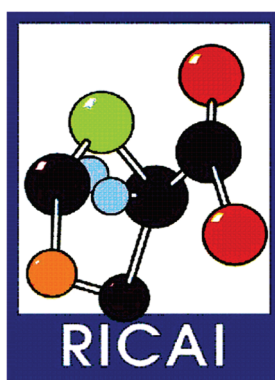


SESSIONS ORALES *ORAL SESSIONS*

Jeudi 22 novembre
Thursday, November 22



Jeudi 22 novembre

Thursday November 22

| Heure | Réf | Session | Salle |
|-------------|-------|---|-------------------|
| 09:00-10:30 | 1O | Infections bactériennes sévères | APOLLINAIRE 2 |
| 09:00-10:30 | 2O | De l'utilisation des antibiotiques en ces temps de résistance | APOLLINAIRE 6 |
| 09:00-10:30 | 3O | Ces méchants Gram positif | APOLLINAIRE 8 |
| 09:00-10:30 | 4FMC | Infections à <i>Propionibacterium acnes</i> | AMPÈRE 1 |
| 09:00-10:30 | 5SEP | La grippe fait encore parler d'elle | AMPÈRE 5 |
| 09:00-10:30 | 6O | Champignons à tous les étages | AMPÈRE 8 |
| 09:00-10:30 | 7S | Nouvelles stratégies thérapeutiques anti-fongiques | AMPÈRE 9 |
| 09:00-10:30 | 8SEP | Détermination de la CMI : des méthodes aux indications | BRILLAT SAVARIN 1 |
| 09:00-10:30 | 9SR | Un germe et sa prévention : <i>Clostridium difficile</i> (session 1) | BRILLAT SAVARIN 3 |
| 11:00-12:30 | 10O | Des pistes pour le dépistage bactérien | APOLLINAIRE 2 |
| 11:00-12:30 | 11S | Virus et chiroptères | APOLLINAIRE 6 |
| 11:00-12:30 | 12O | Physiopathologie et infections expérimentales : le non os | APOLLINAIRE 8 |
| 11:00-12:30 | 13FMC | Place de la PCR en temps réel en bactériologie en 2012 | AMPÈRE 1 |
| 11:00-12:30 | 14S | Staphylocoques : « c'est l'histoire d'un Mec » | AMPÈRE 5 |
| 11:00-12:30 | 15O | Études de flore : c'est le bouquet | AMPÈRE 8 |
| 11:00-12:30 | 16O | Infection de l'immunodéprimé | AMPÈRE 9 |
| 11:00-12:15 | 17CT | Maîtrise des <i>E. coli</i> BLSE en établissement de santé : que faire en pratique ? | BRILLAT SAVARIN 1 |
| 12:15-12:30 | 18RP | Prix RICAI | BRILLAT SAVARIN 1 |
| 11:00-12:30 | 19SR | Un germe et sa prévention : <i>Clostridium difficile</i> (session 2) | BRILLAT SAVARIN 3 |
| 12:30-14:00 | 20SS | Infections compliquées de la peau et des tissus mous : quoi de neuf à l'aube de 2013 ? | AMPÈRE 8 |
| 13:00-13:45 | 21DP | Discussion posters (session 1) | HALL PIERRE CURIE |
| 14:00-15:30 | 22SEP | Tuberculose et les mycobactéries | APOLLINAIRE 2 |
| 14:00-15:30 | 23SEP | Confrontation des pratiques : adultes versus enfants | APOLLINAIRE 6 |
| 14:00-15:30 | 24S | Infections virales d'origine alimentaire et hydrique | APOLLINAIRE 8 |
| 14:00-15:30 | 25FMC | Quelle politique de dépistage des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques ? | AMPÈRE 1 |
| 14:00-15:30 | 26O | Infections ostéo-articulaires | AMPÈRE 5 |
| 14:00-15:30 | 27O | Stratégies diagnostiques en virologie | AMPÈRE 8 |
| 14:00-15:30 | 28O | Pharmacocinétique/Pharmacodynamie des anti-infectieux | AMPÈRE 9 |
| 14:00-15:30 | 29S | Puces et automates au laboratoire, ça me démange | BRILLAT SAVARIN 1 |
| 14:00-15:30 | 30S | Florilège de la littérature 2012 | BRILLAT SAVARIN 3 |
| 16:00-17:30 | 31O | Comment améliorer la prescription des antibiotiques en ville et à l'hôpital ? | APOLLINAIRE 2 |
| 16:00-17:30 | 32O | Infections des voies respiratoires | APOLLINAIRE 6 |
| 16:00-17:30 | 33O | Physiopathologie et infections expérimentales : l'os | APOLLINAIRE 8 |
| 16:00-17:30 | 34FMC | Prise en charge d'un accès palustre à <i>P. falciparum</i> aux urgences | AMPÈRE 1 |
| 16:00-17:30 | 35S | Les endocardites infectieuses dans l'Histoire (1960-2010) | AMPÈRE 5 |
| 16:00-17:30 | 36O | Épidémiologie des infections virales | AMPÈRE 8 |
| 16:00-17:30 | 37S | Mycobactérioses atypiques : actualités en pathologie infectieuse | AMPÈRE 9 |
| 16:00-17:30 | 38SEP | Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes : <i>to be or not to be</i> carbapénémase+ | BRILLAT SAVARIN 1 |
| 16:00-17:30 | 39O | Paludisme et autres parasitoses | BRILLAT SAVARIN 3 |

Infections bactériennes sévères
Severe bacterial infections

Modérateur(s) : Gérard Lina, Didier Che

- 1** **Caractéristiques des alertes à *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème dans les hôpitaux de l'AP-HP.**
09:00 M. Lepointeur, M. Huang, C. Monteil, V. Jarlier, S. Fournier
Équipe Opérationnelle d'Hygiène, Direction de la politique médicale, AP-HP, Paris, France
- 2** **Évaluation de la qualité de la prise en charge hospitalière des infections à *Clostridium difficile* (ICD) 3 ans après une épidémie régionale.**
09:15 C. Mortier-Deswarte¹, A. Boruchowicz², N. Ettahar², M.C. Chopin², E. Canis²
¹Polyclinique de Grande Synthe, Grande-Synthe ²Centre Hospitalier de Valenciennes, Valenciennes, France
- 3** **Complications des instillations intravésicales de BCG dans le traitement du cancer urothélial de la vessie.**
09:30 N. Ben Lasfar⁵, J.D. Pommier⁵, N. Van Grunderbeeck¹, C. Burdet², C. Laouénan², C. Rioux⁵, C. Pierre-Audigier⁶, A. Meybeck⁸, L. Choudat⁴, A. Benchikh³, S. Nguyen⁷, E. Bouvet⁶, P. Yeni⁵, Y. Yazdanpanah⁵, V. Joly⁵
¹CH de Lens, Lens ²INSERM UMR-S 738 Paris ³Service d'urologie ⁴Service de cyto-anatomopathologie ⁵Service de Maladies infectieuses et tropicales ⁶Service de microbiologie, CHU Bichat-Claude-Bernard, Paris ⁷Service de Maladies infectieuses et tropicales ⁸Service de réanimation, CH de Tourcoing, Tourcoing, France
- 4** **Plaies et risque infectieux en EHPAD : cas groupés d'infections invasives à *Streptococcus pyogenes* (SGA).**
09:45 E. Martin¹, G. Grise¹, A. Bouvet², J.M. Germain³
¹CHI Elbeuf-Louviers, Elbeuf ²Centre national de référence des Streptocoques, Paris ³Arlin, Rouen, France
- 5** **Taux de succès élevés avec daptomycine dans le traitement des patients atteints de sepsis : résultats EU-CORE (European Cubicin® Outcomes Registry and Experience).**
10:00 F. Camou², B. Mourvillier³, P. Dohmen¹, P. Gargalianos-Kakolyris⁴, au nom des investigateurs Eucore
¹Hôpital, Berlin, Allemagne ²CHU, Bordeaux ³AP-HP, Paris, France ⁴Hôpital, Athènes, Grèce
- 6** **Évaluation de la sécurité d'emploi d'un traitement à long terme par daptomycine à dose élevée (≥ 8 mg/kg/jour pendant plus de 2 ou 4 semaines) : résultats EU-CORE (European Cubicin® Outcome Registry and Experience).**
10:15 C. Floriot⁴, L. Legout³, R. Util⁶, P. Gargalianos-Kakolyris⁵, F. Nacinovich¹, B. Almirante-Gragera², au nom des investigateurs Eucore
¹Hôpital, Buenos Aires, Argentine ²Hôpital, Barcelone, Espagne ³CHG, Tourcoing ⁴CHI, Vesoul, France ⁵Hôpital, Athènes, Grèce ⁶Hôpital, Naples, Italie

De l'utilisation des antibiotiques en ces temps de résistance
On the use of antibiotic in times of resistance

Modérateur(s) : Jean-Ralph Zahar, Victoire De Lastours

- 7** **Peut-on diminuer la sélection des entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinases en remplaçant la ceftriaxone par le céfotaxime ?**
09:00 P. Grohs², S. Kerneis²⁻⁵⁻¹, B. Sabatier³, M. Lavollay², E. Carbonnelle², H. Rostane², G. Meyer¹⁻⁴, L. Gutmann², J.L. Mainardi²⁻⁵⁻¹
¹Comité des Anti-infectieux ²Service de Microbiologie ³Service de Pharmacie ⁴Service de Pneumologie ⁵Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France
- 8** **Existe-t-il des alternatives aux carbapénèmes dans les infections à *Escherichia coli* productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (EcBLSE).**
09:15 H. Guet-Revillet², A. Emirian¹, B. Nebbad¹, O. Join-Lambert², V. Jullien³, J.R. Zahar²
¹Service de Bactériologie, Virologie, Hygiène, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil ²Service de Microbiologie-Hygiène hospitalière, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP ³Service de Pharmacologie clinique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP, Paris, France
- 9** **Impact des nouvelles règles du CASFM 2011 sur la prescription de carbapénèmes.**
09:30 J. Gallou, L. Maulin, N. Brieu, C. Pachetti, E. Lagier, H. Chardon
CHPA, Aix-en-Provence, France

- 10** 09:45 **Facteurs prédictifs du portage rectal préopératoire d'entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (EBLSE) chez les greffés hépatiques.**
F. Bert, B. Larroque, F. Durand, C. Paugam-Burtz, J. Belghiti, M.H. Nicolas-Chanoine
Hôpital Beaujon, Clichy, France
- 11** 10:00 **Colonization characteristics of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the faecal microbiota of healthy volunteers.**
V. de Lastours¹, A. Bleibtreu³, C. Burdet², C. Laouénan², F. Chau¹, E. Denamur³, B. Fantin²
¹EA3964 ²UMR 738 ³UMR U772, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
- 12** 10:15 **Impact des fluoroquinolones sur l'émergence de staphylocoques résistants aux fluoroquinolones au sein du microbiote nasal.**
A. Munier, V. de Lastours, F. Barbier, B. Fantin, R. Ruimy
Université Paris Diderot, EA3964, Paris, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|----------------------|-------------------------------------|-----------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 09:00 10:30 | Salle Room | APOLLINAIRE 8 | Session orale libre Oral session | 30 |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|----------------------|-------------------------------------|-----------|

Ces méchants Gram positif
Those pesky Gram positives

Modérateur(s) : Jean-Philippe Lavigne, Claire Poyart

- 13** 09:00 **Capsular switching in group B *Streptococcus* ST-17 hypervirulent clone.**
A. Six³, S. Bellais³, A. Fouet³, P. Glaser⁴, M. Longo³, P. Trieu-Cuot⁴, C. Poyart²⁻¹⁻³⁻⁴
¹CNR-Strep ²Groupe Hospitalier Cochin, Faculté de Médecine René Descartes, Université Paris 5 ³Équipe Barrières et Pathogènes, INSERM 1016 ⁴Unité Biologie des bactéries pathogènes à Gram +, Institut Pasteur, Paris, France
- 14** 09:15 **Pourquoi certaines corynébactéries du complexe *diphtheriae* possédant le gène codant la toxine diphtérique ne l'expriment pas ?**
E. Farfour¹, E. Badell¹, S. Dinu², S. Guillot¹, N. Guiso²
¹Unité PTMMH, Institut Pasteur, Paris, France ²Molecular Epidemiology Laboratory, Cantacuzino National Institute, Bucarest, Roumanie
- 15** 09:30 **Insertion d'un phage dérégulant la virulence de *Staphylococcus aureus*.**
N. Messad⁴, G. Lina², T.K. Prasjnar⁵, S.A. Renshaw⁵, F. Vandenesch², E.P. Skaar¹, D. O'callaghan⁴, A. Sotto⁴, J.P. Lavigne⁴⁻³
¹Department of Microbiology and Immunology, Nashville University, Nashville, Etats-Unis ²U851, INSERM, Lyon ³Laboratoire de Bactériologie, CHU Carêmeau ⁴U1047, INSERM, Nîmes, France ⁵MRC Centre for Developmental and Biomedical Genetics, Sheffield University, Sheffield, Royaume-Uni
- 16** 09:45 **Diffusion internationale du clone multirésistant *Staphylococcus capitis* NRCS-A en réanimation néonatale.**
J.P. Rasiqade⁵⁻⁴⁻⁷, R. Goering³, A. Kearns⁸, R. Hill⁸, O. Denis², M. Deighton¹, H. Meugnier⁴⁻⁷, M. Bes⁴⁻⁷, M. Ben Saïd⁶, O. Claris⁶, J.C. Picaud⁶, F. Vandenesch⁵⁻⁴⁻⁷, J. Etienne⁵⁻⁴⁻⁷, F. Laurent⁵⁻⁴⁻⁷
¹Department of Microbiology, RMIT University - School of Applied Sciences, Melbourne, Australie ²Laboratoire de Référence MRSA - Staphylocoques, Hôpital Erasme - ULB, Bruxelles, Belgique ³Department of Medical Microbiology and Immunology, Creighton University Medical Center, Omaha, Etats-Unis ⁴Centre National de Référence des Staphylocoques ⁵Laboratoire de Bactériologie ⁶Service de Néonatalogie, Hospices Civils de Lyon ⁷Inserm U851, Université Lyon 1, Lyon, France ⁸Staphylococcus Reference Unit, Health Protection Agency, Londres, Royaume-Uni
- 17** 10:00 **Écologie, importance clinique et sensibilité aux antibiotiques des staphylocoques à coagulase négative à l'ère de la spectrométrie de masse.**
F. Schramm, E. Daull, G. Prévost, B. Jaulhac, P. Riegel
Laboratoire de Bactériologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
- 18** 10:15 **Effet des antibiotiques seuls et combinés aux défensines humaines sur l'expression de la protéine A chez deux SARM communautaires.**
E. Martin², B. Raynal², F. Vandenesch²⁻¹, J. Etienne²⁻¹, G. Lina²⁻¹, O. Dumitrescu²⁻¹
¹Centre National de Référence des Staphylocoques, Hospices civils de Lyon ²Unité Inserm U851, Équipe Pathogénie bactérienne et immunité innée, Université Lyon 1, Lyon, France

Infections à *Propionibacterium acnes*
Propionibacterium acnes infections

Orateur(s) : Luc Dubreuil, Eric Senneville

Objectifs de l'enseignement : Mise à jour des connaissances sur la pathologie liée à *P. acnes*

Niveau requis des participants : Connaissances de base en bactériologie et antibiothérapie

Auditoire : Cliniciens et microbiologistes intéressés par la prise en charge des infections associées à *P. acnes* y compris celles sur matériel

La grippe fait encore parler d'elle
The flu is making waves again

En partenariat avec le CEIG

Modérateur(s) : François Bricaire, Bruno Lina

- | | |
|-------------|---|
| 19 09:00 | Variations antigéniques des virus H3N2 durant l'épidémie 2011-2012. <u>B. Lina</u> <i>Groupement hospitalier Est, Centre de biologie et pathologie, Institut de microbiologie, Bron, France</i> |
| 20 09:20 | Évolution de la vaccination contre la grippe : nouveaux vaccins en vue. <u>C. Weil-Olivier</u> <i>Hôpital Louis Mourier, Colombes, France</i> |
| 21 09:40 | Étude de la transmissibilité des virus H5N1 : objectifs de la recherche. <u>S. Van der Werf</u> <i>Institut Pasteur, Paris, France</i> |
| 22 10:00 | Émergence de virus triples réassortants H3N2 d'origine porcine aux USA. <u>M. Bouscambert-Duchamp</u> ¹ , B. Lina ^{1,2} ¹ <i>Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence virus influenzae France Sud, Laboratoire de Virologie Est, Bron</i> ² <i>Université Lyon 1, Faculté de Médecine Lyon Est, EA 4610, Lyon, France</i> |

Champignons à tous les étages
Fungi on all floors

Modérateur(s) : Florent Morio, Muriel Cornet

- | | |
|-------------|--|
| 23 09:00 | Caractérisation de l'écosystème broncho-pulmonaire chez les patients atteints de mucoviscidose : structure et dynamique du microbiote pulmonaire dans l'évolution clinique de la mucoviscidose. <u>L. Delhaes</u> ^{2,3} , M. Chabé ² , S. Monchy ⁵ , J. Salleron ³ , S. Leroy ^{4,3} , A. Prévotat ³ , B. Wallaert ³ , E. Dei-Cas ^{2,3} , E. Viscogliosi ² , F. Botterel ¹ ¹ <i>Département de Microbiologie, AP-HP, Créteil</i> ² <i>BDEEP-EA4547, CIIL – Institut Pasteur de Lille, Université de Lille</i> ³ <i>CHRU, Lille</i> ⁴ <i>CHU, Nice</i> ⁵ <i>LMGE-ULCO Laboratoire d'Océanologie et de Géoscience, Wimereux, France</i> |
| 24 09:15 | Colonisation bactérienne et fongique du tractus respiratoire des patients atteints de mucoviscidose : comparaison de la culture avec les techniques de RFLP, clonage et séquençage à haut débit. <u>F. Botterel</u> ¹ , O. Cabaret ¹ , J.P. Barnier ¹ , F. Stressmann ⁵ , F. Wallet ² , B. Wallaert ³ , J.W. Decousser ¹ , K. Bruce ⁵ , L. Delhaes ^{2,4} ¹ <i>Département de microbiologie, AP-HP, Créteil</i> ² <i>Département de microbiologie</i> ³ <i>Département de pneumologie, CHRU</i> ⁴ <i>BDEEP-EA4547, Institut Pasteur, Lille, France</i> ⁵ <i>Molecular microbiology department, King's College, London, Royaume-Uni</i> |

- 25** **Épidémiologie des infections à champignons filamenteux dans un centre de traitement des brûlés.**
09:30 J. Schaal¹, C. Soler², P. Jault¹, T. Leclerc¹, L. Bargues¹
¹Centre de Traitement des Brûlés ²Service de Microbiologie, HIA Percy, Clamart, France
- 26** **Épidémie d'infections invasives à *Geotrichum clavatum* en services d'hématologie, France, septembre 2011 - août 2012.**
09:45 C. Tarnaud¹⁰, M. Desnos-Ollivier⁵, S. Vaux¹⁰, A.G. Venier¹, L. Simon³, C. Bernet², H. Senechal⁸, H. Blanchard⁴, J.M. Thiolet¹⁰, R. Courbil⁹, S. Brisse⁶, S. Bretagne⁵, P. Ribaud⁷, O. Lortholary⁵, F. Dromer⁵, B. Coignard¹⁰, Le groupe d'investigation Geotrichum
¹CClin Sud-Ouest, Bordeaux ²CClin Sud-Est, Lyon ³CClin Est, Nancy ⁴CClin Paris - Nord ⁵Centre national de référence Mycoses Invasives et Antifongiques (CNRMA), Institut Pasteur ⁶Plateforme de Génotypage des Pathogènes et Santé Publique (PF8), Institut Pasteur ⁷Société Française d'Hématologie (SFH), Paris ⁸CClin Ouest, Rennes ⁹Etablissement Français du Sang, Saint-Denis ¹⁰Institut de veille sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France
- 27** **Fréquence et facteurs de risque de mycose génitale en population générale chez l'homme et la femme en France métropolitaine en 2010.**
10:00 G. La Ruhe², C. Semaille², G. Pedrono¹, N. Beltzer¹, Groupe KABP*
¹Observatoire régional de santé Île-de-France, Paris ²Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France
- 28** **Identification rapide des levures à partir des flacons d'hémoculture Mycosis® par spectrométrie de masse MALDI-TOF.**
10:15 H. Seraphin³, V. Biering³, M. Cornu³, X. Perez³, S. Rousselle², F.X. Chaine⁴, A. Totet³, H. Dupont¹, B. Sendid⁵, T. Chouaki³
¹Anesthésie et réanimation médicales ²Bactériologie ³Parasitologie et Mycologie médicales ⁴Santé publique et évaluation médicale, CHU d'Amiens et Université de Picardie Jules Verne ⁵Parasitologie et Mycologie médicales, CHU de Lille, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|-----------------|------------------------|-----------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 09:00 10:30 | Salle Room | AMPÈRE 9 | Symposium Symposium | 7s |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|-----------------|------------------------|-----------|

Nouvelles stratégies thérapeutiques anti-fongiques
New anti-fungal therapeutic strategies

Modérateur(s) : Adela Angoulvant, Vincent Le Moing

- 29** **Candidose.**
09:00 M. Wolff
Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
- 30** **Aspergillose.**
09:20 R. Herbrecht
CHRU, Strasbourg, France
- 31** **Mucormycose.**
09:40 F. Lanternier
Hôpital Necker-Enfants Malades, Université Paris V, Paris, France
- 32** **Cryptococcose.**
10:00 O. Lortholary
Hôpital Necker-Enfants Malades et Institut Pasteur, Paris, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|--------------------------|---|-------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 09:00 10:30 | Salle Room | BRILLAT SAVARIN 1 | Session en partenariat Joint session | 8SEP |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|--------------------------|---|-------------|

Détermination de la CMI : des méthodes aux indications
CMI determination: from method to indication

En partenariat avec le CA SFM

Modérateur(s) : François Jehl, François Caron

- 33** **Méthodologie, définitions.**
09:00 F. Jehl
Laboratoire de bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

- 34** **Quand déterminer la CMI et comment ? Chez les bactéries à Gram positif.**
09:20 R. Leclercq
Service de microbiologie, CHU de Caen, Caen, France
- 35** **Quand déterminer la CMI et comment ? Chez les bactéries à Gram négatif.**
09:40 R. Bonnet
Bactériologie, Université d'Auvergne, Faculté de Médecine, Clermont-Ferrand, France
- 36** **Le point de vue du clinicien.**
10:00 F. Caron
Infectiologie, CHU & Université (EA2656) de Rouen, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|--------------------------|----------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 09:00 10:30 | Salle Room | BRILLAT SAVARIN 3 | Séminaire Seminar | 9SR |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|--------------------------|----------------------|------------|

Un germe et sa prévention : *Clostridium difficile* (session 1)
A germ and prevention thereof: clostridium difficile (session 1)

Avec le soutien d'Astellas

Modérateur(s) : Catherine Eckert, Christian Rabaud

- 37** **Histoire naturelle et physiopathologie des infections à *C. difficile* : rôle des toxines, du microbiote intestinal et de la réponse immunitaire.**
09:00 A. Collignon
Hôpital Jean-Verdier, Bondy, France
- 38** **Épidémiologie et facteurs de risque des infections à *C. difficile*.**
09:20 F. Barbut
Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
- 39** **Nouveaux outils diagnostiques, nouvelles stratégies diagnostiques ?**
09:40 C. Eckert
Laboratoire associé « Clostridium difficile », Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
- 40** **Méthodes de surveillance des infections à *C. difficile*.**
10:00 C. Rabaud
Maladies infectieuses et tropicales, CHU de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|-------------------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | APOLLINAIRE 2 | Session orale libre Oral session | 10o |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|-------------------------------------|------------|

Des pistes pour le dépistage bactérien
Avenues for bacterial screening

Modérateur(s) : Odile Bajolet, Jean-Winoc Decousser

- 41** **Pratiques de dépistage en 2012 au sein des hôpitaux du collège de bactériologie-virologie-hygiène.**
11:00 O. Bellon¹, R. Sanchez³, Collège de Bactériologie, Virologie, Hygiène des Hôpitaux (COLBVH)
¹Laboratoire de Bactériologie, Centre hospitalier du pays d'Aix, Aix-en-Provence ²Centre hospitalier Jean Marcel, Brignoles ³Centre hospitalier, Périgueux, France
- 42** **Système informatisé d'alerte pour la gestion des patients contacts porteurs de bactéries hautement résistantes (BHR).**
11:15 I. Lolom³, A. El Assali², G. Birgand³, S. Belorgey³, A. Andreumont¹, J.C. Lucet³
¹Bactériologie ²Direction informatique ³UHLIN, GH Bichat - Claude Bernard, AP-HP, Paris, France
- 43** **Intérêt pratique et clinique du dépistage préopératoire du *Staphylococcus aureus* (SA) par PCR à l'admission versus dépistage par culture à la visite pré-chirurgicale.**
11:30 G. Richalet
Clinique des Cèdres Bactériologie, Medi Bio, Grenoble, France

- 44** | **Dépistage moléculaire rapide par Xpert MRSA/SA du portage nasal de *Staphylococcus aureus* lors de la consultation préopératoire de chirurgie cardiaque au CHU de Poitiers.**
11:45
C. Plouzeau¹, S. Thevenot¹, C. Jayle², P. Touroult-Jupin¹, V. Vernet¹, P. Corbi², C. Burucoa¹
¹Laboratoire de Bactériologie et d'Hygiène hospitalière ²Unité de Chirurgie cardiaque et thoracique, CHU de Poitiers, Poitiers, France
- 45** | **Contamination de l'environnement hospitalier par les entérobactéries productrices de BLSE : différence entre *E. coli* et *K. pneumoniae*.**
12:00
C. Slekovec, H. Gbaguidi-Haore, A. Varin, D. Talon, D. Hocquet, X. Bertrand
CHU, Besançon, France
- 46** | **Comparaison de stratégies de dépistage par IDR ou par Quantiféron® chez des personnels soignants exposés à la tuberculose : étude multicentrique.**
12:15
J.C. Lucet³, D. Abiteboul², C. Estellat⁴, C. Roy⁴, S. Chollet-Martin¹, F. Tubach⁴, G. Carcelain⁵
¹Département d'Immunologie ²Santé au travail ³UHLIN ⁴URC, GH Bichat - Claude Bernard, AP-HP ⁵Département d'Immunologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | APOLLINAIRE 6 | Symposium Symposium | 11s |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|------------------------|------------|

Virus et chiroptères
Virus and chiroptera

Modérateur(s) : Hélène Peigue-Lafeuille, François Moutou

- 47** | **Henipavirus : des virus en attente d'émergence.**
11:00
P. Marianneau¹, N. Tordo²
¹Unité Virologie, Anses-Laboratoire de Lyon ²Unité Stratégies Antivirales, Institut Pasteur, Paris, France
- 48** | **Coronavirinae de chiroptères, le danger vient-il du ciel ?**
11:20
M. Le Gouil
Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence, Institut Pasteur, Paris, France
- 49** | **Rage des chauves-souris : bilan des menaces actuelles.**
11:40
H. Bourhy
Centre national de référence pour la rage; Centre collaborateur de l'OMS de référence et de recherche sur la rage; Unité dynamique des lyssavirus et adaptation à l'hôte; Institut Pasteur, Paris, France
- 50** | **Chiroptères et risque de maladies virales chez l'homme : le point de vue des chauves-souris.**
12:00
F. Moutou
Anses, site de Maisons-Alfort, Unité épidémiologie, Laboratoire santé animale, Maisons-Alfort, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|-------------------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | APOLLINAIRE 8 | Session orale libre Oral session | 12o |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|-------------------------------------|------------|

Physiopathologie et infections expérimentales : le non os
Physiopathology and experimental infections: non-bone

Modérateur(s) : Agnès Lefort, Cédric Jacqueline

- 51** | ***Neisseria meningitidis* targets human endothelial cells in a human skin xenograft transplantation model in SCID mice.**
11:00
O. Join-Lambert⁴⁻²⁻⁶, H. Lécuyer⁴⁻²⁻⁶, F. Miller⁴, L. Lelièvre²⁻⁶, L. Furio⁵, S. Fraitag¹⁻⁶, P. Pelissier³, M. Coureuil⁴, X. Nassif⁴⁻²⁻⁶
¹Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques ²Laboratoire de Microbiologie, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades ³Service de Chirurgie Reconstructrice et Plastique, Fondation Hôpital Saint-Joseph ⁴INSERM U1002 ⁵INSERM U781 ⁶Université Paris Descartes, Paris, France
- 52** | **Linezolid (LZD) prevents the development of lung damages in a murine model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pneumonia (PN).**
11:15
C. Jacqueline, A.H. Broquet, A. Roquilly, M. Davieau, G. Potel, J. Caillon, K. Asehnoune
UPRES EA 3826, Université de Medicine, Nantes, France

- 53** Faut-il ajouter la moxifloxacin au traitement des tuberculoses ultra-résistantes ? Évaluation dans un modèle murin.
11:30 A. Fillion³, A. Aubry³⁻²⁻¹, F. Brossier³⁻²⁻¹, A. Chauffour³, V. Jarlier³⁻²⁻¹, N. Veiziris³⁻²⁻¹
¹AP-HP ²Centre National de référence des mycobactéries et de la résistance aux antimycobactériens ³Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Faculté de médecine Pierre et Marie Curie, Paris, France
- 54** Impact de la diminution de sensibilité à la daptomycine chez *Enterococcus faecium* sur l'activité de cet antibiotique *in vitro* et *in vivo*.
11:45 C. Richaud³, F. Chau³, M. Sotier², A. Bleibtreu⁴, B. Fantin³, V. Cattoir¹, A. Lefort³
¹EA 4655, Université de Caen, Caen ²Laboratoire de toxicologie et de pharmacologie, Hôpital Bichat ³EA 3964 ⁴UMR 722, Université Paris-Diderot, Paris, France
- 55** Un charbon actif formulé administré par voie orale, le DAV131, diminue l'impact du céfotaxime sur la résistance à la colonisation intestinale par *Klebsiella pneumoniae* résistante aux β -lactamines chez la souris.
12:00 N. Grall²⁻³, N. Ducrot³, L. Massias⁴, S. Sayah-Jeanne¹, T.T. Nguyen⁵, E. Chachaty⁶, J. de Gunzburg¹, A. Andreumont²⁻³
¹Davolterra ²EA 3964 - Université Paris-Diderot ³Laboratoire de bactériologie, Hôpital Bichat - Claude Bernard, AP-HP ⁴Laboratoire de toxicologie, Hôpital Bichat - Claude Bernard, AP-HP ⁵UMR738 INSERM - Université Paris Diderot, Paris ⁶Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
- 56** Existe-t-il un lien entre l'infection à *Helicobacter pylori* et la survenue de démences ? Étude longitudinale de 20 ans (PAQUID).
12:15 C. Roubaud Baudron¹⁻²⁻⁴, L. Letenneur³⁻⁴, A. Langlais³⁻⁴, A. Buissonnière²⁻⁴, F. Mégraud²⁻⁴, N. Salles¹⁻²⁻⁴
¹Pôle de gérontologie clinique, CHU hôpitaux de Bordeaux ²Laboratoire de Bactériologie, INSERM U853 ³ISPED, INSERM U897 ⁴Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------|-----------------------------|--------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | AMPÈRE 1 | Atelier FMC CME workshop | 13FMC |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------|-----------------------------|--------------|

Place de la PCR en temps réel en bactériologie en 2012
The role of real-time PCR in bacteriology in 2012

Orateurs :

- Un peu de méthode s'il vous plaît !**
Monique Chomarat
- Son utilisation quand on ne sait pas quoi rechercher**
Agnès Ferroni
- Son utilisation quand on sait quoi rechercher**
Franck Breysse
- Est-elle un concurrent de l'antibiogramme**
Christophe Burucoa

Objectifs de l'enseignement : Formation post-universitaire sur la place de l'outil « PCR temps réel » en bactériologie.

Niveau requis des participants : Connaissances de base de la biologie moléculaire et de la microbiologie.

Auditoire : Technicien, interne, microbiologiste, clinicien.

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------|------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | AMPÈRE 5 | Symposium Symposium | 14s |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------|------------------------|------------|

Staphylocoques : « c'est l'histoire d'un Mec »
Staphylococcus : almost a Mecca...

Modérateur(s) : Gérard Lina, Jérôme Robert

- 57** Une histoire de Mec.
11:00 O. Dumitrescu
Faculté de Médecine « Lyon Sud – Charles Mérieux », Université Lyon I, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence des Staphylocoques, Bron, France

- 58 Les SARM hospitalier, sont-ils en voie de disparition ?**
11:20 V. Jarlier
Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
- 59 Les SARM dit "communautaires" sont-ils vraiment plus méchants ?**
11:40 P. Tattevin
CHU Pontchaillou, Rennes, France
- 60 Quel risque représentent les Mec des animaux ?**
12:00 J.Y. Madec
Bactériologie, Anses, Lyon, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|-------------------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | AMPÈRE 8 | Session orale libre Oral session | 150 |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|-------------------------------------|------------|

Études de flore : c'est le bouquet
Studies on flora: flowers at our feet

Modérateur(s) : Bruno Fantin, Audrey Mérens

- 61 Évaluation de la prévalence du portage digestif des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes dans la population hospitalisée du sud de la France.**
11:00 A. Pantel⁵, H. Marchandin⁴, M.F. Prère⁸, A. Boutet Dubois², N. Brieu¹, A. Gaschet⁷, A. Davin Regli³, A. Sotto⁶, J.P. Lavigne⁵
¹Laboratoire de Bactériologie, CH Pays d'Aix, Aix-en-Provence ²Laboratoire de Biologie Polyvalente, CH Alès, Alès ³Laboratoire de Biologie Polyvalente, CH Edmond Garcin, Aubagne ⁴Laboratoire de Bactériologie, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier ⁵Laboratoire de Bactériologie ⁶Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carêmeau, Nîmes ⁷Laboratoire de Biologie Polyvalente, CH St Jean, Perpignan ⁸Laboratoire de Bactériologie, CHU Purpan, Toulouse, France
- 62 Portage digestif d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi ou de carbapénémases chez les soldats français hospitalisés en France après rapatriement sanitaire d'un théâtre d'opération.**
11:15 F. Janvier¹, S. Larréché¹, S. Tessé¹, N. Sanmartin¹, H. Delacour¹, D. Ollat², C. Rapp³, A. Mérens¹
¹Bactériologie ²Chirurgie orthopédique ³Maladies infectieuses et tropicales, HIA Begin, Saint-Mandé, France
- 63 Portage digestif d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^e génération dans une population d'adultes jeunes asymptomatiques : évolution entre 1999, 2009 et 2012.**
11:30 F. Janvier², A. Bousquet², R. Abi², C. Garcia¹, S. Larréché², D. Delaune², S. Tessé², A. Mérens²
¹Biologie médicale, HIA du Val-de-Grâce, Paris ²Bactériologie, HIA Begin, Saint-Mandé, France
- 64 Dépistage du portage digestif des entérobactéries BLSE chez des nouveau-nés hospitalisés en réanimation néonatale.**
11:45 B. Oumokhtar², N. El Amri¹, N. El Ghachtouli¹, A. Bouharrou³
¹Faculté des sciences et techniques ²Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Médecine et de pharmacie ³Service de néonatalogie et de réanimation néonatale, CHU Hassan II, Fès, Maroc
- 65 Abondance relative dans les selles des *Escherichia coli* produisant une β -lactamase à spectre élargi et occurrence dans les infections urinaires.**
12:00 E. Ruppé¹⁻², B. Lixandru⁵, R. Cojocar⁴, C. Buke⁶, E. Paramythiotou³, C. Angebault¹⁻², C. Visseaux², I. Djuikoue², O. Burduniuc⁴, A. El Mniai², C. Marcel², T. Kesteman², L. Armand-Lefèvre¹⁻², A. Andreumont¹⁻²
¹EA3964, Faculté de Médecine Paris Diderot ²Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris, France ³Fourth Internal Medicine Department, Attikon Hospital, Athènes, Grèce ⁴National Centre for Preventive Medicine, Chişinău, Moldavie ⁵Laboratory "Nosocomial Infections and Antibiotic Resistance", Cantacuzino Institute, Bucarest, Roumanie ⁶Infectious Diseases Polyclinic, Ege University, Izmir, Turquie
- 66 L'examen microbiologique quantitatif des selles en onco-hématologie : étude rétrospective 2003-2010.**
12:15 N. Sanmartin¹, C. Martinaud¹, A. Bousquet¹, J. Konopacki², T. Samson¹, J.V. Malfuson², C. Soler, V. Foissaud¹, C. Mac Nab¹
¹Biologie ²Service d'hématologie clinique, HIA Percy, Clamart, France

Infection de l'immunodéprimé
Infection in the immunodepressed

Modérateur(s) : Olivier Lortholary, Raoul Herbrecht

Mini lecture

- 67** | **La vaccination des ID.**
11:00 | O. Launay
Université Paris Descartes, Faculté de médecine; Inserm; Assistance Publique-Hôpitaux de Paris, Hôpital Cochin, Paris, France

Communications libres

- 68** | **Facteurs de risque de bactériémie à *Escherichia coli* après transplantation hépatique.**
11:15 | F. Bert, B. Larroque, F. Dondero, C. Paugam-Burtz, F. Durand, J. Belghiti, M.H. Nicolas-Chanoine
Hôpital Beaujon, Clichy, France
- 69** | **Risk factors for adenovirus infection and disease in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients.**
11:30 | L. Feghoul³, J.H. Dalle¹, S. Chevret², M. Ouachée¹, M. Fahd¹, K. Yacouben¹, A. Baruchel¹, F. Simon³, J. Le Goff³
¹Hématologie Clinique, Hôpital Robert Debré AP-HP - Université Paris Diderot ²Département de Biostatistiques ³Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Saint-Louis AP-HP - Université Paris Diderot, Paris, France
- 70** | **Efficacité de la daptomycine (DAP) dans les infections à Gram positif (G+) chez des patients atteints d'hémopathies malignes : résultats EU-CORE (European Cubicin® Outcomes Registry and Experience).**
11:45 | F. Camou², F. Saliba³, F. Keil¹, A. Robb⁵, G. Daikos⁴, AU. Nom Des Investigateurs Eucore
¹Hôpital, Leoben, Autriche ²CHU, Bordeaux ³CHB, Villejuif, France ⁴Hôpital, Athènes, Grèce ⁵Hôpital, Newcastle, Royaume-Uni
- 71** | **Étude prospective de l'utilisation des antifongiques en Hématologie à l'hôpital Saint-Antoine.**
12:00 | A. Vekhoff¹, M. Annereau⁴, F. Isnard¹, E. Rochais⁴, C. Hennequin², M.C. Meyohas³, M. Antignac, J.P. Marie¹
¹Hématologie clinique ²Laboratoire de Mycologie ³Maladies infectieuses ⁴Pharmacie, Hôpital St-Antoine AP-HP HUEP, Paris, France
- 72** | **Photocarcinogénicité du voriconazole : de la phototoxicité aiguë aux carcinomes cutanés : résultats de l'étude VoriPeau rétrospective.**
12:15 | O. Epaulard^{4,6}, M.T. Leccia³, S. Blanche⁹, O. Chosidow¹⁻¹³, M.F. Mamzer-Bruneel¹⁰, P. Ravaud¹², A. Thiebaut⁵, C. Villier², O. Lortholary¹¹⁻⁷⁻⁸
¹Service de Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil ²Centre régional de Pharmacovigilance, Grenoble ³Service de Dermatologie et Photobiologie, Grenoble ⁴Service des Maladies Infectieuses ⁵Unité de Thérapie Cellulaire, Hématologie, CHU de Grenoble ⁶UVHCI, UMI 3265 UJF-EMBL-CNRS, Grenoble ⁷Centre d'Infectiologie Necker Pasteur ⁸Centre national de référence mycologie et antifongiques, CNRS URA 3012, Institut Pasteur ⁹Service d'Immunologie et Hématologie Pédiatrique ¹⁰Service de Transplantation Rénale ¹¹Service des Maladies Infectieuses, Hôpital Necker-Enfants-Malades ¹²Service d'épidémiologie clinique, Hôtel-Dieu ¹³Université Paris-Est Créteil, Paris, France

Maîtrise des *E. coli* BLSE en établissement de santé : que faire en pratique ?
Managing E. coli BLSE in healthcare institutions: recommended practical action

Modérateur(s) : Patrice Nordmann, Christine Lawrence

- 73** | **Le point de vue du clinicien.**
11:00 | C. Rabaud
Maladies infectieuses et tropicales, CHU de Nancy, Vandoeuvre-lès-Nancy, France
- 74** | **Le point de vue du microbiologiste.**
11:30 | J. Zahar
Hygiène, Service de Microbiologie, Paris, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|--------------------------|-----------------------------------|-------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 12:15 12:30 | Salle Room | BRILLAT SAVARIN 1 | Remise de prix Award reception | 18RP |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|--------------------------|-----------------------------------|-------------|

Prix RICAI
The RICAI Awards

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|--------------------------|----------------------|-------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | BRILLAT SAVARIN 3 | Séminaire Seminar | 19SR |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|--------------------------|----------------------|-------------|

Un germe et sa prévention : *Clostridium difficile* (session 2)
A germ and prevention thereof: clostridium difficile (session 2)

Avec le soutien d'Astellas

Modérateur(s) : Louis Valiquette, Florence Ader

- 75** **Traitement des infections à *C. difficile* : de nouvelles perspectives.**
11:00 C. Chidiac
Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France
- 76** **Les récives des infections à *C. difficile* et leur impact sur la maladie.**
11:20 Y. Yazdanpanah
Service Maladies infectieuses et Tropicales, Hôpital Bichat - Claude Bernard, Paris, France
- 77** **Quelles mesures d'hygiène au regard des infections à *C. difficile* ?**
11:40 P. Berger
Institut Paoli-Calmettes, Marseille, France
- 78** **Doit-on toujours craindre les souches hypervirulentes 027 ?**
12:00 L. Valiquette
Faculté de médecine et des sciences de la santé, Université de Sherbrooke, Sherbrooke, Québec

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|--|-------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 12:30 14:00 | Salle Room | AMPÈRE 8 | Symposium satellite Satellite symposium | 20ss |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|--|-------------|

Infections compliquées de la peau et des tissus mous : quoi de neuf à l'aube de 2013 ?
Skin and soft tissue infections with complication: what's new as 2013 approaches?

Organisé par ASTRAZENECA

Modérateur(s) : Jean Pierre Bedos, Jocelyne Caillon

- 79** **Actualités en antibiothérapie.**
12:30 A.C. Crémieux
Infectiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France
- 80** **Données microbiologiques récentes.**
13:00 C. Jacqueline
UPRES EA 3826 UFR de Médecine, Nantes, France
- 81** **Données cliniques.**
13:30 P. Tattevin
CHU Pontchaillou, Rennes, France

Discussion posters (session 1)
Poster discussions (Session 1)



Les présentations orales courtes suivantes font également l'objet d'une affiche

Modérateur(s) : François Caron, Hélène Peigue-Lafeuille

- 82** | **Le traitement préemptif des candidémies est-il utile ? Bilan de huit années de surveillance prospective dans un service d'adultes brûlés.**
13:00
J.F. Arnould, E. Naux, R. Le Floch, F. Morio
CHU de Nantes, Nantes, France
- 83** | **Evidence of persistent enterovirus infection in heart tissues of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy.**
13:07
N. Lévêque^{4,2}, F. Renois^{4,2}, Y. N'guyen^{4,2}, A. Bouin^{4,2}, F. Lesaffre^{5,2}, C. Fichel^{1,2}, C. Boulagnon¹, P. Bruneval³, P. Fornès^{1,2}, L. Andréoletti^{4,2}
¹Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris ²EA-4684 Cardiovir, SFR-CAP santé, Faculté de médecine ³Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims ⁴Laboratoire de virologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims ⁵Service de Cardiologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims, Reims, France
- 84** | **L'expression d'alpha-toxine n'est pas associée à la mort des ostéoblastes au cours de l'infection intracellulaire par les SARM communautaires.**
13:14
J.P. Rasigade^{2-1,4}, J. Ranfaing⁴, S. Trouillet⁴, T. Ferry^{4,3}, F. Vandenesch^{2-1,4}, G. Lina^{2-1,4}, F. Laurent^{2-1,4}
¹Centre National de Référence des Staphylocoques ²Laboratoire de Bactériologie ³Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon ⁴Inserm U851, Université Lyon 1, Lyon, France
- 85** | **Augmentation des séjours hospitaliers avec infection à *Clostridium difficile*, France, 2002-2010 : une analyse des données nationales PMSI.**
13:21
B. Coignard², R. Mas², J. Lambert², F. Barbut¹
¹Laboratoire *C. difficile* associé au CNR Bactéries Anaérobies et Botulisme, Paris ²Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France
- 86** | **Les hémocultures en automate : faut-il proscrire la "pré-incubation" ?**
13:28
M. Lecso-Bornet²⁻¹, D. Trystram², V. Jarlier²
¹Microbiologie, Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes ²Bactériologie-Hygiène, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris, France
- 87** | **Échec du traitement par ciprofloxacine d'une pyélonéphrite à *Escherichia coli* producteur de AAC(6)-Ib-cr phénotypiquement sensible aux fluoroquinolones dans un modèle murin.**
13:35
T. Guillard^{6-4,5}, E. Cambau^{4,3}, F. Chau⁴, L. Massias², C. de Champs^{6,5}, B. Fantin^{4,1}
¹AP-HP, Groupe Hospitalier Paris Nord Val de Seine - Hôpital Beaujon, Service de médecine interne, Clichy ²Laboratoire de Pharmacologie, AP-HP, Groupe Hospitalier Paris Nord Val de Seine - Hôpital Bichat ³AP-HP, Groupe Hospitalier Lariboisière - Saint-Louis, Laboratoire de Bactériologie ⁴PRES Sorbonne Paris Cité, Université Paris Diderot-Paris 7, EA3964, Paris ⁵Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Reims, Hôpital Robert Debré ⁶Université de Reims Champagne-Ardenne, EA4687 SFR CAP-Santé, Reims, France

Tuberculose et les mycobactéries
Tuberculosis and mycobacteria

En partenariat avec l'INVS

Modérateur(s) : Vincent Jarlier, Yazdan Yazdanpanah

- 88** | **Bilan mondial de la lutte antituberculeuse : entre optimisme et vigilance.**
14:00
F. Varaine
Médecins Sans Frontières, Paris, France
- 89** | **Les souches MDR et XDR en France : outils diagnostiques et prise en charge.**
14:20
V. Jarlier
Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

- 90 Tests immunologiques : quelles utilisations en pratique ?**
14:40 F. Doucet-Populaire
Hôpital Antoine Bécclère, Clamart, France
- 91 Fast-TB : le renouveau de la recherche clinique multicentrique sur la tuberculose en France.**
15:00 Y. Yazdanpanah
Service des Maladies infectieuses et Tropicales, Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|----------------------|---|--------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 14:00 15:30 | Salle Room | APOLLINAIRE 6 | Session en partenariat Joint session | 23SEP |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|----------------------|---|--------------|

Confrontation des pratiques : adultes versus enfants
Comparing and contrasting practices: adults versus children

En partenariat avec le GPIIP

Modérateur(s) : Josette Raymond, Emmanuel Grimprel

- 92 Infections à streptocoque B.**
14:00 C. Poyart
Groupe Hospitalier Cochin, Faculté de Médecine René Descartes, Université Paris 5, Paris, France
- Mucoviscidose : épidémiologie et traitement.**
- 93** P. Mariani-Kurkdjian
14:20 *Hôpital Robert Debré, Paris, France*
- 94** J. Chapron
14:40 *Institut Cochin, Paris, France*
- 95 Traitement des infections à *Helicobacter pylori* : recommandations.**
15:00 C. Burucoa
Bactériologie, CHU de Poitiers, Groupe d'Étude Français des Helicobacters (GEFH), Poitiers, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|----------------------|------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 14:00 15:30 | Salle Room | APOLLINAIRE 8 | Symposium Symposium | 24s |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|----------------------|------------------------|------------|

Infections virales d'origine alimentaire et hydrique
Viral infections due to food and water

Modérateur(s) : Anne-Marie Roque-Afonso

- 96 Poliomyélite : éradication ou contrôle ?**
14:00 F. Delpeyroux
INSERM-U994, Institut Pasteur, Paris, France
- 97 Épidémies d'hépatite A d'origine alimentaire en France.**
14:20 E. Couturier, M.J. Letort, V. Vaillant
Département des maladies infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France
- 98 Hépatite E : l'autre hépatite à transmission orale.**
14:40 A.M. Roque-Afonso
Service de Microbiologie, AP-HP, Hôpital Paul Brousse, Villejuif, France
- 99 Sécurité virale des aliments et des eaux : modèles et outils de diagnostic et de prévention.**
15:00 C. Gantzer
Laboratoire de Chimie Physique et Microbiologique pour l'Environnement (LCPME), Nancy, France

Quelle politique de dépistage des bactéries multi-résistantes aux antibiotiques ?
What is the best policy when screening for multi-drug resistant bacteria

Animateur(s) : Philippe Berthelot, Jean Luc Mainardi
Orateur(s) : Nicolas Fortineau, Bruno Coignard

Objectifs de l'enseignement :

- Connaître la conduite à tenir en cas de patient rapatrié sanitaire ou hospitalisé dans l'année à l'étranger pris en charge dans un établissement de santé.
- Connaître l'épidémiologie française et mondiale des bactéries hautement résistantes aux antibiotiques
- Connaître les méthodes de détection microbiologique des bactéries hautement résistantes aux antibiotiques
- Connaître la conduite à tenir en cas de cas groupés de bactéries hautement résistantes aux antibiotiques dans un établissement de santé

Niveau requis des participants : Connaissances microbiologiques de base, connaissances du fonctionnement d'un établissement de santé

Auditoire : Médecins, pharmaciens, vétérinaires, associations, usagers de santé

Infections ostéo-articulaires
Osteo-joint infections

Modérateur(s) : Tristan Ferry, Eric Senneville

100 **Valeur prédictive de l'hypermonocytose (HMN) dans le diagnostic des spondylodiscites à *Mycobacterium tuberculosis* versus *pyogenes*.**
14:00

B. Davido, P. de Truchis, D. Le Du, A. Dinh, C. Perronne
Maladies infectieuses, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France

101 **Microbiological markers suggesting high inoculum size at time of surgery are risk factors for relapse in patients with *S. aureus* prosthetic joint infection.**
14:15

A. Bouaziz, I. Uçkay, S. Lustig, A. Boibieux, F. Laurent, D. Lew, P. Hoffmeyer, P. Neyret, C. Chidiac, T. Ferry
Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France



102 **Événements indésirables liés à l'antibiothérapie au cours des spondylodiscites infectieuses compliquées à pyogènes.**
14:30

J. Karsenty, T. Perpoint, F. Ader, A. Boibieux, C. Barrey, C. Chidiac, T. Ferry, Lyon BJI Study Group
Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

103 **Traitement prolongé par ertapénème à la dose de 1g/12h par voie sous-cutanée au cours des infections ostéoarticulaires complexes.**
14:45

T. Ferry, A. Sénéchal, M.C. Gagnieu, A. Boibieux, F. Laurent, T. Perpoint, M. Tod, C. Chidiac, Lyon BJI Study Group
Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

104 **Coûts et difficultés de la prise en charge de patients présentant des infections ostéo-articulaires (IOA) à bactéries hautement résistantes (BHR).**
15:00

A. Dinh², C. Rouzaud¹, S. Freni¹, B. Davido¹⁻², D. Le Du¹⁻², C. Lawrence¹, A.C. Crémieux¹⁻², T. Judet¹, C. Perronne¹⁻²
¹CHU R. Poincaré ²SPILF, Garches, France

105 **Enquête auprès des centres de référence et centres correspondants pour les infections ostéo-articulaires complexes : pratiques de l'antibiothérapie dans la prise en charge des infections de prothèse.**
15:15

V. Zeller, S. Marmor, L. Lhotellier, J.M. Ziza, N. Desplaces, P. Mamoudy
CRIOA, GH Diaconesses Croix Saint-Simon, Paris, France

Stratégies diagnostiques en virologie
Diagnostic strategies in virology

Modérateur(s) : Nicolas Lévêque, Jérôme Le Goff

- 106** **Comparaison des techniques FilmArray® et Smart22® pour la détection des pathogènes respiratoires.**
14:00
N. Schnepf¹⁻², J. Cherot¹, S. Drusch¹, C. Scieux¹⁻², F. Simon¹⁻², J. Le Goff¹⁻²
¹Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Saint-Louis ²Université Paris Diderot, Paris, France
- 107** **Evaluation of the xTAG-RVP fast panel for detection of respiratory viruses over a 6-month period in a pediatric hospital.**
14:15
A. Schnuriger, Y. Michel, M. Belhiba, I. Igualada, V. Marinho, I. Ansart, K. Saloum, A. Garbarg-Chenon
Laboratoire de Virologie, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France
- 108** **PLEXID Ibis-Abbott technology as a single tool for the detection and typing of microbiological infections in immunocompromised patients.**
14:30
J. Le Goff¹⁻⁴, S. Mercier-Delarue¹, L. Feghoul¹⁻⁴, J.L. Pons¹⁻⁴, J. Menotti⁴⁻², A. Bergeron³⁻⁴, F. Simon¹⁻⁴
¹Microbiologie ²Parasitologie ³Pneumologie, Hôpital Saint-Louis ⁴Université Paris Diderot, Paris, France
- 109** **Comparison of bioNexia® Influenza A+B to Quickvue® Influenza A+B test for the detection of Influenza in clinical samples.**
14:45
C. Picard¹, V. Escuret¹, J.S. Casalegno², B. Lina¹⁻², M. Valette¹
¹National Influenza Centre - HCL ²Virology laboratory - HCL, Bron, France
- 110** **Prevalence and load levels of cardiotropic virus genomes in explanted heart tissues of adults with idiopathic dilated cardiomyopathy using a new analysis method.**
15:00
Y. N'guyen⁵⁻³, F. Renois⁵⁻³, N. Lévêque⁵⁻³, M. Picard-Maureau¹, P. Bruneval², P. Fornès⁴⁻³, L. Andréoletti⁵⁻³
¹Abbott GmbH and Co. KG, Wiesbaden, Allemagne ²Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Université Paris VI, Paris ³EA-4684 Cardiovir, Faculté de médecine ⁴Laboratoire d'anatomopathologie, CHU Robert Debré ⁵Laboratoire de virologie, CHU Robert Debré, Reims, France
- 111** **Faisabilité et fiabilité de la mesure de la charge virale VIH1 à partir d'échantillons de sang total déposés sur du papier Dried Blood Spots (DBS).**
15:15
H. Hochar¹, I. Mukagatare⁵, B. Christian², E. Paris¹, R. Seshagiri Rao³, D. Edukondala Rao⁴, N. Sambamurthy³⁻⁴, C. Delamare¹
¹Laboratoire de Bactériologie-Virologie ²Service de médecine A, Metz, France ³Kandukur ⁴Dispensaire, Kavali, Inde ⁵Laboratoire, Butare, Rwanda

Pharmacocinétique/Pharmacodynamie des anti-infectieux
Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of anti-infectious drugs

Modérateur(s) : Jocelyne Caillon, Vincent Jullien

- 112** **Population pharmacokinetics of plasma and urine colistin methanesulfonate (CMS) and colistin in critically ill patients.**
14:00
N. Grégoire⁴, E. Comets²⁻³, B. Megarbane¹, P. Gobin⁴, D. Balayn⁴, O. Mimoz⁴, W. Couet⁴
¹Hôpital Lariboisière ²INSERM UMR738, Université Paris Diderot ³Université Paris Diderot, Sorbonne, Paris ⁴INSERM U1070, Université de Poitiers et CHU de Poitiers, Poitiers, France
- 113** **Plasma pharmacokinetics and epithelial lining fluid (ELF) concentrations of colistin after nebulisation or intravenous administration of colistin methanesulfonate (CMS) in critical care patients.**
14:15
M. Boisson, S. Marchand, N. Grégoire, O. Mimoz, W. Couet
Inserm U1070, University of Poitiers and University Hospital of Poitiers, Poitiers, France
- 114** **Evaluation of colistin dose in chronic intermittent dialysis patients: a population pharmacokinetics approach.**
14:30
A. Marso², G. Lebrun¹, A. Boulamery², D. Jaubert¹, P. Brunet¹, B. Bruguerolle², N. Simon²
¹Centre de Néphrologie et Transplantation Rénale, Hôpital Conception, APHM ²Service de Pharmacologie Médicale et Clinique, Hôpital Timone, APHM, Marseille, France

