2]
[1]Bactériologie-Hygiène Hospitalière [2]Equipe Opérationnelle d'hygiène, CHU Necker-Enfants Malades, Paris, France

Objectifs : Devant la multiplication des cas de patients porteurs d'ERV (ERV+) dans notre établissement, nous avons souhaité évaluer l'impact des différentes campagnes d'information effectuées par l'Equipe Opérationnelle en Hygiène hospitalière.

Méthodes : Questionnaire effectué « face à face » auprès de soignants de notre établissement incluant 10 questions sur les moyens de lutte contre la diffusion des ERV. Le niveau de connaissance d'un groupe de soignants ayant été informé et/ou formé par l'EOH (I+) a été comparé à un groupe non informé (I-).

Résultats : Des 110 soignants interrogés, 49 (44,5%) avaient reçu une information et/ou une formation et 40 parmi eux avaient été amené à gérer un cas d'ERV+ dans leur unité. 61 soignants (55,5%) n'avaient reçu aucune information et/ou formation (I-) dont 36 avaient été amené à gérer un cas d'ERV+ dans leur unité. Il s'agissait de 38 (34,5%) médecins et 72 (65,5%) para médicaux.

Le pourcentage de réponse positive dans la population interrogée était de 62,7% ±21% en moyenne et de 67% en médiane (IC95%, 58% - 75%).

Les soignants I+ avaient en moyenne et comparativement aux soignants I- un pourcentage de réponse significativement supérieur (76% vs 52%, p<0,00001). En analyse univariée, les facteurs associés à un taux de bonnes réponses supérieur à 75% étaient : le statut médical (RR=6,38 ; p=0,01), l'information délivrée par l'EOH (RR=32, p<0,0000001), et l'appartenance au service de maladies infectieuses (RR= 9,24 : p=0,02). Le fait d'avoir vécu un épisode récent (cas ERV+ hospitalisé dans le service) n'était pas significativement associé à un taux de bonnes réponses.

Conclusions : Dans notre travail, l'information et formation délivrées par l'EOH semblent avoir un rôle majeur, son impact semble plus important que « l'expérience de terrain ». Toutefois nous n'avons pas pu évaluer l'impact des différentes méthodes d'information utilisées. De même notre évaluation a été effectuée alors même que nous vivions un phénomène épidémique. Reste à savoir si le niveau d'information et de formation perdure dans le temps.

447/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Impacts de la rétro-information de l'épidémiologie des bactéries multi résistantes et d'un audit sur l'implication du personnel dans la lutte contre la transmission croisée dans une réanimation médicale

D. Lecointe[4-2], R. Beauvais[4-2], C. Théodora[4], S. Kubab[2-1], C. Malbrunot[2-1], D. Caen[3]
[1]Bactériologie Clinique [2]Service de Microbiologie-Hygiène [3]Service de Réanimation [4]UF d'hygiène hospitalière et de lutte contre les infections nosocomiales, Centre Hospitalier Sud-Francilien, Corbeil-Essonnes, France

Les *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) et les entérobactéries sécrétrices de béta-lactamase à spectre étendu (EBLSE) sont les bactéries multi-résistantes (BMR) les plus fréquemment rencontrées dans les services de réanimation. Suite à une épidémie nosocomiale d'EBLSE dans le service de réanimation adulte, le dépistage systématique pour recherche d'EBLSE avait été instauré, celui pour les SARM étant déjà en vigueur. Néanmoins, les résultats globaux de leur épidémiologie n'étaient ni calculés ni communiqués aux réanimateurs. Les buts de ce travail étaient de suivre 1/ l'impact de la rétro-information des indicateurs de l'épidémiologie des SARM et des EBLSE, et 2/ l'implication du personnel dans la lutte contre la transmission croisée des micro-organismes.

Le dépistage de tous les patients était pratiqué dès l'admission et une fois par semaine jusqu'à sortie ou transfert du patient. Les taux de dépistage à l'entrée, le nombre de nouvelles souches de BMR acquises / importées, la proportion de SARM ou d'EBLSE parmi les *S. aureus* et les entérobactéries isolées, et le taux d'acquisition de SARM ou d'EBLSE ont été communiqués chaque mois à tous les réanimateurs à partir d'octobre 2006. L'évolution des données était suivie à l'aide d'un tableau récapitulatif et d'un histogramme. Un audit en continu évaluant l'implication du personnel médical et soignant dans la lutte contre la dissémination des micro-organismes a été effectué à partir de septembre 2007. Ses résultats étaient rétro-informés en deux temps : immédiatement après chaque évaluation, puis sous forme de tableau de bord récapitulatif de chaque bimestre avec comparaison aux résultats antérieurs.

Une diminution du taux d'acquisition des SARM a été observée en 5 mois, et des EBLSE en 7 mois. Les incidences d'acquisition sont passées de 6,25 (SARM) et 5,88 (EBLSE) pour 100 admissions à 2,92 et 2,22 entre avril et juin 2009, avec une diminution significative sur certains trimestres. La densité d'incidence des BMR acquises isolées à partir des prélèvements à visée diagnostique a aussi diminué : 3,71 (SARM) et 2,00 (EBLSE) pour 1000 patients-jours en 2006 versus 0,86 (P = 0,011) et 1,14 en 2007 et 0,75 pour les 2 en 2008 (SARM : P = 0,005). Selon l'audit en continu, le port de bijoux et/ou de montres dans le service a diminué significativement de septembre-octobre 2007 à janvier-février 2008 (P = 0,0039), pour encore diminuer significativement en mars-avril 2009 (P = 0,015).

La communication des résultats mensuels de l'épidémiologie des BMR aux réanimateurs a conduit après les 3 premiers mois à une diminution significative de la transmission croisée des SARM et des EBLSE. L'audit en continu a révélé puis permis de corriger certains facteurs de transmission croisée. La rétro-information des résultats de l'épidémiologie des BMR consolidée par la mise en œuvre de l'audit a donc permis de lutter efficacement contre leur transmission croisée dans le service de réanimation adulte.

448/79A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparaison de l'intradermoréaction (IDR) et du Quantiferon Gold-in Tube (QFT) chez des sujets âgés institutionnalisés exposés à un cas de tuberculose pulmonaire bacillifère

E. Haustraete[3], B. Malbruny[2], H. Pitre[4], M.A. Salaün[1], G. Zalcman[3], E. Bergot[3-1]
[1]Centre de Prévention des maladies infectieiuses [2]Microbiologie [3]Pneumologie, CHU, Caen [4]Résidence des Costils, Vire, France

Objet : En France, l'incidence de la tuberculose augmente avec l'âge et la vie en institution. Chez les sujets âgés institutionnalisés, le dépistage des sujets contacts est indispensable. Le diagnostic de tuberculose infection récente est plus difficile à établir du fait des antécédents personnels de tuberculose et de la négativité plus fréquente de l'IDR. Notre objectif a été de comparer le QFT à l'IDR pour le diagnostic de tuberculose infection récente, chez des sujets de plus de 65 ans exposés à un cas de tuberculose bacillifère et d'évaluer la valeur prédictive des résultats du QFT à 24 mois.

Méthode : 72 patients d'une résidence médicalisée (âge moyen de 82,1 ans) ont bénéficié d'un examen clinique (M0, M3, M18, M24), d'une IDR (M0, M3), d'une radiographie pulmonaire (M0, M3, M18) et d'un QFT (M3, avant la 2ème IDR).

Résultats : A M0, 17 patients ont une IDR supérieure ou égale à 5 mm (23,6%). A M3, 17/71 patients ont une IDR + (23,9%) dont 5 avec un virage tuberculinique (+10 mm). 16 QFT sont positifs soit 22,2%. La corrélation entre les 2 tests de 94,1% est supérieure à celle décrite pour la population générale. 2 patients ont un QFT + avec une IDR -.

A M0, 55 IDR sont < à 5 mm alors que 44 QFT sont négatifs (61,1%) et 12 indéterminés (16,7%). Une IDR négative ne permet pas de différencier l'absence d'infection d'un déficit de l'immunité cellulaire, au contraire du QFT qui n'est interprété comme négatif que si la réponse lymphocytaire T non spécifique est jugée suffisante (contrôle positif). Au cun patient avec un QFT négatif n'a été traité et n'a présenté de tuberculose au cours du suivi. Ainsi, un QFT - pourrait permettre d'arrêter le suivi à M3 et réduire la population à surveiller de 75% à 16,7%. 7/16 patients avec QFT + ont fait l'objet d'une prophylaxie; 5 ont été arrêtées. Seul un patient a présenté une tuberculose maladie durant le suivi (diagnostic à M3) avec un QFT + à 0,56 UI/ml. Deux patients sont décédés.

Conclusion : Chez les sujets âgés, le QFT apparaît plus efficace que l'IDR pour identifier un sous groupe de patients sans risque d'évolution vers une tuberculose (QFT négatif). Seuls les patients avec un QFT positif ou indéterminé pourraient justifier d'une surveillance ou d'un traitement.

449/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Étude longitudinale des infections à virus BK chez les patients adultes recevant une allogreffe de cellules souches hématopoïétiques

J. Corneille[2-3], N. Dhédin[1], C. Deback[2-3], J.P. Vernant[1], H. Agut[2-3], D. Boutolleau[2-3]
[1]Service d'Hématologie Clinique [2]Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière [3]ER1 DETIV, Université Pierre et Marie Curie - Paris 6, Paris, France

Objet de l'étude : le virus BK (BKV) est un polyomavirus largement répandu dans la population générale. Chez les patients recevant une greffe de cellules souches hématopoïétiques (CSH), l'infection active à BKV est associée à la survenue de cystite hémorragique (CH). Le but de cette étude était d'évaluer la valeur pronostique de la charge virale BKV dans le sang des patients

allogreffés de CSH dans la cadre de la survenue de CH.

Méthodes : les infections à BKV ont été étudiées rétrospectivement chez 61 patients (38 hommes, 23 femmes, âge médian : 45 ans) allogreffés de CSH. La charge virale BKV à été mesurée dans le sang total par PCR en temps réel à M0, M1, M2, M3, M6, M9, et M12 post-greffe.

Résultats : 15 patients (25%) ont présenté une virémie à BKV au cours de la période post-greffe de CSH. Le délai médian de la première détection positive était 2 (1-3) mois. La charge virale médiane post-greffe était 550 (25-68750) copies/mL. L'existence d'une leucémie aiguë à l'origine de la greffe de CSH a été identifiée comme un facteur de risque de survenue d'infection à BKV (*P*=0,03). L'infection à BKV était associée à la survenue d'une maladie du greffon contre l'hôte (GvHD) aiguë (*P*=0,003) et d'une hématurie (*P*<0,001). Parmi les 15 patients avec une infection à BKV, la charge virale BKV médiane au pic était plus élevée chez les 11 patients avec une hématurie que chez les 4 patients sans hématurie (1695 *versus* 160 copies/mL, *P*=0,05). De plus, la survenue d'une hématurie était associée à une charge virale BKV > 500 copies/mL (*P*=0,04). L'étude de la cinétique des charges virales BKV et de la reconstitution lymphocytaire au cours de la période post-greffe semblent confirmer le rôle de la réponse immunitaire de l'hôte dans la genèse de la CH. Chez les patients avec une infection active par le CMV et le BKV, l'infection par le CMV précédait ou était contemporaine de celle par le BKV. De plus, le nombre de prélèvements positifs pour le BKV était supérieur parmi les prélèvements positifs pour le CMV (19/86, 22%), que parmi les prélèvements négatifs pour le CMV (15/274, 5%) (*P*<0,001).

Conclusion : la charge virale BKV dans le sang total constitue un bon marqueur de la survenue de CH chez les patients allogreffés de CSH.

450/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Détection du cytomégalovirus dans les paillettes de sperme de donneurs séropositfs en IgM vis-à-vis du cytomégalovirus

M.C. Mazeron[7], J.L. Bresson[1], M. Chalet[5], J.M. Grillo[4], S. Hennebicq[3], P. Jouannet[6], A. Sauvalle[2], M.J. Sanson Le Pors[8]
[1]CECOS Besançon Franche Comté, Besançon [2]CECOS Caen, Caen [3]CECOS Grenoble, La Tronche [4]CECOS Marseille, Marseille [5]CECOS Montpellier, Montpellier [6]CECOS Paris Cochin [7]Laboratoire associé au CNR Cytomégalovirus, service de Bactériologie-Virologie [8]Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France

L'excrétion de cytomégalovirus (CMV) dans le sperme est une des sources de transmission de l'infection. Dans une étude multicentrique que nous avions menée chez des donneurs de gamètes, l'excrétion de virus dans le sperme était associée à la présence d'anticorps anti-CMV de type IgM chez le donneur (Hum Reprod, 2003, 18 : 1881-6).

Objectif : Le but du travail était de rechercher rétrospectivement le génome viral et le virus infectieux dans des éjaculats conservés congelés provenant de donneurs testés IgM CMV positifs pour évaluer le risque potentiel de transmission de l'infection à la receveuse d'un don de gamètes provenant d'un donneur dépisté IgM CMV positif.

Méthodes : Huit donneurs ont été inclus dans l'étude et 18 éjaculats (1 à 3 échantillons séquentiels par donneurs) ont été examinés. La présence d'IgM CMV chez ces donneurs a été confirmée sur des prélèvements séquentiels. Les paillettes de sperme de 200 µL ont été décongelées et divisées en deux parts de 100µl. La détection et la quantification des génomes viraux a été effectuée par PCR en temps réel (CMV R-gene Ô assay, Argène) à partir de 100µl. La seconde part a été diluée au 1/10 en MEM et mise en culture rapide et culture classique sur fibroblastes humains MRC-5.

Résultats : Le génome viral a été mis en évidence dans 13 échantillons provenant de 5 donneurs. La charge virale allait de 60 à 1 112248 copies /100µl. Cinq échantillons provenant de 3 donneurs ont été également positifs en culture, avec des titres allant de $3x10^2$ à $4x10^3$ unités formant centre infectieux/100µl. Les échantillons de 3 donneurs étaient négatifs en PCR et en culture.

Conclusion : Les donneurs de gamètes testés IgM CMV positifs apparaissent à risque d'excréter le virus dans le sperme. Ce travail confirme les résultats de notre étude antérieure. Les charges virales évaluées en nombre de copies de génomes sont très variables et ne sont pas toujours accompagnées de la détection de virus infectieux ce qui rend le risque de transmission difficile à évaluer.

451/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

HIV-1 modulates the activity and the expression of Indoleamine, 2-3, dioxygenase activity in primary culture of human monocytes-derived macrophages

B. Maneglier[5-2], B. Malleret[2], G.J. Guillemin[1], O. Spreux-Varoquaux[5], P. Therond[4], C. Rogez-Kreuz[3], P. Clayette[3]
[1]Neuroinflammation Unit, Faculty of medicine, University of New South Wales, Sydney, Australie [2]Service de neurovirologie, CEA de Fontenay-aux-Roses [3]Laboratoire de neurovirologie, SPI-BIO, Fontenay-aux-Roses [4]Service de biologie, CH de Versailles [5]Unité de pharmacologie, UFR médicale Paris Ile-de-France ouest, Le Chesnay, France

Human immunodeficiency virus (HIV) infection is often complicated by the development of acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) dementia complex (ADC). Implications of kynurenine pathway (KP) are suggested in ADC and other inflammatories brain diseases. The first and regulatory enzyme of the KP is the indoleamine-2,3-dioxygenase (IDO). IDO activation is known to contribute to the modulation of the immune response during various infectious diseases particularly in AIDS. HIV and viral proteins can activate IDO in immune cells leading to an increase catabolism of tryptophan through the KP; the consequence being the production of immuno-modulative and neuroactive metabolites. This mechanism is likely to favour HIV persistence. The present study analysed concomitantly several parameters involved in IDO regulation and activity associated with HIV-1-infection. We investigated relevant intracellular and extracellular mechanisms involved in the regulation of IDO expression and activity during the HIV infection and replication in human monocyte-derived macrophages (MdM). Using a complementary set of *in vitro* experiments, we found that HIV-1/Ba-L infection induces IDO expression and increases its activity in MdM. We also showed that IDO activation by HIV-1 is likely to be a direct effect of the infection and seems to be independent of IFN-gamma production.

Pharmacological targeting of IDO during HIV infection could represent a novel approach for ADC managing.

452/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Carcinome épidermoïde du rectum et restauration immunitaire, à propos d'un cas

C. Sattler, J. Leporrier, S. Greffe, C. Dupont, I. Bourgault, E. Rouveix
Médecine interne 5, AP-HP, Boulogne, France

Nous rapportons le cas d'un patient séropositif pour le VIH au stade SIDA ayant présenté un carcinome épidermoïde du rectum d'évolution rapidement fatale dans un contexte de restauration immunitaire.

Il s'agit d'un patient de 50 ans, séropositif pour le VIH, au stade SIDA sur un syndrome cachectique et une encéphalopathie au VIH. Il présentait également une condylomatose anale sur une infection à HPV, objectivée par un frottis anal, évoluant depuis plusieurs années et traitée par cryothérapie et Imiquimod (Aldara®) et surveillée annuellement par une anuscopie.

Ce patient initialement peu compliant au traitement antirétroviral, s'est vu proposer une trithérapie optimisée dans les suites d'une toxoplasmose cérébrale. L'amélioration de l'observance a permis une restauration immunitaire (de 0,7% de CD4 soit 6/mm3 à 10% soit 212/mm3) en six mois.

Dans un premier temps, les lésions anales ont évolué vers une dysplasie de haut grade avérée histologiquement et traitée chirurgicalement par une exérèse élargie. La dernière anuscopie, datant de 12 mois, ne montrait aucune lésion intra-anale.

Dans un second temps, une volumineuse infiltration péri-rectale envahissant l'ensemble du pelvis est apparue. Le diagnostic histologique de carcinome épidermoïde a été confirmé par une biopsie de cette infiltration. L'évolution a été fatale en quelques semaines, avec apparition rapide de métastases osseuses, viscérales et cutanées.

Cette observation nous incite à envisager un lien entre l'évolution particulièrement rapide de ce cancer anal et la restauration immunitaire, malgré le peu de données de la littérature sur ce point. Cette question mériterait d'être approfondie par d'autres études, d'autant que cette pathologie constitue le deuxième cancer non classant chez les patients VIH.

453/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Traitement de l'hépatite C : entre efficacité virologique et entraves au traitement

A. Mammeri, N. Messalhi, F. Drardja, Z. Boudiaf, M. Aidaoui, Z. Boumaza, A. Trima, M. Laouar
Maladies Infectieuses, CHU d'Annaba, Annaba, Algérie

L'hépatite C représente un problème de santé publique en Algérie (en particulier dans la région de Annaba et l'Est algérien en général), elle reste une maladie grave (par ses risques évolutifs) et d'actualité.

Au niveau de notre consultation, sa fréquence ne cesse de croître depuis l'année 2000 (5 à 10 nouveaux cas / année) jusqu'à l'année de l'introduction dans notre service de la bithérapie pégylée en 2007 (50 nouveaux cas / année).

Notre série comporte 42 cas traités sur une file active de 89 patients (dont 18 patients sont en fin de traitement). L'âge moyen est de 48 ans avec des extrêmes entre 19 et 73 ans, le génotype 1 est retrouvé dans les ¾ des cas avec dans la moitié des cas une charge virale élevée (> 6 log).

72% de nos patients ont une réponse virologique soutenue (R.V.S.) et l'obstacle majeur observé au cours du traitement était le problème hématologique (arrêt du traitement dans 06 cas).

454/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Prévalence et épidémiologie moléculaire de l'infection par les virus de l'hépatite B (VHB) et de l'hépatite Delta (VHD) en Mauritanie

W. Mansour[1], M. Abdou-Chekaraou[2], E. Ishagh[3], P. Veillon[1], F. Le Gal[2], B. Lô[4], M. Aye[3], E. Gordien[2], F. Lunel-Fabiani[1]

[1]Laboratoire de Virologie, CHU d'Angers, France. Laboratoire HIFIH UPRES EA 3859, Faculté de Médecine d'Angers, Angers [2]Laboratoire de Virologie, Associé au CNR des Hépatites B, C et Delta, Hôpital Avicenne, Bobigny, France [3]Médecine Interne, Centre Hospitalier National (CHN) [4]Institut National de Recherche en Santé Publique (INRSP), Nouakchott, Mauritanie

Objectif : L'objectif de notre travail était de réaliser une étude de séroprévalence et d'épidémiologie moléculaire des souches virales VHB et VHD circulant en Mauritanie pour lesquelles aucune donnée n'est disponible à ce jour.

Patients et Méthodes : Sujets : 414 patients adultes ayant consulté au Centre Hospitalier National de Nouakchott pour des examens de routine entre le 2 et le 21 Juillet 2008 ont été inclus dans l'étude. Les patients infectés préalablement par le VHB ont été exclus de la cohorte.

Méthodes : Les sérums des 414 patients ont été testés pour les marqueurs suivant : l'AgHBs et les Anticorps (Ac) anti-HBc IgG pour le VHB (AxSYM®Abbott); les Ac anti-VHD pour le VHD (ETI-ABDELTAK-2®Diasorin) chez tous les patients AgHBs positifs. La charge virale VHB a été quantifiée par la trousse NucliSENS EasyQ® (bioMérieux) et celle du VHD par PCR en temps réel TaqMan. Les génotypes VHB et VHD ont été déterminés respectivement par l'analyse phylogénétique des régions génomiques *preS1* (nt2817 à nt704) et *R0* (nt889 à nt1289). Les analyses statistiques ont été réalisées par le logiciel SPSS version 15.0.

Résultats : L'âge moyen des patients était de 36,0±11,8 ans chez les AgHBs positifs et de 36,3±13,5 ans chez les AgHBs négatifs (NS). L'AgHBs a été retrouvé chez 71 patients (17,1%). L'Ac anti-HBc IgG a été retrouvé chez 267 (77,8%) des patients AgHBs négatifs. La charge virale plasmatique VHB était détectable chez 38 (53,5%) des 71 patients infectés par le VHB avec une valeur moyenne de 3,0±1,1 log UI / mL. Le génotype du VHB a pu être déterminé chez 24 des 38 patients avec la répartition suivante : E=13, D=8 et A=3.

Parmi les 71 patients AgHBs positifs, 14 (19,7%) avaient des Ac anti-VHD totaux avec un âge moyen de 43,9±12,5 ans. Onze des 14 patients Ac anti-VHD positifs (78,6%) avaient un ARN/VHD détectable avec une charge virale moyenne de 6,6±1,2 log copies/mL. Dix souches étaient de génotype VHD-1 et 1 VHD-5.

Quatre patients avaient une réplication simultanée des deux virus (génotypes : VHD-1, VHB/D et VHB/E).

Conclusion : Nous avons trouvé une forte prévalence du VHB (17,1%) et VHD (19,7% des porteurs AgHBs) en Mauritanie. Les patients Ac anti-VHD positifs étaient significativement plus âgés. Les génotypes VHB/E et VHD-1 sont les plus fréquemment retrouvés en Mauritanie.

455/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Risque transfusionnel de l'hépatite E dans le centre Tunisien

N. Hannachi[1], M. Marzouk[1], S. Mhalla[1], R. Hassen[1], H. Skouri[2], J. Boukadida[1]

[1]Laboratoire de microbiologie-immunologie, Unité de recherche UR 02SP13, CHU F. Hached [2]Laboratoire d'hématologie et banque du sang, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie

Introduction : Le risque de transmission sanguine du virus de l'hépatite E (VHE) est maintenant bien établi. Il dépend de l'épidémiologie de l'infection dans le pays concerné. Le but de ce travail est d'estimer ce risque dans le centre tunisien en comparant la prévalence de l'hépatite E chez des enfants et adultes polytransfusés par rapport à un groupe témoin.

Méthodes : L'étude a porté sur trois populations : 107 patients polytransfusés majoritairement bêta- thalassémiques (48 enfants et 59 adultes), 162 donneurs de sang et 60 enfants témoins qui n'ont jamais été transfusés. La recherche des IgG dirigés contre le VHE (IgG anti-VHE) a été effectuée par test immunoenzymatique commercialisé. Une sérologie à la recherche d'infection par le virus de l'hépatite B (VHB) et de l'hépatite (VHC) a également été réalisée. L'analyse statistique a été réalisée grâce au test Khi 2 ou test exact de Fisher.

Résultats : les prévalences des IgG anti-VHE étaient respectivement de 28,9%, 16,6% et 3,3% chez les polytransfusées, les donneurs de sang et les enfants témoins. Dans le groupe des polytransfusés cette prévalence était plus importante chez l'adulte : 40,6% que l'enfant : 14,6% (p=0,006). La différence était statistiquement significative entre les polytransfusés et témoins aussi bien de façon globale qu'en séparant les adultes des enfants (p<0,05). Une prévalence également significativement plus élevée des infections par le VHB et le VHC a été relevée chez les polytransfusés par rapport aux témoins. Aucune corrélation n'a été retrouvée entre polytransfusion et présence concomitante d'IgG anti VHE et antigène HBs (p=0,17) ou avec la présence concomitante d'IgG anti VHE et anticorps anti-VHC (p=0,06).

Conclusion : Ce travail conforte la notion de risque transfusionnel lié au VHE surtout dans les pays endémiques. Le plus fort taux d'infection chez les adultes polytransfusés est lié à un nombre plus important de transfusions reçues mais également au fait que l'infection survienne plus volontier chez l'adulte. Une amélioration des mesures préventives dans la sélection des donneurs telle que l'introduction du dosage des transaminases parait nécessaire aussi bien pour diminuer le risque de contamination par le VHE que par les autres virus d'hépatites virales.

456/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Hépatite B : présence de l'antigène HBs sans anticorps anti-HBc chez un couple

V. Nègre[1], C. Léonnet[1], L. Villeneuve[1], S. De Montigny[1], S. Gallet[1], J.D. Poveda[2], P. Stolidi[1]

[1]Centre Hospitalier Edmond Garcin, Aubagne [2]Laboratoire Cerba, Cergy-Pontoise, France

Nous décrivons l'évolution des profils sérologiques atypiques chez un couple.

Madame B patiente de 59 ans présente de lourds antécédents cardiologiques.

En 2006 une maladie de Waldenstrom est diagnostiquée et traitée par Rituximab à partir de 2007.

En février 2009, devant une augmentation des transaminases à 2N, son médecin prescrit des sérologies virales.

	03/04/2007	31/03/2009
Ag HBs	-	+ (>250 UI/ml)
Ac HBc	+ (index=3)	-
Ac HBs	-	-
ADN	Non recherché	+ (> 8 log)
Bilan hépatique	Asat : 34 Alat : 29 (UI/l)	Asat : 68 Alat : 81 (UI/l)
Interprétation	Infection ancienne ? Hépatite B occulte ?	Infection en cours sans Ac HBc

Le diagnostic le plus probable est une réactivation de l'hépatite B sous immunosuppresseur, en effet une sérologie réalisée en 2007 montre des Ac HBc isolés. L'absence d'Ac HBc peut être expliquée par l'hypogammaglobulinémie et/ou le traitement immunosuppresseur.

Monsieur M compagnon de Madame B depuis 2 ans est adressé au laboratoire afin de déterminer son statut sérologique en vue d'une vaccination.

	14/04/2009	06/05/2009	09/06/2009	01/10/2009
Ag HBs	+ (12.28 UI/ml)	- (0.00 UI/ml)	-	-
Ac HBc	-	+(index=5)	+(index=7.8)	+(index=9.88)
Ac HBc IgM	-	+(index=3.43)		
Ac HBs	-	-	-	+(24 UI/l)
Ag HBe	+	-		
Ac HBe	-	+(% d'inhibition 79%)		
ADN	Non recherché	-		
Bilan hépatique	Non perturbé	Non perturbé		
Interprétation	Primo-infection ?	Guérison en cours ?	Guérison en cours ?	Guérison

Notre patient a présenté une Hépatite B asymptomatique.

Conclusion : La présence d'un Ag HBs isolé peut signer la phase d'incubation précédent l'hépatite aiguë.

L'hypogammaglobulinémie peut aussi rendre compte d'un tel profil.

La présence d'Ac HBc isolés reflète le plus souvent une cicatrice sérologique.

Mais cette absence de marqueur du système HBs peut résulter soit de la fenêtre sérologique qui sépare la disparition de l'Ag HBs de l'apparition des Ac HBs au cours de l'Hépatite B aiguë soit d'une réplication virale à bas bruit (<10 000 copies/ml) avec une production d'Ag HBs indétectable dans le cas d'une infection dite occulte.

Ainsi devant ce type de profil, il faut discuter la recherche des Ac HBc de type IgM ou de l'ADN du VHB.

De plus lors de la mise sous immunosuppresseur, une sérologie de l'hépatite B devrait être réalisée.

Les patients présentant des Ac HBc devraient être surveillés.

Les sérologies ont été réalisées sur Architect Abbott Les charges virales ont été réalisées par le laboratoire CERBA par PCR en temps réel TaqMan Roche.

457/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Hépatite E chez le patient immunodéprimé : à propos de deux cas à Angers

F. Oca[2], H. Le Guillou-Guillemette[2], N. Dib[1], A. Ducancelle[2], E. Nicand[3], S. Tessé[3], P. Calès[1], F. Lunel-Fabiani[2]

[1]Service d'hépato-gastroentérologie-UPRES EA 3859, CHU Angers [2]Laboratoire de virologie-UPRES EA 3859, CHU d'Angers, Angers [3]Service de biologie, CNR VHE, Hôpital Instruction des armées du Val de Grâce, Paris, France

Objectif : Le virus de l'hépatite E (VHE) est la cause principale d'hépatite à transmission féco-orale en zones tropicales et subtropicales et de cas sporadiques des pays industrialisés. Le VHE entraîne des infections aigües mais des études récentes décrivent des formes d'hépatites chroniques et de cirrhose après transplantation d'organe. Au CHU d'Angers, nous rapportons 2 cas autochtones d'hépatite E déclarés dans un contexte d'immunodépression dont un a évolué vers une forme chronique.

Méthodes : Les analyses sérologiques et virologiques ont été réalisées prospectivement et rétrospectivement sur des prélèvements sériques ou des selles par ELISA et amplification génique.

Résultats :

Cas 1: Un homme de 65 ans, suivi pour une polyarthrite rhumatoïde traitée par NEORAL, NOVATREX, CORTANCYL depuis 12 ans, a présenté une hépatite cytolytique aigüe cholestatique pendant 3 mois (ASAT 5 à 35N) sans signe d'insuffisance hépato-cellulaire. Devant un bilan étiologique de première intention négatif, les traitements ont été diminués puis arrêtés complètement. Une séroconversion avec présence d'IgM et d'IgG anti-VHE ainsi que la détection de l'ARN VHE ont démontré une infection aigüe à VHE de génotype 3f. Une normalisation de la cytolyse contemporaine de la négativation de l'ARN viral a conduit au diagnostic d'infection aiguë à VHE résolutive.

Cas 2: Une jeune femme de 29 ans, greffée rénale depuis 2 ans dans un contexte de lupus, traitée par CELLCEPT, PROGRAF, CORTANCYL, a présenté une cytolyse hépatique fluctuante (ASAT 2-4N). Aucune étiologie infectieuse, médicamenteuse ou auto-immune n'avait été trouvée. Les bilans sérologiques rétrospectifs ont montré une séroconversion au moment du premier épisode de cytolyse (apparition des IgM avec un ARN VHE positif de génotype 3f). Depuis, des ASAT élevées (3N) et un ARN viral toujours détectable démontrent une infection chronique à VHE, depuis au moins 3 ans, non résolue actuellement.

Conclusion : L'infection à VHE autochtone devrait être envisagée devant toute cytolyse inexpliquée, en particulier chez le patient immunodéprimé. Comme rapporté récemment l'évolution de l'hépatite E peut se faire vers la chronicité. Le degré de l'immunodépression pourrait avoir un impact sur la sévérité et l'évolutivité de l'infection.

458/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Portage de l'antigène HBs : étude de 172 cas

A. Mustapha[2], B. Hammami[2], M. Attar[2], I. Maaloul[2], C.H. Marrakchi[2], D. Lahiani[2], H. Karray[1], M. Ben Jemâa[2]
[1]Laboratoire de microbiologie [2]Service des maladies infectieuses, Sfax, Tunisie

Introduction : L'hépatite virale B constitue encore un problème de santé publique en Tunisie. Elle est redoutable du fait de son potentiel cirrhogène et oncogène.

Objectifs : Décrire les données épidémio-cliniques et évaluer les mesures préventives assurées à l'entourage familial des porteurs chroniques de l'antigène HBs (Ag HBs)

Méthode : Etude rétrospective concernant 172 patients porteurs chroniques d'Ag HBs et suivis à l'hôpital du jour du service des maladies infectieuses du CHU Hédi Chaker de Sfax (Tunisie) durant l'année 2008.

Résultats : Le sexe ratio H/F était de 1,96. L'âge moyen était de 30 ans (extrême : 17- 73 ans). Le portage de l'Ag HBs était découvert dans 93% des cas lors de l'examen prénuptial. Le mode de contamination présumé était sexuel (32 cas), parentéral (71 cas) et non identifié (69 cas). Cliniquement 158 patients (92% cas) étaient asymptomatiques. Au bilan Biologique, le taux des transaminases était élevé dans 13 cas (7,5%) et l'Ag HBe était positif dans 3 cas (1,7%)

La recherche de l'Ag HBs chez les conjoints pratiquée dans 155 cas, étaient négative 130 fois (84%). La vaccination était réalisée chez 122 patients et le dosage des anticorps anti HBs après la 3ème injection du vaccin n'était fait que dans 59 cas dont 30 (50,8%) avaient un taux supérieur à 10 UI/ml.

Conclusion : Le virus de l'hépatite B représente la 10ème cause de décès dans le monde avec un risque important de portage chronique de l'Ag HBs, ceci souligne l'intérêt de la prévention qui repose sur la généralisation de la vaccination contre l'hépatite B, l'éducation pour la modification des comportements à risque et le dépistage des personnes infectées par ce virus.

459/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Les hépatites fulminantes observées en infectiologie : étude de 12 cas

A. Mustapha[2], B. Hammami[2], D. Lahiani[2], I. Maaloul[2], C.H. Marrakchi[2], H. Karray[1], M. Ben Jemâa[2]
[1]Laboratoire de microbiologie [2]Service des maladies infectieuses, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Introduction : Les hépatites fulminantes sont définies par une insuffisance hépatique et une encéphalopathie dont les étiologies sont très variables dominées par l'origine virale.

Objectif de l'étude : Analyser les aspects épidémio-cliniques et les modalités évolutives des hépatites fulminantes.

Méthode : Etude rétrospective étalée sur 14 ans (1995-2008) concernant 12 cas d'hépatites aigues fulminantes colligés au service des maladies infectieuses du CHU Hédi Chaker de Sfax (Tunisie).

Résultats : Le sexe ratio H/F était de 0,33. L'âge moyen était de 28 ans (extrêmes : 7-51ans).

Une patiente était enceinte à 12 semaines d'aménorrhée. Aucun patient n'avait des antécédents de pathologies hépatiques. La prise de médicaments hépatotoxiques, dominés par le paracétamol, était retrouvée chez 5 patients. Sur le plan clinique, l'ictère était constant. Le délai moyen entre l'apparition de l'ictère et l'encéphalopathie était de 13 jours (0-38jours). Un syndrome hémorragique était noté dans 50 % des cas. L'étiologie virale était confirmée chez 5 patients, le virus de l'hépatite B (3 cas), de l'hépatite A (1 cas) et de l'hépatite E (1 cas).

L'évolution était fatale dans 75% des cas. Le décès était survenu en moyenne 3 jours après l'installation de l'encéphalopathie. Aucun patient n'a eu une transplantation hépatique a cause d'indisponibilité.

Conclusion : L'hépatite fulminante est une complication grave des hépatites aigues, pouvant entraîner le décès dans un cas sur deux. Ceci souligne l'intérêt des mesures préventives et l'utilité du recours à la transplantation hépatique.

460/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Diversité génétique d'un génotype rare du virus de l'hépatite A

D. Desbois, E. Couturier, A. Graube, E. Dussaix, A.M. Roque-Afonso
Laboratoire de Virologie, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France

Objet de l'étude : La variabilité du virus de l'hépatite A (VHA) se traduit par l'existence de 6 génotypes. Les génotypes I, II et III infectent l'homme, mais le génotype II est rarement isolé. Jusqu'en 2004, une seule souche de génotype IIA, isolée en France, était référencée dans GenBank. Entre 2002 et 2007, dans le cadre de l'observatoire des souches du Centre National de Référence (CNR), ce génotype a été identifié chez 6/693 patients (<1%) dont un avait séjourné au Bénin. Dans l'hypothèse d'une origine africaine subsaharienne, nous avons déterminé, en nous appuyant sur les données de la déclaration obligatoire (DO), la prévalence en 2008 du génotype IIA parmi les souches isolées au retour d'Afrique. Nous avons ensuite caractérisé la variabilité génétique de l'ensemble des génotypes IIA isolés.

Méthodes : En 2008, 1182 DO ont été transmises à l'Institut national de Veille Sanitaire, 459 (38,8%) signalaient un séjour hors métropole dont 54 en Afrique subsaharienne (11,8%), essentiellement Afrique de l'Ouest. 41/54 sérums (76%) ont pu être étudiés. Le génotype viral a été déterminé par séquençage et analyse phylogénétique de 450 nucléotides de la région VP1/2A. La région N-terminale de VP1 (500 nt) et la région 5' non codante (570 nt) ont également été analysées. La diversité génétique de l'ensemble des souches de génotype IIA a été comparée à un panel de souches dont le génome complet était disponible dans GenBank.

Résultats : En 2008, sur les 41 hépatites A au retour d'Afrique, 34 (83%) étaient de génotype IB, 2 (4,8%) de génotype IA et 5 (12,2%) de génotype IIA. Par ailleurs, ce génotype a été détecté chez un patient n'ayant pas voyagé hors métropole en 2008, et chez un patient de retour du Cameroun en 2009. Sur l'ensemble des 1076 souches étudiées à ce jour, 13 (1,2%) sont de génotype IIA. Dans les 3 régions étudiées, les souches de génotype II ont une diversité génétique plus faible que celles de génotype I et III. La région N-terminale de VP1 apparaît la plus discriminante.

Conclusion : Nous avons établi l'origine africaine des souches de génotype IIA isolées en France. Les sujets infectés sans notion de voyage pourraient s'être contaminés auprès de cas importés. L'étude de l'ensemble de la région P1 nous aidera à mieux comprendre l'origine des cas autochtones.

461/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Étude de l'expression et l'antigénicité des petites protéines S-HDAg du virus de l'hépatite delta de clade 1, 6 et 8

B. Bloquel[5], J.C. Cortay[3-6], M.B. Villiers[2], S. Cortès[2], C. Sureau[7], C. Marquette[4-6], P.N. Marche[2], B. Lina[3-6], F. Zoulim[5-6], P. Dény[5-1]
[1]LACNR Hépatites B, C et delta, Hôpital Avicenne, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Université Paris 13, Bobigny [2]U823, INSERM, Grenoble [3]FRE3011 [4]UMR 5246, CNRS [5]U871, INSERM [6]Université Lyon-I, Lyon [7]INTS, Paris, France

Le virus de l'hépatite Delta (HDV) est satellite du virus de l'hépatite B. Ils sont responsables d'atteintes hépatiques sévères. L'antigénome HDV code une ORF qui via un mécanisme d'édition, exprime deux protéines antigéniques dont la petite protéine antigénique S-HDAg ou p24 impliquée dans la transactivation de la réplication virale.

Objectifs : Afin de mieux comprendre la pathogénicité des virus delta de clades africain, nous étudions l'implication de la petite protéine S-HDAg. Ainsi l'objectif principal de nos travaux est d'induire la synthèse de cette protéine chez la bactérie à partir d'isolats prototype (HDV1) et africains (HDV-6 et -8). Les protéines recombinantes ainsi produites sont caractérisées en termes d'expression et d'antigénicité. Les protéines les plus spécifiquement antigéniques font l'objet d'une étude préliminaire en tant que sonde antigénique en imagerie de résonance plasmonique de surface, sur nanopuces potentiellement utilisables en diagnostic.

Résultats : Nous avons obtenu l'expression de S-HDAg sous forme de protéines de fusion en cellule bactérienne (BL21(DE3)), dans un vecteur de surexpression (pET-SUMO) marqué par différentes étiquettes, dans les constructions $(His)_6$-SUMO-SHDV1,-6,-8 et StrepTag®-SUMO-SHDV1. A côté de l'expression des protéines recombinantes de taille attendue SHDV1, SHDV6 et SHDV8, nous avons été amenés à caractériser pour la construction $(His)_6$-SUMO-SHDV1, une protéine recombinante tronquée en C-ter. Cette protéine plus soluble et plus fortement exprimée en milieu bactérien a été produite (SHDV1Dom-$(His)_6$) et caractérisée. Les protéines S-HDAg synthétisées en milieu d'auto-induction ont été purifiées en chromatographie d'affinité. Leur sensibilité et spécificité antigénique ont été objectivées en ELISA, western blot et résonance plasmonique de surface.

Perspectives : Le potentiel antigénique du domaine et de la construction StrepTag® ayant été confirmé pour le clade prototype HDV1, ces travaux sont étendus aux clades africains 6 et 8 de delta virus, afin de tester la spécificité de clades des sondes protéiques ainsi produites.

462/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Recherche et identification des *adénovirus*, *entérovirus, astrovirus et norovirus* dans des eaux usées épurées au Maroc : études de cas de deux stations d'épuration marocaines

H. Amdiouni[1-2], N. Oubrim[1], N. Fariat[1], L. Benabbes[1], N. Cohen[1], A. Soukri[2], J. Nourlil[1]
[1]Institut Pasteur du Maroc [2]Faculté des sciences Ain Choc, Université Hassan II, Casablanca, Maroc

Les rejets des stations d'épuration déversent dans l'environnement des quantités importantes de particules virales. Ces virus sont dispersés dans l'environnement et peuvent être transportés loin de leur point de rejet. Les eaux usées sont réutilisées, le plus souvent sans traitement préalable, comme source de fertilisants.

L'objectif de notre étude est de mettre en place une technique de recherche de virus avec identification moléculaire par PCR couplée à la culture cellulaire, permettant de détecter des *Entérovirus* et des *Adénovirus* dans les eaux usées brutes et épurées par deux stations de lagunage marocaines et dans des rejets domestiques marocains.

Les échantillons des eaux usées ont subi une première étape de concentration des virus, le concentrât obtenu a été inoculé sur deux lignées cellulaires RD et Hep2. La détection du génome viral est réalisée par PCR en ciblant la région VP1, pour les *Entérovirus*, le gène de l'hexon pour les *Adénovirus*, la règion de l'ORF2 pour les astrovirus et les norovirus, et le genotypage des virus entériques est réalisé par électrophorèse capillaire.

Sur l'ensemble des échantillons d'eaux usées prélevés avant et après traitement (n = 22), 11/22 échantillons (50%) se sont révélés positifs par PCR pour les Adénovirus, 32% (7/22) pour les Entérovirus, deux échantillons positifs pour les norovirus, et un seul échantillon pour les astrovirus. Les faux négatifs en culture cellulaire (6/22) 28% s'expliquent par la présence de souches qui poussent faiblement sur les lignées utilisées ou par d'éventuelles altérations des particules virales, réduisant leur pouvoir infectieux *in vitro*. Cependant, la culture cellulaire conserve sa place pour affirmer le pouvoir infectieux de l'agent détecté. L'utilisation de la PCR couplée aux cultures cellulaires permet de récupérer des souches non ou difficilement cultivables. Le séquençage de toutes les régions ciblées chez tous les virus entériques étudiés, a montré une grande variabilité des génotypes trouvés.

Les résultats obtenus révèlent la présence et la persistance des virus, dans les eaux usées brutes et épurées au niveau des deux stations étudiées, d'où la nécessité de prendre les mesure de précaution nècessaires avant toute éventuelle réutilisation.

Mots-clés: *Entérovirus*, *Adénovirus*, astrovirus, norovirus, eaux usées, culture cellulaire, PCR, séquençage

463/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Activité vis-à-vis du cytomégalovirus du ganciclovir et de l'artésunate dans des cellules astrocytaires humaines

N. Schnepf, J. Corvo, M.J. Sanson Le Pors, M.C. Mazeron
Laboratoire associé au CNR Cytomégalovirus, service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière, Paris, France

Le cytomégalovirus (CMV) est responsable d'infections sévères chez les patients immunodéprimés comme les receveurs d'allogreffe et les patients infectés par le VIH et chez le fœtus et le nouveau-né infectés *in utero*. L'encéphalite en est une complication rare, mais de traitement particulièrement difficile. Le ganciclovir (GCV) est l'antiviral le plus largement utilisé en pratique clinique. L'artésunate, un antipaludéen, inhibe *in vitro* la réplication du CMV. Il a été proposé en alternative aux antiviraux actuellement disponibles chez des patients en échec thérapeutique.

Objectif : Évaluer l'activité du ganciclovir et de l'artésunate dans les cellules astrocytaires humaines U373.

Matériels et méthodes : La concentration d'antiviral inhibant de 50% (CI_{50}) la synthèse de l'ADN viral dans les astrocytes U373 a été mesurée by PCR en temps et comparée à la valeur obtenue dans les fibroblastes humains MRC-5. Les souches de référence sensibles au GCV, AD169, Davis, Towne et Toledo, les virus recombinants Rec545 et Rec987 et la souche de laboratoire RCL-1, résistants au GCV, ont été testés en parallèle sur MRC-5 et U373.

Résultats : Les CI_{50} du GCV mesurées dans les cellules U373 étaient similaires à celles obtenues dans les fibroblastes MRC-5 : 0,7 à 1,1µM pour les souches sensibles et 2,8 à 15 µM pour les résistantes. Les CI_{50} de l'artésunate pour les souches sensibles ou résistantes au GCV étaient de 1,9 à 4 µM dans les cellules MRC-5 et de 1,5 à 3,2 µM dans les cellules U373.

Conclusion : Le GCV a une activité antivirale identique dans les cellules MRC-5 et dans les cellules U373. L'activité antivirale de l'artésunate vis-à-vis de souches de CMV sensibles et résistantes au GCV est confirmée. De plus cette étude montre une activité identique de l'artésunate dans les cellules astrocytaires humaines testées. Les CI_{50} ainsi déterminées sont très inférieures aux concentrations plasmatiques atteintes au pic (6,88 ± 4,69mM) lors des traitements du paludisme par l'artésunate. Ces résultats sont en faveur de l'utilisation de l'artésunate chez les patients en échec de traitement par les molécules antivirales actuellement disponibles.

464/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Vaccination contre l'hépatite B chez les adultes sains : effet du sexe et de l'âge. Deux protocoles de rappel pour les non répondeurs

J. Choucair, Z. Sleiman
Maladies infectieuses, Hôtel Dieu, Beyrouth, Liban

Objectif : Évaluer, chez les adultes sains non vaccinés contre le VHB, le taux de réponse à la vaccination selon le protocole standard PS (0,1,6 mois) et le taux de réponse chez les non répondeurs soumis à deux protocoles utilisant des doses supplémentaires.

Matériels et méthodes : 192 employés de l'Hôpital Psychiatrique de la Croix d'âge moyen 44.3 (44.3±12.35), non vaccinés auparavant et n'ayant aucune maladie intercurrente (insuffisance hépatique, insuffisance rénale chronique, infection à VIH, cancer et hépatite C active), sont vaccinés par l'Engerix B (Engerix® B 20 µg/1 ml) selon le PS. Les non répondeurs à ce protocole (taux d'anticorps anti-Hbs <10UI/l) sont divisés en 2 sous groupes. Le premier sous groupe (P1) a reçu une simple dose de rappel (R1) 4 mois après la fin du PS, et ceux qui sont restés non répondeurs à R1, une double dose de rappel (R1b) 2 ans après la fin du PS. Le deuxième sous groupe (P2) a reçu uniquement une double dose de rappel (R2), 2 ans après la fin du PS.

Résultats : Le taux de réponse positive après la vaccination selon le protocole standard est de 75.5% (145/192). 28 individus non répondeurs (P1) ont reçu un rappel R1 à 4 mois, le taux de réponse positive parmi eux est de 32.14% (9/28). Les 19 individus non répondeurs à R1 ont alors reçu un rappel boosté (R1b) à 2 ans. Leur taux de réponse positive est 36.84% (7/19). Le taux final de réponse positive dans le sous groupe (P1) est de 57.14% (16/28). Les non répondeurs (P2) formés de 19 individus, ont reçu un rappel boosté (R2) d'emblée à 2 ans. Leur taux de réponse positive est 63.16% (12/19). 9.9% (19/192) des individus n'ont pas répondu à aucun de nos protocoles de rappel. La réponse diminue avec l'âge. Cette diminution est de 5% tous les ans et de 41% tous les 10ans. Pour le même âge, les hommes répondent 2 fois plus que les femmes, après vaccination selon le protocole standard. En faisant les différents rappels, on ne trouve plus une différence de réponse entre les deux sexes.

Conclusion : Un rappel boosté d'emblée à 2 ans donne une meilleure réponse qu'un rappel simple à 4 mois, et une réponse identique à un rappel simple à 4 mois suivi d'un rappel boosté à 2 ans. Le sexe féminin et l'âge élevé sont deux facteurs qui diminuent la réponse à la vaccination.

465/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Protection des souris contre le virus Influenza (H1N1) après stimulation du récepteur PAR2

K. Khoufache[3], F. Lebouder[3], E. Morello[3], N. Lejal[3], F. Laurent[6], S. Riffault[3], P. Andrade-Gordon[2], S. Boullier[4], P. Rousset[5], N. Vergnolle[5-1], B. Riteau[3]
[1]Department of Pharmacology and Therapeutics, University of Calgary, Alberta, Canada [2]Johnson Pharmaceutical Research and Development, Laboratory, Spring House, Etats-Unis [3]Unité de Virologie et Immunologie Moléculaires, INRA, Jouy-en-Josas [4]UMR1225, Ecole Nationale Vétérinaire [5]Centre de Physiopathologie de Toulouse Purpan, INSERM, Toulouse [6]Unité d'Infectiologie Animale et Santé Publique (UR1282), INRA, Tours, France

Objet de l'étude : La grippe est une maladie infectieuse contagieuse causée par le virus à ARN *Influenza*. Le tractus respiratoire représente un milieu idéal pour la réplication du virus de la grippe en raison de la présence de protéases. Ces enzymes sont aussi impliquées dans la réponse immunitaire via l'activation des récepteurs PAR (Proteases Activated receptors). A ce jour quatre récepteurs ont été découvert. Le but de ce travail est d'étudier le rôle de PAR-2 dans le contexte d'une infection grippale.

Méthodes : (i) Nous avons vérifié l'expression de PAR-2 par RT-PCR et FACS sur la lignée A549. Pour ce faire, les cellules ont été stimulées avec la molécule SLIGRL (peptide activateur de PAR-2) puis exposées au virus PR/8/34. Le titre viral et la sécrétion des cytokines RANTES et INF-Y ont été déterminés. (ii) Nous avons administré par voie nasale 25 µl (virus PR/8/34+SLIGRL) à des souris C57BL/6J WT. A J2 et J3 post-infection, ces souris ont été exposées à 25 µl SLIGRL seul. Le taux de survie (%), la perte du poids (%), le titre viral pulmonaire, les profils des cytokines RANTES et INF-Y ainsi que le taux de polynucléaires neutrophiles (PNN) dans les lavages broncho-alvéolaires (LBA) ont été déterminés. Des expériences ont été aussi effectuées sur des souris PAR-$2^{-/-}$ et INF-$Y^{-/-}$.

Résultats : PAR-2 est surexprimé *in vitro* après infection par le virus Influenza. L'induction de PAR2 inhibe la réplication virale qui est restaurée après le blocage de l'INF-Y. Ces résultats ont été confirmés *in vivo,* puisque des souris exposées au peptide SLIGRL ont survécues à l'infection avec une charge virale inférieure à celles des souris contrôles. Cette protection est abolie chez des souris PAR-$2^{-/-}$ et INF-$Y^{-/-}$.

Conclusion : La stimulation de PAR-2 avec l'agoniste SLIGRL protège les souris contre le virus Influenza A via une production accrue de l'INF-Y et une diminution de l'inflammation pulmonaire. Pour la suite de ce travail il est prévu (i) de tester d'autres virus dont le H1N1 de la grippe mexicaine et le H5N1, (ii) de développer cette approche afin de la proposer comme alternative dans la protection de masse des populations contre le virus de la grippe.

466/80A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation de pratique vaccinale : immunogénicité du vaccin Repevax (dTPca) administré 1 mois après un vaccin Revaxis (dTP) chez des adultes sans antécédents vaccinaux connus

S. Larnaudie[3], N. Guiso[6], C. Baptiste[2], C. Desaint[4], L. Deforges[1], P. Lebon[5], B. Soubeyrand[2], O. Launay[4]
[1]Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, Hôpital Henri Mondor, Créteil [2]Direction Médicale, Sanofi Pasteur MSD, Lyon [3]Service de vaccination, DASES [4]CIC de Vaccinologie Cochin Pasteur, Groupe Hospitalier Cochin Saint Vincent de Paul, Université Paris Descartes, Faculté de Médecine, INSERM [5]Service de Virologie, Hôpital Saint Vincent de Paul [6]Unité de Prévention et Thérapies Moléculaires des Maladies Humaines, URA-CNRS 3012 - Institut Pasteur, Paris, France

Objectif : Bien qu'utilisé en routine chez des patients sans antécédent vaccinal connu, le schéma vaccinal comportant une injection de Revaxis (dTP), suivi à 1 mois d'intervalle d'une injection de Repevax (dTPca) n'a jamais été documenté.

Méthodologie : Il s'agissait d'une étude monocentrique d'évaluation des pratiques réalisée dans le service de vaccination de la ville de Paris évaluant l'immunogénicité d'une vaccination par une injection de Revaxis (V1) suivie 1 mois plus tard d'une injection de Repevax (V2) chez des adultes de 18 à 50 ans, sans histoire vaccinale connue. Le taux en anticorps anti-toxine diphtérique, anti-toxine tétanique, anti-toxine pertussique et anti-virus de la poliomyélite a été déterminé sur un prélèvement sanguin obtenu 1 mois après l'injection de Repevax (V3).

Résultats : 136 patients ont été inclus dans l'étude, 106 d'entre eux (77,9%) sont venus à la visite V2 et 74 (54,4%) à la visite V3. Le prélèvement sanguin pour la détermination du taux d'anticorps a été réalisé chez 73 patients, d'âge moyen 33,2+/-7,3 ans. Les patients étaient originaires d'Afrique sub-saharienne dans 50,7% des cas, de la région du Pacifique occidental dans 24,3% des cas, et d'Europe dans 12,5% des cas. Tous les patients présentaient un taux d'anticorps anti-toxine diphtérique et toxine tétanique supérieur à 0.1 UI/ml, qui est le taux considéré comme protecteur, ainsi qu'un taux d'anticorps protecteur vis-à-vis des virus poliomyélitiques 2 et 3 (≥8 dil^{-1}) (100% - IC95% : [95.1% ; 100.0%]);contre le virus poliomyélitique 1, 98.6% des patients étaient protégés (1 seul individu avait un taux inferieur au seuil protecteur) (IC95% : [92.6% ; 100.0%]). Sur les 72 patients avec un dosage anticorps anticoquelucheux disponible, 94.4% (IC95% : [86.4% ; 98.5%]) présentaient un titre d'anticorps supérieur au taux de positivité (≥8 UE/ml).

Conclusion : Le schéma vaccinal utilisé dans ce centre de vaccination pour des adultes sans histoire vaccinale connue permet d'obtenir une réponse humorale vis-à-vis des valences diphtérie, tétanos, poliomyélite et coqueluche.

467/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Sensibilité aux antibiotiques des *E. coli* isolés d'infections urinaires communautaires à Elbeuf et son agglomération (Normandie), novembre 2008 - octobre 2009

R. Fabre[1], F. Lefebvre[2], B. Maurer[1], G. Epifanoff[1], F. Cerutti[1], D. Tardif[1], H. Pupin[1], I. Ternois[1]
[1]Label Bio, Elbeuf [2]DRASS, Haute Normandie, France

Objectifs : Suivi trimestriel de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'*E.coli* isolées d'infections urinaires communautaires au niveau d'Elbeuf et de son agglomération (57000 habitants).

Méthodes : étude prospective de novembre 2008 à octobre 2009, à partir de trois laboratoires de ville, colligeant les infections urinaires communautaires (patients ambulatoires non sondés) à *E. Coli* avec suivi trimestriel 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 (2008).

Résultats obtenus : 1414 infections urinaires à *E. coli* sont collectées les 9 premiers mois de l'étude. Globalement les taux de sensibilité sont : AM, 57% ; AMC, 73% ; CFM, 96% ; CRO, 98% ; GM, 97% ; NAL, 86% ; CIP, 90% ; FOS, 99% ; FT, 97% ; SXT, 81%. Chez les femmes de 15 à 65 ans (592 souches) AM, 59% ; AMC, 76% ; CFM, 98% ; CRO, 98% ; GM, 99% ; NAL, 89% ; CIP, 94% ; FOS, 99% ; FT, 99% ; SXT, 84%. Chez les femmes de plus de 65 ans (509 souches) AM, 56% ; AMC, 71% ; CFM, 95% ; CRO, 97% ; GM, 96% ; NAL, 81% ; CIP, 86% ; FOS, 99% ; FT, 95% ; SXT, 78%. Chez les hommes (216 souches) AM, 52% ; AMC, 69% ; CFM, 95% ; CRO, 98% ; GM, 94% ; NAL, 81% ; CIP, 86% ; FOS, 99% ; FT, 97% ; SXT, 83%. Chez les enfants (97 souches) AM, 65% ; AMC, 80% ; CFM, 100% ; CRO, 100% ; GM, 100% ; NAL, 94% ; CIP, 97% ; FOS, 100% ; FT, 97% ; SXT, 80%. Le taux d'*E. coli* producteur de bétalactamase à spectre élargi est de 1,7% (24 souches /1414)

Conclusion : Par rapport à l'année précédente les taux de sensibilité des *E.coli* isolés d'infections urinaires communautaires restent stables. Les fluoroquinolones conservent toujours une bonne activité dans les infections urinaires de la femme de 15 à 65 ans.

468/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

***Staphylococcus saprophyticus* dans les infections urinaires communautaires : épidémiologie et sensibilité aux antibiotiques (Étude Label Bio Elbeuf/novembre 2007- juillet 2009)**

R. Fabre[1], A. Mérens[2], L. Sagaert[1], G. Epifanoff[1], F. Cerutti[1], D. Tardif[1], J.D. Cavallo[2], I. Ternois[1]
[1]LABEL BIO, Elbeuf [2]Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France

Objectifs : Etudier la frequence d'isolement et la sensibilite aux antibiotiques des souches de *S. saprophyticus* isolees d'infections urinaires communautaires (IUC).

Methodes : inclusion prospective entre novembre 2007 et juillet 2009 de toutes les IUC recensees par 3 laboratoires de ville, au niveau d'Elbeuf et son agglomeration (56000 habitants). Criteres d'interpretation de l'examen cytobacteriologique des urines bases sur le Referentiel en Microbiologie 2007. Envoi de 41 souches consecutives non repetitives de *S. saprophyticus* isolees sur 1 an entre juin 2008 et mai 2009 à un centre de reference pour etude de la sensibilite a l'oxacilline (methode phenotypique et recherche du gene *mec*A) et determination des CMI par microdilution en milieu liquide pour le cotrimoxazole (SXT), l'acide nalidixique (NAL), la ciprofloxacine (CIP), la nitrofurantoïne (FT), la fosfomycine (FOS). Criteres d'interpretation : CASFM 2008.

Résultats obtenus : Sur 3442 ECBU positifs chez la femme, 79 souches de *S. saprophyticus* ont ete isolees (2,3 %) avec des variations en fonction de la classe d'age : moins de 1% chez les plus de 50 ans ou moins de 6 ans, 3% chez les 31-50 ans et 10% chez les 11-30 ans. Un pic etait observe pour les 16-20 ans (14%, 26 souches/182). Dans cette classe d'age, *E.coli* etait statistiquement moins frequemment isole que dans le reste de la population féminine (66% versus 74%, p = 0.01) alors que *S. saprophyticus* etait plus frequemment isole (p < 0.001). Aucune souche de *S. saprophyticus* n'a ete isolee parmi 956 ECBU positifs chez l'homme.

La resistance naturelle a NAL et FOS etait retrouvee pour toutes les souches. Sur 41 souches testees, 40 etaient sensibles a l'oxacilline. Toutes les souches etaient sensibles au SXT (CMI_{50} : 1mg/l ; CMI_{90} : 2mg/l), à FUR (CMI_{50} : 8 mg/l ; CMI_{90} : 16 mg/l) et CIP (CMI_{50} et CMI_{90} = 0.5 mg/l).

Conclusion : Dans le traitement probabiliste des IUC, *S. saprophyticus* est a prendre en compte chez la femme jeune de moins de 30 ans, en particulier chez les 16-20 ans. La nitrofurantoine, du fait de son activite, de sa concentration urinaire, de sa facilite d'emploi et de son faible impact sur l'ecologie bacterienne se positionne bien dans le traitement des IUC non compliquee de cette classe d'age, alors que la fosfomycine-trometamol peut etre plus facilement prise en defaut.

469/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation de la prise en charge des infections urinaires de l'adulte au service d'accueil et traitement des urgences (SAU) du centre hospitalier de Dreux

P. Dubosq[3], E. Revue[4], P. Fombeur[2], J. Miranda[4], F. Coulomb[1]
[1]Hygiène [2]Pharmacie [3]Réanimation [4]SAU, Centre Hospitalier de Dreux, Dreux, France

Objectif : Évaluer la qualité de prise en charge des infections urinaires de l'adulte au SAU de Dreux après diffusion de recommandations établies localement à partir de la conférence de consensus de la SPILF.

Méthodes : Audit clinique ciblé rétrospectif des patients âgés de 15 ans et plus pour lesquels le diagnostic principal posé aux urgences entre le 1er mars et le 1er septembre 2007 est : infection ou colonisation urinaire. L'analyse des dossiers informatisés a été effectuée par un clinicien, deux urgentistes et une pharmacienne, au moyen d'une grille de 9 critères.

Résultats : 202/310 dossiers analysables dont la moitié pris en charge par un médecin senior. 127 infections urinaires basses, 74 hautes et 1 colonisation. 13 molécules prescrites avec 88% de Fluoroquinolones alors que le taux de résistance local pour l'*E. Coli* est de 17%.

L'indication d'une antibiothérapie, la posologie, la voie d'administration et l'orientation du patient sont globalement conformes au référentiel (respectivement 93.3 ; 86.5 ; 83.8 et 88.2%). Par contre, les méthodes diagnostiques ne sont conformes que dans 47.3% des cas : la recherche de grossesse et d'obstacle effectuée dans 42.3% et 52.9% des cas. Le choix de l'antibiotique est conforme dans 39% des cas, la durée du traitement dans 16.7%. Si l'on croise le choix de la molécule, la posologie et la durée de traitement le risque d'échec est de 34.7%. Lorsque le traitement est jugé efficace, la pression de sélection, la toxicité et/ou le surcoût sont injustifiés dans 83.7% des cas. La surveillance et l'adaptation du traitement aux résultats bactériologiques sont rarement mentionnées (34.1 et 30.6%). Seuls 3 dossiers (1.5%) sont conformes au référentiel pour les 9 critères.

Conclusion : Les méthodes diagnostiques, le choix de la molécule, de la durée de traitement et l'adaptation du traitement aux résultats bactériologiques sont le plus souvent inadaptés avec un risque élevé d'échec du traitement, une pression de sélection, une toxicité et/ou un surcoût injustifiés malgré l'élaboration consensuelle et la diffusion d'un référentiel local. Une réflexion est menée avec les urgentistes sur une aide à la prescription en ligne à partir du dossier informatisé avec des sécurités et des ordonnances pré remplies.

470/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation des pratiques cliniques au CH de Béthune : surveillance des bactériémies communautaires et associées aux soins sur une période de 7 mois

S. Nguyen[4], S. Dekeyser[1], E. Beclin[3], D. Descamps[1-2]
[1]Laboratoire [2]Présidente du comité de lutte contre les infections nososcomiales [3]Unité d'hygiène et de lutte contre les infections nosocomiales [4]Unité d'infectiologie, CH Béthune, Béthune, France

Objet : Surveillance des bactériémies (communautaires et associées aux soins) au CH Béthune, motivée par la fréquence et la gravité de ces infections.

Méthode : Toutes les bactériémies survenues entre le 01/01/09 et le 31/07/09 ont fait l'objet d'un recueil de données administratives (identité du patient, service, date d'entrée et devenir à J7), biologiques (date de positivité de l'hémoculture, identification du germe et antibiogramme), cliniques (infection communautaire ou associée aux soins [IAS], immunodépression, porte d'entrée, antibiothérapie probabiliste). Saisie et exploitation des données avec le logiciel Epidata après vérification et anonymisation des fiches.

Résultats : 342 bactériémies ont été recensées. Ces bactériémies se répartissent pour 89 % en MCO (urgence, gastroentérologie, néphrologie-hémodialyse essentiellement), 7 % en réanimation et 4 % en SSR/SLD. Les patients sont âgés en moyenne de 64,7 ans (hommes) et 68,5 ans (femmes).

Parmi les infections avérées (238 épisodes [69,6%]):

- 40,8 % sont des IAS; aucun signalement n'a été fait à l'équipe opérationnelle d'hygiène
- une immunodépression est retrouvée dans 54,2% des cas (diabète, cirrhose, néoplasie et immunosuppresseur)
- à J7, 57% des patients sont encore hospitalisés et 15% sont décédés (survenue du décès en moyenne en 2j)
- les portes d'entrées les plus fréquentes sont urinaire (27,7%), digestive (14,7%), pleuropulmonaire (16,8%), mais restent inconnues dans 16,8% des cas.
- les germes les plus fréquents sont *E. Coli* (21%), *S. Aureus* (15,4%), *S. pneumoniae* (4,62%), *S. epidermidis* (4,62%) et les germes anaérobies (4,37%).
- une antibiothérapie probabiliste est instaurée dans 79,5% des cas, avec 52% d'adéquation aux recommandations de pratique clinique et 74% d'efficacité sur le germe.
- les molécules les plus prescrites sont : céphalosporines de 3ème génération (26 ,8%), aminosides (13,6%), quinolones (19,1%), glycopeptides (7,4%) et métronidazole (6,5%).

Conclusion : Cette étude nous a permis de mieux cerner le profil des patients présentant des bactériémies et de faire un état des lieux de nos pratiques cliniques. La prochaine étape sera d'établir des référentiels afin d'optimiser la prise en charge et l'antibiothérapie de ces malades, et d'améliorer le signalement des IAS.

471/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Bactériémies dans un CHG : de la qualité du diagnostic à la qualité du traitement

J. Marchandot[1], L. Giraudon[2], B. Lamy[1]
[1]Laboratoire [2]Pharmacie, CH du Bassin de Thau, Sète, France

Objectifs : Évaluer la qualité de la prise en charge des bactériémies de l'adulte en appréciant i) la qualité des échantillons devant permettre le diagnostic de bactériémie et ii) le management de l'antibiothérapie notamment d'après les données produites par le laboratoire.

Méthodes :

1) recueil du nombre de flacons et du volume total de sang cultivé par épisode pour 242 prescriptions (1400 flacons pesés)

2) recueil des données cliniques, bactériologiques et thérapeutiques de 59 bactériémies et évaluation des antibiothérapies en terme de: a) cohérence de la prescription d'après le contexte clinique & l'examen direct de l'hémoculture, b) conformité aux référentiels locaux, c) fréquence de réévaluation de la prescription, d) efficacité d'après les résultats de l'antibiogramme, e) fréquence de désescalade pour les blactamines et les glycopeptides (causes de non désescalade recherchées).

Résultats : 1) qualité du diagnostic: le nombre de flacons par épisode a été conforme aux recommandations dans 96% des cas (4-6 flacons), mais un nombre optimal de flacons (6 flacons) n'a pas garanti un volume de sang optimal (30-60 ml) : sur 200 patients ayant eu 6 flacons, 13,4%, 22,8% & 48% ont eu au total moins de 5, 10 et 20 ml de sang cultivé par mauvais remplissage des flacons. D'après la littérature et les volumes observés, le défaut de diagnostic estimé est de 5 à 30% de bactériémies 2) qualité du traitement: conformité des antibiothérapies aux référentiels: 36%, fréquence de réévaluation: 39%; de cohérence: 59%; de désescalade: 32%; d'efficacité 96%. De nombreuses bithérapies n'étaient pas justifiées dans le choix des molécules ou de la bithérapie au vu du contexte clinique et des référentiels

Conclusions : le défaut de volume de sang prélevé malgré le nombre optimal de flacons cultivés devrait conduire à la formation régulière des préleveurs, au suivi continu de la qualité des échantillons avec enregistrement du volume de sang prélevé. Les caractéristiques de l'antibiothérapie montrent la difficulté de diffusion et d'appropriation des référentiels, et, plus généralement, de la formation continue dans le management de l'antibiothérapie au sein de disciplines autres que l'infectiologie. Ces résultats permettent de fixer des objectifs d'amélioration du du diagnostic et du bon usage des antibiotiques

472/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Les endocardites infectieuses à staphylocoques : à propos de 34 cas

L. Ammari[2], H. Tiouiri Benaissa[2], I. Belaiba[2], A. Ghoubantini[2], B. Kilani[2], F. Kanoun[2], C. Fendri[1], T. Ben Chaabane[2]
[1]Laboratoire de microbiologie [2]Maladies infectieuses, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

Le profil épidémiologique de l'endocardite infectieuse (EI) s'est considérablement modifié, marqué par l'augmentation de la proportion des EI à staphylocoques. Ce groupe d'EI se caractérise par la fréquence des complications emboliques et sa gravité avec une mortalité globale variant de 25 à 47%. Le but de ce travail est de relever les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, thérapeutiques et évolutives des EI à staphylocoques prises en charge dans le service des maladies infectieuses de l'hôpital la Rabta à Tunis.

Patients et méthodes : nous avons mené une étude rétrospective d'EI à staphylocoques sur une période de 20 ans (1988-2007). L'EI certaine ou possible a été définie selon les critères de Duke. Le staphylocoque a été identifié au niveau des hémocultures et/ou la culture de la valve, de la prothèse et/ou dans l'embole septique.

Résultats : nous avons colligé 34 cas d'EI à staphylocoque. Il s'agit d'EI certaine dans 85% des cas et possible dans 15% des cas. L'age moyen est de 35,8 ans avec un sex ratio de 0,83. 13 patients ont une cardiopathie sous-jacente : prothèse cardiaque (8 cas), valvulopathie rhumatismale (5 cas). Une toxicomanie IV a été notée dans 5 cas. 29 cas (85,4%) d'EI du cœur gauche, 8 cas d'EI sur prothèse. La porte d'entrée cutanée est dominante, retrouvée dans 61,7% des cas. Les signes cliniques sont dominés par : la fièvre (100%), le souffle cardiaque (76,5%) et les signes cuanéo-muqueux (38,2%). Les complications des EI les plus fréquentes sont cardiaques (38,2%) et neurologiques (29,4%). Le staphylocoque a été identifié au niveau : des hémocultures (34 cas), du LCR (2 cas), de la valve cardiaque (4 cas), de l'embole septique (1 cas), du liquide articulaire (1 cas), d'un abcès cutané (1 cas). Il s'agit de *staphylococcus aureus* dans 67,7% des cas et de staphylocoque coagulase négative dans 32,4% des cas. Une méticillinorésistance des souches de staphylocoques a été notée dans 21,7% des cas. Tous nos patients ont reçu une bi-antibiothérapie associant oxacilline-aminoside dans 74% des cas. La durée moyenne de l'antibiothérapie est de 47,5 jours. Le taux de mortalité est de 26,5%. 19 patients ont subi une chirurgie cardiaque.

Conclusion : la fréquence et la gravité des EI à staphylocoques incitent à diagnostiquer et traiter précocement les bactériémies à staphylocoques, en particulier chez les sujets à risque d'EI. La prophylaxie reste le meilleur moyen pour prévenir la survenue de ces EI et leur issue fatale.

473/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Pneumonies nécrosantes à *S. aureus* producteurs de PVL : à propos de 3 cas et de l'intérêt d'une antibiothérapie anti-toxinique précoce

N. Rouzic[1], F. Janvier[3], N. Libert[4], E. Javouhey[2], G. Lina[1], J.Y. Nizou[3], D. Stamm[2], L. Brinquin[4], F. Vandenesch[1], D. Floret[2], J. Etienne[1], Y. Gillet[1-2]
[1]Centre National de Référence des staphylocoques [2]Service d'Urgences et de Réanimation Pédiatriques, Centre Hospitalier Universitaire, Lyon [3]Service de Biologie Médicale [4]Service de Réanimation, Hôpital d'Instruction des Armées du Val de Grâce, Paris, France

Staphylococcus aureus producteur de la leucocidine de Panton-Valentine (PVL+) est à l'origine de pneumonies nécrosantes touchant préférentiellement enfants et jeunes adultes avec une létalité élevée (50-75 %). Les pneumonies nécrosantes sont souvent précédées d'un syndrome grippal. Le contexte actuel de pandémie grippale pourrait accroître le risque de surinfections pulmonaires à *S. aureus* PVL+. L'instauration précoce d'une antibiothérapie bactéricide et anti-toxinique est donc primordiale devant toute suspicion de pneumonie nécrosante.

Nous rapportons 3 cas de pneumonies nécrosantes sévères et rapidement extensives dues à *S. aureus* PVL+ (une souche sensible et deux souches résistantes à la méticilline). Initialement, les patients présentaient des facteurs de risque de mortalité identifiés précédemment : taux de leucocytes inférieur à 3×10^9/L dans 3 cas et hémoptysie dans 2 cas. Des dosages itératifs de PVL dans les sécrétions bronchiques ont permis de mettre en évidence un pic de concentration initial suivi d'une décroissance extrêmement rapide secondaire à l'instauration de l'antibiothérapie anti-toxinique. Dans un cas, la clindamycine a été ajoutée au traitement initial 15 heures après l'admission. Les 2 autres patients ont reçu un traitement associant linézolide, clindamycine et IgIV dans les 24 heures suivant leur admission. Ces mesures ont permis une amélioration clinique rapide eu égard aux activités bactéricides et anti-toxiniques intrinsèques des molécules employées. Une guérison sans séquelle a été obtenue dans les 3 cas.

La PVL semble jouer un rôle important dans la pathogénie des pneumonies nécrosantes due à *S. aureus*. Bien que les streptocoques soient en cause dans la plupart des pneumonies bactériennes sévères, il faut toutefois évoquer l'hypothèse d'une infection à *S. aureus* PVL+ devant une chute brutale du taux de leucocytes et ainsi procéder à l'adjonction d'un traitement antibiotique bloquant l'expression de la PVL. La clindamycine est active sur la plupart des souches de SARM communautaires appartenant aux clones USA300 et ST80. Le choix de l'antibiothérapie bactéricide dépend quant à lui de la situation épidémiologique locale.

474/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

PVL-Positive *S. aureus* strongly associated with pyomyositis

T. Ahoyo[1], L. Baba-Moussa[2], W. Moussaoui[4], M. Atindehou[2], K. Dramane[3], A. Sanni[2], G. Prévost[4]
[1]EPAC-University of Abomey-Calavi [2]LBBM-FAST- University of Abomey-Calavi [3]LHP-FAST- University of Abomey-Calavi, Cotonou, Bénin [4]Bacteriology Institute- UdS-HUS Strasbourg, Strasbourg, France

Objectives: *Staphylococcus aureus* (*S.aureus*) is the most frequently isolated bacterium from community-acquired infections. In tropical areas, *S. aureus* can be associated with pyomyositis and osteomyelitis. Panton and Valentine Leucocidine (PVL)-positive *S. aureus* was shown to be associated with osteomyelitis, but there was no study describing its association with pyomyositis. The aim of this study was to investigate the potential link between PVL and pyomyositis.

Methods: During a prospective study made in a community (Ouassa) of 5346 habitants in Benin, *S. aureus* isolates were collected from patients suffering for pyomyositis. *S. aureus* toxins (PVL, LukE-LukD, Exfoliative toxins A and B) were checked by radial gel immunoprecipitation. Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE) and MALDI-TOF were performed to discriminate these strains and methicillin resistance was tested.

Results: 56 patients were included in this study and their mean age was 20 ± 18,5 y. *S. aureus* was isolated from 36 cases of pyomyositis in pure culture and PVL was associated with 31/35 (89%) of the cases of pyomyositis. All the patients had underlying diseases such as drepanocytosis, malaria and anaemia. The dendogram and the 2D scatter establishes from masses of abundant proteins showed a dispersion of the PVL-producing isolates. Mass spectra are not specific for any group of strains. PFGE showed that no major clonal link was observed for the PVL producing strains. There was no MRSA among these strains.

Conclusion: The mainly reason of *S. aureus*-PVL positive acquirement and development as pyomyositis was the presence of skin lesions such as furuncles and abscesses, the lack of hygiene due to poor access to potable water. PVL-positive *S. aureus* are associated with skin diseases, multiple abscesses and may often complicate by severe sepsis and necrotising pneumonia. Pyomyositis is an epidemic and endemic pathology in Benin and other sub-tropical countries, and could be an important reservoir of contamination for community-acquired *S. aureus*-PVL+ strains. The promotion of hygiene measures and the earlier diagnosis may reduce the incidence of this pathology.

475/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

The emerging threat of livestock-associated *Staphylococcus aureus* : First case report of lethal necrotizing pneumonia caused by a Panton-Valentine leukocidin-positive ST398 strain

J.P. Rasigade[4-1-3], M. Bes[4-1-2], Y. Gillet[1], P. Hubert[5], G. Lina[4-1-2], F. Vandenesch[4-1-2], J. Etienne[4-1-2], F. Laurent[4-1-3]
[1]Centre National de Référence des Staphylocoques [2]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Est [3]Laboratoire de Bactériologie, Groupement Hospitalier Nord, Hospices Civils de Lyon [4]INSERM U851, Université Lyon1, Lyon [5]Service de Réanimation Pédiatrique, Groupe Hospitalier Necker-Enfants Malades, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Paris, France

Recent studies have warned about the massive colonization of livestock animals (especially pigs) and cross-contamination of humans with ST398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). Reported human ST398 infections include bacteremia, endocarditis, ventilator-associated pneumonia and wound infections. Although the strains isolated from pigs are negative for all major virulence factors, some rare human ST398 isolates positive for Panton-Valentine leukocidin (PVL) have been described.

To our knowledge, we report here the first case of necrotizing pneumonia due to a PVL-positive ST398 methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) strain in a previously healthy 14-year-old girl. Clinical features were highly consistent with those of previously reported cases, including preceding influenza-like syndrome, rapid onset pneumonia with acute respiratory distress syndrome and pleural effusion. Factors predicting mortality were present, including leukopenia, airway bleeding, multi-organ failure, and the need for mechanical ventilation and inotrope support. Death occurred 6 days after the onset of symptoms, secondary to refractory shock and respiratory failure.

S. aureus was isolated from broncho-alveolar lavage fluid, protected specimen brush and blood. The strain was susceptible to all tested antibiotics except macrolides. It was *agr*1/ST398, *spa*-type 571 and non typeable with pulsed-field gel electrophoresis, confirming its relatedness with livestock-associated ST398 MRSA. The presence of the genes encoding PVL was confirmed by PCR. Virulence genes profile of this strain was determined through DNA microarray and compared with those of 8 ST398 MSSA from endocarditis patients and 51 ST398 MRSA from slaughterhouse pigs. All comparator strains were PVL-negative. Notably, *chp* and *scn* genes, implicated in human host immune evasion, were present in the pneumonia strain and all endocarditis strains, but in less than 10% of animal strains.

Our observations indicate that PVL-positive ST398 *S. aureus* can cause lethal necrotizing pneumonia. Because this genetic background is able to steadily integrate both PVL genes and methicillin resistance determinants, transmission control and surveillance efforts are sorely needed to prevent its further spread.

476/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Variabilité des souches de *Staphylococcus epidermidis* (SE) isolées d'infections ostéo-articulaires (IOA) chroniques

B. Henry[1], C. Corvec[1], S. Touchais[3], D. Boutoille[2], M.E. Juvin[1], L. Crémet[1], C. Bourigault[1], A. Reynaud[1], P. Bemer[1]
[1]Bactériologie-Hygiène [2]Maladies infectieuses [3]Orthopédie-Traumatologie, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France

Objectif : Analyser les variations phénotypiques et génotypiques des souches de SE isolées d'IOA chroniques sur prothèse articulaire. Déterminer s'il s'agit de ré-infections ou de la persistance du sepsis initial.

Méthodes : 61 souches de SE, isolées de prélèvements per-opératoires lors d'1, 2 voire 3 reprises chirurgicales (rep chir) entre 2006 et 2009, chez 10 patients porteurs de prothèse articulaire, ont été sélectionnées. Les souches étaient réisolées sur gélose au sang et leurs variants morphologiques sélectionnés. La détermination de la sensibilité aux antibiotiques (ABT) et l'analyse génotypique des profils obtenus par électrophorèse en champ pulsé étaient réalisées.

Les caractéristiques cliniques de ces infections étaient également recueillies, la prise en charge de ces patients étant assurée par une équipe pluridisciplinaire.

Résultats : Chez 7 patients, les souches isolées au cours des 1ère et 2ème rep chir présentaient des génotypes différents, chacun correspondant à 1 antibiogramme (ABG) particulier, en faveur d'une ré-infection par une nouvelle souche.

Pour 2 patients, les souches isolées lors de 2 rep chir présentaient des génotypes identiques ou fortement liés et des ABG similaires, en faveur de la persistance de la souche infectante initiale.

Chez 1 patient, plusieurs souches avec des génotypes et des ABG différents étaient isolées lors de la même rep chir, témoin d'une infection polyclonale.

Chez les patients, la résistance (R) s'observait vis-à-vis des fluoroquinolones (FQ, n=8), de la clindamycine (CL) et de l'acide fusidique (n=7), de la fosfomycine (n=6), de la rifampicine (RA) et du cotrimoxazole (n=5). Si la R aux FQ et à la CL apparaissait souvent d'emblée, la R à la RA s'observait le plus souvent lors de la 2ème rep chir, faisant craindre la sélection de mutants R *in vivo*.