115 **La cefoxitine est-elle efficace en cas de pyélonéphrite aiguë (PNA) à *Escherichia coli* sécréteur de bêta-lactamase à spectre étendu BLSE (EcBLSE) ?**

14:45

H. Guet-Revillet², A. Emirian¹, B. Nebbad¹, O. Join-Lambert², V. Jullien³, J.R. Zahar²

¹Service de Bactériologie, Virologie, Hygiène, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil ²Service de Microbiologie-Hygiène hospitalière, Hôpital Necker-Enfants-Malades, AP-HP ³Service de Pharmacologie clinique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP, Paris, France

116 **Adaptation de posologie de la vancomycine dans une population pédiatrique atteinte de tumeurs solides : analyse pharmacocinétique par approche de population.**

15:00

R. Guilhaumou², A. Marsot², P. Buffet Delmas², A. Rome¹, A. Boulamery², N. Andre¹, N. Simon²

¹Service d'Oncologie Pédiatrique ²Service de Pharmacologie Clinique, Hôpital de la Timone, Marseille, France

117 **Comparison of six generic vancomycin products in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* experimental endocarditis in rabbits.**

15:15

P. Tattevin⁶, A. Saleh-Mghir³, B. Davido³, I. Ghout², L. Massias⁵, C. Garcia De La Maria¹, J.M. Miró¹, C. Perronne³, F. Laurent⁴, A.C. Crémieux³

¹IDIBAPS, Barcelone, Espagne ²Hôpital Ambroise Paré, Boulogne ³Hôpital Raymond Poincaré, Garches ⁴Hôpitaux Universitaires, Lyon ⁵Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris ⁶CHU Pontchaillou, Rennes, France



| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|--------------------------|------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 14:00 15:30 | Salle Room | BRILLAT SAVARIN 1 | Symposium Symposium | 29s |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|--------------------------|------------------------|------------|

Puces et automates au laboratoire, ça me démange
Chips and robots in the laboratory - I'm itching to be there

Modérateur(s) : Gilbert Greub, Gérard Lina

118 **Automatisation complète du laboratoire de bactériologie : présent ou futur ?**

14:00

G. Lina

Bactériologie, Centre National de Référence des Staphylocoques, Lyon, France

119 **Comment choisir son automate d'ensemencement ?**

14:20

G. Greub

CHUV, Lausanne, Suisse

120 **Comment choisir son automate de biologie moléculaire ?**

14:40

S. Boisset

Département des Agents Infectieux, Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble, France

121 **Comment convaincre son administration d'investir dans l'automatisation ?**

15:00

J. Schrenzel

Genomic, Genève, Suisse

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|--------------------------|------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 14:00 15:30 | Salle Room | BRILLAT SAVARIN 3 | Symposium Symposium | 30s |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|--------------------------|------------------------|------------|

Florilège de la littérature 2012
A flurry of literature in 2012

Modérateur(s) : Hélène Peigue-Lafeuille

122 **Les avis du Haut Conseil de Santé Publique.**

14:00

C. Perronne

Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France

123 **La Grippe.**

14:20

C. Chidiac

Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France

124 **La spectrométrie de masse en 2012 : apport en microbiologie.**

14:40

A. Mérens

Laboratoire de Biologie, Hôpital d'instruction des Armées Bégin, Saint-Mandé, France

Comment améliorer la prescription des antibiotiques en ville et à l'hôpital ?
How to improve antibiotic prescription for outpatients and hospital patients

Modérateur(s) : Antoine Andremont, Anne - Claude Crémieux

- 125** **Surprescription des antibiotiques en ville : aspects comportementaux de la prescription en médecine de ville.**
16:00 E. Cabanes², A. de Pontfarcy¹, T. Boyer-Chamard², K. Jidar¹, J.P. Aubert², S. Diamantis²⁻¹
¹Hôpital Marc Jacquet, Melun ²DMG Paris 7, Paris, France
- 126** **Prescription contrôlée des carbapénèmes : rôle de l'infectiologue.**
16:15 A. Mothes, M. Martinot, K. Demesmay, M. Mohseni-Zadeh, L. Souply, D. de Briel
Maladies Infectieuses, Hôpitaux Civils, Colmar, France
- 127** **Impact de la réévaluation systématique des carbapénèmes : une analyse en régression segmentée.**
16:30 T. Delory, B. Berdougou, F. About, A. Emirian, A. de Farcy, C. Brun Buisson, P. Lesprit
CEPI, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
- 128** **Facteurs associés au non-respect des recommandations de prescription des carbapénèmes.**
16:45 M. Burgard², J. Niel³, M. Groh¹, H. Baudet³, E. Weiss¹, B. Pilmis¹, M. Postaire³, J.R. Zahar²⁻¹
¹Équipe mobile d'infectiologie ²Équipe opérationnelle d'hygiène ³Pharmacie hospitalière, Hôpital Necker, Paris, France
- 129** **Bonne utilisation des aminosides à l'hôpital : suivi des nouvelles recommandations par les prescripteurs.**
17:00 L. Napoly¹, A. Diallo², A. Hulin¹, P. Lesprit²
¹Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie ²Unité de Contrôle, Épidémiologie et Prévention de l'Infection, AP-HP, GH Henri Mondor, Créteil, France
- 130** **De-escalation of antibacterial therapy in urinary tract infections: a neglected opportunity to save broad-spectrum agents.**
17:15 E. Montassier²⁻¹, E. Duchene¹, J. Caillon², G. Potel²⁻¹, E. Batard²⁻¹
¹Urgences, CHU de Nantes ²EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Nantes, France

Infections des voies respiratoires
Respiratory tract infections

Modérateur(s) : Christian Chidiac, Luc Dubreuil

- 131** **Prise en charge des pneumopathies communautaires hospitalisées en France : résultats de l'enquête REACH – aspect microbiologique.**
16:00 J.P. Stahl², F. Martin¹, J.L. Pourriat³, J. Ostinelli⁴, S. Geha⁴, C. Soufflet⁴
¹CHG, Compiègne ²CHU, Grenoble ³Hôtel-Dieu, Paris ⁴AstraZeneca, Rueil-Malmaison, France
- 132** **Incidence, caractéristiques et mortalité des patients immunocompétents hospitalisés en service de réanimation et atteints de pneumopathie acquise sous ventilation mécanique à *Candida* sp.**
16:15 J. Gagnaire², T. Bénet²⁻¹, L. Argaud³, C. Guérin⁴, J.J. Lehot⁵, M.C. Nicolle², P. Vanhems²⁻¹, Services De Réanimation Des Hospices Civils De Lyon⁶, Unités D'hygiène Hospitalière Des Hospices Civils De Lyon⁷
¹Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Équipe Épidémiologie et Santé Publique, CNRS UMR 5558, Université Lyon 1 ²Service d'hygiène, épidémiologie et prévention, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon ³Services de réanimation médicale, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon ⁴Services de réanimation, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon ⁵Services de réanimation, Hôpital Louis Pradel, Hospices Civils de Lyon ⁶Services de réanimation, Hospices Civils de Lyon ⁷Unités d'hygiène hospitalière, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
- 133** **Description d'une série de 31 cas de PAVM à *Stenotrophomonas maltophilia* dans le service de réanimation de l'hôpital de Versailles : présentations cliniques, schémas thérapeutiques et évolutions.**
16:30 S. Merceron², L. Adda¹, B. Planquette², B. Pangon¹, J.P. Bedos², A. le Monnier¹
¹Laboratoire de Microbiologie-Hygiène ²Service de Réanimation Médicale et Chirurgicale, CH André Mignot, Le Chesnay, France

- 134** **Prévention de légionellose nosocomiale, patients « à risque » : vers le risque nul ?**
16:45 **M. Reyrolle**²⁻¹, S. Gardes⁵⁻⁴, S. Coudrais⁵⁻⁴, J. Droguet³⁻⁴, G. Lina¹⁻⁴, R. Girard⁵⁻⁴, S. Jarraud¹⁻²
¹CNRL ²Groupe hospitalier Est, Bron ³DAT ⁴Hospices Civils Lyon, Lyon ⁵Unité hygiène CHLS, Pierre Bénite, France
- 135** **Étude pilote cas-témoins évaluant l'efficacité de la vaccination antigrippale saisonnière 2011-2012 chez l'adulte hospitalisé.**
17:00 X. Duval⁹⁻¹¹, K. Seddik¹¹, P. Loulergue¹⁰⁻¹¹, M. Rondy⁶, D. Postil³⁻¹¹, C. Merle⁵⁻¹¹, P. Tattevin⁸⁻¹¹, H. Laurichesse²⁻¹¹, F. Lucht¹³⁻¹¹, S. Pillet¹², A. Krivine⁷, F. Galtier⁴⁻¹¹, C. Dualé¹⁻¹¹, N. Lenzi¹¹, O. Launay¹⁰⁻¹¹
¹Centre de Pharmacologie Clinique F-63003 ; Inserm, CIC 501, UMR 1107 ²Inserm CIC 501, Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU, Clermont-Ferrand ³Inserm CIC-P 0801, CHU Dupuytren, Limoges ⁴Centre d'Investigation Clinique; INSERM, CIC 1001, CHRU Montpellier, Montpellier ⁵Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHRU de Montpellier ⁶EpiConcept ⁷Laboratoire de Virologie, Hôpital Cochin, AH-HP ⁸Maladies Infectieuses et Réanimation Médicale, Hôpital Pontchaillou ; CIC-Inserm-0203, Faculté de Médecine, Université Rennes 1, IFR140 ⁹Inserm CIC 007, AP-HP, Hôpital Bichat ; Inserm U738; Université Paris Diderot, Paris 7, UFR de Médecine, site Bichat ¹⁰Inserm, CIC BT505 ; Assistance-Publique Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Cochin, CIC de Vaccinologie Cochin-Pasteur ; Université Paris Descartes ¹¹REseau national d'Investigation Clinique en VACCinologie, REIVAC, Paris ¹²Laboratoire de Virologie ¹³Service des Maladies Infectieuses, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
- 136** **Évolution des otites moyennes aiguës à pneumocoque ou *H. influenzae* sous antibiotiques depuis l'introduction des vaccins pneumococciques conjugués.**
17:15 **R. Cohen**⁵⁻¹, C. Levy⁵, E. Bingen⁴, S. Béchet⁵, F. Thollot², V. Derkx⁵, E. Varon³
¹CHI de Créteil, Créteil ²AFPA, Essey-Les-Nancy ³CNRP AP-HP HEGP ⁴Service de microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris ⁵ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|-------------------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 16:00 17:30 | Salle Room | APOLLINAIRE 8 | Session orale libre Oral session | 330 |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|----------------------|-------------------------------------|------------|

Physiopathologie et infections expérimentales : l'os
Physiopathology and experimental infections: bone

Modérateur(s) : Louis Bernard, Anne - Laure Roux

- 137** **Physiopathologie des IOA : démonstration du rôle majeur des *phenol-soluble modulins* dans la mort des ostéoblastes infectés par les SARM communautaires.**
16:00 **J.P. Rasigade**²⁻³⁻⁵, S. Trouillet⁵, T. Ferry⁴⁻⁵, B.A. Diep¹, J. Ranfaing⁵, A. Sapin³, G. Lina²⁻³⁻⁵, F. Vandenesch²⁻³⁻⁵, F. Laurent²⁻³⁻⁵
¹Department of Medicine - Division of Infectious Diseases, University of California, San Francisco, Ca, Etats-Unis ²Centre National de Référence des Staphylocoques ³Laboratoire de Bactériologie ⁴Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon ⁵INSERM U851, Université Lyon 1, Lyon, France
- 138** **Existence d'un lien entre la capacité à produire un biofilm et le complexe clonal des *Staphylococcus aureus* responsables d'infections ostéo-articulaires sur matériel ?**
16:15 **G.G. Aubin**³⁻², C. Lasserre³⁻², N. Caroff³, D. Lepelletier³⁻², A. Reynaud³⁻², J.P. Lavigne¹, S. Corvec³⁻²
¹INSERM U1047, Université de Montpellier 1 ²Service de Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes ³EA3826, Faculté de Médecine de Nantes, Nantes, France
- 139** **Efficacité comparative du linézolide versus vancomycine seuls ou en association avec la rifampicine dans un nouveau modèle d'ostéite du rat à *Staphylococcus epidermidis*.**
16:30 **D. Croisier-Bertin**³⁻², D. Labrousse³, S. Da Silva³, D. Hayez³, J.P. Lavigne⁴, C. Rouard⁷, N. Bourgeois-Nicolaos¹⁻⁵, P. Chavane²⁻³, E. Aslangul⁶⁻⁵
¹Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béclère, Université Paris Sud, Clamart ²Département Infectiologie, CHU le Bocage ³Vivexia, Dijon ⁴Laboratoire de Bactériologie, CHU, Nîmes ⁵Université Paris Descartes ⁶Service de Médecine Interne, Hôtel-Dieu ⁷EA4065, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes, Paris, France
- 140** **Impact sur le microbiote intestinal d'un traitement par linézolide associé à la rifampicine dans un modèle d'ostéite à *Staphylococcus epidermidis* chez le rat.**
16:45 **C. Rouard**²⁻⁴, E. Aslangul⁵, A.J. Waligora-Dupriet⁴, D. Croisier-Bertin³, M. Devriese⁴, M.J. Butel⁴, F. Doucet-Populaire²⁻¹, N. Bourgeois-Nicolaos²⁻⁴
¹EA 4043, USC INRA, Faculté de Pharmacie, Université Paris Sud, Châtenay-Malabry ²Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béclère, Université Paris-Sud, Clamart ³Vivexia, Dijon ⁴EA4065, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Université Paris Descartes ⁵Service de Médecine Interne, Hôtel-Dieu, Paris, France
- 141** **Experimental assessment of calcium-deficient apatite delivering daptomycin in acute osteomyelitis: a new effective approach?**
17:00 **G. Amador**¹, H. Gautier², C. Desessard¹, V. Le Mabecque¹, A.F. Miègeville¹, J.M. Boulter², P. Weiss², G. Potel¹, J. Caillon¹, C. Jacqueline¹
¹EA 3826 ²INSERM UMRS 791, Nantes, France

- 142** Titanium device with pH-sensitive gentamicin-grafted nanoparticles for orthopaedics (TiGnp): *in vitro* assessment.
17:15 G. Amador¹, L. Pichavant², G. Potel¹, J. Caillon¹, V. Heroguez³, M.C. Durrieu², A. Hamel¹, C. Pfirmann¹, C. Jacqueline¹
¹EA 3826, Nantes ²CBMN UMR5248 ³LCPO CNRS UMR5629, Pessac, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|-----------------------------|--------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 16:00 17:30 | Salle Room | AMPÈRE 1 | Atelier FMC CME workshop | 34FMC |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|-----------------------------|--------------|

Prise en charge d'un accès palustre à *P. falciparum* aux urgences
Caring for a P. falciparum malaria attack entering the emergency room

Orateur(s) : Gilles Beaucaire, François Bricaire

Objectifs : Connaître la classification des critères de gravité, le service adapté à la prise en charge, la conduite du traitement avec les thérapeutiques recommandées,

Publics : Urgentistes, réanimateurs, infectiologues, parasitologues

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 16:00 17:30 | Salle Room | AMPÈRE 5 | Symposium Symposium | 35s |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|------------------------|------------|

Les endocardites infectieuses dans l'Histoire (1960-2010)
Infectious endocarditis over History (1960-2010)

Modérateur(s) : Pierre Tattevin, Vincent Le Moing

- 143** Évolution de l'épidémiologie (de l'hôte et des pathogènes).
16:00 V. Le Moing

Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU de Montpellier, France

- 144** Développement des outils du diagnostic microbiologique.
16:20 P.E. Fournier

Aix-Marseille Université, URMITE, UM63, CNRS 7278, IRD 198, Inserm 1095, Faculté de Médecine, Marseille, France

- 145** Apport des modèles animaux.
16:40 A. Lefort

Service de Médecine Interne, Hôpital Beaujon, Clichy, et EA3964, Université Paris Diderot, Paris, France

- 146** L'évolution des recommandations d'antibioprophylaxie.
17:00 X. Duval

GHU Bichat-Claude Bernard, Paris, France


| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|-------------------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 16:00 17:30 | Salle Room | AMPÈRE 8 | Session orale libre Oral session | 36o |
|-------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|-------------------------------------|------------|

Épidémiologie des infections virales
Epidemiology of viral infections

Modérateur(s) : Alexis De Rougemont, Florence Ader

- 147** Diagnostic microbiologique moléculaire des épisodes de diarrhées aiguës sévères du patient adulte transplanté de rein.
16:00 N. Lévêque⁶⁻³, J.F. Coste⁶, V. Vuiblet⁷, N. Noël⁷, A. Debrumetz⁷, A. de Rougemont², L. Benejat¹, A. Wolak⁸, I. Villena⁵, C. de Champs⁴, P. Rieu⁷, L. Andréoletti⁶⁻³

¹CNR *Campylobacters et Hélicobacters, Université de Bordeaux Segalen, Bordeaux* ²CNR *des virus entériques, CHU de Dijon, Dijon* ³EA-4684 *Cardiovir, SFR-CAP santé, Faculté de médecine* ⁴Laboratoire de bactériologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims ⁵Laboratoire de parasitologie, Hôpital Maison Blanche, CHU de Reims ⁶Laboratoire de virologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims ⁷Service de néphrologie, Hôpital Maison Blanche, CHU de Reims ⁸Unité d'aide méthodologique, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims, Reims, France

- 148 Infections virales d'origine alimentaire : données de prévalence Norovirus et virus des hépatites A et E.**
16:15 F. Loisy, S. Hattet, G. Leturnier, A. Delage, B. Lebeau
Ceeram, La Chapelle sur Erdre, France
-  **149 Entérovirus 68, un pathogène émergent des voies respiratoires basses chez les enfants hospitalisés pour maladies respiratoires aiguës, 2009-2010, Reims, France.**
16:30 F. Renois, A. Bouin, L. Andréoletti
Unité de Virologie Médicale et Moléculaire EA-4684-CardioVir, Faculté de Médecine et CHU, Reims, France
- 150 Infections virales respiratoires chez les patients transplantés.**
16:45 A. Chabrol², C. Tcherakian², E. Catherinot², E. Rivaud², E. Gault¹, L.J. Couderc²
¹Hôpital Ambroise Paré Service de Virologie, Boulogne ²Hôpital Foch Service de Pneumologie, Suresnes, France
- 151 La mutation G1896A serait-elle impliquée dans le portage inactif du virus de l'hépatite B ?**
17:00 A. Ducancelle², A. Pivert², V. Thibault⁸, E. Gordien⁵, H. Gohier², S. Castellain¹, B. Roquebert⁷, V. Mackiewicz⁶, E. Schwoerer¹⁰, S. Larrat³, S. Maylin⁹, S. Alain⁴, F. Lunel-Fabiani²
¹Unité de virologie clinique et fondamentale, EA 4294, CHU Amiens, Amiens ²Laboratoire de virologie, UPRES EA 3859, CHU Angers, Angers ³Laboratoire de virologie, CHU Grenoble, Grenoble ⁴Département de virologie, UMR INSERM 1092, CHU Dupuytren, Limoges ⁵Laboratoire de virologie, CHU Avicenne ⁶Laboratoire de virologie, Hôpital Beaujon ⁷Laboratoire de virologie, Hôpital Bichat ⁸Laboratoire de virologie, Hôpital La Pitié-Salpêtrière, CERVI ⁹Laboratoire de virologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ¹⁰Laboratoire de virologie, CHU Strasbourg, Strasbourg, France
- 152 Intérêt de la détection urinaire des papillomavirus oncogènes (HPV-HR) par technique de PCR- temps réel (PCR-TR) au sein d'une population de patients infectés par le VIH.**
17:15 V. Rabier²⁻³, P. Fialaire³, Y. Vandamme³, J. Chennebault³, P. Abgueguen³, S. Fanello¹, E. Pichard³, F. Lunel-Fabiani², A. Ducancelle²
¹Département de santé publique, CHU ²Laboratoire de virologie, UPRES EA 3859, CHU ³Service des maladies infectieuses et tropicales, CHU, Angers, France

| | | | | | | | |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|-----------------|------------------------|------------|
| Jeudi Thursday | 22 | Novembre November | 16:00 17:30 | Salle Room | AMPÈRE 9 | Symposium Symposium | 37s |
|-------------------|-----------|----------------------|------------------------------|---------------|-----------------|------------------------|------------|

Mycobactérioses atypiques : actualités en pathologie infectieuse
Atypical mycobacterioses: the latest news in infectious pathology

Modérateur(s) : Jean Louis Herrmann, Claire Andrejak

- 153 Cartographie à grande échelle des populations de mycobactéries à croissance rapide du réseau hydrique à Paris.**
16:00 S. Dubrou⁴, J. Konjek⁵⁻², E. Macheras⁵⁻², T. Tully¹, B. Welté³, L. Guidicelli⁴, E. Chignon⁴, M. Joyeux³, J.L. Gaillard⁵⁻², B. Heym⁵⁻², G. Sapriel⁵⁻²
¹CNRS/UPMC/ENS - UMR 7625, Laboratoire Écologie et Évolution, UPMC ²EA 3647, UFR des Sciences de la Santé Paris Ile-de-France Ouest, UVSQ ³Eau de Paris, Direction de la recherche, du développement et de la qualité de l'eau ⁴Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris ⁵Service de Microbiologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France
- 154 Pertinence du modèle zebrafish pour l'analyse de la virulence et de la sensibilité in vivo de Mycobacterium abscessus aux antibiotiques.**
16:20 L. Kremer
Laboratoire de Dynamique des Interactions Membranaires Normales et Pathologiques, CNRS UMR5235, Université Montpellier 2, France
- 155 Les mycobactéries atypiques : de la souris à l'étude clinique chez l'homme.**
16:40 C. Andrejak
CHRU, Amiens, France
- 156 Nouvelles cibles thérapeutiques pariétales.**
17:00 J.L. Mainardi
AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou; Centre de Recherche des Cordeliers, LRMA, Equipe 12, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, UMR S 872; Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UMR S 872; INSERM, U872, Paris, France

Entérobactéries résistantes aux carbapénèmes : *to be or not to be* carbapénémase+
Carbapenem-resistant enterobacteria: to be or not to be carbapenemase+

En partenariat avec l'ONERBA

Modérateur(s) : Audrey Mérens, Jean-Ralph Zahar

- 157** **Évolution du phénomène en France (Onerba)/Europe.**
16:00 V. Jarlier
Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
- To be or not to be : enquête transréseaux 2011-2012 en France.**
- 158** J. Robert
16:20 *MCU-PH, UPMC - Site Pitié-Salpêtrière, Paris, France*
- 159** M.H. Nicolas-Chanoine
16:40 *Bactériologie, Hôpital Beaujon, Clichy, France*
- 160** **Not to be : mécanismes ? Là est la question !**
17:00 J.P. Lavigne
Laboratoire de Bactériologie, CHU Carémeau, Nîmes, France

Paludisme et autres parasitoses
Malaria and other parasitoses

Modérateur(s) : Stéphane Picot, Joseph Schrevel

Mini lecture

- 161** **Nouvelles perspectives chimiothérapeutiques dans l'infection à *Plasmodium falciparum* ?**
16:00 D. Parzy
Maladies Infectieuses, IRBA - UMR-MD3, Marseille, France

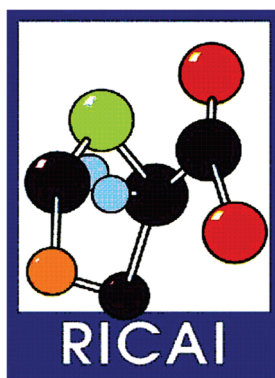
Communications libres

- 162** **Paludisme d'importation en France métropolitaine : données épidémiologiques, biologiques et cliniques 2006-2011 du Centre national de référence pour le paludisme "CNR Paludisme".**
16:15 S. Houzé⁸⁻⁷⁻¹⁰, M. Thellier⁸⁻⁶⁻¹²⁻⁹, E. Kendjo⁸⁻⁶, B. Pradines⁸⁻²⁻⁴, D. Parzy⁸⁻²⁻³, N. Taudon⁸⁻²⁻³, V. Hubert⁸⁻⁷, P. Houzé⁸⁻⁵⁻¹¹, R. Durand⁸⁻¹⁻¹⁰, J. Le Bras⁸⁻⁷⁻¹⁰, M. Danis⁸⁻⁶⁻¹²
¹AP-HP, Hôpital Avicenne, Bobigny ²IMTSSA, Institut de Recherche Biomédicale des Armées ³Unité de Recherche en Pharmacologie et Physiopathologie Parasitaires, UMR-MD3 ⁴Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Transmissibles Emergentes (URMITE), UMR6236, Marseille ⁵AP-HP, Groupe hospitalier Lariboisière Saint-Louis ⁶AP-HP, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière - Charles Foix ⁷AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard ⁸Centre National de Référence du Paludisme ⁹INSERM, UMRS 945 Paris, France ¹⁰Université Paris Descartes-Paris 5 ¹¹Université Paris Diderot, Paris ⁷ ¹²Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Paris, France
- 163** **Synthèse et étude de nouveaux antipaludiques énantiomériquement purs.**
16:30 C. Desgrouas²⁻⁴, A. Jonet¹, C. Mullié¹, S.S. Bun²⁻⁴, N. Taudon³⁻⁴, P. Sonnet¹
¹Laboratoire des glucides, UMR-CNRS 6219, UFR de Pharmacie, Amiens ²Laboratoire de Pharmacognosie, Aix-Marseille Université ³Parasitologie, IRBA ⁴Infections Parasitaires : Transmission, Physiopathologie et Thérapeutique, UMR-MD3, Marseille, France
- 164** **Potentialisation des antipaludiques actuels avec l'atorvastatine pour développer de nouvelles thérapies contre le neuropaludisme.**
16:45 J. Dormoi, S. Briolant, N. Taudon, B. Pradines
Unité de parasitologie, IRBA - antenne Marseille, Marseille, France

- 165** | **Évaluation de l'activité antipaludique de la cépharanthine, molécule extraite de *Stephania rotunda*.**
17:00 | C. Desgrouas³⁻¹, C. Travaillé²⁻³, N. Wurtz²⁻³, C. Chapus²⁻³, F. Mabrouki¹⁻³, B. Baghdikian¹⁻³, N. Taudon²⁻³, E. Ollivier¹⁻³,
D. Parzy²⁻³
¹Laboratoire de Pharmacognosie, Aix-Marseille Université ²Relation hôte-parasite, IRBA ³Infections Parasitaires : Transmission, Physiopathologie et Thérapeutique, UMR-MD3, Marseille, France
- 166** | **Performances et intérêt du test de diagnostic rapide par agglutination de particules de latex dans la prise en charge de l'amébose hépatique d'importation aux urgences.**
17:15 | S. Larréché³, C. Bigaillon³, C. Ficko⁴, A. Bousquet³, F. Janvier³, C. Garcia², N. Sanmartin¹, A. Mérens³, C. Rapp⁴
¹Laboratoire de Biologie Médicale, HIA Percy, Clamart ²Laboratoire de Biologie Médicale, HIA du Val-de-Grâce, Paris ³Laboratoire de Biologie Médicale, HIA Bégin ⁴Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

SESSIONS ORALES
ORAL SESSIONS

Vendredi 23 novembre
Friday, November 23



Vendredi 23 novembre

Friday November 23

| Heure | Réf | Session | Salle |
|-------------|-------|--|-------------------|
| 09:00-10:30 | 40S | Nouvelles techniques diagnostiques de la résistance aux antibiotiques | APOLLINAIRE 2 |
| 09:00-10:30 | 41S | Transmission mère-enfant des virus : quelles nouveautés ? | APOLLINAIRE 6 |
| 09:00-10:30 | 42FMC | Antibiothérapie difficile en pédiatrie | AMPÈRE 1 |
| 09:00-10:30 | 43S | La coli contre l' <i>E. coli</i> (et autres BMR) | AMPÈRE 5 |
| 09:00-10:30 | 44O | Stratégies diagnostiques en bactériologie | AMPÈRE 8 |
| 09:00-10:30 | 45O | Infections à herpès virus | AMPÈRE 9 |
| 09:00-10:30 | 46SEP | Les bactéries hautement résistantes aux antibiotiques | BRILLAT SAVARIN 1 |
| 09:00-10:30 | 47SEP | Physiopathologie de la primo-infection dans les infections virales chroniques | BRILLAT SAVARIN 3 |
| 11:00-12:30 | 48O | Circulaires EPC, ERG et autres BMR : circulez ! | APOLLINAIRE 2 |
| 11:00-12:30 | 49SEP | Surveillance des infections associées aux soins ou « Les pépites du RAISIN » | APOLLINAIRE 6 |
| 11:00-12:30 | 50S | Interaction hôte-pathogène dans le sepsis | APOLLINAIRE 8 |
| 11:00-12:30 | 51FMC | L'antibiogramme | AMPÈRE 1 |
| 11:00-12:30 | 52S | La détection des BMR : pourquoi ? Qui ? Comment ? | AMPÈRE 5 |
| 11:00-12:30 | 53O | Plasticité de la résistance bactérienne | AMPÈRE 8 |
| 11:00-12:30 | 54S | Traitement des infections dues aux bactéries multi-résistantes : quels choix ? | AMPÈRE 9 |
| 11:00-12:30 | 55SEP | Vaccins anti-méningococciques | BRILLAT SAVARIN 1 |
| 11:00-12:30 | 56S | Co-infections virales chez les patients VIH | BRILLAT SAVARIN 3 |
| 12:30-14:00 | 57SS | Endocardite : au coeur des préoccupations en 2012 | AMPÈRE 8 |
| 13:00-13:45 | 58DP | Discussion posters (session 2) | HALL PIERRE CURIE |
| 14:30-16:00 | 59O | Diagnostic rapide de la résistance | APOLLINAIRE 2 |
| 14:30-16:00 | 60S | Actualités sur les gastro-entérites virales | APOLLINAIRE 6 |
| 14:30-16:00 | 61O | Des clones et des gènes à succès | APOLLINAIRE 8 |
| 14:30-16:00 | 62FMC | VIH | AMPÈRE 1 |
| 14:30-16:00 | 63O | Ces méchants Gram négatif | AMPÈRE 5 |
| 14:30-16:00 | 64S | Sérologie bactérienne : un peu de courage ! | AMPÈRE 8 |
| 14:30-16:00 | 65S | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> : un retour en force ? | AMPÈRE 9 |
| 14:30-16:00 | 66S | Les génériques d'antibiotiques : des craintes sont-elles fondées ? | BRILLAT SAVARIN 1 |

Nouvelles techniques diagnostiques de la résistance aux antibiotiques
New antibiotic resistance diagnosis techniques

Modérateur(s) : Patrice Nordmann, Vincent Cattoir

- | | |
|-------|---|
| 167 | Techniques pour les Gram +. |
| 09:00 | <u>F. Laurent</u> <i>Bactériologie, Hôpital de la Croix Rousse, Lyon, France</i> |
| 168 | Biologie pour les Gram -. |
| 09:20 | <u>T. Naas</u> <i>CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France</i> |
| 169 | Le futur. |
| 09:40 | <u>V. Cattoir</u> <i>Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France</i> |

Transmission mère-enfant des virus : quelles nouveautés ?
Mother-child virus transmission: latest developments

Modérateur(s) : Liliane Grangeot Keros, Marc Lecuit

- | | |
|-------|---|
| 170 | La rubéole : une question d'actualité ? |
| 09:00 | <u>L. Grangeot-Keros</u> <i>Service de Microbiologie-Immunologie biologique, Hôpital Antoine Béchère, Clamart, France</i> |
| 171 | Rougeole et grossesse : conséquences maternelles et néonatales. |
| 09:20 | <u>C. Charlier-Woerther</u> <i>Hôpital Necker-Enfants Malades, CNR et CC-OMS Listeria, Institut Pasteur, Paris, France</i> |
| 172 | Parvovirus B19 et grossesse : diagnostic échographique, prise en charge et pronostic d'une série continue de 27 cas. |
| 09:40 | <u>D. Subtil</u> ¹ , A. Chauvet ¹ , A. Dewilde ² , D. Hober ² <i>¹Pôle d'Obstétrique, Hôpital Jeanne de Flandre ²Virologie, Centre de Biologie-Pathologie, Université Lille II, France</i> |
| 173 | Arbovirus et grossesse. |
| 10:00 | <u>M. Lecuit</u> <i>Institut Pasteur, Paris, France</i> |

Antibiothérapie difficile en pédiatrie
Difficult antibiotic therapy in paediatrics

En partenariat avec le GPIIP

Orateur(s) : Robert Cohen, Emmanuel Grimprel, Josette Raymond

Public : pédiatres s'intéressant à l'infectiologie et microbiologistes s'intéressant à la pédiatrie

Objectif : Session interactive à propos d'infections posant des problèmes de traitement antibiotique chez l'enfant

La coli contre l'E. coli (et autres BMR)
Coli versus E.coli (and other BMRs)

Modérateur(s) : William Couet, Patrice Courvalin

- 174 Détermination de l'activité *in vitro*.**
09:00 P. Plésiat
CHU Jean Minjot, Besançon, France
- 175 Pharmacocinétique-pharmacodynamie de la colistine : données récentes.**
09:20 W. Couet
INSERM ERI 23, Pôle Biologie Santé (PBS), Médecine-Sud, Poitiers, France
- 176 Adaptation posologique individuelle de la colistine.**
09:40 N. Grégoire
INSERM ERI 23, Pôle Biologie Santé (PBS), Médecine-Sud, Poitiers, France
- 177 Résultats cliniques sur BMR : quel est le niveau de preuve ?**
10:00 J.F. Timsit
CHU de Grenoble, France

Stratégies diagnostiques en bactériologie
Diagnostic strategies in bacteriology

Modérateur(s) : Eric Senneville, Thomas Guillard

- 178 Stratégies de dépistage du streptocoque B.**
09:00 L. Cavalie¹, C. Delmas¹, C. Assouline-Azogui², A. Berrebi², N. Marty¹
¹Bactériologie-Hygiène ²Gynécologie-Obstétrique, CHU, Toulouse, France
- 179 Impact sur la prescription antibiotique d'une technique rapide d'identification et de détermination de la sensibilité à la méticilline des staphylocoques d'hémocultures.**
09:15 E. Margat, C. Daurel, G. Durand, J. Michon, R. Leclercq
Microbiologie, CHU de Caen, Caen, France
- 180 Y a-t-il des facteurs prédictifs d'un résultat positif de la sérologie *Mycoplasma pneumoniae* chez l'enfant ?**
09:30 J. Le Gal, G. Pouessel, F. Dubos
Gastropédiatrie, Lille, France
- 181 A two-step laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection.**
09:45 N. Khanafer³⁻², P. Vanhems³⁻²
¹Hospices Civils of Lyon-Microbiology Laboratory, Bron ²Hospices Civils of Lyon-Infection Control Unit, Edouard Herriot Hospital ³University of Lyon-Laboratory of Epidemiology and Public Health, CNRS UMR 5558, Lyon, France
- 182 Suivi de la cinétique des charges bactériennes par PCR en temps réel chez les patients atteints de légionellose.**
10:00 L. Shadoud¹⁻², C. Reculé¹, I. Pelloux¹, J. Croizé¹, S. Jarraud⁴, J.F. Timsit³, M. Maurin¹⁻²
¹Laboratoire de Bactériologie, IBP, CHU de Grenoble ²LAPM, UMR CNRS 5163, UJF-Grenoble 1 ³Réanimation Médicale, CHU de Grenoble, Grenoble ⁴CNR Legionella, Lyon, France
- 183 À l'ère des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE), comment épargner les carbapénèmes ? Le Maldi-Tof : une solution pour un traitement adapté précoce !**
10:15 D. Tande³, L. Quaeset², S. Ansart², E. Stindel¹
¹Chirurgie orthopédique ²Maladies infectieuses, CHRU ³Laboratoire de Microbiologie - CHU Morvan, Brest, France

Infections à herpès virus
Herpes virus infections

Modérateur(s) : Nathalie Schnepf, Eric Caumes

- 184** Evaluation of fully automated quantification of cytomegalovirus in whole blood by the new Abbott RealTime CMV assay on the m2000 RealTime System.
09:00
N. Schnepf¹⁻², C. Scieux¹⁻², F. Simon¹⁻², M.C. Mazon¹⁻², J. Le Goff¹⁻²
¹Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Saint-Louis ²Université Paris Diderot, Paris, France
- 185** Activité inhibitrice de l'artésunate, de la dihydroartémisinine et de l'artémisinine sur la réplication du cytomégalo virus.
09:15
A. Flobinus², N. Taudon¹, M. Desbordes¹, F. Simon²⁻⁴, M.C. Mazon²⁻⁴⁻³, N. Schnepf²⁻³
¹Laboratoire de Bioanalyse et Pharmacocinétique, UMR-MD3 Infections Parasitaires: Transmission, Physiopathologie et Thérapeutique, Aix-Marseille Université, Institut de Recherche Biomédicale des Armées, Marseille ²Service de Microbiologie, Hôpital Saint-Louis ³Laboratoire associé CNR Cytomégalo virus ⁴Université Paris Diderot, Paris, France
- 186** Surveillance of herpes simplex virus resistance to antivirals : a 4-year single-center follow-up.
09:30
S. Burrel¹⁻², C. Aimé², L. Hermet², Z. Ait-Arkoub², H. Agut¹⁻², D. Boutolleau¹⁻²
¹ER1 DETIV, Pierre et Marie Curie University ²Virology Department, Pitié-Salpêtrière University Hospital, AP-HP, Paris, France
- 187** Réévaluation de la prévalence des virus herpès simplex résistants à l'aciclovir : étude sur 10 années à Lyon, de 2002 à 2011.
09:45
E. Frobert²⁻³, J.S. Casalegno²⁻³, S. Ducastelle-Lepretre¹, E. Sochay², B. Lina²⁻³, F. Morfin²⁻³
¹Hématologie Clinique ²Virologie, Hospices Civils de Lyon ³EA4610 Virpath, Université Lyon 1, Lyon, France
- 188** Development of drug susceptibility assays for human herpesvirus 6, human herpesvirus 8 and Epstein-Barr virus by Real-Time PCR.
10:00
L. Bounaadja, J. Piret, N. Goyette, G. Boivin
Centre de recherche en infectiologie, Université Laval, Québec, Canada
- 189** Mise en évidence de la présence de HHV-6 dans les spermatozoïdes.
10:15
A.N. Godet⁴⁻¹, M. Desmonet⁴⁻¹, G. Cayrol², H. Koubi⁴⁻¹, X. Pollet Villard², F. Marzouk², P. Bonnafous⁴⁻¹, H. Agut⁴⁻¹, C. Poirot², A. Gautheret-Dejean⁴⁻¹⁻³
¹Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP ²Service d'Histologie à orientation Biologie de la Reproduction-CECOS, Hôpital Tenon, AP-HP, Université Pierre et Marie Curie ³Laboratoire de Microbiologie, UPRES EA 4065, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ⁴Laboratoire de Virologie, ER1DETIV, Université Pierre et Marie Curie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Les bactéries hautement résistantes aux antibiotiques
Highly antibiotic-resistant bacteria

En partenariat avec la SF2H

Modérateur(s) : Jean-Ralph Zahar, Jean-Christophe Lucet

- 190** Comment gérer le risque de diffusion au quotidien.
09:00
J.C. Lucet
Hygiène, UHLIN GH Bichat-Claude Bernard, Paris, France
- 191** Impact collectif de l'antibiothérapie : le point de vue de l'hygiéniste.
09:20
J.R. Zahar
Hygiène, Service de Microbiologie, Paris, France
- 192** Comment envisager le futur : éliminer ou diminuer le réservoir ?
09:40
O. Join-Lambert
Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants malades, Paris, France

Physiopathologie de la primo-infection dans les infections virales chroniques
Physiopathology of primo-infection in chronic viral infections

En partenariat avec l'ANRS

Modérateur(s) : Christine Katlama, Jean-François Delfrayssy

193 Physiopathologie de la primo-infection VIH.

09:00 A. Cheret
CHU de Tourcoing, Tourcoing, France

194 Histoire naturelle de l'infection par le rétrovirus humain oncogène HTLV-1.

09:20 A. Gessain
Institut Pasteur, Unité d'Epidémiologie et Physiopathologie des Virus Oncogènes, Département de Virologie et CNRS, URA3015, Paris, France

195 Physiopathologie et histoire naturelle de la primo-infection dans les infections virales chroniques et conséquences cliniques.

09:40 A. Fontanet
Institut Pasteur, Paris, France

Circulaires EPC, ERG et autres BMR : circulez !
EPC, ERC and other BMR Circulars: keep moving!

Modérateur(s) : Christian Rabaud, Sandra Fournier

196 Place des bactéries multirésistantes émergentes au sein des signalements externes des infections nosocomiales à l'AP-HP : évolution 2007-2011.

11:00 M. Lepointeur, C. Berthélé, M. Huang, C. Monteil, V. Jarlier, S. Fournier
Équipe Opérationnelle d'Hygiène, Direction de la Politique Médicale, AP-HP, Paris, France

197 Contrôle des entérobactéries productrices de carbapénémase dans les hôpitaux de l'AP-HP : 8 ans d'expérience.

11:15 S. Fournier³, M. Lepointeur³, C. Brun Buisson², C. Richard², V. Jarlier³, Et le réseau des équipes d'hygiène de l'AP-HP¹
²CLIN central ³Direction de la Politique Médicale, Équipe opérationnelle d'hygiène, AP-HP, Paris, France

198 Prévalence du portage d'entérobactéries BLSE autour de porteurs d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC).

11:30 I. Lolom², L. Armand-Lefèvre¹, G. Birgand², E. Ruppé¹, A. Andreumont¹, J.C. Lucet²
¹Bactériologie ²UHLIN, GH Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris, France

199 La maîtrise de la diffusion des bactéries hautement résistantes (BHR) passe-t-elle par l'application systématique des recommandations ?

11:45 G. Birgand², I. Lolom², E. Ruppé¹, L. Armand-Lefèvre¹, S. Belorgey², A. Andreumont¹, J.C. Lucet²
¹Bactériologie ²UHLIN, GH Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris, France

200 Lutte contre les entérobactéries multirésistantes : la gestion des excréta est-elle optimale ?

12:00 M. Lepointeur³, S. Nérôme², G. Bendjelloul⁴, B. Cottard-Bouille¹, C. Monteil³, M. Huang³, V. Jarlier³, S. Fournier³
¹Équipe Opérationnelle d'Hygiène, Hôpital Ambroise Paré, AP-HP, Boulogne-Billancourt ²Équipe Opérationnelle d'Hygiène, Hôpital Beaujon, AP-HP, Clichy ³Équipe Opérationnelle d'Hygiène, Direction de la Politique Médicale, AP-HP ⁴Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales, Hôpital Bichat, AP-HP, Paris, France

201 PCR en temps réel dans une stratégie de maîtrise des entérocoques résistant aux glycopeptides (ERG) : des économies ou un surcoût ?

12:15 G. Birgand³, R. Ruimy¹, M. Shwarzinger⁵, I. Lolom³, S. Belorgey³, N. Houhou⁴, L. Armand-Lefèvre, Y. Yazdanpanah²⁻⁵, A. Andreumont¹, J.C. Lucet³
¹Bactériologie ²Infectiologie ³UHLIN ⁴Virologie, GH Bichat-Claude Bernard, AP-HP ⁵ATIP-Avenir U738, Inserm, Paris, France

Surveillance des infections associées aux soins ou « Les pépites du RAISIN »
Monitoring care-related infections or "RAISIN seeds"

En partenariat avec le RAISIN

Modérateur(s) : Pascal Astagenau, Bruno Coignard

- | | |
|------------|---|
| 202 | Indicateurs RAISIN : analyse des tendances. |
| 11:00 | <u>P. Astagenau</u> AP-HP, Paris, France |
| 203 | ATB-RAISIN : le réseau des établissements de santé pour suivre et maîtriser l'utilisation des antibiotiques. |
| 11:20 | <u>A.M. Rogues</u> CHU de Bordeaux, France |
| 204 | Variation régionale de l'incidence BMR et lien avec les données antibiotiques et SHA. |
| 11:40 | <u>I. Arnaud</u> Paris, France |
| 205 | Suivi des infections post-opératoire en post-hospitalisation. |
| 12:00 | <u>P. Jarno</u> CCLIN Ouest, Rennes, France |

Interaction hôte-pathogène dans le sepsis
Host-pathogen interaction in sepsis

Modérateur(s) : Gilles Beaucaire, Henri Agut

- | | |
|------------|---|
| 206 | De la colonisation à méningocoque au purpura fulminans. |
| 11:00 | <u>O. Join-Lambert</u> Université Paris Descartes, Hôpital Necker-Enfants Malades, Paris, France |
| 207 | Immunodépression induite par le sepsis. |
| 11:20 | <u>G. Monneret</u> Laboratoire d'Immunologie, Hôpital E. Herriot - Hospices Civils de Lyon, Lyon, France |
| 208 | Peut-on (doit-t-on) stimuler l'immunité dans le sepsis ? |
| 11:40 | <u>P.F. Laterre</u> UCL, Louvain, Belgique |
| 209 | Infections virales post-agressives. |
| 12:00 | <u>C.E. Luyt</u> Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France |

| | | | | | | | |
|--------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|-----------------------------|--------------|
| Vendredi Friday | 23 | Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | AMPÈRE 1 | Atelier FMC CME workshop | 51FMC |
|--------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|-----------------------------|--------------|

L'antibiogramme
The antibiogram

En partenariat avec le CA SFM

Animateur(s) : Claude-James Soussy, Luc Dubreuil
Orateur(s) : Marie-Hélène Nicolas-Chanoine, Patrick Plesiat, Thierry Lambert, Hubert Chardon

Objectifs : Cette session s'adresse à tous ceux qui veulent consolider ou approfondir leurs connaissances à partir de cas simples ou d'interprétation délicate quotidiennement rencontrés au laboratoire de biologie médicale.

Niveau requis des participants : Formation de base ou approfondie en bactériologie médicale.

Auditoire : Internes, assistants, PH, techniciens de laboratoire, toute autre personne souhaitant connaître les bases de la lecture interprétative de l'antibiogramme ou en ayant déjà une expérience.

| | | | | | | | |
|--------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|------------------------|------------|
| Vendredi Friday | 23 | Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | AMPÈRE 5 | Symposium Symposium | 52s |
|--------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|------------------------|------------|

La détection des BMR : pourquoi ? Qui ? Comment ?
BMR detection: why? Who? How?

Modérateur(s) : Laurent Dortet, Katy Jeannot

- 210** | **Les staphylocoques.**
11:00 | O. Dumitrescu
Faculté de Médecine « Lyon Sud-Charles Mérieux », Université Lyon I, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence des Staphylocoques, Bron, France
- 211** | **Les entérocoques.**
11:20 | P.Y. Donnio
Bactériologie, CHU, Rennes, France
- 212** | **Détection des BMR chez les entérobactéries : qui ? Quoi ? Comment ?**
11:40 | L. Dortet
Microbiologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
- 213** | **Les bacilles Gram négatif non fermentants.**
12:00 | K. Jeannot
Laboratoire de Bactériologie, CHU Jean Minjoz, Besançon, France

| | | | | | | | |
|--------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|-------------------------------------|------------|
| Vendredi Friday | 23 | Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | AMPÈRE 8 | Session orale libre Oral session | 53o |
|--------------------|-----------|----------------------|----------------|---------------|-----------------|-------------------------------------|------------|

Plasticité de la résistance bactérienne
The plasticity of bacterial resistance

Modérateur(s) : Laurent Poiré, Marie - Cécile Ploy

- 214** | **Analyse du génome d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* exprimant la carbapénémase *bla*_{KPC-2} par pyroséquençage à haut débit.**
11:00 | R. Bonnin^{2,3}, T. Naas^{2,3}, R. Bonomo¹, P. Nordmann^{2,3}
¹Case Western Reserve University, Research Service, Louis Stokes Cleveland Department of Veterans Affairs, Cleveland, Etats-Unis ²Microbiologie, Hôpital de Bicêtre ³INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

- 215 QnrD est porté par des petits plasmides non transmissibles chez les Proteae.**
11:15 T. Guillard⁴⁻²⁻³, A. Grillon³, C. Cartier³, J. Madoux³, C. de Champs⁴⁻³, E. Cambau²⁻¹
¹Laboratoire de Bactériologie, AP-HP, Groupe Hospitalier Lariboisière-Saint-Louis ²PRES Sorbonne Paris Cité, Université Paris Diderot, EA3964, Paris ³Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Reims, Hôpital Robert Debré ⁴Université de Reims Champagne-Ardenne, EA4687 SFR CAP-Santé, Reims, France
- 216 Les transposons vecteurs de diffusion des gènes de carbapénèmases (bla_{KPC}, bla_{NDM-1} et bla_{OXA-48}).**
11:30 R. Bonnin¹⁻², L. Poirel¹⁻², P. Nordmann¹⁻²
¹Microbiologie, Hôpital Bicêtre ²INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France
- 217 Dissémination du gène bla_{TEM-52} chez des souches d'Escherichia coli isolées de bovins en France : la faute aux plasmides IncI1/ST36.**
11:45 M. Haenni¹, E. Saras¹, V. Métayer¹, B. Doublet², A. Cloeckert², J. Madec¹
¹Bactériologie, Anses, Lyon ²UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, INRA, Nouzilly, France
- 218 Sélections in vivo et in vitro de TEM-158, un allèle de TEM résistant aux inhibiteurs de bêta-lactamase et à la ceftazidime.**
12:00 H. Jacquier²⁻⁷, G. Marcadé¹, E. Raffoux³⁻⁵, H. Dombret³⁻⁵, P.L. Woerther⁹, J.L. Donay⁴, G. Arlet⁸, E. Cambau²⁻⁶
¹Service de Microbiologie-Hygiène, Hôpital Louis-Mourier, Colombes ²Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière ³Département d'Hématologie ⁴Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Saint-Louis ⁵EA 3518, Institut Universitaire d'Hématologie ⁶EA3964 ⁷INSERM, UMR-S 722, Université Paris Diderot ⁸ER8 Antibiotiques et Flore digestive, Université Pierre et Marie Curie, Paris ⁹Service de Bactériologie-Virologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France
- 219 Phénotypes et génotypes de résistance aux antibiotiques chez Escherichia coli d'origine animale en Tunisie : un fond génétique riche et hétérogène.**
12:15 R. Dhifalli², H. Kilani², Y. Saézn¹, R. Mansouri², W. Mehri², M.S. Abbassi²
¹Unidad de Microbiología Molecular, Centro de Investigación Biomédica de La Rioja, Logrono, Espagne ²Laboratoire de recherche de bactériologie, Institut de la Recherche Vétérinaire de Tunisie, Tunis, Tunisie

| | | | | | | |
|--------------------|-----------------------------------|----------------|---------------|-----------------|------------------------|------------|
| Vendredi Friday | 23 Novembre November | 11:00 12:30 | Salle Room | AMPÈRE 9 | Symposium Symposium | 54s |
|--------------------|-----------------------------------|----------------|---------------|-----------------|------------------------|------------|

Traitement des infections dues aux bactéries multi-résistantes : quels choix ?
Treating infections due to multi-resistant bacteria: what are the options?