Il n'a pas été mis en évidence de différences cliniques majeures entre les patients. L'évolution était jugée favorable dans 6 cas sur 10, défavorable dans 4 cas. Tous les patients présentaient des facteurs de risques établis d'infection sur prothèse articulaire.

Conclusion : Les IOA chroniques à SE sont le plus souvent des ré-infections. L'ABG doit être réalisé sur plusieurs aspects phénotypiques. La R des souches à de nombreux ABT rend difficile l'adaptation du traitement.

477/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Diffusion communautaire des *Escherichia coli* uropathogènes productrices de bêta-lactamases à spectre élargi

A. Ferjani, M. Marzouk, N. Hannachi, J. Boukadida
Laboratoire de microbiologie, UR02SP13, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Introduction : La diffusion communautaire des souches d'*Escherichia coli* productrices de β-lactamases à spectre élargie (BLSE) a représenté au cours des dernières années un des phénomènes les plus inquiétants de l'épidémiologie de l'antibiorésistance. Nous présentons les principaux aspects de ce phénomène dans notre région.

Matériel et méthodes : Collecte sur une année (07/ 2008-07/2009) de la totalité des souches non redondantes d'*E. coli* productrices de BLSE isolées à partir des urines. L'identification bactérienne a été faite selon les méthodes conventionnelles et la sensibilité aux antibiotiques selon les recommandations de la société Française de microbiologie (CA- SFM). Le génotypage de l'ensemble des souches a été fait par électrophorèse en champs pulsés (ECP) dans sa variété CHEF avec une macro restriction par Xba I. L'interprétation des profils s'est basée sur les critères de Tenover.

Résultats : Un total de 66 souches (3% de l'ensemble des *E. coli* isolé dans les urines) a été collecté. Les souches *E. coli* BLSE (+) d'origine communautaire représentaient 41% de la totalité des souches. La co-résistance a concerné essentiellement certains aminosides, la kanamycine (88,7%), la gentamicine (84,5%) et l'amikacine (11,3%). La résistance aux fluoroquinolones était de 25%, au cotrimoxazole de 33,8% et à la nitrofurantoine de 2,8%. Aucune résistance n'a été notée pour la fosfomycine, l'imipénème et la colistine.

L'étude génomique des souches communautaires a montré l'existence d'un clone A dominant composé de 13 souches qui est également le clone dominant parmi les souches hospitalières (18 souches) et d'un clone B composé de 3 souches.

Conclusion : Les *E. coli* BLSE (+) communautaires correspondent à la diffusion extra-hospitalière des souches d'*E. coli* BLSE (+) nosocomiales. Les aminosides essentiellement, le cotrimoxazole et les fluoroquinolones dans une moindre proportion sont touchés par le phénomène de co-résistance.

478/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Dermohypodermite nécrosante à *Staphylococcus sciuri*

N. Rouzic[3], G. Héry-Arnaud[1-4], M. Bes[5], G. Le Lay[1], R. Gérard[2], M. Garré[3]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service d'Orthopédie-Traumatologie [3]Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Universitaire [4]Université de Bretagne Occidentale, Brest [5]Centre National de Référence des Staphylocoques, Centre Hospitalier Universitaire, Lyon, France

Observation : Une femme, âgée de 52 ans et sans antécédent, était hospitalisée pour dermohypodermite nécrosante bilatérale des orteils et suspicion d'ostéite. L'histoire récente retrouvait l'apparition d'oedèmes inflammatoires des membres inférieurs secondaire à une station debout prolongée dans l'eau de mer. La patiente était fébrile à 38,5°C. Les hémocultures étaient stériles. L'antibiothérapie initiale par amoxicilline-clavulanate était relayée par pipéracilline-tazobactam. Devant l'absence d'amélioration clinique, un parage chirurgical était réalisé à J4 avec réalisation de prélèvements profonds mettant en évidence un staphylocoque à coagulase négative sensible à la méticilline isolé en culture pure. L'identification présomptive de l'espèce *Staphylococcus sciuri*, sur la base des caractères biochimiques et culturaux avec la présence d'une oxydase et d'un pigment jaune, était confirmée par amplification-séquençage du gène *sodA*. Le profil toxinique étudié par PCR multiplex ne révélait pas la présence de gènes codant des exfoliatines. Le scanner osseux permettait d'éliminer une ostéite sous-jacente. L'apyrexie était obtenue à J6. L'antibiothérapie poursuivie pendant 15 jours permettait une évolution favorable sans séquelle.

Discussion : Connu chez l'animal comme commensal de la peau et des muqueuses, le pouvoir pathogène de *S. sciuri* est peu documenté. Chez l'Homme, seuls quelques cas d'infections à *S. sciuri* ont été rapportés. Cette bactérie a été également isolée à partir du milieu extérieur : sol, sable ou eau, sources potentielles de contamination dans le cas présent. *S. sciuri* est l'une des rares espèces de staphylocoques à posséder une oxydase. L'identification doit être confirmée par biologie moléculaire. Une grande variété de facteurs de virulence a été mise en évidence chez ce staphylocoque. La présence d'un gène codant l'exfoliatine C a été rapportée chez une souche responsable d'épidermite exsudative fatale chez le porc. La recherche des exfoliatines, qui pouvaient expliquer le tableau clinique de nécrose extensive non résolue par l'antibiothérapie, était négative dans notre cas.

479/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Caractéristiques épidémiologiques des souches de streptocoque du groupe A responsables d'angines aiguës chez l'enfant dans la région de Sfax (Tunisie)

S. Mezghani Maalej[1], N. Boujelbène[1], M. Rekik[1], M. Boudaouara[2], F. Mahjoubi[1], A. Hammami[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie, CHU Habib Bourguiba [2]Policlinique CNSS, Sfax, Tunisie

Objectif : Etudier les caractéristiques épidémiologiques des souches de Streptocoque du Groupe A (SGA) responsables d'angines aigues chez l'enfant dans la région de Sfax (Tunisie).

Matériel et méthodes : Etude prospective s'étalant sur une période de 1 an (01 Juin 2007- 31 Mai 2008), portant sur toutes les souches de SGA isolées a partir de prélèvements de gorge chez les enfants âgés de 2 à 10 ans consultant pour une angine aigue.

L'identification du SGA a été basée sur les caractères bactériologiques conventionnels. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été faite par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les normes du CA-SFM. Le typage de la protéine M a été réalisé par séquençage de la région 5' N-terminale hypervariable du gène *emm* après amplification par PCR.

Résultats : Durant la période d'étude, 504 cas d'angines aigues ont été diagnostiqués. La culture du prélèvement de gorge a été positive à SGA dans 166 cas (32,6%), parmi lesquels, le test de diagnostic rapide a été positif dans 93,2% des cas. L'âge moyen des enfants présentant une angine streptococcique a été de 5 ans 8 mois.

Toutes les souches de SGA isolées étaient sensibles aux β lactamines, pristinamycine, rifampicine et glycopeptides. Pour les autres antibiotiques, les pourcentages de résistance étaient de 58,3% pour la tétracycline, 2,4% pour l'érythromycine et le chloramphénicol. Parmi les 87 souches de SGA typées, 18 types *emm* différents ont été identifiés. Le type *emm* 22 était le plus fréquent (44,8%) suivi par le type *emm* 4 (20,7%). Pour le reste, il s'agissait des types *emm* 1, 6, 11, 12, 18, 41, 58, 74, 77, 78, 87, 89, 104, 106, 110 et st 5345.

Conclusion : Dans notre étude, le SGA est le premier agent bactérien en cause dans l'angine aigue de l'enfant (32,6%). Partout dans le monde, le SGA garde une bonne sensibilité vis-à-vis des β lactamines. La résistance aux macrolides est rare dans notre pays contrairement à plusieurs pays de l'Europe. La distribution des types *emm* est variable. Dans notre étude, le type *emm* 22 était le plus fréquemment responsable d'angine aigue chez l'enfant ce qui est différent des autres pays ou d'autres types sont retrouvés dans les angines/ emm 4 en Espagne, *emm* 1 et 12 en Amérique du nord.

480/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Serological follow-up of pertussis cases in Belgium in the period 1990-2008

R. Vanhoof, R. Eylenbosch, Y. Mans, C. Rodeghiero, J. Swalus-Steenhouwer
Bacterial Serology, Institute Public Health, Bruxelles, Belgique

Pertussis is a highly infectious and vaccine preventable disease. Despite vaccination campaigns, the disease is still present and probably underestimated. Here we present data from the serological follow-up from 1990 to 2008. For diagnosis, we used agglutination, complement fixation, immunofluorescence (IgG, IgM, IgA) and ELISA (PT & FHA).

In total we received sera from 13.163 patients. The number of patients increased steadily throughout the years from 338 in 1995 to 1584 in 2008. The most important increase was seen between 2003 (572) and 2004 (1201). The number of positive cases increased from 89 in 1995 to 156 in 2004 and decrease afterwards to 86 (2007). However, due the growing demand over the years the percentage of cases decreased from 26.3% (1995) and 28% (1995) to 6.8% (2008). With the exception of 1993 and 2003, there were more positive case in females (range: 68% – 51.6%) than in males (range: 56.3% - 32%). Positive cases were more present in the North (range: 68.8% to 46.9%) than in the South (range: 47.5% - 22.1%) and Brussels (range: 20% - 4.6%). This regional evolution seems to be a reflection of the regional trend in demands. Importantly, in the period 1990-1999, 35% tot 45% of the positive patients reported to have received a complete vaccination. The complete vaccination status decreased to a level of 10% tot 15% in the period 2002-2008. Patients reporting no vaccination varied from 4.6% to 41.1%. The mean age of the positive cases increased significantly from 9.8 years in 1990 tot 36.7 years in 2008. This tendency was accompanied by a shift in the age distribution of the positive cases. From 1990 to 2001 we had a one modal distribution peaking between 5 and 10y. From 2003, the distribution was clearly bimodal with a first peak at the age of 1-10 years and a second one at the age of 45-60y. Interestingly, the increase in mean age was accompanied with a significant decrease of the number of cases with a complete vaccination status. Indeed, the number of positive cases with a complete vaccination decreased from 30% to 40% in the period 1990-1999 to approximately 15% in 2008.

Pertussis remains an underestimated problem of public health. Population shift necessitates booster vaccinations to be implemented.

481/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Écologie bactérienne des gastroentérites communautaires : étude rétrospective sur 1 an à Strasbourg (1 854 coprocultures)

T. Gueudet, C. Rieder-Monch, J.M. Rousée
Laboratoire Schuh Bio67, Strasbourg, France

Objectifs de l'étude : Notre but est d'avoir une estimation actualisée des étiologies des diarrhées bactériennes dans une large population communautaire.

Méthode : Toutes les coprocultures analysées au sein de notre laboratoire bénéficient du même protocole, à savoir l'ensemencement systématique de cinq géloses (Hektoen, Yersinia, Campylobacter, gélose au sang, gélose au sang ANC) et d'un bouillon spécifique (Sélénite). La recherche de *C. difficile* et sa toxine est effectuée sur demande spécifique. Une gélose chromogène est rajoutée pour recherche d'*E. coli* entéropathogène chez les enfants de moins de 2 ans et d'*E. coli* O157 en cas de selles hémorragiques.

Une étude rétrospective du 1er juillet 2008 au 30 juin 2009, incluant uniquement des patients communautaires, a été réalisée pour évaluer le rendement de chaque recherche spécifique.

Résultats : 1854 coprocultures ont été réalisées. Dans prés de 10% des cas, une bactérie entéropathogène a été isolée. Sans surprise, *Campylobacter* était la bactérie la plus fréquemment retrouvée (89 cas), devant *Shigella* (30), *Salmonella* (22), *Yersinia* (16), *Aeromonas* (12) et *E coli* entéropathogène (12). Une souche de *Vibrio cholerae* non entéropathogène et une souche de *E. coli* O157 ont également été isolées.

La répartition saisonnière était habituelle pour *Campylobacter* avec une forte prédominance de *C jejuni* (73). Une épidémie de *S. sonnei* a regroupé 8 cas, le reste des isolats concernaient *S. flexneri* (8) et *S.sonnei* (13). Les *Yersinia* ont été isolées principalement en hiver ; 2/3 étaient non pathogènes et de biotypes 1A, 2 et 4. Les *Salmonella* étaient de sérotypes très variés. 126 souches de *Staphylococcus aureus* (portage uniquement) ont été isolées avec un taux de méticillino-résistance de 2,5%.

Conclusions : *Campylobacter* était majoritairement retrouvé. La répartition des autres entéropathogènes était proche. La recherche combinée et systématique de *Salmonella, Shigella, Campylobacter* et *Yersinia* a permis d'obtenir un bon rendement. Elle est utile à la prise en charge des gastroentérites et à leur suivi épidémiologique. La recherche systématique de l'ensemble des entéropathogènes doit être maintenue.

482/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Place des bactéries anaérobies dans les infections ostéo-articulaires (IOA) : étude rétrospective 2007-2008

M. Illiaquer[1], C. Corvec[1], S. Touchais[3], N. Asseray[2], M.E. Juvin[1], L. Crémet[1], C. Bourigault[1], A. Reynaud[1], P. Bemer[1]
[1]Bactériologie-Hygiène [2]Maladies infectieuses [3]Orthopédie-Traumatologie, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France

Objet de l'étude : Reconnaître un rôle pathogène aux anaérobies (ANA) isolés de prélèvements (prlvts) d'IOA sur des critères bactériologiques, cliniques et thérapeutiques discutés en réunion pluridisciplinaire.

Méthodes : Les résultats des cultures ANA, ainsi que les dossiers médicaux des patients opérés d'IOA en 2007 et 2008 sont rétrospectivement analysés : le motif de la reprise chirurgicale, le nombre de prlvts positifs, le caractère mono- ou multi-microbien de l'infection, la bactérie anaérobie isolée, la chirurgie réalisée et l'antibiothérapie (ABT) prescrite.

Résultats : Des ANA sont identifiés chez 71 patients pris en charge pour: infection post-traumatique (n=12), infection sur matériel (n=50), ostéo-arthrite (diabétique, n=3, autre origine, n=5), tumeur osseuse (n=1). Des 318 prlvts réalisés (moyenne par patient 5), 273 (86%) sont positifs en culture (moyenne par patient 4). Des 264 ANA isolés, 210 sont des *P. acnes* (PA, 80%), 28 (11%) des *Clostridium* spp, 15 (5%) des cocci à Gram positif et 11 (4%) des bacilles à Gram négatif.

Les 12 patients suivis pour un traumatisme sont repris pour sepsis ou pseudarthrose. Trois font 1 récidive septique. Les infections ANA sont monomicrobiennes dans 7 (47%) cas sur 15 (5 à PA, 2 à *Clostridium* spp), et aéro-anaérobies dans 8 cas.

Des 50 patients avec matériel, 10 sont porteurs d'une prothèse articulaire, 36 d'une ostéosynthèse rachidienne, et 4 d'une ostéotomie de valgisation. Les patients sont repris pour 1 problème septique (n=36), ou mécanique (n=15). Un patient fait 1 récidive. Les infections ANA sont monomicrobiennes dans 80% des infections rachidiennes (PA), et 37% des infections sur prothèse (3 à PA, 1 à *Clostridium* spp, 1 à *Bacteroïdes*).

Trois ostéo-arthrites et l'infection sur tumeur sont monomicrobiennes à PA.

La chirurgie consiste selon les cas en : 1 nettoyage, 1 ablation partielle ou totale de matériel suivie ou non de repose, ou 1 amputation. Les patients reçoivent 1 ABT (n=66) associant le plus souvent la clindamycine à la lévofloxacine.

Conclusion : La place des anaérobies, bien connue dans la chirurgie post-traumatique, est également importante dans les infections sur matériel, y compris sur prothèse articulaire. L'ABT doit être adaptée aux résultats souvent différés des cultures positives à ANA.

483/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Infection ostéo-articulaire à *Pasteurella bettyae*

C. Le Brun[2], A. Rameh[1], P. Antoun[1], P. Riegel[4], O. Gaillot[3]
[1]Chirurgie orthopédique [2]Microbiologie, CH de Cholet, Cholet [3]Bactériologie, CNR Haemophilus, Lille [4]Bactériologie, HUS, Strasbourg, France

Nous rapportons un cas d'infection ostéo-articulaire chez un homme de 71 ans, faisant suite à une ostéotomie tibiale de valgisation. Suite à l'apparition d'un écoulement sur une ouverture punctiforme en regard de sa cicatrice un mois après ainsi que d'une hyperthermie, l'indication d'une mise à plat au bloc est posée. Le chirurgien effectuera plusieurs prélèvements de tissus qui seront mis en culture. La plaque d'ostéotomie et les vis sont enlevées, une cal de ciment à la gentamicine est posée. La culture isole dans tous les prélèvements un *Staphylococcus aureus* méticillino-sensible et un bacille à Gram négatif poussant uniquement sur milieux enrichis. Les caractères biochimiques (oxydase positive lente, catalase négative, O129 sensible, microaérophile) nous orientent vers la famille des Pasteurellaceae. La spectrométrie de masse le rapproche d'un *H. influenzae*. Il sera identifié par séquençage des gènes codant l'ADN ribosomique 16S et la superoxyde dismutase (*sodA*): *Pasteurella bettyae*. Jusqu'à maintenant, *P. bettyae* a été exclusivement isolée chez les hommes contrairement aux autres espèces du genre Pasteurella. Elle représente 1% des infections à Pasteurella. Son habitat est le tractus génito-urinaire. Elle pourrait être un agent sexuellement transmissible avec une prédilection pour les ulcères génitaux. Ce germe n'est que rarement responsable d'infections graves et à notre connaissance c'est la première fois qu'il est retrouvé dans une infection ostéo-articulaire. L'identification biochimique de ce germe étant difficile, il se peut aussi que sa fréquence soit sous-estimée.

484/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

La vaginose bactérienne chez la femme enceinte au CHRU de Tours en 2006 et 2007

V. Morange[1], A. Jouanneau[2], G. Baty[1], A. Holstein[1], P. Lanotte[1], L. Mereghetti[1], A. Goudeau[1]
[1]Service de Bactériologie-Virologie, CHRU Bretonneau [2]Ecole de sage-femme, Tours, France

Objectifs : La vaginose bactérienne (VB) se définit par le remplacement de la flore vaginale par des bactéries principalement anaérobies. Souvent asymptomatique, elle pose un problème majeur chez la femme enceinte du fait des risques démontrés de rupture prématurée des membranes, chorioamniotite et prématurité (1) Nos objectifs étaient d'établir sa fréquence au CHRU de Tours et des facteurs prédictifs afin d'orienter le clinicien dans son travail de prévention de la prématurité.

Méthodes : La fréquence de la VB a été calculée rétrospectivement à partir des résultats bactériologiques de 2006 et 2007. Le diagnostic microbiologique était basé sur l'examen direct des prélèvements vaginaux (PV) après coloration de Gram interprété selon la classification de Spiegel (2)

L'étude cas-témoin, avec apparemment de type 1:2 sur la base de l'âge et de la parité, a porté sur 11 facteurs prédictifs sélectionnés à partir de la littérature (3) L'analyse statistique multivariée a été réalisée avec le logiciel SPSS.

Résultats : Sur les deux ans étudiés, 20 VB ont été diagnostiqué à partir des 684 PV réalisés chez les femmes enceintes suivies en consultation d'obstétrique. La fréquence s'élève à 2.8%.

Au total, 291 VB ont été diagnostiqué au laboratoire sur la même période soit 5.5% de l'ensemble des 5260 PV analysés.

Les résultats de notre étude cas-témoin montrent que les femmes enceintes célibataires (au sens commun, c'est-à-dire vivant seules) et les fumeuses ont un risque accru de VB (2,8[1.04 – 7.54] et 2,7[1.2 – 5.92])

Par ailleurs, 29.5% des patientes atteintes de VB ont accouché prématurément contre 6.8% des patientes témoins ($p<0.01$)

Conclusion : Notre étude montre une fréquence de VB chez les femmes enceintes suivies au CHRU de Tours inférieure aux 7% Français (4), 4-14% Européens et 14-34% Nord Américains.

Particularité locale ou sous-estimation de la vaginose par manque de prélèvements systématiques ?

Les facteurs prédictifs que nous avons mis en évidence restent peu spécifiques mais pourraient être un argument supplémentaire pour inciter les cliniciens à dépister la VB. Rappelons que l'ANAES recommande depuis 2001 dans la prévention de l'accouchement prématuré, le dépistage de la VB et son traitement en début de grossesse, en cas d'antécédent d'accouchement prématuré (5)

1- Hillier SL, Nugent RP, Eschenbach DA, et al. Association between bacterial vaginosis and preterm delivery of a low-birth-weight infant. The vaginal Infection and Prematurity Study Group. N Engl J Med 1995; 333(26):1737-42

2- Spiegel CA, Amsel R, Holmes KK Diagnosis of bacterial vaginoses by direct Gram stain of vaginal fluid J Clin Microbiol 1983 (18):170-77

3- Thorsen P, Vogel I, Molsted K *et al.* Risk factors for bacterial vaginosis in pregnancy: a population-based study on Danish women. Acta Obstet Gynecol Scand 2006; 85(8):906-11

4- Etude PREMEVA (prévenir la prématurité en dépistant la vaginose bactérienne) CHRU de Lille 2006-2010

5- Agence Nationale d'Accréditation et d'Evaluation en Santé « *Prévention anténatale du risque infectieux bactérien néonatal précoce, recommandations pour la pratique clinique* » Paris, 2001

485/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Gonococcie disséminée chez un patient porteur d'un déficit en complément : de la suspicion clinique à la détection génomique

R. Le Berre[4], N. Rouzic[4], B. Sassolas[2], G. Héry-Arnaud[1], D. Ponard[5], S. Ansart[4], S. Jousse-Joulin[3], B. Garo[4], M. Garré[4]
[1]Laboratoire de Bactériologie [2]Service de Dermatologie [3]Service de Rhumatologie [4]Service des Maladies Infectieuses, Brest [5]Laboratoire d'Immunologie, Centre Hospitalier Universitaire, Grenoble, France

Un homme de 36 ans était hospitalisé pour polyarthralgies, fièvre et lésions cutanées évoluant depuis 5 jours. Dans ses antécédents : méningite à méningocoque à l'âge de 3 ans, phtiriase un mois plus tôt, frère décédé d'un purpura fulminans. Les lésions cutanées étaient maculeuses, érythémato-violacées, non infiltrées, prédominant aux extrémités. Il ne rapportait pas d'écoulement urétral. L'évolution était marquée par la survenue d'une polyarthrite (chevilles, articulations métacarpo-phalangiennes et chondro-sternale) avec une impotence fonctionnelle. Les cultures bactériologiques usuelles étaient négatives (sang, liquide articulaire de cheville, biopsie cutanée). Les PCR spécifiques (méningocoque, gonocoque) identifiaient *Neisseria gonorrhoeae* dans la biopsie cutanée. On ne trouvait pas d'autre infection sexuellement transmissible associée. La guérison était obtenue après dix jours de ceftriaxone (2 g/jour). L'étude du complément objectivait un déficit complet en C7 et partiel en C5. Le patient était de ce fait vacciné contre le pneumocoque et le méningocoque.

Les gonococcies disséminées sont caractérisées par des oligoarthrites et des éruptions maculopapuleuses. La fragilité de la bactérie rend sa culture difficile. Le recours à la PCR sur un prélèvement cutané facilite sa détection. Les déficits en complément sont plus fréquents chez les patients ayant des infections disséminées à *Neisseria sp :* 150 à 300 fois plus que dans la population générale. Ils concernent principalement le complexe d'attaque membranaire (C6, C7 et C8). Outre l'antibiothérapie curative, la prise en charge comprend les vaccinations *ad hoc.* L'étude du complément dans la fratrie peut être proposée.

486/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Échec de la doxycycline lors du traitement d'une lymphogranulomatose vénérienne

F. Méchaï[3], M. Billhot[3], B. de Barbeyrac[1], A. Mérens[2], P. Imbert[3], C. Rapp[3]
[1]Laboratoire de bactériologie, Centre National de Référence des Chlamydiae, Université Victor Ségalen, Bordeaux [2]Fédération de biologie clinique [3]Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital d'instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France

Introduction : La lymphogranulomatose vénérienne (LGV) est une infection sexuellement transmissible (IST) dûe à *Chlamydia trachomatis* sérotypes L1, L2 ou L3, répondant le plus souvent à une cure de cycline. Nous rapportons un cas original d'échec clinique à la doxycycline traité avec succès par une quinolone de 3ème génération.

Cas clinique : Un jeune homme de 27 ans a consulté pour de volumineuses adénopathies inguinales, inflammatoires etdouloureuses survenues deux semaines après des rapports homosexuels non protégés. L'examen proctologique montrait une ulcération de la marge anale. Le sérotypage réalisé au CNR des Chlamydiae (prélèvement anal et pus ganglionnaire) confirmait une LGV de sérotype L2. La culture sur cellules Mc-Coy était stérile. Le bilan d'IST ne retrouvait pas de co-infection (VIH en particulier). Malgré une cure de doxycycline (200 mg par jour pendant 3 semaines), l'évolution était marquée par une fistulisation des adénopathies nécessitant des ponctions itératives et une persistance de la lésion anale témoignant d'un échec clinique. La substitution de la doxycycline par de la moxifloxacine (400 mg par jour) permettait une régression spectaculaire des symptômes en dix jours avec un recul de deux mois sans rechute.

Discussion : La doxycycline reste le traitement de première ligne de la lymphogranulomatose vénérienne, les macrolides constituent une alternative (1, 2). Les échecs cliniques sont exceptionnels sous doxycycline, habituellement attribués à une réinfection (3). Notre patient ne révélait ni défaut d'observance, ni nouvelle exposition sexuelle. Les échecs sont rarement confirmés *in vitro* du fait des difficultés de culture sur milieu spécifique et de l'absence de standardisation des antibiogrammes (4).

L'épidémiologie des résistances de *Chlamydia trachomatis* reste ainsi mal connue. Il n'y a pas d'étude publiée sur l'intérêt des fluoroquinolones pour cette infection mais la moxifloxacine est la molécule la plus active contre *Chlamydia trachomatis* avec une CMI90 supérieure à celle de la doxycycline, des macrolides et des autres fluoroquinolones (2, 5).

Conclusion : Les échecs cliniques des cyclines sont exceptionnellement rapportés dans la LGV. Dans ces situations, les nouvelles fluoroquinolones pourraient représenter une alternative intéressante.

(1) Centers for Disease Control and Prevention. Sexually transmitted diseases. treatment guidelines. MMWR Recomm Rep 2006;55:1-94.

(2) C.A Mc Lean et al. Treatment of lymphogranuloma venereum. CID 2007 ;44 :S147-2.

(3) J Somani et al. Multiple drug-resistant Chlamydia trachomatis associated with clinical treatment failure. J Infect Dis 2000;181:1421-7.

(4) J.C Lefèvre et al. Comparative *in vitro* susceptibility of a tetracycline-resistant Chlamydia trachomatis strain isolated in Toulouse. Sex Transm Dis1998;25:350-2.

(5) C.M Bébéar et al. Activity of moxifloxacin against the urogenital mycoplasmas *Ureaplasma spp*., *Mycoplasma hominis* and *Mycoplasma genitalium* and *Chlamydia trachomatis*. Clin Microbiol Infect 2008 ;14:801-805.

487/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Abcès hépatiques à *Klebsiella pneumoniae* compliqués de métastase septique oculaire : une maladie émergente en France ?

C. Ficko[3], P. Imbert[3], A. Mérens[2], P. Bossi[1], M. Billhot[3], C. De Moreuil[3], F. Méchaï[3], C. Rapp[3]
[1]Maladies infectieuses, Hôpital de La Pitié-Salpêtrière, Paris [2]Biologie [3]Maladies infectieuses, HIA Bégin, Saint Mandé, France

Introduction : L'abcès hépatique primitif à *Klebsiella pneumoniae* (AHPKP) est une infection grave, décrite initialement à Taïwan en 1986 et s'étendant à différentes régions du monde (1,2). Le 1er cas européen a été publié en 2007 (3). Nous en rapportons la première observation française.

Cas clinique : Un homme de 37 ans sans antécédent médical était admis pour une fièvre et des douleurs de l'hypochondre droit évoluant depuis 4 jours, et des douleurs thoraciques apparues la veille de l'admission. A l'examen clinique : fièvre à 39°C, hépatalgie et hémodynamique normale. A la biologie : GB : 6700/mm^3, plaquettes : 106 000/mm^3, CRP : 285 mg/L, ASAT et ALAT : 3N, bilirubine totale : 67 mol/L (C : 38), PaO2 : 52 mmHg, glycémie normale. Les hémocultures isolaient *K. pneumoniae* de phénotype sauvage. Le scanner révélait la présence d'abcès hépatiques et pulmonaires. Une antibiothérapie IV par ceftriaxone 4 g/j et gentamicine 200 mg/j était débutée d'emblée. A J4, malgré l'apyrexie, survenait une panuvéite droite, avec pus stérile à la ponction, faisant modifier l'antibiothérapie IV pour l'association imipénème-ofloxacine et réaliser des injections intravitréennes de ceftazidime-amikacine. L'évolution était favorable sur le plan général, mais une hypertension intra oculaire rebelle au traitement spécifique entraînait la perte de l'oeil droit.

Discussion : L'AHPKP est souvent compliqué d'une bactériémie et de métastases septiques dans différents sites, système nerveux central et yeux notamment (1-3). La létalité est élevée (2,8 à 10,8 %). Le diabète expose à sa survenue et aux complications. Des facteurs de virulence de *K. pneumoniae*, notamment sérotypes K1 et K2, ou expression des gènes *magA* ou *rmpA*, ont été rapportés dans la littérature et sont en cours d'investigation dans le cas rapporté. L'antibiothérapie associe une céphalosporine (1ère ou 3ème génération, surtout en cas de complication oculaire) et un aminoside. Pour certains, le drainage systématique des abcès hépatiques améliore le pronostic. Notre observation souligne l'intérêt d'identifier précocement cette infection grave, émergente en Europe, pour optimiser la prise en charge des patients.

1. Fang CT et al. CID 2007;45:284-93.

2. Lee SS et al. CID 2008;47:642-50.

3. Karama EM et al. Int ophtalmol 2008;28:111-113.

488/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Œdème périorbitaire révélateur d'une mononucléose infectieuse de l'adulte

N. Rouzic, S. Ansart, R. Le Berre, B. Garo, M. Garré
Service des Maladies Infectieuses, Centre Hospitalier Universitaire, Brest, France

Une jeune femme âgée de 22 ans était hospitalisée pour œdème de la face évoluant depuis 3 jours. Il n'existait pas de notion d'allergie, de contage ou de voyage récent. Le tableau clinique associait une fièvre à 38.7°C, un œdème de la face à prédominance périorbitaire, des adénopathies cervicales douloureuses, une asthénie modérée, des nausées et vomissements. Les anomalies biologiques étaient les suivantes : thrombopénie à 113 giga/L, LDH à 691 UI/L, CRP à 89,7 mg/L. Le bilan hépatique était normal de même que le cliché thoracique. Les hémocultures demeuraient stériles. L'échographie abdominale objectivait une hépatosplénomégalie. A J3, la patiente se plaignait d'une dysphagie due à une angine pseudo-membraneuse. A J4 était documentée une hyperleucocytose à 13,100 giga/L dont 49% de lymphocytes et de nombreux lymphocytes activés. La sérologie EBV mettait en évidence des IgM anti-VCA et la charge virale s'élevait à 2.760.000 copies/mL soit 6,4 log. Devant ce tableau clinique de mononucléose infectieuse (MNI), un traitement symptomatique permettait une évolution favorable et le retour à domicile à J5.

La primo-infection à EBV est souvent asymptomatique, survenant dans l'enfance ou l'adolescence et conférant une immunité pérenne. Le diagnostic repose sur l'anamnèse clinique. Chez l'adulte, l'angine et/ou les adénopathies peuvent être absentes, la fièvre prolongée et les anomalies de la fonction hépatique sont fréquentes. Des manifestations inaugurales à type d'œdème périorbitaire ou de la face, précédant de plusieurs jours les signes typiques, ont été décrits et doivent faire évoquer le diagnostic de MNI. Lorsque la présentation est atypique, le profil sérologique permet de confirmer le diagnostic.

489/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Analyse du liquide céphalo-rachidien (LCR) en cas de méningite tuberculeuse : données collectées par le réseau AZAY-Mycobactéries

P. Bemer, Groupe Azay-Mycobacteries, M.J. Gouzerh, C. Besson, A. Reynaud
Bactériologie-Hygiène, CHU Hôtel-Dieu, Nantes, France

Objectifs : Cette étude rétrospective des méningites tuberculeuses diagnostiquées entre 2005 et 2009, se propose de préciser les caractéristiques cytologiques et bactériologiques du LCR, et d'évaluer l'intérêt du diagnostic moléculaire par amplification directe à partir du prélèvement.

Méthodes : Un questionnaire est envoyé à l'ensemble des CHU du groupe AZAY-Mycobactéries, concernant le nombre d'éléments avec le pourcentage de lymphocytes (L) et de polynucléaires (PN), la méthode utilisée pour réaliser l'examen direct (ED) et le résultat de celui-ci, les tests d'amplification moléculaire (technique, nombre de tests réalisés, résultat), le délai de culture en milieu liquide et/ou solide. Les données sont recueillies pour chaque centre et l'analyse des résultats est réalisée de façon globale.

Résultats obtenus : 81 cas de méningites tuberculeuses ont été rapportés dans 29 CHU (22 en 2005, 21 en 2006, 14 en 2007, 14 en 2008, 10 en 2009). La cytologie était réalisée dans 74 cas (91%), montrant un nombre moyen d'éléments de 267, avec un pourcentage moyen de L de 71% et de PN de 26%. Le nombre d'éléments était inférieur à 20 dans 11 cas (15%). L'examen direct, réalisé dans 59 cas (73%), était positif dans 11 cas (19%). La PCR, utilisée dans 38 cas (47%), était positive dans 21 cas (55%), négative dans 14 cas, et ininterprétable dans 3 cas. La culture était effectuée sur milieux liquide et solides dans 23 cas, sur milieu liquide seul dans 32 cas, et sur milieux solides seuls dans 25 cas. Les cultures étaient positives en 21 jours en milieu liquide (intervalle 7-42), et 33 jours en milieux solides (intervalle 15-63). La culture était positive à *Mycobacterium tuberculosis* dans 76 cas et à *M. bovis* dans 3 cas (95%). La culture restait stérile dans 2 cas : 1 patient mis sous traitement avant la ponction lombaire, et 1 patiente avec 1 PCR positive et très peu de LCR mis en culture.

Conclusion : La méningite.tuberculeuse est le plus souvent purulente lymphocytaire, mais peut s'accompagner d'une cytologie normale. L'examen direct n'est que rarement positif, comme dans toute tuberculose extra-pulmonaire. L'utilisation de la PCR, positive dans la moitié des cas quand elle est réalisée, paraît intéressante mais limite la quantité de prélèvement disponible pour la culture.

490/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Les formes neurologiques de la rickettsiose

M. Koubâa[2], D. Lahiani[2], C.H. Marrakchi[2], A. Mustapha[2], A. Znasen[1], I. Maaloul[2], B. Hammami[2], A. Hammami[1], M. Ben Jemâa[2]
[1]Service de microbiologie, CHU Habib Bourguiba [2]Service des maladies infectieuses, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

La rickettsiose est une maladie endémique dans le pourtour méditerranéen. Elle est réputée bénigne mais pouvant revêtir une gravité: les formes sévères représentent 6 à 10% avec une mortalité de 32%. L'atteinte neurologique, avec ses variétés cliniques, constitue 28% des formes graves avec un pronostic parfois réservé.

Évaluer la fréquence des formes neurologiques de la rickettsiose et décrire leurs aspects cliniques et thérapeutiques.

Étude rétrospective de 17 cas colligés entre 1997 et 2009 au service des maladies infectieuses de Sfax. Ces patients avaient une atteinte neurologique et une rickettsiose confirmée sérologiquement.

Parmi 210 cas de rickettsiose enregistrée durant la période d'étude, 17 avaient une atteinte neurologique (soit une fréquence de 8%) avec un âge médian de 59 ans. Le sex ratio était de 0,7. Le pic d'incidence a été constaté en Septembre (8 cas). 70% des sujets étaient d'origine rurale. Un contact avec les chiens était noté dans 23%. Le délai moyen de consultation était de 9 jours. La fièvre (100%), les céphalées (59%) et les vomissements (53%) étaient les principaux signes fonctionnels. Deux patients avaient une hypoacousie. A l'examen physique, le syndrome méningé était prédominant (58%) suivi de confusion (35%) et autres signes psychiatriques (35%). Un seul patient avait une dysarthrie et un syndrome cérébelleux. Une éruption caractéristique était présente dans 58%. Elle était concomitante aux signes neurologiques dans 80% des cas. L'escarre d'inoculation était trouvée chez 2 patients. L'atteinte neurologique se résumait à une méningite (7 cas), une méningo-encéphalite (5 cas), une encéphalite isolée (3 cas), une cérébellite (1 cas) et une atteinte du nerf VIII (2 cas). Une méningite lymphocytaire normoglycorachique et normoprotéinorachique était l'anomalie la plus fréquente du LCR. Une tomodensitométrie et/ou une imagerie par résonnance magnétique cérébrales n'ont montré aucune anomalie radiologique. Aux données de la sérologie, *Rickettsia conorii* dominait les étiologies des manifestations neurologiques (65%). Le traitement de première intention était une fluoroquinolone (65%) et des phénicolés (35%). La durée moyenne de traitement était 17 jours. L'évolution était favorable sans séquelles (10 cas), avec des séquelles psychiques (2 cas) et fatale (5 cas).

Les formes neurologiques de la rickettsiose sont de plus en plus fréquentes. Leur tableau clinique est polymorphe. Elles sont graves et méritent une attention particulière pour leur prise en charge clinique et thérapeutique.

491/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Méningite à anaérobies de cause rectale : à propos de 2 cas

R. Fuerea[2], C. Ripert[2], E. Salles-Thomasson[2], A. Brachet[1], B. Martha[2], S. Durupt[3]
[1]Chirurgie Viscérale [2]Médecine Interne et Maladies Infectieuses, CH William Morey, Chalon-sur-Saone [3]Médecine Interne, CHU Lyon Sud, Lyon, France

Nous rapportons deux observations de méningite à anaérobie.

Cas N°1 – Un patient éthylique de 47 ans est hospitalisé pour confusion fébrile au décours d'une agression. L'imagerie cérébrale est normale, et le diagnostic de méningite est posé par l'analyse du liquide céphalo-rachidien (LCR), avec examen direct positif et culture positive à *Clostridium perfringens*, également retrouvé dans les hémocultures. L'antibiothérapie a permis une amélioration sur le plan infectieux. Au dixième jour, la survenue de rectorragies amène au diagnostic coloscopique et scannographique d'une plaie postérieure du rectum avec abcès rétro-rectal. L'interrogatoire retrouve *a posteriori* un traumatisme rectal au cours de l'agression. L'évolution est favorable après colostomie de décharge et mise à plat de l'abcès.

Cas N°2 – Une patiente de 74 ans, traitée 3 mois plus tôt pour un cancer rectal, est hospitalisée pour état stuporeux fébrile. Le scanner cérébral est normal. L'analyse du LCR est typique d'une méningite purulente, mais examen direct et culture restent négatifs du fait d'une antibiothérapie préalable. L'évolution est défavorable sous antibiothérapie probabiliste, avec majoration des anomalies du LCR sur le contrôle au troisième jour. La PCR ARN 16S réalisée sur le LCR est en faveur d'une infection à *Prevotella*. L'IRM retrouve un abcès pelvien pré-sacré, ainsi qu'une spondylodiscite L5-S1 avec épidurite, au contact de l'abcès. Celui-ci a pu être drainé par voie trans-rectale, avec une évolution favorable sous couverture anti-anaérobie.

Si le premier cas pose la question d'une atteinte méningée par voie hématogène, le second reflète clairement une infection par contiguïté. De fait, les méningites à anaérobie de l'adulte sont généralement secondaires à une lésion suppurée rétro-rectale, qu'elle soit d'origine traumatique, néoplasique ou malformative, qu'il convient de rechercher systématiquement.

492/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Premier cas de méningite à *Streptococcus australis*

G. Héry-Arnaud[1-3], N. Rouzic[2], A. Doloy[4], G. Le Lay[1], M. Garré[2], C. Poyart[4], C.H. Payan[1-3]
[1]Bactériologie [2]Maladies Infectieuses, CHU de Brest [3]EA 3882-IFR 148, Université de Bretagne Occidentale, Brest [4]Bactériologie-CNR des Streptocoques, Hôpital Cochin, Université Paris Descartes, Paris, France

Introduction : Nous rapportons le premier cas d'infection à Streptococcus australis, streptocoque oral récemment décrit.