Modérateur(s) : Patrice Nordmann, Jean Luc Mainardi

- 220 Les céphalosporines et les associations bêta-lactamines-inhibiteurs de bêta-lactamases dans le traitement des BLSE : Le point de vue du microbiologiste.**
11:00 A. Andreumont
Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris, France
- 221 Le point de vue du clinicien.**
11:20 P. Lesprit
Unité de contrôle épidémiologie prévention de l'infection, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France
- 222 Peut-on utiliser les carbapénèmes pour traiter les bas niveaux de résistance aux carbapénèmes ?**
11:40 P. Nordmann
Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Vaccins anti-méningococciques
Anti-meningococcal vaccines

En partenariat avec le GPIIP

Modérateur(s) : Joël Gaudelus, Robert Cohen

- 223 Structures des méningocoques et implications dans la virulence et dans les stratégies de prévention.**
11:00 M.K. Taha¹, I. Parent du Châtelet²
¹Unité des infections bactériennes invasives et Centre national de référence des méningocoques, Institut Pasteur, Paris ²Unité Maladies à Prévention Vaccinale, Département des Maladies Infectieuses, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France
- 224 Évolution récente des infections invasives à méningocoque en France.**
11:20 M.K. Taha
Institut Pasteur, Paris, France
- 225 Utilisation des vaccins méningococciques polysidiques conjugués et non conjugués.**
11:40 D. Floret
Université Claude Bernard Lyon 1 - Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, France
- 226 Vaccins méningococciques protéiques en développement : B ou universels ?**
12:00 E. Grimprel
Service de Pédiatrie Générale, Hôpital Trousseau, Paris, France

Co-infections virales chez les patients VIH
Viral co-infections in HIV patients

Modérateur(s) : Ludovic Lassel, Françoise Borsa-Lebas

- 227 Gestion de l'hépatite C.**
11:00 L. Piroth
CHU, Dijon, France
- 228 L'hépatite Delta chez les patients co-infectés VIH-VHB.**
11:20 P. Miaillhes¹, K. Lacombe²
¹CHU, Lyon ²Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
- 229 Prise en charge de l'infection HPV.**
11:40 I. Bourgault-Villada
Département d'immunologie, Institut Cochin, Paris, France

Endocardite : au coeur des préoccupations en 2012
Endocarditis: at the heart of concern in 2012

Organisé par NOVARTIS

Modérateur(s) : Jean Luc Mainardi, Pascal Chavanet

- 230 Endocardites : cas cliniques.**
12:30 G. Beraud
CHU, Poitiers, France

231 Synergie antibiotique dans le traitement des endocardites.
13:00 F. Jehl
Laboratoire de bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

232 Endocardites atypiques.
13:30 P. Tattevin
CHU Pontchaillou, Rennes, France

| | | | | | | |
|--------------------|-----------|----------------------|----------------|--------------------------|--|-------------|
| Vendredi Friday | 23 | Novembre November | 13:00 13:45 | HALL PIERRE CURIE | Discussion posters Poster discussions | 58DP |
|--------------------|-----------|----------------------|----------------|--------------------------|--|-------------|

Discussion posters (session 2)
Poster discussions (Session 2)



Les présentations orales courtes suivantes font également l'objet d'une affiche

Modérateur(s) : Christian Chidiac, Gérard Lina

233 Intérêt clinique de la quantification de l'HSV1 dans les LBA.
13:00 E. Frobert²⁻³, G. Billaud², J.S. Casalegno²⁻³, D. Goncalves², J. Robert¹, B. Lina²⁻³, F. Morfin²⁻³
¹Service de Réanimation, Hôpital Edouard Herriot ²Virologie, Hospices Civils de Lyon ³EA4610 Virpath, Université Lyon 1, Lyon, France

234 Prédominance du clone ST398 au sein des souches de *Staphylococcus aureus* isolées des ostéites du pied chez le diabétique.
13:07 E. Senneville⁶, M. Brière⁵⁻⁴, C. Neut¹, N. Messad⁵, J.L. Richard³, A. Sotto⁵⁻⁴, J.P. Lavigne²⁻⁵
¹U995, INSERM, Lille ²Laboratoire de Bactériologie ³Service des Maladies de la Nutrition et Diabétologie ⁴Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carêmeau ⁵U1047, INSERM, Nîmes ⁶Service de Maladies Infectieuses, CH Dron, Tourcoing, France

235 Identification des bacilles à Gram négatif non fermentant par spectrométrie de masse dans la mucoviscidose : comparaison des 4 bases de données disponibles en France.
13:14 A. Ferroni⁵, M.O. Husson², G. Durand¹, J. Leto⁴, P.H. Boyer³, J.L. Beretti⁵, C. Segonds⁶, F. Vandenesch³, R. Courcol², X. Nassif⁵, A.M. Freydiere³, Groupe « Mucomicrobe » pour l'association Vaincre La Mucoviscidose
¹BioMérieux, La Balme Les Grottes ²Centre de Biologie, CHU de Lille, Lille ³Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon ⁴Andromas SAS ⁵Laboratoire de Microbiologie, CHU Necker-Enfants Malades, Paris ⁶Observatoire *Burkholderia cepacia*, Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Purpan, Toulouse, France

236 Intérêt du dosage du N-oxyde voriconazole : exemple d'un cas clinique.
13:21 C. Sauzay¹, C. Metz¹, K. Bihan², N. Tissot², M.H. Fievet¹, P. Tilleul¹, C. Funck-Brentano², J.S. Hulot², N. Zahr²
¹Service de Pharmacie ²Service de Pharmacologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

237 Évaluation du taux d'entérobactéries résistantes aux C3G concernées par les recommandations du CA-SFM 2011 selon la méthode de réalisation de l'antibiogramme.
13:28 L. Prots³, F. Parisot⁴, D. Neri¹, T. Fosse², et membres du Groupe Bmr du Réseau Azurclin
¹Laboratoire de Biologie, CH Cannes, Cannes ²Laboratoire de bactériologie, CHU Nice ³LBM Labazur Nice ⁴LBM Novescia Côte-d'azur, Nice, France

238 Bactériémies au Centre de Traitement des Brûlés (CTB) de l'HIA Percy : étude rétrospective 1997-2011.
13:35 N. Sanmartin¹, P. Jault², C. Soler¹, T. Leclerc², C. Mac Nab¹, S. Bugier¹, N. Donnat², A. Cirrode², C. Hoffman², V. Foissaud¹, T. Samson¹, L. Bargues²
¹Biologie ²Service des brûlés, HIA Percy, Clamart, France

Diagnostic rapide de la résistance
Rapid resistance diagnosis

Modérateur(s) : Laurent Dortet, Gilles Zambardi

- 239** **Test de diagnostic rapide des entérobactéries productrices de carbapénèmes.**
14:30 P. Nordmann, L. Poirel, L. Dortet
Service de Bactériologie-Hygiène, Hôpital de Bicêtre, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France
- 240** **Évaluation de la performance du nouveau test chromogénique β LACTA™ pour la détection rapide de *Pseudomonas aeruginosa* non-sensibles à la ceftazidime.**
14:45 T. Laurent¹, D. Huang¹, C. Dallenne², P. Bogaerts¹, Y. Glupczynski¹
¹CHU Mont-Godinne UCL, Yvoir, Belgique ²Bio-Rad Laboratories, Steenvoorde, France
- 241** **Détection rapide des *Pseudomonas* sp. producteurs de carbapénèmes.**
15:00 L. Dortet, L. Poirel, P. Nordmann
Service de Bactériologie-Hygiène, Hôpital de Bicêtre, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France
- 242** **Comparaison des milieux de culture SUPERCARBA, CHROMagar KPC et Brilliance CRE pour la détection des entérobactéries de sensibilité réduite aux carbapénèmes.**
15:15 D. Girlich^{1,2}, L. Poirel^{1,2}, P. Nordmann^{1,2}
¹Bactériologie, CHU de Bicêtre ²INSERM, Le Kremlin-Bicêtre, France
- 243** **Évaluation préliminaire des performances de MRSA SMART, un nouveau milieu sélectif chromogénique pour le dépistage du portage de SARM.**
15:30 J. Tasse^{2,1}, A. Sapin^{2,1}, J.P. Rasigade^{2,1}, J.M. Roche³, A. Geraci³, L. Devigne Barbaux³, S. Ghirardi³, G. Zambardi³, F. Vandenesch^{2,1}, F. Laurent^{2,1}
¹Centre National de Référence des Staphylocoques, Hospices Civils de Lyon ²Laboratoires de Bactériologie, Centre de Biologie Nord et Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon ³BioMérieux, Marcy L'étoile - La Balme Les Grottes, France
- 244** **Évaluation du test Genotype MTBDR plus dans la détection rapide de la résistance de *Mycobacterium tuberculosis* à la rifampicine et à l'isoniazide directement à partir des prélèvements cliniques.**
15:45 M. Marzouk, A. Ferjani, I. Ben Kahla, J. Boukadida
Laboratoire de microbiologie et d'immunologie, UR02SP13, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Actualités sur les gastro-entérites virales
News about viral gastro-enteritis

Modérateur(s) : Laurent Androletti, Beatrice Quinet

- 245** **Épidémiologie en France et dans les pays développés en 2012.**
14:30 P. Pothier
CNR des virus Entériques, Faculté de Médecine - CHU de Dijon, Dijon, France
- 246** **Les virus "émergents" responsables de gastro-entérite.**
14:50 A. de Rougemont
Centre National de Référence des virus entériques, CHU de Dijon, Dijon, France
- 247** **Le diagnostic biologique des virus responsables de gastro-entérites en 2012.**
15:10 K. Ambert-Balay
CNR des virus entériques, CHU, Dijon, France
- 248** **Virus des gastro-entérites et diarrhées chez les patients transplantés d'organes.**
15:30 N. Lévêque
EA 4684-Faculté de médecine-Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

Des clones et des gènes à succès
Successful clones and genes

Modérateur(s) : Jean-Yves Madec, Katy Jeannot

- 249** **Le plasmide bla_{CTX-M-1} IncI1/ST3 : un succès majeur chez l'animal.**
14:30 S. Dahmen, M. Haenni, J. Madec
Bactériologie, Anses, Lyon, France
- 250** **Detection of clonally-related *Escherichia coli* isolates producing different CMY β -lactamases from a cystic fibrosis patient.**
14:45 L. Crémet¹⁻², N. Caroff², C. Giraudeau¹, J. Caillon¹⁻², A. Reynaud¹⁻², S. Corvec¹⁻²
¹Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU de Nantes ²Université de Nantes, EA3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, UFR de Médecine, Nantes, France
- 251** **Diffusion du gène bla_{IMP-13} en France par l'intermédiaire des souches de *P. aeruginosa* (PA) appartenant aux ST621 et ST308.**
15:00 D. Fournier¹, K. Jeannot¹, M. Robert-Nicoud¹, E. Muller¹, P. Cholley², N. Van Der Mee Marquet³, P. Plésiat¹
¹Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques ²Laboratoire d'Hygiène Hospitalière, CHRU de Besançon, Besançon ³Service de Bactériologie et Hygiène, CHRU de Tours, Tours, France
- 252** **Protocoles EARSS : épidémiologie dynamique des clones de *Staphylococcus aureus* (SARM et SASM) responsables d'infections invasives en France entre 2006 et 2011.**
15:15 T. Nhan¹⁻⁵⁻³, A. Tristan¹⁻⁵⁻³, M. Bes¹⁻⁵⁻³, O. Dauwalder¹⁻⁵⁻³, J.P. Rasigade¹⁻⁴⁻³, H. Meugnier¹⁻⁵, V. Jarlier⁶, D. Trystram⁷, H. Chardon², F. Vandenesch¹⁻⁵⁻³, H. Grundmann⁸, J. Etienne¹⁻⁵⁻³, F. Laurent¹⁻⁴⁻³
¹CNR des staphylocoques, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Lyon ²Laboratoire de Bactériologie, Hôpital d'Aix-en-Provence (pour le réseau REUSSIR), Aix-en-Provence ³BP2I, INSERM U851 ⁴Laboratoire de Bactériologie, CBN, Hospices Civils de Lyon, Lyon ⁵Laboratoire de Bactériologie, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Lyon ⁶Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, EA 1541, UFR de Médecine Pierre et Marie Curie (Paris 6), Site Pitié-Salpêtrière, AP-HP (pour le réseau ONERBA) ⁷Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Site Pitié-Salpêtrière, AP-HP (pour le réseau microbiologie CClin Paris Nord), Paris, France ⁸RIVM, Bilthoven, Pays-Bas
- 253** **Épidémiologie moléculaire de souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases en France : 2011-2012.**
15:30 A. Potron³⁻¹⁻², G. Cuzon³⁻¹⁻², S. El Anbassi², L. Poirel³⁻¹⁻², P. Nordmann³⁻¹⁻²
¹CNR associé Résistances aux antibiotiques ²CHU de Bicêtre, Laboratoire de Bactériologie, Le Kremlin-Bicêtre ³Résistances émergentes aux antibiotiques, unité INSERM U914, Paris, France
- 254** **Diffusion en France d'un clone de *Pseudomonas aeruginosa* produisant la β -lactamase à spectre élargi SHV-2a.**
15:45 K. Jeannot¹, D. Fournier¹, E. Müller¹, P. Cholley², P. Plésiat¹
¹Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, CHRU de Besançon ²Service d'Hygiène Hospitalière et d'Épidémiologie, CHRU, Besançon, France

VIH
HIV

En partenariat avec l'ANRS

Animateur(s) : Pierre De Truchis, Roland Tubiana
Panel de discussion(s) : Thomas De Broucker, Christian Rabaud

Orateurs :

Primo-infection VIH

Antoine Chéret

Tuberculose

Marie-Aude Khuong-Josses, Véronique Joly

IRIS / LEMP

Guillaume Gras, Sébastien Gallien

Auditoire : Cliniciens, microbiologistes, pharmacologues

Objectifs : Remise à niveau des participants dans la prise en charge des infections opportunistes et de primo-infection

Ces méchants Gram négatif
Those pesky Gram negatives

Modérateur(s) : Monique Chomarat, Youri Glupczynski

- 255** 14:30 **Épidémie à *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase OXA-48 dans un centre de rééducation des Hospices Civils de Lyon.**
E. Martin¹, J.P. Rasigade², N. Chatron², F. Breysse¹, M. De Montclos¹, M. Chomarat¹, I. Fredenucci¹, S. Gardes³, R. Girard³, C. Mauranne⁴, S. Tigaud², G. Lina¹, O. Dumitrescu¹
¹Laboratoire de bactériologie, Centre Hospitalier Lyon Sud ²Laboratoire de bactériologie, Hôpital de la Croix Rousse ³Unité d'hygiène hospitalière, Centre Hospitalier Lyon Sud ⁴Unité d'hygiène hospitalière, Hôpital Henri Gabrielle, Hospices civils de Lyon, Lyon, France
- 256** 14:45 **Épidémiologie des entérobactéries productrices de carbapénémases en Belgique.**
B. Jans¹, D. Te-din Huang², A. Guisset², P. Bogaerts², B. Catry¹, M. Goossens¹, Y. Glupczynski²
¹Institut Scientifique de Santé Publique, Bruxelles ²Centre National de référence (CNR) des entérobactéries résistantes, UCL, Mont-Godinne, Belgique
- 257** 15:00 **Diffusion épidémique des souches cliniques d'*Acinetobacter* spp. résistantes aux carbapénèmes au CHU Batna, Algérie (2008-2012).**
A. Kassah-Laouar, K.N.S. Bessanane
Microbiologie, CHU - Faculté de médecine de Batna, Batna, Algérie
- 258** 15:15 **Diffusion de la carbapénémase oxa 48 des entérobactéries à l'hôpital la Rabta en Tunisie.**
H. Lengliz, C. Harchay, H. Maouia, A.B. Othman, M. Zribi, C. Fendri
Microbiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie
- 259** 15:30 **Salmonella : sérotypes et état de résistance aux antibiotiques à Casablanca - Maroc.**
R. Essayede¹, K. Zerouali¹, H. Belabbes¹, B. Bouchrif², N. Elmdaghri¹
¹Microbiologie, CHU IBN Rochd ²Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

Sérologie bactérienne : un peu de courage !
Bacterial serology: hang in there!

Modérateur(s) : Benoit Jaulhac, Christian Chidiac

260 Introduction : sérologie bactérienne - La pertinence, l'inutilité, les alternatives.

14:30 B. Jaulhac
Bactériologie, Laboratoire de Bactériologie des HUS, Strasbourg, France

Chlamydia sp : que faisons-nous ? Que faut-il oublier ?

261 Le point de vue du microbiologiste.

14:40 B. de Barbeyrac¹⁻², F. Obeniche¹, F. Mégraud¹, C. Bébéar¹⁻²
¹Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Laboratoire de Bactériologie ²Université de Bordeaux, INRA, USC Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, Centre National de Référence des Infections à Chlamydia, France

262 Le point de vue du clinicien.

15:00 J. Berruchon
Pneumologie, CH de la Roche-sur-Yon, France

Legionella sp : que faisons-nous ? Que faut-il oublier ?

263 Le point de vue du microbiologiste.

15:20 S. Jarraud
Centre National de Référence des légionelles, Bron, France

264 Le point de vue du clinicien.

15:40 J.F. Timsit
CHU, Grenoble, France

Mycoplasma pneumoniae : un retour en force ?
Mycoplasma pneumoniae: making a comeback?

Modérateur(s) : Daniel Floret, Cécile Bebear

265 *Mycoplasma pneumoniae* gagne du terrain en France et en Europe.

14:30 S. Pereyre
USC EA 3671, Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, INRA, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

266 *Mycoplasma pneumoniae* : quoi de neuf sur le diagnostic et la résistance aux antibiotiques ?

14:50 C. Bébéar
USC EA 3671, Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, INRA, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

267 *Mycoplasma pneumoniae* : un simple spectateur dans l'asthme ?

15:10 M. Fayon⁴⁻², C. Bébéar⁴, C. Raheison³, F. Nacka¹, B. de Barbeyrac⁴, S. Pereyre⁴, H. Renaudin⁴, P.O. Girodet², F. Marquant², S. Desjardins², G. Chêne²
¹Département de Pédiatrie, Centre d'Investigation Clinique (CIC 0005) ²Pôle de Santé Publique, Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche Clinique et Epidémiologique ³Service des Maladies Respiratoires, CHU de Bordeaux ⁴Université Bordeaux 2, USC Mycoplasma and Chlamydial infections in humans, Bordeaux, France

268 Méningoencéphalites à *Mycoplasma pneumoniae* : savons-nous les reconnaître et les traiter ?

15:30 D. Floret
Université Claude Bernard Lyon1-Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, France

Les génériques d'antibiotiques : des craintes sont-elles fondées ?
Antibiotic generics: is there really reason to fear?

Modérateur(s) : François Jehl, François Caron

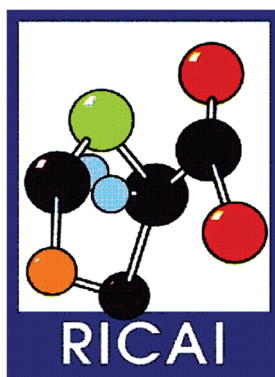
- 269** **Qu'est-ce qu'un générique ? Particularités des antibiotiques.**
14:30 R. Garraffo
Service de Pharmacologie. Hôpital Pasteur, Nice, France
- 270** **Équivalence PK/PD des génériques versus les princeps.**
14:50 F. Jehl
Bactériologie, Laboratoire de bactériologie Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France
- 271** **Équivalence clinique des génériques versus les princeps.**
15:10 R. Gauzit
Hôtel-Dieu, Paris, France
- 272** **Que faut-il exiger des génériques à venir ?**
15:30 R. Cohen
Service de Microbiologie, ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France

SESSIONS D’AFFICHES

POSTER SESSIONS

Jeudi 22 novembre à 8h30 jusqu’au vendredi 23 novembre à 16h00
Thursday, November 22 at 8:30 am until Friday, November 23 at 4:00 pm

Hall Pierre Curie



Jeudi 22 et vendredi 23 novembre

Thursday 22 and Friday, November 23, 2012

Jeudi 22 novembre à 8h30 jusqu'au vendredi 23 novembre à 16h00
Thursday, November 22 at 8:30 am until Friday, November 23 at 4:00 pm

Réf Session

- 67A Détection, résistance et multirésistance aux antibiotiques
- 68A Résistance aux antibiotiques : divers
- 69A Carbapénémases
- 70A Pharmacocinétique/Pharmacodynamique des anti-infectieux
- 71A Divers
- 72A Endocardites et infections cardio-vasculaires
- 73A Infections ostéo-articulaires
- 74A IST
- 75A MALDI-TOF
- 76A Staphylocoques
- 77A Tuberculose
- 78A Automates
- 79A *C. difficile*
- 80A Utilisation des antibiotiques
- 81A Evaluation des pratiques professionnelles
- 82A VIH
- 83A Histo-microbiologie
- 84A Infections diverses
- 85A Mycologie
- 86A Parasitologie
- 87A Hygiène
- 88A Virologie: méthodes de diagnostic
- 89A Virologie : épidémiologie microbienne
- 90A Pathogènes pulmonaires
- 91A *Helicobacter, campylobacter*
- 92A Infections pédiatriques
- 93A Brucellose - Infections à mycobactéries
- 94A BLSE
- 95A *Acinetobacter, pseudomonas*
- 96A Streptocoques
- 97A Pneumocoques

Détection, résistance et multirésistance aux antibiotiques
Antibiotic detection, resistance and multi-resistance

- 273** **First evaluation of chromID[®] OXA-48, a new chromogenic medium for detection of *Enterobacteriaceae* producing OXA-48 carbapenemase.**
L. Devigne, M.P. Bourguignon, E. Courbière, S. Ghirardi, V. Vignon, G. Zambardi
R&D, BioMérieux, La Balme Les Grottes, France
- 274** **Fréquence et caractérisation moléculaire de mutants résistants au linézolide sélectionnés *in vitro* à partir de souches de staphylocoque à coagulase négative isolées d'ostéites du pied diabétique.**
C. Rouard²⁻³, E. Aslangul⁴, A. Rivière², M. Olechny³, M.J. Butel³, F. Doucet-Populaire²⁻¹, N. Bourgeois-Nicolaos²⁻³
¹EA 4043, USC INRA, Faculté de Pharmacie, Université Paris Sud, Châtenay-Malabry ²Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Bécclère, Université Paris- Sud, Clamart ³EA4065, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Université Paris Descartes ⁴Service de Médecine Interne, Hôtel-Dieu, Paris, France
- 275** **Évaluation des performances d'une nouvelle bandelette Etest pour la détection de souches productrices de carbapénémases de type KPC.**
D. Halimi, R. Martelin, V. Sauvonne, M. Pompilio, S. Rivat, G. Durand, G. Zambardi
BioMérieux, La Balme les Grottes, France
- 276** **Évaluation des performances d'un prototype de milieu sélectif chromogénique (MRSA SMART. BioMérieux) pour le dépistage du portage nasal de SARM permettant une lecture précoce des cultures.**
F. Laurent
Centre National de Référence des Staphylocoques, Laboratoire de Bactériologie, Hôpital de La Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Inserm U 851, Lyon, France
- 277** **Évaluation de deux nouveaux milieux chromogènes sélectifs des entérobactéries productrices de carbapénémases.**
B. Mottet-Auselo¹, R.N. Tan¹⁻²⁻³, L. Gibold¹⁻³, R. Bonnet¹⁻²⁻³, F. Robin¹⁻²⁻³
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Clermont-Ferrand ²Laboratoire associé BLSE/Céphalosporinase, CNR Résistance aux Antibiotiques ³INSERM U1071, INRA USC2018, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France
- 278** **L'analyse systématique des mutations de l'ADN gyrase est indispensable à l'élaboration d'une stratégie fiable pour le diagnostic de la résistance aux fluoroquinolones chez *Mycobacterium tuberculosis*.**
C. Bernard, N. Veziris, F. Brossier, W. Sougakoff, V. Jarlier, J. Robert, A. Aubry
Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux, Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France
- 279** **Évaluation d'une technique de puce à ADN permettant la détection rapide et la caractérisation moléculaire des gènes de résistances des entérobactéries.**
L. Bertaiola, M.L. Tritten, H.H. Siegrist, R. Lienhard
ADMED Microbiologie, La Chaux-de-Fonds, Suisse
- 280** **Comparative evaluation of three selective media for the detection of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*.**
T.D. Huang, C. Berhin, Y. Glupczynski
Laboratoire de Microbiologie, CHU Mont-Godinne (UCL), Yvoir, Belgique
- 281** **Évaluation du test chromogénique (betaLACTA[™] test) pour la détection rapide des BLSE directement sur les urines.**
S. Galah³, M. Doufair³, N. Genel², S. Vimont³⁻², C. Verdet³, C. Dallenne-Redgosz¹, M. Juvin¹, G. Arlet³⁻²
¹Bio-Rad, Marnes-la-Coquette ²Département de Bactériologie, FMPMC ³Bactériologie, Hôpital Tenon, Paris, France
- 282** **Évaluation d'un test rapide de dépistage du portage de gènes de résistance dans les selles.**
F. Domain², V. Ubertelli², P.Y. Cousin², B. Périchon³, P. Courvalin³, E. Blandin¹, C. Marcel¹, M. Perrier¹, T. Kesteman¹, E. Ruppé¹, A. Andremon¹, M. Rattier², Y. Marcy²
¹Laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP et Université Paris 7 ²Genewave SAS ³Unité des Agents Antibactériens et Centre National de Référence des Antibiotiques, Institut Pasteur, Paris, France
- 283** **Détection des carbapénémases au sein du genre *Acinetobacter*.**
R. Bonnin¹⁻², L. Poirel¹⁻², P. Nordmann¹⁻²
¹Microbiologie, Hôpital de Bicêtre ²INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France
- 284** **Évaluation d'une nouvelle méthode de dépistage phénotypique de l'AAC(6)-Ib-cr.**
R.N. Tan¹⁻², B. Mottet-Auselo¹, L. Gibold¹⁻³, R. Bonnet¹⁻²⁻³, F. Robin¹⁻²⁻³
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU de Clermont-Ferrand ²Laboratoire associé BLSE/Céphalosporinase, CNR Résistance aux Antibiotiques ³INSERM U1071, INRA USC2018, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Résistance aux antibiotiques : divers
Antibiotic resistance: other

- 285** 50% effective dose (ED₅₀) determination of KPI-10 for treating sepsis in mice due to quinolone-susceptible (QS) and quinolone-resistant (QR) nosocomial pathogens: comparison with ciprofloxacin (CIP).
C. Jacqueline², M. Davieau², C. Desessard¹, A.F. Miègeville², G. Potel², J. Caillon²
¹Atlangram ²UFR de Médecine, UPRES EA 3826, Nantes, France
- 286** Caractérisation de la résistance à la tétracycline chez des souches cliniques de *Escherichia coli* isolées d'hémocultures et corrélation potentielle avec d'autres déterminants de la résistance.
S. Corvec¹⁻³, M. Lefebvre³, E. Montassier³⁻², N. Caroff³, E. Bataud³⁻²
¹CHU de Nantes - Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière ²Service des Urgences CHU de Nantes ³Université de Nantes, EA3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Nantes, France
- 287** Recombinaison homologue chez *Klebsiella pneumoniae* à l'origine de la surexpression de la pompe d'efflux AcrAB.
S. Bialek-Davenet¹⁻²⁻³, E. Marcon¹, V. Leflon-Guibout¹, O. Tran Minh¹, R. Moreau³, M.H. Nicolas-Chanoine¹⁻²⁻³
¹Hôpital Beaujon AP-HP, Service de Microbiologie, Clichy ²Faculté de Médecine Paris Diderot ³INSERM U773, CRB3, Université Paris 7, Paris, France
- 288** Émergence *in vitro* de la résistance à la rifampicine chez *Propionibacterium acnes* : caractérisation moléculaire des mutations du gène *rpoB* impliquées.
U. Furustrand Tafin², G.G. Aubin¹, A. Trampuz², S. Corvec¹
¹CHU de Nantes - Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, Nantes, France ²Infectious Diseases Service, Department of Medicine, Lausanne University Hospital, Lausanne, Suisse
- 289** Profil de résistance des mycoplasmes urogénitaux aux antibiotiques : expérience du Laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Aziza Othmana, Tunis-Tunisie.
S. Ben Khelifa, S. Sammoud, M. Jeljli, D. Ammouche, S. Hamdi, W. Bellasoued, M. Ben Fathallah, O. Bahri
Laboratoire de Microbiologie-Biochimie, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie
- 290** Fourth Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria.
D. Van den Bossche³, I. Wybo³, E. Vekens³, K. Vandoorslaer³, G. Claeys⁵, H. Rodriguez-Villalobos¹, Y. Glupczynski⁸, M. Ieven⁴, P. Melin⁷, O. Denis², J. Verhaegen⁶, D. Piérard³
¹Cliniques Universitaires Saint-Luc ²Hôpital Universitaire Erasme ³Laboratoire de Microbiologie, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels ⁴Universitair Ziekenhuis Antwerpen, Edegem ⁵Universitair Ziekenhuis Gent, Ghent ⁶Universitair Ziekenhuis Leuven, Leuven ⁷Cliniques Universitaires de Liège, Liège ⁸Cliniques Universitaires de Mont-Godinne, Yvoir, Belgique
- 291** Étude de la sensibilité aux antibiotiques d'intérêt clinique chez des souches françaises de *F. tularensis* subsp. *holarctica*.
V. Sutura¹⁻³, M. Levert³, J.N. Del Bano¹, D. Schneider³⁻², M. Maurin¹⁻³⁻²
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble ²UM5163, CNRS ³Laboratoire Adaptation et Pathogénie des Micro-organismes, Université Joseph Fourier, Grenoble, France
- 292** L'évolution de la sensibilité du gonocoque aux antibiotiques en France : les données du réseau de surveillance sentinelle Rénago, 2001-2011.
A. Goubarid¹, G. La Ruche², P. Sednaoui¹
¹Institut Alfred Fournier, centre national de référence des gonocoques, Paris ²Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France
- 293** Surveillance de la résistance des bactéries isolées d'hémocultures dans les hôpitaux non universitaires français de 1996 à 2011 : données de l'Observatoire des résistances du COL-BVH.
O. Gallon², B. Lamy³, J.W. Decousser¹, P. Pina², COL-BVH
¹Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béclère (AP-HP), Clamart ²Équipe Opérationnelle d'Hygiène, CH Sud-Essonne, Dourdan ³Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France
- 294** Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture à l'établissement hospitalier spécialisé Dr Maoche, Alger, Algérie.
S. Rezqui, K. Kezzal
EHS Maoche MA, Alger, Algérie
- 295** Infections urinaires en milieu communautaire en région Pays de la Loire : suivi de la sensibilité d'*E. coli* aux antibiotiques de 2009 à 2011.
S. Thibaut-Jovelin¹, J. Caillon¹⁻³, A. Marquet¹, F. Ollivier¹, J. Pivette², P. Donny², E. Michaud², G. Grandjean¹, F. Ballereau¹⁻³, MedQual Réseau Laboratoires de Biologie Médicale (BM)¹
¹Centre MedQual ²Direction Régionale du Service Médical de l'Assurance Maladie (DRSM), Région Pays de la Loire ³EA 3826, Nantes, France

- 296 **Molecular mechanisms of higher MICs of antibiotics and quaternary ammonium compounds for *Escherichia coli* isolated from bacteraemia.**

S. Buffet-Bataillon, A. Le Jeune, S. Le Gall-David, M. Bonnaure-Mallet, A. Jolivet-Gougeon
Unité d'Hygiène Hospitalière, CHU Pontchaillou, Rennes, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

69A

Carbapénèmases

Carbapenemases

- 297 **Persistance d'entérobactéries productrices de la carbapénamase NDM-1 sur une période de 6 mois chez un patient communautaire.**

C. Arpin¹, P. Noury², L. Coulange-Mayonnove¹, P.T. Belotti¹, C. André¹, F. M'zali¹, C. Quentin¹
¹UMR CNRS 5234, Université de Bordeaux 2, Bordeaux ²Laboratoire Exalab, Villenave D'Ornon, France

- 298 **Carbapénèmases isolées dans une unité stérile d'onco-hématologie à l'Hôpital Aziza Othmana, Tunis-Tunisie.**

S. Sammoud¹, M. Hamdoun¹, Y. Ben Abdennebi², H. Ben Neji², R. Jeddi², R. Ben Amor², S. Hamdi¹, D. Ammouche¹, B. Meddeb², O. Bahri¹
¹Laboratoire de Microbiologie-Biochimie ²Service d'Onco-Hématologie, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

- 299 **Programme régional de surveillance des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes en Languedoc-Roussillon : bilan à 18 mois de surveillance.**

A. Pantel³, H. Jean Pierre², H. Marchandin², A. Gaschet⁵, A. Boutet Dubois¹, A. Sotto⁴, J.P. Lavigne³, . Les laboratoires de biologie du Languedoc Roussillon
¹Laboratoire de Biologie Polyvalente, CH Alès, Alès ²Laboratoire de Bactériologie, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier ³Laboratoire de Bactériologie ⁴Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carémeau, Nîmes ⁵Laboratoire de Biologie Polyvalente, CH St Jean, Perpignan, France

- 300 **Increased number and diversity of carbapenemases produced by Gram-negative bacilli in a Lebanese hospital.**

D. Hammoudi, C. Moubareck, D. Karam Sarkis
Laboratoire de microbiologie, Faculté de Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban

- 301 **Pratiques de dépistage des bactéries productrices de carbapénèmases au sein des hôpitaux du Collège de bactériologie-virologie-hygiène (COLBVH).**

R. Sanchez³, O. Bellon¹⁻², Collège de Bactériologie, Virologie, Hygiène des Hôpitaux (COLBVH)
¹Laboratoires de Bactériologie, Centre hospitalier du pays d'Aix, Aix-en-Provence ²Centre hospitalier Jean Marcel, Brignoles ³Centre hospitalier, Périgueux, France

- 302 **Évaluation de tests phénotypiques pour la détection de carbapénémase.**

V. Decool, K. Alidjino, F. Canis, G. Dewulf, E. Mazars, C. Cattoen
Service de Microbiologie - Centre hospitalier, Valenciennes, France

- 303 **Faecal carriage of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* during a non-outbreak situation in Habib Bourguiba university hospital Sfax-Tunisia.**

B. Mnif, E. Chiboub, R. Haj Kacem, S. Gouiaa, F. Masmoudi, S. Mezghani, F. Mahjoubi, A. Hammami
CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

- 304 **Détection non moléculaire des entérobactéries productrices de carbapénémase : quelle place pour le test de Hodge modifié dans les laboratoires de proximité ?**

A.S. Valentin², S. Dos Santos², R. Quentin², N. Van Der Mee-marquet¹⁻²
¹Réseau des Hygiénistes du Centre ²Service de Bactériologie et Hygiène, Centre Hospitalier Universitaire, Tours, France

- 305 **Durée et cinétique du portage d'entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) et d'entérobactéries sécrétrices de carbapénémase (ESC) dans une cohorte de patient isolés.**

A. Dinh²⁻¹, C. Rouzaud¹, C. Lawrence¹, B. Davido¹, D. Le Du¹, A.C. Crémieux¹⁻², J.L. Herrmann¹, C. Perronne²⁻¹
¹CHU R. Poincaré ²SPLIF, Garches, France

- 306 **Propriétés génétiques et biochimiques de la carbapénémase OXA-48 et de ses variants.**

A. Potron²⁻¹, E. Rondinaud², L. Poirel²⁻¹, P. Nordmann²⁻¹
¹CHU de Bicêtre, Laboratoire de Bactériologie ²Résistances émergentes aux antibiotiques, Unité INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Pharmacocinétique/Pharmacodynamique des anti-infectieux
Pharmacokinetics/Pharmacodynamics of anti-infectious drugs

- 307 Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin after lung transplantation in cystic fibrosis patients.**
N. Grégoire¹, F. Périn-Dureau², C. Cerf², D. Grenet², F. Parquin², O. Mimoz¹, P. Gobin¹, W. Couet¹
¹INSERM U1070, Université de Poitiers et CHU de Poitiers, Poitiers ²Hôpital Foch, Suresnes, France
- 308 Efficacité et tolérance rénale du traitement par vancomycine des infections ostéoarticulaires nosocomiales : étude rétrospective unicentrique.**
C. Rodaix², E. Curis⁴, B. Brouard³, D. Archambeau¹, L. Eyrolle¹, B. Blanchet³
¹Département d'anesthésie réanimation ²Service de chirurgie orthopédique ³Unité fonctionnelle de pharmacocinétique et pharmacochimie, Assistance publique des hôpitaux de Paris, Hôpital Cochin ⁴Département de biostatistiques, Assistance publique des hôpitaux de Paris, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France
- 309 Systemic exposure profile and tissue penetration (lung, kidney, bone marrow, and gallbladder) of KPI-10 in rabbits after intravenous administration.**
C. Jacqueline², V. Le Mabeccque², C. Desessard¹, A.F. Miègeville², G. Potel², J. Caillon²
¹Atlangram ²UFR de Médecine, UPRES EA 3826, Nantes, France
- 310 Impossibilité d'obtention de concentrations sériques de colistine au-dessus de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour une souche de *Pseudomonas aeruginosa* toto résistant (PATR) malgré des posologies maximales de colimycine.**
M. Hentzien⁴, Y. N'guyen⁴⁻², F. Goehringer⁴⁻¹, A.S. Batalla⁴, C. Strady⁴⁻⁵, V. Vernet Garnier³
¹Service de Maladies Infectieuses, CHU Nancy ²EA 4684 ³Laboratoire de bactériologie ⁴Médecine interne et maladies infectieuses, CHU Reims ⁵Groupe Courlancy, Reims, France

Divers
Other

- 311 Apport de la DGGE dans le diagnostic microbiologique des plaies du pied chez le diabétique.**
C. Dunyach Remy⁴, A. Cadière⁵, J.L. Richard¹, B. Roig⁵, A. Sotto³, J.P. Lavigne²
¹Service des Maladies de la Nutrition et Diabétologie, Le Grau du Roi ²Laboratoire de Bactériologie ³Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carémeau ⁴U1047, INSERM ⁵Unité Biodiagnostic, Laboratoire d'Étude et de Recherche en Environnement et Santé, Nîmes, France
- 312 Étude prospective clinico-microbiologique des hémocultures positives et issues de traitement.**
V. Fihman², T. Billard-Pomares²⁻⁵, G. Barnaud², F. Magdoud², V. Manceron¹, B. Mesples³, J.D. Ricard⁴⁻⁵, C. Branger²⁻⁵
¹Médecine Interne ²Microbiologie-Hygiène ³Pédiatrie ⁴Réanimation Médico-Chirurgicale, Hôpital Louis Mourier - HUPNVS - AP-HP, Colombes ⁵Inserm U722, UFR de Médecine Paris 7 Diderot, Paris, France
- 313 Profil épidémiologique et résistance aux antibiotiques des bactéries isolées des hémocultures dans un institut d'orthopédie.**
Y. Ben Lamine, R. Ben Jemaa, D. Mhadhebi, S. Lachhab, F.Z. Naimi, S. Besbes
Unité de Microbiologie, Laboratoire de biologie clinique, Institut Mohamed Kassab d'Orthopédie, Ksar Said, Tunisie
- 314 Évaluation de la technique de sonication pour le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires sur prothèse : étude pilote aux Hospices Civils de Lyon.**
C. Piffaut², G. Demey³, S. Lustig³, S. Boisset¹, T. Ferry⁴, P. Neyret³, S. Tigaud², F. Laurent²
¹Laboratoire de Bactériologie, Hôpitaux Est, Bron ²Laboratoire de Bactériologie ³Service de Chirurgie Orthopédique ⁴Service des Maladies Tropicales et Infectieuses, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France
- 315 Fitness, résistance au stress et virulence extra-intestinale chez *Escherichia coli*.**
A. Bleibtreu, P.A. Gros, O. Clermont, H. Le Nagard, J. Glodt, B. Picard, O. Tenailon, E. Denamur
INSERM U722 et INSERM U728, PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Endocardites et infections cardio-vasculaires
Endocarditis and cardiovascular infections

- 316 Endocardite infectieuse à *Streptococcus sinensis*.**
E. Teicher
Le Kremlin-Bicêtre, France
- 317 Infection de défibrillateur automatique à *Arthrobacter albus*.**
C. Soler¹, C. Mac Nab¹, J.P. Labbe², S. David², A. Mérens⁴, A. Lefleche³, N. Sanmartin¹, P. Héno²
¹*Biologie* ²*Cardiologie, HIA Percy, Clamart* ³*CIBU PIB, Institut Pasteur, Paris* ⁴*Biologie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France*
- 318 Quelle utilisation de la daptomycine dans les infections cardiovasculaires ?**
T. Bancourt², A. Beausir², K. Moussa¹, C. Rousselière², P. Odou²
¹*Service de Cardiologie* ²*Service de Pharmacie, CHRU, Lille, France*
- 319 Endocardite infectieuse à *Streptococcus sinensis*.**
V. Seta, D. Denis, E. Fourn, J.M. Michot, C. Ratour, N. Fortineau, O. Lambotte, E. Teicher
Médecine Interne, Hôpital Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
- 320 Séméiologie respiratoire des bactériémies à porte d'entrée urinaire.**
F. de Salvador-Guilouet¹, E. Denis¹, E. Cua¹, L. Landraud², P. Roger²
¹*Bactériologie* ²*Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France*
- 321 Réunion de concertation pluridisciplinaire « Endocardites ».**
G. Wirth⁵, C. Greib⁵, E. Jan¹, D. Chrisment³, O. Peuchant³, F. Arsac⁴, M. Dijos⁴, E. Lazaro⁵, J.L. Pellegrin⁵, F. Camou²
¹*Cardiologie* ²*Réanimation médicale, Bordeaux* ³*Bactériologie* ⁴*Cardiologie* ⁵*Médecine Interne et Maladies Infectieuses, CHU Bordeaux, Pessac, France*

Infections ostéo-articulaires
Osteo-joint infections

- 322 La tuberculose ostéo-articulaire extra-vertébrale : un diagnostic à ne pas méconnaître.**
M. Ben Jemaa¹, E. Elleuch², T. Hachicha², W. Zribi¹, Z. Mnif², H. Keskes¹, M. Ben Jemaa²
¹*CHU Habib Bourguiba* ²*CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie*
- 323 Spondylodiscite tuberculeuse, à propos de 21 cas.**
H. Bouchaib, N. Achour, M. Afiri
Service des Maladies Infectieuses, CHU Nedir Mohamed, Tizi-Ouzou, Algérie
- 324 Profil bactériologique et épidémiologique des infections sur prothèse articulaire : une étude rétrospective à propos de 41 cas.**
O. Bouallegue, C. Chaouch, M. Zouari, L. Tilouch, A. Ghouila, S. Ketata, N. Boujaafar
Laboratoire de bactériologie-virologie, CHU Sahloul Sousse, Monastir, Tunisie
- 325 Efficacité et effets indésirables de traitements antibiotiques complexes d'une cohorte de sujets présentant des infections ostéo-articulaires (IOA) à bactéries hautement résistantes (BHR).**
A. Dinh²⁻¹, V. Le Strat¹, C. Rouzaud¹, B. Davido¹⁻², C. Lawrence¹, J.L. Herrmann¹, A.C. Crémieux¹⁻², T. Judet¹, C. Perronne¹⁻²
¹*CHU R. Poincaré* ²*SPILF, Garches, France*
- 326 L'acide fusidique, une alternative thérapeutique dans les IOA, en cas de résistance ou d'allergie à la rifampicine ou aux fluoroquinolones.**
S. Ivanoff, Y. El Samad, B. Brunschweiler, B. Canarelli, J.L. Schmit
CHU d'Amiens, Amiens, France
- 327 Spondylodiscites infectieuses, à propos de 31 cas.**
H. Bouchaib¹, M. Afiri¹, N. Achour¹, A. Ait Ameur²
¹*Service de Maladies Infectieuses* ²*Service de Microbiologie, CHU Nedir Mohamed, Tizi-Ouzou, Algérie*

328 Évaluation de la prise en charge du pied diabétique au CHU la Rabta.

A. Louhaichi, M. Khrouf, M. Guerfeli
Ariana, Tunisie

329 Spondylodiscites infectieuses : cohorte de 116 cas.

C. Rouzaud¹, A. Dinh²⁻¹, A.L. Roux¹, R. Carlier¹, J.L. Herrmann¹, L. Bernard¹
¹CHU R. Poincaré ²SPILF, Garches, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

74A

IST
STIs330 Evaluation of the new Mycofast *RevolutioN* kit for antibiotic susceptibility testing of genital mycoplasmas, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* spp.

C. Bébéar²⁻¹, H. Renaudin¹
¹CHU de Bordeaux ²Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

331 Dépistage de *Chlamydiae trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* dans des prélèvements uro-génitaux à l'aide du système Panther® (Gen-Probe).

E. Ruppé¹, M. Delamare¹, C. Moreau¹, E. Bouvet², A. Andremont¹, L. Armand-Lefèvre¹
¹Bactériologie, Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard ²CDAG-Ciddist, Groupe hospitalier Bichat-Claude Bernard, Paris, France

332 Apport du test XPERT® CT/NG (GenEXpert®) dans la prise en charge des infections pelviennes chez la femme.

A. Dubouix-Bourandy², J.A. Bournazeau¹, S. Favrin¹, L. Puyuelo¹, R. Aoun¹, C. de Lapasse¹, V. Pietri², J.M. Gandois¹
¹Service de Gynécologie-Obstétrique, Clinique de L'Union ²Laboratoire Roudier Pietri Gandois Dubouix, Saint-Jean, France

333 Detection of *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Mycoplasma genitalium* in uro-genital samples by the real-time Dx CT/NG/MG PCR assay.

J. Loubinoux¹⁻³, H. Réglie-Poupet¹, H. Colboc², G. Collobert¹, A. Billoët¹, N. Tavares¹, N. Dupin²⁻³, C. Poyart¹⁻³
¹Service de Bactériologie ²Service de Dermato-vénérologie, CIDDIST Tarnier, Hôpitaux Universitaires Paris Centre Cochin Hôtel-Dieu Broca, Assistance Publique Hôpitaux de Paris ³Faculté de Médecine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

334 Prevalence and risk factors associated with *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Mycoplasma genitalium* infection in French pregnant women.

O. Peuchant⁵⁻²⁻³, C. Leroy⁵⁻², C. Desvaux⁴, A. Paris⁴, J. Asselineau¹, C. Maldonado¹, G. Chêne¹, J. Horovitz⁴, D. Dallay⁴, B. de Barbeyrac⁵⁻²⁻³, C. Bébéar⁵⁻²⁻³
¹CHU de Bordeaux, Pôle de Santé Publique, Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche Clinique et Epidémiologique ²INRA, USC Infections humaines à mycoplasmes et à chlamydiae ³Laboratoire de Bactériologie, CHU de Bordeaux ⁴Service de Gynécologie Obstétrique, CHU de Bordeaux ⁵Université Bordeaux, USC Infections humaines à mycoplasmes et à chlamydiae, Bordeaux, France

335 Dépistage systématique du *Chlamydia trachomatis* par auto-prélèvement chez les jeunes femmes de moins de 25 ans à la CDAG de Paris Belleville.

C. Charlois-Ou, P. Dhotte, N. Boo
Dases, Mairie de Paris, Paris, France

336 Épidémiologie des infections à *Chlamydia trachomatis* au CHU de Caen entre janvier 2000 et juin 2012.

J. Petitjean Lecherbonnier¹, I. Asselin², F. Guérin³, A. Vabret¹
¹Laboratoire de Virologie ²Service Orthogénie, CHU, Caen ³Laboratoire Hôpital, Saint-Lô, France

337 Evaluation of the ADVIA Centaur® syphilis assay in routine conditions for the diagnosis of syphilis.

P. Sednaoui, L. Monfort, J. Broyon, A. Goubard
Laboratoire, Institut Alfred Fournier, Paris, France

338 Dépistage de *Chlamydia trachomatis*/*Neisseria gonorrhoeae* en duplex : faut-il contrôler les résultats *N. gonorrhoeae* positifs ?

B. de Barbeyrac²⁻¹, C. Le Roy², M. Clerc², O. Peuchant², C. Bébéar²⁻¹
¹Hôpital Pellegrin ²Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

- 339 **Intérêts économiques et organisationnels de l'acquisition d'un automate (GeneXpert de Cepheid) de biologie moléculaire pour la réalisation de tests au coup par coup au laboratoire de biologie polyvalente d'un CH.**
S. Macherqui-Hammami, M.C. Cabasso, P. Delmas, F. Templier, B. Vaché
Service de Biologie Médicale, Gap, France
- 340 **Y-a-t-il une réelle augmentation des infections à *Chlamydia trachomatis* génito-urinaires en France ? Douze ans de données du réseau de surveillance sentinelle Rénachla, 2000-2011.**
G. La Ruhe, V. Goulet, C. Semaille
Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

75A

MALDI-TOF
MALDI-TOF

- 341 **La spectrométrie de masse (SM) MALDI-TOF, l'outil indispensable en bactériologie de la mucoviscidose (CF) ? Retour d'expérience brestoise sur les bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGNNF) autres que *Pseudomonas aeruginosa* (Pa).**
C. Beuruelle², D. Tandé², F. Le Gall²⁻¹, F. Javaugue², M.F. Exbourse², M.F. Guèdes², B. Guisnel², G. Rault³, G. Héry-Arnaud²⁻¹
¹EA3882-LUBEM, SFR148 ScInBioS, Université de Brest ²Unité de Bactériologie, Pôle de Biologie-Pathologie, Hôpital La Cavale Blanche, CHRU de Brest, Brest ³Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) mixte, Centre de Perharidy, Roscoff, France
- 342 **Comparaison de l'identification de bactéries anaérobies par spectromètre de masse type MALDI-TOF (VITEK MS[®]) à 2 méthodes phénotypiques (carte ANC-VITEK 2[®] et Rapid ID32A-MiniAPI[®]) et au séquençage partiel du gène *ADNr 23S*.**
F. Garnier, O. Barraud, N. Hidri, C. Martin, M.C. Ploy
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France
- 343 **Identification bactérienne rapide à partir de flacons d'hémoculture sans charbon détectés positif en utilisant une méthode de lyse-filtration à l'aide du Vitek MS[®], spectromètre de masse de type MALDI-TOF.**
F. Garnier, O. Barraud, N. Hidri, C. Martin, M.C. Ploy
Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Dupuytren, Limoges, France
- 344 **Identification de *Streptococcus pneumoniae* par le spectromètre de masse VITEK-MS.**
P. Weber, M. Scotto
Microbiologie, Laboratoire de Biologie Médicale BIO-VSM LAB, Vaires-sur-Marne, France
- 345 **Identification rapide à partir d'urines natives des bactéries responsables d'infections urinaires à l'aide du spectromètre de masse MALDI-TOF (Bruker Daltonics).**
M.L. Tritten, R. Lienhard, S. Grandperrin, H.H. Siegrist
Admed Microbiologie, La Chaux-de-Fonds, Suisse
- 346 **Identification of *Streptococcus bovis* - *Streptococcus equinus* group endocarditis isolates by matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry.**
S. Spinali³⁻², C. Plainvert³⁻², M. Saada⁴, A. Billoët³⁻², G. Collobert³⁻², A. Bouvet³⁻², C. Alauzet¹, C. Poyart³⁻²
¹CHU Nancy, Nancy ²Centre National de Référence des Streptocoques ³Groupe Hospitalier Cochin Broca Hôtel-Dieu, Paris ⁴CH Perpignan, Perpignan, France
- 347 **Andromas-Bruker : comparaison de deux MALDI-TOF-MS pour l'identification bactérienne en routine.**
F. Compain¹, G. Géri¹, H. Rostane¹, M. Lavollay¹⁻², S. Kerneis¹⁻², E. Carbonnelle¹⁻²
¹Hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris ²Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de médecine, Paris, France
- 348 **Subtyping of *Legionella pneumophila* for epidemiological investigations by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry.**
J. Jung², B. Grosse², K. Weinert², T. Maier¹, M. Kostrzewa¹, S. Schubert²
¹Bruker Daltonik GmbH, Bremen ²Institut Max Pettenkofer, Munich, Allemagne

Staphylocoques
Staphylococcus

- 349** *Staphylococcus aureus* ST398 sensibles à la méticilline : comparaison du patrimoine génétique d'isolats responsables de portage nasal et d'infections ostéo-articulaires sur prothèse.
G.G. Aubin^{3,2}, C. Lasserre^{3,2}, N. Caroff³, D. Lepelletier^{3,2}, A. Reynaud^{3,2}, J.P. Lavigne¹, S. Corvec^{3,2}
¹INSERM U1047, Université de Montpellier 1 ²Service de Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes ³EA3826, Faculté de Médecine de Nantes, Nantes, France
- 350** Analyse des bactériémies à *Staphylococcus* spp. dans un centre hospitalier général (CHG).
S. Nguyen^{1,2}, O. Oddoux¹, S. Dekeyser¹, E. Beclin¹, F. Dufosse¹, D. Descamps¹
¹CH Germon et Gauthier, Béthune ²CH Tourcoing, Tourcoing, France
- 351** Interest of Xpert MRSA/SA blood culture assay on the GeneXpert Dx system for the rapid detection of *Staphylococcus* and coagulase-negative staphylococci in patients with staphylococci bacteremia.
M. Biendo, H. Mammeri, E. Pluquet, H. Guillon, B. Canarelli, F. Rousseau, M. Belmekki, F. Eb
Laboratoire de Bactériologie, CHU, Amiens, France
- 352** Intérêt du système GeneXpert® dans la détection de *Staphylococcus aureus* dans le nez et au niveau des plaies du pied chez le diabétique.
C. Courtais³, J.L. Richard⁵, C. Carrière¹, N. Jourdan⁴, S. Schuldiner⁵, A. Sultan², A. Sotto⁶, J.P. Lavigne³
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Arnaud de Villeneuve ²Service de Diabétologie, CHU Lapeyronie, Montpellier ³Laboratoire de Bactériologie ⁴Service de Maladies Métaboliques et Endocriniennes ⁵Service des Maladies de la Nutrition et Diabétologie ⁶Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carêmeau, Nîmes, France
- 353** Évaluation de l'intérêt de la détection de la résistance à la méthicilline par PCR en temps réel (Xpert MRSA/SA-Cepheid®) dans les bactériémies à *S. aureus* (SA).
S. Dekeyser¹, D. Descamps¹, F. Dufosse¹, S. Nguyen^{1,2}
¹CH Germon et Gauthier, Béthune ²CH Tourcoing, Tourcoing, France
- 354** Développement d'un test ouvert de PCR quadruplex entièrement automatisé sur la plateforme BD MAX pour la détection simultanée des gènes *nuc*, *mecA*, *mecC* et de la leucocidine de Panton-Valentine à partir de souches de *Staphylococcus aureus*.
P.O. Verhoeven^{4,2}, F. Grattard^{4,2}, A. Carricajo^{4,2}, E. Perbet-Chenevier², M. Bes¹, F. Vandenesch¹, P. Berthelot^{4,2,3}, B. Pozzetto^{4,2}, F. Laurent¹
¹Centre National de Référence des staphylocoques, Laboratoires de bactériologie, Inserm U851, Hospices Civils de Lyon, Lyon ²Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène ³Service de maladies infectieuses et tropicales, CHU de Saint-Etienne ⁴GIMAP EA 3064 (Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes), Université de Lyon, Saint-Etienne, France
- 355** Épidémiologie moléculaire des souches de *Staphylococcus aureus* isolées des plaies du pied chez le diabétique en Algérie.
N. Djahmi^{5,1}, N. Messad⁵, J.L. Richard³, S. Nedjai¹, A. Moussaoui², D. Mazouz¹, A. Sotto⁵, J.P. Lavigne^{4,5}
¹Laboratoire de Microbiologie ²Service de Diabétologie, CHU Ibn Rochd, Annaba, Algérie ³Service des Maladies de la Nutrition et Diabétologie, Le Grau du Roi ⁴Laboratoire de Bactériologie, CHU Carêmeau ⁵U1047, INSERM, Nîmes, France
- 356** Émergence du clone de SARM communautaire producteur de la leucocidine de Panton-Valentine, ST93 ou Queensland clone, en France : épidémie dans un camp scout.
T. Nhan^{6,7,5}, C. Bouveyron^{6,7}, M. Bes^{6,7,5}, F. Laurent^{6,5}, L. Toko², G. Julienne¹, J.M. Thiolet⁸, S. Tessier⁴, C. Tillier⁴, J. Baverel³, B. Conscience³, J. Etienne^{6,7,5}, F. Vandenesch^{6,7,5}, A. Tristan^{6,7,5}
¹Laboratoire de Microbiologie ²Service des Maladies Infectieuses, CH Belfort-Montbéliard, Belfort ³ARS Franche-Comté, Besançon ⁴InVS, Cire Bourgogne Franche-Comté, Dijon ⁵BP21, INSERM U851 ⁶CNR des staphylocoques, Centre de Biologie et de Pathologie Est ⁷Laboratoire de Bactériologie, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Lyon ⁸Institut de veille sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France
- 357** *Staphylococcus aureus* et produits laitiers : analyse moléculaire des souches à potentiel infectieux pour l'homme.
A. Kwasiborski², M. Haenni¹, J.A. Hennekine², A. Brisabois², S.A. Granier²
¹Laboratoire de Lyon, Lyon ²Laboratoire de Sécurité des Aliments, Anses, Maisons-Alfort, France
- 358** Evaluation of the first and unique commercial molecular assay able to identify *Staphylococcus aureus* harboring the new *mecC* gene as well as the classical *mecA* gene in cultures and clinical materials.
J. Tasse^{2,1}, A. Sapin^{2,1}, M. Bes^{2,1}, A. Tristan^{2,1}, F. Vandenesch^{2,1}, F. Laurent^{2,1}
¹Centre National de Référence des Staphylocoques ²Laboratoires de Bactériologie, Centre de Biologie Nord et Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

- 359 Prévalence de la résistance à la mupirocine chez les staphylocoques à coagulase négative et les SARM responsables d'infections invasives en France : émergence nationale d'un clone de SARM hébergeant *mupA*.**
M. Desroches², J. Potier², A.S. Bourrel², F. Laurent³, F. Doucet-Populaire^{2,1}, J.W. Decousser², le Groupe Microbs
¹Faculté de Pharmacie, EA 4043, USC INRA, Université Paris-Sud, Chatenay Malabry ²Doctorants, Hôpital Antoine Bécclère (AP-HP), Clamart ³Université de Lyon, INSERM U, CNR des Staphylocoques, Lyon, France
- 360 Bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistants à la métilcilline et à staphylocoques à coagulase négative : épidémiologie nationale de la résistance aux antibiotiques en 2011-2012.**
M. Desroches^{3,2}, J. Potier³, F. Jehl⁶, R. Leclercq¹, G. Lina⁴, Y. Rio⁵, F. Vandenesch⁴, J.W. Decousser³, F. Doucet-Populaire^{3,2}
¹CHU, Caen ²EA4043, USC INRA, Université Paris Sud, Chatenay-Malabry ³Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Bécclère, Clamart ⁴CNR des Staphylocoques, Lyon ⁵CHR, Metz ⁶CHRU, Strasbourg, France
- 361 *Staphylococcus aureus* : déclin et retour à l'état sauvage en réanimation pédiatrique à Toulouse.**
M.F. Prère², L. Cavalié², J.F. Laran¹, N. Marty², C. Casper³, M.C. Bloom³
¹Laboratoire, Clinique du Pont de Chaume, Montauban ²Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Purpan ³Service de Réanimation, Hôpital des Enfants, Toulouse, France
- 362 Antibiotic resistance and toxin genes of *Staphylococcus aureus* Isolated from Moroccan hemodialysis patients.**
B. Oumokhtar², M. Elazhari¹, M. Timinouni¹, M. Mahmoud², T. Squalli H³
¹Laboratory of Medical and Molecular Bacteriology, Pasteur Institute, Casablanca ²Laboratory of Microbiology, Fez Medical School ³Nephrology Department, Hassan II University Hospital, Fez, Maroc
- 363 The MRSA issue in the Urals.**
L. Boronina, S.M. Samatova, E.V. Samatova, M.P. Kukushkina, S.S. Ustyugova
Laboratory diagnostics, Ural State Medical Academy, Yekaterinburg, Russie
- 364 Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* European clone ST80-IV as cause of healthcare-associated infection in the Annaba teaching hospitals (Eastern Algeria).**
M.A. Alioua^{3,1}, M. Dekhil², D. Gacemi-Kirane¹, M. Bertine³, A. Andremont³, R. Ruimy³
¹Faculté des sciences, Département de biochimie, Université Badji Mokhtar ²Service de microbiologie, CHU Ibn Rochd, Annaba, Algérie ³EA3964 Université Paris-Diderot, Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris, France
- 365 Virulence des *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca, Maroc.**
K. Faddane^{3,4}, K. Zeruali¹, A. Elmalki³, R. Saile², M. Timinouni³, M. Elazhari³
¹Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Hassan II ²Faculté des Sciences Ben M'sik, Université Hassan II. ³Bactériologie médicale, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca ⁴Biologie, FST Settat, Université Hassan I, Settat, Maroc
- 366 Portage nasal de *Staphylococcus aureus* : prévalence, étude de la résistance aux antibiotiques et de la virulence chez les patients et le personnel de quatre centres d'hémodialyse de Fès.**
I. Diawara², K. Bekhti², M. Mustapha³, M. Timinouni¹, M. Elazhari¹
¹Bactériologie médicale, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca ²Faculté des sciences et techniques de Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdellah ³Laboratoire de bactériologie, Centre Hospitalier Universitaire Hassan II, Fès, Maroc
- 367 Sensibilité aux antibiotiques du *Staphylococcus aureus* communautaire à Casablanca (Maroc) : prévalence et caractérisation des souches résistantes à la métilcilline.**
K. Faddane^{3,4}, N. Dersi³, K. Zeruali¹, R. Saile², M. Timinouni³, M. Elazhari³
¹Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Hassan II ²Faculté des Sciences Ben M'sik, Université Hassan II ³Bactériologie médicale, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca ⁴Faculté des sciences et techniques de Settat, Université Hassan I, Settat, Maroc
- 368 Étude phénotypique de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées au CHU de Yopougon, Abidjan.**
P. Monemo¹, C. Akoua-Koffi², S. Meité¹, C. Boni-Cissé¹, C. Yao¹, D. Zika¹, H. Faye-Ketté¹, M. Dosso¹
¹Laboratoire Bactériologie-Virologie, CHU de Yopougon ²UFR Sciences Médicales de Bouaké / CHU de Bouaké, Abidjan, Côte d'Ivoire
- 369 Infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* porteurs du gène codant la leucocidine de Panton-Valentine au CHU Sahloul Sousse Tunisie.**
C. Chaouch, O. Bouallegue, L. Tilouch, H. Mansour, J. Sahloul, N. Boujaafar
Laboratoire de bactériologie-virologie, CHU Sahloul Sousse, Monastir, Tunisie
- 370 Y a-t-il une corrélation entre le type de staphylocoque et le patient ?**
A. Berriche, R. Abdelmalek, B. Kilani, A. Ghoubantini, L. Ammari, F. Kanoun, H. Tiouiri Benaissa
Service des maladies infectieuses, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie, Société tunisienne de pathologies infectieuses (STPI), La Marsa, Tunisie