Observation : Un homme de 77 ans est hospitalisé pour syndrome méningé. L'examen du LCR met en évidence 6400 éléments/mm3, dont 98% de polynucléaires neutrophiles, une hypoglycorachie (0,25 g/L) associée à une hyperprotéinorachie importante (6,47 g/L) et l'absence de germe à la coloration de Gram. Après 24 heures d'incubation, les hémocultures seront positives à cocci à Gram positif en chaînettes. Les caractères morphologiques, culturaux et biochimiques de la souche isolée évoquent un streptocoque du groupe mitis, sans permettre une identification précise. La détermination des CMI montre une sensibilité à la pénicilline G, à l'amoxicilline et au céfotaxime. La culture du LCR reste stérile. L'amplification-séquençage de l'ADNr 16S réalisée directement sur le LCR identifie le genre Streptococcus du groupe mitis sans distinction de l'espèce. L'identification complète est achevée par amplification-séquençage du gène sodA, directement dans le LCR et sur la souche isolée des hémocultures permettant l'identification de S.australis. Le gène sodA présente 97% d'identité avec la souche type. Le patient est traité durant 7 jours par amoxicilline IV à 200 mg/kg/j. L'évolution est favorable, sans complication ni séquelle.

Discussion : Les streptocoques oraux du groupe mitis/oralis sont parmi les streptocoques les plus difficiles à identifier au rang de l'espèce par les techniques usuelles. Peu de caractères sont discriminants et nombreuses sont les espèces non référencées dans les thésaurus des galeries d'identification biochimique. D'autre part, comme l'illustre l'analyse de l'ADNr 16S, leurs séquences nucléotidiques présentent un fort pourcentage d'homologie. L'identification sans équivoque fournie par la cible sodA nous a permis d'enrichir la description sur l'habitat et le pouvoir pathogène de la bactérie, connue jusqu'à lors comme simple commensal de l'oropharynx des enfants. Depuis la description de l'espèce en 2001, il s'agit du premier cas de méningite à S. australis jamais décrit.

493/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Infection respiratoire à *Pasteurella pneumotropica* chez une patiente présentant un déficit en alpha-1-antitrypsine

M. Martin[2], T. Guillard[2], V. Duval[2], L. Brasme[2], C. David[2], V. Vernet-Garnier[2], F. Lebargy[1], C. De Champs[2]
[1]Service de Maladies respiratoires et allergiques - Oncologie thoracique, CHU, Hôpital Maison Blanche [2]Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU, Hôpital Robert Debré, Reims, France

Introduction : Les pasteurelloses humaines sont principalement des infections secondaires à des morsures de chats ou de chiens. Les infections respiratoires sont deuxième par la fréquence. Nous rapportons ici un cas d'infection respiratoire à *Pasteurella pneumotropica*.

Observation : Une femme de 58 ans ayant un emphysème panlobulaire associé à un déficit en alpha-1-antitrypsine a été admise à l'hôpital pour réaliser une trachéotomie. A J44, le caractère inflammatoire et purulent de l'orifice justifie la réalisation d'une aspiration endotrachéale (AET). *P. pneumotropica* est isolé à la concentration de 10^8 UFC/ml. L'identification réalisée par le Vitek2 (bioMérieux, Marcy l'Etoile) a été confirmée par séquençage du produit d'amplification du gène codant l'ARN 16S. A J67, la persistance des signes locaux conduit à répéter l'AET révélant à nouveau la présence de *P. pneumotropica*. La radiographie de thorax ne montre pas de nouveau foyer pulmonaire. A J70, la patiente développe une sigmoïdite et reçoit un traitement par ceftriaxone (2g/j) et métronidazole (1,5g/j). A J78, elle sort avec un traitement associant amoxicilline-acide clavulanique (2g/j) et métronidazole (1,5g/j) *per os*. Elle décède 10 jours après sa sortie d'un choc septique à point de départ digestif..

Discussion : *P. pneumotropica* a été décrit en 1950 par Jawetz. Elle occasionne des pneumonies chez les souris. A notre connaissance, seulement 18 cas ont été décrits dans la littérature, dont 2 infections respiratoires. Peu de données sur les facteurs de virulence sont disponibles. En revanche, il est décrit
qu'un déficit du gène *tlr4* favorise l'infection pulmonaire à *P. pneumotropica* des souris. La recherche d'un tel déficit n'a pu être réalisée chez la patiente. Le principal mode de contamination est la transmission par contact étroit avec des animaux, faisant discuter dans notre observation une contamination par l'intermédiaire de son mari qui possède un chat à la maison.

Conclusion : Les infections à *P. pneumotropica* sont rares chez l'homme. Le cas décrit ici suggère que le rôle pathogène de cette bactérie doit être pris en considération dans le traitement des patients atteints de pathologies respiratoires chroniques, surtout s'ils sont en contact avec des animaux de compagnie.

494/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Premier cas d'infection respiratoire aiguë à *Rothia aeria* chez un patient sous anti-TNF

J. Michon[2], D. Jeulin[3], J.M. Lang[1], R. Leclercq[2], V. Cattoir[2]
[1]Cabinet de médecine générale, Bretteville-Sur-Odon [2]Microbiologie, CHU Côte de Nacre [3]LABM Beaulieu, Caen, France

Les bactéries du genre Rothia sont des bactéries à Gram positif aérobies d'aspect coccoïde, cocco- bacillaire ou filamenteux. Ce genre comporte à ce jour 6 espèces, toutes saprophytes du milieu extérieur (sol, eau, air). Certaines sont commensales au niveau de la cavité buccale comme Rothia dentocariosa et Rothia mucilaginosa, rarement pathogènes chez l'homme. L'espèce Rothia aeria a été identifiée en 1997 dans des prélèvements d'air provenant de la station spatiale Mir. Alors qu'une étude rapporte un unique cas de colonisation linguale, seul un cas d'infection (sepsis néonatal) à R. aeria a été rapporté à ce jour.

Nous rapportons ici le 1er cas d'infection respiratoire basse aiguë à R. aeria chez un patient immunodéprimé de 66 ans. Cet homme diabétique, traité par anti-TNF depuis 2 ans pour une polyarthrite rhumatoïde présente en juillet 2009 un tableau de bronchite aiguë avec expectorations muco-purulentes, une fièvre et une dyspnée d'effort. L'examen clinique initial révèle des ronchis diffus sans foyer de pneumopathie. Après 3 semaines d'évolution défavorable malgré une antibiothérapie probabiliste (amoxicilline puis cefpodoxime), un bilan complémentaire est réalisé. Devant une radiographie thoracique ne montrant que des images de bronchite aiguë, un 2nd traitement probabiliste (amoxicilline-acide clavulanique + moxifloxacine) est instauré. La culture de l'expectoration est positive à >107 CFU/mL de bacilles filamenteux à Gram positif se présentant sous la forme de colonies blanches très sèches incrustées dans la gélose pouvant évoquer une espèce du genre Nocardia. Tandis que les résultats des tests biochimiques ne sont pas contributifs (résultat : Kocuria kristinae), le séquençage du gène l'ARN 16S permet d'identifier de façon fiable la souche en tant que R. aeria. Par antibiogramme en diffusion, la souche est sensible à l'amoxicilline, à l'imipénème, aux macrolides et apparentés, aux glycopeptides, à la fosfomycine, à l'acide fusidique, à la rifampicine et au linézolide. Par contre, elle est résistante aux aminosides et aux fluoroquinolones.

Cette observation est le 2nd cas d'infection humaine due à R. aeria, soulignant son rôle pathogène opportuniste réel (sans doute sous-estimé), notamment chez les patients traités par anti-TNF.

495/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Émergence de babésioses en Alsace

M. Martinot[1], L. Federici[1], M. Mohseni Zadeh[1], S. Aguillon[1], Y. Hansmann[3], I. Grawey[1], A. Chauvin[2], D. De Briel[1]
[1]Hôpital Pasteur, Colmar [2]Parasitologie/UMR 1300 Ecole nationale vétérinaire, Nantes [3]HUS, Strasbourg, France

Introduction : Les pathologies transmises par les tiques sont connues : borréliose de Lyme, encéphalite à tique, infections à pyogènes, tularémie, rickettsioses, anaplasmose. La babésiose reste exceptionnelle en Europe, surtout rencontrée chez des patients splénectomisés. La survenue récente de cas chez 3 patients immunocompétents modifie ces données

Cas clinique : Les 3 cas ont été diagnostiqués au cours de l'été 2009 à Colmar chez des patients jeunes, sans antécédents particuliers, ayant rapporté la notion de piqure de tique dans les 15 jours précédents. Tous ont présenté un tableau pseudo-grippal fébrile avec céphalées sans autre anomalie clinique. Sur le plan biologique on notait une leucopénie (3/3), une thrombopénie (2/3), des anomalies du bilan hépatique (3/3) et un syndrome inflammatoire (3/3). L'évolution a été favorable dans les 3 cas. Un traitement spécifique a été débuté du fait d'une thrombopénie sévère dans 1 cas. Le diagnostic a été posé sur frottis sanguin dans 2 cas (confirmé par PCR dans un cas) et par sérologie dans un cas. On notait la persistance d'une parasitémie asymptomatique à distance à dans 1 cas.

Discussion et conclusion : La babésiose est une zoonose inoculée par les tiques, due à des protozoaires qui infectent les globules rouges en les lysant. On compte plus de 100 espèces de *Babesia*, avec un réservoir animal (rongeurs, bétail). On distingue classiquement une forme américaine due à *B. microti,* responsable de tableaux asymptomatiques ou pseudo-grippaux modérés. Des formes sévères avec forte parasitémie ont été rapportées, notamment en cas d'immunosuppression. La forme européenne, surtout liée à *B. divergens,* est rare (une trentaine de cas), sévère et concerne surtout des patient splénectomisés. La survenue de ces 3 cas groupés chez des patients immunocompétents modifie cette vision. Elle impose la réalisation d'un frottis sanguin en cas de tableau compatible. Ce frottis permet de plus le diagnostic d'anaplasmose, dont un cas a été diagnostiqué à la même période. L'attitude thérapeutique est basée sur l'association quinine/clindamycine ou atovaquone/azitromycine. La persistance possible d'une parasitémie prolongée peut de plus poser des problèmes de santé publique en zone d'endémie, du fait de formes post transfusionnelles.

496/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Épidémiologie de la rage humaine : maladie mythique, toujours d'actualité en Algérie et dans la wilaya de Tizi-Ouzou

N. Achour[3], A. Mouloua[4], N. Kitous[2], A. Boughoufela[1]
[1]INSP, Alger [2]Epidémiologie [3]Maladies infectieuses, CHU Tizi-Ouzou [4]Institut vétérinaire Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou, Algérie

La rage anthropozoonose millénaire, maladie mythique (Rabies : 3000 ans avant JC) constitue un fléau omniprésent en Algérie, dans la wilaya de Tizi-Ouzou.

Les stratégies de luttes assidues ont permis la maitrise de cette maladies dans les pays industrialises. Elle sévit a l'état endémique dans les pays sous développes avec la majorité des cas recenses dans les zones rurales avec tendance actuelles à la progression dans les zones urbaines en Afrique et en Asie.

Objectifs : faire le point sur l'évolution de la rage humaine en Algérie de 1990 à 2008: enzootie préoccupante étendue a toutes les wilayas du nord (surtout a celle du centre wilaya de Tizi-Ouzou) et les hauts plateaux épargnant le sud.

Les facteurs favorisant la pérennité de cette maladie malgré l'existence d'un programme national de lutte (maladie prioritaire depuis 1985), d'une couverture sanitaire relativement dense et de la disponibilité des vaccins. Il est notifié une moyenne annuelle de 24 cas et mensuelle de 2 cas (dont 1 à 2 cas/mois dans la wilaya de TO) et ce depuis plus de 19 ans. intérêt de l'éducation sanitaire et la sensibilisation de la population.

Méthodes : Le Relevé Épidémiologique Mensuel (Bulletin mensuel de l'Institut National de Santé Publique Algérie) et les dossiers des malades hospitalises au niveau du service des maladies infectieuses du CHU de TO ont constitues notre principale source d'information. Pour chaque cas notifié, les caractéristiques épidémiologiques classiques ont été relevées (âge, sexe, lieu de la morsure, date de la morsure, schéma thérapeutique (type de vaccin), devenir de l'animal mordeur quant possible).

Résultats : 439 cas de rage humaine ont été enregistré en 19 ans en Algérie dont 29 cas dans la wilaya de TO (Nord est du pays) Avec une prédominance masculine (72,4%). L'enfant et l'adulte jeune sont les plus touches (45%), les villes du Nord Est du pays sont les plus concernes : TO, Sétif, Alger…. Le chien errant reste l'animal mordeur le plus incrimine. Presque 40% des patients non pas bénéficier de vaccination par méconnaissance des risques de la maladie. 1/3 non pas respecte le schéma thérapeutique (interruption, traitement tardif, sérum ou vaccination seule….)

Conclusion : Il est inadmissible de nos jours que la rage humaine soit d'actualité et a fortiori après une prise en charge médicale.

Le concept de la notion de risque rabique face à toute morsure doit être pris en compte par la population et surtout les professionnels de la santé.

497/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Experience during Influenza A H1N1 (IAH1N1) pandemia at a general hospital in Córdoba, Argentina

N. Spitale, M. Montamat, A. Sanchez, S. Arrúa, S. Frola, R. Brito, A. Minguez
Infectious Disease, Hospital Misericordia, Córdoba, Argentine

Purpose: To describe the clinical-epidemiological situation of patients who consulted because of Influenza-Like Disease (ILD) during IAH1N1 pandemia at a general hospital in Córdoba.

Methods: Transversal study including 620 patients treated at Hospital Misericordia between epidemiologic weeks (EW) 25 and 32, 2009 due to ILD, possibly IAH1N1. The prevalence of confirmed IAH1N1 cases in the province was 72% since EW 25.

Results: A total of 620 patients were seen at Hospital Misericordia (67% aged 15-39 y.o; 56% female). 144 patients (23%) were diagnosed pneumonia and required hospitalization (there were 20 hospitalization due to pneumonia during the same EW in 2008). 93% of the patients consulted within the first 5 days after symptoms appearance, 21% of whom required hospitalization while 7% consulted after that 5-day period and 55% of them were hospitalized. Risk of hospital admission was higher for pregnats (OR 13), cardiopaths (OR 7,6) and diabetics (OR 6,6). 15,3% (n:22) entered intensive care unit and 36% recieved respiratory assistance. Bilateral diffuse infiltrate was observed in 64% of thorax radiographs and leucocitosis was present in 45% of biochemical analyses. 122 patients (84,7%) entered the basic care unit, 39% had leucocitosis and the predominant radiologic pattern was bilateral diffuse infiltrate. 10 patients died, 4 of them without any pathological antecedents. None of the patients who had been vaccinated against seasonal influenza (8%) was hospitalized. Out of the 658 members of hospital staff, 40 presented ILD, none of whom required hospitalization.

Conclusion: The number of hospitalization due to pneumonia was considerably greater in comparison with that in 2008. This entity mainly affected young patients and was treated predominantly ambulatory; the hospitalization rate was higher amog those patients who consulted beyond the first five days after symptoms appearance. Pregnant patients and those with co morbidities had a higher hospitalization risk. Diffuse bilateral infiltrate and leucocitosis were common finding amog hospitalized patients. None of the few patientes who had been vaccinated against seasonal influenza required hoispitalization.

498/81A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Contrôle d'une hyper-endémie d'infections invasives à méningocoque B en Seine-Maritime

I. Parent du Châtelet[5], M. Taha[2], J.P. Leroy[7-3], V. Delbos[7], M. Blanchard[1], N. Bohic[1], G. Berthelot[6], S. Henry[4], I. Morer[8], F. Caron[7]
[1]Cellule interrégionale d'épidémiologie de Haute-Normandie [2]Centre national de référence des méningocoques [3]Direction Départementale des affaires sanitaires et sociales de Seine-Maritime [4]Direction générale de la santé [5]Institut de veille sanitaire [6]CHG de Dieppe, Dieppe [7]CHU de Rouen, Rouen [8]Agence française de sécurité sanitaire des produits de santé, Saint Denis, France

Objet : Depuis 2003, la Seine-Maritime a connu une augmentation d'incidence des infections invasives à méningocoque (IIM) liées à la souche B:14 :P1.7,16, ST-32. Dans la zone la plus touchée (Dieppe et ses environs, env. 92 000 habitants), une vaccination des moins de 20 ans a débuté mi-2006 avec le vaccin MenBvacâ. L'adaptation du schéma vaccinal, son suivi et la situation épidémiologique récente sont décrites.

Méthodes : La surveillance épidémiologique et bactériologique a permis de suivre l'évolution de l'incidence par âge et secteur géographique.

Une évaluation sérologique de la réponse vaccinale par des tests d'activité bactéricide (hSBA) a été réalisée chez 235 enfants.

La couverture vaccinale a été évaluée.

Résultats : Alors que l'incidence annuelle des IIM B en France est autour de 0,8/10^5, celle des IIM B:14 :P1.7,16 a dépassé les 8/10^5 sur la zone de Dieppe en 2006.

De par la disponibilité réduite des doses, les vaccinations ont ciblé en premier les 1- 5 ans (110 IIM/10^5 en 2006) avec un schéma à 3 doses à 6 semaines d'intervalle et rappel 1 an après. Un retard d'approvisionnement a conduit à l'administration de la 3ème dose sept mois après la 2ème. Un effet rappel de cette 3ème dose tardive a été montré sérologiquement, la proportion d'enfants avec des titres SBA≥4 passant de 37% (IC 95%=31-43) avant à 88% (IC95% : 83-92) 6 semaines après la troisième dose et restait de 56% (IC 95%=49-63) 1 an après. Afin d'économiser des doses, un schéma à 2 doses suivies d'un rappel 6 mois après a été ensuite recommandé pour les enfants de plus d'un an.

Les primo-vaccinations se sont achevées au printemps et la majorité des rappels à l'hiver 2008.

Pour les deux premières doses de vaccin, la couverture vaccinale est estimée provisoirement à 80% et 79%.

En août 2009, la zone de Dieppe n'était plus en situation d'hyperendémicité, l'incidence des IIM B:14 :P1.7,16 ayant progressivement baissé pour devenir nulle sur la période septembre 2008-août 2009 alors qu'elle était de 0,5/10^5 pour le reste du département.

Conclusion : Ces données sont en faveur d'un impact de la campagne vaccinale sur la souche B:14:P1.7,16. Le vaccin MenBvacâ a été utilisé récemment pour contrôler un nouveau foyer dans la Somme.

499/82A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Punaises de lits : émergence ou méconnaissance

J.M. Bérenger, H. Chardon, L. Maulin, E. Lagier, O. Bellon
Service de diagnostic des maladies infectieuses, Centre Hospitalier du pays d'Aix, Aix-en-Provence, France

Objet de l'étude : Les punaises des lits, ectoparasites hématophages, sont en recrudescence dans de nombreux pays. Qu'en est-il en France? Depuis 2009, dans le cadre d'une étude sur *Cimex lectularius*, nous essayons d'en évaluer la nuisance dans la région Aixoise.

Méthodes : Plusieurs organismes ont été sollicités par courrier pour nous signaler les cas suspects (pharmacies, services d'hygiène, museum, dermatologues). Après signalement, un entomologiste s'est rendu à domicile pour enquêter.

Résultats obtenus : Une dizaine de cas nous ont été signalé. Plusieurs hypothèses existent sur le retour des punaises des lits : interdiction des insecticides rémanents, résistance à ceux-ci, appâts ciblés sans effet sur les punaises. Nos résultats apportent de nouveaux éléments. Ainsi, à partir d'un cas déclaré dans une résidence de 50 appartements, nous avons pu mettre en évidence au moins 7 studios infestés et tous les locaux n'ont pu etre inspectés. Les locataires montrent une méconnaissance de ces insectes et des attitudes désemparées face à cette nuisance. Prise à temps, une infestation peut être enrayée mais souvent, l'infestation est déjà au stade invasion. Notre réactivité s'est heurtée à de nombreux imprévus : propriétaires qui éludent le problème ou arrachent les affiches d'information, lois qui interdisent la gestion par les services municipaux des logements privés (la gestion de l'hygiène incombe aux propriétaires et locataires). Le coût dissuasif de ces traitements (140 à 450 €) fait que les situations perdurent et les contaminations se propagent. Enfin les instances sanitaires ne s'intéressent pas au problème car ces insectes ne sont pas connus comme vecteurs de pathogènes bien qu'ils puissent être responsables, parfois, d'atteintes cutanées sérieuses. Les victimes livrées à elles même se renseignent souvent sur internet ou elles trouvent des conseils mais les insecticides grand public offrant une rémanence faible, sont sans effet sur les œufs et sont souvent mal utilisés.

Conclusion : Peu de personnes de nos jours connaissent ces insectes (nuisibles communs avant 1940), peu de praticiens savent comment réagir. Une information est nécessaire et nos comportements doivent être corrigés car ils ont une grande responsabilité dans la recrudescence de ces insectes.

500/82A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Prévalence des événements de santé, facteurs de risque et mortalité dans une cohorte prospective de migrants africains retournant au pays pour des vacances

O. Bouchaud[1], J. Bottero[3], S. Genty[1], P. Ralaimazava[1], N. Godineau[4], S. Matheron[2], A. Fontanet[3]
[1]Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Avicenne-APHP et Université Paris 13, Bobigny [2]Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital Bichat-APHP [3]Unité d'épidémiologie des maladies émergentes, Institut Pasteur, Paris [4]Parasitologie, Hôpital Delafontaine, Saint Denis, France

Justificatif : même s'il est admis qu'il s'agit d'une population à risque, il n'y a que très peu de données épidémiologiques évaluant les risques de santé chez les migrants vivant en France et retournant pour des vacances dans leur pays d'origine.

Méthodologie : entre août 2001 et mars 2006 nous avons inclus, après consentement, des migrants d'origine africaine vivant en France et retournant en Afrique dans leur pays d'origine pour des séjours de moins de 3 mois et qui consultaient aux centres de conseils aux voyageurs de 3 hôpitaux du nord de l'Ile de France. Après la visite d'inclusion avant le départ, un questionnaire téléphonique leur était proposé dans la semaine du retour et 6 semaines après. Le questionnaire retour était fait en plus *de visu* pour 5 % des patients adultes inclus pour évaluer la fiabilité de l'enquête téléphonique.

Résultats : 2193 sujets ont été inclus : 1495 adultes dont 34% accompagnés d'enfants (âge moyen 36,3 ; sex ratio 0,81) et 698 enfants (âge moyen 5,5 ; sexe ratio 0,92). Le taux de concordance parfaite entre données recueillies par téléphone et *de visu* était de 80%. Il y a eu 14% de perdus de vue. 71% des adultes avaient fait des études secondaires ou universitaires. 70% des sujets consultaient pour une vaccination contre la fièvre jaune. Les séjours, dont 75% en Afrique de l'Ouest, étaient uniquement en zone rurale dans 10% des cas, urbains (45%) ou mixtes (45%). Pour les séjours au village le confort était rudimentaire dans près de1/3 des cas (ni eau, ni électricité, ni latrines). Au total 43% se sont plaints d'un problème de santé, principalement la diarrhée et le paludisme dans respectivement 20 et 4 % des cas, avec hospitalisation sur place ou au retour dans respectivement 4,5 et 3,5% des cas. 5 décès sont survenus dont 4 chez des enfants (traumatologie 3 cas ; infections 2 cas). Le célibat, un séjour de type mixte, un séjour en Côte d'Ivoire et l'oubli de l'antipaludique préventif étaient en analyse multivariée chez l'adulte des facteurs de risque de paludisme. Les facteurs de risque de diarrhée étaient chez l'adulte la durée de vie en France et l'oubli de prévention palustre et chez l'enfant un séjour de type mixte et le fait d'avoir des latrines au village.

Conclusion : dans cette population de voyageurs migrants africains vivant en France et consultant dans un centre de conseils aux voyageurs le risque de paludisme est de 4% avec par ailleurs une mortalité anormalement élevée surtout chez les enfants (7 fois à 250 fois plus élevée qu'attendue selon la référence prise). On peut s'attendre à des risques encore plus élevés dans cette population lorsqu'elle ne consulte pas avant le départ ce qui milite pour une prévention plus active auprès de cette population particulièrement à risque.

501/82A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Parcours de soins des accès palustres à *Plasmodium falciparum* : évaluation de la qualité de la prise en charge au Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux entre janvier 2004 et décembre 2008

A. Dubrasquet, M.C. Receveur, M. Pillot-Debelleix, T. Pistone, D. Malvy
Service de médecine interne et des maladies tropicales, Hôpital Saint-André, Centre hospitalo-universitaire, Bordeaux, France

Objet : En France et en 2009, le paludisme d'importation à Plasmodium falciparum reste une maladie mal connue. Une conférence de consensus a actualisé des recommandations pour sa prise en charge en novembre 2007. L'objectif de l'étude était l'évaluation du parcours de soins et de la qualité de la prise en charge des patients atteints d'accès palustre au CHU de Bordeaux.

Méthode : Étude d'observation rétrospective de 225 patients adultes ayant un diagnostic d'accès palustre à P. Falciparum au CHU de Bordeaux entre janvier 2004 et décembre 2008.

Résultats : Les patients se répartissaient en 90 (40%) touristes et 69 (30,7%) migrants. Seulement 35 (15,6%) patients avaient utilisé une protection anti-vectorielle et 12 (6,2%) une chimioprophylaxie observée et adaptée. Plus de 53% avaient eu recours à une consultation libérale avant l'admission et 27,3% un diagnostic parasitologique avant l'admission au CHU, dont 22,7% avec un résultat rendu faussement négatif. Le délai de recours au soin (symptômes-diagnostic biologique) était de 3 jours. Ce délai était plus élevé en situation de consultation (p=0,005) ou de recours au diagnostic parasitologique avant l'admission (p=0,001) et pour les accès graves (p=0,03). Au total, 41 (18,2%) patients ont présenté un accès grave, dont 5 (12,2%) décès. Près de 30% (n=53) des patients ayant un accès non compliqué ont été pris en charge en ambulatoire. Pourtant, des troubles digestifs hauts étaient notés chez 8 patients Le taux d'hospitalisation secondaire est de 9,4%. La prise en charge thérapeutique des accès simples ambulatoires était conforme aux recommandations quant à la prescription d'atovaquone-proguanil (77,4%). En 2008, la prescription des traitements per os a évolué vers l'artéméther-luméfantrine (66,7% des prescriptions). Le suivi clinique et biologique était

moins observé (p< 0,0001) chez les patients ambulatoires.

Conclusion : L'information des voyageurs et le développement d'un circuit privilégié ville-hôpital doivent permettre une amélioration des moyens de prévention et surtout une diminution du délai d'admission dans une structure de référence afin de poser l'indication de la prise en charge ambulatoire. Cette dernière pourrait être améliorée en respectant les critères d'hospitalisation et la mise en place d'une surveillance adaptée.

502/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évolution de la résistance des principales espèces bactériennes isolées d'hémocultures de 1996 à 2008 dans les hôpitaux français non universitaires, étude de l'observatoire des résistances du colBVH

P. Pina[2], O. Gallon[2], J.W. Decousser[1], ColBVH[2]
[1]Laboratoire de Bactériologie- Hygiène, AP-HP CHU Antoine Béclère, Clamart [2]Laboratoire Hygiène, CH de Dourdan, Dourdan, France

La surveillance bactérienne de la résistance aux antibiotiques est un élément important des programmes de bon usage des antibiotiques. Depuis 1996, le collège de Bactériologie, Virologie et Hygiène participe à cette surveillance nationale et aux travaux de l'ONERBA.

Pendant le mois de novembre, les biologistes des hôpitaux non universitaires recueillent la sensibilité des souches cliniquement significatives isolées d'hémocultures (dédoublonnées selon les recommandations de l'ONERBA).

Selon les années, 71 à 102 centres hospitaliers participent à l'enquête. Depuis 1996, 17810 souches bactériennes a été analysée. Les principales espèces sont respectivement *E. coli* (34%) et *S. aureus* (14%). *S. pneumoniae* représente 5,3% des isolats. Depuis 2004, les levures sont également colligées ; elles représentent entre 1,5 et 2,6% des souches.

La sensibilité des *E. coli* aux céphalosporines de 3ème génération (C3G) passe de 96,9% en 1996 à 94,0% en 2008. De même, 1,6% des souches produisaient une BLSE en 1996 contre 5,1% en 2008. La sensibilité à la ciprofloxacine diminue : 98,4% en 1996, 87,9% en 2008. La sensibilité à cet antibiotique est inférieure à 90% depuis 2005.

La production de BLSE chez *K. pneumoniae* augmente : respectivement 4,6%, 2,4%, 7,6% et 14,0% de 2005 à 2008.

La résistance à la méticilline de *S. aureus* semble diminuer de 33,2% à 24,4% entre 2005 et 2008.

Chez *S. pneumoniae*, la CMI de la pénicilline G était inférieure ou égale à 0,06 mg/l chez 52,9% des souches en 2001 contre 67,3% en 2008. Dans la même période, la proportion de souches de CMI inférieure ou égale à 0,5 mg/l passe de 86,8% à 91,4% pour l'amoxicilline et de 87,5% à 90,4% pour le céfotaxime.

Notre étude confirme l'augmentation de la production de BLSE chez *E. coli* observée en France et dans le monde depuis plusieurs années. La diminution de la sensibilité aux fluoroquinolones mérite d'être surveillée, compte-tenu de l'utilisation probabiliste fréquente de ces antibiotiques. L'augmentation de la sensibilité du pneumocoque aux bêtalactamines, probablement liée à la vaccination et à une diminution de la consommation d'antibiotique, est en accord avec les observatoires nationaux du pneumocoque.

Par son observatoire, le colBVH contribue à la surveillance de l'évolution des résistances bactériennes en France.

503/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évolution sur 2 ans de la sensibilité aux antibiotiques (ATB) des souches bactériennes isolées dans l'unité d'oncologie médicale et hématologie de Corse du Sud. Impact économique du suivi

P. Guillet[2], P. Revole[2], N. Khobta[2], V. Orabona[3], D. Berte-Pesquie[4], P. Valayer[4], M.P. Quilichini[1], A. Noble[2]
[1]CLIN [2]Oncologie médicale et hématologie [3]Pharmacie, CH Castelluccio [4]Laboratoire de Bactériologie, CH de la Miséricorde, Ajaccio, France

Objectifs : Le suivi des infections, mis en place en 2006, permet une analyse de l'évolution des souches bactériennes isolées, de leur sensibilité aux antibiotiques, et du coût de l'antibiothérapie. Nous présentons cette évolution sur notre unité qui possède des spécificités structurelles environnementales.

Méthode : Analyse rétrospective descriptive et comparative des souches bactériennes isolées, des antibiogrammes testés en 2006 et 2008 ainsi que des coûts pharmaceutiques.

Résultats : *Les patients* : Plus de 500 ont été pris en charge générant plus de 4600 venues dont près de 200 en soins palliatifs (5600 en 2006). 98% sont porteurs de chambres implantées en sous cutané avec cathéter veineux central. L'age moyen est de 64,6 ans en 2008,56 ans en 2006, avec une répartition en 53% d'homme et 47% de femmes en 2008 (63% et 37% en 2006).Tout types de tumeurs solides et hématologiques sont prises en charges sauf les greffes de moëlle osseuse. *Les prélèvements positifs* : les ECBU en 2006 représentent 40 prélèvements pour 33 patients, 56 pour 26 en 2008, les hémocultures : 22 pour 16/29 pour 25 ; les prélèvements de pus : 18 pour 12/24 pour 19 et les autres prélèvements : 5 pour 5/7 pour 7. Le total sur 2006 est de 85 prélèvements positifs et en 2008 de 116 ; soit une augmentation de 18%. *Les germes et antibiogrammes* : 8 souches de BMR ont été isolées en 2008 (6 en 2006). Leur proportion de répartition Gram+/Gram- sont stables ainsi que les types de souche. Nous notons une absence de BMR sur les hémocultures et 2/3 des isolats ont été fait sur ECBU (stable).En 2008,les BMR Gram- sont toutes sensibles à l'Imipenem, une seule souche d'Enterobacter résiste à la Colistine. Les BMR Gram + sont sensibles à la Vancomycine, à la Teicoplamine, l'Ac. Fucidique, la Fosfomycine et la Rifampycine. Pas de modification par rapport à 2006. Cette même année, hors BMR, pour les Gram +, 86% de Staph. Aureus et 50% des Staph.Coagulase - sont OxaS. Toutes les OxaR. sont VancoS et 80% Quinolone S ; pour les Gram - toutes les souches sont Cefotaxime S ou I sauf Acinetobacter qui est Quinolone S. En 2008, pour les Gram + 50% des Staph. Aureus sont OxaS et 30% des Staph.Coag.-, tous les OxaR restent sensibles à la Vanco, Teico, Fosfo, et seuls 60% aux Quinolones ; pour les Gram négatifs, 80% des souches sont CefotaximeS, les résistantes, pour 2/3 des Pseudomonas, sont sensibles à l'Imipenem, 30% des souches résistent aux Quinolones de 2eme génération. *Les coûts* : En 2006, plus de 50% est lié à l'utilisation des quinolones de seconde génération, en 2008 la même proportion est liée à l'usage de l'imipenem et du Fortum. A noter une diminution de près de 50% du coût total de l'antibiothérapie (19600 euros en 2006 / 10904 en 2008)

Conclusions : En 2 ans, la population des germes isolés s'est peu modifiée, par contre les souches semblent acquérir des résistances (pression de sélection du service, des autres services, age des patients… ?) avec pour les Gram+ une majoration des OxaR et pour les Gram- une résistance au Cefotaxime. Les BMR sont relativement peu variantes tant en nombre que sur leur résistance. A la vue de ces résultats, nous avons introduit de façon rationnelle l'Imipenem dans notre arsenal thérapeutique. Nous développons, au travers d'une Commission ATB, une meilleure rationalisation de l'utilisation de certains antibiotiques (Rifampycine, Fosfomycine…), ce qui permet également une économie de santé.

L'étude se poursuit sur un long terme afin d'essayer de mettre en évidence différents facteurs de risque susceptibles d'intervenir dans le développement de ces infections et leur évolution.

504/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

***Acinetobacter baumannii* : fréquence, répartition et résistance des souches isolées à l'hôpital Bologhine Ibn Ziri Bainem, Alger**

W. Amhis, L. Benbetka, N. Sahel, S. Benmesbah, L. Badredine
Unité de microbiologie, Laboratoire central de biologie, Hôpital Bologhine Ibn Ziri, Alger, Algérie

Introduction : Durant cette dernière décennie, Acinetobacter baumanii qui se caractérise par sa multi résistance, et sa diffusion rapide dans l'environnement, a émergé comme un pathogène hospitalier important. Bien que les isolats cliniques représentent plus souvent une colonisation qu'une infection, Acinetobacter est décrit comme l'un des pathogènes les plus fréquents dans les infections respiratoires. Par ailleurs des infections invasives à type de bactériémies sont également rapportées.

Objectifs : Évaluer la fréquence, la répartition ainsi que la résistance aux antibiotiques d'Acinetobacter baumanii.

Matériel et méthodes : Étude rétrospective du 1er Janvier 2007 au 10 juillet 2009 et concernant tous les prélèvements (respiratoires, sang, pus, liquides d'épanchement, cathéters..) émanant des patients hospitalisés et externes ayant consulté à l'hôpital. Après isolements sur milieux standards, les souches sont identifiées à l'aide de galeries APINE et l'antibiogramme est effectué selon la technique CLSI. Les antibiotiques testés sont : Ticarcilline, Ticarcilline associée à l'acide clavulanique, Ceftazydime, Cefoperazone, Ceftriaxone, Imipeneme, Gentamycine, Amikacine, Tobramycine, Ofloxacine, Ciprofloxacine et trimethoprime sulfamethoxazole.

Résultats : 49 souches ont été isolées dont 92% (45 sur 49) isolés chez les patients hospitalisés. Le nombre de patients : 39, le sexe ratio :10/29 ->1/3

- Les soins intensifs arrivent en tête avec 51% (25/49) d'Acinetobacter baumanii, suivi de loin par la chirurgie 18,36% (9/49) puis de la médecine 10,2% (5/49) et de la Gynéco-obstétrique 8 % (3/49).

- Les bactériémies occupent le premier rang avec 42,85% (21/49) suivi des infections respiratoires 20,4% (10/49), des ISO 14,28% (7/49) et des infections urinaires 6,12% (3/49).

- La résistance aux bêtalactamines, antibiotiques largement utilisé dans les traitements des infections à Acinetobacter est de 69,38% (34/49) pour la Ceftazidime, et de 4% pour la Ceftazidime et l'Imipenème.

- Nous nous sommes intéressés à la répartition des Acinetobacter au cours de l'année. Les résultats ont retrouvé un taux de 73,49% (36/49) d'isolats au cours de 2ème et 3ème trimestre c'est-à-dire d'Avril à Septembre ce qui correspond aux saisons les plus chaude de l'année.

Conclusion : L'Acinetobacter existe à l'état endémique avec des bouffées épidémiques dans notre hôpital. Les saisons chaudes comme rapporté dans la littérature sont propices à l'éclosion des épidémies. Cette bactérie isolée essentiellement les services de réanimation et de chirurgie en 2007, s'est propagé progressivement en médecine, endocrinologie et maternité. Son incrimination dans les infections invasives et les pneumonies en réanimation ainsi que sa résistance dans 69,38% à la Ceftazidime et dans 4% à la Ceftazidime et l'Imipenème fait craindre des échecs thérapeutiques, pouvant se greffer d'une augmentation de la mortalité.

505/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Comparative *in vitro* activity of Levofloxacin (LEV) against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from intensive care unit

C. Lascols[2], J.D. Cavallo[6], H.B. Drugeon[4], R. Leclercq[1], A. Mérens[6], C. Muller-Serieys[5], M. Roussel-Delvallez[3], C.J. Soussy[2]
[1]CHU Côte de Nacre, Caen [2]CHU Henri Mondor, Créteil [3]CHU A. Calmette, Lille [4]CHU Laennec, Nantes [5]CHU Bichat, Paris [6]HIA Bégin, Saint Mandé, France

Objectives: To determine the *in vitro* activity of levofloxacin against *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from intensive care unit (ICU) comparatively with other anti *Pseudomonas* agents and to propose zone diameters breakpoints for levofloxacin according to the EUCAST MIC breakpoints.

Methods : The MICs of levofloxacin (LEV), ciprofloxacin (CIP), amikacin (AMI), tobramycin (TOB), colistin (COL) and imipenem (IMI) were determined by broth microdilution using Sensititre plates for 279 strains isolated in ICU of six French university hospitals from respiratory tract infections (64.5%), urinary tract infections (17.6%) blood stream infections (8.6%), skin infections (7.2%) or others (2.1%). In addition, zone diameters of LEV were determined by agar diffusion method with 5µg-disks. Strains were classified according to their susceptibility to piperacillin-tazobactam (PTZ) and ceftazidime (CAZ). A quality control was carried out with *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Results: MICs $_{50}$ and $_{90}$ (mg/L) were as follows:

	MIC_{50}	MIC_{90}	Range	Susceptibility rate*
AMIKACIN	4	16	0.25->128	86.4
TOBRAMYCIN	1	128	0.12->128	80.6
COLISTIN	2	2	0.5-8	96.1
IMIPENEM	2	32	0.25->128	74.6
CIPROFLOXACIN	0.25	32	0.03-128	68.1
LEVOFLOXACIN	0.5	64	0.12-128	63.8

*EUCAST breakpoints

MICs of tested antibiotics are generally 8 to 32 times higher for PTZ R CAZ R strains than for PTZ S CAZ S strains except for colistin.

Susceptibility rate to LEV was 63.8% versus 68.1% to CIP according to the EUCAST MIC breakpoints (1/2 and 0.5/1 mg/L respectively).

Using EUCAST breakpoints of 1 and 2 mg/L and results of the present study, disk diffusion breakpoints of ≥ 20: susceptible, < 16: resistant are proposed.

Conclusion: This study shows the good *in vitro* activity of LEV ($MIC_{50/90}$=0.5/64) against *Pseudomonas aeruginosa* isolated from ICU comparatively to CIP ($MIC_{50/90}$=0.25/32), but MICs are higher for PTZ R CAZ R strains. However, these results have to be compared to the PK-PD data. Using EUCAST breakpoints of 1 and 2 mg/L, disk diffusion breakpoints of ≥ 20: susceptible, < 16: resistant are proposed.

506/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

***Pseudomonas aeruginosa* produisant la métallo-bêta-lactamase VIM-4 en Algérie**

T. Naas[2], G. Cuzon[2], A. Stifa[2], A. Wahiba[1], P. Nordmann[2]
[1]Microbiologie, Hôpital Bologhine, Alger, Algérie [2]Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU du Kremlin-Bicêtre - INSERM U914, 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-négatif. Six MBLs : IMP, VIM, SPM, SIM, GIM, et AIM ont été identifiés depuis une quinzaine d'années. VIM-4 est un dérivé ponctuel de VIM-1, rapporté initialement en Grèce dans des entérobactéries. Ce travail avait pour but d'étudier la sensiblité aux antibiotiques de souches de *P. aeruginosa* isolées à l'hôpital Bologhine, Alger, Algérie et de caractériser le mécanisme moléculaire de la résistance aux carbapénèmes.