- 371 **In vitro bactericidal activity of KPI-10, a next generation fluoroquinolone (FQ), against FQ-susceptible (FQ-S) and FQ-resistant (FQ-R) Gram-negative and Gram-positive isolates.**
C. Jacqueline², C. Desessard¹, M. Davieau², A.F. Miègeville², G. Potel², J. Caillon²
¹Atlangram ²UFR de Médecine, UPRES EA 3826, Nantes, France
- 372 **Étude d'un système d'inoculation standardisé et d'un milieu de culture rapide pour l'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*.**
D. Leyssene¹, S. Diaz³, P. Carretero³, C. Curel³, A.C. Jaouen¹, J.C. Ghnassia²
¹Laboratoire centre hospitalier Côte Basque, Bayonne ²Laboratoire centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay ³Intelligence artificielle application, i2a, Pérols, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

77A

Tuberculose
Tuberculosis

- 373 **Émergence en France de souches de *Mycobacterium tuberculosis* présentant des discordances entre les résultats génotypiques et phénotypiques de la résistance à la rifampicine.**
F. Breysse⁴, V. Jacomo³, V. Avrillon², E. Martin⁴, F. Ader¹, G. Lina⁴, M. Chomar⁴
¹Service des Maladies Infectieuses, CHU Lyon-Nord ²Service de Pneumologie, CHU Lyon-Sud ³Laboratoire Biomnis, Lyon ⁴Laboratoire de Microbiologie, CHU Lyon-Sud, Pierre-Bénite, France
- 374 **Étude de la résistance acquise à la clarithromycine chez des mutants de *Mycobacterium abscessus*.**
F. Mougari²⁻³⁻⁴, F. Crockett³, F. Chau³, L. Raskine²⁻⁴, F. Bouziane¹, N. Veziris², E. Cambau²⁻³⁻⁴
¹Université des sciences et de la technologie Houari Boumadienne, Alger, Algérie ²Centre National de Référence des Mycobactéries et Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux (CNR-MyRMA) ³EA 3964, Faculté Diderot-Paris7 ⁴Service de Bactériologie-Virologie, Groupe Hospitalier Lariboisière-Fernand Widal, AP-HP, Paris, France
- 375 **Tuberculose en Afrique de l'Est : prévalence élevée des souches multirésistantes à Djibouti.**
G. Boyer-Cazajous², C. Dehan², M. Osman Hassan¹, M.C. Chenilleau-Vidal², C. Martinaud³, C. Solers³
¹Centre anti-tuberculeux Paul Faure ²HMC Bouffard, Djibouti ³HIA Percy, Clamart, France
- 376 **Intérêt de la prescription ciblée pour le diagnostic moléculaire de la tuberculose et la détection de la multirésistance par le test GeneXpert MTB-RIF.**
C. Verdet, J. Cadranel, F.X. Lescure, G. Arlet
Hôpital Tenon, Paris, France
- 377 **MIRU-VNTR genotyping of human *Mycobacterium bovis* strains in Tunisia.**
A. Ghariani², E. Mehiri², S. Sanakli², H. Draoui², L. Essalah², F. Messadi-Akrout¹, N.L. Slim-Saidi²
¹Microbiology Laboratory, Hédi Chaker Hospital, Sfax ²Hôpital de Pneumologie Abderahman Mami Ariana, Tunis, Tunisie
- 378 **Genetic diversity and population structure of *Mycobacterium marinum*: new insights into host and environmental specificities.**
V. Broutin⁶⁻⁸⁻¹⁰, A.L. Bañuls¹⁰, A. Aubry¹², N. Keck⁹, M. Choisy¹⁰, J.F. Bernardet³, C. Michel³, J.C. Raymond¹³, C. Libert¹¹, A. Barnaud⁴, P. Stragier¹, F. Portaels¹, D. Terru⁶, C. Bellon⁶⁻⁸, O. Dereure⁷, C. Guttierrez¹⁴, M.L. Boschirolì², P. Van De Perre⁶⁻⁸, E. Cambau¹², S. Godreuil⁶⁻⁸
¹Mycobacteriology Unit, Institute of Tropical Medicine Nationalestraat, Antwerpen, Belgique ²Anses, Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort, Unité des Zoonoses Bactériennes, maisons-alfort ³Unité de virologie et immunologie moléculaires, Institut National de la Recherche Agronomique, Jouy-en-josas ⁴Le Gouessant Aquaculture, Lamballe ⁵Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Département de Bactériologie-Virologie ⁶Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Département de Bactériologie-Virologie ⁷Department of Dermatology, Hôpital Saint-Eloi ⁸INSERM U1058 "Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention" ⁹Laboratoire Départemental Vétérinaire de l'Hérault ¹⁰MIVEGEC, UMR IRD 224-CNRS 5290-Universités Montpellier 1 et 2, Centre IRD ¹¹Parc zoologique Darwin, Montpellier ¹²Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance aux Antituberculeux ¹³Comité National des Pêches Maritimes et des Elevages Marins (CNPMEM), Paris, France ¹⁴Find, Geneva, Suisse
- 379 **Difficulté d'identification des mycobactéries du groupe *M. abscessus*.**
F. Brossier, W. Sougakoff, C. Bernard, V. Jarlier, N. Veziris
CNR des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux, Groupe Hospitalier Universitaire Pitié-Salpêtrière-Charles-Foix, Paris, France

- 380** **Détection moléculaire de la résistance des mycobactéries du complexe *tuberculosis* à la rifampicine sur prélèvements respiratoires négatifs à l'examen microscopique (EM-) : comparaison des trousses MTBDR plus version 2 et XPERT MTB/RIF.**
S. Trombert-Paolantoni¹, I. Gros², P. Figarella¹
¹Microbiologie, Laboratoire Cerba, Cergy-Pontoise ²Microbiologie, CHG Delafontaine, Saint-Denis, France
- 381** **Evaluation of a new database for identification of mycobacteria by MALDI-TOF MS.**
A.B. Pranada², M. Timke¹, E. Witt², M. Kostrzewa¹
¹Bruker Daltonik GmbH, Bremen ²MVZ Dr Eberhard and Partner, Dortmund, Allemagne
- 382** **Le test QuantiFERON® : une zone d'incertitude est-elle justifiée pour l'interprétation des résultats ?**
A. Nzeumi Fanmi², L. Garnier², L. Denis², P. Rouzairé²⁻¹, F. Bienvenu², J. Bienvenu²⁻¹
¹Inserm U851 IFR128, Immunité Infection Vaccination, Lyon ²Laboratoire d'immunologie, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Pierre Bénite, France
- 383** **Décroissance de la méningite tuberculeuse à culture positive en France de 1990 à 2007.**
T.V. Bui¹, V. Meyssonier¹, D. Che², D. Antoine², V. Jarlier¹, J. Robert¹
¹Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux (CNR-MyRMA), Paris ²Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France
- 384** **La méningite tuberculeuse à culture positive en France chez les enfants de moins de 5 ans entre 2000 et 2010.**
T.V. Bui¹, V. Meyssonier¹, D. Che², D. Antoine², V. Jarlier¹, J. Robert¹
¹Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux (CNR-MyRMA), Paris ²Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France
- 385** **Tuberculose ostéoarticulaire : revue de cas, 2000-2011.**
A. Guillouzoic², D. Boutoille³, P. Lanotte⁴, G. Héry-Arnaud¹, A. Reynaud², P. Bémer²
¹Service de Bactériologie-Hygiène, CHU de Brest, Brest ²Service de Bactériologie-Hygiène, CHU Nantes ³Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU de Nantes, Nantes ⁴Service de Bactériologie-Hygiène, CHRU de Tours, Tours, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

78A

Automates
Robots

- 386** **Évaluation du milieu de transport Copan SL solution combiné avec le système automatisé Innova (BD) pour l'ensemencement et l'isolement de pathogènes des échantillons respiratoires.**
A. Strens, A. Simon, H. Rodriguez-Villalobos
 Service de Microbiologie, Cliniques Universitaires Saint-Luc (UCL), Bruxelles, Belgique
- 387** **Screening des échantillons d'urines par le cytomètre de flux UF500i : peut-on se permettre de ne pas ensemer ?**
A. Bousquet, F. Janvier, H. Delacour, S. Larréché, R. Abi, A. Mérens
 HIA Bégin, Saint-Mandé, France
- 388** **Performance de la CMI à l'ertapénème sur les plaques Siemens MicroScan® Combo (NUC 57) comme alerte pour la suspicion de la production de carbapénèmases chez *Klebsiella pneumoniae* BLSE et OXA 48 lors d'une épidémie.**
A. Raoult², D. Sansot³, G. Imbert³, M.H. Roy¹, P. Rallo¹, P. Bru¹
¹Centre Hélio Marin ²Hôpital Marie José Treffot, Hyères ³Laboratoire CHITS, Toulon, France
- 389** **Risque de contaminations croisées et contrôles microscopiques : que peut-on espérer du Sysmex UF 1000i ?**
T. Gueudet, V. Cocquerelle, C. Rieder, J.M. Rousée
 LBM Schuh BIO67, Strasbourg, France
- 390** **Évaluation de l'automate de cytologie urinaire URISED.**
E. Chanard, B. Mallet
 Laboratoire du Parc, Lyon, France
- 391** **Validation de la mise en culture des expectorations sur le WASP® dans un laboratoire de microbiologie accrédité ISO 15189.**
 D. Fage, S. Lali, B. Marchetti, D. Govaerts
 Microbiologie, CHU de Charleroi, Montigny Le Tilleuil, Belgique

- 392 Prévalence des non conformités des hémocultures : impact des procédures de communication.**
P. Guiet, C. Hervé, M.E. Diop, A. Delbreuve, M. Ruellé, J. Raynal, M. Chevrier, V. Gervaise
CH Sens, Sens, France
- 393 Étude médico-économique pour la mise en place d'une plateforme de diagnostic moléculaire d'urgence des maladies infectieuses au CHU de Grenoble.**
V. Sutura², C. Recule², C. Morel-Baccard³, M.R. Mallaret⁵, P. Pavese⁴, J.P. Brion⁴, J. Fauconnier¹, I. Pelloux², J. Croizé², C. Casado⁶, M. Maurin²
¹Département de l'Information Médicale (DIM) ²Laboratoire de Bactériologie ³Laboratoire de Virologie ⁴Service de Médecine Infectieuse ⁵Unité d'Hygiène Hospitalière et Gestion des Risques (UMAGRIS), CHU de Grenoble, Grenoble ⁶Cepheid, Toulouse, France
- 394 Évaluation de la technique rep-PCR semi-automatisée Diversilab pour le typage de souches de *Pseudomonas aeruginosa* responsables de pneumonie acquise sous ventilation mécanique en réanimation.**
M. Micaelo¹, A. Aubry¹, C.E. Luyt³, Q. Lu², J. Chastre³, J.L. Trouillet³, A. Combes³, J.J. Rouby², V. Jarlier¹, F. Brossier¹
¹Laboratoire de Bactériologie-Hygiène ²Service d'anesthésie-réanimation ³Service de réanimation médicale, Groupe Hospitalier Universitaire Pitié-Salpêtrière-Charles-Foix, Paris, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

79A

C. difficile
C. difficile

- 395 Detection of toxigenic *Clostridium difficile* : comparison of C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE (Techlab) and Xpert C. difficile on GeneXpert Dx System (Cepheid).**
M. Biendo, H. Mammeri, E. Pluquet, H. Guillon, M. Belmekki, B. Canarelli, F. Rousseau, F. Eb
Bactériologie, CHU d'Amiens, Amiens, France
- 396 Détection du *Clostridium difficile* toxigène : rapidité et efficacité, 2 termes compatibles en 2012.**
C. Rolin, C. de Leeuw, P. Vankerkhoven, A. Grimmelprez, P. Schatt
Laboratoire de microbiologie, Clinique Notre-Dame de Grâce, Gosselies, Belgique
- 397 Sensibilité du codage CIM-10 pour le diagnostic des infections à *Clostridium difficile* : une étude multicentrique.**
F. Barbut⁷, B. Coignard⁹, L. Cavalié¹⁰, D. Petiot¹⁰, L. Landraud⁵, Y. Gendreike⁵, F. Girard-Pipau⁵, H. Jean Pierre³, M. Lehmann³, A. le Monnier¹¹, B. Jourdan¹¹, G. Birgand⁶, J.C. Buzzi⁶, L. Souply¹, G. Frey¹, N. Khanafar², A. Bestion², F. Mory⁴, H. Tronel⁴, L. Lemée⁸, L. Froment⁸, C. Eckert⁷, H. Marchandin³
¹Hôpitaux Civils de Colmar, Colmar ²CHU Edouard Herriot, Lyon ³CHU Montpellier, Montpellier ⁴CHU Nancy, Nancy ⁵CHU Nice, Nice ⁶CHU Bichat-Claude Bernard ⁷PH, Hôpital Saint-Antoine, Paris ⁸CHU Rouen, Rouen ⁹Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice ¹⁰CHU Toulouse, Toulouse ¹¹CHG Versailles, Versailles, France
- 398 Evaluation of a new glutamate dehydrogenase detection system and its implementation in a two-step algorithm for the diagnosis of *Clostridium difficile* infections.**
J. Van Broeck, E.R. Icyza, E. Ngyuvula Mantu, M. Delmée
Microbiologie, Cliniques Universitaires Saint-Luc / UCL, Bruxelles, Belgique
- 399 Évaluation des performances du Vidas[®] C. difficile GDH et du C. diff Quik Chek Complete[®] en comparaison avec la culture de *Clostridium difficile*.**
C. Eckert¹⁻³, O. Said², N. Pocard², C. Rambaud¹⁻³, B. Burghoffer¹⁻³, V. Lalande²⁻³, F. Barbut¹⁻³
¹Laboratoire associé « *Clostridium difficile* », Hôpital Saint-Antoine, AP-HP ²Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP ³UPMC Université Paris 06, GRC n°2, Epidiff, Paris, France
- 400 Nouvelles méthodes et algorithmes diagnostiques des infections à *Clostridium difficile* : recherche d'antigène, détection des toxines par PCR et culture.**
C. Rousseau¹⁻², M. Salmona¹, T. Chelala¹, P. Cruaud¹, I. Poilane¹, A. Collignon¹⁻²
¹Microbiologie, Hôpital Jean-Verdier AP-HP, Bondy ²EA4043 Faculté de Pharmacie Université Paris Sud 11, Châtenay-Malabry, France
- 401 Première évaluation prospective du milieu chromogénique ChromID[®] *Clostridium difficile* (BioMérieux) pour l'isolement et l'identification des *C. difficile*.**
C. Pralong², B. Falquet¹, P.H. Boyer¹, C. Sobas², M. Reverdy¹, S. Tigaud², F. Vandenesch¹⁻³⁻⁴, A.M. Freydiere¹, O. Dauwalder¹⁻³⁻⁴, F. Laurent¹⁻²⁻⁴
¹Laboratoire de Bactériologie, Hospices Civils de Lyon - Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron ²Laboratoire de Bactériologie, Hospices Civils de Lyon - Centre de Biologie et de Pathologie Nord ³INSERM U851, IFR128 ⁴Centre National de Référence des Staphylocoques, Université Lyon 1, Lyon, France

- 402** **Évaluation d'un nouveau test d'amplification FOCUS Simplexa® C. difficile Universal Direct dans le diagnostic des infections à Clostridium difficile (ICD).**
V. Lalande¹⁻²⁻³, L. Barrault¹, C. Eckert²⁻³, F. Barbut¹⁻²⁻³
¹Bactériologie, Hôpital Saint-Antoine ²Laboratoire « Clostridium difficile » associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme ³UPMC, Université Paris 06, GRC n°2, Epidiff, Paris, France
- 403** **Une année de diagnostic des infections à Clostridium difficile en milieu hospitalier selon un algorithme en deux temps.**
V. Lalande¹, G. Denizaut¹, L. Surgers¹, C. Jost¹, F. Barbut¹⁻²⁻³
¹Bactériologie, Hôpital Saint-Antoine ²Laboratoire « Clostridium difficile » associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme ³UPMC, Université Paris 06, GRC n°2, Epidiff, Paris, France
- 404** **Évaluation des performances de quatre tests moléculaires de détection des Clostridium difficile producteurs de toxines A et/ou B dans 174 selles.**
P.H. Boyer¹, C. Pralong², B. Falquet¹, Y. Benito¹, H. Salord², S. Tigaud², F. Vandenesch¹⁻³⁻⁴, A.M. Freydiere¹, O. Dauwalder¹⁻³⁻⁴, F. Laurent²⁻³⁻⁴
¹Laboratoire de Bactériologie, Hospices Civils de Lyon - Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron ²Laboratoire de Bactériologie, Hospices Civils de Lyon - Centre de Biologie et de Pathologie Nord ³INSERM U851, IFR128 ⁴Centre National de Référence des Staphylocoques, Université Lyon 1, Lyon, France
- 405** **Évaluation du nouveau test moléculaire automatisé BD MAX Cdiff marqué CE-IVD pour la recherche de Clostridium difficile toxigénique possédant le gène tcdB directement à partir d'échantillons cliniques de selles.**
P.O. Verhoeven³⁻¹, A. Carricajo³⁻¹, S. Pillet³⁻¹, A. Ros¹, N. Fonsale¹, E. Botelho-Nevers³⁻², F. Lucht³⁻², P. Berthelot³⁻¹⁻², B. Pozzetto³⁻¹, F. Grattard³⁻¹
¹Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène ²Service de maladies infectieuses et tropicales, CHU de Saint-Etienne ³GIMAP EA 3064 (Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes), Université de Lyon, Saint-Etienne, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

80A

Utilisation des antibiotiques
Antibiotic use

- 406** **Évaluation des pratiques d'antibioprophylaxie pour l'activité programmée de chirurgie orthopédique à l'hôpital Lariboisière (AP-HP).**
M. Colomb², A. Dozol², C. Segouin², A.C. Hellmann², C. Rabuel¹, C. Paoletti¹
¹Département d'anesthésie et réanimation ²Service de Santé Publique et Économie de la Santé, Hôpital Lariboisière-F. Vidal, AP-HP, Paris, France
- 407** **Évolution des pratiques d'antibioprophylaxie chirurgicale (ABP) à l'hôpital Saint-Louis : éternelle problématique du moment d'injection, quelles solutions ?**
T. Flais¹, M. Lafaurie, F. Bonnet, O. Marie, B. Eurin, S. Touratier
¹Pharmacie ²Hôpital Saint-Louis, Paris, France
- 408** **Analyse du bon usage des glycopeptides dans un centre hospitalier général.**
M. Philippe², B. Leroy², M. Bourdelin², S. Coursier², H. Bontemps², G. David¹
¹Service de médecine interne ²Service pharmacie, Hôpital Nord-Ouest, Villefranche sur Saône, France
- 409** **Utilisation du linézolide au sein d'un CHU : analyse de 120 prescriptions.**
R. Buzelé¹, X. Pourrat³, D. Garot⁵, G. Gras¹, P. Rosset², F. Lagarrigue⁴, L. Bernard¹
¹Médecine Interne et Maladies Infectieuses ²Chirurgie Orthopédique ³Pharmacie hospitalière CHRU ⁴Réanimation chirurgicale ⁵Réanimation Médicale, Tours, France
- 410** **Place de la colistine dans la prise en charge des infections à bactéries multi-résistantes.**
I. Tounsi², M. Khrouf²⁻¹, M. Guerfali²
¹Département de Pharmacologie, Faculté de Pharmacie, Monastir ²Service de Pharmacie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie
- 411** **Recueil des consommations antibiotiques en établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) : résultat d'un premier état des lieux.**
A. Marquet¹, F. Ollivier¹, S. Thibaut¹, J. Caillon², F. Ballereau¹⁻²
¹MedQual, CHU Nantes ²EA3826, UFR Médecine, Nantes, France

- 412 Consommation antibiotiques et densité d'incidence BMR.**
H. Senechal, N. Garreau, M. Perennec, P. Angora, P. Jarno, M. Aupee
C.Clin Ouest, Rennes, France
- 413 Bon usage des anti-infectieux (AI) : évolution de 2 ans d'interventions pharmaceutiques (IP) au Centre Hospitalier de Seclin.**
J. Lemtiri², M. Ségard², A. Descamps², M. Delvallée¹, M. Dubus², B. Luyssaert²
¹Infectiologie ²Pharmacie, Centre Hospitalier, Seclin, France
- 414 Interventions pharmaceutiques (IP) en infectiologie : où en est-on en 2012 ?**
J. Lemtiri², A. Descamps², M. Ségard², M. Delvallée¹, M. Dubus², B. Luyssaert²
¹Infectiologie ²Pharmacie, Centre Hospitalier, Seclin, France
- 415 Intérêt d'un outil informatique d'évaluation de la prescription antibiotique.**
F. Bouchand¹, A. Dinh²⁻¹, A.L. Roux¹, F. El Sayed¹, C. Lawrence¹, M. Villart¹, J.L. Herrmann¹, A.C. Crémieux¹
¹CHU R. Poincaré ²SPILF, Garches, France
- 416 Réévaluation de l'antibiothérapie avant la 72^e heure : quelles traces dans les dossiers ? Une enquête régionale.**
M. Lucas¹, J.M. Germain¹, F. Delahaye³, M. Etienne³, B. Gardrat³, V. Lehmann³, S. Leprêtre³, I. Quatresous³, S. Robaday-Voisin³, I. Tirez³, F. Caron³, P. Savary³, V. Merle², J. Doucet³, E. Remy³
¹Antenne Régionale de Lutte contre les Infections Nosocomiales de Haute-Normandie ²Département d'Epidémiologie et de Santé Publique, CHU-Hôpitaux de Rouen ³Groupe de travail anti-infectieux - Observatoire des Médicaments, des Dispositifs médicaux et des Innovations Thérapeutiques de Haute-Normandie, Rouen, France
- 417 Augmentation de la consommation de céphalosporines dans un service d'urgence : une étude sur 10 ans.**
E. Montassier, S. Corvec, D. Navas, N. Goffinet, G. Potel, E. Batard
EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Nantes, France
- 418 EPIPA, analyse de la prescription des antibiotiques dans 334 EHPAD du Sud-Est de la France.**
O. Baud², N. Armand⁹, G. Gavazzi³, I. Attali¹⁰, C. Bernet⁸, F. Bertin-Hugault¹¹, M. Besson², M. Bonnand¹⁰, E. Boudot⁵, J.C. Delarozziere⁴, N. Khouider⁷, A. Lory⁴, C. Murlan⁶, M. Patissier¹, C. Payet⁶, B. Richaud-Morel⁵, A. Savy⁷, A. Vincent⁷
¹EHPAD Michel Lamy, Anse ²Arlin, Clermont-Ferrand ³CHU, Grenoble ⁴Arlin, Marseille ⁵Arlin, Montpellier ⁶Arlin, Saint-Denis de la Réunion ⁷Arlin ⁸CCLIN Sud-Est, Saint-Genis Laval ⁹Centre Hospitalier de Valence, Valence ¹⁰EHPAD Les Althéas groupe ACCPA, Vaulx en Velin ¹¹Hôpital des Charpennes, Villeurbanne, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

81A

Evaluation des pratiques professionnelles
Assessing professional practices

- 419 Étude des prescriptions de carbapénèmes dans un centre hospitalier général.**
L. Billon², M. Ségard², P. Drancourt², C. Laffont², S. Nguyen¹
¹Infectiologie ²Service Pharmacie, CH Béthune, Béthune, France
- 420 Évaluation des pratiques professionnelles (EPP) : pertinence des prescriptions d'aminosides.**
M. Ségard², J. Lemtiri-Florek², S. Join², A. Descamps², M. Delvallée¹, M. Dubus², B. Luyssaert²
¹Infectiologie ²Pharmacie, CH Seclin, Seclin, France
- 421 Évaluation de la prescription en anti-infectieux (AI) dans les services de chirurgie et de réanimation : enquête de prévalence.**
J. Lemtiri², M. Ségard², M. Delvallée¹, A. Descamps², M. Dubus², B. Luyssaert²
¹Infectiologie ²Pharmacie, Centre Hospitalier, Seclin, France
- 422 ECBU réalisés en laboratoire de ville : évaluation des pratiques et impact sur le bon usage des antibiotiques.**
A. de Pontfarcy¹, G. Defrance¹, F. Raghu⁴, K. Jidar², C. Vinsonneau², R. Gauzit³, S. Diamantis²
¹Laboratoire Biofuture, Guigne ²Hôpital Marc Jacquet, Melun ³ARS ⁴DMG Paris 7, Paris, France
- 423 Prescriptions inadaptées et excessives d'antibiotiques en gynécologie obstétrique : enquête transversale.**
M. Poppard, I. Gros, M.A. Khuong-Josses, A. Marmorat-Khuong, R. Gervais, C. Chaplain
Service de Maladies Infectieuses, Hôpital Delafontaine, Saint-Denis, France

- 424 Évaluation des pratiques professionnelles (EPP) : évolution de la pertinence des prescriptions de fluoroquinolones en 2010 et 2011.**
S. Join², M. Ségard², J. Lemtiri², A. Descamps², M. Dubus²⁻¹, T. Galpérine¹, A. Trébuchet¹, B. Luyssaert²⁻¹
¹Centre Hospitalier, Commission des Anti-infectieux ²Centre Hospitalier, Service Pharmacie, Seclin, France
- 425 Évaluation des pratiques professionnelles (EPP) : antibioprophylaxie (ABP) chirurgicale.**
J. Lemtiri², M. Delvallée¹, M. Ségard², A. Descamps², M. Dubus², B. Luyssaert²
¹Infectiologie ²Pharmacie, Centre Hospitalier, Seclin, France
- 426 Évaluation de la pertinence de prescription du linézolide dans un centre hospitalier.**
Z. Benchikh¹, H. El Khaili³, L. Flandrin², S. Samaille²
¹Laboratoire de biologie médicale ²Service de pharmacie ³Service d'hygiène hospitalière, Centre hospitalier de la région de Saint-Omer, Helfaut, France
- 427 Analyse des bactériémies dans un CH général : impact du suivi prospectif par un référent en antibiothérapie (ATB) sur la mortalité.**
S. Nguyen¹⁻², M. Valette², F. Dufossez¹
¹CH Germon et Gauthier, Béthune ²CH Tourcoing, Tourcoing, France
- 428 Évaluation pharmaco-économique de l'utilisation d'un générique de l'imipénème (Bacure[®]) dans la prise en charge des infections nosocomiales : expérience du SMIT (CHU de Treichville, Abidjan, Côte d'Ivoire).**
A. Akoubet¹⁻², M. Amichia⁴⁻², E. Adouko¹, C. Mossou²⁻³, S. Eholié²⁻³, E. Bissagnéné²⁻³
¹Pharmacie Centrale ²Service des maladies infectieuses et Tropicales, CHU de Treichville ³Département de maladies infectieuses et de dermatologie ⁴Pharmacologie, Université de Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

82A

VIH
HIV

- 429 Les patients sous traitement ARV au Burkina Faso : analyse de la cohorte de l'année 2010 des patients sous traitement ARV.**
I. Zabsonre, R. Cazal Gamelsi, M.J. Sanou
Ministère de la santé, Ouagadougou, Burkina Faso
- 430 Dépistage tardif de l'infection VIH en Algérie : facteurs déterminants et conséquences.**
M. Rais, A. Ouyahia, W. Guenifi, A. Gasmi, S. Mechakra, H. Boukhrissa, A. Lacheheb
Maladies Infectieuses, Sétif, Algérie
- 431 Les tendances évolutives de la mortalité due à l'infection par le VIH dans l'ouest algérien.**
N. Mouffok, A. Kouiad Belkadi, S. Abidi, F. Razik, A. Benabdellah
Maladies infectieuses, Centre de référence IST/VIH/SIDA, Centre Hospitalier Universitaire d'Oran, Oran, Algérie
- 432 Évolution à court et moyen terme des enfants infectés par le VIH en Algérie.**
N. Mouffok, S. Abidi, A. Belkadi Kouiad, A. Benabdellah
Maladies infectieuses, CHU Oran, Oran, Algérie
- 433 Troubles neurologiques associés au SIDA à Oran.**
N. Mouffok, F.O. Zaoui, F. Oudrar, A. Benabdellah
AHU, Centre Hospitalier Universitaire d'Oran, Oran, Algérie
- 434 Tuberculose et VIH : à propos de 87 cas.**
F. Aissat, K. Aknouche, F. Lamara Mohamed, S. Khaled, A. Amrane
Maladies infectieuses, Établissement Hospitalier Spécialisé, Alger, Algérie
- 435 La tuberculose au cours du syndrome inflammatoire de reconstitution immunitaire IRIS dans sa formes infectieuses : à propos de trois cas.**
M. Labdouni¹, A. Benabdellah¹⁻², O.F. Zoui¹⁻²
¹Maladies infectieuses et tropicales ²Centre hospitalier universitaire, Service des maladies infectieuses et parasitaires, Oran, Algérie

- 436** **Prise en charge hospitalière et libérale de l'infection par le VIH : analyse des données de la CPAM.**
C. Hassen-Khodja³, G. Gras², L. Grammatico-Guillon³, C. Dupuy⁴, J.F. Gomez⁴, L. Freslon⁴, L. Bernard², J.F. Dailloux¹, A. Soufflet¹
¹Réseau Ville-Hôpital (RVH 37) ²Service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses, CHRU Tours, université François Rabelais ³Service d'Information Médicale et d'Economie de la Santé (SIMEES), CHRU Tours, université François Rabelais ⁴Service médical de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie (CPAM 37), Tours, France
- 437** **Profil des patients découverts séropositifs au VIH en 2011 en Savoie.**
D. Boisseau, C. Matz, C. Gaudin, E. Forestier, O. Rogeaux
Centre hospitalier, Chambéry, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

83A

Histo-microbiologie
Histo-microbiology

- 438** **Impact de l'internalisation de *Staphylococcus aureus* sur la différenciation ostéoclastique.**
S. Trouillet¹⁻², M. Gallet³, P. Nauroy³, J.P. Rasigade¹⁻², P. Jurdic³, F. Laurent¹⁻²
¹Laboratoire de Bactériologie, HCL ²Pathogénie bactérienne et immunité innée, INSERM U851 ³École Normale Supérieure de Lyon, Institut de Génomique Fonctionnelle de Lyon, Lyon, France
- 439** **Rôle de la protéine IQGAP1 dans l'infection à *Helicobacter pylori* et dans l'adénocarcinome gastrique.**
E. Bessède¹⁻², M. Tsuchiya¹⁻², L. Chambonnier¹⁻², P. Dubus³, A. Buissonnière¹⁻², A. Giese³, F. Mégraud¹⁻², C. Varon¹⁻²
¹INSERM, U853 ²Laboratoire de Bactériologie ³Laboratoire Histologie et Pathologie Moléculaire des Tumeurs, Université de Bordeaux, Bordeaux, France
- 440** **La transition « épithélio-mésenchymateuse » induite par *Helicobacter pylori* génère des cellules présentant des propriétés des cellules souches cancéreuses.**
E. Bessède³⁻¹⁻², C. Staedel⁴, L. Chambonnier³⁻¹, F. Mégraud³⁻¹⁻², C. Varon³⁻¹
¹INSERM, U853 ²CHU Pellegrin, Laboratoire de Bactériologie ³Laboratoire de Bactériologie ⁴Laboratoire RNA: Natural and Artificial Regulation (ARNA), Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
- 441** **Modèle de lymphomagenèse gastrique chez la souris BALB/c thymectomisée à trois jours de vie et infectée par la bactérie *Helicobacter pylori*.**
A. Hocès De La Guardia⁴, P. Dubus³, L. Chambonnier⁴, D. Crisment⁴, P. Costet⁵, B. Rousseau⁵, F. Mégraud⁴⁻¹⁻², P. Lehours⁴⁻¹⁻²
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Pellegrin ²CNR des Campylobacters et des Hélicobacters ³EA2406 ⁴INSERM U853 ⁵Animaleries A1 et A2, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France
- 442** **Étude du rôle de la gamma-glutamyl transpeptidase de *Campylobacter jejuni* sur l'apoptose des cellules épithéliales et la prolifération lymphocytaire.**
P. Floch³, A. Hocès De La Guardia³, F. Mégraud³⁻²⁻¹, P. Lehours³⁻²⁻¹
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Pellegrin ²CNR des Campylobacters et des Hélicobacters ³Université Bordeaux Segalen, INSERM U853, Bordeaux, France
- 443** **Identification of 5' terminally deleted enterovirus species B in cardiomyocytes of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy.**
N. Lévêque⁴⁻², F. Renois⁴⁻², Y. N'guyen⁴⁻², A. Bouin⁴⁻², F. Lesaffre⁵⁻², C. Fichel³⁻², C. Boulagnon³, P. Bruneval¹, P. Fornès³⁻², L. Andréoletti⁴⁻²
¹Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris ²EA-4684 Cardiovir, SFR-CAP santé, Faculté de médecine ³Laboratoire d'anatomopathologie ⁴Laboratoire de virologie ⁵Service de Cardiologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims, Reims, France

Infections diverses
Other infections

- 444** **Connaissances, attitudes et pratiques des médecins généralistes de Franche-Comté concernant le risque rabique.**
R. Jeanpetit², A.P. Bellanger¹, L. Millon¹, P. Marguet²
¹Parasitologie-Mycologie, CHU de Besançon, Besançon ²Urgences Médicales, Centre Hospitalier Régional, Pontarlier, France
- 445** **La rage humaine en Tunisie : on en est où en 2012 ?**
H. Harrabi², S. Samet², A. Essid², E. Turki¹, M. Ouertani²
¹Service de Médecine Légale, Hôpital des Aghlabites ²Service de Médecine, Hôpital Ebn Eljazzar, Kairouan, Tunisie
- 446** **Impact de deux interventions d'information en maternité sur la couverture vaccinale coqueluche des parents.**
D. Pinquier⁵, M. Valdiguié⁶, G. Cardoso⁵, S. Roudaut², N. Mestre⁵, G. Gremmo Feger², J.F. Ferlet³, E. Caulin⁴, A. Gagneur¹
¹CHUS Fleurimont, Sherbrooke, Canada ²CHU Morvan, Brest ³RCTs ⁴Sanofi Pasteur MSD, Lyon ⁵Hôpital Charles Nicolle, Rouen ⁶Clinique Ambroise Paré, Toulouse, France
- 447** **Évaluation de la couverture vaccinale diphtérie, tétanos, poliomyélite et coqueluche des adultes dans le département du Rhône.**
D. Baratin³, C. Del Signore¹, J. Thierry², E. Caulin⁴, P. Vanhems³⁻¹
¹Équipe d'Épidémiologie et de Santé Publique, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, UMR CNRS 5558, Université Claude Bernard Lyon 1 ²Groupement de laboratoires d'analyses médicales DYOMEDEA ³Hospices Civils de Lyon ⁴Sanofi Pasteur MSD, Lyon, France
- 448** **La pneumonie varicelleuse de l'adulte : facteurs de pronostic.**
L. Ammari, S. Aissa, A. Berriche, B. Kilani, A. Ghoubontini, H. Tiouiri Benaissa
Service des Maladies infectieuses et tropicales, Hopital La Rabta, Tunis, Tunisie
- 449** **Épidémie de rubéole : année 2012, Alger.**
A. Zertal
Hôpital el Kettar, Alger, Algérie
- 450** **Plaies de guerre des blessés français sur les théâtres d'opérations en 2011-2012 : aspects microbiologiques (résultats préliminaires).**
S. Larréché⁹, A. Bousquet⁹, C. Macnab², C. Soler², R. Haus Cheymol⁸, S. Ausset³, L. Barges¹, S. Bonnet¹³, O. Chapuis⁷, S. de Rudnicki⁶, B. de Loynes⁴, S. Mérat¹⁰, N. Mocellin⁵, D. Ollat¹², F. Pons⁵, M. Steve¹¹, C. Rapp¹⁴, S. Rigal⁴, A. Mérens⁹
¹Centre de Traitement des Brûlés, HIA Percy ²Laboratoire de Biologie Médicale, HIA Percy ³Service d'Anesthésie-Réanimation, HIA Percy ⁴Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique, HIA Percy ⁵Service de Chirurgie Thoracique et Générale, HIA Percy, Clamart ⁶Service d'Anesthésie-Réanimation, HIA du Val-de-Grâce ⁷Service de Chirurgie Viscérale et Vasculaire, HIA du Val-de-Grâce, Paris ⁸Centre d'Épidémiologie et de Santé Publique des Armées ⁹Laboratoire de Biologie Médicale, HIA Bégin ¹⁰Service d'Anesthésie-Réanimation, HIA Bégin ¹¹Service de Chirurgie Maxillo-faciale, HIA Bégin ¹²Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique, HIA Bégin ¹³Service de Chirurgie Viscérale et Vasculaire, HIA Bégin ¹⁴Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, HIA Bégin, Saint-mandé, France
- 451** **Nocardia isolées de patients atteints de mucoviscidose : caractéristiques cliniques, microbiologiques et moléculaires de 8 cas CHU de Montpellier.**
P. Gomis³, H. Marchandin³⁻⁵, A.L. Michon³⁻⁵, R. Chiron², V. Rodriguez-Nava¹, S. Godreuil³⁻⁴
¹Université de Lyon, Observatoire Français des Nocardioses, Lyon ²Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose, Service de Pneumologie ³Département de Bactériologie-Virologie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier ⁴INSERM 1058 ⁵UMR 5119 ECOSYM, Équipe Pathogènes et Environnements, Université Montpellier 1, Montpellier, France
- 452** **Des bactéries et des morts : pertinence des analyses microbiologiques lors des autopsies.**
M. Reverdy¹, A. Tristan¹, O. Dauwalder¹, T. Guinet², G. Maujean², L. Fanton², D. Malicier², F. Vandenesch¹
¹Hospices Civils de Lyon, Laboratoire de Microbiologie, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron ²Institut Universitaire de Médecine Légale de Lyon, Université Claude-Bernard Lyon 1, Lyon, France
- 453** **Épidémie de syphilis : difficulté de prise en charge en médecine de ville.**
S. Weissenburger, A. Mothes, A. Pachart, A. Mahe, D. de Briel, M. Mohseni-Zadeh, M. Martinot
Médecine E, Hôpital Pasteur, Colmar, France

- 454 Diagnostic difficile de la tularémie : à propos de cinq cas.**
 F. Suy³, M.F. Lutz², B. Payet², M. Boyer¹, F. Lucht³
¹Laboratoire de bactériologie sérologie hématologie ²Service de médecine interne et des maladies infectieuses et tropicales, Centre hospitalier général de Roanne, Roanne ³Service des maladies infectieuses et tropicales, Centre hospitalier universitaire de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
- 455 Infections et grossesse, à propos de 61 patientes.**
 H. Bouchaib¹, M. Afiri¹, N. Achour¹, A. Ait Ameur²
¹Service des Maladies Infectieuses ²Service de Microbiologie, CHU Nedir Mohamed, Tizi-Ouzou, Algérie
- 456 La leptospirose : expérience tunisienne.**
 L. Ammani², M. Khalfaoui¹, B. Kilani², A. Ghoubontini², A. Berriche², R. Abdelmalek², H. Tiouiri Benaissa²
¹Service de Médecine interne, Mernzel Bourguiba ²Service des Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie
- 457 Supraglottitis due to *Neisseria meningitidis* W135.**
 M.P. Otto, M. Touati, D. Rabar, P. Gêrôme
 HIA Desgenettes, Lyon, France
- 458 Les infections invasives à méningocoque à Casablanca, Maroc : sérogroupes et sensibilité aux antibiotiques.**
 H. Belabbès, K. Zerouali, S. Maazi, K. Taib, N. Elmdaghri
 Microbiologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc
- 459 Infections urinaires à *Enterococcus faecium*, une stratégie mal codifiée.**
 G. Mellon¹, B. Picard¹, F. Jauréguy¹, D. Morice¹, O. Bouchaud², F. Méchal²
¹Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Hygiène ²Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Avicenne, Bobigny, France
- 460 *C. pseudodiphtheriticum* et *C. propinquum*, deux pathogènes opportunistes émergents ?**
 E. Farfour¹, B. Couzon¹, J.P. Bedos⁴, P. Petitpretz³, B. Pangon¹, A. Greder-Belan², A. le Monnier¹
¹Laboratoire de Microbiologie-Hygiène ²Service de Médecine interne - Maladies Infectieuses ³Service de Pneumologie ⁴Service de Réanimation Médicale et Chirurgicale, CH André Mignot, Le Chesnay, France
- 461 Analyse d'un incident bactérien grave transmis par transfusion d'un concentré plaquettaire : identification du lien donneur-produit-receveur.**
 M. David², L. Lemée¹, I. Hervé³, P. Lenain², C. Gray², D. Bastit³, P. Rasongles³, A. Brunet³, M. Masse²
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Rouen ²CLCC Henri Becquerel ³EFS-Normandie, Rouen, France
- 462 Prise en charge des infections compliquées peau et tissus mous en France : résultats de l'enquête REACH-aspect microbiologique.**
 J.P. Stahl¹, J.L. Pourriat², J. Ostinelli³, E. Garcia³, C. Soufflet³
¹CHU, Grenoble ²Hôtel-Dieu, Paris ³AstraZeneca, Rueil-Malmaison, France
- 463 A propos de deux cas de sternite post-opératoire à *Gordonia bronchialis*.**
 S. Ray⁷, M. Grare⁵, B. Dubourdieu², S. Malavaud⁴, P. Boiron¹, B. Guerin³, M. Alvarez⁷, B. Marcheix⁶, C. Cron⁶, M. Archambaud⁵, B. Marchou⁷
¹Observatoire Français des Nocardioses, Lyon ²Laboratoire de Biologie, Hôpital de Rodez ³Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital de Rodez, Rodez ⁴Equipe Opérationnelle d'Hygiène, CHU Toulouse ⁵Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Toulouse Purpan ⁶Service de Chirurgie Cardiovasculaire, CHU Toulouse ⁷Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Toulouse, Toulouse, France
- 464 Épidémie de choléra à Abidjan en pleine crise sociopolitique et militaire : gestion des cas dans le service des maladies infectieuses et tropicales du CHU de Treichville.**
 G. Kouakou¹, E. Aoussi¹, E. Ehui¹, P. Diafouka-Kolia¹, A. Kacou-N'douba³, E. Bissagnéné¹, S. Eholié¹, E. Eboua²
¹Maladies infectieuses et tropicales, CHU de Treichville ²Santé publique, Institut national d'hygiène publique ³Microbiologie, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire
- 465 *Staphylococcus saprophyticus* et *Staphylococcus cohnii* : deux espèces méconnues et pouvant être confondues dans les infections urinaires de l'homme âgé.**
 N. Frebourg, L. Lemée, M. Pestel-Caron
 Laboratoire de Bactériologie, CHU, Rouen, France

- 466 **High mortality rate in one year cohort study among patients with *Clostridium difficile* infection (CDI) in a large tertiary hospital.**
 N. Khanafer²⁻³, M. Perraud², P. Vanhems²⁻³
¹Hospices Civils of Lyon-Microbiology Laboratory, Bron ²Hospices Civils of Lyon-Infection Control Unit, Edouard Herriot Hospital ³University of Lyon-Laboratory of Epidemiology and Public Health, CNRS UMR 5558, Lyon, France
- 467 **Augmentation de l'incidence des séjours hospitaliers pour infection ORL grave ? Analyse de la base PMSI nationale 2002-2010.**
 S. Maugat¹, L. Léon¹, S. Vaux¹, P. Choutet², B. Coignard¹
¹DMI, InVS, Saint-Maurice ²Faculté de médecine, Université François Rabelais, Tours, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

85A

Mycologie
Mycology

- 468 **Facteurs de risque d'acquisition des candidoses buccales : étude cas-témoin.**
 M. Soulias Leveziel, A. Alkahef, M.C. Pepin, C. Lemen, A. Morillon, L. Lafendi
 Service Bactériologie Hygiène, Hôpital Montereau, Créteil, France
- 469 **Les mycoses oculaires et péri-oculaires, conduite diagnostique et thérapeutique, à propos de quelques cas.**
 S. Benaissa, N. Mehri, R. Mansouri, Z. Bouchene
 Parasitologie-Mycologie CHU Annaba, Algérie, Société algérienne de parasitologie mycologie médicale, Skikda, Algérie
- 470 **Étude de l'effet antifongique de l'alliage cuivreux laiton AB+ au sein d'un établissement de soins.**
 A. Ruelle³⁻²⁻⁴, H. Khorsi³, A. Leke¹⁻³, V. Bach³, A. Totet¹⁻³, C. Damiani¹⁻³
¹CHU d'Amiens Picardie ²Institut d'Ingénierie de la Santé, Université de Picardie Jules Vernes ³UFR de médecine, Université de Picardie Jules Verne, Laboratoire Peritox-Ineris, Amiens ⁴Société Favi Injection d'alliages cuivreux, Hallencourt, France
- 471 **Facteurs de risque d'aspergillose cutanée dans un centre de traitement des brûlés.**
 J. Schaal¹, T. Leclerc¹, P. Jault¹, C. Soler², L. Bargues¹
¹Centre de Traitement des Brûlés ²Service de Microbiologie, HIA Percy, Clamart, France
- 472 **Infection à *Rhizopus microsporus* : à propos d'une forme invasive lors d'un purpura fulminans à *Streptococcus A*.**
 C. Soler¹, P. Jault², T. Leclerc², J. Schaal², R.M. Blot², G. Appere¹, N. Donat², D. Garcia-Hermoso³, L. Bargues²
¹Biologie ²Centre traitement des brûlés, HIA Percy, Clamart ³CNRMA, Institut Pasteur, Paris, France
- 473 ***Fusarium equiseti* : à propos du premier cas d'infection humaine chez un blessé de guerre.**
 C. Soler¹, J.L. Daban², C. Mac Nab¹, G. Appere¹, H. Poirier², P. Saint-Blancart¹, N. Sanmartin¹, B. Debien², B. Lenoir², C. Hennequin³
¹Biologie ²Réanimation, HIA Percy, Clamart ³Biologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France
- 474 **Conservation des greffons cornéens : analyse rétrospective des contaminations fongiques observées à la Banque Française des yeux (2005-2010).**
 A. Pauqam, F. Lesle
 Laboratoire de Mycologie, Hôpital Cochin, Paris, France
- 475 **Bactériémie sur chambre à cathéter implantable à *Saccharomyces cerevisiae* : À propos d'un cas clinique.**
 S. Diamantis¹, A. de Pontfarcy¹, K. Jidar¹, M. Ovtachrenko¹, B. Jourdain¹, D. Bennegadi¹, A. Kara¹, C. Bonnal²
¹Hôpital Marc Jacquet, Melun ²Hôpital Bichat, Paris, France
- 476 **L'aspergillose pulmonaire chronique nécrosante : caractéristiques et facteurs de risque. Étude rétrospective incluant 35 patients hospitalisés atteints d'APCN (2002-2008).**
 C. Rouyer
 Maladies infectieuses, CH Tourcoing, France
- 477 **Premier cas de fongémie à *Geotrichum capitatum* décrit en onco-hématologie à l'Hôpital Aziza Othmana, Tunis-Tunisie.**
 S. Sammoud¹, H. Ben Neji², B. Jemli³, Y. Ben Abdennebi², S. Hamdi¹, D. Ammouche¹, B. Meddeb², O. Bahri¹
¹Laboratoire de Microbiologie-Biochimie ²Service d'Onco-Hématologie, Hôpital Aziza Othmana ³Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Militaire de Tunis, Tunis, Tunisie

- 478 Spondylodiscite aspergillaire du patient immunocompétent secondaire à une otomycose.**
A. Nicolle, J. Bonhomme, M. Hitier, M. Hamon, R. Leclercq, R. Verdon, A. de la Blanchardière
Unité des Maladies Infectieuses, CHU Côte de Nacre, Caen, France
- 479 Surveillance des infections fongiques en réanimation pédiatrique à propos de cas d'aspergilloses.**
Z. Benmansour
Mycologie, université de médecine, Oran, Algérie
- 480 Ostéomyélite à *Rhizopus microsporus* : à propos d'un cas.**
C. Soler¹, H. Poirier², C. Mac Nab¹, J.L. Daban², G. Appere¹, D. Garcia-Hermoso³, B. Debien²
¹Biologie ²Réanimation, HIA Percy, Clamart ³CNRMA, Institut Pasteur, Paris, France
- 481 Résultats intermédiaires d'une cohorte française de patients sous micafungine (MYRIADE).**
J.F. Timsit¹, B. Gachot⁴, G. Leverger², N. Milpied³
¹CHU Michallon, La Tronche ²CHU Trousseau, Paris ³CHU Haut-Lévêque, Pessac ⁴IGR, Villejuif, France
- 482 Trois cas de tuméfactions cutanées infiltrantes des extrémités, évocatrices de mycétome.**
G. Desoubreux², G. Bacle³, A. de Muret³, G. de Pinieux³, G. Faizon³, J. Chandenier³, P. Rosset, L. Bernard¹
¹Maladies infectieuses et tropicales, CHRU Bretonneau ²CHU Bretonneau ³CHU Trousseau, Tours, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

86A

Parasitologie
Parasitology

- 483 Diagnostic biologique du paludisme au CHU de Nantes : bilan de la mise en place de deux indicateurs qualité.**
M. Leterrier^{1,2}, V. Plong¹, F. Morio^{1,2}, M. Miegerville^{1,2}, P. Le Pape^{1,2}
¹Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Nantes ²Département de Parasitologie et Mycologie Médicale, Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, EA1155 – IICiMed, Faculté de Pharmacie, Nantes, France
- 484 La consultation avant un voyage en zone tropicale : évaluation des pratiques des médecins généralistes en Franche Comté en 2010.**
E. Piotte³, A.P. Bellanger¹, G. Piton², L. Millon¹, P. Marguet³
¹Parasitologie-Mycologie ²Réanimation médicale, CHU Besançon, Besançon ³Urgences, CHR Pontarlier, Pontarlier, France
- 485 Examen parasitologique des selles : comparaison des kits EasyPara[®] (Servibio) et Para-selles[®] (Fumouze).**
A. Paugam, F. Ngamada, H. Yera
Laboratoire de Parasitologie, Hôpital Cochin, Paris, France
- 486 Larva migrans cutanée autochtone, un piège diagnostique. à propos d'un cas pustuleux de localisation atypique.**
A.L. Liégeois², A. Valois², Q. Bensa², A.C. Fougousse², J.M. Puyhardy¹, Y. Véran²
¹Service de Biologie ²Service de Dermatologie, HIA Legouest, Metz, France
- 487 Aspects épidémiocliniques, thérapeutiques et évolutifs des cas de leishmaniose cutanée suivis au service des maladies infectieuses du CHU Sétif de 2005 à 2010.**
A. Ouyahia^{2,1}, M. Rais¹, W. Guenifi^{1,2}, A. Gasmil¹, S. Mechakra¹, A. Lacheheb¹
¹Maladies infectieuses, Centre hospitalo universitaire ²Faculté de médecine, Sétif, Algérie
- 488 Aspects cliniques et épidémiologiques des infections pédiatriques à *Blastocystis hominis*.**
A. Empain², A. Dediste¹, O. Vandenberg^{1,2}, C. Moens¹, J. Levy^{1,2}, T. Van Gool^{3,2}
¹Laboratoire de Biologie clinique, CHU Saint-Pierre ²Faculté de médecine, Université libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique ³Laboratory of parasitology, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-Bas

Hygiène
Hygiene

- 489 Infections nosocomiales à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline chez les brûlés en réanimation.**
A. Mokline², J. Haddad², H. Oueslati², L. Garsallah², B. Gasri², S. Tlaili², I. Harzallah¹, A.A. Messadi²
¹Laboratoire de Pharmacologie ²Service de Réanimation des brûlés, Centre de Traumatologie et des Grands Brûlés, Tunis, Tunisie
- 490 Prévention du risque infectieux dans un centre d'hémodialyse : eau de dialyse, surfaces et portage nasal à SARM.**
B. Oumokhtar², A. El Ouali L¹, M. Mahmoud², M. Arrayhani³, T. Squalli H³
¹Laboratoire de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu ²Laboratoire de microbiologie, faculté de médecine et de pharmacie ³Service de Néphrologie, CHU Hassan II, Fès, Maroc
- 491 Retour d'expérience sur la mise en place d'alerte informatique pour la surveillance des infections du site opératoire en chirurgie orthopédique.**
E. Joseph³, V. Chartier³, J. Braden¹, L. Zangoli³, H. Chardon²
¹Chirurgie orthopédique ²Laboratoire Bactériologie ³Unité d'Hygiène Hospitalière, Centre Hospitalier Intercommunal Aix Pertuis, Aix-en-Provence, France
- 492 Infections invasives à *Streptococcus pyogenes* du post-partum. Quand une transmission croisée par un membre du personnel peut-être mise en évidence.**
M. Aupee, H. Sénéchal, P.Y. Donnio
Clin Ouest, Rennes, France
- 493 De l'importance de porter un masque lors de rachi-anesthésies !**
F. Suy, P. Verhoeven, F. Lucht, F. Grattard, A. Carricajo, B. Pozzetto, P. Berthelot
CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France
- 494 Étude de coût d'une épidémie d'entérocoque résistant aux glycopeptides dans deux services de soins.**
C. Noel⁷, A. Cabo², A. Girardot³, P. Picaud⁵, N. Guerrier⁴, A. Abache¹, S. Bache³, F. Garcia⁶, D. Lecointe⁷
¹Contrôle de gestion ²DIM ³Direction de la logistique ⁴Pôle de Soins de suite et de Réadaptation ⁵Pôle Médecine de Spécialités ⁶Pôle Santé publique ⁷UFHLLIN, Centre Hospitalier Sud Francilien, Corbeil Essonnes, France
- 495 Facteurs de risque d'acquisition d'un clone épidémique de *Klebsiella pneumoniae* BLSE au Centre Hospitalier d'Avranches-Granville et analyse des coûts.**
A. Gabard, M. Binet, R. Leservoisier, N. Chevrier, G.C. Borderan, E. Piednoir
Centre Hospitalier Avranches, Granville, France
- 496 Où hospitaliser les patients porteurs de bactéries productrices de carbapénèmase (BPC) ?**
A. Blaise-Stevens¹, L. Escaut¹, A. Dinh³, N. Fortineau², C. Lawrence⁴, O. Derradji¹, C. Perronne³, D. Vittecoq¹
¹Infectiologie ²Microbiologie, GHU Paris Sud, Bicêtre ³Infectiologie ⁴Microbiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France
- 497 Pyo VIM en réanimation : une histoire pleine de leçons ...**
V. Leflon-Guibout², S. Nérôme¹, S. Pease³, H. Bout³, I. Villard³, Y. Martin³, I. Garrigues¹, R. Metivier², C. Layme², M.H. Nicolas-Chanoine²
¹Hygiène Hospitalière ²Microbiologie ³Réanimation Chirurgicale, Hôpital Beaujon, Clichy, France
- 498 Bactériémies à *Acinetobacter baumannii* en milieu de réanimation : profil de résistance et stratégie thérapeutique.**
O. Bouallegue, C. Chaouch, J. Khattali, H. Mansour, S. Ketata, F. Alaya, N. Boujaafar
Laboratoire de bactériologie-virologie, CHU Sahloul Sousse, Monastir, Tunisie
- 499 Le BEHcl : un système d'alerte et d'information pour la gestion et la prévention des infections respiratoires virales à l'hôpital.**
J.S. Casalegno, F. Morfin, G. Billaud, E. Frobert, M. Bouscambert-Duchamp, M.C. Servais, Y. Mekki, M. Valette, B. Lina
Virologie, Hospices Civils de Lyon, laboratoire de virologie, Bron, France
- 500 Incidence et facteurs associés à la grippe nosocomiale dans un hôpital universitaire.**
N. Guinko⁵, T. Bénet⁴⁻¹, C. Régis¹⁻⁴, B. Comte², B. Lina³⁻⁴, P. Vanhems¹⁻⁴
¹Service d'Hygiène, Epidémiologie et Prévention ²Service de médecine gériatrique, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot ³Laboratoire Virologie et Pathologie Humaine (VirPath), EMR 4610 – UCBL, Faculté de Médecine RTH Laennec, Université de Lyon ⁴Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive; Equipe Epidémiologie et Santé Publique, Université de Lyon; Université Lyon 1; CNRS UMR 5558 ⁵Laboratoire d'épidémiologie, Université Lyon 1, Lyon, France

- 501** **Évitabilité des infections en établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) : évaluation de l'impact d'une intervention multimodale par un essai randomisé en clusters (Étude Enlil).**
K. Cham⁵⁻², G. Gavazzi², A. Bar-Hen⁴, F. Carrat³, B. de Wazières², B. Lejeune², N. Armand², M. Rainfray¹, J. Hajjar, F. Piette², M. Rothan-Tondeur⁵⁻²⁻³
¹Université Victor Segalen, Bordeaux ²ORIG (Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière Charles-Foix), Ivry-sur-Seine ³Hôpital Saint-Antoine, INSERM UMR-S 707 ⁴MAP5, Université Paris Descartes, Paris ⁵École des Hautes Études en Santé Publique, Paris-Rennes, France
- 502** **Étude de l'effet antimicrobien du lait AB+ : pour une maîtrise des biocontaminations des équipements hospitaliers et la prévention des infections nosocomiales.**
A. Ruelle³⁻²⁻⁴, C. Segard¹, A. Leke¹⁻³, M. Biendo¹, V. Bach³, H. Khorsi³
¹CHU d'Amiens Picardie ²Institut d'Ingénierie de la Santé, Université de Picardie Jules Verne ³UFR de médecine, Université de Picardie Jules Verne, Laboratoire Peritox-Ineris, Amiens ⁴Société Favi Injection d'alliages cuivreux, Hallencourt, France
- 503** **Efficacité anti-bactérienne de différents dérivés cellulose associés à de la polyvidone iodée sur des souches hospitalières comparée à celles de l'Institut Pasteur : application dans la prévention des infections de site opératoire en chirurgie.**
H. Khorsi³, M. Barry², G. Touati², M. Belmekki¹, C. Joly³, L. Fournot², M. Biendo¹
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Nord d'Amiens Picardie ²Service de Chirurgie Cardiaque, Hôpital Sud CHU Amiens ³UFR de médecine, Université de Picardie Jules Verne, Laboratoire Peritox-Ineris, Amiens, France
- 504** **Le suivi des « bactériémies à *Staphylococcus aureus* métricilline résistant » n'est pas un bon indicateur des actions en hygiène : analyse sur 5 ans des données d'un centre hospitalo-universitaire.**
A. Marcuccilli, P. Verhoeven, J. Gagnaire, F. Grattard, A. Nunes Claro, A. Viallon, B. Pozzetto, P. Berthelot
CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

88A

Virologie: méthodes de diagnostic
Virology: diagnostic methods

- 505** **Évaluation du test de détection génomique Adenovirus ELITE MGB™ en comparaison d'une PCR temps réel « maison ».**
O. Barre, C. Bressollette, B.M. Imbert-Marcille, M. Coste-Burel
Virologie, CHU Nantes, Nantes, France
- 506** **Qualification initiale du LIAISON XL®, automate de sérologie virale : exemple du marqueur EBV IgG anti-EBNA.**
F. Kanyilamz, C. Giraudeau, M. Coste-Burel, T. Marquant, E. André-Garnier
Virologie, CHU Nantes, Nantes, France
- 507** **Évaluation d'une nouvelle méthode de purification et de concentration du HHV-6 utilisant le Nycodenz®.**
A.N. Godet¹⁻³, E. Abrao¹⁻³, P. Bonnafous¹⁻³, N. Désiré¹⁻³, A. Milovanovitch¹⁻³, H. Agut¹⁻³, A. Gautheret-Dejean¹⁻³⁻²
¹Service de Virologie, AP-HP, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière ²Laboratoire de Microbiologie, UPRES EA 4065, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ³Laboratoire de Virologie, ER1DETIV, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France
- 508** **Comparaison de trois techniques de détection des anticorps anti-parvovirus B19.**
R. Guiheneuf, S. Belmiloudi, N. Bonnet, V. Descamps, A. Dewilde
Virologie, CHU de Lille, Lille, France
- 509** **Evaluation of the versant HBV DNA 1.0 assay (kPCR).**
A. Lachaud³, E. Méteau³, S. Tronchet³, J. Turczyn², J. Chen², L. Fisher², V. Nguyen¹, J. Surtihadi¹, M. Hennig¹
¹Molecular and Microbiology ²Siemens Clinical Laboratory, Siemens Healthcare Diagnostics, Berkeley, Etats-Unis ³Sample library and reagent trials, Biomnis Specialised Medical Pathology, Lyon, France
- 510** **Évaluation du réactif Affigene® HBV trender de quantification de l'ADN de l'hépatite B sur l'automate ouvert de PCR en temps réel versant kPCR Siemens.**
C. Chaplain, S. Mene, I. Gros
Service de Microbiologie, Hôpital Delafontaine, Saint-Denis, France
- 511** **Évaluation des tests Cobas® e 601 HCV et Cobas® e 601 HCV II dans le dépistage sérologique de l'hépatite virale C.**
I. El Yaacoubi², B. Belefquih², T. Doblali², M.R. Tagajdid², F.Z. Farissi², H. El Annaz², H. Kabbaj¹, S. Mrani²
¹Service de virologie, Hôpital des spécialités de Rabat ²Service de virologie, Hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc

- 512 Intérêt de la prescription par le microbiologiste de la PCR entérovirus dans le LCR.**
 L. Djamdjian, N. Fortineau, A. Potron, G. Cuzon, P. Nordmann
 Service de bactériologie-virologie-hygiène-parasitologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France
- 513 Validation d'une méthode de charge virale VIH-1 selon les recommandations de la norme COFRAC 15189 : limites et avantages.**
 M. Gueudin, E. Alessandri, X. Agapit, J.C. Plantier
 Laboratoire Associé au Centre National de Référence du VIH, Hôpital Charles Nicolle, CHU de Rouen, GRAM, Équipe d'Accueil 2656, Université de Rouen, Faculté de Médecine-Pharmacie, Rouen, France
- 514 Symptom-guided, two-step diagnostic algorithm for the assessment of children presenting with acute viral respiratory infections.**
 T. Bodmer²⁻¹, K. Schmid², M. Ritzler¹, M. Risch²⁻¹, W. Bär²
¹Labormedizinisches Zentrum Dr Risch, Schaan, Liechtenstein ²Kantonsspital Graubünden, Chur, Suisse

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

89A

Virologie : épidémiologie microbienne
 Virology: microbial epidemiology

- 515 Genotypic and phenotypic characterization of herpes simplex virus type 2 (HSV-2) Among HIV-1-infected patients.**
 S. Burrel¹⁻², E. Abrao¹, N. Désiré¹, P. Bonnafous¹, A. Godet¹, H. Agut¹⁻², D. Boutolleau¹⁻²
¹ER1 DETIV, Pierre et Marie Curie University ²Virology department, Pitié-Salpêtrière University Hospital, AP-HP, Paris, France
- 516 Microsatellite polymorphisms of herpes simplex virus type 2.**
 S. Burrel³⁻⁴, Z. Aït-Arkoub⁴, D. Voujon⁴, C. Deback¹⁻², H. Agut³⁻⁴, D. Boutolleau³⁻⁴
¹INSERM UMR-S 996 ²Microbiology and Immunology Department, Antoine Bécclère University Hospital, AP-HP, Clamart ³ER1 DETIV, Pierre et Marie Curie University ⁴Virology Department, Pitié-Salpêtrière University Hospital, AP-HP, Paris, France
- 517 Fréquence et persistance de l'HPV53. Apport du test InnolIPA HPV.**
 J. Petiteau Lecherbonnier¹, R. Joffray¹, C. Vaugeois², J.P. Bilhault², M. Turck², A. Vabret¹
¹Laboratoire Virologie ²Service Gynécologie, CHU, Caen, France
- 518 Limite des trousse de diagnostic des infections par les papillomavirus humains oncogènes.**
 M. Favre¹⁻³, M. Falguières¹, M.C. Demazoin¹, L. Arowas¹, I. Heard¹⁻²
¹Institut Pasteur, Centre national de référence des papillomavirus ²Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie ³Institut Pasteur, Unité de Génétique, Papillomavirus et Cancer Humain, Paris, France
- 519 Utilisation de la technique CLART® HPV2 (Genomica) dans la résolution des échecs de typage de papillomavirus humains : application à une série continue de 856 frottis cervico-utérins de type ASCUS.**
 C. Gaudy-Graffin², A. Gillette², I. de Pinieux¹, F. Dubois², H. Marret³, A. Goudeau²
¹Laboratoire de Cytopathologie, Institut Inter Régional pour la Santé, La Riche ²Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Bretonneau, CHRU ³Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Bretonneau, CHRU, Tours, France
- 520 Prévalence et quantification des génomes de virus cardiotropes dans des cas de mort subite cardiaque chez l'adulte en France.**
 D. Giusti¹, F. Tissier¹, N. Lévêque¹⁻³, Y. N'guyen¹⁻³, F. Renois³, C. Boulagnon², P. Fornès², L. Andréoletti¹⁻³
¹Laboratoire de Virologie médicale et moléculaire, Centre hospitalier universitaire de Reims ²Pathologie médicale, Faculté de médecine, Université de Reims Champagne Ardennes ³EA-4684 Cardiovir, Faculté de médecine, Université de Reims Champagne-Ardennes, Reims, France
- 521 Hépatites chroniques B : résultats à 30 mois de traitement d'une cohorte de patients sous Entécavir.**
 M.L. Meghadecha, A. Mammeri, M. Laouar
 Service des maladies Infectieuses, CHU Annaba, Annaba, Algérie
- 522 Efficacité-tolérance du Bocéprévir en pratique clinique.**
 A. Rognon¹, A. Darque¹, R. Gerolami², G. Obrador², S. Gensollen¹
¹Pharmacie, CHU Conception ²Service d'hépto-gastro-entérologie, CHU Conception, Marseille, France
- 523 Impact des hémoglobinopathies dans la prise en charge de l'hépatite C : terrain ou comorbidité.**
 A. Mammeri², M. Laouar¹⁻²
¹Médecine ²Service des Maladies Infectieuses, CHU Annaba, Annaba, Algérie

- 524 Résistances primaires aux traitements antirétroviraux : analyse des patients diagnostiqués séropositifs au VIH à Strasbourg en 2009 et 2010.**
 J. Ott², S. Fafi-Kremer¹, A.C. Gérout², M. Partisani³, C. Cheneau³, C. Bernard-Henry³, M. Priester³, E. de Mautort³, M.L. Batard, M.P. Schmitt¹, F. Stoll-Keller¹, B. Gourieux², D. Rey³
¹Laboratoire de virologie ²Service Pharmacie - Stérilisation ³Trait d'Union, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France
- 525 Genotypic linkage of VP7, VP4 and NSP4 genes of rotaviruses circulating among Tunisian children from 2006 to 2008.**
 M. Ben Hadj Fredj², I. Fodha², M. Zeller¹, E. Heylen¹, A. Chouikha², M. Van Ranst¹, J. Matthijssens¹, A. Trabelsi²
¹Laboratory of Clinical and Epidemiological Virology, Rega Institute for Medical Research, University of Leuven, Leuven, Belgique ²UR06SP20 - Laboratoire de Microbiologie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie
- 526 Molecular detection on enteric viruses in children with acute gastroenteritis in Casablanca, Morocco.**
 J. Nourilil²⁻¹, H. Amdioni², L. Benabbes², W. Gueddari³, H. Amarouch¹, M. Hassar²
¹Laboratory of Microbiology, Pharmacology Biotechnology and Environment, Faculty of Sciences, Ain chock, University Hassan II ²Medical Virology and BSL-3 Laboratory, Institut Pasteur du Maroc ³Paediatric Emergency Unit-Casablanca Children's Hospital, Casablanca, Maroc
- 527 Caractérisation moléculaire et étude clinique des infections au virus Aichi détecté chez les enfants atteints de gastroentérite en Tunisie : combinaison avec l'étude de la séropréva.**
 K. Sdiri-Loulizi²⁻¹, S. Ayouni²⁻¹, J.B. Bour¹, M. Aouni², M.N. Guediche³, P. Pothier¹, K. Ambert-Balay¹
¹Centre National de Référence des virus entériques, CHU de Dijon, Dijon, France ²Laboratoire des Maladies Transmissibles et Substances Biologiquement Actives, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir ³Service de Pédiatrie, CHU Fatouma Bourguiba de Monastir, Monastir, Tunisie
- 528 Surveillance nationale de l'épidémiologie moléculaire des infections à rotavirus du groupe A en Tunisie sur une période de 15 ans (1995-2009).**
 I. Fodha², M. Ben Hadj Fredj², A. Chouikha², N. Boujaafar², A. Trabelsi², A.D. Steele¹
¹Fondations Bill and Melinda Gates, Seattle, Etats-Unis ²UR06SP20 - Laboratoire de Microbiologie, Sousse, Tunisie
- 529 Épidémiologie clinique et moléculaire de l'infection par le virus de l'hépatite A (VHA) en Tunisie.**
 S. Gargouri², L. Feki-Berrajeh², I. Ayadi¹, H. Karray-Hakim², A. Hammami²
¹Centre de biotechnologie de Sfax ²Laboratoire de microbiologie, Sfax, Tunisie
- 530 Antiviral properties of the mulberry plant extracts on human coronavirus 229E and poliovirus type 1.**
 M. Varbanov¹, I. Thabti², S. Fontaney¹, A. Ferchichi², R.E. Duval¹
¹SRSMC, UMR 7565, Faculté de Pharmacie, Université de Lorraine – CNRS, Nancy, France ²Laboratoire d'Aridoculture et Cultures Oasiennes, Institut des Régions Arides de Médenine, Route el Djorf Médenine 4119, Medenine, Tunisie

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

90A

Pathogènes pulmonaires
Pulmonary pathogens

- 531 Incidence des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique à *Pseudomonas aeruginosa* en réanimation, de 2003 à 2011.**
 F. Bétend¹, S. Cronenberger¹, T. Bénét¹⁻⁴, P. Vanhems¹⁻⁴, Service de réanimation des Hospices Civils De Lyon², Unités d'hygiène des Hospices Civils De Lyon³
¹Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot, Service d'Hygiène, Epidémiologie et Prévention ²Services de réanimation des Hospices Civils de Lyon ³Unités d'Hygiène des Hospices Civils de Lyon ⁴Université de Lyon; université Lyon 1; CNRS UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive; Equipe Epidémiologie et Santé Publique, Lyon, France
- 532 Évaluation prospective de 4 milieux gélosés commerciaux pour l'isolement de *Legionella* à partir de prélèvements respiratoires.**
 G. Descours, P. Cassier, F. Forey, J. Etienne, G. Lina, S. Jarraud
 Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence des Légionelles, Bron, France
- 533 Suite de l'étude collaborative entre les laboratoires de microbiologie du RENACOQ, de laboratoires d'analyses médicales et le CNR de la coqueluche et autres bordetelloses, afin d'évaluer la PCR en temps réel pour la détection du matériel génétique de *Bordetella*.**
 S. Guillot, N. Guiso
 Institut Pasteur, Unité PTMMH, Centre National de Référence de la Coqueluche et autres bordetelloses, Paris, France

- 534 Diagnostic biologique de la coqueluche par PCR en temps réel.**
N. Benamrouche, M. Lazri, H. Tali-Maamar, S. Hasnaoui, O. Lafer, K. Rahal
Bactériologie Médicale, Institut Pasteur d'Algérie, Alger, Algérie
- 535 Nouvelle méthode de typage haut-débit de *Legionella pneumophila* appliquée aux dernières épidémies de légionellose dans le réseau d'eau chaude sanitaire de la ville de Rennes.**
D. Sobral²⁻⁶⁻⁷, P. Le Cann⁸, A. Gérard⁸, S. Jarraud⁵⁻³⁻⁴, J. Gardès², B. Lebeau², F. Loisy-Hamon², G. Vergnaud⁶⁻⁷⁻¹, C. Pourcel⁶⁻⁷
¹DGA/Mission pour la Recherche et l'Innovation Scientifique, Bagneux ²Ceeram, La Chapelle Sur Erdre ³Hospices Civiles de Lyon ⁴U851, INSERM ⁵Centre National de Référence des Legionella, Université de Lyon, Lyon ⁶CNRS ⁷Institut de Génétique et Microbiologie, UMR 8621, Université Paris-Sud, Orsay ⁸École des Hautes Études en Santé Publique, Laboratoire d'Étude et de Recherche en Environnement et en Santé, Rennes, France
- 536 Nouvelles méthodes haut-débits et discriminantes pour le typage des espèces *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.**
D. Sobral²⁻³⁻⁴, J. Gardès², B. Lebeau², F. Loisy-Hamon², G. Vergnaud³⁻¹⁻⁴, C. Pourcel³⁻⁴
¹DGA/Mission pour la Recherche et l'Innovation Scientifique, Bagneux ²Ceeram, La Chapelle Sur Erdre ³CNRS ⁴Université Paris-Sud, Orsay, France
- 537 Évaluation du réactif TRU *Legionella* (MERIDIAN) pour la recherche d'antigènes urinaires de *Legionella pneumophila*.**
A.M. Freydiere, G. Descours, J. Etienne, F. Vandenesch, G. Lina, S. Jarraud
Centre National de Référence des Légionelles, Hospices Civils de Lyon - Centre de Biologie et de Pathologie Est - Laboratoire de Bactériologie, Bron, France
- 538 Épidémiologie des pneumopathies polymicrobiennes acquises sous ventilation mécanique en réanimation au CHU de Lyon, 2003-2010.**
J. James³, P. Vanhems³⁻¹, M.C. Nicolle³, L. Argaud⁴, C. Guérin², J.J. Lehot⁵, T. Bénét³⁻¹
¹Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Équipe Épidémiologie et Santé Publique, CNRS UMR 5558, Université Lyon 1 ²Services de réanimation, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon ³Service d'hygiène, épidémiologie et prévention ⁴Services de réanimation médicale, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon ⁵Services de réanimation, Hôpital Louis Pradel, Hospices Civils de Lyon ⁶Unités d'hygiène hospitalière, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France
- 539 Description des flores bactériennes pulmonaires associées à la présence de *Pseudomonas aeruginosa* chez des patients atteints de mucoviscidose.**
L. Pagès⁴⁻², S. Yahi⁴, F. Bolindé⁴, C. Bardel⁵, M. Perrouse-de-Montclos⁷, G. Bellon¹, I. Durieu⁶, F. Vandenesch²⁻³, J. Freney²⁻⁴, B. Cournoyer⁴, A. Doléans-Jordheim²⁻⁴
¹Centre de ressources et Compétences (CRCM) enfant, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon ²Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon (HCL), Bron ³INSERM U851, équipe Pathogénie des Staphylocoques ⁴UMR 5557 Ecologie Microbienne CNRS-UCBL-VetAgroSup ⁵Université Lyon 1, UMR CNRS 5558, INRA, INRIA, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive, ISPB, Lyon ⁶Centre de ressources et de compétences (CRCM) adulte, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon ⁷Laboratoire de Bactériologie, Centre hospitalier Lyon Sud des HCL, Saint-Genis-laval, France
- 540 Global transcriptome analysis by RNA-seq of the mucoid strain *Pseudomonas aeruginosa* 2192 in physiopathological conditions (cystic fibrosis environment).**
V. Cattoi⁶⁻², G. Narasimhan⁵, D. Skurnik³, H. Achard¹, D. Roux³, R. Ramphal⁴, J. Jyot⁴, S. Lory²
¹Department of Epidemiology, Harvard School of Public Health ²Department of Microbiology and Immunobiology, Harvard Medical School ³Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston ⁴Department of Medicine and Infectious Diseases, University of Florida, Gainesville ⁵School of Computing and Information Sciences, College Engineering, Florida International University, Miami, Etats-Unis ⁶EA4655, Faculté de Médecine, Université de Caen Basse-Normandie, Caen, France



HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

91A

Helicobacter, campylobacter
Helicobacter, campylobacter

- 541 Évaluation de la valeur prédictive positive d'un test rapide de détection immunochromatographique des *Campylobacters* dans les selles.**

P. Floch¹, J. Goret¹, E. Bessède¹⁻², P. Lehours¹⁻², F. Mégraud¹⁻²¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Pellegrin ²Université Bordeaux Segalen, CNR des *Campylobacters* et des *Helicobacters*, Bordeaux, France

- 542 Comparaison des facteurs de risque des infections à *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* et *Campylobacter fetus* survenant en France.**
E. Bessède²⁻¹, P. Lehours²⁻¹, L. Labadi¹, S. Bakiri², F. Mégraud²⁻¹
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Pellegrin ²Université Bordeaux Segalen, CNR des Campylobacters et des Hélicobacters, Bordeaux, France
- 543 Évaluation comparative des performances de deux tests immunochromatographiques [ICT] pour la détection des *Campylobacter sp.* dans des selles pédiatriques.**
B. Falquet², P.H. Boyer², L. Benejat¹, L. Hees³, F. Mégraud¹, O. Dauwalder², F. Vandenesch², A.M. Freydiere²
¹Centre National de Référence des Campylobacters et Hélicobacters, Université Bordeaux Segalen et Hôpital Pellegrin, Bordeaux ²Laboratoire de Bactériologie - Institut de Microbiologie - Centre de Biologie et de Pathologie Est – Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon ³Service des urgences pédiatriques de l'Hôpital-Femme-Mère-Enfant (HFME), Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon, Bron, France
- 544 Caractérisation génotypique de l'*Helicobacter pylori* associée aux différentes pathologies gastriques chez une population marocaine adulte.**
S. Alaoui³⁻², D. Benajah⁵, M. El Abkari⁵, A. Ibrahim⁵, M. Mahmoud⁶, A. Amarti⁴, A. Soulaymani², K. El Rhazi¹, C. Nejjar¹, B. Bennani³
¹Laboratoire d'épidémiologie et de recherche clinique CHU Hassan II ²Laboratoire de biotechnologie Faculté des sciences D.M ³Laboratoire de microbiologie et de biologie moléculaire, Faculté de Médecine et de pharmacie ⁴Service d'anatomie pathologique CHU Hassan II ⁵Service d'hépatogastro-entérologie CHU Hassan II ⁶Service de bactériologie CHU Hassan II, Fès, Maroc
- 545 Évolution de la résistance aux antibiotiques des *Campylobacters thermophiles* en France (1986-2011).**
P. Lehours¹⁻², E. Sifré¹, C. Camou, E. Bessède¹⁻², F. Mégraud¹⁻²
¹Université Bordeaux Segalen, CNR des Campylobacters et des Hélicobacters ²CHU Pellegrin, Laboratoire de Bactériologie, Bordeaux, France
- 546 Résistance de l'*Helicobacter pylori* à la clarithromycine : étude chez des patients au centre nord du Maroc.**
S. Alaoui³⁻², M. Mahmoud⁷, J. Raymond¹, A. Amarti⁴, D. Benajah⁶, M. El Abkari⁶, A. Ibrahim⁶, A. Soulaymani², K. El Rhazi⁵, C. Nejjar⁵, B. Bennani³
¹Service de bactériologie de l'hôpital Cochin, Paris, France ²Laboratoire de biotechnologie Faculté des sciences D.M ³Laboratoire de microbiologie et de biologie moléculaire, Faculté de Médecine et de pharmacie ⁴Service d'anatomie pathologique CHU Hassan II ⁵Service d'épidémiologie et de recherche clinique CHU Hassan II ⁶Service d'hépatogastro-entérologie CHU Hassan II ⁷Service de bactériologie CHU Hassan II, Fès, Maroc
- 547 *Helicobacter pylori* et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.**
H. Battikh Maaouia², M. Serghini¹, S. Karoui¹, M. Zribi², A. Filali¹, C. Fendri²
¹CHU La Rabta, Service de Gastroentérologie A ²CHU La Rabta, Service de Microbiologie, Tunis, Tunisie

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

92A

Infections pédiatriques
Paediatric infections

- 548 Host and bacterial characteristics during *Escherichia coli* bacteremia in children.**
C. Burdet⁵⁻⁹⁻³, S. Bonacorsi¹⁻⁷, O. Clermont⁶⁻¹⁰, C. Laouénan³⁻⁵⁻⁹, E. Bingen¹⁻⁷, Y. Aujard⁴⁻⁷, A. Lefort²⁻⁸, E. Denamur⁶⁻¹⁰
¹AP-HP, Hôpital Robert-Debré, Laboratoire de Microbiologie ²AP-HP, Hôpital Beaujon, Service de Médecine Interne ³AP-HP, Hôpital Bichat, Service de Biostatistique ⁴AP-HP, Hôpital Robert Debré, Service de Néonatalogie ⁵INSERM, UMR 738 ⁶INSERM, UMR-S 722 ⁷EA 3105 ⁸EA 3964 ⁹UMR 738 ¹⁰UMR-S 722, Faculté de Médecine, Site Xavier Bichat, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France
- 549 Investigation d'une épidémie d'infections ostéo-articulaires à *Kingella kingae* au sein d'une crèche.**
E. Collin³, P. Bidet³, R. Basmaci³, C. Courroux³, E. Lafeuille³, F. Garnier¹, E. Bingen³, V. Dufour², V. Prisse², M. Ighmouracene², E. Grimprel⁴, S. Bonacorsi³
¹Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Limoges, Limoges ²Direction de la Famille et de la Petite Enfance ³Service de Bactériologie, Hôpital Robert Debré ⁴Service de Pédiatrie Générale, Hôpital Trousseau, Paris, France
- 550 *Leptotrichia amnionii*, a newly reported cause of early onset neonatal meningitis.**
V. Decroix¹, S. Goudjil²⁻³, G. Kongolo²⁻³, H. Mammeri¹⁻⁴
¹Service de Bactériologie ²Service de Réanimation pédiatrique, CHU Amiens ³Inserm U 1105 ⁴UFR de Médecine, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

- 551 Importation simultanée de plusieurs bactéries multirésistantes à l'admission d'un enfant brûlé venant d'Algérie.**
D. Moissenet³, P. Richard⁴, M. Granados⁴, A. Mérens⁵, D. Fourmier¹, M. Fines-Guyon², H. Vu-Thien³
¹CNR Résistance aux Antibiotiques (*Pseudomonas*), CHRU, Besançon ²CNR Résistance aux Antibiotiques (*Entérocoques-Streptocoques*), CHU, Caen ³Unité de Bactériologie ⁴Unité de Réanimation Brûlés, Hôpital Trousseau, Paris ⁵Laboratoire de Biologie, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint-Mandé, France
- 552 Méningites à pneumocoque chez les enfants de moins de 2 ans : impact des vaccins pneumococciques conjugués.**
C. Levy⁵⁻³, E. Varon²⁻³, E. Bingen⁴⁻³, S. Béchet⁵, R. Cohen⁵⁻¹⁻³, GPIIP. Groupe des Pédiatres et Microbiologistes de l'observatoire des Méningites
¹CHI Créteil, Créteil ²CNRP AP-HP HEGP ³GPIIP ⁴Service de Microbiologie Hôpital Robert Debré, Paris ⁵ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France
- 553 Les complications neurologiques chez les enfants infectés par le VIH.**
F. Razik, F. Bensadoun, S.A. Belkadi Kouied, S. Abidi, N. Mouffok
 Service des maladies infectieuses, CHUO, Oran, Algérie
- 554 Hypersignaux de la substance blanche chez le patient infecté par le VIH : quand évoquer une leucoencéphalopathie multifocale progressive ?**
S. Sunder, X. Cazals, H. Chaussade, A. Chaillon, F. Bastides, L. Bernard, J.P. Cottier
 CHRU de Tours, Tours, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

93A

Brucellose - Infections à mycobactéries
Brucellose - Mycobacterial infections

- 555 Paralysies spastiques révélatrices de brucellose.**
N. Tabet-Derraz, S. Bestaoui, F. Benlazar
 CHU de Sidi-Bel-Abbés, Sidi-Bel-Abbés, Algérie
- 556 Aspects épidémiologiques et cliniques de 1 884 cas de brucellose humaine.**
N. Tabet-Derraz, S. Bestaoui
 CHU de Sidi-Bel-Abbés, Sidi-Bel-Abbés, Algérie
- 557 Haematogenous disseminated cutaneous *Mycobacterium abscessus* infection following catheter-borne bacteraemia.**
 N. Kramkimel⁸⁻⁶, N. Franck⁶, F. Brossier², S. Coignard⁸⁻³, B. Heym⁹⁻¹, A. Carlotti⁵, A. Schmitt⁷, J.L. Gaillard⁹⁻¹, B. Dousset⁸⁻⁴, N. Dupin⁸⁻⁶, C. Poyart⁸⁻³⁻⁷, P. Morand⁸⁻³⁻⁷
¹Microbiologie, Hôpital Ambroise Paré, AP-HP, Boulogne-Billancourt ²Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux ³Bactériologie ⁴Chirurgie Digestive, Hépatobiliaire et Endocrinienne ⁵Service d'Anatomopathologie ⁶Service de Dermato-Vénérologie, GH Cochin Broca Hôtel-Dieu, AP-HP ⁷INSERM U1016, CNRS UMR8104, Institut Cochin ⁸Faculté de Médecine, Université Paris Descartes ⁹Faculté de Médecine, Université Versailles Saint-Quentin en Yvelines, Paris, France
- 558 Tuberculose ORL extraganglionnaire.**
A. Berriche, L. Ammari, R. Abdelmalek, A. Ghoubantini, S. Aissa, F. Kanoun, B. Kilani, H. Tiouiri Benaissa
 Service des maladies infectieuses, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie
- 559 Tuberculose surrénalienne : à propos d'un cas.**
M. Maalej
 Maladies infectieuses, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
- 560 Tuberculose monorésistante à la rifampicine : incidence et évaluation de la prise en charge en France.**
V. Meyssonier¹, T.V. Bui¹, N. Veziaris¹⁻², C. Bernard¹⁻², V. Jarlier¹⁻², J. Robert¹⁻²
¹Bactériologie-Hygiène, EA 1541 / ER 5, Université Pierre et Marie Curie, Site Pitié-Salpêtrière, Paris, France ²Centre National de Référence de Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux, Bactériologie-Hygiène, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France
- 561 Particularités de l'uvéite tuberculeuse : à propos de 4 cas.**
Y. Aydi, F. Frikha, M. Soussi, N. Saidi, Z. Bahloul
 Médecine interne, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

BLSE
BLSE

- 562 Description d'une nouvelle BLSE TEM-187 de détection difficile chez une souche clinique de *Proteus mirabilis*.**
S. Corvec^{3,4}, R. Beyrouthy^{1,2}, L. Crémet^{3,4}, G.G. Aubin^{3,4}, F. Robin^{1,2}, R. Bonnet^{1,2}, A. Reynaud^{3,4}
¹Centre de Biologie, Laboratoire de Bactériologie Clinique, CHU de Clermont-Ferrand ²Évolution des bactéries pathogènes et susceptibilité génétique de l'hôte, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand ³Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU de Nantes ⁴EA3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Nantes, France
- 563 Prévalence des mécanismes de résistance plasmidique aux quinolones chez les souches BLSE isolées au CHU de Clermont-Ferrand.**
R.N. Tan^{1,2}, B. Mottet-Auselo¹, L. Gibold^{1,3}, R. Bonnet^{1,2,3}, F. Robin^{1,2,3}
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Clermont-Ferrand ²Laboratoire associé BLSE/Céphalosporinase, CNR Résistance aux Antibiotiques ³INSERM U1071 INRA USC2018, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France
- 564 Comparaison des recommandations CA-SFM et EUCAST pour l'interprétation de l'antibiogramme de souches productrices de BLSE.**
R.N. Tan^{1,2}, B. Mottet-Auselo¹, L. Gibold^{1,3}, R. Bonnet^{1,2,3}, F. Robin^{1,2,3}
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Clermont-Ferrand ²Laboratoire associé BLSE/Céphalosporinase, CNR Résistance aux Antibiotiques ³INSERM U1071 INRA USC2018, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France
- 565 Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Tunisia and characterization of their virulence factors.**
B. Mnif², H. Harhour², J. Jdidi³, F. Mahjoubi², N. Genel¹, G. Arlet¹, A. Hammami²
¹Laboratoire de Bactériologie, Université Pierre et Marie Curie-Paris-6, Faculté de Médecine, Site Saint-Antoine, Paris, France ²CHU Habib Bourguiba ³Service de médecine préventive, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie
- 566 Antibiotiques impliqués dans l'occurrence des bactéries résistantes aux antibiotiques : une étude nationale multiniveau suggère des différences au sein des classes d'antibiotiques.**
H. Gbaguidi-Haore^{1,2}, C. Dumartin^{3,4}, F. L'héritau⁵, M. Péfau³, D. Hocquet^{1,2}, A.M. Rogues^{3,4}, X. Bertrand^{1,2}
¹Service d'Hygiène Hospitalière, CHU de Besançon ²UMR CNRS 6249 Chrono-environnement, Université de Franche-Comté, Besançon ³CCLIN Sud-Ouest, CHU de Bordeaux ⁴INSERM U657 / Université de Bordeaux, Bordeaux ⁵CCLIN Paris-Nord, Paris, France
- 567 Fréquence et épidémiologie des entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (EBLSE) sensibles aux céphalosporines de 3e génération (C3G) et/ou à l'aztréonam (ATM).**
F. Bert, S. Bialek-Davenet, V. Leflon-Guibout, L. Noussair, M.H. Nicolas-Chanoine
Hôpital Beaujon, Clichy, France
- 568 Bactériémie à entérobactérie et BLSE : associations et évolution récente.**
C. Neulier³, L. Armand-Lefèvre¹, G. Birgand³, I. Lolom³, Y. Yazdanpanah², J.C. Lucet³, A. Andremont¹
¹Bactériologie ²Infectiologie ³UHLIN, GH Bichat - Cl. Bernard, AP-HP, Paris, France
- 569 Surveillance régionale de la résistance bactérienne d'*E. coli* et de la consommation d'antibiotiques en milieu communautaire.**
S. Thibaut-Jovelin¹, A. Marquet¹, M. Coppy¹, A. Laude¹, J. Pivette², P. Donny², E. Michaud², G. Grandjean¹, J. Caillon^{1,3}, F. Ballereau^{1,3}, MedQual, Réseau de laboratoires de biologie médicale¹
¹Centre MedQual ²Direction Régionale du Service Médical de l'Assurance Maladie (DRSM), Région Pays de la Loire ³EA 3826, Université de Nantes, Nantes, France
- 570 Analyse des bactériémies à *E. coli* sur une période de 3 ans dans un centre hospitalier général (CHG).**
S. Nguyen^{1,2}, O. Oddoux¹, S. Dekeyser¹, E. Beclin¹, F. Dufosse¹, D. Descamps¹
¹CH Germon et Gauthier, Béthune ²CH Tourcoing, Tourcoing, France
- 571 Bactéries multi-résistantes dans les établissements français hébergeant des personnes âgées.**
C. Arpin, L. Coulange-Mayonnove, P. Ramirez, C. André, C. Quentin, Les membres du Réseau Epiville-France
CNRS UMR 5234, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France
- 572 Épidémiologie moléculaire des souches d'*Enterobacter cloacae* productrices de bétalactamases à spectre élargi dans les hôpitaux de la ville d'Annaba (Algérie).**
S. Nedjai², D. Barguigua³, M. Timinouni³, M. Dekhil¹
¹Département de pharmacie, Faculté de médecine d'Annaba ²Microbiologie, Société algérienne de microbiologie, Annaba, Algérie ³Département de recherches, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

- 573 Caractérisation moléculaire des souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE (Tlemcen-Algérie).**
Z. Baba Ahmed-Kazi Tani¹, D. Decré^{4,3}, N. Genel⁴, Z. Boucherit-Otmani¹, M. Drissi¹, G. Arlet^{4,2}
¹Laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique », Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaïd, Tlemcen, Algérie ²Service de Bactériologie, Hôpital Tenon, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris ³Service de Microbiologie, Hôpital Saint-Antoine, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris ⁴Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Faculté de Médecine, Département de Bactériologie, Paris, France
- 574 Sensibilité d'*Escherichia coli* aux quinolones et aux céphalosporines de troisième génération dans les infections urinaires communautaires : étude AFORCOPI-BIO 2011.**
D. de Mouy², F. Janvier³, A. Mérens³, J.P. Arzouni¹, J.P. Bouilloux¹, N. Dinnat-Courtiols¹, A. Dubouix-Bourandy¹, R. Fabre¹, P. Gontier¹, N. Grillet¹, C. Noël¹, G. Payro¹, J. Pfeffer¹, J. Thierry¹
¹Groupe AFORCOPI-BIO ²LABM Claude Bernard, Paris ³Service de bactériologie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France
- 575 Identification moléculaire des β -lactamases à spectre étendu des entérobactéries chez des porteurs asymptomatiques en milieu communautaire tunisien.**
S. Rachid, C. Harchay, A.B. Othman, H. Battikh Maaouia, M. Zribi, A. Masmoudi, C. Fendri
 Microbiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie
- 576 EBLSE en EHPAD : épidémiologie moléculaire de 17 cas groupés.**
G. Manquat¹, F. Robin², D. Luu Duc¹, L. Pouré¹
¹FéMÉRIS, Chambéry ²Laboratoire associé BLSE/Céphalosporinases, Centre national de référence de la résistance aux antibiotiques, Clermont-Ferrand, France
- 577 Infections à entérobactéries productrices d'une bêta-lactamase à spectre étendu dans un hôpital pédiatrique à Marrakech (Maroc).**
N. Soraa¹, M.F. Maouainine², N. Slitine², Y. Mouaffak³, S. Younous³, A. Abouaad², L. Chabaa¹
¹Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Mère Enfant, CHU Mohamed VI Marrakech, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marrakech ²Hôpital Mère Enfant, CHU Marrakech, Service de néonatalogie ³Hôpital Mère Enfant, CHU Marrakech, Service de Réanimation pédiatrique, Marrakech, Maroc
- 578 Bactéries multi-résistantes au CHU de Tizi-Ouzou en 2011 et leur évolution de 2006 à 2011.**
A. Azzam, D. Haouchine, Y. Chenafi, N. Achir, A. Belkacem, K. Harcheb, F. Younes, A. Ait-Ameur
 Microbiologie-parasitologie, CHU de Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou, Algérie
- 579 Épidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE) au CHU de Batna (Algérie), 2009-2012.**
A. Kassah-Laouar
 Microbiologie, CHU - Faculté de médecine de Batna, Batna, Algérie
- 580 Évolution des pratiques de dépistage des bactéries multi-résistantes (BMR) au sein des hôpitaux : comparaison des enquêtes de 2001 et 2011.**
O. Bellon^{1,2}, R. Sanchez³, Collège de Bactériologie, Virologie, Hygiène Des Hôpitaux (COLBVH)
¹Bactériologie, Centre hospitalier du pays d'Aix, Aix-en-Provence ²Brignoles ³Centre hospitalier, Périgueux, France
- 581 BLSE animales : première description chez *Proteus mirabilis*.**
S. Dahmen, J. Madec, M. Haenni
 Bactériologie, Anses, Lyon, France
- 582 BLSE animales : première description à partir d'une mammite bovine en Tunisie.**
R. Grami¹, S. Dahmen¹, W. Mansour², M. Haenni¹, M. Aouni², J. Madec¹
¹Bactériologie, Anses, Lyon, France ²Laboratoire des Maladies Transmissibles et Substances Biologiquement Actives, Faculté de Pharmacie, Monastir, Tunisie
- 583 Caractérisation moléculaire de souches d'*E. coli* aviaires productrices de BLSE, isolées de la région Centre d'Algérie.**
N. Meguenni², L. Le Devendec⁴, E. Jouy⁴, S. Bounar-Kechih³, R. Bakour¹, I. Kempf⁴
¹Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Bab-Ezzouar, Alger ²Département de Biochimie Microbiologie faculté des Sciences biologiques et Agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou ³Laboratoire vétérinaire régional de Draa Ben Khedda, Wilaya De Tizi Ouzou, Algérie ⁴Unité Mycoplasmatologie -Bactériologie, Anses, laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Ploufragan, France
- 584 Évolution de l'antibiorésistance chez les *E. coli* isolés d'infections chez la volaille - RESAPATH.**
E. Jouy², C. Chauvin², L. Le Devendec², O. Balan², E. Gay¹, J.Y. Madec¹, I. Kempf²
¹Anses - Laboratoire de Lyon, Lyon ²Anses - Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Ploufragan, France

- 585 **Caractérisation des souches de *Escherichia coli* productrices des β -lactamases à spectre étendu dans les effluents communautaires et hospitaliers.**

C. Bréchet, J. Plantin, M. Thouverez, P. Cholley, D. Hocquet, X. Bertrand
Laboratoire d'Hygiène hospitalière, Hôpital Jean Minjot, Besançon, France

HALL PIERRE CURIE

AFFICHE
Poster

95A

Acinetobacter, pseudomonas

Acinetobacter, pseudomonas

- 586 **Épidémiologie des β -lactamases à spectre élargi (BLSE) et des carbapénèmases chez *Pseudomonas aeruginosa* sur l'île de la Réunion.**
K. Jeannot¹, O. Belmonte², D. Fournier¹, R. Robert-Nicoud¹, E. Müller¹, P. Plésiat¹
¹Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, CHRU de Besançon, Besançon ²CHU de la Réunion site Félix Guyon, Laboratoire de Microbiologie, Saint-Denis de La Réunion, France
- 587 **Infections à *Pseudomonas aeruginosa* producteur de β -lactamase à spectre étendu SHV-2a.**
D. Moissenet⁴, G. Leverger³, C. Pourcel², A. Mérens⁵, D. Fournier¹, K. Jeannot¹, H. Vu-Thien⁴
¹CNR Résistance aux Antibiotiques, CHRU, Besançon ²Université Paris Sud Institut de génétique et microbiologie, Orsay ³Service d'Onco-Hématologie ⁴Unité de Bactériologie, Hôpital Trousseau, Paris ⁵Laboratoire de Biologie, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint-mandé, France
- 588 **First characterization in Tunisia of a GES-11, extended-spectrum β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* isolate.**
H. Chih², A. Bourouis², S. Mahrouki², E. Miro¹, M. Ben Moussa³, F. Barguelli³, P. Coll¹, F. Navarro¹, O. Bel Hadj²
¹Service de Microbiologie, Hôpital de Santa Creu i Sant Pau, Département de Génétique et de Microbiologie, Université Autònoma, Barcelone, Espagne ²Laboratoire de Biochimie et de Technobiologie, Faculté des Sciences de Tunis ³Service de Bactériologie, Hôpital Militaire, Tunis, Tunisie
- 589 **Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies dans le nouveau centre de traumatologie et grands brûlés en Tunisie.**
L. Thabet
Bactériologie, Laboratoire de biologie clinique, centre de traumatologie et grands brûlés Ben Arous, Tunis, Tunisie
- 590 **Impact de l'ajout d'azithromycine au traitement par ciprofloxacine d'une infection en biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*.**
E. Fiaux³⁻², M. Pestel-Caron³⁻¹, F. Caron³⁻², M. Etienne³⁻²
¹Service de Bactériologie ²Service des Maladies Infectieuses, CHU Charles Nicolle ³Laboratoire GRAM, EA2656, Faculté de Médecine, Rouen, France
- 591 **Mutations ribosomales, résistance et virulence chez *Pseudomonas aeruginosa*.**
C. Muller¹, P. Plésiat¹, M. Robert-Nicoud¹, E. Muller¹, I. Attrée², K. Jeannot¹
¹Laboratoire de Bactériologie, Université de Franche-Comté, EA4266, Besançon ²Biologie du cancer et de l'infection, RTSV-CEA, Grenoble, France
- 592 **Évolution de la résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* de 2001 à 2011.**
C. Slekovec¹, D. Hocquet¹, J. Robert⁵, D. Trystram⁵, J.M. Delarbre³, A. Mérens⁶, Y. Costa², J. Caillon⁴, P. Plésiat¹, X. Bertrand¹
¹CHU Besançon, Besançon ²CH Lagny, Lagny ³CH Mulhouse, Mulhouse ⁴CHU Nantes, Nantes ⁵CHU Pitié-Salpêtrière, Paris ⁶HIA Bégin, St-Mandé, France
- 593 **Bactéries multirésistantes émergentes chez les blessés libyens du *Benghazi Medical Center* et chez ceux transférés dans les hôpitaux franciliens à l'occasion du conflit armé de 2011 en Libye.**
L. Epelboin³⁻¹, F. Bastides⁴⁻¹, J. Shakhi⁵, S. Fayrouz⁵, S. Renard-Dubois², B. Leroux¹, F. Bricaire³
¹Établissement de Préparation et de Réponse aux Urgences Sanitaires (EPRUS), La Plaine Saint-Denis ²Agence régionale de Santé d'Île-de-France ³Maladies Infectieuses et Tropicales, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière - AP/HP, Paris ⁴Centre Hospitalier Régional Universitaire Bretonneau, Tours, France ⁵Benghazi Medical Center, Benghazi, Libye
- 594 ***Acinetobacter baumannii* : évolution, répartition et résistance aux antibiotiques des souches isolées de 2007 à juin 2012.**
M. Benredouane, A. Belloui, W. Amhis
Laboratoire central de biologie, Hôpital Bologhine Ibn Ziri, Alger, Algérie

Streptocoques
Streptococcus

- 595** Apport de la PCR *vanA/vanB* sur GeneXpert® (Cepheid) dans le suivi des cas contacts d'un patient porteur d'*Enterococcus faecium vanA*.
A. Scanvic¹, B. Lefalher², S. Grandin², F. Leman²
¹Bactériologie ²EOHA, CH V. Dupouy, Argenteuil, France
- 596** *Streptococcus pyogenes* meningitis in adults : report of 42 cases occurred in France.
N. Maataoui³, C. Plainvert¹⁻³⁻⁴⁻², A. Doloy¹, N. Dmytruk¹, G. Touak¹, G. Collobert¹, J. Loubinoux¹⁻³, P. Trieu-Cuot⁵, A. Bouvet¹⁻³, C. Poyart¹⁻⁴⁻²⁻³⁻⁵
¹Centre National de Référence des Streptocoques (CNR-Strep), Groupe Hospitalier Cochin Hôtel-Dieu Broca, Assistance Publique Hôpitaux de Paris ²CNRS, UMR 8104 ³Faculté de Médecine, Université Paris Descartes ⁴INSERM 1016, Institut Cochin ⁵Institut Pasteur, Paris, France
- 597** Évaluation d'une nouvelle technique de dépistage rapide du streptocoque B en *perpartum*.
B. Mottet-Auselo¹, S. Curinier², R. Bonnet¹⁻³, D. Gallot², L. Gibold¹⁻³
¹Laboratoire de Bactériologie ²Service de Gynécologie Obstétrique, CHU Clermont-Ferrand ³INSERM U1071 INRA USC2018, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France
- 598** Évaluation du test Xpert® GBS pour la détection rapide de *Streptococcus agalactiae* chez les femmes enceintes présentant une rupture prématurée des membranes à terme.
N. Bourgeois-Nicolaos², A.G. Cordier³, C. Guillet-Caruba², A. Benachi³, F. Casanova², F. Doucet-Populaire²⁻¹
¹EA4043, USC INRA, Université Paris Sud, Chatenay-Malabry ²Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béchère, HUPS, AP-HP ³Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine-Béchère, Clamart, France
- 599** Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* (SP) en Ile-de-France-Est sur 10 ans.
M.C. Demachy¹, F. Faibis¹, E. Varon³, Groupe des Microbiologistes de l'ORP Ile-de France Est²
¹Laboratoire de microbiologie, CH Meaux ²ORP IDF Est, Meaux ³CNR des pneumocoques, HEGP, Paris, France
- 600** Epidémiologie des types emm de *streptococcus pyogenes* dans les pathologies invasives et non invasives de l'enfant par PCR HRM (High Resolution Melting) et actualisation des données de la résistance aux macrolides.
C. D'humieres², P. Bidet², C. Levy³, S. Béchet³, S. Bonacorsi², S. Liguori², R. Cohen¹, E. Bingen²
¹Microbiologie, Centre Hospitalier de Créteil, Créteil ²Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris ³Association Clinique et Thérapeutique du Val-de-Marne (ACTIV), Saint-Maur-des-Fossés, France
- 601** *Streptococcus pyogenes* emm89 : investigation d'un cluster de bactériémies diagnostiquées en Indre-et-Loire.
E. Haguenoer³, F. Deperrois², V. Morange⁶, B. Cattier¹, P. Laudat⁴, V. Salaun³, N. Girard⁵, N. Van Der Mee-Marquet⁵⁻⁶
¹Amboise ²Centre Hospitalier, Chinon ³Clinique St-Gatien ⁴Laboratoire d'Analyses Médicales ⁵Réseau des Hygiénistes du Centre, Centre Hospitalier Universitaire ⁶Service de Bactériologie et Hygiène, Centre Hospitalier Universitaire, Tours, France
- 602** Expression particulière de la résistance constitutive aux macrolides chez les souches cliniques de *Streptococcus agalactiae* possédant le gène *erm(A)*.
S. Dahyot², H. Chardon¹, A. Broyelle², N. Brieu¹, R. Leclercq²
¹CH du Pays d'Aix, Aix-en-Provence ²CHU de Caen, Caen, France
- 603** Broad host range transferable high-level gentamicin resistance in group B *Streptococcus*.
A. Tazi¹⁻²⁻³, A. Firon⁴, H. Réglie-Poupet¹⁻², N. Dmytuck¹⁻², M. Longo³⁻¹, P. Trieu-Cuot⁴, C. Poyart³⁻¹⁻²⁻⁴
¹Centre National de référence des Streptocoques ²Groupe Hospitalier Cochin, Faculté de Médecine René Descartes, Université Paris 5 ³INSERM, U1016 ⁴Institut Pasteur, Paris, France

Pneumocoques
Pneumococci

- 604 Diminution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées d'infections invasives en France entre 2005 et 2011 : résultats des Observatoires régionaux du pneumocoque (ORP).**
M. Kempf^{1,2}, A. Gravel^{3,2}, R. Baraduc², M. Brun², H. Chardon², J. Cremniter², J. Croizé², F. Dalmy², M.C. Demachy², F. Eb², T. Fosse², C. Grelot², T. Hadou², P. Lanotte², S. Luce², S. Mermond², I. Patry², A. Péchinot², J. Raymond², A. Ros², C. Segonds², B. Soullié², D. Tandé², M. Vergnaud², V. Vernet Garnier², F. Wallet², A. Lepoutre⁵, L. Gutmann⁴, E. Varon⁴, M.C. Ploy²
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU d'Angers, Angers ²Observatoires Régionaux du Pneumocoque, CHU de Limoges, Limoges ³Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Emile Muller, Mulhouse ⁴Centre National de Référence du Pneumocoque (CNRP), AP-HP HEGP, Paris ⁵Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France
- 605 L'évolution des sérotypes vaccinaux (PCV-7, PCV-13) de souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine.**
H. Drugeon¹, A. Michaud-Nerard¹, N. Marty²
¹Drug R&D, Beaucoze ²Institut Fédératif de Biologie, Toulouse, France
- 606 Sensibilité aux β -lactamines invasives de *Streptococcus pneumoniae* (SP) et de souches de pus d'otite d'enfant (OMA) isolées de 1995 à 2011 dans l'ORP Picardie.**
F. Hamdad², G. Laurans², M.T. Albertini², Z. Benchikh², M. Bouquigny², A. Brocard², M. Demange², J.P. Emond², A.S. Goetgheluck², J. Heurte², P. Lemaître², J.P. Thellier², J.L. Régnier², A. Sueur², E. Varon¹
¹CNRP, Paris ²ORP, Picardie, France
- 607 Significant increase in penicillin resistance in Belgian non-invasive clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Survey of antimicrobial resistance rates in isolates collected during winter 2011-2012.**
R. Vanhoof¹, S. Bertrand¹, F. Fux¹, J. Van Eldere², J. Verhaegen², The Belgian Sp Study Group¹
¹Bactériologie, Institute of Public Health, Bruxelles ²Microbiologie, University Hospital Gasthuisberg KUL, Leuven, Belgique
- 608 Observatoire régional du pneumocoque en Nord-Pas de Calais : résistance de *Streptococcus pneumoniae* en 2011.**
A. Charlet¹, B. Dumoulaud², D. Descamps², C. Cattoen², A. Vachée², A. Verhaeghe², S. Samaille², A. Decoster², J.G. Paul², M.N. Noullard², M. Menouar², P. Patoz², S. Hendrick², M. Vasseur², J.M. Pannecouck², C. Rolland², R. Courcol¹, F. Wallet¹
¹Service de Bactériologie, Institut de Microbiologie, Centre de Biologie Pathologie, Lille ²Biologistes des Hôpitaux Généraux, Nord Pas De Calais, France
- 609 Observatoire régional du pneumocoque en région Pays de la Loire : résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en 2011.**
M. Kempf^{1,2}, G. Auger^{1,2}, V. Cassisa^{1,2}, P. Andorin², G. Bonnaudet², S. Bourdon², G. Cheviet², J.Y. Darreau², G. de Gastines², D. Jan², E. Jaouen², M.E. Juvin², F. Joubert², M. Langeard², C. Le Brun², J.Y. Le Reste², B. Lureau², E. Mir², P. Morvan², M. Mozas², C. Varache², M. Eveillard^{1,2}, M.L. Joly-Guillou^{1,2}
¹Bactériologie, Laboratoire de Bactériologie, Angers ²Observatoire Régional du Pneumocoque, Région Des Pays De La Loire, France
- 610 Observatoire régional du pneumocoque en région Centre : évolution de la résistance aux antibiotiques en 2011.**
E. Baticle¹⁴, A.L. Toyer¹⁴, P. Amirault¹⁵, M.N. Bachelier³, L. Bret¹⁰, B. Cattier¹, C. Chandèsris⁹, V. Chieux⁴, G. Courouble⁶, A.S. Domelier¹³, J.L. Graveron⁸, J. Guinard¹⁰, E. Haguenoer¹², P. Harriau¹¹, A. Holstein¹², C. Hombrouck-Alet², M.J. Kourta⁵, M.F. Lartigue¹³, A. Secher⁷, A. Goudeau¹⁴, P. Lanotte¹⁴
¹Laboratoire, CHIC Amboise Château-Renault, Amboise ²Laboratoire, CH Blois, Blois ³Laboratoire, CH Jacques Coeur, Bourges ⁴Laboratoire, CH Fontenoy, Chartres ⁵Laboratoire, CH Chateaudun, Chateaudun ⁶Laboratoire, LABM Lescaoux, Chateauroux ⁷Laboratoire, CH Jousselin, Dreux ⁸Laboratoire, LABM Graveron, Fleury Les Aubrais ⁹Laboratoire, CH Montargis, Montargis ¹⁰Laboratoire de Microbiologie, CHR Orléans, Orléans ¹¹LABM, St-Amand Monrond ¹²LABM Arnaud ¹³Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Trousseau ¹⁴Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Hopital Bretonneau, Tours ¹⁵Laboratoire, CH Vierzon, Vierzon, France
- 611 Évolution de la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques : résultats de l'Observatoire régional du pneumocoque Alsace-Année 2011.**
G. Camdessoucs-Miehé⁸, A.R. Peluso⁸, L. Walther⁸, P. Barrand⁹, A. Boullenc⁹, S. Cron⁶, D. de Briel¹, J.M. Delarbre³, J.L. Flipo⁵, I. Glatz⁴, I. Grawey¹, T. Gueudet⁷, A. Heidt², V. Herzig⁹, F. Jehl¹⁰, C. Lemble⁵, I. Mahoudeau⁷, V. Murbach¹⁰, C. Rieder⁷, M. Soller¹⁰, F. Tytgat⁴, A. Gravel⁶
¹CH Colmar ²CH Haguenau ³CH Mulhouse ⁴CH Saverne ⁵CH Sélestat ⁶CH Wissembourg ⁷LABM, Colmar ⁸Centre Coordinateur ORP Alsace, Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Emile Muller, Mulhouse ⁹LABM ¹⁰Laboratoire de Bactériologie, CHRU, Strasbourg, France

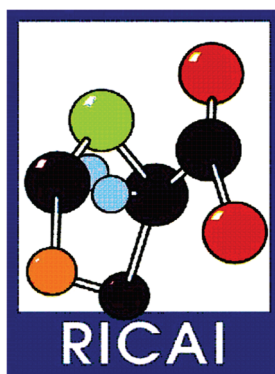
- 612 Évolution de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques en Limousin. Résultats de l'Observatoire régional du pneumocoque.**
 C. Grelaud⁸, C. Aupetit⁹, X. Balavoine⁷, O. Barraud⁸, F. Colas¹¹, D. Chagnaud¹⁰, P. Chambon³, J. Darreye⁴, F. Garnier⁸, P.Y. Guillot⁹, N. Hidri⁸, I. Lacherade⁶, C. Lemaire⁹, C. Martin⁸, T. Menard⁷, D. Merino³, D. Pressac¹², C. Rebeyrotte¹, O. Sevin⁵, A. Sommabere², M. Trazit¹³, F. Denis⁸, M.C. Ploy⁸
¹Bourganeuf ²CH Brive ³LABM, Couzeix ⁴CH Guéret ⁵LABM, La Souterraine ⁶Bactériologie, CHU ⁷Limoges ⁸St Junien ⁹LABM, St Yrieix La Perche ¹⁰CH, Tulle ¹¹LABM, Ussel, France
- 613 Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* en Champagne-Ardenne : 10 ans de suivi de 2001 à 2011.**
 V. Vernet Garnier⁶, J. Madoux⁶, T. Guillard⁶, L. Brasme⁶, O. Bajolet⁶, C. Alba³, C. Auvray², I. Baudinat¹, P. Bineau⁸, J.M. Garnier⁷, C. Lafaurie⁴, D. Simeon⁵, M. Thouvenin⁹, C. de Champs⁶
¹CH Chalons en Champagne, Chalons en Champagne ²CH Charleville-Mézières et Sedan, Charleville-Mézières ³CH Chaumont, Chaumont ⁴CH Epernay, Epernay ⁵CH Langres, Langres ⁶CHU Robert Debré ⁷LABM Gillard, Reims ⁸CH Saint-Dizier, Saint-Dizier ⁹CH Troyes, Troyes, France
- 614 Résistance aux antibiotiques et sérotypie du pneumocoque de 1995 à 2011 dans l'Observatoire régional du pneumocoque Provence (ORPP).**
 N. Brieu¹, E. Lagier¹, C. Pachetti¹, J. Gallou¹, N. Azas⁸, A. Benkemoun⁸, T. Bensaid², C. Bosi³, P. Brisou¹⁸, P. Brunet¹², I. Butin⁹, S. Camiade¹³, M.C. de Barbentane⁴, J.M. Ferryn¹³, M. Fullet⁶, T. Gaillard¹⁸, E. Garnotel¹¹, G. Imbert¹⁷, A. Merabet¹⁰, A. Michel¹², V. Negre¹⁵, C. Payen⁵, J. Perretti⁹, A. Raoult⁷, P. Rousselier¹⁶, D. Sansot¹⁷, P. Stolidi³, A. Toro¹⁵, L. Zangoli¹⁴, H. Chardon¹
¹CH du pays d'Aix ²LABM Tonin, Aix-en-Provence ³CH d'Aubagne, Aubagne ⁴CH d'Avignon, Avignon ⁵CH de Brignoles, Brignoles ⁶CH de Cavaillon, Cavaillon ⁷CH de Hyères, Hyères ⁸CH la Ciotat, La Ciotat ⁹LABM Manosque, Manosque ¹⁰Clinique Clairval ¹¹HIA de Laveran ¹²Hôpital Saint-Joseph ¹³LABM Alpha-bio ¹⁴LABM Langlais, Marseille ¹⁵CH de Martigues, Martigues ¹⁶CH de Salon de Provence, Salon de Provence ¹⁷CH de la Musse ¹⁸HIA de Toulon, Toulon, France
- 615 Activité *in vitro* des antibiotiques vis-a-vis de souches de *Streptococcus pneumoniae* (SP) isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine en 2011/2012 : analyses globale et régionale.**
 H. Drugeon¹, A. Michaud-Nerard¹, N. Marty²
¹Drug R&D, Beaucauze ²Institut Fédératif de Biologie, Toulouse, France
- 616 Activité *in vitro* des antibiotiques vis-a-vis des souches de *Streptococcus pneumoniae* (SP) isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine depuis 2002.**
 H. Drugeon¹, A. Michaud-Nerard¹, N. Marty²
¹Drug R&D, Beaucauze ²Institut Fédératif de Biologie, Toulouse, France

RÉSUMÉS SESSIONS ORALES

Cette section contient les résumés des sessions orales libres ainsi que les résumés des sessions invitées (sessions en partenariat, symposiums) qui nous sont parvenus à la date de mise sous presse

ABSTRACTS FOR ORAL SESSIONS

This section contains the free papers for oral sessions, and the abstracts for invited speakers session (joint sessions, symposium) received before publication



Caractéristiques des alertes à *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème dans les hôpitaux de l'AP-HP.