Méthodes : La sensibilité aux antibiotiques a été étudiée par antibiogramme en diffusion et les CMIs de l'imipénème par E-test. La souche de *P. aeruginosa* 275 résistantes aux carbapénèmes a été caractérisée par analyse des plasmides, détermination du point iso-électrique, et étude de transformation. Les gènes de MBL (IMP, VIM, SPM, SIM, GIM et AIM), ainsi que les gènes chromosomiques bla_{AMPC} et bla_{OXA-50} ont été recherchés par PCR. La présence d'une carbapénèmase a également été recherchée par hydrolyse de l'imipénème.

Résultats : La fréquence de résistance aux carbapénèmes au sein de *P. aeruginosa* était de 60% à l'hôpital Bologhine. Le mécanisme le plus prévalent est non-enzymatique, et seul une souche présentait un profil compatible avec l'expression d'une carbapénèmase. L'analyse du mécanisme moléculaire de la résistance aux carbapénèmes a mis en évidence la présence du gène bla_{VIM-4} associé au gène cassette *aacA4* codant pour une enzyme AAC(6)-Ib. Plusieurs plasmides ont été mis en évidence dans cette souche mais aucun n'hybridait avec une sonde VIM-4. Le gène bla_{VIM-4} n'était pas transférable par transformation ce qui était en faveur de la localisation chromosomique.

Conclusion : Ce travail soulignait le niveau de résistance élevé aux carbapénèmes (60%) à l'hôpital Bologhine. Ce travail présente la première identification d'une MBL (VIM-4) chez *P. aeruginosa* en Algérie. L'identification de cette bactérie dans un hôpital spécialisé dans la mucoviscidose adulte est inquiétante.

507/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Profil de résistance des entérobactéries isolées d'infections urinaires au CHU Hassan II de Fès

N. Benseddik, G. Yahyaoui, M. Mahmoud, A. Amarti
Microbiologie, CHU Hassan II, Fes, Maroc

Objectif : Le but de ce travail est d'étudier le profil de résistance des entérobactéries isolées dans les urines et évaluer les principaux facteurs de risque de la résistance chez ces patients.

Matériels et méthodes : Étude rétrospective portant sur les 582 souches d'entérobactéries isolées des urines colligées au laboratoire de microbiologie au CHU Hassan de Fès entre Octobre 2008 et Juillet 2009.

L'identification a été effectuée par les galeries API 20 E.

La détection des BLSE a été effectuée par le test de synergie entre l'acide clavulanique et les céphalosporines de 3ème génération sur milieu gélosé Mueller-Hinton selon les recommandations du CA-SFM.

Résultats : Sur 4732 échantillons urinaires, 684 répondaient aux critères d'infection urinaire dont 582 sont des entérobactéries (85%). 77% des prélèvements provenaient de patients hospitalisés et 23% d'échantillons ambulatoires. Le sex-ratio femme/homme était de 1,35. L'espèce Escherichia coli domine le profil épidémiologique avec 65%.

Les résistances sont respectivement de 72% pour l'Amoxicilline, 63% pour l'amoxicilline+l'acide clavulanique, 35% pour l'acide nalidixique et 20% pour la Ciprofloxacine. La sensibilité aux céphalosporines de 3ème génération reste conservée. La prévalence globale des BLSE est de 8% des entérobactéries.

Conclusion : Cette étude confirme le caractère préoccupant de l'évolution de la résistance aux quinolones et aux bétalactamines chez les entérobactéries urinaires ce qui implique une utilisation rationnelle des quinolones en particulier comme traitement de première intention des infections urinaires.

508/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

***Escherichia coli* et résistance aux antibiotiques (2002-2006)**

F. Sahli
Microbiologie, Faculté de médecine de Sétif, Sétif, Algérie

Escherichia coli (*E. Coli*) est parmi les entérobactéries les moins résistantes naturellement aux antibiotiques. L'étude de sa résistance aux antibiotiques est donc un bon indicateur de l'ampleur et de l'évolution de la résistance aux antibiotiques dans une communauté ou un établissement de soins. Espèce d'entérobactérie la plus fréquemment isolée d'infections aussi communautaires qu'hospitalières, l'émergence ou l'augmentation de son antibiorésistance complique la prise en charge de ces infections.

Au laboratoire de microbiologie du CHU de Sétif, Algérie, nous avons isolé 2207 souches d'*E. Coli* entre 2002-2006 ce qui représente le quart des espèces bactériennes isolées au cours de cette période. Nous avons étudié leur sensibilité aux antibiotiques par la méthode des disques de diffusion en milieu gélose selon les recommandations du CLSI. Les antibiotiques testés sont : ampicilline (AMP), amoxicilline + acide clavulanique (AMC), céfazoline (CZ), céfoxitine (FOX), céfotaxime (CTX), imipénème (IMP), gentamicine (GEN), amikacine (AMK), ciprofloxacine (CIP) et cotrimoxazole (SXT).

Nos souches proviennent essentiellement de prélèvements d'urine (64 %), de suppurations divers (21%) puis de plaies chirurgicales (6%), d'hémoculture (5%) et de selles (4%). Le pourcentage de résistance chez les patients hospitalisés et ceux en ambulatoire est de 86 et 81% respectivement pour AMP. Il est de 51 et 43% pour AMC, 47 et 36.7 pour CZ, 16 et 4.8% pour CTX par production de bêtalactamase à spectre élargi, 17 et 6.2% pour GEN, 14 et 14.9% pour CIP et 52.3 et 48.4% pour SXT. Aucune souche n'est résistante à l'IMP.

En conclusion, nos souches aussi bien hospitalières que communautaires présentent des résistances élevées aux antibiotiques surtout à ceux utilisés en pratique de ville et essentiellement dans les infections urinaires. Il est évident que la prise en charge des infections à *E. coli* même extrahospitalières pose des problèmes thérapeutiques. Peu de molécules restent actives. La sensibilisation sur la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques doit cibler encore plus les prescripteurs extrahospitaliers.

509/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Nitrofuranes et entérobactéries BLSE urinaires : pourquoi pas ?

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

Faire le constat de la solide implantation des Enterobactéries possédant une béta-lactamase à spectre élargie (BLSE) n'est pas une révélation. En particulier, Escherichia coli occupe actuellement le devant de la scène microbiologique avec notamment l'enzyme CTX_M très épidémique mais on voit aussi perdurer ou ressurgir d'autres genres (Klebsiella, Enterobacter, Citrobacter…) en fonction des écologies locales. Il est aussi parfaitement clair que les urines sont un émonctoire très efficace et un vecteur de transmission nosocomiale très fréquents pour ces BLSE. Parfois il n'est pas nécessaire de traiter par des antibiotiques, les simples mesures d'hygiène pour enrayer l'essaimage suffisent. Parfois il faut traiter pour contrôler une infection, pour améliorer le « confort » du patient, pour éviter la dissémination vers des foyers

secondaires. Quels antibiotiques dans la sphère urinaire : pour les infections graves la question se pose à peine, Carbapénèmes et/ou Fluoroquinolones (si cette classe reste sensible) Aminosides. Concernant les infections « basses » ou peu grave ou pour couvrir le retrait d'une sonde par exemple peut-on envisager plus simple ? Parmi les 14 112 souches d'Entérobactéries isolés entre 2003 et juin 2009, 95% sont sensibles aux Nitrofuranes et 97% à la Fosfomycine hormis les pénèmes ce sont les 2 antibiotiques demeurant dans le temps les plus sensibles sur notre écologie bactérienne urinaire. Si l'on extrait les 393 Entérobactéries BLSE retrouvées durant cette période, les pourcentages de sensibilité demeurent respectivement 91,3 % et 94.9 % pour Furanes et Fosfomycine. Sur ce même panel la sensibilité du Cotrimoxazole est de 29.3%, 27,7% pour les Fluoroquinolones mais 22.2 % pour les Quinolones de première génération et bien sur 0 % pour les béta-lactamines hors carbapénèmes et céphamycines. En écartant tout traitement de longue durée par les furanes ces derniers sont la plus simple alternative antibiotique car l'utilisation à doses répétées de la fosfomycine associé au trométamol dans les infections urinaires est certes hors AMM mais surtout aucune preuve d'efficacité n'a été démontréee et l'usage de la fosfomycine seule est subordonné à un abord veineux, est potentiellement toxique rénale, apporte une quantité de sel non négligeable et cet antibiotique en monothérapie possède un pourcentage de mutabilité élevé. Le traitement des infections urinaires à Entérobactéries BLSE est souvent un casse tête car soit on utilise de très veilles molécules dont l'activité est limitée et parfois inconstante mais à faible risque écologique pour la résistance des antibiotiques, soit on utilise des antibiotiques très large spectre très efficace mais qui ont un fort impact écologique à la fois individuel et collectif et font sans nul doute courir le risque de sélection de bactéries encore plus toto-résistantes. Si l'infection est sous contrôle et ne fait courir aucun risque prévisible au patient il est donc certainement préférable de choisir le premier schéma tout en se donnant les moyens d'en vérifier la pertinence et l'efficacité.

510/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Analyse multi-locus de 131 isolats cliniques et environnementaux du genre *Aeromonas*

F. Roger[4], C. Duval[4], B. Lamy[4-5], A. Kodjo[2], E. Jumas-Bilak[4], Col BVH[1], H. Marchandin[4-3]

[1]Collège de Bactériologie-Virologie et Hygiène des hôpitaux, Le Chesnay [2]Laboratoire de Bactériologie, Ecole Vétérinaire, Lyon [3]Laboratoire de Bactériologie, CHRU de Montpellier [4]EA3755-DIBOP, Université Montpellier 1, Montpellier [5]Laboratoire de Bactériologie, CH du Bassin de Thau, Sète, France

Les bactéries du genre *Aeromonas* sont ubiquitaires, essentiellement dulçaquicoles. Elles provoquent des infections chez les vertébrés et les invertébrés, surtout chez les poissons. Chez l'homme, *Aeromonas* spp. sont des pathogènes opportunistes actuellement considérés comme pathogènes émergents responsables d'infections intestinales et extra-intestinales chez l'immunocompétent. Malgré l'importance clinique d'*Aeromonas* spp., la structure des populations naturelles environnementales et cliniques reste peu explorée alors qu'elle peut permettre une meilleure compréhension des relations hôtes/bactéries.

Nous avons analysé 4 gènes de ménage (*dnaK*, *tsf*, *gyrB* et *rpoB*) chez des isolats cliniques (n=95) et environnementaux (n=36) ainsi que chez 33 souches types d'espèces ou sous-espèces du genre *Aeromonas*. L'approche phylogénétique est réalisée par maximum de vraisemblance sur un concaténère de 2739 pb et sur chaque gène. La majorité des souches se répartit en 3 grands clades, C1 (n= 33), C2 (n= 33) et C3 (n= 60) contenant des souches types d'espèces ou sous-espèces : *A. caviae* pour C1, *A. hydrophila* subsp. h*ydrophila* et *A. hydrophila* subsp. *ranae* pour C2, *A. allosaccharophila*, *A. ichtiosmia*, *A. veronii* subsp. *veronii* et *A. veronii* subsp. *sobria* pour C3. Ces clades sont robustes quelle que soit la séquence utilisée. Les autres souches types se répartissent dans l'arbre sur des branches indépendantes.

Les analyses génétiques et Multi Locus Sequence Typing (MLST) conduites sur chacun des 3 clades montrent une forte diversité génétique. Les 164 souches se répartissent en 138 séquence-types. Le principal complexe clonal, CC1, regroupe essentiellement des souches cliniques (12/13) alors que les autres CC comprennent des souches environnementales et des souches cliniques. On observe quelques événements de recombinaison au sein de chaque clade.

La phylogénie et la structure de population étudiée en MLST montrent que les isolats appartenant à C1 et/ou CC1 (associés à *A. caviae*) sont essentiellement cliniques. Il pourrait s'agir d'un clone épidémique émergent adapté à l'homme. Dans les autres clades et/ou CC, on n'observe aucune séparation entre les isolats cliniques et environnementaux, suggérant une transmission sporadique à l'homme à partir du réservoir environnemental.

511/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Caractérisation des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu communautaires isolées au Maroc

A. Barguigua[1-3], F. Bourjilat[1-2], B. Bouchrif[1], M. Talmi[3], F. El Otmani[3], M. Timinouni[1]

[1]Laboratoire de Bactériologie Moléculaire [2]Laboratoire de Microbiologie, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca [3]Laboratoire de Microbiologie, Faculté des Sciences d'El Jadida, El Jadida, Maroc

Introduction : Parallèlement à l'utilisation massive des β-lactamines ; les β-lactamases bactériennes ont évolué vers la diversification, l'élargissement de leur spectre d'activité, et leur diffusion parmi de nombreuses espèces d'entérobactéries d'origine communautaire.

Objectif : la caractérisation des entérobactéries BLSE uropathogènes d'origines communautaire isolées au Maroc.

Méthodes : douze souches d'entérobactéries BLSE uropathogènes ont été isolées au niveau des laboratoires privés d'analyses médicales dans 3 régions du Maroc. La sensibilité aux antibiotiques a été détectée par diffusion en milieu gélosé selon les critères du CA-SFM. La production de BLSE a été déterminée par le test de synergie entre l'acide clavulanique et céftazidime, céfotaxime, céfepime, aztreonam. Les CMI ont été déterminées par E-Teste. La caractérisation des gènes BLSE (TEM, SHV et CTX-M) et bêtalactamase de type AmpC ainsi que des gènes de résistance plasmidique aux quinolones est réalisée par PCR. Les variant des différents gènes ont été déterminés par séquençage. Les transferts génétiques ont été réalisés par conjugaison en utilisant la souche d'*E.coli* $K_{12}J_5$ résistante à l'azide de sodium comme souche réceptrice. Le typage moléculaire des souches a été réalisé par ERIC-PCR et électrophorèse en champ pulsé.

Résultats : les 12 souches étudiées, présentent une résistance à au moins 6 antibiotiques. Les BLSE exprimées sont de type TEM (4/12), SHV (3/12), et CTX-M (11/12). Cinq souches exprimaient au moins deux types de béta-lactamases.

Le gène *qnrS1* a été trouvé en association avec les gènes *CTXM-15* et *aac(6')-Ib-cr* chez deux souches BLSE. Le variant *aac(6')-Ib-cr* est détecté dans la totalité des souches étudiées. Les transferts génétiques ont montrés que *CTX-M-15* et *aac(6')-Ib-cr* été co-transférés ensemble et que ces gènes sont portés par des plasmides conjugatifs de haut poids moléculaire.

Conclusion : l'émergence de combinaison de gènes de résistance pourrait poser un problème de santé publique. Ainsi une politique de surveillance de la résistance parait nécessaire.

512/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Surveillance épidémiologique d'*Escherichia coli* sécréteur de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) dans les établissements de soins de la région Nord-Pas de Calais (NPDC)

C. Cattoen[7], K. Blanckaert[2], P. Cabaret[5], B. Grandbastien[4], I. Joly[1], T. Levent[6], M. Roussel-Delvallez[3]

[1]Hygiène, Centre Hospitalier, Dunkerque [2]Antenne régionale C.CLIN Paris-Nord [3]Bactériologie-Hygiène [4]Service de gestion du risque infectieux et des vigilances, CHRU, Lille [5]Réanimation, GHICL, Lomme [6]Hygiène, Maubeuge [7]Microbiologie, Centre Hospitalier, Valenciennes, France

Objectifs : L'épidémiologie des entérobactéries BLSE est bouleversée du fait de l'émergence de souches d'*E.coli* sécrétrices d'enzymes de type CTX-M, cette étude avait pour but de préciser les données épidémiologiques d'*E. coli* BLSE dans les établissements de soins de la région NPDC et les caractéristiques des patients porteurs.

Méthodes : Il s'agissait d'un travail proposé à l'ensemble des établissements de soins publiques ou privés de la région, associant microbiologistes, hygiénistes, ARCLIN et ARMEDA comportant deux volets :

- Analyse rétrospective des données des laboratoires de microbiologie entre 2005 et 2007.

- Analyse prospective de 15 dossiers patients par centre.

Résultats : Représentativité : 37 établissements (1 CHU, 23 CH, 13 établissements privés) ont participé à l'enquête. L'étude rétrospective a porté sur plus de 12 millions de journées d'hospitalisation, plus de 85.000 souches d'*E. coli* ont été isolées entre 2005 et 2007dont 1600 produisaient une BLSE. 309 dossiers patients ont été analysés en 2008.

Données microbiologiques : Le taux de souches BLSE au sein de l'espèce est passé de 1.15% à 2.70% entre le premier semestre 2005 et le second semestre 2007. L'incidence d'isolement d'*E. coli* BLSE des prélèvements diagnostiques pour 1000 jours d'hospitalisation a été multipliée par 3 en MCO durant la même période passant de 0.09 à 0.26.

Données patients : L'isolement de la souche était effectué moins de 48 h après l'admission chez 46% des patients. Les sites d'isolement étaient respectivement : les urines (71.5%), les prélèvements superficiels (18.8%), les prélèvements bronchiques (5.5%), les hémocultures (4.2%).

36.3% des patients n'avaient pas eu d'hospitalisation dans les 6 mois, 44.2% n'avaient pas reçu d'antibiotiques dans les 6 mois. Chez 10.5% des patients, on ne retrouvait aucun facteur de risque d'acquisition d'une BMR (ni hospitalisation, ni vie en institution, ni prise d'antibiotique, ni soins à domicile, ni profession médicale ou paramédicale dans l'entourage du patient).

Conclusion : Cette étude confirme la montée en charge des souches d'*E. coli* BLSE dans les établissements de la région NPDC et la composante communautaire des infections liée à cette bactérie.

513/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Épidémie à *Klebsiella pneumoniae* productrice de CTX-M-15 et hétérorésistance à l'imipénème

S. Rekik, B. Mnif, S. Gargouri, M. Fourati, S. Mezghani Maalej, F. Mahjoubi, A. Hammami
Bactériologie, CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

Objectif : Décrire une épidémie à *Klebsiella pneumoniae* productrice de bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE), et rapporter le développement d'une hétérorésistance à l'imipénème.

Patients et méthodes : Entre Avril et Juillet 2009, nous avons été confrontés, à l'hôpital Habib Bourguiba à Sfax, à une épidémie de *K. pneumoniae* à BLSE intéressant 10 patients. L'antibiogramme a été effectué par la méthode de diffusion sur milieu gélosé selon les normes du CA/SFM. Les concentrations minimales inhibitrices ont été déterminées par les méthodes E-test et des dilutions. La présence des gènes codant pour les BLSE et les carbapénémases a été testée par PCR puis caractérisée par séquençage. Le typage moléculaire des souches a été effectué par ERIC-PCR.

Résultats : Les 10 souches avaient le même antibiotype exprimant une résistance aux β-lactamines à spectre étendu et à d'autres classes d'antibiotiques comme les quinolones, les aminosides, les tétracyclines et les phénicolés. Ces souches étaient identifiées comme productrices de BLSE par test de synergie entre l'acide clavulanique et les C3G. Cette BLSE était identifiée comme une CTX-M-15 par PCR-séquençage. Toutes les souches avaient le même profil ERIC. Aucune souche épidémique n'hébergeait de carbapénémases. Curieusement nous avons noté le développement d'une hétérorésistance à l'imipénème par une souche isolée chez un patient recevant l'imipénème pour le traitement d'une infection du site opératoire à cette souche épidémique. Cette souche était étiquetée intermédiaire à l'imipénème selon la méthode de diffusion des disques. La méthode E-test, a révélé la pousse d'une sub-population résistante au niveau de la zone d'inhibition donnant une CMI de l'imipénème > 32 mg/l.

En conclusion : Cette épidémie de *K. pneumoniae* multi-résistante aux antibiotiques est préoccupante et est le reflet de l'importance du problème posé par la diffusion des CTX-M-15 dans le monde. Il s'agit de la première description d'une hétérorésistance aux carbapénèmes chez *K. pneumoniae* et de la deuxième chez les entérobactéries puisqu'elle a été décrite récemment chez *Enterobacter aerogenes*. La détermination du mécanisme de l'hétérorésistance à l'imipénème chez les bacilles à Gram négatif et de son impact clinique s'avèrent alors nécessaires.

514/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Extended-spectrum beta-lactamases in ceftazidime-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from children in Tunisia

N.H. Jlili[3], S. Réjiba[2], A. Novais[1], H. Smaoui[3], R. Canton[1], T. Coque[1], A. Kechrid[3]
[1]Servicio de Microbiologia, Hospital Universitario Ramon y Cajal, Madrid, Espagne [2]Département des Sciences Biologiques, Faculté des Sciences [3]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital d'Enfants de Tunis, Tunis, Tunisie

Aim: To determine the basis of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) phenotypes in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates from children.

Methods: Sixty-seven clinical isolates of *K. pneumoniae* resistant to ceftazidme were collected from different samples and patients in the Children's Hospital of Tunis, (Tunisia) from June to September 2003. Antibiotic susceptibility was performed by standard CLSI disk diffusion method. ESBL were detected by the modified disk diffusion test (MDDT). The beta-lactamases were characterized using isoeletric focusing and PCR assays. Primers used were bla_{TEM}, bla_{SHV} and bla_{CTX-M}. Conjugation was carried out to determine the transferability of resistance to extended-spectrum cephalosporins. Clonal relatedness was established was established by pulse field gel electrophoresis (PFGE).

Results: All strains were resistant to beta-lactam antibiotics including third generation cephalosporins, but they were susceptible to imipenem. MDDT were positive in all the strains. IEF identified multiple β-lactamases with pI values ranging from 5.4 to 8.6. Two major ceftazidime-hydrolysing bands, with pIs of 7.6 and 8.6, were identified in 27 isolates. The 67 strains clustered in 10 PFGE types designed as A (n=18 isolates), B (n=9), H (n=7) I (n=5), C (n=4), G (n=3), D, E, F and J (n=2 isolates each). Genes encoding ESBLs were identified only in 45 isolates (35 bla_{SHV-12}, corresponding to PFGE types A, E, G, H and I (52,3%); 6 $bla_{CTX-M-15}$, corresponding to PFGE types C and D (9%); and 1 $bla_{CTX-M-3}$, corresponding to PFGE type C (1,5%)) while 22 isolates did not amplify with the primers used. TEM-1 enzyme was found in three isolates. Transconjugants of *K. pneumoniae* strains carried a variety of plasmids that differed in size (60 Kpb, 100 Kpb, 120 Kpb and 200 Kb).

Conclusion: Our study confirm the widespread of *K. pneumoniae* producing SHV-12 and CTX-M-15 in Tunisia. The high number of isolates which could not be identified suggests that other mechanisms of resistance are important in the epidemiology of ESBLs in our country.

515/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Caractérisation moléculaire des bêta-lactamases à spectre étendu chez des souches de *Klebsiella pneumoniae* isolées à l'hôpital la Rabta de Tunis

C. Harchay, A. B Othmen, M. Zribi, L. Ammari, A. Masmoudi, C. Fendri
Microbiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

Objectif : L'objectif de ce travail a été de caractériser les BLSE produites par les souches de *K. pneumoniae* isolées à l'hôpital la Rabta et d'étudier les facteurs de risque associés à l'acquisition de cette enzyme.

Matériel et méthodes : A partir de 219 souches recensées entre Mars 2007 et Mars 2009, 81 souches de *K. pneumoniae* non redondantes productrices de BLSE ont été sélectionnées pour cette étude. Elles ont été identifiées par galerie API 32E puis un antibiogramme a été établi selon les recommandations du CA-SFM. La détection de la production des BLSE a été réalisée par le test de double synergie entre une céphalosporine de 3ème génération et un disque d'amoxicilline-acide clavulanique. Le typage de ces enzymes a été réalisé par PCR ciblant les gènes CTX-M surtout CTX-M-1 et CTX-M-9, puis de types TEM et SHV pour les souches CTX-M négatives.

Résultats : Les souches de *K. pneumoniae* productrices de BLSE ont été essentiellement isolées d'hémocultures (36%) et d'ECBU (35%) chez des patients hospitalisés notamment dans les services de néonatalogie et de réanimation. L'origine nosocomiale a été retrouvée dans 78% des cas. Ces souches ont montré un haut niveau de résistance essentiellement aux aminoglycosides : kanamycine (91%), gentamycine (83%) et amikacine (54%). 48% de ces dernières étaient résistantes à toutes les fluoroquinolones testées.

La majeure partie de la population correspond à des âges extrêmes (42% de nouveau-nés et 17% entre 60 et 75 ans). 42% des patients ont subi au moins une manœuvre invasive (cathéter, Intubation et ventilation, sonde vésicale, nutrition parentérale). Le délai moyen d'acquisition du germe varie selon le service (6,5j en néonatalogie, 9j en chirurgie et 10,5j en réanimation). Le taux de mortalité était de 18%.

L'étude moléculaire a montré que 63 souches (78%) produisaient une β-lactamase de type CTX-M dont 71% de type CTX-M-1. Chez les 18 souches qui sont négatives pour la CTX-M, SHV et TEM ont été détectées respectivement chez 16 (20%) et 8 (10%) souches dont 7 souches co-produisent TEM et SHV.

Conclusion : Un typage de ces enzymes par isoéléctrofocalisation, l'application d'autres marqueurs épidémiologiques comme le champ pulsé et la restriction de l'ADN plasmidique sont nécessaires pour le suivi de la diffusion de ces souches et sont en cours.

516/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Émergence de souches d'*Enterobacter cloacae* de sensibilité diminuée à l'ertapénème au CHU de Limoges

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

Objectif : Les entérobactéries sont résistantes à l'ertapénème par acquisition d'une imipénémase ou l'association d'une perte de porine et une céphalosporinase déréprimée ou une b lactamase de type bLSE.

Devant l'émergence de souches de *E. cloacae* hyperproductrices de céphalosporinase de sensibilité diminuée à l'ertapénème, une étude a été menée sur la sensibilité à l'ertapénème des souches d'entérobactéries productrices de céphalosporinase, isolées pendant l'année 2008.

Résultats : En 2008, en excluant les doublons, 701 entérobactéries productrices de céphalosporinase chromosomique ont été isolées. Elles se répartissaient en *E.cloacae* pour 31,2% (219 souches), *Morganella morganii* pour 20% (141), *Serratia marcescens* pour 12,2% (86), *E.aerogenes* pour 12% (85), *Citrobacter freundi*i pour 11% (76), *Hafnia alvei* pour 7% (48) et autres pour 6,6% (46).

La proportion de souches hyperproductrices de céphalosporinase était de 20,7%, avec 52,4% pour *E.cloacae* (soit 76 souches), 14,5% pour *E.aerogenes*, 12,4% pour *C.freundii*, 11,7% pour *M.morganii*, 9,5% pour *S.marcescens,* 3,5% pour *H.alvei*,, et aucune pour les autres espèces.

Une souche d'*E.aerogenes* (hyperproductrice de céphalosporinase) et 38 d'*E.cloacae* (37 hyperproductrices de céphalosporinase et 1 BLSE) étaient résistantes à l'ertapénème.

Un typage moléculaire de ces 38 souches par électrophorèse en champ pulsé GenepathÒ (BioRad) a montré leur polyclonalité.

Les CMIs de l'ertapénème sur milieu de Mueller Hinton avec cloxacilline (AES) des 37 souches de *E. cloacae* (0,016 et 0,38 mg/L) étaient inférieures à celles réalisées sans cloxacilline (0,75 à 8 mg/L). Ces résultats suggèrent que l'hyperproduction de céphalosporinase est en partie responsable de la résistance à l'ertapénème.

Conclusion : Au CHU de Limoges, en dehors de tout phénomène épidémique, la proportion de souches de *E. cloacae* hyperproductrices de céphalosporinase résistantes à l'ertapénème était importante en 2008 (48,7%). Ceci nous a amené à déconseiller cet antibiotique pour une infection à *E. cloacae* multirésistant aux β-Lactamines.

517/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Sensibilité de *Neisseria gonorrhoeae* aux antibiotiques à La Réunion

O. Belmonte[1], C. Bencimon[2], C. Denoix[1], J.C. Saly[1], M.C. Jaffar-Bandjee[1]
[1]Laboratoire de Microbiologie, CHR La Réunion, Site Félix Guyon [2]Laboratoire d'analyses médicales, Laboratoire Bionostic, Saint Denis, France

Objectif : Les recommandations françaises de traitement des urétrites et cervicites gonococciques (UCG) non compliquées ont récemment évolué avec la préconisation des C3G et une mise en garde contre l'inefficacité fréquente des fluoroquinolones (FQ). Dans l'Océan Indien, une étude récente démontre un faible taux de résistance de *Neisseria gonorroheae* (*NG*) aux FQ à Madagascar qui restent une classe thérapeutique d'intérêt majeur pour le traitement simultané des infections à *Chlamydia trachomatis*. A La Réunion, devant la recrudescence des maladies sexuellement transmissibles et les particularités de l'écologie bactérienne locale, se pose la question de la prise en charge thérapeutique efficiente de ces infections. L'objectif de cette étude est de déterminer la politique de prise en charge thérapeutique adaptée des UCG à La Réunion.

Méthode : Entre août 2008 et juillet 2009, les souches de *NG* (n=48) isolées au sein du laboratoire du CHR de Saint Denis (n=8) et de laboratoires d'analyses médicales du nord de l'île (n=40) ont été identifiées par galerie APINH après culture sur milieux sélectifs (VCAT) ou enrichis (Polyvitex). La sensibilité aux antibiotiques suivants a été mesurée et interprétée selon les recommandations du CA-SFM : Pénicillines G, Céfixime, Céftriaxone, Doxycycline, Spectinomycine, Acide Nalidixique, Ciprofloxacine. Une recherche de pénicillinase (Pase) a été réalisée par un test chromogénique.

Résultats : *NG* a majoritairement été isolé chez des hommes (80%), chez des sujets jeunes (65% < 30 ans) et non hospitalisés (83%). La sensibilité mesurée aux béta lactamines présente une inefficacité fréquente de la pénicilline G (59,7% de résistance dont 30,4% de Pase+) et aucune souche résistante aux C3G. Les taux de résistance aux cyclines (39,6%) et aux FQ (33,3%) sont importants contrairement à la spectinomycine (0%).

Conclusion : *NG* présente à La Réunion un taux de résistance aux FQ ne permettant plus une prise en charge probabiliste des UCG par cette classe thérapeutique. Aucune souche résistante aux C3G et à la Spectinomycine n'a été détectée. Les recommandations de l'AFSSAPS (C3G en 1ére ligne, spectinomycine en cas d'allergie) doivent donc être préconisées sur l'île de La Réunion pour le traitement des UCG. Une surveillance étroite de la sensibilité de *NG* aux antibiotiques et en particulier aux C3G doit être maintenue afin de détecter tout phénomène de résistance émergent.

518/83A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Sequence-based typing of clinical *Legionella pneumophila* isolates from Belgium (2000-2009)

W. Achtergael, O. Soetens, I. Wybo, B. De Saeger, L. Eeckhout, D. Pierard, S. Lauwers
Department of Microbiology and Infection Control, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels, Belgique

Purpose of the study: Sequence-based typing (SBT) is a genotypic discriminatory method widely used to characterise *Legionella pneumophila* strains. In this study, clinical strains received in one of the Belgian reference centres of Legionella were typed.

Methods: The strains were examined using the internationally standardised SBT protocol (seven-gene loci) of the European Working Group for Legionella Infections (EWGLI). Clinical isolates of *L. pneumophila* serogroup 1 obtained from 43 patients during 2000-2009 were analysed. Most patients were male (83%) and over 50 years old (80%). In addition, 3 environmental strains linked to 3 of the patients (2 were epidemiologically related) were analysed.

Results obtained: The clinical isolates could be classified into 20 different sequence types (ST). ST47 (28%) and ST1 (16%) were the most frequently detected sequence types, which is in accordance to data found in the EWGLI SBT-database. ST42, 110, 487 and 664 were found in more than one strain. ST487 was detected twice (2001 and 2008) in patients probably infected in Turkey. Two new sequence types could be detected which were not yet reported to the SBT-database (one in a patient who had recently visited Spain while the other patient was probably infected in Belgium). The average age of the patients at infection differed over the sequence types: ST47-patients were younger (average age: 52 years) as compared to ST1, ST110 and ST42 patients (overall average age: 68 years). The 3 environmental strains could be matched with the 3 clinical isolates and were all ST 110.

Conclusion: This study enabled, for the first time in Belgium, to characterize *L. pneumophila* clinical isolates with the SBT method, and to create a Belgian profile database for use in future epidemiological studies.

519/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Détection de la résistance à l'isoniazide chez *Mycobacterium tuberculosis* : comparaison du système BACTEC MGIT960 (MGIT960), de la méthode des proportions en milieu solide (MP) et du test GenoType MTBDR *plus* (MTBDR *plus*)

P. Bemer[1], M.J. Gouzerh[1], C. Besson[1], N. Veziris[2], W. Sougakoff[2], A. Reynaud[1]
[1]Bactériologie-Hygiène, CHU Hôtel-Dieu, Nantes [2]Centre national de référence des mycobactéries, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Objet de l'étude : Cette étude rétrospective se propose d'évaluer la performance du système MGIT960 à détecter la résistance à l'isoniazide (INH) chez *Mycobacterium tuberculosis* (MTUB), en le comparant à la méthode des proportions (MP) et à la détection moléculaire de la résistance par le test MTBDR *plus*.

Méthodes : Un antibiogramme a été réalisé pour 729 souches non redondantes de MTUB isolées entre 2002 et 2009. Toute souche présentant une résistance à la concentration [C] critique de 0.1 mg/L était testée à 0.1 mg/L et à 0.4 mg/L. Chaque souche résistante (R) était contrôlée par la MP à 4 [C] (0.1-0.2-1-10 mg/L), et analysée par le test MTBDR*plus*. Six souches vérifiées par le Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance aux Antituberculeux (1 souche de contrôle de qualité externe, et 5 souches cliniques) étaient inclues dans l'étude.

Résultats obtenus : 49 souches étaient R avec le MGIT960, 18 présentant un bas niveau de résistance (RBN à 0.1 mg/L), et 31 un haut niveau de résistance (RHN à 0.4 mg/L). Les résultats définitifs sont disponibles pour 33 souches.

Parmi 17 souches RBN, 6 sont sensibles et 11 sont confirmées R par la MP. Sept des 11 souches R ont une mutation dans le promoteur du gène *inhA* (pro*inhA*). Aucune souche ne présente de mutation dans le gène *katG*.

Parmi 16 souches RHN, 3 sont confirmées RBN par la MP (R à 0.1 et S à 1 mg/L) sans mutation du gène *katG* ou du pro*inhA*. Treize souches sont confirmées RHN par la MP (9 à 1 mg/L et 4 à 10 mg/L) : 9 présentent une mutation dans le gène *katG*, 1 présente une mutation des 2 gènes *katG* et pro*inhA*, et 1 une mutation du pro*inhA*.

Ainsi, parmi les 27 souches R confirmées par la MP, seules 18 ont une mutation détectée par le test MTBDR*plus* ; les 9 souches sans mutation reconnue sont RBN (n=7) ou RHN (n=2).

Conclusion : L'automate MGIT960 est un système de détection rapide de la résistance aux antituberculeux. Cependant, l'existence de rares souches faussement R à l'INH, notamment à bas niveau, recommande d'effectuer un contrôle. Le test MTBDR*plus* permet une confirmation rapide de la R en cas de mutation détectée dans les gènes *katG* et/ou pro*inhA*. Toutefois, un résultat négatif ne permettant pas d'éliminer une résistance, la MP doit, dans ce cas, être utilisée.

520/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Détection d'ADN de *Mycobacterium tuberculosis* (MT) dans les prélèvements cliniques à l'aide du système Xpert® MTB/RIF : résultats préliminaires

B. Malbruny, G. Le Marrec, R. Leclercq
Service de Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France

Objectif : Le système de PCR temps-réel (qRT-PCR) Xpert MTB/RIF (I-L France, Cepheid) permet d'amplifier en 2 heures l'ADN de MT et de détecter la résistance à la rifampicine à partir des prélèvements cliniques respiratoires. L'objectif était d'évaluer les performances de ce système sur divers échantillons en comparaison avec l'examen direct et la culture.

Méthodes : Chez 27 patients, 27 échantillons [respiratoires (19), ganglions (3), abcès (3) et LCR (2)] ont été prélevés sur lesquels a été pratiquée une recherche de mycobactéries par un examen direct (ED), une culture (MGIT et milieu de Loewenstein), une qRT-PCR et un antibiogramme en cas de culture positive. Pour les patients suspects de tuberculose pulmonaire, deux autres prélèvements de tubage ou d'expectoration étaient effectués sur lesquels la qRT-PCR n'a pas été pratiquée. Quatre des échantillons ont également été analysés par PCR classique Amplicor (Roche Diagnostics).

Résultats : Ils sont montrés dans le tableau.

	ED			qRT-PCR		
	Non fait	Neg	Pos	Inhibiteurs	Neg	Pos
Culture –	2	16	0	2	16	0
Culture +	0	7	2	0	2	7

Parmi 9 échantillons à culture positive, 7 étaient positifs par qRT-PCR (5 respiratoires, 1 liquide articulaire, 1 nodule épiploïque) contre 2 à l'ED (P=0,057). Les délais de culture étaient de 11, 12, 13, 15, 31 et 33 j pour les positifs qRT-PCR et de 18 et 33 j pour les négatifs. Les 2 négatifs par qRT-PCR étaient un ganglion et un liquide pleural. Les 2 échantillons avec inhibiteurs de PCR étaient un LBA et une aspiration bronchique. La détection de la résistance à la rifampicine par qRT-PCR chez les 7 positifs était négative, ce qui a été confirmé par l'antibiogramme. Parmi les positifs en culture, 2 avaient été également analysés par PCR Amplicor, l'un trouvé négatif et l'autre contenant des inhibiteurs, alors que tous deux étaient positifs par qRT-PCR.

Conclusion : Dans cette étude à confirmer par une plus grande série, la technique Xpert MTB/RIF s'est montrée plus sensible que l'examen direct permettant un diagnostic précoce 7 fois sur 9. Elle a permis de prédire précocement la sensibilité à la rifampicine. La technique Xpert MTB/RIF est facile à mettre en œuvre sans personnel spécialisé en biologie moléculaire et permet des analyses quotidiennes avec un résultat rapide.

521/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Performances du test *Mycobacterium tuberculosis* Direct sur les échantillons extra-respiratoires (étude sur 1 538 échantillons)

A. Zrara[1], M. Fabre[1], R. Vong[1], P. Saint-Blancard[1], P. Gérôme[2], A. Boudhas[1], C. Soler[1]
[1]Biologie médicale, HIA Percy, Clamart [2]Biologie médicale, HIA Desgenettes, Lyon, France

Objectif : Évaluation sur une grande série d'échantillons, afin de préciser les localisations extra-pulmonaires pouvant bénéficier d'une recherche directe de *Mycobacterium tuberculosis* au moyen du kit « Gen-Probe Amplified *Mycobacterium tuberculosis* Direct ».

Méthodes : sur une période s'étalant de mars 1998 à août 2009,1538 prélèvements d'origine extra pulmonaire effectués sur 1182 patients ont été colligés, pour bénéficier d'un test AMTD. En parallèle ont été effectuées sur ces prélèvements des cultures sur milieu solide et liquide. Les performances de ce test seront comparées par rapport au "Gold standard" associant les données cliniques, biologiques et radiologiques.

Résultats : la tuberculose extra-pulmonaire a été diagnostiquée chez 17,59% des patients (n = 208).Sur les 1538 prélèvements (225 échantillons positifs en culture, 248 positifs en AMTD, 99 échantillons exclus pour présence d'inhibiteurs) ; 273 correspondaient à une tuberculose. Après analyse des résultats, la sensibilité, la spécificité, la valeur prédictive positive et la valeur prédictive négative sont respectivement : 89%, 99,9%, 99,6% et 97,3%. Les échecs de l'AMTD s'expliquent en grande partie par :soit un volume insuffisant d'échantillon analysé, un prélèvement paucibacillaire, la présence d'inhibiteurs et l'existence d'un traitement en cours ou préalable. Cet échec est particulièrement vrai pour les échantillons de liquide pleural (la majorité des échantillons présentant un inhibiteur, en plus du fait qu'ils soient paucibacillaires).

Conclusion : l'AMTD est également un outil de diagnostic précoce de la tuberculose dans les formes extra-pulmonaires exception faite pour les liquides pleuraux où le dosage de l'adénosine désaminase se révèle plus judicieux. Il reste actuellement le test le plus sensible.

522/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Évaluation du kit SD BIOLINE TB Ag MPT 64 Rapid, dans le cadre du diagnostic de la tuberculose

M. Fabre[1], R. Vong[1], F. Nouridjan[4], A. Mérens[3], T. Gaillard[4], P. Saint-Blancard[1], P. Gérôme[2], C. Soler[1]
[1]Biologie médicale, HIA Percy, Clamart [2]Biologie médicale, HIA Desgenettes, Lyon [3]Biologie médicale, HIA Bégin, Saint Mandé [4]Biologie médicale, HIA Saint-Anne, Toulon, France

Objet : Évaluer le kit SD BIOLINE TB ag MPT 64 Rapid (Standard diagnostics, INC.) dans le cadre du diagnostic antigénique de la tuberculose après culture en milieu liquide ou solide.