M. Lepointeur, M. Huang, C. Monteil, V. Jarlier, S. Fournier
Équipe Opérationnelle d'Hygiène, Direction de la politique médicale, AP-HP, Paris, France

Objectif : Depuis 2001, le signalement externe de certaines infections nosocomiales, rares ou sévères, est obligatoire dans les établissements de santé. Cette étude décrit les caractéristiques des signalements impliquant un *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème (ABRI) au sein des 39 hôpitaux de l'Assistance Publique – Hôpitaux de Paris.

Méthode : De 2005 à 2011, un recueil des caractéristiques de chaque alerte impliquant un ABRI a été effectué de façon prospective : lieu d'admission, lien avec l'étranger, survenue de cas secondaires, enzymes impliquées.

Résultats : Depuis 2005, 77 alertes impliquant des ABRI ont été recensées. Elles sont réparties dans 15 hôpitaux de court séjour. Le nombre d'alertes a été multiplié par 8 entre 2005 et 2011.

Parmi ces alertes, 45 (58%) ont concerné un patient ayant un lien avec l'étranger dont 39 (87%) patients rapatriés et 4 (9%) avec des antécédents d'hospitalisation à l'étranger. Les pays du Maghreb étaient les plus souvent impliqués dans ces alertes (19 alertes). Parmi les 34 alertes dans lesquelles le mécanisme de résistance à l'imipénème était décrit, il s'agissait d'une résistance par mécanisme enzymatique dans 29 cas (85%), dont 22 OXA-23 et 2 OXA-94, et d'une résistance par imperméabilité dans 5 cas (15%). Les principales spécialités touchées étaient la réanimation (60 alertes) et la chirurgie (10 alertes). Au total, 223 patients ont été concernés par ces alertes. Seuls 30% des patients ont développé des infections. 37 alertes correspondaient à une épidémie (3 en 2005, 13 en 2011). Ces 37 épidémies ont impliqué 5 cas en moyenne (2 à 14 cas). Une diminution du nombre moyen de cas par épidémie a été observée entre 2007 (10 cas) et 2011 (4 cas). Près de 90% des épidémies ont eu lieu en réanimation (34 épidémies/60 alertes), 10% en chirurgie (3 épidémies/10 alertes) et aucune en médecine (0/7 alertes).

Conclusion : Le nombre d'épidémies impliquant un ABRI est croissant. Le nombre moyen de cas par épidémie diminue depuis 2007. L'accent sur la prévention de la diffusion doit être mis principalement dans les services de réanimation, lieu de survenue des épidémies et des infections graves.

Évaluation de la qualité de la prise en charge hospitalière des infections à *Clostridium difficile* (ICD) 3 ans après une épidémie régionale.

C. Mortier-Deswarte¹, A. Boruchowicz², N. Ettahar², M.C. Chopin², F. Canis²
¹Polyclinique de Grande Synthe, Grande-Synthe ²Centre Hospitalier de Valenciennes, Valenciennes, France

Objectif : Évaluer 3 ans après l'épidémie régionale, la prise en charge diagnostique et thérapeutique des patients hospitalisés pour une ICD au Centre Hospitalier de Valenciennes.

Patients et méthodes : L'évaluation, rétrospective, a porté sur 157 dossiers de patients hospitalisés entre 2008 et 2010 avec ICD. Nous avons étudié :

1. le délai entre le début des signes cliniques, la recherche d'ICD et le traitement,
2. la réponse au traitement et en cas de non réponse la date de la réévaluation thérapeutique,
3. la sévérité des patients en fonction des recommandations internationales et en fonction du score ATLAS*,
4. la durée d'hospitalisation,
5. la mortalité à 30 jours.

Résultats : L'âge moyen des patients était de 75 ans (ratio H/F 0,78). Le traitement a été instauré 5,4 jours (IQR [0; 6]) après le début de la diarrhée. Un imidazole a été prescrit en première intention dans 95% des cas. Une forme sévère selon les recommandations françaises, européennes et américaines a été observée chez respectivement 46%, 45%, et 32% des patients. La réponse clinique sous métronidazole dépendait de la sévérité ($p < 0,05$). Après 5j de traitement une absence de réponse était observée chez 63 patients. Vingt ont bénéficié d'une modification de traitement (31%). Dans les 30 jours après le diagnostic 28% des patients étaient décédés. La durée moyenne de séjour était de 56 jours. Le score ATLAS des patients et la mortalité étaient corrélés ($p < 0,05$).

Conclusion : Les ICD dans notre hôpital concernent une population âgée avec comorbidités. Près de la moitié des patients présentaient une forme sévère et la mortalité était de 28%. Une nouvelle démarche diagnostique a été instaurée afin d'améliorer les performances du dépistage. Aussi, une meilleure évaluation initiale de la sévérité et une réévaluation rapide du traitement pourraient permettre une amélioration du pronostic.

*M. Miller, ICAAC 2010.

Complications des instillations intravésicales de BCG dans le traitement du cancer urothélial de la vessie.

N. Ben Lasfar⁵, J.D. Pommier⁵, N. Van Grunderbeeck¹, C. Burdet², C. Laouénan², C. Rioux³, C. Pierre-Audigier⁶, A. Meybeck⁶, L. Choudat⁴, A. Benchikh³, S. Nguyen⁷, E. Bouvet⁶, P. Yeni⁵, Y. Yazdanpanah⁵, V. Joly⁵
¹CH de Lens, Lens ²INSERM UMR-S 738 Paris ³Service d'urologie ⁴Service de cyto-anatomopathologie ⁵Service de Maladies infectieuses et tropicales ⁶Service de microbiologie, CHU Bichat-Claude-Bernard, Paris ⁷Service de Maladies infectieuses et tropicales ⁸Service de réanimation, CH de Tourcoing, Tourcoing, France

Objectif : Décrire les complications des instillations intravésicales de BCG dans le traitement du cancer urothélial de la vessie et leur prise en charge.

Matériels et méthodes : Étude descriptive avec analyse rétrospective des dossiers de patients ayant présenté des complications suite à une instillation intravésicale de BCG pour un cancer de vessie, au Centre Hospitalier de Tourcoing, Lille et Bichat-Claude Bernard.

Résultats : Vingt-deux patients d'âge médian de 68 ans ont été inclus dont 20 ont été hospitalisés avec une durée médiane de 10 jours. Les symptômes sont survenus après un nombre médian de 5 cures de BCG thérapie et un délai médian de 24 heures [1-90 jours] après le début de la cure. Les signes cliniques notés étaient une fièvre ($n=20$), une altération de l'état général ($n=14$), une dyspnée ($n=7$) et une défaillance hémodynamique ($n=6$). Vingt et un patients avaient une atteinte d'organe : une miliaire ($n=11$), une atteinte hépatique ($n=13$), une insuffisance rénale ($n=9$), une arthrite ($n=2$), une épithéliose ($n=2$), un abcès du psoas, une spondylodiscite, un abcès pancréatique et un abcès testiculaire. Les anomalies biologiques notées étaient une hyperleucocytose (leucocytes $> 9000/\mu\text{L}$) ($n=5$), une leucopénie (leucocytes $< 4000/\mu\text{L}$) ($n=5$), une thrombopénie (plaquettes $< 150000/\mu\text{L}$) ($n=5$) et une CRP ($> 6\text{mg/L}$) ($n=16$) avec une médiane de 83 mg/L. L'examen microbiologique réalisé chez 17 patients retrouvait des BAAR au direct dans 3 cas dont 2 avec une culture positive à *Mycobacterium bovis*. Un autre patient avait une PCR M Bovis positive sur la moelle osseuse. Un granulome épithélioïde a été retrouvé chez 9 des 10 patients prélevés. Un traitement a été instauré avec un délai médian de 12 jours chez 17 patients par isoniazide (I) seul ($n=2$), I et Rifampicine (R) ($n=2$), I, R et Ethambutol (E) ($n=10$) et I, R, E et Pyrazinamide ($n=3$) pour une durée médiane de 6 mois [1-16 mois]. Onze ont reçu une corticothérapie associée. Après l'introduction du traitement, le délai médian d'apyrexie et de résolution des symptômes était respectivement de 7 et 12,5 jours. Un décès a été noté en rapport avec la BCG thérapie.

Conclusion : Les complications de la BCG thérapie peuvent être sévères avec 95% d'atteintes d'organes dans cette série. Le traitement antimycobactérien est efficace mais ses modalités et indications doivent être précisées.

Plaies et risque infectieux en EHPAD : cas groupés d'infections invasives à *Streptococcus pyogenes* (SGA).

E. Martin¹, G. Grise¹, A. Bouvet², J.M. Germain³
¹CHI Elbeuf-Louviers, Elbeuf ²Centre national de référence des Streptocoques, Paris ³Arlin, Rouen, France

Objet : Le programme national 2011/2013 de prévention des infections en secteur médico-social mobilise les EHPAD dans leur démarche d'analyse de ce risque. Le risque de transmission croisée du SGA en EHPAD est peu documenté en France alors que plus de 10% des résidents présentent des plaies selon l'enquête européenne de 2010. Nous rapportons 2 épidémies d'infections invasives à SGA survenues en EHPAD.

Méthode : Notre centre hospitalier (CHI) comprend 477 lits d'EHPAD sur 5 résidences dans 3 communes. L'EOH intervient dans ces structures depuis 2001 et surveille depuis 2004 toutes les infections invasives à SGA du CHI à partir des données du laboratoire avec recueil d'informations sur les circonstances de l'infection. Toute souche invasive est envoyée au CNR streptocoques.

Résultat : La 1ère « éclosion » de 4 cas s'est produite entre mai et août 2007, avec jusqu'à 65 jours d'intervalle entre 2 cas, comprenant 2 septicémies sur érysipèle nécessitant l'hospitalisation et 2 surinfections de plaies. Les 4 patients présentaient des plaies chroniques ou traumatiques surinfectées à SGA. Les 4 souches de SGA étaient génétiquement reliées (*pulsotype* 89-A3, *sérotypage* T3/13/B3264, productrices de toxine SpeB). La 2e « éclosion » a été détectée en 2011 dans un autre EHPAD, entre avril et juillet: 4 septicémies nécessitant l'hospitalisation, 3 associées à un érysipèle sur plaie chronique et une liée à une infection d'une plaie d'amputation. Les 4 souches étaient identiques (*pulsotypes* *emm28-B10* productrices de toxines B et C et de l'enzyme SmeZ). Les 2 épidémies ont fait l'objet d'un signalement et

d'investigations avec l'expertise du CCLIN, ARLIN, CNR et InVs. A partir des enquêtes et audits de pratiques menés autour de ces cas, des hypothèses ont été retenues sur la transmission du SGA lors de la réfection des pansements. Aucun nouveau cas n'a été détecté après la mise en place des mesures correctrices.

Conclusion : En cas d'infection d'un résident à SGA, le risque de transmission croisée lors de la réfection des pansements est à prendre en compte. La détection des cas groupés est difficile en raison des mouvements des patients et du délai entre les cas.

5/1o 22/11/2012 - 10:00 - APOLLINAIRE 2

Taux de succès élevés avec daptomycine dans le traitement des patients atteints de sepsis : résultats EU-CORE (European Cubicin® Outcomes Registry and Experience).

F. Camou², B. Mourvillier³, P. Dohmen¹, P. Gargalianos-Kakolyris⁴, au nom des investigateurs Eucore

¹Hôpital, Berlin, Allemagne ²CHU, Bordeaux ³AP-HP, Paris, France ⁴Hôpital, Athènes, Grèce

Objectifs : Les pathogènes à Gram+ (G+) sont fréquemment impliqués dans le sepsis et les réponses inflammatoires systémiques chez patients (pt) hospitalisés. La daptomycine (DAP), est rapidement bactéricide contre les G+, sans induire de lyse cellulaire, une caractéristique intéressante pour le traitement (tt) des sepsis. Nous rapportons ici l'expérience clinique d'un tt par DAP chez les pts atteints de sepsis.

Méthodes : Les données ont été recueillies dans EU-CORE, étude multicentrique non-interventionnelle entre janvier 2006 et juin 2011. Les pts inclus avec un diagnostic de sepsis (défini par les investigateurs) au début du tt, ont été évalués cliniquement (guérison et/ou amélioration=succès, échec ou non évaluable). La sécurité d'emploi a été recueillie jusqu'à 30 jours après la fin du tt.

Résultats : Sur 302 pts présentant un sepsis, 65% d'hommes et 44% âge ≥65 ans. Avant tt, 52 pts (17%) avaient une clairance de la créatinine <30ml/min et 59 (20%) étaient dialysés. Une bactériémie rapportée chez 117 pts (39%), des infections compliquées de la peau et des tissus mous 61 pts (20%) et une endocardite 49 (16%). Les pathogènes les plus fréquents: *S. aureus* (28%, n=83; SARM n=40) et *S. epidermidis* (11%, n=34). La posologie de DAP était de 4mg/kg, 6 mg/kg et ≥8 mg/kg chez respectivement 17%, 53% et 14% des pts. Le taux de succès clinique était de 71% (43% guérison et 28% amélioration); le taux d'échec clinique 12% et non évaluables 17%. Le taux de succès clinique était de 56% à la dose de 4 mg/kg; 78% avec 6 mg/kg et 76% avec ≥8 mg/kg. Le succès clinique chez les pts infectés par *S. epidermidis* et *S. aureus* a été de 85% et de 72%, respectivement, avec des taux similaires indépendamment de la sensibilité à la méthicilline. Une élévation des CPK (>5-10 x LSN) a été signalée chez 3% des pts traités par DAP. Des événements indésirables (EI) pouvant être liés à DAP ont été signalés chez 6 pts (2%), 4 pts (1%) ont présenté des EI graves et 25 pts (8%) ont arrêté leur tt en raison d'EI sans rapport avéré avec DAP.

Conclusions : DAP a été bien tolérée avec des taux de succès >70% et 85% dans les sepsis à *S. aureus* et *S. epidermidis*, respectivement. Ces données sont en faveur de l'utilisation de DAP dans le tt des sepsis.

6/1o 22/11/2012 - 10:15 - APOLLINAIRE 2

Évaluation de la sécurité d'emploi d'un traitement à long terme par daptomycine à dose élevée (≥ 8 mg/kg/jour pendant plus de 2 ou 4 semaines) : résultats EU-CORE (European Cubicin® Outcome Registry and Experience).

C. Floriot⁴, L. Legout³, R. Utili⁶, P. Gargalianos-Kakolyris⁵, F. Nacinovich¹, B. Almirante-Gragera², au nom des investigateurs Eucore

¹Hôpital, Buenos Aires, Argentine ²Hôpital, Barcelone, Espagne ³CHG, Tourcoing ⁴CHI, Vesoul, France ⁵Hôpital, Athènes, Grèce ⁶Hôpital, Naples, Italie

Objectif : L'activité antibactérienne de la daptomycine (DAP) est dose-dépendante. Une dose élevée (≥ 8 mg/kg/j) de DAP (DAPH8) est souvent envisagée pour les infections difficiles à traiter (i.e biofilm) et en cas de charge bactérienne élevée. La sécurité d'emploi (SE) a été évaluée chez des patients (pts) ayant reçu un traitement (tt) par DAPH8 pendant plus de 2 semaines (2s).

Méthodes : Tous les pts ayant reçu des doses ≥ 8 mg/kg/j dans ce registre rétrospectif-non interventionnel ont été inclus. Les données relatives à la SE, y compris les événements indésirables (EI) et les EI graves (EIG), ont été évalués pour des périodes de traitement de 14 à 30j et >30j.

Résultats : Sur 230 pts traités par DAPH8 pendant plus de 2s, 219 ont reçu une dose comprise entre 8 et 10 mg/kg/j et 11 pts une dose >10mg/kg/j. La fréquence d'utilisation DAPH8 a augmenté entre 2006 et 2011 (3%, 8%, 12%

et 18% respectivement). 64% des pts étaient des hommes et l'âge médian était de 65 ans (9-94). En début et fin du tt par DAP-H8, 23 pts (10%) avaient une ClCr S aureus (38%; dont 19% de SARM) a été le pathogène le plus fréquemment isolé. La durée médiane du tt par DAP a été de 25j (14-120). DAP a été utilisée chez 28,3% de pts comme traitement empirique. Le taux de réussite clinique global a été supérieur avec le tt par DAP-H8 (88,7%) par rapport au reste de la population (80,2%). Des EI liés au tt par DAPH8 ont été rapportés chez 14 pts (6,1%) et 9 pts (3,9%) ont dû arrêter le tt. Aucun trouble musculo-squelettique ou lié aux tissus conjonctifs cliniquement significatif n'a été signalé. Le taux d'EIG liés à la DAP a été similaire chez les pts DAP-H8 (0,9%) et le reste de la cohorte (0,8%).

Conclusion : DAPH8 administrée pendant une période prolongée (>2s) a présenté un profil de SE favorable. Ce profil s'est avéré comparable pour les périodes de 14 à 30 jours et > 30 jours, confirmant les résultats d'études antérieures.

7/2o 22/11/2012 - 09:00 - APOLLINAIRE 6

Peut-on diminuer la sélection des entérobactéries hyperproductrices de céphalosporines en remplaçant la ceftriaxone par le céfotaxime ?

P. Grohs², S. Kerneis²⁻⁵⁻¹, B. Sabatier³, M. Lavollay², E. Carbonnelle², H. Rostane², G. Meyer¹⁻⁴, L. Gutmann², J.L. Mainardi²⁻⁵⁻¹

¹Comité des Anti-infectieux ²Service de Microbiologie ³Service de Pharmacie ⁴Service de Pneumologie ⁵Unité Mobile de Microbiologie Clinique, Hôpital Européen Georges Pompidou, Paris, France

Objet de l'étude : Chez les Entérobactéries, la résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) est le plus souvent liée à la production de β-lactamase à spectre étendu, mais également à l'hyperproduction d'une céphalosporinase de haut niveau (HN-CASE), généralement chromosomique. L'augmentation de la fréquence d'isolement des HN-CASE pourrait, en partie, être expliquée par l'élimination biliaire de la ceftriaxone (CRO), sélectionnant des souches résistantes au sein de la flore digestive (Muller *et al*, JAC 2004). Pour vérifier cette hypothèse, le comité des anti-infectieux de l'HEGP (COMAI) a préconisé le remplacement de la CRO par un antibiotique à élimination urinaire : le céfotaxime (CTX).

Méthodes : A partir de la base de données SIR, toutes les Entérobactéries provenant d'un prélèvement à visée diagnostique, et dont la sensibilité était diminuée pour au moins une C3G (sans synergie avec l'acide clavulanique), ont été catégorisées HN-CASE. Le nombre annuel de patients porteurs de HN-CASE a été rapporté au nombre de journées d'hospitalisation (JH) pour calculer l'incidence HN-CASE/1000JH. Les consommations d'antibiotiques, exprimées en journée de traitement évaluée (JTE) ont été extraites du logiciel de pharmacie PHARMA et colligées par année. Le COMAI a recommandé l'utilisation de la CRO de 2001 à 2005, et du CTX à partir de 2006.

Résultats : Entre 2001 et 2005 l'incidence des HN-CASE a régulièrement progressé de 0,32 à 0,69/1000JH. Durant cette période, les consommations de CRO et CTX étaient relativement stables (respectivement 15,3 à 21,5 vs 6,8 à 5,9 JTE/1000JH). La substitution de la CRO par le CTX a été constante entre 2006 et 2011 (respectivement 6,3 à 1,4 vs 18,1 à 32,0). Sur cette période, la consommation globale de l'ensemble des C3G et de l'ensemble des antibiotiques est restée stable. Une baisse encourageante de l'incidence des HN-CASE en 2006 par rapport à 2005 (0,61 vs 0,69) et une stabilisation en 2010-2011 (0,64 pour les 2 années) ont été observées. Cependant l'incidence a atteint le niveau record de 0,81 en 2011.

Conclusion : Sans tenir compte des résultats de 2011, le remplacement de la CRO par le CTX semble avoir stabilisé l'incidence des HN-CASE. Seules les données de 2012 (que nous présenterons à la RICAI) associées à celle de 2011, permettront de connaître la tendance et de confirmer ou d'infirmer ces résultats.

8/2o 22/11/2012 - 09:15 - APOLLINAIRE 6

Existe-t-il des alternatives aux carbapénèmes dans les infections à *Escherichia coli* productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (EcBLSE).

H. Guet-Revillet², A. Emirian¹, B. Nebbad¹, O. Join-Lambert², V. Jullien³, J.R. Zahar²

¹Service de Bactériologie, Virologie, Hygiène, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil ²Service de Microbiologie-Hygiène hospitalière, Hôpital Necker-Enfants Malades, AP-HP ³Service de Pharmacologie clinique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP, Paris, France

Objet de l'étude : Avec l'augmentation de l'incidence des EBLSE et le risque d'émergence de carbapénèmes e, l'épargne des carbapénèmes est une priorité en pratique clinique. L'utilisation de molécules alternatives telles que la ceftaxime ou les associations bêta-lactamine-inhibiteur de bêta-lactamase est préconisée par nombreuses sociétés savantes. Notre objectif était donc d'évaluer la fréquence des solutions alternatives dans une collection d'EcBLSE

isolés de pyélonéphrite aiguë (PNA).

Méthodes : Les sensibilités à la cefoxitine (FOX) et aux associations amoxicilline-acide clavulanique (AMC) et piperacilline-tazobactam (TZP) de 145 souches d'EcBLSE isolées de PNA entre 2008 et 2012, ont été déterminées par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les CMI ont été secondairement mesurées par la méthode des E-test. Les sensibilités ont été interprétées selon les recommandations du CASFM 2011.

Résultats obtenus : Selon les données de l'antibiogramme, 126 (88%), 59 (41%), 134 (92%), 5 (3%) et 44 (30%) souches étaient respectivement sensibles à la FOX, aux associations AMC et TZP, aux céphalosporines de 3^e et de 4^e génération.

55 (38%) et 26 (18%) des souches étaient sensibles aux fluoroquinolones et au cotrimoxazole. Parmi les 71 (49%) souches pour lesquelles il n'y a pas d'alternative classique aux carbapénèmes, 59 (83%), 22 (31%) et 65 (91%) étaient sensibles à la FOX, à l'AMC et au TZP, respectivement, d'après les données de l'antibiogramme, contre 55 (77%), 7 (10%) et 64 (90%) d'après les CMI. Les valeurs prédictives positive et négative étaient respectivement de 0,93 et 0,83 pour la FOX, 0,41 et 1 pour l'AMC et 0,96 et 0,54 pour la TZP.

Conclusion : Au total, 96% de la population ne pouvant être traitée ni par quinolones ni par cotrimoxazole pourrait bénéficier au vu des CMI d'un traitement par une des molécules dites alternatives. Cependant, des études cliniques sont nécessaires pour évaluer l'efficacité de ces molécules dans le traitement de la PNA à EcBLSE.

9/2o 22/11/2012 - 09:30 - APOLLINAIRE 6

Impact des nouvelles règles du CASFM 2011 sur la prescription de carbapénèmes.

J. Gallou, L. Maulin, N. Brieu, C. Pachetti, E. Lagier, H. Chardon
CHPA, Aix-en-Provence, France

Introduction : Nous avons voulu mesurer les conséquences des nouvelles règles d'interprétation de l'antibiogramme, appliquées à partir de novembre 2011 au CHPA, qui recommandent de ne pas modifier une catégorisation "sensible" aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) en présence de Bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE).

Objectif : Analyser le traitement antibiotique de tous les patients porteurs d'au moins une hémoculture positive à entérobactéries BLSE+ entre novembre 2011 et juin 2012 [15 patients: groupe (gpe) 1] et le comparer aux 15 patients précédents ayant eu au moins une hémoculture positive à entérobactéries BLSE+ avant novembre 2011 (gpe 2).

Résultats : La porte d'entrée était: urinaire (23), pulmonaire (2), catheter (2), inconnue (3). Il s'agissait d'*E.coli* (18), *K.pneumoniae* (9), *E.cloacae* (1), *E.aerogenes* (1), *P.mirabilis* (1). Dans le groupe 1, aucun patient n'a reçu d'imipenem (Ip) en traitement empirique. Au rendu de l'antibiogramme: l'Ip a été prescrit 2 fois, modifié par l'infectiologue secondairement, la tazocilline 4 fois (3 associé à la ciprofloxacine Cp), la ceftazidime 1 fois, la Cp en monothérapie 3 fois, le cotrimoxazole 2 fois, 1 patiente n'a pas été traitée et 2 fois le traitement par C3G a été poursuivi en raison d'une amélioration. Dans le groupe 2, 12 patients ont été traités par Ip soit dès le traitement empirique soit au rendu de l'antibiogramme, associé 5 fois à Cp, 2 fois aux aminosides et 5 fois en monothérapie, la gentamicine a été prescrite une fois en monothérapie et deux fois le traitement par C3G a été poursuivi en raison d'une amélioration. L'évolution précoce a été bonne pour tous les patients du groupe 1, 3 patients du groupe 2 sont décédés.

Conclusion : Ces nouvelles règles ont entraîné une nette diminution des consommations d'Ip dans notre structure. Les tableaux cliniques sont très variés mais la majorité des patients sont des sujets âgés avec une porte d'entrée urinaire. Le retentissement clinique n'est pas évaluable sur notre échantillon.

10/2o 22/11/2012 - 09:45 - APOLLINAIRE 6

Facteurs prédictifs du portage rectal préopératoire d'entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (EBLSE) chez les greffés hépatiques.

F. Bert, B. Larroque, F. Durand, C. Paugam-Burtz, J. Belghiti,
M.H. Nicolas-Chanoine
Hôpital Beaujon, Clichy, France

Objet de l'étude : Les infections bactériennes sont une cause majeure de mortalité après transplantation hépatique (TH). La fréquence des EBLSE dans ces infections a augmenté de manière spectaculaire au cours de la dernière décennie et le portage rectal préopératoire en est le principal facteur de risque. Le but de ce travail était d'étudier les facteurs prédictifs de portage préopératoire d'EBLSE chez les greffés hépatiques.

Méthodes : L'étude a porté sur 269 patients ayant eu une TH à l'hôpital Beaujon du 3 juillet 2009 au 31 décembre 2011. Un écouvillonnage rectal a été systématiquement réalisé juste avant l'intervention afin de rechercher le portage d'EBLSE. Les variables associées à ce portage ont été identifiées par analyse univariée puis par régression logistique pas-à-pas.

Résultats : Parmi les 269 patients, 46 (17,1%) étaient porteurs d'EBLSE. Les espèces les plus fréquentes étaient *Escherichia coli* (n=33) et *Klebsiella pneumoniae* (n=9). Une infection à EBLSE avait été observée durant la période d'attente chez 10 (22%) des 46 porteurs et aucun des 223 non porteurs (p<0.001). Les autres variables associées au portage lors de l'analyse

univariée étaient un score de MELAS (54% vs 34%, p=0,008), une hospitalisation ≥ 10 jours dans les 6 derniers mois (69% vs 30%, p<0,001), un séjour préopératoire en réanimation (48% vs 18%, p<0,001), un antécédent d'infection d'ascite (41% vs 16%, p<0,001), un traitement par β -lactamine dans le mois précédent (69% vs 20%, p<0,001) et une prophylaxie préopératoire par norfloxacine (24% vs 11%, p<0,001). Parmi ces variables, les principaux facteurs prédictifs de portage après régression logistique pas-à-pas étaient l'administration de β -lactamine dans le mois précédent (OR 7,7; IC 3,7-16; p<0,001) et l'antécédent d'infection d'ascite (OR 2,3; IC 1,1-4,9; p=0,003).

Conclusion : Les principaux facteurs prédictifs du portage rectal préopératoire d'EBLSE chez les greffés hépatiques sont une infection à EBLSE durant la période d'attente, un traitement par β -lactamine au cours du dernier mois et un antécédent d'infection d'ascite. Ces facteurs de risque doivent être pris en compte dans les protocoles d'antibioprophylaxie préopératoire et de traitement probabiliste des infections postopératoires.

11/2o 22/11/2012 - 10:00 - APOLLINAIRE 6

Colonization characteristics of quinolone-resistant *Escherichia coli* in the faecal microbiota of healthy volunteers.

V. de Lastours¹, A. Bleibtreu³, C. Burdet², C. Laouénan², F. Chau¹,
E. Denamur³, B. Fantin²

¹EA3964 ²UMR 738 ³UMR U772, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Background: Selection of quinolone-resistant (QREC) *E. coli* primarily emerges in commensal bacteria under selective pressure. The characteristics of QREC persisting in faecal microbiota after quinolone exposure has been poorly studied. We compared the colonization capacities of QREC selected after quinolone exposure with quinolone-susceptible *E. coli* (QSEC) isolated from volunteers.

Methods: 48 healthy volunteers received different dosing regimens of ciprofloxacin for 14 days. Stools were collected on days 0, 8, 14 and 42. 28 subjects (group 1) were colonized only with QSEC. In 10 subjects (group 2), QREC emerged at day 42 from a susceptible initial microbiota. Group 1 QSEC, group 2 QSEC and QREC were quantified and 5 isolates per sample randomly picked. Isolates were compared in terms of diversity by RAPD-PCR, phylogenetic groups by triplex PCR, maximum growth rates (MGR) in different medium (Luria Bertani broth [LB] and minimum medium with gluconate [MMG], the major carbon source used by *E. coli* in the colon) and response to stress by measuring RpoS activity. Three couples of QSEC and QREC collected from three different subjects were tested in a mouse competitive colonization model, by inoculating both strains orally in a 1:1 ratio. Faeces were collected daily for 8 days.

Results: QREC at day 42 had similar faecal CFU counts than QSEC from both group 1 or 2. QREC expressed less diversity than group 1 QSEC (p<0.01) and group 2 QSEC (p<0.05).

QREC belonged to phylogenetic groups A and D, which differed from QSEC, where B2 and B1 groups predominated.

On day 0, QSEC from group 1 and 2 were not different in terms of MGR and RpoS activity. On day 42, QREC had higher MGR than QSEC in MMG, though not significantly (p=0.06). In the mouse colonization model, no difference in terms of bacterial counts was found between susceptible and resistant strains up to 8 days after inoculation.

Conclusion: QREC colonizing faecal microbiota of subjects after ciprofloxacin treatment, even when no more selective pressure persists, are not hampered in their colonizing capacity. *In vitro* growth rates, response to stress and capacity to colonize a mouse gut, compared to susceptible commensal strains. These results suggest that QREC may not easily be eliminated from the faecal microbiota from healthy subjects.

12/2o 22/11/2012 - 10:15 - APOLLINAIRE 6

Impact des fluoroquinolones sur l'émergence de staphylocoques résistants aux fluoroquinolones au sein du microbiote nasal.

A. Munier, V. de Lastours, F. Barbier, B. Fantin, R. Ruimy
Université Paris Diderot, EA3964, Paris, France

Contexte : La sélection de résistance aux fluoroquinolones (FQ) apparaît dans le microbiote après une antibiothérapie par FQ. La pression de sélection par des bactéries résistantes est plus élevée chez les patients hospitalisés (PH) que chez les patients communautaires (PC).

Nous comparons ici la dynamique d'émergence de résistance aux FQ (FQ-R) des staphylocoques du microbiote nasal chez les PH et les PC après traitement par FQ et l'origine de cette résistance.

Matériel et Méthodes : Nous avons étudié prospectivement 62 PH et 49 PC traités par FQ. Un écouvillon nasal a été réalisé pour chaque patient avant (T0), en fin de traitement (T1) et un mois après la fin du traitement par FQ (T2). Les staphylocoques FQ-R ont été détectés par étalement des prélèvements sur milieu Chapman contenant 1 mg/L de ciprofloxacine. Quatre colonies ont été sélectionnées pour identification d'espèce par MALDI-TOF, antibiogramme, étude des CMI des FQ et recherche d'une co-résistance à la méticilline par biologie moléculaire. Le mécanisme de résistance aux FQ a été étudié par PCR. L'origine des staphylocoques FQ-R a été recherchée par une méthode phénotypique complétée par une technique de MLST.

Résultats : A T0, 39% des PC et 67% des PH étaient porteurs de staphylocoques FQ-R (OR=3,3; p=0,002). Chez les patients non porteurs de

staphylocoques FQ-R à T0, 42% des PC et 94% des PH ont présenté une émergence de résistance après le traitement par FQ (OR=19,6, $p=0,0006$). Pour ces patients nous n'avons pas retrouvé de souche parentale sensible aux FQ à T0. Dans les deux groupes, les espèces de staphylocoques FQ-R ayant émergé étaient moins diverses que les espèces sensibles présentes à T0 avec une prédominance de *S. epidermidis*. Plus de 80% des souches FQ-R étaient co-résistantes à la métilcilline. Les CMI des FQ étaient plus élevées à l'hôpital qu'en ville suite à une accumulation de mutations dans les gènes codant pour les topoisomérasés.

Conclusion : Les PH ont un taux de staphylocoques FQ-R au sein du microbiote nasal très élevé avant traitement par FQ et quasiment aucun n'échappe à l'émergence de résistance après traitement par FQ. Cette émergence de résistance est plus fréquente chez les PH que chez les PC et semble être due à l'acquisition de souches FQ-R depuis le milieu extérieur.

13/30 22/11/2012 - 09:00 - APOLLINAIRE 8

Capsular switching in group B Streptococcus ST-17 hypervirulent clone.

A. Six³, S. Bellais³, A. Fouet³, P. Glaser⁴, M. Longo³, P. Trieu-Cuot⁴, C. Poyart^{2,1,3,4}

¹CNR-Strep ²Groupe Hospitalier Cochin, Faculté de Médecine René Descartes, Université Paris 5 ³Équipe Barrières et Pathogènes, INSERM 1016 ⁴Unité Biologie des bactéries pathogènes à Gram +, Institut Pasteur, Paris, France

Objectives: The capsular polysaccharide (CPS) is a virulence factor of Group B Streptococcus (GBS), a major neonatal pathogen. Ten CPS serotypes are now recognized: Ia, Ib, II to IX. GBS population studies by Multi Locus Sequence Typing (MLST) and genome sequencing showed that five main clonal complexes, CC1, CC10, CC23, CC19, and CC17 account for most strains in humans. However, there is no strong correlation between CPS serotype and MLST, and whole genome sequence comparison demonstrated "en bloc" horizontal gene transfer of CPS locus genes between GBS strains. Up to now, the worldwide spread of the hypervirulent GBS clone ST-17 responsible for neonatal meningitis (> 80%) was restricted to CPS type III. Here, we described a CPS switching that have occurred in three unrelated GBS ST-17 clinical isolates.

Methods: All GBS strains received at the National Reference Centre for Streptococci were serotyped using a multiplex PCR assay CPS type determination and presence of the ST-17 specific surface protein encoding gene *hvgA* a gene was investigated by a real-time PCR assay. Three out of the 1,281 GBS ST-17 strains were CPS type IV and further characterized by sequencing of the entire *cps* locus, conventional MLST typing and a cluster analysis including additional 7 housekeeping genes, and pulse field gel electrophoresis.

Results: The 3 GBS strains selected were responsible for invasive infections (neonatal n=1 and adult n=2). PFGE analysis of *SmaI* restricted total DNAs revealed that they were epidemiologically unrelated. PCR sequencing of the entire *cps* locus confirmed that they were actually CPS type IV although their genome backbones was indistinguishable from that of an ST-17 clone, as demonstrated by using an extended MLST typing scheme. We also showed that besides *hvgA*, these strains possess the genes *srr2* and *spb1* encoding other specific ST-17 surface-anchored proteins.

Conclusion: Several studies have suggested a role of recombinational replacements in genome evolution of GBS. Until this report, capsular switching was described within non-ST17 GBS strains and was thought to contribute to the rise of new-serotype-genotype combination, allowing escape of immune pressure. Here, we characterized ST-17 hypervirulent strains that have switched their CPS type III to the less frequent, but emerging CPS type IV. Our results indicate that CPS switching must be taken into account in the design of conjugated GBS CPS multivalent vaccines development.

14/30 22/11/2012 - 09:15 - APOLLINAIRE 8

Pourquoi certaines corynébactéries du complexe *diphtheriae* possédant le gène codant la toxine diphtérique ne l'expriment pas ?

E. Farfour¹, E. Badell¹, S. Dinu², S. Guillot¹, N. Guiso²

¹Unité PTMMH, Institut Pasteur, Paris, France ²Molecular Epidemiology Laboratory, Cantacuzino National Institute, Bucarest, Roumanie

Introduction : La toxine diphtérique (TD) est le principal facteur de virulence de *Corynebacterium diphtheriae* et *C. ulcerans*, les 2 agents étiologiques de la diphtérie. Elle est codée par le gène *tox* dont la transcription est régulée par le répresseur *dtxR*. Cependant, des isolats possédant le gène codant la toxine (*tox+*) ne l'expriment pas (isolats NTTC). Ces isolats sont peu nombreux par rapport aux isolats qui ne possèdent pas le gène *tox* mais ils pourraient constituer une menace si l'incapacité à produire la toxine est réversible. Plusieurs mécanismes pourraient expliquer ce phénotype, notamment des anomalies des gènes *tox*, *dtxR* ou des anomalies de maturation et d'excrétion de la protéine.

Objectif : Analyser la séquence nucléotidique des gènes *tox* et *dtxR* chez les isolats possédant le gène *tox* mais ne l'exprimant pas (test phénotypique Elek négatif ou Elek-).

Matériels et Méthodes : Les isolats NTTC (8 *C. diphtheriae* et 6 *C. ulcerans*) de la collection du CNR collectés entre 1951 et 2012 ont été étudiés.

Les séquences codantes des gènes *tox* et de son promoteur et *dtxR* ont été analysées.

Résultats : Les séquences codantes de tous les gènes *dtxR* sont identiques à celles d'isolats exprimant la toxine.

Quatre *C. diphtheriae* et 1 *C. ulcerans* ont une mutation ponctuelle (3 insertions et 2 délétions) dans divers segments du gène *tox* ce qui provoque un codon stop précoce et donc une non expression de la toxine. Un *C. diphtheriae* présente une insertion d'une séquence de 1443 nucléotides (identifiée comme une transposase) dans le promoteur du gène *tox* (position-14). Pour les autres isolats, aucune anomalie n'a été identifiée pour l'instant.

Conclusion : Nous confirmons que pour plusieurs *C. diphtheriae* NTTC, l'absence d'expression de la TD est liée à des anomalies du gène *tox*, et nous décrivons pour la première fois des *C. ulcerans* ayant le même phénotype dont l'un présente le même type de mutation.

Des études complémentaires sont en cours afin de préciser les raisons de l'absence d'expression de la TD chez les isolats n'ayant pas d'anomalie du gène *tox*, notamment son exportation vers le milieu extra-cellulaire.

15/30 22/11/2012 - 09:30 - APOLLINAIRE 8

Insertion d'un phage dérégulant la virulence de *Staphylococcus aureus*.

N. Messad¹, G. Lina², T.K. Prasinar⁵, S.A. Renshaw⁵, F. Vandenesch², E.P. Skaar¹, D. O'callaghan⁴, A. Sotto⁴, J.P. Lavigne^{4,3}

¹Department of Microbiology and Immunology, Nashville University, Nashville, Etats-Unis ²U851, INSERM, Lyon ³Laboratoire de Bactériologie, CHU Carêmeau ⁴U1047, INSERM, Nîmes, France ⁵MRC Centre for Developmental and Biomedical Genetics, Sheffield University, Sheffield, Royaume-Uni

Objet de l'étude : *Staphylococcus aureus*, bactérie opportuniste responsable d'un large éventail de pathologies, est également un commensal des fosses nasales et d'autres muqueuses. Dans les plaies du pied chez le diabétique, nous avons montré la coexistence de deux populations de *S. aureus*: une colonisante et une infectante. Le but de cette étude était de caractériser les souches colonisantes de *S. aureus*.

Méthodes : Dans le but de déterminer l'organisation génomique des souches colonisantes/infectantes isolées de plaies de pied chez des diabétiques, nous avons utilisé la technique des Optical maps (OpGen) en utilisant les cartes de restriction *XbaI*. L'insertion génétique observée a été caractérisée par pyroséquençage. L'impact de cette insertion sur le métabolisme du Fer a été évalué par qRT-PCR après extraction d'ARNm à partir de cultures bactériennes en présence/absence de Fer et test au chromazuro. La virulence des souches a été étudiée sur les modèles *C. elegans* et zébrafish. La prévalence de cette insertion a été évaluée sur un souchier national de *S. aureus* isolé de pieds diabétiques.

Résultats obtenus : En étudiant les profils des Optical maps sur notre collection de souches de virulence définie, nous avons localisé et caractérisé une insertion génétique d'ADN présentes uniquement chez les souches colonisantes. Le séquençage de la zone a permis d'objectiver l'insertion d'un phage au niveau de la région hotspot PhiNM2 près du locus *isd*, le principal déterminant du transport membranaire du Fer. Cette insertion est responsable d'une dérégulation de l'activité de Fur, régulateur de l'acquisition du Fer et du biofilm chez *S. aureus*. Elle réduit significativement la virulence de la bactérie dans les 2 modèles *in vivo*. L'expulsion du phage, obtenue en milieu cancéreux en Fer, permet de restaurer la régulation du locus *isd*, la production de sidérophore, la formation de biofilm et la virulence bactérienne. La prévalence de ces souches colonisantes étaient de 20% (39/195) dont 89% appartenaient au complexe clonal CC8.

Conclusion : Les souches colonisantes du fait de leur faible potentiel de virulence pourrait être détectées afin de contribuer à une meilleure utilisation des antibiotiques, un point essentiel face à l'augmentation constante de la multirésistance.

16/30 22/11/2012 - 09:45 - APOLLINAIRE 8

Diffusion internationale du clone multirésistant *Staphylococcus capitis* NRCS-A en réanimation néonatale.

J.P. Rasigade^{5,4,7}, R. Goering³, A. Kearns⁸, R. Hill⁶, O. Denis², M. Deighton¹, H. Meugnier^{4,7}, M. Bes^{4,7}, M. Ben Saïd⁶, O. Claris⁶, J.C. Picaud⁶, F. Vandenesch^{5,4,7}, J. Etienne^{5,4,7}, F. Laurent^{5,4,7}

¹Department of Microbiology, RMIT University - School of Applied Sciences, Melbourne, Australie ²Laboratoire de Référence MRSA - Staphylocoques, Hôpital Erasme - ULB, Bruxelles, Belgique ³Department of Medical Microbiology and Immunology, Creighton University Medical Center, Omaha, Etats-Unis ⁴Centre National de Référence des Staphylocoques ⁵Laboratoire de Bactériologie ⁶Service de Néonatalogie, Hospices Civils de Lyon ⁷InsERM U851, Université Lyon 1, Lyon, France ⁸Staphylococcus Reference Unit, Health Protection Agency, Londres, Royaume-Uni

Objectifs : *Staphylococcus capitis* est une cause émergente de bactériémie nosocomiale en réanimation néonatale. Nous avons récemment montré que dans différentes réanimations néonatales couvrant l'ensemble du territoire français, les souches isolées des nouveaux-nés appartenaient toutes à un même sous-type, désigné NRCS-A, et étaient distinctes des souches isolées de patients adultes. Les souches NRCS-A sont résistantes à la métilcilline, à l'ensemble des aminosides et présentent une sensibilité diminuée aux glycopeptides. Notre objectif était de caractériser des souches de *S. capitis* d'origine internationale pour déterminer si la diffusion du clone NRCS-A est circonscrite à la France.

Méthodes : Les cas de bactériémies à *S. capitis* résistants à la méticilline chez des nouveaux-nés en réanimation néonatale ont été identifiés à partir des bases de données des laboratoires de microbiologie des centres participants (Lyon, Bruxelles, Londres et Melbourne) sur la période 2004-2010. Trois isolats d'hémoculture par centre ont été inclus. Cinq souches de *S. capitis* résistants à la méticilline isolées de bactériémie chez des patients de réanimation adulte des Hospices Civils de Lyon ont également été incluses comme groupe comparateur, ainsi que la souche prototype *S. capitis* NRCS-A BACAD69. Les isolats ont été typés par électrophorèse en champ pulsé et par *dru*-typing, une méthode de typage à haute résolution basée sur l'analyse des séquences répétées (*direct repeat units*) présentes sur la cassette SCCmec portant le gène *mecA*.

Résultats : Les 12 isolats de réanimation néonatale de France, Belgique, Royaume-Uni et Australie appartenaient au pulsotype NRCS-A (>80% de similarité avec la souche prototype BACAD69). Ces isolats partageaient également le même *dru*-type dt11c que la souche BACAD69. A l'inverse, les cinq isolats de patients adultes appartenaient à 4 pulsotypes différents (non NRCS-A) et à 2 *dru*-types différents (dt3c et dt11a).

Conclusion : La diffusion du clone *S. capitis* NRCS-A en réanimation néonatale est internationale. Le caractère multirésistant de ce clone et sa capacité à développer une résistance aux glycopeptides rendent cette situation épidémique préoccupante. Des investigations complémentaires sont en cours pour comprendre les voies de dissémination de ce clone.

17/3o 22/11/2012 - 10:00 - APOLLINAIRE 8

Écologie, importance clinique et sensibilité aux antibiotiques des staphylocoques à coagulase négative à l'ère de la spectrométrie de masse.

F. Schramm, E. Daull, G. Prévost, B. Jaulhac, P. Riegel
Laboratoire de Bactériologie, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg,
Strasbourg, France

Objet : L'identification des staphylocoques à coagulase négative (SCN) était jusqu'à peu de temps réservée à des situations d'infections sévères, les identifications étant coûteuses avec des performances moyennes. L'utilisation en routine de la spectrométrie de masse (SM) permet d'élargir au rang d'espèce l'identification de l'ensemble des SCN isolés de prélèvements à visée diagnostique, quelle que soit leur importance clinique. La comparaison contaminants/pathogènes peut ainsi être effectuée de manière exhaustive pour chaque espèce.

Méthodes : Nous avons analysé de façon rétrospective 10418 identifications consécutives de SCN effectuées par SM depuis 2011. Le site d'isolement et la sensibilité aux antibiotiques ont été recueillis. De plus, pour chaque espèce, nous avons analysé le dossier de 40 patients consécutifs.

Résultats :

Fréquence d'isolement : *S. epidermidis* (66%), *S. haemolyticus* (11%), *S. hominis* (7%) et *S. capitis* (6%) sont majoritaires. Nous avons confirmé la présence significative de *S. warneri* (3%) et de *S. lugdunensis* (2%). Des espèces ont émergé avec l'utilisation de la SM: *S. simulans* (n=86; 0,8%), *S. caprae* (n=63; 0,6%), *S. pettenkoferi* (n=54; 0,5%), *S. schleiferi* (n=38; 0,4%) et *S. intermedius* (n=17; 0,1%).

Écologie : Seuls 2% des *S. caprae* et des *S. simulans* identifiés au laboratoire sont isolés d'hémocultures; d'autres espèces sont beaucoup plus fréquemment isolés d'hémocultures (56% des *S. hominis*, 29% des *S. pettenkoferi* et 58% des *S. epidermidis* isolés).

Dossiers patients : *S. lugdunensis* peut être considéré impliqué dans un processus infectieux dans 40% des isolements, *S. schleiferi* 23%, *S. caprae* 21% et à l'opposé, *S. pettenkoferi* pour seulement 2% des patients.

Résistance à la méticilline : *S. haemolyticus* (88%), *S. epidermidis* (73%), *S. hominis* (56%), *S. pettenkoferi* (43%), *S. saprophyticus* (40%), *S. capitis* (37%), *S. cohnii* (36%), *S. warneri* (23%), *S. caprae* (6%) et moins de 2% pour *S. simulans*, *S. lugdunensis*, et *S. schleiferi*.

Conclusion : Il existe de grandes différences entre les SCN. L'espèce *S. pettenkoferi* décrite en 2007 semble être peu pathogène mais souvent résistante aux antibiotiques. Un rapport inverse entre la pathogénicité et la résistance existe aussi pour d'autres espèces comme *S. lugdunensis* et *S. caprae*.

18/3o 22/11/2012 - 10:15 - APOLLINAIRE 8

Effet des antibiotiques seuls et combinés aux défensines humaines sur l'expression de la protéine A chez deux SARM communautaires.

E. Martin², B. Raynal², F. Vandenesch²⁻¹, J. Etienne²⁻¹, G. Lina²⁻¹, O. Dumitrescu²⁻¹

¹Centre National de Référence des Staphylocoques, Hospices civils de Lyon ²Unité Inserm U851, Equipe Pathogénie bactérienne et immunité innée, Université Lyon 1, Lyon, France

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline acquis en milieu communautaire (SARM CO) est responsable d'infections graves. La protéine A est un facteur de virulence majeur staphylococcique permettant d'échapper au système immunitaire inné. Les défensines, acteurs du système immunitaire inné, ont une activité potentiellement couplée à celle des antibiotiques dans les infections staphylococciques. Dans ce contexte, nous avons étudié l'impact de concentrations sub-inhibitrices d'antibiotiques (tigécycline, linézolide,

vancomycine, clindamycine) seuls ou associés avec 3 alpha-défensines (Human Neutrophil Peptide HNP1, HNP2 et HNP3) sur l'expression de la protéine A.

Deux souches cliniques représentatives des 2 clones de SARM CO diffusant dans le monde nommées LUG1799 (ST80) and ST2010 1282 (ST30) ont été cultivées en milieu Mueller Hinton jusqu'en phase exponentielle puis incubées avec antibiotiques (1/4 CMI) seuls ou associés avec HNP1, HNP2 et HNP3 (5 mg/ml) pendant 6 heures en milieu agité à 37°C. A 6 heures, les ARNm *spa* ont été quantifiés par PCR en temps réel et un dosage ELISA de protéine A a été réalisé sur la souche ST2010 1282.

Pour les 2 souches, la clindamycine diminue le transcrite *spa* ARNm alors que la vancomycine, le linézolide et la tigécycline ne le modifie pas. HNP1 diminue *spa* ARNm pour ST2010 1282 et HNP2 diminue l'ARN m *spa* pour LUG1799. L'association entre HNP et clindamycine diminue fortement la quantité de l'ARNm *spa* pour les 2 souches. L'association entre HNP et linézolide diminue l'ARNm avec tous les HNPs pour ST2010 1282 1282 (14 fois pour HNP1, 7 fois pour HNP2 et 33 fois pour HNP3) et avec HNP3 pour LUG1799 (14 fois). Dans les 2 souches, HNP2 et HNP3 associés avec la vancomycine et HNP3 associé à la tigécycline diminuent l'ARNm *spa*. Les associations couplant HNP3 avec la tigécycline, la vancomycine ou le linézolide diminuent significativement le rapport protéine A/protéines totales chez ST2010 1282, l'association avec l'amplitude d'inhibition la plus importante étant HNP3 + linézolide.

Ces résultats suggèrent que l'association du linézolide et des défensines est la plus active pour inhiber la protéine A et offre un argument de plus pour recommander l'utilisation du linézolide dans les infections invasives à SARM CO.

22/5SEP 22/11/2012 - 10:00 - AMPÈRE 5

Émergence de virus triples réassortants H3N2 d'origine porcine aux USA.

M. Bouscambert-Duchamp¹, B. Lina¹⁻²

¹Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence virus influenzae France Sud, Laboratoire de Virologie Est, Bron ²Université Lyon 1, Faculté de Médecine Lyon Est, EA 4610, Lyon, France

Update on Swine-origin triple reassortant influenza A(H3N2) variant viruses

Recently an increasing of human infections in the US with an influenza A(H3N2) variant virus of swine origin A(H3N2)v has been reported. Found in U.S. pigs in 2010 and humans in July 2011, this virus appears to spread more easily from pigs to people than other variant viruses.

Swine influenza is an acute viral infection occurring in the respiratory tract of pigs. It is considered endemic in pigs in United States but also in Europe without any apparent seasonal pattern in temperate countries and with a low mortality in pigs. In the US, the main swine influenza viruses circulating in pig herds in recent years, have been swine triple reassortant A(H1N1) viruses, A(H3N2) and A(H1N2) viruses. A significant number of such reassortants (involving both H1 and H3 viruses) has already been described over the last three years. The triple reassortant H3N2 viruses were first noted in swine in North America in 1998. It is derived from human seasonal A(H3N2) viruses circulating in the mid-1990s. In EU, the epidemiology and virology of swine influenza viruses is significantly different. The European swine A(H3N2) viruses are derived from descendants of the 1968 'Hong Kong' pandemic human virus, but they have evolved further through genetic reassortment with the 'avian-like' H1N1 swine influenza virus, presumably during the mid-1980s. This has resulted in A(H3N2) viruses with human-like HA and NA genes and avian-like internal genes. The novel influenza A(H3N2)v viruses have so far not been identified in either humans or pigs in Europe. However, the potential risk of introducing swine influenza viruses to Europe through infected pigs or humans cannot be ruled out. The spread of swine influenza viruses is therefore more controlled than, for example transmission of avian influenza through movement of wild birds and trade in domestic poultry. The risk posed by the human cases of A(H3N2)v viruses is related to the fact that the A(H1N1)pdm09 virus has become established globally in domestic pigs. Thus, it constitutes a major public health risk for the emergence of new influenza strains with pandemic potential. This strain is able to provide one or more genes to new reassortants that can increase transmissibility to humans of any subtype occurring in pigs, including H1, H3, H5 or H9.

Swine influenza infections in humans have occasionally been detected in humans since the 1950s. Cases of swine influenza in humans always occur after a history of exposure to pigs with direct, close or indirect contact but never after consumption of pork or pork products. The capacity of variant influenza A viruses to cause sustained transmission in humans has been rare in history. One exception but not least is the influenza A(H1N1)pdm09 virus that so far is the only swine-origin virus to have shown the capacity to spread rapidly among humans and which is still circulating in the human population three years later. Reports of human infections with swine-origin flu viruses have increased in recent years, at least partly because of increased testing and reporting. Serological surveys undertaken in North America among personnel working with pigs have shown that some have evidence of antibodies reactive with swine influenza viruses.

In United States, human infections with influenza A(H3N2)v viruses of swine origin have been reported since July 2011. From July 12 through September 27, 2012, a total of 306 infections with influenza A (H3N2) variant (H3N2v) viruses have been reported from ten states with 16 H3N2v-associated hospitalizations and 1 H3N2v-associated death. The vast majority of cases have occurred after prolonged swine exposure prolonged exposure to pigs,

mostly in fair settings. However, some limited human-to-human transmission has been reported. As a result of enhanced surveillance activities for H3N2v, others swine influenza viruses (A(H1N1)v, A (H1N2)v) have been detected since July 2012.

Available demographic informations show that the median age was seven years highlighting that children are more susceptible. The A(H3N2)v virus that circulated in humans between 1986 and 1999 was a relative of this [new] virus, so people exposed at that time would have some cross-reactive immunity to the new strain [Lina *et al.*, 2010]. These data are confirmed by serological analysis from the US and Canada suggesting that children under 10 years lack immunity to influenza A(H3N2)v viruses.

Most of the reported human cases with influenza A(H3N2)v infections have resulted in symptoms similar to uncomplicated seasonal influenza (fever, cough, pharyngitis, rhinorrhea, myalgia, headache and vomiting and diarrhoea in children). Milder clinical illness and asymptomatic form are possible. In most cases, the duration of illness appears to be three to five days. Viral replication, pathogenesis and transmission in humans have not been studied. Influenza A (H3N2)v infections can therefore not be distinguished in their clinical features from seasonal influenza A or B virus infections. People at high risk of serious complications from H3N2v include children younger than 5, people with certain chronic conditions like asthma, diabetes, heart disease, weakened immune systems, pregnant women and people 65 years and older. Clinical management of A(H3N2)v virus infections, as recommended by CDC, is similar to management of seasonal influenza A or B virus infections. A(H3N2)v viruses are likely to be susceptible to the neuraminidase inhibitor drugs oseltamivir and zanamivir but resistant to amantadine and rimantadine. According prophylaxis, the current human influenza A(H3N2) component included in seasonal influenza vaccines is considered unlikely to provide any protection to the A(H3N2)v viruses.

The novel influenza A(H3N2)v contains seven of the eight gene are similar to those of swine H3N2 viruses that have circulated in US pigs since 1998 and were identified in eight other human cases of swine-origin flu since 2009. But it contains the M gene from the 2009 A(H1N1)pdm virus, which has previously been identified in pigs a few times. This particular combination of genes had not been reported previously in pigs or humans. It should serve as a reminder that new reassortants can emerge at any time and any place.

Diagnostic RT-PCR for generic influenza A virus targeting influenza A M gene will detect these viruses, however, the subtype-specific RT-PCRs used for H3 (or N2) of human influenza A viruses may not be suitable. So far, swine-origin specific subtype RT-PCR, antigenic characterisation, and partial or full genome sequencing are the most appropriate techniques for distinguishing between the human and the new zoonotic-origin influenza viruses. In EU countries, the majority (67%) of the influenza reference laboratories have already updated their protocols to distinguish the seasonal A(H3N2) viruses from the variant viruses. Confirmation is currently based on sequence analysis at the WHO Collaborating Centres.

Among others, the National Influenza Centres in France and the WHO Influenza Collaborating Centres in Atlanta, US and UK have been analysing the genetic sequences of these viruses. This analysis shows that the human A(H3N2)v viruses can be divided in 2 groups: the first with the closest homology corresponding to strains isolated between 86 and 99, the second comprising strains isolated before 86 or after 99, for which the divergence is larger than 8% and can reach as much as 11%. Current data suggest that the most susceptible groups for the A(H3N2)v infection are children under 10 years and people aged around 40–60 years. This observation is consistent with the young ages of many of the cases in the United States.

In Europe, there is currently no known risk of infection with the influenza A(H3N2)v viruses since the virus is not considered to be circulating among pigs and no human cases have been reported. Human influenza viruses from the 2009 influenza A H1N1 pandemic are circulating in swine in at least some European countries. Reassortants between influenza A(H1N1)pdm09 and other European swine influenza virus lineages have been reported in Italy, Germany and the United Kingdom.

Conclusions and recommendations: the significance of swine influenza to public health in general is twofold. Firstly, there is the direct risk of influenza infection for individuals coming into close contact with pigs, or through limited human-to-human transmission. Secondly, there is a risk of reassortment and development of novel influenza A viruses (possibly a strain with pandemic potential) in dually infected individuals. The increasing numbers of human cases as in pigs of A(H3N2) variant virus infections in the United States are a matter of concern. It is reassuring that to date there have been no further reported changes in the A(H3N2)v viruses observed in the USA. Attention should almost focus on epidemiological changes, increasing of human-to-human transmission and other changes in the behaviour of the virus rather than the number and distribution of cases.

In EU, there are no human cases of the A(H3N2) variant virus infections reported and these viruses have not been identified in pigs. Limited swine-to-human transmission of European swine influenza viruses may have been reported in Europe, resulting in mild self-limiting illness, but it should be viewed with caution but it may be underestimated because surveillance of infections in humans that have contact with pigs is not as robust in Europe as in the United States.

Nobody can predict that addition of the matrix segment from A(H1N1)pdm would make a swine A(H3N2)v that spreads poorly in people have pandemic potential, but there are strong public health reasons for strengthening surveillance of animal influenza infections on both continents, and in other parts of the world. This surveillance should be an addition to integrated virological, clinical and epidemiological surveillance of human infections in various healthcare settings. People at high risk of serious complications from H3N2v are urged to avoid pigs and pig arenas at fairs this season. Clinicians

should therefore always bear this in mind if they see influenza-like symptoms in patients known to have had contact with pigs. In such cases, relevant diagnostic samples for testing in a state public health laboratory must be done together with the notification to local public health departments.

It is currently impossible to assess the pandemic potential of the current swine influenza viruses and different reassortant might easily arise from mixing human, pig, and bird segments with the capacity to be dangerous, either because of a new H [hemagglutinin] type or because of high level antiviral resistance. This underscores the need for continued public health surveillance.

References and websites

WHO: http://www.who.int/influenza/gisrs_laboratory/en/

CDC: <http://www.cdc.gov/flu/swineflu/influenza-variant-viruses-h3n2v.htm>

CIDRAP: <http://www.cidrap.umn.edu/cidrap/content/influenza/swineflu>

1. Lina B, Bouscambert M, Enouf V, Rousset D, Valette M, van der Werf S. S-OtrH3N2 viruses: use of sequence data for description of the molecular characteristics of the viruses and their relatedness to previously circulating H3N2 human viruses. *Euro Surveill.* 2011 Dec 15;16(50):20039.

23/6o 22/11/2012 - 09:00 - AMPÈRE 8

Caractérisation de l'écosystème broncho-pulmonaire chez les patients atteints de mucoviscidose : structure et dynamique du microbiote pulmonaire dans l'évolution clinique de la mucoviscidose.

L. Delhaes^{2,3}, M. Chabé², S. Monchy⁵, J. Salleron³, S. Leroy^{4,3}, A. Prévotat³, B. Wallaert³, E. Dei-Cas^{2,3}, E. Viscogliosi², F. Botterel¹

¹Département de Microbiologie, AP-HP, Créteil ²BDEEP-EA4547, CIL – Institut Pasteur de Lille, Université de Lille ³CHRU, Lille ⁴CHU, Nice ⁵LMGE-ULCO Laboratoire d'Océanologie et de Géoscience, Wimereux, France

Objet de l'étude : L'infection broncho-pulmonaire reste le problème majeur auquel sont confrontés les patients atteints de mucoviscidose. Actuellement, la culture microbiologique permet le diagnostic des infections bactériennes et/ou fongiques, mais cette méthode reflète peu les co-infections et pas la dynamique des populations microbiennes présentes dans le poumon des patients atteints de mucoviscidose. Nous nous sommes donc attachés à appréhender l'écologie microbienne (fongique et bactérienne) des voies aériennes supérieures dans la mucoviscidose à l'aide des techniques de séquençage haut débit.

Une méthodologie : De séquençage haut débit ciblant les loci ITS2 et 16S rDNA a été développée et validée en collaboration avec la société Genoscreen (FLX 454, Roche), avec comme objectifs :

- de mettre en évidence la présence de microorganismes difficilement identifiables et/ou non cultivables (anaérobies, Mycobactéries atypiques, micromycètes tels que *P. jirovecii*, ou *Scedosporium*, ...),
- de déterminer la proportion de chaque microorganisme,
- puis de corréler cette écologie microbienne aux données cliniques, radiologiques et biologiques des patients.

Résultats : Pour la première fois, nous avons décrit la complexité et la diversité du microbiote fongique par séquençage à haut débit, avec plus de 60% des espèces ou genres fongiques non identifiés par les méthodes conventionnelles. La perte de la diversité et de la richesse fongique que bactérienne est significativement associée à une diminution de la fonction respiratoire des patients (mesurée notamment par le VEMS, p<0.05).

In fine, nous discutons le rôle des micromycètes dans le microbiote considéré comme une entité complexe, porteuse d'interactions entre microorganismes (tel que les phénomènes de quorum-sensing). Nous poursuivrons ce type d'approche par une exploration prospective des discordances clinico-biologiques lors des traitements anti-infectieux chez les patients atteints de mucoviscidose, en étroite collaboration avec l'équipe du Dr F. Botterel du Laboratoire de Mycologie de l'Hôpital H. Mondor (Projet RC201260069 financé par VLM).

24/6o 22/11/2012 - 09:15 - AMPÈRE 8

Colonisation bactérienne et fongique du tractus respiratoire des patients atteints de mucoviscidose : comparaison de la culture avec les techniques de RFLP, clonage et séquençage à haut débit.

F. Botterel¹, O. Cabaret¹, J.P. Barnier¹, F. Stressmann⁵, F. Walle², B. Wallaert³, J.W. Decusser¹, K. Bruce⁵, L. Delhaes^{2,4}

¹Département de microbiologie, AP-HP, Créteil ²Département de microbiologie ³Département de pneumologie, CHRU ⁴BDEEP-EA4547, Institut Pasteur, Lille, France ⁵Molecular microbiology department, King's College, London, Royaume-Uni

Introduction : L'amélioration de nos connaissances sur la diversité des communautés bactériennes et fongiques dans le tractus respiratoire des patients atteints de mucoviscidose pourrait permettre d'avancer sur la prise en charge thérapeutique de ces patients.

But de l'étude : Notre objectif était d'identifier les communautés bactériennes et fongiques présentes dans des crachats de patients atteints de mucoviscidose en combinant des approches basées sur la culture et des approches moléculaires, indépendantes de la culture, incluant notamment une approche de séquençage à haut débit.

Méthodes : La culture microbiologique conventionnelle pour les bactéries et les champignons a été effectuée, après un examen direct, sur 4 échantillons de crachats de patients atteints de mucoviscidose (adultes suivis au CHU de Lille, France). Pour les techniques moléculaires, l'extraction était faite directement sur le prélèvement. La T-RFLP (Terminal-Restriction Fragment Length Polymorphism) ciblant l'ARNr 16S a été utilisée pour déterminer les espèces dominantes de la communauté bactérienne. Les populations fongiques ont été recherchées par une PCR ciblant l'ARNr ITS2 suivi d'un clonage et du séquençage (300 clones par prélèvement). Une méthode de séquençage à haut débit ciblant pour les bactéries, le gène de l'ARNr 16S et pour les champignons, la région de l'ARNr ITS2 a été appliquée et effectué en collaboration avec Genoscreen (Lille). Les différentes méthodes utilisées ont été comparées.

Résultats : Sur chaque prélèvement, nous avons identifié en moyenne 6,5 espèces bactériennes par T-RFLP [médiane 2-15] et 2 espèces fongiques par clonage [médiane 1-4]. Le nombre moyen d'espèces microbiennes obtenu par séquençage à haut débit était comparable. Les résultats sont discutés par rapport aux données cliniques et biologiques des patients et par rapport à la culture.

Conclusion : Les approches moléculaires évaluent plus exhaustivement la diversité bactérienne et fongique dans les expectorations des patients atteints de mucoviscidose que la culture. Une nouvelle étude sur une cohorte plus large de patients, est en cours pour évaluer la pertinence clinique et thérapeutique de ces premiers résultats.

Financement : Bourse AP-HP et laboratoire PFIZER.

Mots-clés : Mucoviscidose, microbiote, RFLP, clonage, séquençage à haut débit

Référence : Delhaes L *et al.* PLoS One. 2012; 7(4): e36313.

25/6o 22/11/2012 - 09:30 - AMPÈRE 8

Épidémiologie des infections à champignons filamenteux dans un centre de traitement des brûlés.

J. Schaal¹, C. Soler², P. Jault¹, T. Leclerc¹, L. Bargues¹
¹Centre de Traitement des Brûlés ²Service de Microbiologie, HIA Percy, Clamart, France

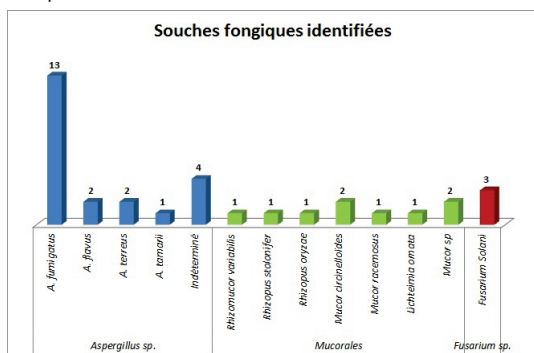
Objet de l'étude : Les infections fongiques sont de plus en plus fréquentes chez les patients brûlés [1]. Le but de ce travail est de collecter des données épidémiologiques concernant les infections à champignons filamenteux dans un centre de traitement des brûlés (CTB).

Méthodes : Cette étude rétrospective passe en revue tous les patients brûlés admis dans notre centre entre 2000-et 2011, ayant un prélèvement positif à champignon filamenteux. Pour les atteintes cutanées, les patients ont été séparés en trois catégories [2]:

1. colonisation fongique cutanée (CFC)
2. infection fongique cutanée (IFC) définie par un prélèvement mycologique positif associé à un SIRS, un sepsis sévère ou des signes locaux d'infections cutanées (incluant les infections cutanées superficielles et profondes)
3. infection disséminée (ID) définie par IFC associée à une hémoculture positive, une antigénémie positive ou une localisation secondaire. Nous avons relevé les caractéristiques mycologiques, démographiques et la mortalité.

Résultats : Sur 1575 patients hospitalisés (surface brûlée totale (SBT) moyenne de 23±22%), 29 patients ont présenté une atteinte fongique cutanée: 20 aspergillose ASP (5 CFC, 8 IFC et 7 ID), 9 mucormycoses MMC (3 CFC et 6 IFC), 3 fusarioses FUS (3 IFI). Deux colonisations à *Aspergillus* (respiratoire et sur cathéter) ont été identifiées. La figure 1 montre les identifications des espèces fongiques. 23 patients ont été brûlés en France et 8 ont été brûlés outre-mer. Pour ASP, MMC et FUS, les incidences sont respectivement 1,2, 0,5 et 0,2%; les délais de survenue sont respectivement 7±5, 4±2 et 5±2 semaines; les SBT et surface brûlée profonde moyennes sont respectivement de 58±23% et 47±24%; les scores UBS, UBSC et IGS2 sont respectivement de 196±92, 248±113 et 50±18. La durée d'hospitalisation moyenne est de 111±67 jours. 6 patients sont morts, tous atteints d'ASP/ID, représentant 27% des ASP. 2 patients ont présenté une co-infection ASP/MMC et sont morts.

Conclusion : Les Infections à champignons filamenteux surviennent chez des patients sévèrement brûlés. L'aspergillose semble grevée d'une mortalité importante quand elle est disséminée.



Références :

1. Ballard J. J Burn Care Res. 2008
2. Greenhalgh DG. J Burn Care Res. 2007

26/6o 22/11/2012 - 09:45 - AMPÈRE 8

Épidémie d'infections invasives à *Geotrichum clavatum* en services d'hématologie, France, septembre 2011 - août 2012.

C. Tarnaud¹⁰, M. Desnos-Ollivier⁵, S. Vaux¹⁰, A.G. Venier¹, L. Simon³, C. Bernet², H. Senechal⁸, H. Blanchard⁴, J.M. Thiolet¹⁰, R. Courbil⁹, S. Brisse⁶, S. Bretagne⁵, P. Ribaud⁷, O. Lortholary⁵, F. Drome⁵, B. Coignard¹⁰, Le groupe d'investigation Geotrichum
¹Cclin Sud-Ouest, Bordeaux ²Cclin Sud-Est, Lyon ³Cclin Est, Nancy ⁴Cclin Paris - Nord ⁵Centre national de référence Mycoses Invasives et Antifongiques (CNRMA), Institut Pasteur ⁶Plateforme de Génotypage des Pathogènes et Santé Publique (PF8), Institut Pasteur ⁷Société Française d'Hématologie (SFH), Paris ⁸Cclin Ouest, Rennes ⁹Etablissement Français du Sang, Saint-Denis ¹⁰Institut de veille sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France

Geotrichum clavatum est un champignon rarement responsable d'infection, au réservoir inconnu et naturellement résistant à de nombreux antifongiques. En avril-mai 2012, 3 clusters de fongémies à *G. clavatum* dans des services d'hématologie de 3 régions ont été signalés à l'InVS. L'investigation associant l'InVS, les Cclin et Arlin, les établissements et le CNRMA a recherché une source d'exposition commune et des facteurs favorisants.

Une recherche active d'infections invasives à *Geotrichum* sp. survenues entre 2009 et 2012 a été menée avec le CNRMA et la SFH. L'enquête n'a concerné que les isolats confirmés au CNRMA comme appartenant à l'espèce *G. clavatum*. Celle-ci documentait l'anamnèse des patients, leur alimentation, l'administration avant la fongémie de compléments alimentaires, médicaments, solutés, bains de bouche, produits de contraste ou produits sanguins labiles (PSL), les consommations d'antifongiques dans les services et leurs fournisseurs de médicaments et aliments.

Du 1/09/11 au 15/08/12, 22 fongémies à *G. clavatum* sont survenues dans 12 hôpitaux et 11 régions, dont 15 lors d'un pic épidémique de 6 semaines en avril-mai 2012; seules 7 étaient recensées avant le 1/09/11. Les 22 patients (12 femmes, âge moyen 59 ans, extrêmes 23-81) étaient hospitalisés pour leucémie aiguë myéloblastique (n=16), aiguë lymphoblastique (n=5) ou lymphoïde chronique (n=1); 90% (19/21) étaient en aplasie. La mortalité globale était de 91% (20/22). L'investigation, toujours en cours, n'a pas identifié de source commune. Avant leur fongémie, 90% (18/20) des patients avaient reçu un antifongique en prophylaxie ou traitement empirique (casofungine: 65%, posaconazole: 60%) et 86% (18/20) une chimiothérapie (cytarabine: 85%); 90% (18/20) recevaient une alimentation orale (protégée: 60%); 75% (12/16) avaient consommé des yaourts. L'analyse des PSL est en cours. Les souches épidémiques avaient un profil de sensibilité aux antifongiques habituel pour cette espèce sans caractère particulier.

L'émergence d'infections à *G. clavatum* en France reste inexpliquée et constitue un phénomène isolé non rapporté dans d'autres pays. Ces données préliminaires suggèrent une exposition à une source commune chez des patients immunodéprimés et soumis à une pression de sélection antifongique.

27/6o 22/11/2012 - 10:00 - AMPÈRE 8

Fréquence et facteurs de risque de mycose génitale en population générale chez l'homme et la femme en France métropolitaine en 2010.

G. La Ruche², C. Semaille², G. Pedrono¹, N. Beltzer¹, Groupe KABP*
¹Observatoire régional de santé Île-de-France, Paris ²Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

Objet de l'étude : Les mycoses génitales sont considérées comme n'étant généralement pas d'origine sexuelle chez les femmes mais peuvent être associées à des comportements sexuels à risque pour les deux sexes. Le but de cette étude est d'évaluer la fréquence et les facteurs associés à la survenue de mycoses génitales.

Méthodes : Une enquête sur les connaissances, attitudes et comportements face au VIH a été réalisée par téléphone en 2010 auprès d'un échantillon représentatif de la population générale adulte de métropole. La déclaration d'infections sexuellement transmissibles dans les 5 ans, et en particulier de mycoses génitales, a été étudiée chez les répondants sexuellement actifs de 18 à 54 ans. Les pourcentages pondérés de mycose et leurs intervalles de confiance à 95% (IC) ont été calculés. Des régressions logistiques ont permis de calculer des odds ratios ajustés (OR), les répondants n'ayant rapporté aucune IST ont servi de référence et ceux ayant déclaré une autre IST ont été exclus de cette analyse.

Résultats obtenus : Parmi les 3 050 hommes interrogés, 1,6% (IC 1,2-2,2%) ont déclaré avoir eu une mycose génitale dans les 5 ans. En analyse multivariée, les facteurs suivants étaient significativement associés à la déclaration d'une mycose: avoir entre 25 et 30 ans (OR=4,9), avoir déjà effectué un test VIH (depuis plus de 5 ans: OR=4,0 ou entre 1 et 5 ans: OR=3,1), avoir eu plusieurs partenaires dans les 5 ans (2 partenaires: OR=3,8; ≥3 partenaires: OR=2,6), avoir un niveau d'éducation élevé (OR=2,3) et craindre les IST (OR=2,1).

Parmi les 3 441 femmes interrogées, 3,7% (IC 3,1-4,4%) ont rapporté une mycose génitale dans les 5 ans. Les facteurs associés étaient: avoir déjà effectué un test VIH (depuis plus de 5 ans: OR=1,7 ou entre 1 et 5 ans:

OR=2,9 ou depuis moins d'1 an: OR=2,5), avoir eu un partenaire refusant le préservatif dans les 5 ans (OR=2,4) et avoir eu plusieurs partenaires dans les 5 ans (2 partenaires: OR=1,9; ≥3 partenaires: OR=1,8).

Conclusion : Ce type d'enquête peut comporter des biais, notamment de sous-déclaration. Cependant, cette enquête nous a permis de mettre en évidence des liens entre mycoses génitales et comportements à risque, chez l'homme comme chez la femme.

Groupe KABP^{*}: Véronique Doré (Agence nationale de recherche sur le sida et les hépatites virales, ANRS), Nathalie Beltzer, Isabelle Grémy, Gaëlle Pédrone, Leïla Saboni, Claire Sauvage, Cécile Sommen (Observatoire régional de la santé d'Ile-de-France), Cécile Brouard, Marie Jauffret-Roustide, Guy La Ruhe, Stéphane Le Vu, Caroline Semaille (Institut de veille sanitaire, InVS), François Beck, Arnaud Gautier, Romain Guignard, Nathalie Lydié, Jean-Baptiste Richard (Institut national de prévention et d'éducation pour la santé, Inpes) et Josiane Warszawski (Institut national de la santé et de la recherche médicale, Inserm)]

28/6o 22/11/2012 - 10:15 - AMPÈRE 8

Identification rapide des levures à partir des flacons d'hémoculture Mycosis[®] par spectrométrie de masse MALDI-TOF.

H. Seraphin³, V. Biering³, M. Cornu³, X. Perez³, S. Rousselle², F.X. Chaine⁴, A. Totet¹, H. Dupont¹, B. Sendid³, T. Chouaki³

¹Anesthésie et réanimation médicales ²Bactériologie ³Parasitologie et Mycologie médicales ⁴Santé publique et évaluation médicale, CHU d'Amiens et Université de Picardie Jules Verne ⁵Parasitologie et Mycologie médicales, CHU de Lille, France

Les infections fongiques invasives sont associées à une morbi-mortalité redoutable. L'instauration précoce d'une thérapeutique adaptée est entre autre corrélée à un pronostic favorable. Le tableau clinique étant souvent peu spécifique, les outils biologiques prennent toute leur place dans la stratégie diagnostique. C'est dans ce contexte que les laboratoires de microbiologie s'efforcent de proposer des méthodes fiables et de réduire le délai diagnostique. Nous nous sommes intéressés en particulier aux hémocultures et à l'identification rapide des levures responsables de candidémies par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Notre travail a consisté en la simulation d'hémocultures positives, puis en l'identification des levures inoculées dans ces flacons par MALDI-TOF, après une étape d'extraction. Soixante-quatorze (74) souches cliniques représentant 8 espèces différentes ont été testées. L'identification obtenue était correcte pour 85,1% des souches, 96,6% des *Candida albicans*, 92,9% des *Candida glabrata*, et 100% des *Candida krusei*.

Une identification peut être ainsi obtenue en moins d'une heure, contre 72 heures en moyenne avec les techniques conventionnelles. Un diagnostic rapide de l'espèce responsable de l'infection fongique invasive permettrait:

- Une optimisation de la thérapeutique antifongique
- Une désescalade plus précoce vers le fluconazole, lorsque la levure incriminée est connue comme ayant des concentrations minimales inhibitrices basses, vis-à-vis de cet antifongique.
- Une rationalisation de l'usage des antifongiques
- Une réduction de la pression de sélection de souches résistantes.

Enfin, l'approche pharmaco-économique, liée au gain induit par la réduction d'utilisation des echinocandines, mériterait d'être évaluée.

33/8SEP 22/11/2012 - 09:00 - BRILLAT SAVARIN 1

Méthodologie, définitions.

F. Jehl
Laboratoire de bactériologie, Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

La CMI est la concentration minimale inhibitrice.

C'est la plus petite concentration à même d'inhiber la croissance bactérienne. C'est donc un paramètre de bactériostase. Elle est exprimée en mg/L ou en µg/ml.

Les méthodes de détermination sont soit directes, soit indirectes.

Méthodes directes.

- la dilution en milieu gélosé: méthode de référence
- la macrodilution en milieu liquide: en tubes
- la microdilution en milieu liquide: plusieurs systèmes automatiques commercialisés
- les bandelettes en gradients de concentrations: plusieurs systèmes existent

La dilution en milieu gélosé consiste à incorporer l'antibiotique dans de la gélose en boîtes de Pétri à des concentrations croissantes, d'y semer la bactérie et de constater, à l'œil nu, quelle est la première concentration qui empêche toute culture visible de la bactérie. Les concentrations d'antibiotiques se répartissent selon une gamme de dilution de raison 2. Par convention, la concentration de 1 mg/L est toujours présente : 0.002; 0.004; 0.008; 0.015; 0.03; 0.06; 0.12; 0.25; 0.5; 1; 2; 4; 8; 16; 32; 64; 128; 256.

Méthode indirecte :

La diffusion en milieu gélosé, c'est-à-dire l'antibiogramme par diffusion. Une CMI peut être déduite des diamètres d'inhibition grâce aux courbes de concordance. La droite de concordance est en fait la droite de régression, pour un grand nombre de souches, entre les diamètres d'inhibition mesurés

dans des conditions bien déterminées et la CMI correspondante mesurée par une des méthodes considérées comme référence (dilution en milieu gélosé ou liquide)

De nombreux paramètres influent la détermination de la CMI, toutes méthodes confondues :

- le milieu de culture: touche tous les antibiotiques et tous les microorganismes
- le temps d'incubation plus il est long, plus la CMI augmente
- la T° d'incubation: affecte la croissance, l'activité de l'antibiotique, l'expression des résistances, la diffusion
- la taille de l'inoculum: plus il est grand, plus la CMI est élevée
- la phase de l'inoculum: une phase de latence longue diminue la CMI
- l'atmosphère: le CO₂ influence le pH, qui influence la sensibilité aux macrolides; l'anaérobiose diminue les CMI du métronidazole pour *H. pylori*
- le pH: une atmosphère acide ou alcaline influence certains antibiotiques
- la concentration en ions divalents: aminosides, daptomycine
- problèmes de lecture: subjectivité de la lecture
- possibilité d'induction des résistances: efflux, résistances enzymatiques

Les systèmes automatisés en microdilution liquide, très répandus, ont certaines limitations qui leur sont spécifiques :

- les séries de dilution sont limitées, limitant ainsi les possibilités d'extension en cas de changement de concentrations critiques. De nombreux résultats sont exprimés sous la forme: <= x mg/L ou >= y mg/l
- dans certains cas, il n'y a que les deux concentrations critiques
- certains automates mesurent les caractéristiques de croissance en présence et en absence d'antibiotique à des concentrations variables, mais peu nombreuses : les inconvénients inhérents sont les mêmes que ci-dessus.

On s'oriente vers des systèmes semi-automatisés pour la diffusion en milieu gélosé et pour les bandelettes en gradients de concentrations.

Une méthode correctement standardisée permet de mesurer une CMI à une dilution près dans 95% des cas et à deux dilutions près dans 99% des cas. Cependant, pour certains couples antibiotiques-bactéries cela n'est pas réalisable.

Quelles CMI ?

Il existe différents types de CMI.

- la CMI ponctuelle, mesurée pour un antibiotique donné sur une souche bien définie isolée ponctuellement chez un patient.
- La CMI 50 d'un effectif de souches: c'est la plus petite CMI qui englobe au moins 50% des CMI individuelles de l'effectif.
- La CMI 90 d'un effectif de souches : c'est la plus petite CMI qui englobe au moins 90% des CMI individuelles de l'effectif.
- la CMI médiane de l'effectif: c'est la CMI la plus représentée

Les concentrations critiques sont également des CMI

- la concentration critique inférieure (c) est une CMI seuil: toute CMI ponctuelle mesurée chez une bactérie inférieure ou égale à (c) permet de classer la bactérie dans la catégorie sensible
- la concentration critique supérieure (C) permet d'identifier les bactéries résistantes lorsque qu'elles sont caractérisées par des CMI supérieures à C.
- entre les deux, la bactérie est catégorisée intermédiaire.

Quand mesurer les CMI ?

- pour un certain nombre d'antibiotiques, il n'existe pas de diamètre critique pour l'antibiogramme par diffusion. Seule la mesure de la CMI permettra de catégoriser la souche.
- certaines situations cliniques imposent de mesurer la CMI pour avoir une idée plus précise de la sensibilité ? Par exemple : dans les méningites, les CMI des principales bêta-lactamines (pénicilline G, amoxicilline, cefotaxime ou ceftriaxone, voire imipénème) vis-à-vis des pneumocoques et méningocoques doivent être connues.
- les paramètres pharmacodynamiques prédictifs de l'efficacité bactérioclinique des antibiotiques et de leur capacité à prévenir l'émergence de résistance incluent tous la CMI dans leur formule (C_{max}/CMI, C_{min}/CMI, T>CMI, ASC/CMI...). Pour être prédictifs, ces paramètres doivent atteindre des valeurs seuils. Or, au quotidien, celles-ci ne peuvent être évaluées que par la connaissance des concentrations ou des aires sous courbes (pharmacocinétique descriptive de l'antibiotique, ou, mieux, par les dosages en routine) ET des CMI. Dans les infections sévères (à BGN ou staphylocoques par ex.), elles deviennent incontournables (C3-4G, carbapénèmes, glycopeptides, daptomycine...)
- Les nouvelles règles d'interprétation des antibiogrammes d'entérobactéries productrices de BLSE autorisent à supposer qu'elles soient sensibles aux C3-4G/aztreonam si le diamètre d'inhibition est supérieur au diamètre critique : la confirmation DOIT se faire par une mesure de la CMI. Ceci dans un souci de diminution de la consommation des carbapénèmes.

Quand déterminer la CMI et comment ? Chez les bactéries à Gram positif.

R. Leclercq

Service de microbiologie, CHU de Caen, Caen, France

La Concentration Minima Inhibitrice (CMI) est le standard contre lequel toutes les techniques d'étude de sensibilité aux antibiotiques des bactéries aérobies non exigeantes doivent maintenant se comparer.

La microdilution en bouillon de Muller-Hinton est maintenant le standard de référence internationale (ISO) pour les bactéries aérobies non exigeantes (1). Cette technique est adoptée par le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) (2, 3), l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (4) et le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) (www.sfm.asso.fr). Les méthodes décrites dans les documents ISO, CLSI, EUCAST, CA-SFM constituent la référence. Il faut noter que ces méthodes ont été celles qui ont été les plus précisément évaluées. Cependant beaucoup de données disponibles sont basées sur la méthode de dilution en gélose antérieurement préconisée. Pour les bactéries de culture difficile, le CLSI propose des conditions adaptées à certains genres bactériens isolés en clinique. L'EUCAST effectue actuellement ce travail.

En pratique, la détermination d'une CMI selon la méthode de référence peut difficilement être pratiquée en routine pour mesurer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Des méthodes plus simples ayant montré leur équivalence sont donc utilisées.

Les automates utilisent une lecture turbidimétrique itérative ou continue permettant de détecter une croissance bactérienne dans des puits contenant des antibiotiques à des concentrations choisies pour encadrer les concentrations critiques et en comparaison avec la croissance d'un contrôle. Les autorités de régulation exigent pour ces appareils des performances comparables à celles de la méthode de référence de microdilution en bouillon. Donc, même si les résultats sont présentés sous forme de résultats de CMI, il ne s'agit pas de CMI déterminées selon la méthode ISO. Les méthodes semi-automatisées font preuve en général de bonnes performances globalement. Cependant, l'une ou l'autre peut parfois être en défaut de détection d'un mécanisme spécifique de résistance (bas niveau de résistance à la vancomycine chez les staphylocoques). Les méthodes Phoenix[®] et Microscan[®] effectuent une CMI au sens propre (croissance ou absence de croissance dans un bouillon contenant des dilutions de raison 2 de l'antibiotique étudié). Cependant, l'étendue de la gamme de concentrations testées est limitée à une ou deux dilutions au-dessus ou au-dessous des concentrations critiques. Elle a pour conséquences de produire des valeurs de CMI tronquées correspondant aux valeurs extrêmes de ces gammes tronquées. Vitek2[®] utilise des algorithmes de croissance, c'est à dire que la vitesse de croissance bactérienne en présence d'un nombre réduit de concentrations d'antibiotiques est calibrée sur des CMI connues de souches utilisées à cet effet. Les concentrations testées sont plus étendues mais les gammes restent tronquées.

La méthode de diffusion en gélose (méthode des disques) reste très utilisée et bénéficie d'une expérience ancienne. Cependant, la qualité de la droite de régression est variable selon l'espèce bactérienne et des espèces différentes peuvent présenter des droites de régression différentes. De plus, certains antibiotiques diffusent médiocrement en gélose (glycopeptides) et pour ceux-ci, la méthode de diffusion est souvent inadéquate. Il n'est donc pas raisonnable de rendre des résultats exprimés en CMI à partir d'une mesure en mm.

Les tests de diffusion en gradient sont maintenant disponibles pour de nombreux antibiotiques et antifongiques. Il faut souligner que bien que ces tests apparaissent faciles à utiliser, ils requièrent un savoir-faire de leur utilisateur, un respect des instructions du fabricant et nécessitent que les procédures standards de contrôle de qualité soient suivies. Il faut bien considérer que cette méthode n'est pas la méthode de référence, même si elle est couramment utilisée comme méthode de CMI dans les laboratoires. Il faut noter qu'il s'agit d'une méthode en milieu gélosé qui se compare à une méthode de référence en milieu liquide. Il n'est donc pas étonnant que des valeurs plus hautes ou plus basses en comparaison aux méthodes de référence aient été décrites (5).

La décision d'effectuer une CMI en complément d'une technique de routine est basée sur les recommandations et aussi sur la décision du biologiste en cas de doute sur le résultat. Les situations d'infections sévères incitent à contrôler les CMI. En pratique, une méthode de gradient en gélose sera utilisée, avec les réserves exprimées ci-dessus.

Il faut noter que la nomenclature des actes de biologie considère que pour les germes isolés de liquides de ponction (LCR, articulaire...) une CMI est à effectuer. Par ailleurs, les recommandations du CA-SFM pointent des situations où la CMI doit être pratiquée.

Un certain nombre de situations courantes imposent la détermination des CMI chez les bactéries à Gram-positif.

Ainsi, la diminution de sensibilité aux pénicillines chez le pneumocoque impose la détermination de la CMI de pénicillines et aussi de céfotaxime ou ceftriaxone du fait de dissociations possibles dans les niveaux de résistance. Il en est de même pour les streptocoques viridans.

Dans certains cas, le peu de fiabilité de la méthode par diffusion impose la détermination des CMI. Ainsi, la suspicion de sensibilité diminuée des staphylocoques aux glycopeptides conduit à la détermination de la CMI. Cette détermination est également recommandée systématiquement pour les infections sévères par le CA-SFM. Il est à noter que l'EUCAST et le CLSI considèrent que la méthode des disques n'est pas fiable pour tester les

glycopeptides contre les staphylocoques et que seules les CMI permettent une réponse fiable. La recherche de souches hétéro-VISA dès que de telles souches sont soupçonnées par le test de routine en pratiquant une CMI dans des conditions particulières (fort inoculum, milieu riche...)

La suspicion de sensibilité diminuée à l'oxacilline chez les souches de *Staphylococcus aureus* par un mécanisme autre que *mecA* ou *mecC* (souches BORSA ou MODSA) demande aussi le contrôle de la CMI.

Références :

1. International Organization for Standardization (ISO). 2006. Clinical laboratory testing and *in vitro* diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Part 1: Reference method for testing the *in vitro* activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. ISO 20776-1. Geneva: International organization for Standardization.
2. Amsterdam D. 2005. Susceptibility testing in liquid media. In V. Lorian (ed), *Antibiotics in Laboratory Medicine*. 5th ed. Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia PA.
3. Clinical and Laboratory Standards Institute. 2008. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard—Eighth edition. CLSI document M07-A8. Clinical and Laboratory Standards Institute, Wayne, PA.
4. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). 2003. Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by broth dilution (EUCAST discussion document E.Dis 5.1). *Clin. Microbiol. Infect.* 9:1-7.
5. Prakash V, J. S. Lewis II, and J. H. Jorgensen. 2008. Vancomycin MICs with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates differ based upon the susceptibility test method used. *Antimicrob. Agents Chemother.* 52:4528.

Le point de vue du clinicien.

F. Caron

Infectiologie, CHU & Université (EA2656) de Rouen, France

En France, les recommandations d'une mesure précise des CMI ont été longtemps peu nombreuses, centrées sur l'évaluation de l'amoxicilline, du céfotaxime et de la ceftriaxone vis-à-vis des pneumocoques isolés d'infection sévères et suspects de sensibilité diminuée aux β -lactamines [1].

Les recommandations d'une mesure de CMI se sont récemment élargies, notamment à l'évaluation de la colimycine vis-à-vis des bactéries ciblées (un beau diamètre d'inhibition n'étant pas pour cette molécule nécessairement prédictif d'une réelle sensibilité), des glycopeptides (vancomycine et teicoplanine) vis-à-vis des souches de staphylocoques pour lesquelles les méthodes standard font craindre une sensibilité diminuée, et des céphalosporines de troisième génération ou de l'aztréonam vis-à-vis des entérobactéries semblant sensibles à ces molécules mais suspects d'être productrices d'une β -lactamase à spectre élargi (EBLSE) [1].

Il semble nécessaire de développer encore ces mesures précises de CMI en routine, sur la base de recommandations internationales, elles-mêmes sous tendues par une littérature robuste : mesure de la CMI de la pénicilline pour toute endocardite infectieuse à streptocoque d'où découle des schémas antibiotiques nettement différents (mono ou bithérapie, pour une durée totale de 2 à 6 semaines selon que la souche est "pleinement sensible" [CMI<0,125 mg/L] ou "relativement résistante" [0,125<CMI<2mg/L], les concentrations critiques étant en France de 0,25 mg/L (S si CMI<0,25 mg/L) et 2 mg/L (R si CMI>2 mg/L) [2]; mesure de la CMI de la vancomycine devant toute infection à *Staphylococcus aureus* relevant de cette molécule, compte-tenu d'un sur-risque d'échec pour les souches à CMI \geq 2 mg/L [3] (et alors que les staphylocoques restent réputées sensibles à la vancomycine en France pour une CMI=2 mg/L).

Plus généralement, il apparaît logique d'en venir à des mesures de CMI pour d'autres situations de bactéries multi-résistantes, afin d'être bien certain de la sensibilité à l'antibiotique envisagé : ainsi, avant d'utiliser une association amoxicilline-clavulanate ou pipéracilline-tazobactam dans le traitement d'une infection sévère à EBLSE, n'est-il pas pertinent d'avoir la valeur exacte de la CMI afin d'écartier tout risque d'une sous-évaluation de la résistance par les méthodes standard, sachant qu'une parfaite corrélation a été établie pour ces EBLSE entre valeur de CMI à telle association pénicilline-inhibiteur de β -lactamases et réponse à cette thérapeutique [4] ?

Même pour les souches les plus sensibles, il est tentant d'en venir à une adaptation pharmacodynamique individuellement complète pour tout traitement par antibiotique à index thérapeutique étroit tel que typiquement par glycopeptide (vancomycine et dans une moindre mesure teicoplanine), et ceci pour caler les taux sériques sur la valeur de la CMI de la souche infectant le patient. En effet, les recommandations générales pour les posologies et les taux sériques des antibiotiques sont fondées sur les CMI₉₀, concentrations inhibant 90% des bactéries anticipées; ces recommandations valent à l'échelon d'un groupe, mais ne sont pas nécessairement les plus pertinentes à l'échelle individuelle; adapter les taux antibiotiques à la souche en cause permet d'éviter non seulement les sous-dosages en cas d'infection par une bactérie particulièrement peu sensible, mais aussi les posologies proportionnellement trop élevées (avec tout leur risque de toxicité dose-dépendante) en cas d'infection par une souche particulièrement sensible pour l'espèce (exemple du traitement par teicoplanine d'une infection à entérocoque, avec en France des CMI fréquemment \leq 0,5 mg/l, valeur autrement plus favorable que celles des staphylocoques, permettant de ce fait d'éviter les trop fortes posologies associées à un sur-risque de iatrogénie et aussi à un surcoût). Bien que

d'index thérapeutique particulièrement étroit, les aminosides sont moins candidats à ces mesures exactes de CMI : vis-à-vis des germes sensibles (bacilles à Gram négatif et staphylocoques) pour lesquels une CMI précise pourrait être intéressante, ils sont le plus souvent utilisés en très courte durée (1 à 3 jours), de sorte que le schéma est terminé ou quasiment le temps d'avoir le résultat; vis-à-vis des streptocoques et entérocoques, une CMI précise n'est pas nécessaire pour guider le schéma, dès lors que la souche est qualifiée par les tests standard de résistance à bas-niveau, ce qui suffit pour anticiper une synergie avec les β -lactamines ou les glycopeptides.

Les élargissements d'indication des mesures précises de CMI sont génératrices évidemment d'un surcoût pour les laboratoires -toutefois faible par rapport à d'autres actes davantage ancrés dans la routine (dosages antibiotiques itératifs...) - mais pouvant être compensé par des économies sur la prise en charge globale : contribuer à augmenter les taux de succès thérapeutiques est avant tout un impératif de qualité mais limite aussi les coûts globaux.

Le dernier texte de la Haute Autorité de Santé [5] relatif au bon usage des antibiotiques dans les établissements de santé incite à cet usage plus large des mesures de CMI, sans toutefois les cadrer précisément : "dans certains cas, la détermination des CMI des antibiotiques est une information qui peut être utile à la détermination des posologies afin d'obtenir des concentrations sériques satisfaisantes".

Il est suggéré ici des indications larges à ces tests, englobant de nombreuses infections bactériennes sévères relevant d'une prise en charge en établissement de santé.

Références :

1. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
Recommandations 2000 à 2012
www.sfm-microbiologie.org
2. G Habib *et al* Eur Heart J 2009; 30: 2369-413
3. M Rybak *et al* Am J Health-Syst Pharm 2009; 66: 82-95
4. Rodriguez-Bano *et al* Clin Infect Dis 2012; 54: 167-74
5. Stratégie d'antibiothérapie et prévention des résistances bactériennes en établissement de santé.
Recommandations Avril 2008
Haute Autorité de santé

41/10o 22/11/2012 - 11:00 - APOLLINAIRE 2

Pratiques de dépistage en 2012 au sein des hôpitaux du collège de bactériologie-virologie-hygiène.

O. Bellon¹, R. Sanchez², Collège de Bactériologie, Virologie, Hygiène des Hôpitaux (COLBVH)

¹Laboratoire de Bactériologie, Centre hospitalier du pays d'Aix, Aix-en-Provence ²Centre hospitalier Jean Marcel, Brignoles ³Centre hospitalier, Périgueux, France

Les membres du COLBVH ont effectué, en mai 2012, une enquête concernant les pratiques de dépistage dans leurs structures de santé: Un questionnaire a été envoyé à tous les membres du collège: 129 structures (soit 63%) ont répondu dans les délais. Les caractéristiques, en termes de services de soins des structures ont été précisées.

75% des structures possèdent un document interne définissant la politique de dépistage de l'établissement revu plus ou moins récemment (17% avant 2011-59% en 2011- 23% en 2012).

Les protocoles préconisent des prélèvements à l'admission (94%), durant l'hospitalisation (77%) ou à la sortie du patient (14%).

Les critères de dépistages à l'admission ont été analysés par exemple: admission en gériatrie (7%), antécédent connu de portage (42%) ou admission en réanimation (74%).

Pour les dépistages en cours d'hospitalisation les critères et fréquence ont été étudiés (fréquence hebdomadaire le plus souvent).

Les germes recherchés (germes et phénotypes éminemment variables) ainsi que les sites prélevés pour les principaux germes ont été relevés et comparés aux recommandations.

Les pratiques concernant des couples germes-services ont été notés (44 centres pour la chirurgie et 66 pour la dialyse avec le staphylocoque doré).

La comparaison des micro-organismes (y compris les levures) recherchés en réanimation, médecine, gériatrie et médecine préventive a été faite.

Enfin les moyens de communication des résultats ont été répertoriés : l'impression papier et la mise en ligne des résultats sur les serveurs restent prédominants, le résultat n'est téléphoné que dans la moitié des cas au service et 19% des cas au service d'hygiène. Dans 40% des cas un email ou un fax est envoyé au service d'hygiène et dans 38% des cas une copie papier est transmise à l'hygiéniste.

Si dans 95% des centres un commentaire spécifique pour les bactéries multirésistantes (BMR) est noté sur l'antibiogramme, seuls 25% des centres ont une liste de patients porteurs ou infectés à BMR actualisée.

Gageons que les centres utiliseront cette analyse pour améliorer leurs pratiques du dépistage

42/10o 22/11/2012 - 11:15 - APOLLINAIRE 2

Système informatisé d'alerte pour la gestion des patients contacts porteurs de bactéries hautement résistantes (BHR).

J. Lolom³, A. El Assali², G. Birgand³, S. Belorgey³, A. Andreumont¹, J.C. Lucet³

¹Bactériologie ²Direction informatique ³UHLIN, GH Bichat - Claude Bernard, AP-HP, Paris, France

Introduction : La détection d'un porteur de BHR (P-BHR) à distance de son admission, ou l'absence d'un cohorting strict (équipe dédiée) au cours de son séjour implique la gestion de patients « contacts » (Pts-C). Leurs suivis (transferts internes et/ou réadmissions) est nécessaire afin de mettre en place les mesures adaptées. Ces situations de plus en plus fréquentes nous ont conduits à développer un système d'alerte informatisé en collaboration avec le service informatique local.

Méthodes : Une base de gestion et de partage de données a été développée sous Mysql dans laquelle sont importées les données « patients » (Pt) et celles du système de gestion des mouvements (SIH). La base est composée de 6 tables: identité Pt, type de BHR, mouvement (admission, transfert interne, sortie,...), service, et « statut BHR » défini pour chaque Pt (Pts-C, P-BHR). Pour les Pts-C, ce statut est rattaché à un P-BHR et à un service donné (lieu d'exposition). Une requête basée sur le numéro d'identité patient (NIP) permet à chaque mouvement de générer en temps réel et de façon automatique un message d'alerte (table alerte).

Résultats : L'application est accessible sur intranet, l'interface est conviviale et simple d'utilisation. Trois principaux modules sont disponibles:

1. intégration dans la base SQL (nouveaux Pts),
2. gestion des Pts et du « statut BHR » (positif, négatif après dépistage, portage négatif), et
3. liste récapitulative quotidienne des mouvements. L'alerte est centralisée à l'EOH: impression sur support papier, sur messagerie électronique et sur Smartphone pour les P-BHR. A ce jour, ce système permet de gérer plus de 1390 Pts (42 P-BHR: 7 avec portage négatif, 1348 Pts-C). Parmi les Pts-C: 1 Pt a été découvert positif lors de sa réadmission, 483 ont été classés négatifs (2 dépistages avec enrichissement négatifs après fin de l'exposition).

Conclusion : Le suivi des Pts-C est facilité par ce système informatisé. L'outil est d'installation rapide, d'apprentissage facile, et géré de façon autonome par l'EOH. A ce jour 4 des 5 sites qui composent notre Groupe Hospitalier sont équipés. Des évolutions sont envisagées, notamment une alerte directe dans les unités de soins.

43/10o 22/11/2012 - 11:30 - APOLLINAIRE 2

Intérêt pratique et clinique du dépistage préopératoire du *Staphylococcus aureus* (SA) par PCR à l'admission versus dépistage par culture à la visite pré-chirurgicale.

G. Richalet

Clinique des Cèdres Bactériologie, Medi Bio, Grenoble, France

Introduction : S.A. est le pathogène majeur des infections en chirurgie. Celles-ci entraînent une augmentation de la DMS de 7,5 jours à 30 jours. Le dépistage de S.A. associé à un traitement par la mupirocine/chlorhexidine permet une diminution d'infections à S.A. de 60%, une diminution de la DMS de 1,8 jours (12.2j. mupi-chlor vs. 14.0j. placebo), une réduction des coûts: coût prévention<coût du traitement (X7) Bode, 2010.

Objectif de l'étude : Ce projet a consisté à mettre en routine, le dépistage de S.A. par PCR préopératoire à l'admission et aux urgences 24h/24 associé à une décolonisation immédiate des porteurs versus dépistage usuel par culture et traitement à domicile 1 mois avant la chirurgie.

Matériels & Méthodes : Lors de la visite pré-chirurgicale (1 mois avant la chirurgie), les patients ont eu un prélèvement nasal pour mise en culture. A l'admission, un dépistage est systématiquement réalisé avec écouvillons doubles pour mise en culture sur gélose au sang ANC et réalisation immédiate d'une PCR (Xpert MRSA/SA Nasal, Cepheid). Une décolonisation par mupirocine/chlorhexidine est réalisée en fonction du résultat de la PCR et isolement du patient si nécessaire moins de 1h30 après l'admission.

Résultats : Nous avons réalisé 2917 dépistages à l'admission: 30% de patients ont été identifiés porteurs de S.A. Méricilline Sensible (SAMS) et 0.8% porteurs de S.A. Méricilline Résistant (SAMR) pour lesquels l'observance du traitement de décolonisation à l'admission a été totale. Sur ces 2917 admissions 12% (348) avaient été dépistés par culture lors d'une visite pré-chirurgicale. Parmi ces 348 patients nous avons identifiés:

- Culture pré-visite : 99 SAMS/3 SARM.
- PCR Xpert MRSA/SA à l'admission: 105 SASM/1 SARM dont 46 étaient négatifs en culture lors de la visite pré-chirurgicale et 59 étaient déjà positifs en culture lors de la visite pré-chirurgicale et pour lesquels une décolonisation par mupirocine avait été pratiquée à domicile.
- Seuls 40 patients sur les 99 présentant une culture SAMS positive en visite pré-chirurgicale sont devenus négatif en PCR à l'admission.

Conclusions : La PCR est plus sensible que la culture et il apparaît clairement que la PCR conjuguée au dépistage à l'admission est plus pertinente qu'en visite pré-chirurgicale: problème d'observance du traitement à domicile et de recolonisation possible.

Seule une méthodologie formalisée à l'admission et une PCR automatisée

pour rendre un résultat en moins de 1h30 dans le but de décoloniser les patients la veille ou le jour de la chirurgie, sont adaptées à une politique de dépistage efficace en chirurgie. Cette organisation peut alors, être aussi appliquée aux urgences.

| Dépistage culture visite pré-Xie | Dépistage PCR à l'admission | | |
|----------------------------------|-----------------------------|-------------|-----|
| | Dépistage + | Dépistage - | |
| Dépistage + | 59 | 40 | 99 |
| Dépistage - | 46 | 203 | 249 |

44/10o 22/11/2012 - 11:45 - APOLLINAIRE 2

Dépistage moléculaire rapide par Xpert MRSA/SA du portage nasal de *Staphylococcus aureus* lors de la consultation préopératoire de chirurgie cardiaque au CHU de Poitiers.

C. Plouzeau¹, S. Thevenot¹, C. Jayle², P. Touroult-Jupin¹, V. Vernet¹, P. Corbi², C. Burucoa¹

¹Laboratoire de Bactériologie et d'Hygiène hospitalière ²Unité de Chirurgie cardiaque et thoracique, CHU de Poitiers, Poitiers, France

Objectif : La mise en place du dépistage de *S. aureus* chez les patients chirurgicaux se heurte à des problèmes organisationnels. Un dépistage à l'admission retarde le début de la décontamination. Un dépistage par culture lors d'une consultation en amont rend difficile l'information du patient colonisé. L'objectif était la mise en place d'un dépistage simple et rapide permettant un protocole de décontamination évaluable par une traçabilité pour l'ensemble des malades programmés en Chirurgie cardiaque sur un an (environ 400). Nous souhaitions évaluer la faisabilité et la compliance des patients et comparer l'incidence des ISO avec celle de la période précédente.