Méthodes : - le kit, test rapide d'immunochromatographie utilisant un anticorps monoclonal de souris anti MPT 64 pour la capture ; nécessite une simple extraction à partir de 100 µl d'une culture en milieu liquide ou à partir de colonies ou du liquide de condensation sur milieu solide (durée du test 15 minutes).

- étude de la sensibilité : 99 souches cliniques de mycobactéries du complexe *tuberculosis* dont 1 BCG, 7 *M. africanum,* 3 *M. bovis,* 11 *M. canetti,* 77 *M. tuberculosis* (78% de prélèvements pulmonaires ; 75% de souches isolées en milieu solide, 15% en milieu liquide, 10% dans la phase de condensation).

- étude de la spécificité : 10 souches de mycobactéries atypiques, 30 entérobactéries, 55 souches bacilles à Gram + (genre *corynebacterium* (17 espèces), actinomycetes, *arcanobacterium*, *nocardia*).

Résultats : - Sensibilité : 99%, résultat négatif avec la souche de BCG (déjà rapporté, lié à des mutations sur le gène) ; parfaite identification pour les autres espèces ; en milieu liquide (MGIT, BACTEC 960 BD) si analyse faite sur échantillons avec faible unité de croissance, image de moindre intensité pour *M. africanum* par rapport à *M. tuberculosis*.

- Spécificité : 100%

Conclusion : Ce test basé sur la mise en évidence de l'antigène MPT 64 (protéine spécifique du complexe *tuberculosis,* actuellement incriminée dans la virulence) présente des performances excellentes. Il s'agit d'un test unitaire, rapide, ne nécessitant pas de matériel particulier, beaucoup moins cher que les méthodes diagnostiques basées sur des techniques moléculaires. Il est appelé à être utilisé dans tous les laboratoires réalisant des cultures de mycobactéries, en particulier dans les laboratoires de terrain en zone endémique. Son utilisation en routine doit être réservée aux souches achromogènes sur milieux solides et être réalisée sur les milieux liquides après coloration de Ziehl lorsque l'aspect des bactéries et leur regroupement sous forme de cordes évoquent *M. tuberculosis.*

523/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Infections à mycobactéries de croissance rapide : caractéristiques cliniques, microbiologiques de 15 cas diagnostiqués au CHU de Montpellier

E. Chastan[6], H. Marchandin[5], H. Jean-Pierre[6], E. Oziol[1], G. Lefalher[3], R. Chiron[2], D. Terru[6], C. Carriere[6], S. Godreuil[6-4]
[1]Service de Médecine Interne, CHG de Béziers, Bézier [2]Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose, Service de Pneumologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve [3]Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Gui De Chauliac, CHRU de Montpellier [4]Centre IRD de Montpellier, GEMI, UMR CNRS-IRD 2724 [5]Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Université Montpellier 1, EA3755, Faculté de Pharmacie [6]Laboratoire de Bactériologie-Virologie, hôpital Arnaud de Villeneuve, Université Montpellier 1, EA4205 et CHRU Montpellier, Montpellier, France

Objectifs : Parmi les espèces de mycobactéries de croissance rapide (MCR) fréquemment impliquées en pathologie humaine sont retrouvées les groupes *Mycobacterium chelonae/abcessus* (incluant les espèces *M. massiliense*, *M. bolletii*, *M. immunogenum*), *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium smegmatis* (incluant *M.smegmatis stricto sensu* et *M. goodii*) ainsi que d'autres groupes plus rares. L'objectif de cette étude est de décrire sur un plan clinique et microbiologique l'ensemble des infections dues aux MCR diagnostiquées au CHU de Montpellier durant 2,5 ans.

Méthodes : Entre janvier 2007 et juin 2009, 15 cas d'infections dues à des MCR ont été diagnostiqués au CHRU de Montpellier. Pour les formes pulmonaires, le diagnostic d'infection a été retenu lorsqu'il répondait aux critères de l' « American Thoracic Society ». L'ensemble des isolats a été cultivé sur milieux de cultures spécifiques (Löwenstein et Middlebrook). L'identification d'espèce a été réalisée par le Kit GenoType *Mycobacterium* AS/CM® (Hain Lifescience) et par amplification et séquençage partiel des gènes ARNr 16S, *rpoB* et *hsp65*.

Résultats : Les 8 cas d'infections respiratoires sont dus à *M. abscessus* (3 patients avec une insuffisance respiratoire chronique, 5 atteints de mucoviscidose). Les 3 cas d'infections de la peau et des tissus mous correspondent à des abcès du sein à *M. abscessus* (1 patiente) et à *M. fortuitum* (1 patiente) et à une abcès cutanée du bras à *M. chelonae* (1 patiente). Ont également été diagnostiqués un cas de sacro-iléite à *M. abscessus*, un cas de péritonite à *M. massiliense*, un cas de bactériémie sur cathéter à *M. fortuitum* et une infection sur pacemaker à *M. goodii*.

Conclusions : Cette étude est en accord avec les données récentes de la littérature qui semblent confirmer le rôle de pathogène émergent chez l'homme des MCR incluant un nombre croissant de nouvelles espèces identifiées. Par ailleurs, ce travail souligne l'importance des outils moléculaires, en particulier le séquençage partiel de gènes de ménage pour l'identification précise et définitive d'espèce souvent non réalisable avec les kits commerciaux.

524/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Le diagnostic de la tuberculose à microscopie négative par PCR. Expérience du CHU de Béni-Messous

H. Ammari, M. Hamidi, R. Djedjik, M. Ghafour
Laboratoire Central de Biologie, Centre Hospitalo-universitaire de Béni Messous, Alger, Algérie

Objectifs : La détermination rapide de la présence du génome bactérien de Mycobacterium tuberculosis par une méthode d'amplification génique (polymerase chain reaction = PCR et réactions apparentées) constitue un progrès récent dans le diagnostic de la tuberculose mais ne représente pas encore la méthode de référence.

L'objectif de ce travail est d'évaluer l'intérêt du diagnostic de la tuberculose par PCR et de comparer les données de l'amplification génique aux résultats bactériologiques.

Matériels et méthodes : Des échantillons de différents liquides biologiques provenant de 29 patients (11 liquides pleuraux, 12 liquides bronchiques, 2 urines, 1 liquide d'ascite, 1 liquide synoviale et 2 pus) chez lesquels un diagnostic clinique de probabilité de tuberculose avait été porté ont été examinés de manière prospective par coloration à l'auramine, par culture sur milieu de Löwenstein-Jensen et par PCR nichée.

Le kit MTB Nested ACE Detection (Seegene) basé sur l'amplification de deux cibles (IS6110 et MPB64) a été utilisé pour les échantillons à microscopie négative.

Résultats : Ces techniques d'amplification génique ont permis de détecter 4 échantillons positifs (2 liquides bronchiques et 2 pus). Ces résultats seront confrontés aux données de la culture sur milieu de Löwenstein-Jensen au 28ème et au 42ème jour.

Conclusion : Ces techniques d'amplification génique ont été simples d'utilisation,elles sont sensibles et rapides et pourront être d'un très grand apport au diagnostic de la tuberculose dans les prélèvements paucibacillaires.

525/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Application du système de détection rapide du complexe *M. tuberculosis* et de la résistance à la rifampicine par le test Xpert® MTB/RIF aux prélèvements pulmonaires décontaminés, aux prélèvements non respiratoires et aux cultures

L. Deforges, J.M. Le Glaunec, N. Launay, R. Vergne, A. Minaret, M. Marzouk, P. Legrand
Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Henri Mondor, Créteil, France

GeneXpert® (Cepheid) est un système automatisé de PCR en temps réel très facile d'utilisation, adapté à l'urgence. Le principe du test Xpert® MTB/RIF est de détecter les mycobactéries du complexe *M. tuberculosis* et d'éventuelles mutations dans le gène *rpo*B entraînant une résistance à la rifampicine directement à partir de 500 µl d'un prélèvement respiratoire. Après lyse de l'échantillon toutes les étapes de la PCR se déroulent en 1h30 dans l'automate

Certaines contraintes nous on conduit à tester ce système sur différents types d'échantillons avec des procédures différentes :

- Prélèvements respiratoires et urinaires décontaminés par la NACL/NaOH : 500 µl du produit de décontamination ont été ajoutés à 1,5 ml de tampon de lyse.

- Prélèvements non respiratoires non décontaminés (liquides de ponction, biopsies) parfois de faible volume complétés à 500 µl avec de l'eau distillée.

- Cultures en milieu solide après suspension d'une colonie dans 500 µl d'eau distillée, ou en milieu liquide en prenant 500 µl après centrifugation.

15 prélèvements pulmonaires décontaminés (PPD), et 24 prélèvements non pulmonaires (PNP) on ainsi testés.

12 PPD/15 étaient négatifs en Xpert® MTB/RIF et COBAS®TaqMan® MTB Test. Pour 10 prélèvements la culture s'est révélée négative, pour 2 prélèvements une mycobactérie atypique a été isolée.

3 PPD étaient positifs en Xpert® et COBAS et ne montraient pas de mutations. La culture a permis d'isoler *M. tuberculosis* sensible à la rifampicine dans ces 3 cas.

20 PNP/24 étaient négatifs par les deux techniques PCR et négatifs en culture et 4/24 (1 LCR, 1 liquide pleural, 2 biopsies ganglionnaires) étaient positifs par les deux techniques et ne montraient pas de mutations dans le gène *rpo*B. La culture a permis d'isoler *M. tuberculosis* sensible à la rifampicine dans ces 4 cas.

9 cultures testées ont été identifiées *M. tuberculosis* par Xpert® et par sondes GEN-PROBE®, 1 souche présentant une mutation dans le gène *rpo*B a été confirmée résistante par l'antibiogramme.

Conclusion : Ces résultats préliminaires obtenus sur un nombre encore restreint d'échantillons montrent une concordance parfaite du test Xpert® MTB/RIF avec les tests classiques du laboratoire quel que soit la nature de l'échantillon testé.

526/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

La culture et l'antibiogramme de mycobactéries sur automate VersaTrek

A. Gravet, C. Lohmann, F. Schmitt, J.M. Delarbre
Laboratoire de Microbiologie, CH de Mulhouse - Hôpital Emile Muller, Mulhouse, France

Depuis fin mars 2009, le laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital de Mulhouse s'est équipé d'un système VersaTREK de détection de croissance automatique des mycobactéries. Ce système a été développé par la société TREK Instruments aux Etats-Unis, distribué en France par Biocentric.

Le système VersaTREK associe un milieu de culture liquide, un supplément de croissance et pour les échantillons potentiellement contaminés, un supplément antibiotique. Des éponges placées dans les flacons fournissent une matrice de support de croissance. La technologie se base sur la détection des modifications de pression dans la partie supérieure d'un flacon fermé et donc surveille les modifications dans la production ou la consommation de gaz due à la croissance microbienne. Un algorithme spécial a été développé pour détecter les mycobactéries à croissance très lente. L'incubation est de 42 jours. Un tube de coletsos est ensemencé en parallèle. Le système a été validé pour tous types de prélèvements : respiratoire (y compris lavage, expectoration, etc), liquide céphalorachidien, liquide synovial, liquide pleural, urine, matières fécales, aspiration gastrique, tissus, sang et moelle osseuse. Un protocole est validé pour la réalisation de l'antibiogramme.

Nous rapportons ici notre expérience de 8 mois d'utilisation de ce système nouvellement commercialisé en France. Une période d'adaptation a été nécessaire pour le passage de la culture en milieu solide à la culture en milieu liquide. Le délai de détection est plus performant par rapport à la culture en milieu solide pour tous les types de prélèvements, allant de 5 jours à des prélèvements uniquement positifs en milieu liquide (ganglions). L'antibiogramme peut être obtenu rapidement, entre 6 et 13 jours à partir d'une culture positive. La méthode est validée pour les principaux antituberculeux, pyrasinamide incluse. Le protocole est simple et unique pour tous types d'échantillons, les techniques d'identification par biologie moléculaire sont réalisées directement à partir d'un échantillon prélevé sur un flacon positif. Le logiciel de pilotage de l'automate permet également une exploitation des données épidémiologiques.

Ce système propose donc une alternative aux automates de culture de mycobactéries en milieu liquide existants.

527/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Performances du kit MTBDRplus® dans le cadre de la surveillance de la résistance à la rifampicine chez *Mycobacterium tuberculosis*

M. Fabre[1], Y. Hauck[2], C. Pourcel[2], G. Vergnaud[2], C. Soler[1]
[1]Bactériologie, HIA Percy, Clamart [2]Institut de génétique et microbiologie, Université Paris Sud, CNRS UMR8621, Orsay, France

Objet : Évaluation du kit MTBDR*plus* (Hain-diagnostika) en routine afin de confirmer et de préciser la résistance à la rifampicine chez *Mycobacterium tuberculosis.*

Méthodes et matériels : Étude portant sur une collection de 144 souches (126 résistantes) isolées de patients originaires de 18 pays.

- étude de la sensibilité aux antituberculeux par une méthode en milieu liquide (Bactec 960); détermination de la sensibilité à la rifampicine et à la rifabutine par la méthode des proportions pour les souches résistantes.

- Amplification et séquençage de la zone cible du gène *rpoB* (codon 507 à 533) siège de plus de 95% des mutations responsables de la résistance.

- Test évalué : disponible depuis 2007 basé sur une technique d'hybridation inverse. Après amplification les amplicons sont hybridés sur une membrane supportant une sonde spécifique du complexe *tuberculosis,*8 sondes chevauchantes sauvages recouvrant la zone cible, 4 sondes correspondant aux 4 mutations les plus fréquentes ; enfin 7 sondes sont dédiées aux résistances de l'INH.

Résultats :

- 119 souches dépistées résistantes à la rifampicine en milieu liquide sur les 126 ; 7 erreurs concernent des souches de faible niveau de résistance ; 117 souches multi résistantes et 4 XDR ; 9 souches sensibles à la rifabutine.

- 17 types de mutations observées sur 10 codons ; 75,5% concernent les 4 mutations les plus fréquentes ; la mutation S531L représente 82% des mutations à Djibouti (haut niveau de résistance à la rifampicine, 39 souches étudiées) ; 5 délétions 513-516 (Djibouti) ; 2 nouvelles mutations décrites : D516Y et E562G/P564L de faibles niveau de résistance.

- Performances de la technique : spécificité 100%, sensibilité 99%.

Conclusions : Excellentes performances du kit, utilisation indispensable en routine ; confirme le diagnostic, précise dans un fort pourcentage la nature de la mutation et le niveau de résistance ; séquençage à réaliser sur les mutations moins fréquentes et si problème d'interprétation éventuel.

528/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Prevalence of katG315 and mabA 15C→T mutations in *Mycobacterium tuberculosis* isoniazid-resistant clinical strains

A. Soudani[3], S. Hadjfredj[2], M. Zribi[3], F. Messaadi[1], T. Messaoud[2], A. Masmoudi[3], M. Zribi[1], C. Fendri[3]
[1]Laboratoire d'hygiène, Hôpital Hedi Chaker, Sfax [2]Laboratoire de biochimie et biologie moléculaire, Hôpital d'enfants [3]Laboratoire de Microbiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

Objective: The isoniazid is a major anti-*tuberculosis* drug which is prescribed for tuberculosis treatment in Tunisia. Resistance to isoniazid causes major therapeutic problems and must be controlled. In this context, forty three isoniazid-resistant *Mycobacterium tuberculosis* isolates were characterized on the basis of the most common INH associated mutations, *katG*315 and *mabA* 15C→T, and phenotypic properties (i.e. MIC of isoniazid, resistance associated pattern, and catalase activity).

Methods: Typing for resistance mutations was performed by Multiplex Allele-Specific PCR and sequencing reaction.

Results: Mutations, at either codon were detected in 29 of 43 (67.5%) isolates. *katG*315 was detected in 16 strains (37.2%) and *mabA* 15C→ T was detected in 12 (27.9%) isolates. Simultaneous mutations at both loci were detected in one isolate and none of these mutations were observed in 32.5% of isolates. Distribution of each mutation, among the investigated clinical strains, showed that *katG* Ser315Thr mutation was more frequent in multiple-drug resistance, whereas the *mabA* 15C→T was more prevalent in mono-isoniazid resistant isolates.

Conclusion: These simple molecular PCR methods seem to be a useful primary tool for isoniazid prediction resistance in Tunisian clinical strains.

529/84A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Application d'une micro-méthode colorimétrique REMA (*resazurin microtiter assay*) pour le test rapide de résistance sur des souches de *Mycobacterium tuberculosis*

F. Nateche[2-1], A. Martin[4], F. Mechouet[2], S. Baraka[2], O. Chabati[3], N. Zidouni[3], J.C. Palomino[4], F. Portaels[4], S. Khaled[2]
[1]Laboratoire de biologie moléculaire et cellulaire, Faculté de biologie, USTHB [2]Laboratoire central, Hôpital el Hadi Flici Ex El Kettar [3]Matiben, Hôpital Issad Hacene, Alger, Algérie [4]Laboratoire de mycobactériologie, Institut de médecine tropicale, Anvers, Belgique

Objet d'étude : Étude de la performance d'une technique rapide non onéreuse par la méthode colorimétrique (REMA : resazurin microtiter assay) pour détecter la résistance des souches cliniques de *Mycobacterium tuberculosis*

isolées à Alger.

Méthodes : 136 souches de *M. tuberculosis* ont été colligées à partir de deux institutions hospitalières à Alger.

L'antibiogramme classique a été réalisé par la méthode des proportions, établie sur le milieu Lowenstein Jensen (Canetti *et al.,* 1969).

La méthode à la résazurine est testée pour les antibiotiques antituberculeux de première ligne à savoir la rifampicine et l'isoniazide. Les résultats de la concentration minimale inhibitrice (CMI) sont comparés avec la méthode conventionnelle des proportions. Pour la plupart des souches un génotypage a été établi.

Résultats obtenus : Le test de sensibilité obtenu par la méthode colorimétrique REMA a révélé une grande concordance avec la méthode classique des proportions sur milieu LJ. La mesure de la résistance à l'isoniazide et la rifampicine par les deux techniques montre 100% de sensibilité et respectivement 98.32% et 99.2% de spécificité pour les deux molécules.

L'investigation du gène *rpo*β a révélé pour la plupart des souches une mutation ponctuelle.

Conclusion : La technique colorimétrique REMA est une technologie simple, non fastidieuse, non onéreuse. La lecture qualitative et quantitative de l'antibiogramme se fait en 8 jours. Il s'agit d'une technique alternative et rapide recommandée dans des laboratoires à ressources limitées, particulièrement pour la mise en évidence précoce des souches multirésistantes.

530/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

***Staphylococcus aureus* méticillino-résistant en pédiatrie**

A. Filleron[2-1], E. Jeziorski[2], M. Rodière[2], H. Marchandin[1-3]
[1]*Laboratoire de Bactériologie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve* [2]*Service de Pédiatrie III, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve,* [3]*EA3755, Université Montpellier 1, Montpellier, France*

Tous âges confondus, les souches de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) constituent 25% des *S. aureus* en Europe et en France. Peu de données sont disponibles chez l'enfant. Certaines études suggèrent l'augmentation de l'incidence des infections à SARM en pédiatrie et l'émergence d'infections d'origine communautaire dues à des SARM présentant des génotypes particuliers.

L'objectif est de déterminer le pourcentage de SARM en pédiatrie et de décrire leurs caractéristiques épidémiologiques: antibiotype, type de cassette SCC*mec* et de système *agr*, présence des gènes codant les toxines Leucocidine de Panton Valentine (LPV), toxine du choc toxique staphylococcique (TSST) et entérotoxine A (SEA).

Une étude prospective sur 6 mois recense 101 *S. aureus* isolés chez 93 enfants au CHRU de Montpellier (néonatalogie, réanimation, CRCM exclus). Cinq souches isolées chez 5 patients infectés sont des SARM (4,95%), 4 ont été acquises dans la communauté et 1 à l'hôpital.

Les souches présentent les caractéristiques suivantes.

Souche	Résistances associées	SCC*mec*	*agr*	TSST	LPV	SEA	Clone probable	Diagnostic
1	KT	IV E	1	-	-	+	Lyon*	Ostéomyélite
2	KT Fluoroquinolones	IV	1	-	-	+	Lyon*	Panaris
3	KT Fluoroquinolones Rifampicine	IV	1	-	-	+	Lyon*	Conjonctivite (Acquisition hospitalière)
4	KT Fluoroquinolones Rifampicine	IV	1	-	-	-	Lyon*	Conjonctivite
5	KT Acide fusidique	V	2	+	-	-	Proche Géraldine**	Abcès de la main

K, kanamycine ; T, tobramycine

* SCC*mec* IV ou IV variant, *agr*1, absence de LPV et TSST, présence possible de SEA, résistance aux fluoroquinolones

** SCC*mec* I tronquée, *agr*2, résistant KT, intermédiaire à l'acide fusidique, présence de TSST, absence de LPV

En pédiatrie, la résistance à la méticilline de *S. aureus* est inférieure à celle rapportée dans la population générale. Les souches isolées sont toutes responsables d'infections ; elles présentent des résistances à plusieurs familles d'antibiotiques et hébergent pour la plupart des gènes codant des facteurs de virulence. La répartition des clones semble similaire à celle décrite chez l'adulte, le clone Lyon étant majoritaire. Ces résultats seront confirmés par Sequence Typing et typage *spa*. Cette étude sera poursuivie afin de préciser les caractéristiques des SARM isolés en pédiatrie, notamment en termes d'antibiorésistance et de virulence, sur un nombre d'isolats plus important.

531/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

High prevalence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriacea* carriage in a pediatric unit in Madagascar

F. Randrianirina[3], T. Andriatahina[2], A. Talarmin[3], H. Raobijaona[2], Y. Buisson[1], V. Richard[3]
[1]*Institut de la Francophonie pour la Médecine Tropicale, Ventiane, Laos* [2]*Hôpital Joseph Ravoahangy Andrianavalona* [3]*Institut Pasteur de Madagascar, Antananarivo, Madagascar*

Extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing Enterobacteriaceae have spread worldwide but there are few reports on carriage in hospitals in low-income countries. As ESBL-producing Enterobacteriaceae (ESBL-PE) have been increasingly isolated from nosocomial infections in Antananarivo, Madagascar, we conducted a prevalence survey in a pediatric unit. Fecal carriage was detected in 21.2% of 259 infants on admission and 57.1% of 154 on discharge, after more than 48 hours of hospitalization (p<0.001).

The species most frequently detected on admission was Escherichia coli (36.9%), whereas, on discharge, Klebsielle pneumoniae was the species most frequently detected (53.1%). ESBL-associated resistances were related to trimethoprim-sulfamethoxazole (91.3%), gentamicin (76.1%), ciprofloxacin (50.0%), but not to amikacin and imipenem. The increased prevalence of carriage during hospitalization was related to standard antimicrobial therapy. The significant emergence of multidrug-resistant enteric pathogens in Malagasy hospitals poses a seriuos health threat requiring the implementation of surveillance and control measures for nosocomial infections.

532/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Multiples abcès cérébraux à *Pseudomonas luteola* chez un jeune garçon immunocompétent

A. Gaschet[4-1], C. Engrand[3], C. Piau[1], J. Violette[1], P. Bétrémieux[3], P. Tattevin[2], P. Pladys[3], P.Y. Donnio[4-1], A. Jolivet-Gougeon[4-1]
[1]*CHU Pontchaillou, Laboratoire de Bactériologie* [2]*CHU Pontchaillou, Maladies infectieuses* [3]*CHU Pontchaillou, Réanimation pédiatrique* [4]*EA1254 Microbiologie, Université de Rennes 1, Rennes, France*

Un enfant de 3 ans est hospitalisé pour altération de l'état général et suspicion de méningite. Le LCR est hyperleucocytaire avec une majorité de polynucléaires neutrophiles. La biochimie est perturbée (hypoglycorachie à 1,6 mmol/L et hyperprotéinorachie à 1,7 g/L). L'examen direct et la culture sont négatifs. Un traitement probabiliste par céfotaxime est débuté. Devant une aggravation de l'état général l'enfant est transféré en réanimation où un scanner, puis une IRM, mettent en évidence des abcès cérébraux bilatéraux multifocaux prédominants à droite. L'évolution se fait vers une altération de la conscience avec mydriase gauche, liées à une progression de la taille des abcès et une dilatation ventriculaire nécessitant la pose d'une dérivation externe. L'antibiothérapie est élargie par adjonction de fosfomycine et métronidazole. Une première ponction sous stéréotaxie est réalisée et s'avère positive à *Pseudomonas luteola* en bactériologie, tant par culture sur milieux standards que par biologie moléculaire effectuée directement sur le prélèvement. Les autres investigations microbiologiques s'avèreront négatives. Le traitement est alors adapté sur antibiogramme avec instauration d'une double antibiothérapie associant méropénème et ciprofloxacine. L'évolution clinique est marquée par une hémiparésie droite, des troubles de la déglutition, l'apparition d'une cécité et des crises d'épilepsie. Devant l'absence de régression des abcès, une lobectomie temporale partielle est réalisée, laquelle est de nouveau positive à *Pseudomonas luteola*. Après cinq mois et demi d'hospitalisation, l'enfant retourne à domicile. Le bilan immunitaire ne montre aucun déficit. L'hypothèse d'une brèche méningée consécutive à un traumatisme lié à un AVP survenu 2 ans auparavant est vraisemblable.

Les espèces du genre *Pseudomonas* sp. et apparentées sont rarement impliquées dans les cas d'abcès cérébraux. A notre connaissance, il s'agit du premier cas décrit du à *Pseudomonas luteola*. La sensibilité imprévisible de ces bactéries aux antibiotiques, et les difficultés pour obtenir *in situ* des concentrations antibiotiques efficaces sont à l'origine de l'échec des traitements, non seulement probabilistes, mais également documentés, rendant nécessaire la chirurgie de ces abcès.

533/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Méningite néonatale à *E. coli* K1 producteur de CTX-M-1 : résistance et virulence conciliées

D. Dubois[2], L. Bret[3], M. Roujou-Gris[3], R. Mittal[1], N.V. Prasadarao[1], R. Bonnet[2]
[1]*University of Southern California, Los Angeles, Ca, Etats-Unis* [2]*Bactériologie, Faculté de Médecine, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand* [3]*Hôpital La Source, Orléans, France*

Ce travail rapporte le cas clinique d'une méningite néonatale due à un *E. coli* O7:K1:H7 résistant aux céphalosporines de troisième génération. Cette souche contenait les gènes codant la beta-lactamase à spectre étendu CTX-M-1 et 15 facteurs de virulence majeurs des *E. coli* associés aux méningites néonatales (MNEC). Son contenu plasmidique était composé de 3 plasmides : un plasmide conjugatif de 150Kb codant CTX-M-1, un plasmide conjugatif de 180Kb codant la résistance à la tétracycline et 3 facteurs de virulence et, un plasmide de 40kb codant la beta-lactamase TEM-1. La virulence de la souche a été confirmée par l'exploration des capacités d'adhésion aux cellules HBMEC et avec un modèle d'infection néonatale chez la souris. L'étude comparative de la souche clinique, d'un variant curé de son contenu plasmidique et de la souche de référence MNEC K1 RS218 a montré que la virulence de la souche n'était pas sensiblement altérée par le plasmide codant CTX-M-1. Cette dernière était de plus un élément déterminant du pronostic en cas de traitement des souris par le céfotaxime. Ces travaux montrent l'émergence de *E. Coli* producteurs de BLSE hautement virulents, qui pourrait amener à la reconsidération du traitement de première ligne des méningites néonatales.

534/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Infection materno-fœtale précoce à *Neisseria meningitidis* de sérogroupe B

F. Garnier[1], O. Barraud[1], S. Ketterer[2], A. Bedu[2], F. Denis[1], M.C. Ploy[1]
[1]*Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène* [2]*Service de Réanimation néo natale, CHU Dupuytren, Limoges, France*

L'infection maternofoetale précoce à *Neisseria menigitidis* est exceptionnelle, nous rapportons ici un nouveau cas.

Cas clinique : J1 est le premier jumeau d'une grossesse gémellaire bichoriale biamniotique marquée par la mise en évidence chez J2 d'un syndrome polymalformatif comportant cardiopathie et atrésie oesophagienne responsable de son décès au 7ème jour de vie. L'accouchement a lieu prématurément au terme de 35 semaines et 4 jours par voie basse après rupture prématurée des membranes de 5 heures de la poche de J1 ; Poids de naissance 2 kg 335, score d'Apgar à 9-9-10. Après une bonne adaptation l'enfant a présenté une détresse respiratoire progressive avec signes de choc. Un traitement symptomatique ainsi qu'une antibiothérapie par amoxicilline, gentamicine et céfotaxime a été instituée. Le bilan biologique a montré une CRP positive à 111mg à J2, la culture bactérienne de la ponction lombaire sera négative. Les prélèvements périphériques et le tubage gastrique étaient stériles alors que l'hémoculture était positive à cocci à Gram négatif, identifié comme *Neisseria meningitidis* de sérogroupe B. L'antibiothérapie sera modifiée au 2ème jour pour céfotaxime en monothérapie permettant la résolution des signes biologiques et la guérison clinique. Une mise sous antibioprophylaxie par de la Rifampicine de toute la famille a été instituée. Le prélèvement vaginal de la mère a permis l'isolement de *N. meningitidis* de sérogroupe B alors que les prélèvements pharyngés maternel et paternel n'ont pas permis l'isolement de cette espèce. Ces mêmes prélèvements pharyngés des parents ainsi que le prélèvement anal de J2 seront positifs en PCR temps réel réalisée à l'aide des primers ctrAF (GCTGCGGTAGGTGGTTCAA) et ctrAR (TTGTCGCGGATTTGCAACTA) et de la sonde ctrAS (CATTGCCACGTGTCAGCTGCACAT) ciblant le gène ctrA sur le Smart Cycler II® (Instrumentation Laboratory) pour la recherche spécifique de *N. meningitidis*. Les deux souches isolées de la mère et de J1 ont été comparées par champ pulsé et sont identiques.

Conclusion : nous rapportons ici une infection materno-fœtale très précoce à *N. meningitidis* de serogroupe B. La transmission a certainement eu lieu par voie ascendante lors de la rupture prématurée des membranes de la poche de J1. A notre connaissance il s'agit du premier cas décrit en France.

535/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Phylogenetic groups and virulence factors of pathogenic neonatal *E. coli*

M.F. Prère, O. Fayet
LMGM, UMR5100-CNRS, Université P. Sabatier, Toulouse, France

Background: *E.coli* is the most common Gram negative bacteria causing neonatal infections. A Phylogenetic analysis revealed that the *E. coli* population could be divided into four main phylogenetic groups (PG) termed A, B1, D, and B2, of which group B2 is believed to contain the most pathogenic strains. In a previous study we reported that the strains isolated in neonatal infections possess various sets of virulence factors. The aim of this study was to determine the distribution of phylogenic groups and of virulence factors (VFs) among pathogenic neonatal strains.

Methods: We investigated 100 consecutive *E.coli* isolates implicated in neonatal infections. The strains were isolated from hospitalised day 1 neonates. The detection of the *kps, ibeA, pap, sfa, afa, hly, cnf, cdt, astA, aggC, stx1, stx2, eae* and *iut* genes was performed using multiplex PCR assays. The PG was determined by amplification of the genes *chu*A, *yja*A, and the DNA fragment tpsE4.C2. in a triplex PCR.

Results: The PG frequency was respectively of 52% for B2, of 20% for A, of 19% for D and of 9% for B1. None of the selected virulence genes were found in 11% of the strains, and 10 strains contained only the *iut* aerobactin gene. The prevalence of the *kps* gene of the K1 capsule was 30%; it was found in strains from the four PG. The *ibeA* gene of the invasin contributing to *E.coli* invasion of the blood brain barrier was detected in 25% of the strains, none belonging to PG A. Only 14% of these strains possessed both the *kps* and *ibeA* genes. The genes of virulence factors classically associated with uropathogenic strains (*pap*, *hly*, *sfa* and *cnf*) were of an approximately equal prevalence, around 20%, and each was present alone or associated in the four PG. Combinations of 3 or more genes were found in 44% of the strains. By combining PG and virulence profiles, 70 different genotypes were observed.

Conclusion: These findings demonstrate the remarkable diversity of pathogenic neonatal *E.coli.*

536/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Méningite néonatale tardive à *Ureaplasma parvum*

Y. Aujard[3], A. Gaudin[3], A.M. Bodiou[3], C.S. Hovannisyan[3], L. Maury[3], C. Farnoux[3], S. Bonacorsi[2], H. Boutignon[1], O. Baud[3]
[1]*Pédiatrie, Centre Hospitalier, Compiègne* [2]*Microbiologie* [3]*Réanimation et Pédiatrie néonatales, Hôpital Robert Debré, Paris, France*

Introduction : Les méningites néonatales bactériennes bactériennes tardives sont dues essentiellement à *E coli* et au streptocoque B. Les méningites à mycoplasmes génitaux sont exceptionnelles.

Observation : Enfant né à terme au poids de 3560 g. A J10, fièvre à 38°5C révélant une méningite. LCR : cellules, 289 /mm3 dont PN 3 %. La CRP est normale. Traitement par céfotaxime et acyclovir. Les cultures sont négatives ainsi que les PCR à entérovirus et herpès. A J16, arrêt des antiinfectieux. A J17 hypertension intra cranienne et convulsions révélant une dilation ventriculaire associée à une ventriculite. Contrôle du LCR avant dérivation ventriculaire : 1610 cellules dont PN 86% ; protéines, 5,2 g/l, glucose, 0,1 mmol/l/. Culture LCR (+ trachée), Ureaplasma (U) ; PCR (CNR mycoplasmes) U parvum. Traitement par ciprofloxacine (40 j) + chloramphénicol (21 j). Évolution favorable et examen normal à 4 mois.

Discussion et conclusion : Les méningites à Ureaplasma et Mycoplasma hominis sont excetionnelles, chez le nouveau-né comme chez l'adulte. La combinaison ciprofloxacine et chloramphénicol a été, dans ce cas, efficace.

537/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Septicémies récurrentes à *Kocuria rhizophila* chez une enfant de 3 ans

D. Moissenet[2], B. Pigneur[1], A. Mérens[3], B. Salauze[2], B. Dubern[1], H. Vu-Thien[2]
[1]*Service de Gastro-Entérologie-Nutrition* [2]*Service de Microbiologie, Hôpital Armand-Trousseau, Paris* [3]*Laboratoire de Biologie, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint Mandé, France*

Objet de l'étude : Investigation d'un cas de septicémies récurrentes associées au cathéter à Kocuria rhizophila, « microcoque » émergeant en pathologie, chez une enfant de 3 ans atteinte de la maladie de Hirschprung et porteuse d'un cathéter type Cook.

Méthodes : Pendant une période de 3 ans (2007-2009), l'enfant a présenté six épisodes septicémiques. Les isolats provenant des hémocultures prélevées au cathéter et correspondant aux 4 derniers épisodes de 2008 ont été étudiés : caractères phénotypiques (aspect des colonies, catalase, oxydase, identification biochimique avec les galeries ID 32 Staph (bioMérieux), antibiogramme), séquence du gène de l'ARNr 16S, comparaison génotypique par randomly amplified polymorphic DNA analysis (RAPD).

Résultats obtenus : Les hémocultures étaient analysées par le système BacT/ALERT 3D (bioMérieux). Les Gram des flacons positifs (délai moyen de positivité = 26h) montraient des cocci à Gram positif groupés en paires, tétrades et amas. Les colonies (culture en aérobiose) étaient lisses, jaunes et crémeuses sur gélose au sang, catalase positive et oxydase négative. Avec les galeries ID 32 Staph, 3 taxons étaient obtenus : Staphylococcus auricularis (57%), Staphylococcus capitis (16%)) et Micrococcus lulae (3,5%). Les séquences du gène de l'ARNr 16S de 4 isolats ont montré une identité parfaite aux séquences de K. rhizophila (GenBank). Les isolats testés étaient sensibles aux ß-lactamines, aux aminosides, aux glycopeptides et à la rifampicine mais résistants à la ciprofloxacine. L'étude par RAPD des isolats provenant des 4 derniers épisodes septicémiques a montré que 3 d'entre eux étaient identiques ou similaires alors que le dernier épisode semblait correspondre à une souche différente. La stérilisation des hémocultures a été obtenue à chaque fois par une antibiothérapie associant vancomycine et gentamicine (48h) ; la récurrence des épisodes était liée à l'existence d'une brèche au niveau du cathéter. Après réparation de la brèche, les épisodes septicémiques ont cessé jusqu'à ce jour.

Conclusion : K. rhizophila était antérieurement classé dans le genre Micrococcus, éclaté ensuite en plusieurs genres, dont Kocuria et Micrococcus. Ces bactéries trouvées dans les poussières, le sol, les eaux, les aliments et sur la peau et les muqueuses de l'homme sont considérées comme non pathogènes ; cependant des cas d'infections sévères (septicémie, endocardite) ont été décrits.

538/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

L'équitation, une pratique à risque… à propos d'un abcès parapharyngé à *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*

A. Gaschet[3-1], N. Zouggarh[2], C. Piau[1], J. Violette[1], P.Y. Donnio[3-1], G. Le Clech[2], A. Jolivet-Gougeon[3-1]
[1]*Laboratoire de Bactériologie* [2]*Service d'Oto-Rhino-Laryngologie et de Chirurgie Maxillo-Faciale,, CHU Pontchaillou* [3]*EA1254 Microbiologie, Université de Rennes 1, Rennes, France*

Une adolescente de 16 ans est admise aux urgences pour altération de l'état général, hyperthermie supérieure à 39°C et hyperalgie oropharyngée, cervicale et auriculaire du côté droit. La maladie évolue depuis 5 jours avec un tableau initial de rhinopharyngite. L'examen clinique met en évidence de nombreuses adénopathies cervicales et un abcès parapharyngé droit, associée à une odynophagie et une dysphagie sans dyspnée, entraînant l'arrêt d'une alimentation solide. Le bilan biologique montre une hyperleucocytose ($17{,}1.10^9$/L) et une CRP élevée (250,3 mg/L). La patiente est admise en ORL où deux interventions chirurgicales sont nécessaires pour drainage puis amygdalectomie devant l'aggravation des signes cliniques. L'évolution sera simple et après 7 jours d'hospitalisation et un traitement par amoxicilline, l'adolescente sort de l'hôpital sans séquelles.

Les prélèvements per-opératoires envoyés au laboratoire de Bactériologie reviendront tous positifs à *Streptococcus equi* subsp. *zooepidemicus*. Cette bactérie très rarement isolée chez l'homme est un cocci Gram positif en chaînettes, anaérobie préférentiel, catalase négative. Les colonies associées sont caractéristiques : larges, muqueuses, développant une béta-hémolyse sur gélose au sang et agglutinant en C (groupage selon la classification de

Lancefield). L'identification à l'espèce est possible par les caractères biochimiques de la bactérie via galerie commerciale.

Cette bactérie est commensale de la peau et des muqueuses respiratoires des chevaux. Elle constitue une cause fréquente d'infection plus ou moins épidémique chez ces animaux notamment sous forme de tableaux respiratoires. Cependant, elle est exceptionnellement impliquée en pathologie humaine. D'après la littérature, elle a été associée à des infections sévères (pneumonies, sepsis, méningites…) Après interrogatoire de la patiente, le lien est fait avec un stage d'équitation effectué 15 jours auparavant. Or, il semble que la transmission à l'homme intervient principalement au décours de contacts étroits et répétés avec les équidés.

Streptococcus equi subsp. *zooepidemicus* doit être considéré comme un pathogène émergent pour l'homme.

539/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Suivi prospectif des cas d'infections fongiques invasives en pédiatrie au CHU de Rennes entre 1998 et 2008 : particularités épidémiologiques

J.P. Gangneux[1], P. Sok[2], A.S. Drogoul[1], S. Chevrier[1], C. Guiguen[1], E. Le Gall[2], V. Gandemer[2]
[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [2]Service de Médecine de l'enfant et de l'adolescent, Centre Hospitalier Universitaire, Rennes, France

Objet de l'étude : Les infections fongiques invasives (IFI) en pédiatrie représentent une cause de morbidité redoutable mais restent encore mal caractérisées. Récemment, deux séries internationales multicentriques ont permis de mieux cerner les spécificités épidémiologiques en pédiatrie des aspergilloses invasives d'une part, et des candidoses invasives d'autre part. Un recueil systématique des IFI réalisé au CHU de Rennes nous permet d'appréhender les particularités pédiatriques sous un angle monocentrique et prospectif apportant ainsi des informations complémentaires, notamment des calculs d'incidence du fait de l'exhaustivité du recueil, et la prise en compte de la biodiversité des agents responsables d'IFI.

Méthodes et résultats : Entre 1998 et 2008, nous avons colligés 17 IFI, dont 14 au cours d'hémopathies. Onze IFI étaient dues à un champignon filamenteux (8 aspergilloses, 1 fusariose et 3 IFI sans culture mycologique) et 5 dues à une levurose invasive (4 candidoses et 1 trichosporonose). Outre la diversité de genre observée, 2 candidoses sur 4 étaient dues à des espèces non-albicans. Les facteurs de risque étaient représentés essentiellement par 7 (39%) leucémies aigues (42% et 30% des infections à filamenteux et à levures, respectivement), 4 (22%) lymphomes (33% des infections à filamenteux). Le calcul d'incidence révèle un risque d'IFI de 3% pour les patients ayant reçu une greffe de CSH (4,7% pour les allogreffes) et de 4,2% pour les hémopathies du service.

En terme de prévention, trois enfants recevaient du fluconazole +/- itraconazole en prophylaxie primaire. Deux enfants (11%) bénéficiaient, en plus, d'un environnement protecteur lors de la découverte de l'IFI (les autres enfants étant pris en charge en chambre standard). La prise en charge thérapeutique curative, a évolué sur la période avec l'intégration des nouveaux antifongiques dans l'arsenal. Deux patients sur 7 (28,5%) sont décédés de l'IFI dans la période 1998-2002 versus 1/10 (10%) sur la période 2003-2009.

540/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Trichosporonose disséminée avec localisation cardiaque en oncologie pédiatrique : à propos d'un cas ayant régressé sous posaconazole et revue de la littérature

C. Piau[1], V. Gandemer[2], S. Taque[2], J. Bonneau[2], E. Le Gall[2], C. Guiguen[1], J.P. Gangneux[1]
[1]Laboratoire de Parasitologie-Mycologie [2]Service de Médecine de l'enfant et de l'adolescent, Centre Hospitalier Universitaire, Rennes, France

La trichosporonose est une infection fongique émergente en hématologie mais reste rare chez les enfants. Une fièvre persistante et une fongémie sont les manifestations les plus fréquentes. Du fait d'une sensibilité variable aux antifongiques, le pronostic de la trichosporonose systémique reste sombre chez les patients immunodéprimés.

Nous rapportons ici le cas d'une trichosporonose disséminée chez une enfant de trois ans atteinte de leucémie aiguë lymphoblastique avec réarrangement de MLL diagnostiquée en Chine. A son arrivée en France, elle présente à J+2 d'aplasie une fièvre résistante à une triantibiothérapie large spectre associée à l'amphotéricine B (conventionnelle puis liposomale). A J+19 des hémocultures positives à Trichosporon asahii entrainent un changement de traitement par voriconazole associé à de la flucytosine. Ce traitement reste inefficace malgré une sensibilité *in vitro* au voriconazole et l'infection dissémine à de nombreux organes. Une atteinte parenchymateuse pulmonaire et des lésions nodulaires hépatiques, spléniques, rénales et secondairement myocardiques seront mises en évidence grâce au scanner et à l'échographie. Cette évolution infectieuse entravera le projet thérapeutique optimal qui devait associer chimiothérapie intensive et allogreffe de cellules souches hématopoïétiques. Seul un traitement par posaconazole associé à la caspofungine (utilisée pour son action synergique puisque non active *in vitro* sur Trichosporon), puis en monothérapie en ambulatoire permettra la clairance du champignon. Aucune manifestation active de la présence de Trichosporon n'est retrouvée à deux ans, en dehors d'un aspect séquellaire des lésions et d'une dysfonction cardiaque contrôlée sous traitement, alors que la présence d'une maladie hématologique résiduelle ne permet pas d'espérer une guérison complète de sa leucémie.

Les données de la littérature ne rapportent que peu de cas de survie à une trichosporonose. Sur 40 cas décrits entre 1975 et 2009, seule une localisation cardiaque est notée. L'utilisation des nouveaux azolés apporte des perspectives prometteuses au traitement de cette infection notamment par rapport à l'amphotéricine B. Dans notre cas, le posaconazole s'est révélé plus efficace que le voriconazole.

541/85A — 4 décembre 2009 - HALL BORDEAUX

Infections cutanées à *Staphylococcus aureus* de l'enfant en milieu communautaire à Abidjan : méticillino-résistance et production d'exfoliatine

A. Kacou N'Douba[1-2], E.A. Kazali[1], A. Kouablan[1], S. Koffi[1-2], E. Ekaza[1], M. Dosso[1]
[1]Unité de Bactériologie Clinique, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire [2]UFR des Sciences médicales d'Abidjan, Abidjan, Côte d ivoire

L'émergence de *Staphylococcus Aureus* résistante à la méticilline (SARM) dans les infections cutanées communautaires devient préoccupante. De plus, le pouvoir pathogène de *S. Aureus* est lié à l'expression de facteurs de virulence telle que les toxines et les enzymes.

Les objectifs étaient de déterminer le profil de résistance de *S. aureus* aux antibiotiques et la prévalence des gènes mecA et des gènes codant pour les exfoliatines.

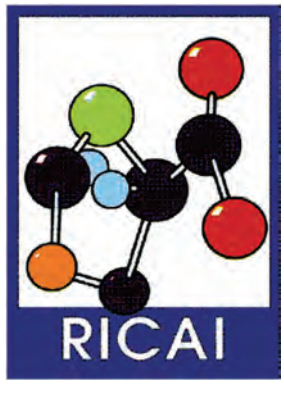
L'étude a été menée chez 152 enfants âgés de 7 à 15 ans d'une école primaire d'une commune urbaine d'Abidjan, présentant des lésions cutanées. Après l'ensemencement sur gélose sélective. Une identification a été effectuée sur les caractères morphologiques, culturaux et biochimiques. Un antibiogramme a été réalisé sur les souches de staphylocoques. Une PCR a été effectuée à la recherche de gène de résistance de la méticilline (*mecA*) et de gènes de virulence (*eta* et *etb*) codant pour les exfoliatines A et B.

Il ressort des résultats que 61 souches ont été isolées dont 54 *Staphylococcus aureus* et 7 Staphylococcus coagulase négative. Environ 14,8 % des souches de *S. aureus* étaient résistantes à la méthicilline (SARM). Seulement deux souches portaient le gène *mecA*. Deux des souches isolées portaient simultanément les gènes *eta* et *etb* qui codent respectivement pour les exfoliatines A et B et une troisième souche poraite seulement le gène *etb.*

En conclusion, ces résultats préliminaires ont montré l'existence de SARM et de souches productrices d'exfoliatine dans les infections cutanées communautaires de l'enfant à Abidjan. Des études ultérieures à la recherche d'autres facteurs de virulence comme la leucocidine de Panton-Valentine mériteraient d'être menées.

Mots clés : *Staphylococccus aureus* – Methicillino-résistance- infections cutanées communautaires –exfoliatines.

INDEX DES AUTEURS
AUTHORS INDEX



A

Auteur présent / Co auteur

Abalea L. 33/6O
Abbara C. 70/15O
Abderahim C. 395/76A
Abdou-Chekaraou M. 454/80A
Abely M. 153/38O
Abernathy E. 36/6O
Abgessi A. 151/38O
Abgrall S. 181/45O
Abid Kamoun A. 404/77A, 405/77A
Abidi S. 395/76A
Abraham S. 426/79A, 430/79A
Achour N. 496/81A
Achtergael W. 518/83A
Adam J.M. 26/5O
Adib-Conquy M. 229/58S
Adjidé C.C. 178/44O, 426/79A, 430/79A
Advani R. 268/66A
Aegerter P. 151/38O
Agius G. 31/6O
Aguillon S. 495/81A
Agut H. 205/51S, 449/80A
Ahmed-Tijani E. 375/75A
Ahoyo T. 474/81A
Aidaoui M. 453/80A
Ainas L. 398/76A
Ait-Ifrane S. 283/67A
Akpabie A. 254/65A
Al Khoury Salem H. 209/52O
Al Nakib M. 26/5O
Alaabouche I. 171/43O, 446/79A
Alain S. 31/6O, 50/10O, 378/75A, 380/75A, 382/75A
Alanio A. 13/3O, 14/3O
Albert A. 201/50O
Alberti C. 112/27S
Albertini M.T. 294/68A
Aldebert H. 352/74A
Aleyrangues L. 289/67A
Alfandari S. 164/41C
Allais E. 197/50O
Allali L. 313/70A
Alnakib M. 293/68A
Amadeo B. 256/65A
Amador G. 20/4O
Amadou-Mody S. 375/75A
Amara A. 14/3O
Amarti A. 507/83A
Amdiouni H. 462/80A
Amhis W. 504/83A
Ammari H. 524/84A
Ammari L. 472/81A, 515/83A
Ancelle A. 389/75A
Anderson A. 268/66A
Andrade-Gordon P. 465/80A
André C. 8/2O, 340/73A
André J. 240/61O
André M. 295/68A
André-Garnier E. 377/75A
Andremont A. 141/35O, 143/35O, 224/56O, 303/69A, 325/72A, 359/74A
Andréoletti L. 66/14S, 153/38O, 371/75A, 374/75A, 387/75A, 392/75A
Andriamanantena T.S. 140/35O
Andriatahina T. 531/85A
Angla-Gre M. 415/78A
Angora P. 264/65A
Angulo L. 24/4O
Annane D. 113/27S
Ansart S. 485/81A, 488/81A
Antoun P. 483/81A
Aouati A. 258/65A
Aouni M. 390/75A
Apery A.V. 263/65A
Appay V. 248/62SEP
Ardjoun M. 398/76A
Arlet G. 101/23O, 114/28SEP, 115/28SEP, 280/67A, 441/79A
Armand-Lefèvre L. 303/69A, 359/74A
Armengaud A. 34/6O
Arpin C. 69/15O, 340/73A
Arridj B. 398/76A, 443/79A
Arrúa S. 497/81A
Arthur M. 336/73A
Asehnoune K. 108/25O
Asmani K.L. 50/10O
Asseray N. 317/71A, 319/71A, 433/79A, 482/81A
Atia Y. 439/79A
Atindehou M. 474/81A
Attar M. 458/80A
Aubry A. 352/74A
Auger G. 108/25O
Aujard Y. 24/4O, 37/8O, 536/85A
Aujoulat F. 299/69A
Aupiais C. 32/6O
Autran B. 245/62SEP
Auzanneau L. 33/6O
Auzou M. 331/72A
Avrain L. 427/79A
Aye M. 454/80A
Azoulay E. 165/41C
Azzahra Mastari F. 141/35O
Azzam A. 443/79A

B

Auteur présent / Co auteur

B Osman A. 322/72A
B Othmen A. 515/83A
Ba B.B. 69/15O
Baaboura R. 344/73A
Baba-Moussa L. 474/81A
Baccard Longère M. 376/75A, 393/75A
Bacsafra M. 367/74A
Badiou C. 92/22O, 95/22O, 335/73A
Badoz M. 421/78A
Badredine L. 504/83A
Bagot M. 308/70A
Bahri O. 372/75A
Baida N. 78/19O, 420/78A, 421/78A
Bailly C. 206/52O, 357/74A
Baixench M.T. 305/70A
Bajolet O. 28/5O, 276/67A
Ballereau F. 6/1O
Bani-Sadr F. 397/76A
Baptiste C. 466/80A
Baraka S. 529/84A

Barbier F. 325/72A
Barbut F. 101/23O, 179/44O, 285/67A, 286/67A, 287/67A
Barbut M.C. 101/23O
Barguigua A. 511/83A
Barin F. 232/59S, 393/75A
Barnabeu S. 7/2O
Barnaud G. 259/65A, 431/79A
Baron O. 303/69A, 352/74A
Baron R. 438/79A
Barquero Godinho C. 174/44O
Barraud O. 29/5O, 274/67A, 275/67A, 516/83A, 534/85A
Barre O. 306/70A
Barrial K. 300/69A
Barriere P. 370/74A
Barthel C. 107/25O
Basselier B. 236/60S
Batard E. 21/4O, 109/25O, 347/73A
Battellier L. 309/70A
Baty G. 295/68A, 484/81A
Baud O. 24/4O, 536/85A
Baudouin A. 267/66A
Bauer T. 160/40SEP
Baume M. 284/67A
Beauvais R. 447/79A
Bébéar C. 176/44O, 199/50O, 237/60S
Beclin E. 62/13O, 272/67A, 437/79A, 470/81A
Beddek A. 398/76A
Bedu A. 534/85A
Behra-Miellet J. 412/77A
Bekkali M. 324/72A
Bekri N. 398/76A, 443/79A
Belaiba I. 472/81A
Bélatèche F. 398/76A
Belgian Sp Study Group T.H.H. 329/72A
Belhadj O. 99/23O
Belhani F. 258/65A
Belleguic C. 207/52O
Bellil L. 443/79A
Bellon G. 321/72A
Bellon O. 34/6O, 499/82A
Belmonte O. 517/83A
Beloncle C. 207/52O
Belorgey S. 170/43O
Bemer P. 433/79A, 476/81A, 482/81A, 489/81A, 519/84A
Ben Chaabane T. 472/81A
Ben Fredj N. 372/75A
Ben Hadj Fredj M. 391/75A
Ben Hassen A. 344/73A
Ben Jemâa M. 458/80A, 459/80A, 490/81A
Ben M'rad M. 151/38O
Ben Mansour K. 270/66A
Ben Memi N. 270/66A
Ben Moussa F. 49/10O
Ben Redjeb S. 342/73A, 361/74A, 403/77A, 404/77A, 405/77A, 408/77A
Ben Romdane F. 390/75A
Benabbes L. 462/80A
Benabdelmoumen G. 184/45O
Benadda S. 337/73A
Benammar A. 308/70A
Bénard A. 199/50O
Benbetka L. 504/83A
Bencimon C. 517/83A
Bendjama A. 439/79A
Benech H. 71/15O
Benito Y. 78/19O, 93/22O, 277/67A, 421/78A
Benlabed K. 439/79A
Benmesbah S. 504/83A
Bensaadoune F. 395/76A
Benseddik N. 507/83A
Benselama F. 259/65A
Bentchouala C. 439/79A
Berche P. 82/19O, 209/52O, 422/78A
Berçot B. 220/56O
Bérenger J.M. 34/6O, 499/82A
Bérenger R. 200/50O, 331/72A
Beretti J.L. 14/3O, 82/19O, 422/78A
Bereyziat F. 240/61O
Bergeron E. 240/61O
Bergeron M. 78/19O
Bergman J.F. 70/15O
Bergot E. 182/45O, 448/79A
Berhin C. 10/2O
Bernard E. 3/1O, 179/44O, 318/71A
Bernardi T. 364/74A
Bert F. 301/69A
Berte-Pesquie D. 503/83A
Berthelot G. 498/81A
Berthelot P. 169/43O
Berthonnaud E. 4/1O
Bertin F. 96/22O
Bertout S. 15/3O, 16/3O, 307/70A
Bertrand F. 259/65A
Bertrand S. 123/31O
Bertrand X. 61/13O, 177/44O, 206/52O, 257/65A, 264/65A, 425/79A, 428/79A
Bes M. 78/19O, 92/22O, 93/22O, 95/22O, 147/36O, 320/72A, 321/72A, 322/72A, 335/73A, 475/81A, 478/81A
Bessaci K. 153/38O
Bessède E. 415/78A
Besson C. 85/20S, 489/81A, 519/84A
Bétrémieux P. 532/85A
Beuvelet T. 47/10O
Beytout J. 35/6O
Bialek-Davenet S. 400/77A
Bianchi A. 236/60S
Bidet P. 278/67A, 283/67A, 332/72A
Biek D. 20/4O
Biendo M. 178/44O, 426/79A, 430/79A
Bienvenu A.L. 249/63S
Bikie Bi Nso B. 69/15O
Billaud G. 394/75A
Bille E. 79/19O, 82/19O, 209/52O, 422/78A
Billhot M. 386/75A, 486/81A, 487/81A
Billoët A. 293/68A
Billon C. 261/65A
Bingen E. 24/4O, 31/6O, 37/8O, 39/8O, 40/8O, 41/8O, 278/67A, 283/67A, 332/72A, 441/79A
Bjursell M. 268/66A
Blaise Stevens A. 151/38O
Blanchard M. 498/81A
Blanchon T. 150/38O
Blanckaert K. 62/13O, 512/83A

Blanc-Potard A.B. 68/15O
Blin C. 376/75A
Blondiaux N. 352/74A
Bloquel B. 461/80A
Blot S. 274/67A
Bochu L. 386/75A
Bodiou A.M. 536/85A
Bogaerts P. 10/2O, 25/5O, 269/66A
Bohic N. 498/81A
Boileau P. 144/36O, 145/36O, 148/36O
Boiron P. 198/50O
Boisset S. 78/19O, 197/50O, 277/67A, 421/78A
Bollahi M.A. 375/75A
Bonacorsi S. 24/4O, 278/67A, 283/67A, 332/72A, 536/85A
Bonfils M. 147/36O
Bonmarchand G. 5/1O
Bonnal C. 172/43O
Bonneau J. 540/85A
Bonnel C. 281/67A
Bonnet E. 39/8O, 41/8O
Bonnet F. 183/45O
Bonnet G. 362/74A
Bonnet R. 242/61O, 406/77A, 533/85A
Borgey F. 200/50O
Borsali E.N.N. 309/70A
Bossi P. 487/81A
Botrel M.A. 121/31O
Botterel F. 308/70A
Bottero J. 500/82A
Botto H. 68/15O
Bouabdellah A. 395/76A
Bouallègue-Godet O. 9/2O, 407/77A
Bouaziz A. 391/75A
Bouchahrouf W. 269/66A
Bouchaud O. 500/82A
Boucher B. 296/68A
Boucher S. 80/19O
Boucherat M. 39/8O, 41/8O, 208/52O
Bouchrif B. 511/83A
Boudaouara M. 479/81A
Bouder A. 110/25O
Boudhas A. 521/84A
Boudiaf Z. 453/80A
Boughoufela A. 496/81A
Bougnoux M.E. 14/3O, 250/63S, 304/70A
Bouhali Zriouil S. 324/72A
Boujaafar N. 9/2O, 48/10O, 391/75A, 407/77A
Boujelbène N. 479/81A
Boukadida J. 340/73A, 372/75A, 455/80A, 477/81A
Boulanger N. 107/25O
Boulet L. 267/66A
Boullier S. 465/80A
Boumaza Z. 453/80A
Bourdon N. 200/50O, 331/72A
Bourgault I. 452/80A
Bourgeois-Nicolaos N. 145/36O, 224/56O
Bourget P. 315/71A
Bourigault C. 436/79A, 476/81A, 482/81A
Bourjilat F. 511/83A
Bousaha F. 258/65A
Bouscambert-Duchamp M. 150/38O, 154/38O, 374/75A, 388/75A
Bousnina S. 391/75A
Boussat S. 264/65A
Bousselmi K. 432/79A
Boutiba-Ben Boubaker I. 342/73A, 403/77A
Boutignon H. 536/85A
Boutoille D. 19/4O, 346/73A, 433/79A, 476/81A
Boutolleau D. 449/80A
Bouton S. 284/67A
Bouvet A. 333/72A
Bouvet E. 170/43O, 184/45O
Bouveyron C. 78/19O
Bouyssou-Michel A. 236/60S
Bouziges N. 2/1O, 99/23O
Boyer B. 378/75A, 380/75A, 382/75A
Boyer S. 102/23O
Boyer-Mariotte S. 38/8O, 98/23O
Brachet A. 491/81A
Brachet E. 291/67A
Branger B. 207/52O
Branger C. 259/65A, 431/79A
Brasme J.F. 32/6O
Brasme L. 28/5O, 100/23O, 493/81A
Brauman M. 70/15O
Bréchard L. 120/31O
Brelinski M. 62/13O
Bressollette-Bodin C. 377/75A, 390/75A
Bresson J.L. 450/80A
Bret L. 533/85A
Bretagne S. 252/63S, 308/70A
Bretonnière C. 19/4O, 346/73A
Breurec S. 234/59S, 324/72A
Breysse F. 294/68A
Bridon L. 276/67A
Brini I. 391/75A
Brinquin L. 473/81A
Bris C. 368/74A
Brisabois A. 122/31O
Brisou P. 313/70A
Brisse S. 179/44O
Brito R. 497/81A
Brixi-Benmansour H. 387/75A
Brodard V. 371/75A, 387/75A, 392/75A
Brossas J.Y. 13/3O
Brossier F. 222/56O
Broughall J. 348/73A
Brun M. 345/73A
Brun S. 13/3O
Brun-Buisson C. 59/13O, 228/58S
Bruneel F. 71/15O
Buchrieser C. 291/67A
Buisson Y. 531/85A
Burckhardt I. 418/78A
Burgard M. 155/38O
Burghoffer B. 286/67A
Burucoa C. 270/66A, 282/67A
Butel M.J. 144/36O
Buu-Hoï A. 80/19O
Buvens G. 302/69A
Bvh C.O.O. 413/78A

C

Auteur présent / Co auteur

Cabaret P. 512/83A

Cacoub P. 397/76A
Cadilhac C. 209/52O
Cady A. 333/72A
Caen D. 447/79A
Cahen P. 311/70A, 509/83A
Caillon J. 6/1O, 19/4O, 20/4O, 21/4O, 108/25O, 109/25O, 241/61O, 319/71A, 346/73A, 347/73A, 350/73A
Calavas D. 121/31O
Calès P. 457/80A
Calvino-Gunther S. 58/13O
Cambau E. 194/49SEP, 339/73A, 341/73A, 424/78A, 435/79A
Camou F. 328/72A
Cancel D. 72/15O
Canis F. 353/74A
Canonne J.P. 285/67A
Cantinelli T. 124/31O
Canton R. 514/83A
Capeau J. 246/62SEP
Carbonne A. 264/65A
Carbonnelle E. 79/19O, 80/19O, 93/22O, 429/79A
Carbonnelle S. 427/79A
Carlier J.P.P. 149/36O
Carmeli Y. 142/35O
Carod J.F. 140/35O
Caroff N. 409/77A, 410/77A
Caron F. 5/1O, 498/81A
Carrat F. 153/38O, 374/75A, 397/76A
Carrer A. 411/77A
Carrere J. 347/73A
Carricajo A. 300/69A
Carriere C. 345/73A, 523/84A
Casalegno J.S. 152/38O, 388/75A, 394/75A
Caseris M. 38/8O, 98/23O
Cassard B. 315/71A
Castelain D. 445/79A
Cattoen C. 353/74A, 512/83A
Cattoir V. 79/19O, 191/48SEP, 200/50O, 331/72A, 429/79A, 494/81A
Cavalié L. 96/22O, 273/67A, 326/72A
Cavallo J.D. 97/23O, 468/81A, 505/83A
Cazalet C. 291/67A
Cazanave C. 262/65A
Celard M. 320/72A
Cerutti F. 467/81A, 468/81A
Chabati O. 529/84A
Chaib N. 304/70A
Chainier D. 274/67A
Chalet M. 450/80A
Chambon M. 35/6O
Champagnac C. 305/70A
Chaplain C. 379/75A
Chardon H. 34/6O, 499/82A
Charles P. 311/70A
Charles S. 376/75A
Charlier-Bret N. 296/68A
Charlois-Ou C. 150/38O
Charron J. 27/5O, 271/66A
Chartres M. 277/67A
Chassaing D. 285/67A
Chastan E. 523/84A
Chau F. 336/73A, 337/73A, 358/74A
Chaumeil C. 309/70A
Chauvin A. 495/81A
Chavanet P. 213/53S
Chemoul A. 381/75A
Chen T. 94/22O
Cherif T. 408/77A
Chevrier S. 539/85A
Chichmanian R.M. 318/71A
Chidiac C. 53/11SEP, 119/30C
Chillou C. 27/5O
Chiron R. 289/67A, 523/84A
Chochillon C. 172/43O
Cholley P. 206/52O, 428/79A
Chomarat M. 294/68A, 421/78A
Chomy F. 262/65A
Choucair J. 464/80A
Chouchène S. 391/75A
Chouikha A. 391/75A
Christian B. 184/45O, 396/76A
Clavé D. 273/67A
Clayette P. 451/80A
Clément R. 315/71A
Clermont O. 141/35O
Cneude F. 146/36O
Cobarzan D. 151/38O
Cocquerelle V. 402/77A
Coffin B. 431/79A
Cohen N. 462/80A
Cohen R. 37/8O, 39/8O, 41/8O, 52/11SEP, 187/46SEP, 208/52O
Cohen-Bacrie S. 266/66A
Col BVH . 263/65A, 510/83A
COLBvh . 502/83A
Cole S. 233/59S
Colimon R. 31/6O
Collignon A. 334/72A
Collin E. 107/25O
Collin P.M. 308/70A
Combescure C. 68/15O
Compan B. 345/73A
Conil J.M. 273/67A
Constantin N. 326/72A
Coppola M. 5/1O
Coque T. 514/83A
Corbasson J. 354/74A
Corneille J. 449/80A
Cornut P.L. 277/67A
Cortay J.C. 461/80A
Cortès S. 461/80A
Corvec C. 476/81A, 482/81A
Corvec S. 79/19O, 370/74A, 409/77A, 410/77A, 429/79A, 433/79A, 436/79A
Corvo J. 463/80A
Cosse M. 438/79A
Costagliola D. 83/20S, 181/45O
Coste-Burel M. 31/6O, 385/75A
Coté J.F. 91/22O
Cottin J. 366/74A
Coulange L. 340/73A
Coulomb F. 469/81A
Counil F. 289/67A
Courcol R. 231/58S, 352/74A, 355/74A
Courdavault L. 384/75A
Courillon Mallet A. 296/68A
Courpon A. 259/65A, 431/79A

Courroux C. 283/67A
Courtier C. 78/19O
Cousson J. 73/15O
Couturier E. 460/80A
Crampon F. 98/23O
Cremer G. 308/70A
Crémet L. 409/77A, 410/77A, 476/81A, 482/81A
Crémieux A.C. 91/22O
Cremniter J. 222/56O
Croizé J. 58/13O, 146/36O, 149/36O
CS de l'ONERBA et les microbiologistes participants . 115/28SEP
Cua E. 3/1O, 318/71A
Curlier E. 257/65A
Cuzon G. 7/2O, 142/35O, 411/77A, 506/83A
Cyncynatus C. 279/67A

D

Auteur présent / Co auteur

d'Athis P. 39/8O, 208/52O
D'enfert C. 304/70A
Da Costa A. 280/67A
Dahmen S. 9/2O, 407/77A
Dahmoun F. 398/76A
Dailly E. 317/71A
Dallenne C. 280/67A
Danan C. 122/31O
Dannaoui E. 251/63S
Darbas H. 345/73A
Dargere S. 182/45O
Datry A. 13/3O
Dauchy F. 262/65A
Dauga C. 234/59S
Daumerie D. 195/49SEP
Dauphin B. 14/3O, 82/19O, 422/78A
Dauvergne A. 373/75A
Dauvergne S. 409/77A, 410/77A
Dauwalder O. 78/19O, 93/22O, 354/74A, 420/78A, 421/78A
David C. 493/81A
David G. 4/1O
Davoust B. 34/6O
de Barbeyrac B. 236/60S, 237/60S, 486/81A
De Bel A. 419/78A
De Briel D. 495/81A
de Carsalade G.Y. 193/49SEP
De Champs C. 28/5O, 100/23O, 276/67A, 387/75A, 493/81A
De Craeye S. 329/72A
De Korwin J.D. 296/68A
De La Cochetière M.F. 109/25O
De La Rocque F. 208/52O
De Martino S. 107/25O
De Montigny S. 456/80A
De Moreuil C. 386/75A, 487/81A
de Reuse H. 234/59S
de Rougemont A. 31/6O, 32/6O
De Saeger B. 518/83A
De Salvador F. 3/1O, 318/71A
De Vos D. 427/79A
Deback C. 449/80A
Debillon T. 146/36O
Deblangy C. 170/43O, 172/43O
Decousser J.W. 144/36O, 145/36O, 148/36O, 502/83A
Decré D. 101/23O, 280/67A
Dedet J.P. 90/21S
Dediste A. 427/79A
Deforges L. 288/67A, 466/80A, 525/84A
Defrance G. 224/56O
Dehecq B. 177/44O, 219/56O
Dekeyser S. 62/13O, 272/67A, 281/67A, 314/70A, 437/79A, 470/81A
Dekimeche A. 445/79A
Del Giudice P. 181/45O
Delacour J.C. 254/65A
Delagarde Y. 415/78A
Delaperriere N. 33/6O
Delarbre D. 386/75A
Delarbre J.M. 414/78A, 526/84A
Delaune D. 97/23O
Delbac F. 201/50O
Delbos V. 498/81A
Delchier J.C. 296/68A
Delfosse F. 173/43O
Dellamonica P. 1/1O
Delmas J. 242/61O, 406/77A
Delmée M. 286/67A
Demachy M.C. 445/79A
Demange M.G. 63/13O
Demillac R. 333/72A
Demondion E. 27/5O, 271/66A
Denamur E. 141/35O
Deneuville E. 207/52O
Denis F. 29/5O, 274/67A, 275/67A, 516/83A, 534/85A
Denis O. 25/5O
Denoix C. 517/83A
Dény P. 235/59S, 461/80A
Denys P. 128/32S
Deplano A. 10/2O
Derekeneire N. 143/35O
Derkx V. 39/8O
Deroudille L. 210/52O
Desaint C. 466/80A
Desbois D. 460/80A
Descamps D. 62/13O, 272/67A, 281/67A, 314/70A, 437/79A, 470/81A
Descamps P. 422/78A, 446/79A
Deschamps C. 431/79A
Descours G. 244/61O
Desessard C. 21/4O, 241/61O, 350/73A
Desire N. 49/10O
Deslandes G. 317/71A
Desplaces N. 161/40SEP, 279/67A, 365/74A, 434/79A
Despretz K. 355/74A
Dewailly A. 80/19O
Dewulf G. 353/74A
Dhédin N. 449/80A
Dheilly A. 110/25O
Diamantis S. 170/43O, 255/65A
Dib N. 457/80A
Dichamp C. 308/70A
Diebold M.D. 387/75A
Dieye H. 124/31O
Dimitrescu O. 91/22O
Dina J. 182/45O, 389/75A
Dine G. 364/74A
Diogo D. 304/70A
Dioma S.A. 100/23O
Diquet B. 70/15O, 202/51S

Disbay M. 411/77A
Disson O. 132/33S
Djedjik R. 524/84A
Djennane F. 297/68A
Dmytruk N. 293/68A
Dobrindt U. 303/69A
Doco-Lecompte T. 320/72A
Doit C. 40/8O, 278/67A, 332/72A
Doléans-Jordheim A. 240/61O
Doloy A. 492/81A
Domelier A.S. 77/19O
Dommergues M.A. 208/52O
Donamaria C. 262/65A
Donay J.L. 424/78A, 435/79A
Donnio P.Y. 207/52O, 263/65A, 333/72A, 532/85A, 538/85A
Dornic Q. 150/38O
Dosso M. 541/85A
Doucet-Populaire F. 144/36O, 145/36O, 148/36O, 224/56O
Drabek D. 94/22O
Drakulovski P. 15/3O, 16/3O, 307/70A
Dramane K. 474/81A
Drardja F. 453/80A
Drieux L. 222/56O
Drobecq H. 412/77A
Drogoul A.S. 539/85A
Dromer F. 311/70A
Drouet E. 376/75A
Droulers A. 254/65A
Drugeon H.B. 243/61O, 298/68A, 316/71A, 330/72A, 505/83A
Dubée V. 336/73A, 337/73A, 358/74A, 434/79A
Dubern B. 537/85A
Dubois D. 242/61O, 406/77A, 533/85A
Dubois V. 8/2O, 69/15O, 226/57S, 340/73A
Dubosq P. 469/81A
Dubrasquet A. 501/82A
Dubreuil L. 412/77A
Dubreuil L.J. 349/73A
Dubrous P. 381/75A
Ducancelle A. 47/10O, 375/75A, 457/80A
Duche C. 254/65A
Duchiron C. 274/67A
Ducki S. 146/36O, 210/52O
Ducos M. 96/22O
Dumartin C. 54/12S, 256/65A, 264/65A
Dumas P. 109/25O
Dumenil G. 130/33S
Dumitrescu O. 92/22O, 240/61O, 320/72A, 321/72A, 335/73A
Dumontet C. 240/61O
Dunyach-Remy C. 15/3O, 16/3O, 307/70A
Dupin N. 239/60S
Dupon M. 262/65A
Dupont C. 151/38O, 452/80A
Dupont D. 278/67A
Dupouy-Camet J. 305/70A
Dupuits E. 47/10O
Dupuy B. 179/44O
Duran Cordobes M. 296/68A
Duron S. 386/75A
Durupt S. 491/81A
Dussaix E. 48/10O, 460/80A
Dusserre E. 196/50O
Duval C. 510/83A
Duval V. 28/5O, 100/23O, 493/81A
Duval X. 150/38O, 224/56O

E

Auteur présent / Co auteur

Eb F. 11/2O, 338/73A, 426/79A, 430/79A
Eckert C. 179/44O, 285/67A, 286/67A, 287/67A
Eeckhout L. 518/83A
Ekaza E. 541/85A
El Euch D. 322/72A
El Mdaghri N. 324/72A
El Otmani F. 511/83A
Emeriaud G. 149/36O
Engrand C. 532/85A
Engstrand L. 268/66A
Enouf V. 150/38O
Epaulard O. 18/3O
Epifanoff G. 467/81A, 468/81A
Equipe Avenir . 130/33S
Erouane K. 395/76A
Escuret V. 152/38O, 154/38O, 388/75A
Espinasse F. 151/38O
et le groupe d'investigateurs . 33/6O
et les laboratoires d'analyses médicales du Réseau Medqual . 6/1O
et les Membres de la Comission des Anti-Infectieux . 259/65A
Etancelin P. 102/23O
Etienne E. 254/65A
Etienne J. 23/4O, 30/5O, 78/19O, 91/22O, 92/22O, 93/22O, 95/22O, 196/50O, 197/50O, 244/61O, 291/67A, 320/72A, 321/72A, 322/72A, 335/73A, 354/74A, 420/78A, 421/78A, 444/79A, 473/81A, 475/81A
Etienne M. 5/1O
Eveillard M. 366/74A, 368/74A
Eylenbosch R. 480/81A

F

Auteur présent / Co auteur

Fabre M. 521/84A, 522/84A, 527/84A
Fabre R. 467/81A, 468/81A
Fagot J.P. 208/52O
Faibis F. 445/79A
Fantin B. 224/56O, 255/65A, 336/73A, 337/73A, 358/74A
Farhad R. 3/1O, 318/71A
Fariat N. 462/80A
Farnoux C. 536/85A
Fasquelle D. 312/70A
Fauchère J.L. 296/68A
Faure D. 299/69A
Faure K. 260/65A
Favier C. 280/67A
Faye A. 40/8O
Fayet O. 535/85A
Federici L. 495/81A
Fekkar A. 13/3O
Felix B. 325/72A
Fendri C. 270/66A, 322/72A, 472/81A, 515/83A, 528/84A
Férandon C. 199/50O
Ferjani A. 477/81A
Ferjani S. 342/73A, 361/74A
Ferrari P. 374/75A
Ferraris O. 152/38O
Ferroni A. 40/8O, 82/19O, 145/36O, 209/52O, 422/78A
Ferry T. 23/4O, 197/50O
Fiacre A. 445/79A

Ficko C. 386/75A, 487/81A
Figarella P. 265/66A
Fihman V. 79/19O, 259/65A, 431/79A
Filali A. 270/66A
Filipelli C. 198/50O
Filleron A. 530/85A
Fines M. 200/50O
Finhman V. 429/79A
Fleury F. 379/75A
Floch T. 73/15O
Florence F. 34/6O
Floret D. 31/6O, 154/38O, 186/46SEP, 473/81A
Fodha I. 48/10O, 391/75A
Fombeur P. 469/81A
Fontana C. 31/6O
Fontanet A. 500/82A
Fontenoy C. 317/71A
Forey F. 244/61O
Fouilhoux A. 35/6O
Foulet F. 308/70A
Foulongne V. 31/6O
Fourati M. 513/83A
Fourcade L. 31/6O
Fourneret-Vivier A. 63/13O
Fournier D. 147/36O, 354/74A, 357/74A
Fournier S. 17/3O, 59/13O
François B. 274/67A
Fréal E. 173/43O
Frebourg N. 442/79A
Fréger P. 5/1O
Fremy S. 122/31O
Frenkiel H. 284/67A
Freour T. 370/74A
Freydiere A.M. 30/5O, 78/19O, 95/22O, 197/50O, 321/72A, 354/74A, 420/78A, 421/78A
Fritzell B. 39/8O, 41/8O
Frobert E. 154/38O, 388/75A
Frola S. 497/81A
Fromage M. 296/68A
Fuerea R. 491/81A
Fulcher L. 175/44O
Fumagalli G. 364/74A
Fux F. 329/72A

G

Auteur présent / Co auteur

Gagneur A. 31/6O, 33/6O
Gaidot N. 36/6O
Gaillard J.L. 222/56O, 291/67A
Gaillard T. 313/70A, 522/84A
Gaillot O. 483/81A
Gales A.C. 142/35O
Galinier J.L. 292/67A
Gallay A. 236/60S, 393/75A
Gallet S. 456/80A
Gallon O. 502/83A
Galofaro L. 223/56O
Gandemer V. 539/85A, 540/85A
Gangneux J.P. 539/85A, 540/85A
Ganry O. 178/44O, 426/79A, 430/79A
Garandeau C. 72/15O
Garau J. 158/39S
Garbag-Chenon A. 31/6O
Gardella F. 1/1O
Gardon C. 78/19O
Gargouri S. 513/83A
Garin B. 324/72A
Garnier F. 29/5O, 274/67A, 275/67A, 282/67A, 516/83A, 534/85A
Garo B. 60/13O, 485/81A, 488/81A
Garré M. 60/13O, 478/81A, 485/81A, 488/81A, 492/81A
Garrelly L. 284/67A
Gaschet A. 263/65A, 532/85A, 538/85A
Gasnault J. 247/62SEP
Gaudias J. 363/74A
Gaudin A. 536/85A
Gausa L. 68/15O
Gautreau L. 108/25O
Gauzit R. 45/9S, 51/11SEP
Gay-Andrieu F. 306/70A
Gayot A. 149/36O
Gbaguidi-Haore H. 61/13O, 428/79A
Ge Y. 21/4O, 241/61O, 350/73A
Gendrel D. 31/6O, 32/6O, 106/24S
Geneste D. 101/23O
Genty S. 500/82A
Genty V. 364/74A
Georges H. 118/30C
Gérard R. 478/81A
Germi R. 376/75A, 383/75A
Gérôme P. 521/84A, 522/84A
Gestin B. 58/13O, 149/36O
Ghafour M. 524/84A
Ghanem R. 432/79A
Ghoubantini A. 472/81A
Ghozzi R. 404/77A, 405/77A
Gibold L. 35/6O
Giddey M. 223/56O
Gillet Y. 154/38O, 473/81A, 475/81A
Ginevra C. 196/50O, 244/61O, 420/78A, 444/79A
Gioghi P. 312/70A
Girardo P. 354/74A, 421/78A
Girardot R. 94/22O
Giraud K. 254/65A
Giraudeau B. 111/27S
Giraudeau C. 409/77A
Giraudon L. 471/81A
Girlich D. 12/2O, 221/56O, 399/77A
Glavas S. 268/66A
Glorion C. 40/8O, 209/52O
Glupczynski Y. 10/2O, 25/5O, 227/57S, 269/66A, 427/79A
Gobaux V. 59/13O
Godard C. 123/31O
Godineau N. 500/82A
Godreuil S. 345/73A, 523/84A
Goldschmidt P. 309/70A
Golmard J.L. 13/3O
Gomez-Valero L. 291/67A
Gordien E. 375/75A, 454/80A
Gorret J. 207/52O
Gosse G. 63/13O
Gosso F. 172/43O
Gouarin S. 389/75A
Goudard M. 378/75A, 382/75A
Goudeau A. 295/68A, 484/81A
Goulet V. 125/31O, 236/60S

Gourdon F. 35/6O
Gouzerh M.J. 489/81A, 519/84A
Grandbastien B. 137/34SEP, 173/43O, 260/65A, 512/83A
Grando J. 147/36O
Grangeot-Keros L. 36/6O
Granier S.A. 122/31O
Graube A. 48/10O, 460/80A
Gravet A. 414/78A, 526/84A
Gravisse J. 311/70A, 509/83A
Grawey I. 495/81A
Grayo S. 124/31O
Greder-Belan A. 261/65A
Greffe S. 452/80A
Grillo J.M. 450/80A
Grimmelprez A. 25/5O
Grimprel E. 188/46SEP
Grohs P. 80/19O, 362/74A
Grondin S. 362/74A
Gros I. 379/75A
Grosjean J. 378/75A, 380/75A
Grosse S. 380/75A
Grosveld F. 94/22O
Groupe Azay-Mycobacteries 489/81A
Groupe des Pédiatres et Microbiologistes de l'Observartoire des Méningites 37/8O
Groupe Dressing 58/13O
Groupe Gatt de la Société Française de Transfusion Sanguine 47/10O
Grout J. 122/31O
Guarini P. 284/67A
Guérin N. 208/52O
Guerinot W. 172/43O
Guéry B. 67/14S
Gueudet T. 356/74A, 481/81A
Guiguen C. 539/85A, 540/85A
Guillard T. 28/5O, 73/15O, 100/23O, 276/67A, 493/81A
Guillemin G.J. 451/80A
Guillet P. 503/83A
Guillet-Caruba C. 144/36O, 145/36O, 148/36O
Guillion N. 178/44O
Guillon H. 11/2O, 338/73A
Guillouët M. 440/79A
Guillouzouic A. 409/77A
Guiso N. 290/67A, 466/80A
Guisset A. 10/2O
Gutmann L. 80/19O, 362/74A, 365/74A
Guy C. 208/52O
Guyot C. 151/38O

H

Auteur présent / Co auteur

Habib M. 376/75A
Hachicha M. 391/75A
Hadjfredj S. 528/84A
Haenni M. 120/31O, 121/31O, 223/56O
Haguenoer E. 77/19O
Haine T. 254/65A
Hajjar J. 136/34SEP
Halkovich A. 287/67A
Halli N. 398/76A, 443/79A
Hamed C.T. 375/75A
Hamidi M. 524/84A
Hammami A. 479/81A, 490/81A, 513/83A
Hammami B. 458/80A, 459/80A, 490/81A
Hammami S. 390/75A, 404/77A, 405/77A
Hannachi N. 372/75A, 455/80A, 477/81A
Hannequin D. 5/1O
Hansmann Y. 495/81A
Hantz S. 378/75A, 380/75A
Haouchine D. 443/79A
Haouzane F. 343/73A
Harbi A. 391/75A
Harchay C. 515/83A
Harrois D. 353/74A
Hassar M. 304/70A
Hassen F. 148/36O
Hassen R. 455/80A
Hauck Y. 527/84A
Haustraete E. 448/79A
Hellard G. 110/25O
Hem S. 141/35O
Hennebicq S. 450/80A
Hennequin C. 13/3O
Henoun Loukili N. 173/43O
Henry B. 476/81A
Henry S. 498/81A
Hérault M.C. 58/13O
Herrmann J.L. 80/19O, 291/67A
Hervieux F. 4/1O
Héry-Arnaud G. 77/19O, 440/79A, 478/81A, 485/81A, 492/81A
Hessel L. 75/18SEP
Heym B. 222/56O
Hidri N. 29/5O, 275/67A, 516/83A
Hindler J. 367/74A
Hitoto H. 366/74A
Hober D. 31/6O
Hochart-Behra A.C. 412/77A
Hocquet D. 177/44O, 357/74A
Hoffmann A.M. 81/19O
Hoizey G. 73/15O
Holstein A. 484/81A
Honderlick P. 311/70A, 411/77A, 509/83A
Host H. 284/67A
Hovannisyan C.S. 536/85A
Howell A.B. 68/15O
Hsu L.Y. 92/22O
Huang H. 285/67A
Huang M. 59/13O
Huang T.D. 10/2O, 401/77A
Hubert P. 475/81A
Hübschen J. 36/6O
Huet F. 31/6O
Hugede H.C. 143/35O
Hugel P. 210/52O
Huguenet D. 333/72A
Huguenin A. 153/38O, 371/75A, 374/75A, 392/75A
Hulten K. 92/22O
Husson P. 171/43O, 446/79A

I

Auteur présent / Co auteur

Ibara A.S. 310/70A
Icenogle J. 36/6O
Ilharreborde B. 40/8O
Illiaquer M. 482/81A
Imbert A. 289/67A

Imbert P. 386/75A, 486/81A, 487/81A
Imbert-Marcille B.M. 377/75A, 390/75A
Ishagh E. 454/80A
Ittah-Desmeulles H. 445/79A

J Auteur présent / Co auteur

Jacobs F. 427/79A
Jacqueline C. 19/4O, 20/4O, 21/4O, 108/25O, 241/61O, 347/73A, 350/73A
Jacquet A. 208/52O
Jacquier H. 79/19O, 80/19O, 141/35O, 429/79A
Jacquier S. 312/70A
Jaffar-Bandjee M.C. 517/83A
Jamali L. 343/73A
Jamme F. 109/25O
Jan E. 328/72A
Jandot F. 326/72A
Janis C. 199/50O
Janoir C. 362/74A
Jansen C. 253/65A
Janssens A.C. 143/35O
Janvier F. 97/23O, 473/81A
Jarlier V. 44/9S, 59/13O, 105/24S, 117/28SEP, 222/56O, 352/74A
Jarno P. 264/65A
Jarraud S. 196/50O, 244/61O, 284/67A, 291/67A, 420/78A, 444/79A
Jaulhac B. 81/19O, 107/25O, 363/74A, 402/77A
Jauréguy F. 79/19O, 429/79A
Javaugue V. 72/15O
Javouhey E. 154/38O, 473/81A
Jay N. 33/6O
Jeannot K. 219/56O, 357/74A
Jean-Pierre H. 345/73A, 349/73A, 523/84A
Jehl F. 211/53S, 402/77A
Jeulin D. 494/81A
Jeziorski E. 530/85A
Jlili N.H. 341/73A, 514/83A
Jochault L. 61/13O
Johnson J.R. 301/69A
Johnston J. 367/74A
Jolivet-Gougeon A. 532/85A, 538/85A
Joly I. 512/83A
Joly L.M. 5/1O
Joly-Guillou M.L. 351/73A, 366/74A, 368/74A
Joncquel M. 314/70A
Jordheim L.P. 240/61O
Jorgensen J. 175/44O
Josien R. 108/25O
Jossens A. 33/6O
Jouanneau A. 484/81A
Jouannet C. 27/5O
Jouannet P. 450/80A
Jouet J.P. 173/43O
Jourdan N. 2/1O
Jousse-Joulin S. 485/81A
Jouve G. 207/52O
Jumas-Bilak E. 289/67A, 299/69A, 510/83A
Juvin M.E. 370/74A, 436/79A, 476/81A, 482/81A

K Auteur présent / Co auteur

Kac G. 59/13O
Kacou N'Douba A. 541/85A
Kamar N. 273/67A
Kamoun A. 342/73A, 361/74A, 403/77A
Kanoun F. 472/81A
Kaplon J. 31/6O, 32/6O
Karray H. 458/80A, 459/80A
Katlama C. 180/45O
Kazali E.A. 541/85A
Kechrid A. 290/67A, 339/73A, 341/73A, 514/83A
Keita-Perse O. 135/34SEP
Keller L. 266/66A
Kempf I. 110/25O
Kempf M. 351/73A, 366/74A, 368/74A
Kern A. 107/25O
Ketterer S. 534/85A
Khaled S. 529/84A
Khati S. 443/79A
Khelifa R. 297/68A
Khobta N. 503/83A
Khoufache K. 465/80A
Kilani B. 472/81A
Kitous N. 496/81A
Kitzis M.D. 365/74A, 434/79A
Klai W. 361/74A
Klepel S. 417/78A
Klouche S. 434/79A
Kodjo A. 413/78A, 510/83A
Koeck J.L. 381/75A
Koffi S. 541/85A
Köhler T. 206/52O
Kolb A. 221/56O
Kostrzewa M. 77/19O, 81/19O, 416/78A, 417/78A
Kouablan A. 541/85A
Kouatchet A. 215/54S
Koubâa M. 490/81A
Kouid Belkadi S. 395/76A
Kowalczyk F. 351/73A, 368/74A
Krastinova E. 397/76A
Krebs M. 242/61O
Kubab S. 447/79A
Kwasek S. 13/3O

L Auteur présent / Co auteur

L'hériteau F. 264/65A
La Ruche G. 192/49SEP
Labbène M. 270/66A
Lacassie S. 183/45O
Lacavé L. 264/65A
Lafaurie M. 253/65A, 424/78A, 435/79A
Lagier A. 58/13O
Lagier E. 499/82A
Lagniel A. 17/3O
Lagny H. 101/23O
Lahiani D. 458/80A, 459/80A, 490/81A
Lakroun L. 254/65A
Lalande V. 285/67A
Lamarque L. 326/72A
Lamory F. 178/44O, 426/79A, 430/79A
Lamy B. 413/78A, 471/81A, 510/83A
Lancien-Mainot E. 155/38O
Landelle C. 444/79A
Lang J.M. 494/81A

Lanotte P. 77/19O, 282/67A, 295/68A, 484/81A
Laouar H. 439/79A
Laouar M. 258/65A, 453/80A
Laouira S. 115/28SEP
Laperche S. 47/10O
Larnaudie S. 466/80A
Lartigue M.F. 77/19O
Laschéras-Bauduin A. 262/65A
Lascols C. 505/83A
Laudat P. 27/5O, 271/66A
Launay N. 288/67A, 525/84A
Launay O. 76/18SEP, 466/80A
Laurent C. 25/5O
Laurent E. 125/31O, 236/60S
Laurent F. 23/4O, 30/5O, 147/36O, 167/42S, 197/50O, 198/50O, 267/66A, 300/69A, 320/72A, 413/78A, 465/80A, 475/81A
Laurent M. 198/50O
Lauwers S. 174/44O, 302/69A, 419/78A, 518/83A
Lavayssiere L. 273/67A
Laventie B.J. 94/22O
Lavigne J.P. 2/1O, 68/15O, 99/23O, 360/74A
Lawrence C. 222/56O, 291/67A
Le Berre R. 440/79A, 485/81A, 488/81A
Le Bris A. 261/65A
Le Brun C. 483/81A
Le Clech G. 538/85A
Le Coustumier A. 263/65A
Le Gal F. 375/75A, 454/80A
Le Gall E. 539/85A, 540/85A
Le Glaunec J.M. 288/67A, 525/84A
Le Goff J. 393/75A
Le Grand J. 255/65A
Le Guillou-Guillemette H. 457/80A
Le Lay G. 478/81A, 492/81A
Le Mabecque V. 19/4O, 20/4O, 241/61O, 347/73A
Le Marrec G. 520/84A
Le Monnier A. 79/19O, 125/31O, 334/72A, 429/79A
Le Pape P. 306/70A
Le Pogam M.A. 4/1O
Le Strat Y. 393/75A
Le Turdu F. 384/75A
Lebargy F. 493/81A
Lebeaux D. 325/72A
Lebitasy M.P. 401/77A
Lebland C. 319/71A
Lebon P. 31/6O, 466/80A
Lebouder F. 465/80A
Leccia M.T. 18/3O
Leclerc P. 434/79A
Leclercq A. 124/31O, 125/31O
Leclercq R. 200/50O, 331/72A, 494/81A, 505/83A, 520/84A
Lecointe D. 447/79A
Lecuit M. 124/31O, 125/31O, 132/33S
Lecuyer H. 82/19O, 209/52O, 422/78A, 446/79A
Lécuyer A. 37/8O, 41/8O, 208/52O
Lefalher G. 523/84A
Lefebvre F. 467/81A
Lefebvre M. 20/4O
Lefevre S. 402/77A
Leflon-Guibout V. 400/77A
Lefort A. 224/56O, 255/65A, 336/73A, 337/73A, 358/74A
Legrand P. 288/67A, 525/84A
Le-Guinche I. 171/43O
Lehours P. 268/66A
Lejal N. 465/80A
Lejeune B. 60/13O, 438/79A
Lelièvre B. 70/15O
Lemaire S. 22/4O, 327/72A
Lemaitre F. 72/15O
Lemaitre T. 33/6O
Lemaître C. 40/8O
Lemarié C. 366/74A
Lemee L. 179/44O
Leon A. 73/15O
Leone S. 28/5O
Léonnet C. 456/80A
Leparc-Goffart I. 34/6O
Lepelletier D. 6/1O, 55/12S, 370/74A, 409/77A, 410/77A, 436/79A
Lepeule R. 424/78A, 435/79A
Lepine J. 62/13O
Leporrier J. 151/38O, 452/80A
Leport C. 150/38O
Lepoultier R. 200/50O
Lepoutre S. 355/74A
Leprince C. 436/79A
Leprince M. 412/77A
Lerat H. 86/20S
Lerat L. 355/74A
Leroy J. 257/65A
Leroy J.P. 498/81A
Leroy P. 381/75A
Leruez M. 151/38O
Lesens O. 35/6O
Lesteven C. 200/50O
Lesteven E. 332/72A
Lesueur C. 178/44O, 426/79A, 430/79A
Leterrier M. 370/74A
Letourneur L. 446/79A
Levast M. 63/13O
Levent T. 512/83A
Lévêque N. 66/14S, 153/38O, 371/75A, 374/75A, 387/75A, 392/75A
Levy C. 37/8O, 39/8O, 41/8O
Lewinski M. 367/74A
Leymarie A. 125/31O
Leyssène D. 406/77A
Lezzar A. 439/79A
Lhotellier L. 434/79A
Libbrecht E. 396/76A
Libert N. 473/81A
Liguori S. 332/72A
Lilin T. 91/22O
Lina B. 31/6O, 74/18SEP, 150/38O, 152/38O, 154/38O, 388/75A, 394/75A, 461/80A
Lina G. 78/19O, 91/22O, 92/22O, 93/22O, 95/22O, 320/72A, 335/73A, 354/74A, 421/78A, 473/81A, 475/81A
Livrelli V. 201/50O
Llanes C. 206/52O
Lô B. 454/80A
Lohmann C. 414/78A, 526/84A
Lolom I. 170/43O, 172/43O
Lombrail P. 6/1O
Longo M. 26/5O, 293/68A
Loron G. 24/4O
Lorrot M. 31/6O, 40/8O

Lortat Jacob A. 162/40SEP
Lortholary O. 311/70A
Louis I. 183/45O
Lucet J.C. 42/9S, 57/12S, 104/24S, 138/34SEP, 170/43O, 172/43O, 255/65A
Ludes B. 81/19O
Lukaszewiez A. 387/75A
Lunel-Fabiani F. 47/10O, 375/75A, 454/80A, 457/80A
Lustig S. 197/50O
Ly T.D. 296/68A

M

Auteur présent / Co auteur

Maaloul I. 458/80A, 459/80A, 490/81A
Machecourt D. 210/52O
Machet L. 56/12S
Mackiewicz V. 373/75A
Madec J.Y. 120/31O, 121/31O, 223/56O
Madoux J. 28/5O, 276/67A
Magnat N. 383/75A
Mahaza C. 366/74A
Mahieux S. 349/73A
Mahjoubi F. 479/81A, 513/83A
Mahmoud M. 507/83A
Mahrouki S. 99/23O
Maier T. 417/78A, 418/78A
Maiga A. 100/23O
Maiga I. 100/23O
Maillebuau F. 288/67A
Mailles A. 87/21S
Maison M. 172/43O
Maitte A. 346/73A
Majcherczyk P. 223/56O
Malacan S. 96/22O
Malavaud S. 273/67A
Malbrunot C. 447/79A
Malbruny B. 448/79A, 520/84A
Mallaret M.R. 58/13O, 146/36O
Mallaval F.O. 63/13O
Malleret B. 451/80A
Mallet E. 38/8O
Mallié M. 15/3O, 16/3O, 307/70A
Malvy D. 310/70A, 501/82A
Mamlouk K. 403/77A
Mammeri A. 453/80A
Mammeri H. 11/2O, 338/73A, 426/79A
Mamoudy P. 434/79A
Manat G. 145/36O
Manceron V. 259/65A
Maneglier B. 451/80A
Maniez M. 47/10O
Mankikian B. 27/5O
Mann L. 367/74A
Mannai A. 344/73A
Mans Y. 480/81A
Mansour W. 9/2O, 375/75A, 407/77A, 454/80A
Manuguerra J.C. 64/14S
Marcadé G. 97/23O
Marcellin P. 373/75A
Marchal C. 107/25O
Marchandin H. 289/67A, 299/69A, 345/73A, 349/73A, 510/83A, 523/84A, 530/85A
Marchandot J. 471/81A
Marche P.N. 461/80A
Marcon E. 301/69A, 400/77A
Marey C. 146/36O
Mariani-Kurkdjian P. 278/67A, 283/67A, 332/72A
Marin M. 291/67A
Marinach C. 13/3O
Marmor S. 162/40SEP
Marquette C. 461/80A
Marrakchi C.H. 458/80A, 459/80A, 490/81A
Martelin R. 276/67A, 294/68A
Martha B. 491/81A
Martin A. 529/84A
Martin C. 29/5O, 275/67A, 516/83A
Martin M. 493/81A
Martinaud C. 313/70A
Martinet A. 281/67A
Martinot A. 31/6O
Martinot M. 495/81A
Marty N. 96/22O, 273/67A, 303/69A, 326/72A, 352/74A
Mary P. 40/8O
Marzouk M. 455/80A, 477/81A, 525/84A
Mas R. 17/3O
Masmoudi A. 270/66A, 322/72A, 515/83A, 528/84A
Masnou A. 299/69A
Mastrantonio P. 286/67A
Matar G. 411/77A
Matheron S. 500/82A
Mathlouthi I. 48/10O
Matsumoto T. 68/15O
Maulin L. 499/82A
Maupu E. 17/3O
Maurer B. 467/81A
Maurin M. 58/13O, 149/36O
Maury L. 265/66A, 536/85A
May T. 396/76A
Mayaux J. 218/54S
Mayer P. 364/74A
Mazar T. 50/10O
Mazars E. 353/74A
Mazeron M.C. 450/80A, 463/80A
Mazier D. 13/3O
Mazure C. 196/50O, 444/79A
Mc Elmeel M. 175/44O
Méchaï F. 386/75A, 486/81A, 487/81A
Mechergui A. 344/73A
Mechkour S. 260/65A
Mechouet F. 529/84A
Mégraud F. 268/66A, 296/68A, 415/78A
Meherzi A. 270/66A
Mekki Y. 388/75A, 393/75A, 394/75A
Melefors O. 268/66A
Melica G. 181/45O
Mellado E. 14/3O
Ménager C. 32/6O
Ménard A. 176/44O, 415/78A
Ménard C. 148/36O
Mene S. 379/75A
Mentré F. 150/38O, 224/56O
Merault N. 291/67A
Mercier P. 183/45O
Mercuri P.S. 339/73A
Mereghetti L. 77/19O, 295/68A, 484/81A

Mérens A. 97/23O, 115/28SEP, 116/28SEP, 441/79A, 468/81A, 486/81A, 487/81A, 505/83A, 522/84A, 537/85A
Merlin J. 426/79A
Mesples B. 259/65A, 431/79A
Messaadi F. 528/84A
Messadi A. 8/2O, 340/73A, 432/79A
Messadi F. 391/75A
Messalhi N. 453/80A
Messaoud T. 528/84A
Metais M. 273/67A
Methlouthi I. 391/75A
Meugnier H. 78/19O, 92/22O, 93/22O, 147/36O, 277/67A, 320/72A, 321/72A, 322/72A, 420/78A, 421/78A
Meunier B. 337/73A
Meyer J. 422/78A
Mezghani Maalej S. 479/81A, 513/83A
Mhalla S. 372/75A, 455/80A
Miara A. 349/73A
Michaud-Nerard A. 243/61O, 298/68A, 330/72A
Michel M. 59/13O
Michon A.L. 289/67A
Michon J. 494/81A
Miegeville A.F. 19/4O, 21/4O, 241/61O
Miegeville M. 306/70A
Minaret A. 525/84A
Minguez A. 497/81A
Miquet M. 63/13O
Miranda J. 469/81A
Mitanchez D. 441/79A
Mittal R. 533/85A
Mnif B. 513/83A
Mogabure P. 417/78A, 418/78A
Mohseni Zadeh M. 495/81A
Moissenet D. 441/79A, 537/85A
Moity P. 62/13O
Molmeret M. 196/50O, 244/61O
Monchy D. 141/35O
Monneret G. 230/58S
Montamat M. 497/81A
Monteil C. 59/13O
Montois V. 355/74A
Morand P. 376/75A, 383/75A, 393/75A
Morange V. 295/68A, 484/81A
Moreau C. 359/74A
Moreau M.C. 445/79A
Moreillon P. 223/56O
Morello E. 465/80A
Morer I. 498/81A
Morfin F. 154/38O, 240/61O
Morio F. 306/70A
Morlat P. 183/45O
Morozumi M. 176/44O
Morphin-Sherpa F. 394/75A
Mosnier A. 150/38O
Moucari R. 373/75A
Mouet A. 200/50O
Mouffok N. 395/76A
Moulinier C. 154/38O
Mouloua A. 496/81A
Moussaoui W. 81/19O, 474/81A
Moutou F. 89/21S
Moutte L. 153/38O, 371/75A, 374/75A, 392/75A
Muffat-Joly M. 91/22O
Muller C. 36/6O
Muller P. 184/45O
Muller-Serieys C. 349/73A, 359/74A, 505/83A
Mustapha A. 458/80A, 459/80A, 490/81A

N

Auteur présent / Co auteur

N'Guyen V.A. 377/75A
Naas T. 7/2O, 142/35O, 156/39S, 221/56O, 506/83A
Naga H. 254/65A
Nahdi I. 390/75A
Najjar T. 270/66A
Naqvi A. 1/1O
Nassif X. 14/3O, 82/19O, 93/22O, 155/38O, 171/43O, 422/78A, 446/79A
Nateche F. 529/84A
Navas D. 317/71A, 319/71A, 433/79A
Neggazi M. 297/68A
Nègre V. 456/80A
Nenninger T. 153/38O
Nguyen F. 264/65A
Nguyen S. 62/13O, 314/70A, 437/79A, 470/81A
Nguyen T.T. 224/56O
Nguyen Van J.C. 369/74A
Nicand E. 457/80A
Nicolas F. 73/15O
Nicolas-Chanoine M.H. 255/65A, 301/69A, 352/74A, 373/75A, 400/77A
Nicolle M.C. 444/79A
Nimmo G. 92/22O
Nizet H. 269/66A
Nizou J.Y. 473/81A
Njamkepo E. 290/67A
Noble A. 503/83A
Noblot G. 210/52O
Noel V. 224/56O
Nord C.E. 285/67A
Nordmann P. 7/2O, 9/2O, 11/2O, 12/2O, 139/35O, 142/35O, 220/56O, 221/56O, 225/57S, 399/77A, 407/77A, 411/77A, 506/83A
Nougayrede J.P. 303/69A
Nouridjan F. 522/84A
Nourlil J. 462/80A
Novais A. 514/83A
Nowak C. 72/15O
Nowak E. 33/6O
Nuyttens H. 279/67A

O

Auteur présent / Co auteur

Obin O. 178/44O, 426/79A, 430/79A
Oca F. 457/80A
Odent T. 209/52O
Odièvre M.H. 431/79A
Oger E. 33/6O
Ollivier F. 6/1O
Oozer S. 151/38O
Orabona V. 503/83A
Oriot D. 31/6O
Orlandi E. 34/6O
Orlikowski D. 129/32S
Ostojski E. 173/43O
Oswald E. 303/69A, 326/72A
Ouar N. 398/76A
Ouattara B. 301/69A

Oubrim N. 462/80A
Ouchenane Z. 323/72A, 423/78A
Oudart C. 122/31O
Ould Hocine Z. 288/67A
Ouzani S. 297/68A
Oziol E. 523/84A

P Auteur présent / Co auteur

Page B. 151/38O
Pages F. 34/6O
Pairault M. 172/43O
Pakenham M. 182/45O
Palette C. 71/15O
Palomino J.C. 529/84A
Palous M. 13/3O
Pangon B. 261/65A
Panhelleux G. 351/73A
Paper T. 376/75A
Papy E. 255/65A
Paquin A. 385/75A
Parent du Châtelet I. 36/6O, 498/81A
Parez N. 31/6O, 431/79A
Parmeland L. 30/5O
Parneix P. 256/65A
Patry I. 257/65A
Paugam A. 305/70A
Payan C.H. 33/6O, 60/13O, 492/81A
Péan Y. 365/74A
Pédeboscq S. 183/45O
Péfau M. 256/65A, 264/65A
Péjin Z. 209/52O
Pellegrin J.L. 328/72A
Pelletier M.P. 347/73A
Pelloux I. 149/36O
Penneçot G. 40/8O
Pereyre S. 176/44O, 199/50O
Perignon A. 308/70A
Perot C. 149/36O
Pérouse de Montclos M. 198/50O, 267/66A
Perrier G. 95/22O
Perrier-Gros Claude J.D. 324/72A, 343/73A
Perronne C. 46/10O, 397/76A
Perrot M. 359/74A
Perrouin Verbe B. 127/32S
Pestel-Caron M. 5/1O
Petit J.C. 101/23O
Petitjean O. 212/53S, 316/71A
Petitjean Lecherbonnier J. 389/75A
Peuchant O. 176/44O, 199/50O
Peyrouse E. 184/45O
Pfeiffer C. 360/74A
Phillips-Houlbracq M. 141/35O
Piau C. 532/85A, 538/85A, 540/85A
Picaud J.C. 147/36O
Picot S. 249/63S
Pierard D. 174/44O, 302/69A, 327/72A, 518/83A
Pierard S. 427/79A
Pierre M.M. 47/10O
Pierre T. 354/74A
Pigneur B. 537/85A
Pillet S. 31/6O
Pillon E. 276/67A
Pillot-Debelleix M. 501/82A
Pina P. 502/83A
Piquet C. 122/31O
Pires-Gomes C. 122/31O
Pirnay J. 427/79A
Piroth L. 203/51S
Pistone T. 310/70A, 501/82A
Pitre H. 448/79A
Pivert A. 47/10O
Pladys P. 532/85A
Plainvert C. 333/72A, 369/74A
Plane C. 437/79A
Plantier J.C. 5/1O
Plésiat P. 177/44O, 190/48SEP, 206/52O, 219/56O, 357/74A
Ploton C. 321/72A
Ploy M.C. 29/5O, 274/67A, 275/67A, 282/67A, 382/75A, 516/83A, 534/85A
Plumet S. 34/6O
Podglajen I. 80/19O
Poilane I. 334/72A
Poirel L. 9/2O, 12/2O, 220/56O, 399/77A, 407/77A, 411/77A
Poirier P. 201/50O
Poisson F. 296/68A
Pol S. 397/76A
Pometan J.P. 183/45O
Ponard D. 485/81A
Pons J.L. 98/23O, 102/23O, 179/44O, 442/79A
Pons S. 313/70A
Popoff M.R. 149/36O
Portaels F. 529/84A
Potel G. 6/1O, 19/4O, 20/4O, 21/4O, 108/25O, 109/25O, 241/61O, 317/71A, 350/73A
Pothier P. 31/6O, 32/6O
Pottier C. 326/72A
Poulhazan E. 33/6O
Poupet H. 26/5O
Pourcel C. 527/84A
Poveda J.D. 456/80A
Poyart C. 26/5O, 131/33S, 293/68A, 333/72A, 492/81A
Pozzetto B. 31/6O
Pradier N. 365/74A
Prasadarao N.V. 533/85A
Prazuck T. 184/45O
Prère M.F. 96/22O, 266/66A, 273/67A, 303/69A, 326/72A, 535/85A
Prévost G. 81/19O, 94/22O, 474/81A
Pulcini C. 1/1O, 3/1O, 318/71A
Pupin H. 467/81A

Q Auteur présent / Co auteur

Quentin C. 8/2O, 69/15O, 340/73A
Quentin R. 77/19O
Quertainmont Y. 184/45O
Quesnel B. 437/79A
Quesnes G. 14/3O
Quilichini M.P. 503/83A
Quinn J.P. 142/35O

R Auteur présent / Co auteur

Rabaud C. 184/45O, 428/79A
Rabbat A. 217/54S
Rademaker R. 94/22O

Raffoux E. 253/65A
Ragon M. 125/31O
Rakotonirina H.C. 140/35O
Ralaimazava P. 500/82A
Ramdani-Bougessa N. 297/68A
Ramdani-Bouguessa N. 92/22O
Rameh A. 483/81A
Ranarijaona S. 385/75A
Randrianirina F. 140/35O, 531/85A
Raobijaona H. 531/85A
Raoult D. 216/54S, 423/78A
Rapp C. 97/23O, 386/75A, 486/81A, 487/81A
Rasigade J.P. 23/4O, 30/5O, 267/66A, 475/81A
Raskine L. 80/19O, 424/78A
Ratat C. 92/22O, 95/22O
Ratsima E. 140/35O
Raulin O. 30/5O, 147/36O, 267/66A, 300/69A
Ravaud P. 255/65A
Raymond J. 26/5O, 40/8O, 106/24S, 234/59S, 293/68A, 296/68A
Razik F. 395/76A
Razki A. 304/70A
Receveur M.C. 310/70A, 501/82A
Recule C. 58/13O, 149/36O
Regnier B. 172/43O
Reig T. 387/75A
Reix P. 321/72A
Réjiba S. 339/73A, 341/73A, 514/83A
Rekik M. 479/81A
Rekik S. 513/83A
Renaudin H. 176/44O, 199/50O
Renois F. 66/14S, 153/38O, 371/75A, 374/75A, 387/75A, 392/75A
Resseguier N. 34/6O
Reverdy M.E. 320/72A, 321/72A, 335/73A, 421/78A
Revest M. 333/72A
Revole P. 503/83A
Revue E. 469/81A
Rey D. 396/76A
Reynaert M.L. 412/77A
Reynaud A. 370/74A, 409/77A, 410/77A, 436/79A, 476/81A, 482/81A, 489/81A, 519/84A
Reynaud-Davin I. 149/36O
Reynes J. 15/3O, 16/3O, 307/70A
Reyrolle M. 196/50O, 284/67A, 444/79A
Ribaud P. 253/65A
Richard B. 144/36O, 145/36O
Richard J.L. 2/1O
Richard V. 140/35O, 531/85A
Riché A. 72/15O
Rieder-Monch C. 356/74A, 481/81A
Riegel P. 81/19O, 363/74A, 402/77A, 483/81A
Riffault S. 465/80A
Riou M. 348/73A, 427/79A
Rioux C. 255/65A
Ripert C. 491/81A
Riteau B. 465/80A
Riveros O. 255/65A
Robert J. 115/28SEP
Robin F. 242/61O, 406/77A
Roblot F. 168/42S
Rodeghiero C. 480/81A
Rodière M. 31/6O, 530/85A
Rodriguez-Nava V. 198/50O
Rogé J. 279/67A
Roger F. 510/83A
Roger P.M. 3/1O, 318/71A
Rogez-Kreuz C. 451/80A
Rogues A.M. 256/65A, 264/65A
Rolain J.M. 423/78A
Romand P. 312/70A
Roque-Afonso A.M. 48/10O, 460/80A
Roquilly A. 21/4O, 108/25O
Rosenthal E. 397/76A
Rosseel P. 419/78A
Rossines E. 351/73A
Rostaing L. 273/67A
Rothberg J. 367/74A
Rottman M. 80/19O, 163/40SEP
Roucairol C. 71/15O
Rouger C. 396/76A
Roujou-Gris M. 533/85A
Roure Sobas C. 30/5O, 147/36O, 198/50O, 267/66A, 300/69A
Rousée J.M. 356/74A, 481/81A
Rousse M.F. 63/13O
Rousseau C. 334/72A
Rousseau-Didelot M.N. 345/73A
Roussel-Delvallez M. 505/83A, 512/83A
Rousselot M. 72/15O
Rousset P. 465/80A
Roussey M. 207/52O
Routon V. 254/65A
Rouveix E. 151/38O, 452/80A
Roux X. 381/75A
Rouzic N. 60/13O, 473/81A, 478/81A, 485/81A, 488/81A, 492/81A
Roy C. 255/65A
Ruimy R. 170/43O, 325/72A
Ruppé E. 141/35O, 143/35O, 157/39S, 325/72A
Rusniok C. 291/67A

S

Auteur présent / Co auteur

Saade F. 50/10O
Saadi M. 443/79A
Sabatier M. 152/38O
Saby K. 264/65A
Sagaert L. 468/81A
Saheb H. 398/76A
Sahel N. 504/83A
Sahli F. 508/83A
Saïdani M. 342/73A, 361/74A, 408/77A
Saint Raymond C. 18/3O
Saint-Blancard P. 521/84A, 522/84A
Salaun V. 27/5O
Salaün M.A. 448/79A
Salauze B. 441/79A, 537/85A
Saleh-Mghir A. 91/22O
Saliou P. 438/79A
Salle F. 299/69A
Salles-Thomasson E. 491/81A
Salomon J. 126/32S
Salomon L. 259/65A
Salord H. 30/5O, 147/36O, 198/50O, 267/66A, 300/69A
Saly J.C. 517/83A
Samdjee F. 261/65A
Sanchez A. 497/81A

Sanchez M. 337/73A
Sanchis T. 49/10O
Sancho-Shimizu V. 133/33S
Sandré A. 371/75A, 374/75A, 392/75A
Sanglard D. 13/3O
Sanni A. 474/81A
Sanni E. 431/79A
Sanson Le Pors M.J. 80/19O, 450/80A, 463/80A
Sarthou J.L. 141/35O
Sassolas B. 485/81A
Sastre-Garau X. 84/20S
Sattler C. 452/80A
Sauter E. 369/74A
Sauvalle A. 450/80A
Saux M.C. 69/15O
Savey A. 264/65A
Sayadi S. 143/35O
Scanvic A. 384/75A
Schaffer S. 65/14S
Scheftel J.M. 402/77A
Schlemmer B. 43/9S
Schmit P.O. 77/19O
Schmitt F. 414/78A, 526/84A
Schnepf N. 463/80A
Schoevardts D. 25/5O
Schramm F. 363/74A
Schreckenberger P. 367/74A
Schütt S. 418/78A
Schwebel C. 58/13O
Sdoudi K. 304/70A
Sednaoui P. 236/60S, 238/60S
See H. 24/4O
Segain J.P. 108/25O
Segonds C. 299/69A
Segura J.F. 33/6O
Seigneurin J.M. 376/75A, 383/75A
Sel E. 10/2O
Selman L. 354/74A
Semaille C. 236/60S, 393/75A
Semenova T. 383/75A
Senneville E. 166/42S, 224/56O
Sep Hieng S. 415/78A
Seringe R. 40/8O
Servant-Delmas A. 47/10O
Sfar T. 270/66A, 391/75A
Silva J. 220/56O
Simon A. 401/77A, 427/79A
Simon S. 362/74A
Simoneau G. 70/15O
Skouri H. 455/80A
Sleiman Z. 464/80A
Slekovec C. 257/65A, 425/79A
Slimani S. 196/50O
Smaoui H. 290/67A, 341/73A, 514/83A
Smati F. 423/78A, 439/79A
Snounou G. 13/3O
Soetens O. 518/83A
Sok P. 539/85A
Soler C. 521/84A, 522/84A, 527/84A
Sollet J.P. 384/75A
Sotto A. 2/1O, 68/15O, 99/23O, 360/74A
Soubeyrand B. 466/80A
Soudani A. 528/84A
Sougakoff W. 222/56O, 519/84A
Soukri A. 343/73A, 462/80A
Soullié B. 381/75A
Soussy C.J. 296/68A, 349/73A, 505/83A
Spigaglia P. 286/67A
Spiliopoulou I. 92/22O
Spinelli C. 78/19O
Spitale N. 497/81A
Spreux-Varoquaux O. 451/80A
Stahl J.P. 134/33S
Stamm D. 473/81A
Stephan J.L. 31/6O
Stifa A. 506/83A
Stolidi P. 456/80A
Stumpf S. 417/78A
Suarez S. 82/19O
Sulpice P. 121/31O
Sureau C. 461/80A
Swalus-Steenhouwer J. 480/81A

T

Auteur présent / Co auteur

Tabone Ledan C. 442/79A
Tachet H. 297/68A
Taha M. 185/46SEP, 498/81A
Talarmin A. 140/35O, 531/85A
Talbi A. 446/79A
Taleb L. 398/76A
Talmi M. 511/83A
Talon D. 61/13O, 425/79A, 428/79A
Tande D. 60/13O
Tankovic J. 79/19O, 429/79A
Taque S. 540/85A
Tardif D. 467/81A, 468/81A
Tatevin P. 320/72A
Tattevin P. 532/85A
Tazi A. 26/5O, 293/68A
Tazir M. 297/68A
Tegmark-Wisell K. 142/35O
Tellier J. 445/79A
Tenke P. 68/15O
Tenza S. 80/19O
Ternois I. 467/81A, 468/81A
Terru D. 523/84A
Tessé S. 457/80A
Texier-Maugein J. 328/72A
Teyssier C. 299/69A
Thabet L. 8/2O, 340/73A, 432/79A
Thaler F. 311/70A
The French Aepei Study Group on Infective Endocarditis . 320/72A
Théodora C. 447/79A
Therby A. 261/65A
Therond P. 451/80A
Thibault V. 49/10O
Thibaut S. 6/1O
Thiberge J.M. 179/44O
Thierry G. 306/70A
Thiers V. 48/10O
Thomas D. 279/67A
Thouvenin M. 364/74A
Thouverez M. 257/65A, 425/79A

Tibi A. 150/38O
Tigaud S. 23/4O, 30/5O, 147/36O, 197/50O, 198/50O, 267/66A, 300/69A
Timinouni M. 324/72A, 343/73A, 511/83A
Timsit J.F. 58/13O, 214/53S
Tiouiri Benaissa H. 472/81A
Tjhio J. 367/74A
Tosini W. 184/45O
Touati A. 344/73A
Touchais S. 433/79A, 476/81A, 482/81A
Toudeft F. 398/76A, 443/79A
Touratier S. 253/65A
Tournoys M.H. 62/13O
Trabelsi A. 48/10O, 391/75A
Traccard I. 380/75A
Tran A. 31/6O, 33/6O
Tran C. 179/44O
Trieu-Cuot P. 293/68A
Triki H. 372/75A
Trima A. 258/65A, 453/80A
Tristan A. 320/72A
Tritz T. 315/71A
Trivier D. 287/67A
Trombert-Paolantoni S. 265/66A
Trouillet L. 178/44O, 426/79A, 430/79A
Trouillet S. 23/4O
Truong H.V. 7/2O, 142/35O
Tubach F. 150/38O
Tulkens P. 22/4O, 189/48SEP, 327/72A, 348/73A, 427/79A
Turcant A. 70/15O

U

Ubukata K. 176/44O

V

Vabret A. 182/45O, 389/75A
Vachée A. 115/28SEP
Valayer P. 503/83A
Valette M. 152/38O
Vallee C. 91/22O
Vallet C. 32/6O
Valmary C. 266/66A
Van Bambeke F. 22/4O, 327/72A, 348/73A, 427/79A
Van Broeck J. 286/67A
Van Der Mee-Marquet N. 77/19O
van der Werf S. 150/38O
Van Eldere J. 329/72A
Van Haecke A. 371/75A, 374/75A, 392/75A
Vandenesch F. 23/4O, 78/19O, 91/22O, 92/22O, 93/22O, 95/22O, 147/36O, 197/50O, 277/67A, 320/72A, 321/72A, 335/73A, 354/74A, 420/78A, 421/78A, 473/81A, 475/81A
Vandenhende M.A. 183/45O
Vandoorslaer K. 174/44O, 419/78A
Vanhems P. 444/79A
Vanhoof R. 123/31O, 329/72A, 480/81A
Varon E. 37/8O, 39/8O, 41/8O, 362/74A
Vauloup-Fellous C. 36/6O
Vazeille E. 406/77A
Veillon P. 454/80A
Velay A. 363/74A
Venier A.G. 256/65A
Venisse N. 72/15O
Verdavainne J. 254/65A
Verdet C. 115/28SEP
Verdon R. 182/45O
Vergnaud G. 527/84A
Vergne R. 525/84A
Vergnolle N. 465/80A
Verhaegen J. 329/72A
Vernant J.P. 449/80A
Vernet-Garnier V. 28/5O, 73/15O, 100/23O, 276/67A, 493/81A
Vettoretti L. 206/52O
Veziris N. 519/84A
Vialette M. 196/50O
Vidal L. 99/23O
Vidaud M. 373/75A
Vignaud J. 274/67A
Vignon D. 509/83A
Villegas M.V. 142/35O
Villeneuve L. 456/80A
Villier C. 18/3O
Villiers M.B. 461/80A
Vinat A. 260/65A
Violette J. 532/85A, 538/85A
Volland H. 71/15O
Vong R. 521/84A, 522/84A
Vromman F. 287/67A
Vu-Thien H. 40/8O, 441/79A, 537/85A

W

Wahiba A. 506/83A
Wanert F. 88/21S
Wawrzyniak I. 201/50O
Weinstein M. 367/74A
Weintraub A. 285/67A
Weiss R. 178/44O, 426/79A, 430/79A
Wendt C. 418/78A
Wenzel T. 417/78A
Wildemauwe C. 123/31O
Woerther P.L. 141/35O, 143/35O
Wolf C. 173/43O
Wolff M. 103/24S, 172/43O, 204/51S
Wroblewski I. 149/36O
Wybo I. 174/44O, 419/78A, 518/83A

Y

Yahyaoui G. 507/83A
Yakoub-Agha I. 173/43O
Yardin C. 284/67A
Yilmaz M. 260/65A
Ythier M. 223/56O

Z

Zahar J.R. 155/38O, 159/39S, 171/43O, 315/71A, 429/79A, 446/79A
Zahem N. 443/79A
Zalcman G. 448/79A
Zambardi G. 26/5O, 276/67A, 294/68A
Zeller V. 434/79A
Zerbib F. 296/68A
Zerouali K. 324/72A, 343/73A
Zerr B. 63/13O
Ziane H. 297/68A
Zidouni N. 529/84A

Zimmer B. 175/44O, 367/74A
Zimmermann S. 418/78A
Ziza J.M. 434/79A
Znasen A. 490/81A
Zornoza S. 171/43O, 446/79A
Zouari A. 290/67A
Zouggarh N. 538/85A
Zoulim F. 461/80A
Zrara A. 521/84A
Zribi H. 322/72A
Zribi M. 270/66A, 322/72A, 391/75A, 515/83A, 528/84A, 528/84A,

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

BLOC NOTES

Notes :

BLOC NOTES