Méthode :

Dépistage : Un écouvillonnage nasal est réalisé lors des consultations préopératoires (chirurgie et anesthésie le même jour). La PCR rapide MRSA/SA sur GeneXpert permet une analyse au laboratoire en 71 min.

Information du patient : Après les consultations, un infirmier prend en charge les patients porteurs afin d'expliquer le protocole de décontamination.

Décontamination : J-2, J-1 à domicile, J0 à l'entrée: 3 applications intranasales /j de mupirocine et une douche antiseptique. A J+1, J+2 la décontamination nasale est poursuivie en réanimation.

Traçabilité : L'infirmier remet avec l'ordonnance une fiche sur laquelle le patient doit tracer chaque application nasale et chaque douche. La traçabilité (dépistage et fiche de suivi) a été rajoutée à la « check-list » d'entrée dans le service.

Résultats : Après 2,5 mois 68 patients se sont vu proposer un dépistage soit l'ensemble des patients programmés sur cette période. Tous ont acceptés, 17 étaient porteurs (25%), 1 seul SAMR. Le résultat était rendu en moins de 2h (pré et post analytique inclus) dans 70% des cas. A ce jour 29 patients ont été opérés avec un délai moyen entre le dépistage et la chirurgie de 30 jours. 15 patients ont bénéficié d'une consultation à un mois et aucun ne présentaient d'ISO. En novembre un bilan à 6 mois sera présenté.

Conclusion : En utilisant le GeneXpert un dépistage rapide lors de la consultation préopératoire de Chirurgie cardiaque a été possible au CHU de Poitiers. La traçabilité du protocole nous permet d'évaluer sa bonne application. La comparaison de l'incidence des ISO avec la période précédente sera réalisée sur un an.

45/10o 22/11/2012 - 12:00 - APOLLINAIRE 2

Contamination de l'environnement hospitalier par les entérobactéries productrices de BLSE : différence entre *E. coli* et *K. pneumoniae*.

C. Slekovec, H. Gbaguidi-Haore, A. Varin, D. Talon, D. Hocquet, X. Bertrand CHU, Besançon, France

Les incidences pour 1000 patient-jours de *E. coli* et *K. pneumoniae* producteur de BLSE (ECBLSE et KPBLSE) ont augmenté respectivement de 0.001 à 0.44 et de 0.012 à 0.24 entre 1999 et 2010 dans notre hôpital. Le génotypage de ce type de souches isolées en 2010 montre que la transmission croisée de ECBLSE est peu fréquente dans notre hôpital alors qu'un clone de KPBLSE est responsable de 2/3 des cas.

Objet de l'étude : Déterminer la fréquence de contamination de l'environnement inerte dans les chambres hébergeant des patients colonisés/infectés par des EBLSE, notamment *E. coli* et *K. pneumoniae*.

Matériel et méthodes : L'étude a été menée du 1^{er} janvier au 30 juin 2012 au CHRU de Besançon. Tous les patients colonisés/infectés par une EBLSE (*E. coli* ou *K. pneumoniae*) durant cette période ont été inclus. Leur chambre a fait l'objet de 7 prélèvements (5 prélèvements de surface et 2 prélèvements d'air par impaction et sédimentation), chaque série de prélèvement était réalisée de façon hebdomadaire.

Résultats : 72 patients ont été inclus dont 54 porteurs de *E. coli* et 21 de *K. pneumoniae* (3 patients étaient porteurs des 2 espèces). L'environnement du patient était contaminé dans 19% (4/21) et 3.7% (2/54) des cas, respectivement pour KPBLSE et ECBLSE. L'analyse univariée montrait que le seul facteur associé à la contamination environnementale était l'espèce bactérienne. L'application préalable du protocole d'entretien de la chambre et la prescription d'antibiotique chez le patient n'avaient pas d'impact sur la fréquence de contamination.

Conclusion : Nos résultats suggèrent une persistance plus importante de KPBLSE dans l'environnement des patients comparativement à ECBLSE. Cette contamination de l'environnement pourrait jouer un rôle dans la transmission croisée fréquente de KPBLSE dans notre hôpital.

46/10o 22/11/2012 - 12:15 - APOLLINAIRE 2

Comparaison de stratégies de dépistage par IDR ou par Quantiféron® chez des personnels soignants exposés à la tuberculose : étude multicentrique.

J.C. Lucet³, D. Abiteboul², C. Estellat⁴, C. Roy⁴, S. Chollet-Martin¹, F. Tubach⁴, G. Carcelain⁵

¹Département d'Immunologie ²Santé au travail ³UHLIN ⁴URC, GH Bichat - Claude Bernard, AP-HP ⁵Département d'Immunologie, Hôpital de la Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France

Introduction : Les personnels soignants (PS) constituent un groupe à risque s'ils travaillent dans des services accueillant des patients tuberculeux. Sa faible spécificité limite l'intérêt de l>IDR chez les personnes vaccinées. Nous avons comparé une stratégie de dépistage de tuberculose infection latente (TIL) incidente basée sur l>IDR à celle basée sur les tests sanguins de libération d'interféron gamma (TLIG).

Méthodes : Chez les PS volontaires de services à risque de 14 CHU, ont été recueillis à l'inclusion (T0) et à un an (T1): données démographiques, antécédents, fonction, vaccination par le BCG et IDR antérieures. Ont été réalisés: IDR (si IDR antérieure < 15mm), radiographie pulmonaire, Quantiféron TB Gold-IT® (QFTB) et T-SPOT.TB® si QFTB ininterprétable.

Résultats : 882 PS ont été inclus (médiane 56 par service [IQR, 27-127]). A T0, une IDR > 10 mm était positive chez 267/638 (41,8%), un TLIG était positif (>0,35) chez 126/874 (14,4%) et ininterprétable chez 4/874 (0,5%) PS. A T1, 711 PS ont été revus (médiane, 13,3 mois [12,3-14,6]): une IDR > 10mm était positive chez 149/409 (36,4%), et un TLIG était positif chez 132/691 (19,1%). 594 PS ont eu les 2 stratégies de dépistage à T0 et à T1. Dans ce groupe, un TLIG (T0 négatif, T1 positif) ou une IDR (augmentation > 10mm) se sont positifs chez respectivement 45 et 10 PS, donnant une incidence annuelle de TIL de respectivement de 7,6% (IC95%, 5,5%-9,7%) et 1,7% (0,7%-2,1%). L>IDR s'est positivée chez 1/45 PS avec TLIG nouvellement positif, alors que le TLIG est resté négatif pour les 9 virages de l>IDR. Le taux de concordance global entre les deux stratégies de dépistage était de 91% (541/594). Les variations de positivité du QFTB entre T0 et T1 semblaient plus fréquentes pour des valeurs quantitatives faiblement positives du test. 21 et 3 PS ont été traités pour TIL à T0 et T1, respectivement

Conclusion : Dans cette étude multicentrique, et dans des conditions d'utilisation de routine, les TLIG et l>IDR donnent des résultats discordants. L'incidence de l'ITL définie par le TLIG est nettement plus élevée que celle fournie par l>IDR. Une analyse des données quantitatives des TLIG et de leur fluctuation dans le temps sera réalisée.

Projet soutenu par un financement du Ministère de la santé (STIC 2007).

47/11s 22/11/2012 - 11:00 - APOLLINAIRE 6

Henipavirus : des virus en attente d'émergence.

P. Marianneau¹, N. Tordo²

¹Unité Virologie, Anses-Laboratoire de Lyon ²Unité Stratégies Antivirales, Institut Pasteur, Paris, France

Les zoonoses que provoquent chez l'Homme les virus Hendra et Nipah sont des maladies graves, souvent mortelles, caractérisées par une encéphalite et des atteintes respiratoires.

Le virus Hendra a émergé en Australie lors de deux événements distincts. Le premier a eu lieu en septembre 1994 à Hendra un quartier de Brisbane dans le Queensland, lorsque 13 chevaux d'une écurie de course sont morts dans un tableau clinique de détresse respiratoire. Deux personnes ayant été en contact étroit avec ces chevaux, dont un entraîneur de renom, sont tombées malades et l'une d'elle est décédée d'un syndrome respiratoire sévère. Cet événement n'était de fait pas chronologiquement le premier, puisque, dès août 1994, un homme originaire de Mackay (Queensland) avait été hospitalisé après avoir été en contact avec des chevaux morts d'un syndrome respiratoire. Après une période de rémission, il est décédé d'une encéphalite aiguë en octobre 1995, date à laquelle le diagnostic d'une infection par le virus Hendra a été réalisé.

Le virus Nipah est apparu pour sa part en Malaisie à la fin 1998, au cours d'une épidémie dans des élevages de porcs. Tandis que les porcs présentaient une maladie fébrile aiguë, une gêne respiratoire et des symptômes neurologiques, les éleveurs développaient des signes d'encéphalites fébriles. L'agent étiologique responsable a été isolé à partir d'un cas humain provenant du village de Kampung Sungai Nipah.

La similarité de leur structure génomique a conduit à classer ces deux nouveaux virus au sein de la famille *Paramyxoviridae*. Cependant, compte tenu des différences génétiques avec les autres membres de cette famille, de leur capacité à infecter un grand nombre d'espèces et à induire une maladie mortelle, ils ont justifié la création d'un nouveau genre *Henipavirus*. Les henipavirus induisent un fort taux de létalité chez l'homme et il n'existe aujourd'hui aucune prophylaxie permettant de prévenir ou de traiter l'infection. Pour ces raisons, ils constituent des agents biologiques de classe 4, demandant à être manipulés dans le plus haut niveau de confinement. Ils sont en outre considérés comme des agents potentiellement utilisables à des fins bioterroristes.

Depuis les cas initiaux en 1994, on ne compte qu'une trentaine d'épisodes d'infection par le virus Hendra ayant entraînés la mort d'une soixantaine de chevaux et l'infection de 7 personnes dont 4 sont décédées. L'année 2011 a été particulièrement active avec 18 épisodes infectieux et 21 décès de chevaux. Toutes ces flambées épidémiques ont eu lieu en Australie et plus particulièrement dans le Queensland.

La situation épidémiologique du virus Nipah est beaucoup plus complexe et préoccupante. En effet lors de la première émergence de septembre 1998 à mai 1999, 265 cas humains avec encéphalite ont été recensés et ont conduit à 105 décès. L'épidémie s'est ensuite propagée à Singapour via le transport de porcs infectés. Onze personnes travaillant dans les abattoirs ont été infectées dont un décès. En réponse à cette épidémie, les transports d'animaux ont été suspendus et un peu plus d'un million de porcs abattus. Depuis lors aucun autre cas n'a été déploré en Malaisie mais le virus a continué à diffuser dans d'autres pays notamment au Bangladesh depuis 2001 et en Inde. Les taux de létalité observés, de 67% à 92% sont supérieurs à ceux observés en Malaisie.

La transmission à l'Homme du virus Hendra ne s'est pour le moment produite qu'à travers des contacts avec des chevaux infectés. Dans le cas du virus Nipah en Malaisie, seule la transmission du porc vers l'homme a pu être mise en évidence. Lors des épidémies suivantes, notamment au Bangladesh, une transmission directe des chauves-souris vers l'Homme voire une transmission interhumaine (notamment en conditions nosocomiales) ont prédominé.

Des études sérologiques ont été réalisées dans plusieurs espèces animales sauvages et domestiques afin d'étudier la prévalence des henipavirus ainsi que leur mode d'émergence. Là encore de grandes différences existent entre ces deux virus. Alors que l'infection naturelle par le virus Hendra n'a été rapportée qu'une seule fois par sérologie chez un chien en bonne santé vivant dans un élevage équin, le virus Nipah semble pouvoir infecter naturellement beaucoup plus d'autres espèces animales domestiques, telles que les chevaux, les vaches, les chèvres, les chiens et les chats. Des études réalisées lors de l'épidémie de Malaisie montrent notamment que 46 à 55 % des chiens domestiques vivant près de la zone d'épidémie sont séropositifs alors que les chiens vivant dans des zones plus éloignées demeurent séronégatifs. Ces données suggèrent que, malgré la forte séroprévalence chez les chiens, cette espèce est un mauvais intermédiaire de transmission du virus à l'homme. Les autres espèces testées, rongeurs, poulet, oiseaux et canard, étaient toutes séronégatives. Les porcs auraient donc été le seul intermédiaire de transmission du virus entre les chauves-souris et l'homme mais également entre les chauves-souris et les chiens. La transmission du virus se serait produite via de la nourriture souillée ou des rejets provenant des chauves-souris frugivores et mangés par les animaux domestiques. La présence de chauves-souris frugivores dans des arbres fruitiers surmontant les porcheries aurait été un moyen efficace de transmission de l'infection. Au contraire, lors des épidémies au Bangladesh, aucun animal intermédiaire pour la transmission entre chauve-souris et Homme n'a été nécessaire. Dans ce cas, la contamination humaine initiale s'est probablement produite par la consommation de jus de dattier frais contaminé par les rejets de chauves-souris puis la transmission interhumaine serait responsable de la propagation de l'épidémie.

Les réservoirs des henipavirus ont été identifiés comme étant les chauves-souris frugivores du genre *Pteropus* (sous-ordre *Megachiroptera*, famille *Pteropodidae*). Plus de 40% des 4 espèces présentes en Australie sont séropositives pour le virus Hendra et celui-ci a été isolé à partir de deux espèces (*Pteropus alecto* et *Pteropus poliocephalus*).

En Malaisie, des enquêtes sérologiques ont permis de montrer que 5 des 14 espèces de chauves-souris indigènes étaient séropositives pour le virus Nipah avec une plus forte séroprévalence chez *Pteropus hypomelanus* (31%) et *Pteropus vampyrus* (17%). Des isollements du virus Nipah ont pu être réalisés à partir d'urine ou de salive chez ces deux espèces. L'infection naturelle des chauves-souris par les virus Nipah ou Hendra est asymptomatique.

Les chauves-souris du genre *Pteropus* sont parmi les plus grands chiroptères connus (300 g à 1 kg). Elles vivent en communauté perchées dans les arbres mais peuvent aussi migrer sur des distances considérables (plus de 600 km). Différentes espèces peuvent partager les mêmes arbres et des interactions interspécifiques peuvent s'établir dans une même région. La zone de distribution des *Pteropus* est très vaste puisqu'elle s'étend de l'Ouest du Pacifique et du Sud-Est de l'Asie jusqu'à la côte Est de l'Afrique.

La répartition géographique des henipavirus se superpose bien à celle des chauves-souris du genre *Pteropus* en Australie, au Bangladesh, au Cambodge, en Chine, en Inde, en Indonésie, à Madagascar, en Malaisie, en Papouasie-Nouvelle-Guinée, en Thaïlande et au Timor-Leste. Des études réalisées à Madagascar ont d'autre part montré que trois espèces de chauves-souris frugivores dont *Pteropus rufus*, mais aussi *Eidolon dupreanum* et *Rousettus madagascariensis* appartenant à des genres différents au sein de la famille des *Pteropodidae* sont séropositives pour les henipavirus. Plus récemment, une étude moléculaire exhaustive effectuée sur des membres de la famille *Pteropodidae* au Ghana a montré que beaucoup d'entre eux portaient des gènes de paramyxovirus, incluant des henipavirus. La présence de mutations ponctuelles au sein du gène de la polymérase suggère que les virus ancestraux des henipavirus sont en Afrique, où on n'a jamais observé de maladies associées chez l'homme, alors que les virus zoonotiques Hendra et Nipah d'Asie/Océanie apparaissent comme des variants plus récents. Il a également été montré que des microchiroptères chinois peuvent également être infectés par des henipavirus.

Toutes ces données récentes soulèvent de nouvelles questions sur l'évolution des henipavirus, leur capacité à émerger sous forme de variants hautement pathogènes pour l'Homme et sur leur potentielle distribution dans des réservoirs animaux.

Bibliographie sélectionnée :

1. Chua KB (2012) Introduction, Nipah Virus—Discovery and Origin *Current*

Topics in Microbiology and Immunology 359: 1-9.

2. Clayton BA et al. (2012) Henipaviruses: An updated review focusing on the pteropid reservoir and features of transmission *Zoonoses Public Health* doi: 10.1111/j. 1863-2378. 2012. 01501.x.
3. Drexler JF et al. (2012) Bats host major mammalian paramyxoviruses *Nature Communications* 3: 796 doi: 10. 1038/ncomms1796.
4. Field H (2011) Henipaviruses - Unanswered questions of lethal zoonoses *Current Opinion in Virology* 6: 658-61.
5. Halpin K et al. (2011) Pteropid bats are confirmed as the reservoir hosts of henipaviruses : A comprehensive experimental study of virus transmission *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 85: 946-951.
6. Ksiazek TG et al. (2011) A review of Nipah and Hendra viruses with an historical aside *Virus Research* 162: 173-183.
7. Luby SP et al. (2012) Epidemiology of henipavirus disease in Humans *Current Topics in Microbiology and Immunology* 359: 25-40.
8. Middleton DJ et al. (2012) Henipaviruses in their natural animal hosts *Current Topics in Microbiology and Immunology* 359: 105-121.
9. Rockx B et al. (2012) Recent progress in henipavirus research: Molecular biology, genetic diversity, animal models *Antiviral Research* 95: 135-149.

48/11s

22/11/2012 - 11:20 - APOLLINAIRE 6

Coronavirinae de chiroptères, le danger vient-il du ciel ?

M. Le Goull

Cellule d'Intervention Biologique d'Urgence, Institut Pasteur, Paris, France

Actualité : L'actualité nous apprend, dix ans après l'émergence du SRAS (Syndrome Respiratoire Aigu Sévère), qu'un nouveau *Betacoronavirus* provoque chez l'Homme des pathologies respiratoires et fébriles quelquefois fatales dont plusieurs cas humains ont été confirmés en détection moléculaire (2 cas confirmés, 2 décès) originaires de Jordanie et d'Arabie Saoudite, sans qu'aucune contamination inter-humaine n'ait été pour le moment confirmée[1]. Cependant, des syndromes identiques ont touché onze membres d'une équipe de l'unité de soin intensif de l'hôpital de Zarqua en Jordanie, incluant une issue fatale. L'étiologie de ces infections nosocomiales demeure pour le moment non confirmée et l'Organisation Mondiale de la Santé a rapidement précisé la définition des cas[2].

D'après les premières analyses, le groupe-frère de ce pathogène émergent, soit le virus décrit le plus phylogénétiquement proche à l'heure actuelle, semble être le *Betacoronavirus* HKU5, détecté en 2007 à Hongkong chez *Pipistrellus abramus*, une petite chauve-souris Vespertilionidae d'Asie, inscrite sur la liste rouge des espèces menacées par l'IUCN. En l'état actuel des connaissances, et en dépit du lien phylogénétique apparent, le lien épidémiologique avec les chiroptères n'est pas établi et peu d'informations sont disponibles sur l'origine des contaminations humaines. Lors de l'émergence du SRAS, la période pré-épidémique fut caractérisée par l'apparition de cas sporadiques de Novembre 2002 à Janvier 2003, avant le début de la flambée épidémique[3]. Concernant l'événement actuel, la surveillance des cas suspects et la diffusion rapide des techniques de détection moléculaire sont donc des priorités pour éviter l'effet de surprise d'une éventuelle épidémie dans le cas d'une transmission inter-humaine facilitée et pour fournir aux professionnels de santé les moyens d'établir un diagnostic moléculaire rapide et spécifique, paramètre déterminant du contrôle de la phase pré-épidémique.

Comme pour le *Betacoronavirus* du SRAS, un hôte intermédiaire pourrait avoir contracté le virus avant de le transmettre lui-même à l'Homme. Mais l'histoire de cette deuxième émergence de *Betacoronavirus* chez l'Homme n'est pas encore écrite.

Coronavirinae : précédents Humains.

L'importance des *Coronavirinae* en santé humaine avant les événements de 2002 étaient relatifs, ou en tout cas, ils n'avaient jamais atteint l'ampleur de la crise suscitée par l'émergence du CoV-SRAS. Cependant, cinq de ces virus infectent l'Homme de façon ubiquitaire: les coronavirus humains HCoV 229E et HCoV OC43[4] sont les premiers décrits chez l'Homme dans les années soixante (Almeida et al. 1968; Hamre et al. 1967; Almeida & Tyrrell 1967; McIntosh, Dees, et al. 1967). Plus précisément OC43 (avec OC38 une autre souche proche) est isolé par McIntosh et ses collaborateurs qui le comparent morphologiquement et sérologiquement à l'IBV (McIntosh, Becker, et al. 1967); le CoV-SRAS[5] découvert en 2003 lors de l'épidémie de Syndrome Respiratoire Aigu Sévère. Quant à NL63 et HKU1 détectés respectivement en 2004 et 2005 à la suite de l'engouement pour les recherches sur les *Coronavirinae* initié par l'épidémie de SRAS de 2003, ils ont été détectés depuis sur tous les continents (Astrid Vabret et al. 2005; Moës et al. 2005; Bastien et al. 2005; Ebihara et al. 2005; Sloots et al. 2006; Esper et al. 2006; Lau et al. 2006; Koetz et al. 2006; Dare et al. 2007; A Vabret et al. 2008). Hors SRAS, les *Coronavirinae* inquiétant l'Homme sont responsables d'infections respiratoires, entériques et plus rarement neurologiques. La séroprévalence supérieure à 90% des anticorps dirigés contre certains *Coronavirinae* chez l'homme, s'explique par l'ubiquité de virus au pouvoir pathogène le plus souvent modéré, et par leur circulation épidémique. Il en est ainsi du coronavirus 229E souvent reconnu responsable du rhume saisonnier (Gerna et al. 1978; Lehel et al. 1983; Kaye & Dowdle 1975; Hovi et al. 1979; Gagneur et al. 2002).

Ces grandes lignes de la biologie des coronavirus, agents pathogènes dont les formes humaines semblaient bien caractérisées, expliquent l'étonnement avec lequel fut accueilli le résultat de 2003. En effet, celui-ci désignait un membre de ce groupe comme agent étiologique responsable de la première épidémie du XXI^{ème} siècle. D'après l'OMS, l'épidémie de SRAS de 2002/2003 a touché 8442 victimes et a causé 912 décès à travers le monde[6]. Il nous reste à souhaiter que le nouveau *Coronavirinae* qui fait l'actualité ne devienne pas

aussi contagieux que le SRAS-CoV et que la lumière soit faite sur les conditions écologiques de son passage à l'Homme.

L'émergence du SARS-CoV: le succès d'un descendant de Betacoronavirus de chiroptère.

L'émergence du coronavirusdu Syndrome Respiratoire Aigu Sévère a suscité de nombreuses interrogations et a posé à nouveau la question du rapport de l'Homme avec la nature. En effet, l'apparition de ce syndrome atypique en Chine du Sud a rappelé une fois encore les risques auxquels s'expose l'humanité dans sa relation ambivalente avec la nature. Comment gérer intelligemment la planète et les êtres vivants qui la peuplent en préservant l'intégrité des populations humaines tout en assurant le développement indispensable des systèmes anthropiques. Les relations de plus en plus étroites et fréquentes de l'Homme avec le milieu sauvage favorisent les contacts et donc le transfert d'agents potentiellement infectieux pour lesquels l'Homme, naïf du point de vue immunologique[7], peut constituer un milieu particulièrement sensible et prometteur. L'Homme du XXI^{ème} siècle représente un excellent milieu d'émergence car les effectifs des populations sont généralement importants, les déplacements des individus sont fréquents et rapides, et les contacts inter-individuels nombreux. Pour les *Coronaviridae*, l'opportunité représentée par l'élevage d'animaux infectés (en l'occurrence des civettes sauvages) a très probablement constitué un maillon déterminant dans l'émergence d'une espèce virale pathogène (pour l'Homme). Cependant, cette émergence spectaculaire se structure en plusieurs étapes successives, de son ancêtre sauvage à l'espèce pathogène.

Les Coronavirinae, des virus de mammifères particulièrement diversifiés chez les chiroptères

Composée de virus enveloppés à ARN, largement représentés chez les mammifères et les oiseaux (Aves), la sous-famille des *Coronavirinae* est divisée en trois groupes sur la base de données sérologiques et génétiques (Siddell 1995). Ces trois groupes ont récemment été élevés au rang de genre et renommés *Alphacoronavirus*, *Betacoronavirus* et *Gammacoronavirus*. Le premier genre se rencontre chez les Carnivora, les Cetartiodactyla [8] et les Primates; le deuxième est détecté chez les Cetartiodactyla, les Perissodactyla[9], l'ordre des Rodentia et la classe Aves; alors que le troisième semble inféodé aux oiseaux. Les études menées sur ces virus, à la suite de l'émergence du coronavirusdu SRAS, indiquent que la diversité a largement été sous-estimée particulièrement chez les chiroptères, taxon chez lequel ces virus n'étaient pas encore connus. Jusqu'à présent, seuls deux genres sont décrits chez les chiroptères (Tang et al. 2006). Responsables principalement de maladies à tropisme entérique ou respiratoire, ils provoquent parfois des syndromes neurologiques ou hépatiques chez les sujets qu'ils infectent et sont des virus d'importance en médecine vétérinaire et humaine (M. M. C. Lai & Kathryn V. Holmes 2001). Avec ses 27600 à 31000 bases, le génome des *Coronavirinae* est le plus grand génome à ARN connu. Les stratégies de réplication et d'expression du génome font appel à des processus complexes. Certaines étapes de ces processus sont encore mal connues et elles sont propres à la famille des *Coronaviridae* ou caractéristiques de l'ordre des *Nidovirales*. Pour une revue détaillée, voir: (Sturman & K V Holmes 1983; M. M. Lai & Cavanagh 1997; Masters 2006).

Le SRAS, dont l'agent viral (CoV-SRAS) est un *Betacoronavirus*, est apparu à la fin de l'année 2002 et au début de l'année 2003. Bien qu'il ait été isolé pour la première fois du carnivore Viverridae *Paguma larvata*, il est par la suite détecté à plusieurs reprises chez des chauves-souris lors de la quête d'un autre hôte sauvage. Après la découverte de la diversité des *Coronavirinae*, dont certains représentants sont proches du CoV-SRAS, les chiroptères sont apparus comme étant des hôtes naturels des *Betacoronavirus* et ont été considérés comme les hôtes d'origine, dans la chaîne d'évènements qui a conduit à l'émergence du CoV-SRAS (Chu et al. 2006; Ar Gouilh et al. 2011) □. Comme rappelé par l'actualité sanitaire, les autres *Coronavirinae* détectés chez les chauves-souris doivent faire l'objet d'études approfondies pour comprendre les facteurs qui conditionnent leur évolution et tenter d'évaluer le risque de transmission à d'autres mammifères (Woo et al. 2006; Li et al. 2006; L.-F. Wang et al. 2006; L. F. Wang & Eaton 2007; Vijaykrishna et al. 2007).

Quels facteurs ont permis le succès de chaque étape de cette émergence depuis son origine suspectée jusqu'à sa pathogénicité avérée ? D'autres *Betacoronavirus* proches existent-ils à l'état sauvage et auraient-ils l'opportunité de suivre un chemin comparable ? S'ils existent, ces virus ont-ils une répartition étendue ou au contraire sont-ils cantonnés à des zones particulières et quels sont leurs liens de parenté avec le *Betacoronavirus* du SRAS ou avec le nouveau *Betacoronavirus* émergent dans la Péninsule Arabique ? Quelles conclusions peut-on tirer de l'analyse des relations phylogénétiques des *Coronaviridae* mise en perspective avec celle de leur hôtes ? Quelle est l'influence des hôtes chiroptères, de la structure de leur population, de leur diversité spécifique, de leur comportement, de leur innovations évolutives et de leur niches écologiques si particulières au sein des mammifères sur l'apparition, l'évolution et l'extinction des lignées virales qu'ils hébergent ? Les chiroptères sont-ils vraiment les responsables que l'on semble souvent nous présenter et représentent-ils vraiment un danger pour la santé humaine ou sont-ils plutôt des indicateurs de biodiversité ?

1. ProMED-mail: Novel coronavirus - Saudi Arabia: human isolate Archive Number: 20120920.1302733 20 Sep 2012. Available from <http://www.promedmail.org/direct.php?id=20120920.1302733>
2. http://www.who.int/csr/disease/coronavirus_infections/case_definition/en/index.html
3. <http://www.who.int/csr/sars/epicurve/epiindex/en/index1.html>
4. HCoV est le sigle de human coronavirus.
5. En français SRAS pour Syndrome Respiratoire Aigu Sévère, en anglais SARS-CoV pour Severe Acute Respiratory Syndrom Coronavirus
6. http://www.who.int/csr/sars/country/country2003_08_15.pdf
7. naïf, c'est-à-dire n'ayant jamais eu de contact avec cet [coronavirus du SRAS] agent infectieux nouveau pour lui.

8. Cetartiodactyla (inclus dans les Cetongulate): composé des Tylopoda (dromadaires), Suidae (porcs), Ruminantia, Hippopotamidae, et Cetacea. Les Coronavirus n'ont pas été rapportés chez les Hippopotamidae mais sont présents chez les autres groupes.
9. Le taxon Perissodactyla compte les Equidae (chevaux et zèbres), les Rhinocerotidae (rhinocéros) et les Tapiridae (tapirs). Des *Coronavirus* ont été détectés chez les chevaux (pathologie entérique).

Bibliographie :

- Almeida, J.D. et al., 1968. Virology: Coronaviruses. *Nature*, 220 (5168), p.650.
- Almeida, J.D. & Tyrrell, D.A., 1967. The morphology of three previously uncharacterized human respiratory viruses that grow in organ culture. *The Journal of General Virology*, 1(2), pp.175-8.
- Bastien, N. et al., 2005. Human coronavirus NL63 infection in Canada. *The Journal of Infectious Diseases*, 191(4), pp.503-6.
- Chu, D.K.W. et al., 2006. Coronaviruses in bent-winged bats (*Miniopterus* spp.). *J Gen Virol*, 87 (Pt 9), p.2461 - 2466.
- Dare, R.K. et al., 2007. Human coronavirus infections in rural Thailand: a comprehensive study using real-time reverse-transcription polymerase chain reaction assays. *The Journal of Infectious Diseases*, 196(9), pp.1321-8.
- Ebihara, T. et al., 2005. Detection of human coronavirus NL63 in young children with bronchiolitis. *Journal of Medical Virology*, 75(3), pp.463-5.
- Esper, F. et al., 2006. Coronavirus HKU1 infection in the United States. *Emerging Infectious Diseases*, 12(5), pp.775-9.
- Gagneur, A. et al., 2002. [Nosocomial infections due to human coronaviruses in the newborn]. *Arch Pediatr*, 9(1), p.61—69.
- Gerna, G. et al., 1978. Seroepidemiologic study of human coronavirus OC43 infections in Italy. *Boll Ist Sieroter Milan*, 57(4), p.535—542.
- Gouilh, M.A. et al., 2011. SARS-Coronavirus ancestor's foot-prints in South-East Asian bat colonies and the refuge theory. *Infection, Genetics and Evolution*, 11(7), pp.1690-1702.
- Hamre, D., Kindig, D.A. & Mann, J., 1967. Growth and intracellular development of a new respiratory virus. *Journal of Virology*, 1(4), pp.810-6.
- Hovi, T. et al., 1979. OC43 strain-related coronavirus antibodies in different age groups. *J Med Virol*, 3(4), p.313—320.
- Kaye, H.S. & Dowdle, W.R., 1975. Seroepidemiologic survey of coronavirus (strain 229E) infections in a population of children. *Am J Epidemiol*, 101(3), p.238—244.
- Koetz, A. et al., 2006. Detection of human coronavirus NL63, human metapneumovirus and respiratory syncytial virus in children with respiratory tract infections in south-west Sweden. *Clinical Microbiology and Infection: The Official Publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*, 12(11), pp.1089-96.
- Lai, M.M. & Cavanagh, D., 1997. The molecular biology of coronaviruses. *Adv Virus Res*, 48, p.1—100.
- Lai, M.M.C. & Holmes, Kathryn V., 2001. Coronaviridae: The viruses and their replication. In *Fields Virology*. Philadelphia: D. M. Knipe and P. M. Howley, 4 ed., pp. 1163-1185. Available at: <http://www.ovid.com/site/catalog/Book/736.jsp?top=2&mid=3&bottom=7&sub-section=11>.
- Lau, S.K.P. et al., 2006. Coronavirus HKU1 and other coronavirus infections in Hong Kong. *Journal of Clinical Microbiology*, 44(6), pp.2063-71.
- Lehel, F., Madár, Z. & Tóth, I., 1983. Antibodies to Coronavirus OC 43 strain in the population of North-Eastern Hungary. *Acta Microbiol Hung*, 30(2), p.163—166.
- Li, W. et al., 2006. Animal origins of the severe acute respiratory syndrome coronavirus: insight from ACE2-S-protein interactions. *J Virol*, 80(9), p.4211—4219.
- Masters, P.S., 2006. The molecular biology of coronaviruses. *Advances in Virus Research*, 66, pp.193-292.
- McIntosh, K., Dees, J.H., et al., 1967. Recovery in tracheal organ cultures of novel viruses from patients with respiratory disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 57(4), pp.933-40.
- McIntosh, K., Becker, W.B. & Chanock, R.M., 1967. Growth in suckling-mouse brain of "IBV-like" viruses from patients with upper respiratory tract disease. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 58(6), pp.2268-73.
- Moës, E. et al., 2005. A novel pan-coronavirus RT-PCR assay: frequent detection of human coronavirus NL63 in children hospitalized with respiratory tract infections in Belgium. *BMC Infectious Diseases*, 5(1), p.6.
- Siddell, S., 1995. *The coronaviridae*. New York: Plenum Press.
- Sloots, T.P. et al., 2006. Evidence of human coronavirus HKU1 and human bocavirus in Australian children. *Journal of Clinical Virology: The Official Publication of the Pan American Society for Clinical Virology*, 35(1), pp.99-102.
- Sturman, L.S. & Holmes, K V, 1983. The molecular biology of coronaviruses. *Advances in Virus Research*, 28, pp.35-112.
- Tang, X.C. et al., 2006. Prevalence and Genetic Diversity of Coronaviruses in Bats from China. *J. Virol.*, 80(15), pp.7481-7490.
- Vabret, A et al., 2008. [Human coronaviruses.]. *Pathologie-Biologie*. Available at: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18456429> [Accessed October 24, 2008].
- Vabret, Astrid et al., 2005. Human coronavirus NL63, France. *Emerging Infectious Diseases*, 11(8), pp.1225-9.
- Vijaykrishna, D. et al., 2007. Evolutionary Insights into the Ecology of Coronaviruses. *J. Virol.*, 81(8), pp.4012-4020.

- Wang, L.-F. et al., 2006. Review of bats and SARS. *Emerg Infect Dis*, 12(12), p.1834—1840.
- Wang, L.F. & Eaton, B.T., 2007. Bats, civets and the emergence of SARS. *Curr Top Microbiol Immunol*, 315, p.325—344.
- Woo, P.C.Y. et al., 2006. Molecular diversity of coronaviruses in bats. *Virology*, 351(1), p.180—187.

49/11s 22/11/2012 - 11:40 - APOLLINAIRE 6

Rage des chauves-souris : bilan des menaces actuelles.

H. Bourhy

Centre national de référence pour la rage ; Centre collaborateur de l'OMS de référence et de recherche sur la rage ; Unité dynamique des lyssavirus et adaptation à l'hôte ; Institut Pasteur, Paris, France

Introduction : La rage est une encéphalite invariablement fatale et transmise par morsure, griffure ou léchage sur plaie (occasionnellement par transplantation). Les agents responsables de la rage (lyssavirus) chez les chauves-souris sont largement répandus dans le monde. En Europe de l'ouest, depuis l'élimination de la rage due au renard, les chauves-souris constituent les seuls hôtes principaux de lyssavirus. Ces virus existent depuis longtemps en Europe (4). Cependant, d'importantes campagnes de capture de chiroptères entreprises au Danemark et aux Pays-Bas à partir de 2005 ont montré un portage non négligeable et ont soudainement fait craindre pour la santé humaine.

Une diversité importante et une très large distribution géographique : Selon le Comité International de Taxinomie des virus (www.ictvdb.org), 12 espèces de lyssavirus sont identifiées à ce jour (5, 7). Deux autres nouveaux virus attendent d'être classés et pourraient porter le nombre d'espèces différentes de lyssavirus à 14 (6, 9). Douze de ces 14 virus ont été isolés de chauves-souris. Les études phylogénétiques entreprises sur l'ensemble des lyssavirus sont en faveur d'un ancêtre commun qui serait probablement un lyssavirus de chauves-souris (2). Cette importante diversité n'a d'égale que la très large distribution géographiques de ces virus puisque tous les continents sont touchés. En Europe et en France en particulier, on distingue deux espèces confirmées, les lyssavirus de chauves-souris européennes de type 1 et de type 2 (EBLV-1 et EBLV-2). EBLV1 est divisé en 2 sous-types EBLV-1a et -1b. EBLV-1a a été mis en évidence de la France à la Russie alors qu'EBLV-1b est observé du sud de l'Espagne aux Pays-Bas (4). Récemment, le lyssavirus de chauves-souris de Bokeloh (BBLV), une des nouvelles espèces potentielles de lyssavirus, a été isolé en Allemagne et en France (6). En France, le réseau de surveillance de la rage des chauves-souris étant pour l'essentiel un réseau passif, la découverte de cas est très corrélée à la pression de surveillance exercée par les chiroptérologues, celle-ci pouvant être très différente selon les régions (11, 12). En Amérique, seul l'espèce virus de la rage (RABV) est retrouvée. Cependant, de nombreux variants de cette espèce ont été identifiés chez les chauves-souris de cette région. Plus spécifiquement, en Guyane, un variant circulant préférentiellement chez les chauves-souris *Desmodus rotundus* a été mis en évidence, ce qui vaut à cette rage l'appellation de rage desmodine. Aucun lyssavirus de chauves-souris n'a pour l'instant été isolé dans les autres départements français d'Outre Mer.

Un spectre d'hôte étendu parmi les chauves-souris : Il existe plus de 1100 espèces de chauves-souris dans le monde. Elles peuvent être classées selon leur mode alimentaire: insectivores, hémato-phages (uniquement sur le continent américain) et frugivores. Il existe donc dans le monde une très grande variété d'espèces sensibles aux lyssavirus ou jouant le rôle d'hôte principal. En France, la pipistrelle commune représente près de 2/3 des chauves-souris autochtones trouvées infectées mais c'est la sérotine commune (*Eptesicus serotinus*) qui est majoritairement impliquée (avec une exception en 2005 pour une pipistrelle). Cependant de très nombreuses autres espèces montrent des signes biologiques d'infection (1, 13). Certaines de ces espèces, fragiles et protégées, sont anthropophiles et sont fréquemment observées dans les habitats humains. En métropole, alors que plus de 1700 chauves-souris autochtones ont été analysées entre 1989 (date de la première identification de rage chez une chauve-souris en France) et 2011, 58 d'entre elles ont été retrouvées porteuses du virus de la rage (toujours EBLV-1) (11, 12). En Guyane, il existe un risque associé aux 3 types de chauve-souris: insectivore, hémato-phage et frugivore.

Impact en santé publique : De manière générale, les chauves-souris ont peur de l'homme et ne montrent pas de risque d'agressivité. Les contacts surviennent donc majoritairement lors de manipulations inopinées. Les chauves-souris capturées ou entrant en contact accidentellement avec l'homme ont tendance à mordre pour se défendre. Plusieurs espèces animales ainsi que l'homme peuvent être infectés par les lyssavirus de chauves-souris. En conséquence, près de 190 personnes ont reçu une prophylaxie post-exposition dans un centre antirabique français suite à un contact avec une chauve-souris en 2010. Ce nombre est en constante augmentation[1]. En Europe, trois moutons d'un même troupeau sont morts d'une rage à EBLV-1a au Danemark en 1998. Trois décès humains dus à une contamination par EBLV-1 et EBLV-2 ont aussi été rapportés (un chez une adolescente d'ex-URSS en 1985, un chez un biologiste suisse de 30 ans spécialisé dans l'étude des chauves-souris en 1985 et un en 2002 chez un naturaliste bénévole écossais de 56 ans qui s'intéressait aux chiroptères) (3). Un cas en 1977 en ex-URSS chez une jeune fille de 15 ans mordue à un doigt n'a jamais été confirmé biologiquement. Aucun de ces patients n'était vacciné contre la rage avant le début des signes cliniques. En 2007 en Vendée, un chat mort des suites d'une rage a été retrouvé porteur d'un EBLV-1. Ce cas est néanmoins isolé par rapport aux plusieurs milliers de chats analysés et montré indemne de ce virus (3). Ces rares épisodes témoignent de la faible capacité de ce virus à franchir la barrière d'espèce. Aucun cas secondaire (que ce soit humain ou

animal) n'a été observé suite à ces contaminations. La surveillance de cas secondaires potentiels est primordiale car leur apparition devrait amener à rediscuter les schémas actuels de prévention de la rage en France après morsure ou griffure. Certaines espèces de chauves-souris non endémiques en Europe peuvent aussi constituer un risque soit au travers de l'infection par leurs congénères européennes, soit par l'importation de lyssavirus "exotiques" en Europe. En 1997, plusieurs cas de rage dus au virus EBLV-1 sont mis en évidence dans une colonie de Roussette d'Egypte au sein d'un zoo danois. En 1999, une Roussette d'Egypte importée en France via la Belgique décède d'un virus Lagos Bat, normalement strictement africain. En 2007, une personne mordue par une chauve-souris au Kenya décède aux Pays-Bas de l'infection par un autre lyssavirus: le virus Duvenhage (14). En Guyane, la rage desmodine peut aussi être transmise à d'autres espèces : un bovin en 1999, un chien en 2003 et un humain en 2008 (10). L'explosion démographique et la déforestation décimant leurs proies habituelles, tapirs ou pécaris, les chauves-souris s'attaquent aux bovins et déciment certains troupeaux en leurs transmettant la rage. Il est aussi noté une recrudescence des expositions et des cas humains associés, en particulier dans les villages isolés de la forêt amazonienne. Aux Etats-Unis, environ 70% des cas de rage humaine sont dus aux nombreux variants de RABV circulant sur ce large territoire. L'espèce de chauves-souris *Lasionycteris noctivagans* constitue l'hôte principal du variant principalement retrouvé chez l'homme. Enfin dans certains états de l'est américain, le passage d'un variant de RABV de chauve-souris à la mouffette et au renard et sa transmission en série chez ces espèces ont été observés plusieurs fois depuis 2001 (8).

Recommandations : Le Conseil supérieur d'hygiène public de France (CSHPF) recommande à la population générale de ne pas manipuler les chauves-souris et d'appeler les services vétérinaires (Direction Départementale de Protection des Populations) pour s'informer de la conduite à tenir[2]. Aux personnes qui les étudient, le CSHPF recommande de porter des gants suffisamment épais pour résister à une morsure et d'effectuer un contrôle sérologique annuel avant la saison de capture (printemps). En cas de taux d'anticorps antirabiques

Conclusion : La rage des chauves-souris est une zoonose dont l'épidémiologie est complexe et encore méconnue. Néanmoins le risque en Europe reste pour le moment réduit avec seulement 3 cas humains clairement identifiés. Le risque principal en Europe serait l'extension du spectre d'hôte de ces virus à des mammifères non volants comme ceci est actuellement observé sur le continent américain. Une surveillance étroite doit donc être maintenue afin de surveiller l'apparition de nouveaux variants présentant un risque plus important pour la santé publique. En parallèle, les mesures de prophylaxie pré et post-exposition doivent continuer à être scrupuleusement appliquées.

[1] Rapport du Centre National de Référence de la Rage et Bulletin sur la prophylaxie de la rage humaine en France:

<http://www.pasteur.fr/ip/easysite/pasteur/fr/sante/centres-nationaux-de-referance-et-centres-collaborateurs-de-l-oms/cnr-et-ccoms/cnr-de-la-rage/actualites-rapports>.

[2] Avis du 14 janvier 2005 du Conseil supérieur d'hygiène public de France: <http://www.sante.gouv.fr/avis-du-cshpf-du-14-janvier-2005-relatif-a-la-vaccination-antirabique-preventive-au-traitement-post-exposition-au-suivi-serologique-des-personnes-regulierement-exposees-au-virus-de-la-rage-des-chauves-souris-en-france.html>.

Bibliographie :

1. Amengual, B., H. Bourhy, M. Lopez-Roig, and J. Serra-Cobo. 2007. Temporal dynamics of European bat Lyssavirus type 1 and survival of *Myotis myotis* bats in natural colonies. *PLoS One* 2:e566.
2. Badrane, H., and N. Tordo. 2001. Host switching in Lyssavirus history from the Chiroptera to the Carnivora orders. *J Virol* 75:8096-104.
3. Dacheux, L., F. Larrous, A. Maïlles, D. Boisseleau, O. Delmas, C. Biron, C. Bouchier, I. Capek, M. Muller, F. Ilari, T. Lefranc, F. Raffi, M. Goudal, and H. Bourhy. 2009. European bat Lyssavirus transmission among cats, Europe. *Emerg Infect Dis* 15:280-4.
4. Davis, P. L., E. C. Holmes, F. Larrous, W. H. Van der Poel, K. Tjørnehoj, W. J. Alonso, and H. Bourhy. 2005. Phylogeography, population dynamics, and molecular evolution of European bat lyssaviruses. *J Virol* 79:10487-97.
5. Delmas, O., E. C. Holmes, C. Talbi, F. Larrous, L. Dacheux, C. Bouchier, and H. Bourhy. 2008. Genomic diversity and evolution of the lyssaviruses. *PLoS One* 3:e2057.
6. Freuling, C. M., M. Beer, F. J. Conraths, S. Finke, B. Hoffmann, B. Keller, J. Kliehm, T. C. Mettenleiter, E. Muhlbach, J. P. Teifke, P. Wohlsein, and T. Muller. 2011. Novel lyssavirus in Natterer's bat, Germany. *Emerg Infect Dis* 17:1519-22.
7. Kuzmin, I. V., A. E. Mayer, M. Niezgodna, W. Markotter, B. Agwanda, R. F. Breiman, and C. E. Rupprecht. 2010. Shimoni bat virus, a new representative of the Lyssavirus genus. *Virus Res* 149:197-210.
8. Kuzmin, I. V., M. Shi, L. A. Orciari, P. A. Yager, A. Velasco-Villa, N. A. Kuzmina, D. G. Streicker, D. L. Bergman, and C. E. Rupprecht. 2012. Molecular inferences suggest multiple host shifts of rabies viruses from bats to mesocarnivores in Arizona during 2001-2009. *PLoS Pathog* 8:e1002786.
9. Kuzmin, I. V., A. S. Turmelle, B. Agwanda, W. Markotter, M. Niezgodna, R. F. Breiman, and C. E. Rupprecht. 2011. Commerson's leaf-nosed bat (*Hipposideros commersoni*) is the likely reservoir of Shimoni bat virus. *Vector Borne Zoonotic Dis* 11:1465-70.
10. Meynard, J. B., C. Flamand, C. Dupuy, A. Mahamat, F. Eltges, F. Queuche, J. Renner, J. M. Fontanella, D. Hommel, P. Dussart, C. Grangier, F. Djossou, L. Dacheux, M. Goudal, F. Berger, V. Ardillon, N. Krieger, H. Bourhy, and A. Spiegel. 2012. First human rabies case in French Guiana, 2008: epidemiological investigation and control. *PLoS Negl Trop Dis* 6:e1537.

11. Picard-Meyer, E., J. Barrat, E. Tissot, A. Verdoot, C. Patron, M. J. Barrat, and F. Cliquet. 2006. Bat rabies surveillance in France, from 1989 through May 2005. *Dev Biol (Basel)* 125:283-8.
12. Picard-Meyer, E., M. J. Dubourg-Savage, L. Arthur, M. Barataud, D. Becu, S. Bracco, C. Borel, G. Larcher, B. Meme-Lafond, M. Moinet, E. Robardet, M. Wasniewski, and F. Cliquet. 2011. Active surveillance of bat rabies in France: a 5-year study (2004-2009). *Vet Microbiol* 151:390-5.
13. Serra-Cobo, J., B. Amengual, C. Abellan, and H. Bourhy. 2002. European bat lyssavirus infection in Spanish bat populations. *Emerg Infect Dis* 8:413-20.
14. van Thiel, P. P., J. A. van den Hoek, F. Eftimov, R. Tepaske, H. J. Zaaier, L. Spanjaard, H. E. de Boer, G. J. van Doornum, M. Schutten, A. Osterhaus, and P. A. Kager. 2008. Fatal case of human rabies (Duvnaghe virus) from a bat in Kenya: The Netherlands, December 2007. *Euro Surveill* 13.

50/11s 22/11/2012 - 12:00 - APOLLINAIRE 6

Chiroptères et risque de maladies virales chez l'homme : le point de vue des chauves-souris.

F. Moutou

Anses, site de Maisons-Alfort, Unité épidémiologie, Laboratoire santé animale, Maisons-Alfort, France

Introduction : La prise en compte des chauves-souris comme réservoir ou vecteurs de diverses pathologies n'est pas entièrement nouvelle. Il n'en demeure pas moins vrai que la mise en évidence du rôle épidémiologique probable des chauves-souris dans l'histoire naturelle d'un certain nombre de maladies virales décrites seulement depuis quelques décennies est assez spectaculaire. Plusieurs questions se posent donc, à la fois en termes de santé publique mais également en termes de biologie. Si ces espèces sont capables d'héberger des virus dont le potentiel pathogène est avéré chez les mammifères terrestres, humains compris, quelles leçons serait-il possible de retirer de l'étude de la relation de ces virus avec leurs hôtes volants ?

Les chiroptères : Les chauves-souris ou chiroptères, représentent un des ordres contemporains de la classe des mammifères (Kunz, Fenton 2003; Arthur, Lemaire 2009). Elles constituent un ensemble zoologique très original. Déjà en effectif, avec environ un cinquième rang de la diversité spécifique mammalienne, elles se placent au deuxième rang, derrière les rongeurs mais devant tous les autres ordres. Au dernier recensement (Wilson, Reeder 2005) on compte 1116 espèces de chauves-souris pour 5416 mammifères.

La systématique des chiroptères a été récemment modifiée de manière assez considérable. Classiquement on séparait les chiroptères en deux sous-ordres, les Mégachiroptères, avec une seule famille, celle des ptéropodidés, et les Microchiroptères, réunissant toutes les autres familles. Les ptéropodidés sont les roussettes, essentiellement frugivores, parfois nectarivores, de l'Ancien Monde. Elles sont aussi appelées renards volants. Les plus grandes espèces de chauves-souris s'y trouvent (plus d'1,5m d'envergure, masse atteignant 1,5kg). Certains ptéropodidés sont cependant de petite taille. De récentes études de biologie moléculaire et une relecture des données paléontologiques ont modifié cette classification et séparent aujourd'hui l'ordre de manière assez différente. Il semble toujours exister une dichotomie entre deux ensembles de familles, entre deux sous-ordres, mais les ptéropodidés sont rapprochés d'autres familles comme celle des rhinolophidés dans un premier groupe, opposé à celui réunissant les vespertilionidés, les molossidés et les phyllostomidés par exemple. Le premier clade est nommé *Yinpterochiroptera* ou Ptéropodiformes, le second *Yangochiroptera* ou Vespertilioniformes (Teeling *et al.* 2005). Leur séparation semble se produire juste à la fin de l'ère secondaire (Mésozoïque), au tout début du Paléocène, c'est à dire au commencement de l'ère tertiaire (Cénozoïque). L'émergence des familles contemporaines se produit durant l'Eocène.

La diversité génétique de l'ensemble n'est pas simple à quantifier ni à comparer à celle des autres mammifères, mais les chauves-souris sont loin d'être toutes semblables. Les études écologiques, éthologiques, biogéographiques, phylogéniques, anatomiques, paléontologiques et génétiques ont mis en évidence une grande diversité au sein du groupe, indépendamment de toute interprétation phylogénétique ou épidémiologique. D'un côté, certaines espèces sont menacées et peu nombreuses en effectifs. On connaît d'ailleurs plusieurs cas d'extinction, souvent liés à des actions anthropiques, en particulier sur des îles. De l'autre, les plus grands rassemblements naturels connus de mammifères sauvages contemporains correspondent à quelques colonies de chiroptères de plusieurs millions d'individus.

Les adaptations écologiques et éthologiques des espèces et des familles leurs permettent d'occuper de très nombreux habitats, en particulier sous les tropiques. La diversité de régimes alimentaires est probablement la plus grande connue chez les mammifères voire chez les vertébrés. En effet, les seuls vertébrés exclusivement hématophages connus sont trois chauves-souris d'Amérique tropicale. Les structures sociales représentent des paramètres très variés dans le groupe. Dans certaines régions tropicales, plus de cent espèces de chauves-souris semblent pouvoir cohabiter et donc exploiter le même environnement. Comment se partagent-elles les ressources locales ? Les mêmes gîtes sont également fréquentés par plusieurs espèces et les contacts interspécifiques sont classiques. Dans de nombreux écosystèmes, le rôle des chiroptères est majeur à travers la pollinisation, la dispersion des graines, la prédation d'insectes ou de petits vertébrés. Le guano, déposé sous les colonies, peut enrichir le sol.

La répartition géographique de l'ordre est très vaste. Sur certaines îles et archipels, les chauves-souris sont les seuls mammifères présents avant l'arrivée de l'homme (Kunz, Fenton 2003; Fleming, Racey 2009). Ceci

s'explique par leurs grandes capacités de déplacement. Des roussettes effectuent des migrations plus ou moins régulières, entre Australie et Indonésie pour certaines, intra-africaine pour d'autres, à la recherche d'arbres en fructification. En conséquence, les individus des espèces concernées traversent des milieux différents et côtoient, peut-être, des microorganismes variés. Les mêmes arbres étant visités par d'autres frugivores, primates par exemple, les possibilités d'échanges et de transferts de microorganismes sont réelles.

Les cycles saisonniers et circadiens des chiroptères posent de nombreuses questions de physiologie et d'immunologie. Leur température interne est loin d'être constante, tout particulièrement chez les espèces des régions tempérées. Quelles en sont les conséquences en termes d'immunité, sachant aussi que les os longs, allégés comme chez les oiseaux, n'ont sans doute pas les mêmes capacités de production de cellules du système immunitaire que ceux des mammifères terrestres ? Les animaux sont parfois très serrés, en essaim, dans leur gîte diurne. Cela peut-il avoir un impact sur leurs fonctions immunitaires, par ailleurs très mal connues ?

Les chiroptères ont de longues espérances de vie comparativement à des mammifères de masse et de volume comparables. Un grand rhinolophe (*Rhinolophus ferrumequinum*) européen (20 à 30g) peut vivre plus de 30 ans. Inversement, le taux de reproduction est faible, habituellement un seul jeune par an, mais la croissance est très rapide. Les jeunes chauves-souris forment souvent des crèches très denses. A quel âge apparaît la compétence immunitaire ? Dure-t-elle toute la vie, de manière constante ?

Les capacités de régénération du patagium sont étonnantes. Ceci est d'autant plus surprenant que cette qualité ne s'observe qu'en captivité, chez des chauves-souris blessées mais nourries et qui seraient bien incapables en nature de survivre le temps nécessaire à la cicatrisation des blessures de leur membrane volante.

Le syndrome du nez blanc, en Amérique du Nord, pose de nouvelles questions urgentes de conservation mais représente aussi un modèle pathologique original (Bleher *et al.* 2009). Enfin, certaines espèces étant protégées, au niveau national et international, leur étude soulève un ensemble de points juridiques et éthiques dès qu'il s'agit de les manipuler (Desvars *et al.* 2009).

Virus et viromes de chiroptères : Depuis la fin des années 1990, de nombreuses publications ont mis en évidence une longue liste de nouveaux virus identifiés chez les chauves-souris, certains pouvant être pathogènes chez d'autres mammifères, mais seulement rarement chez les chiroptères. D'autres n'ont pas d'impact connu, ni en santé publique, ni en santé animale. Certains de ces articles ont suivi des émergences épidémiques ou épizootiques. Il fallait connaître le ou les réservoirs des virus associés. Dans d'autres cas, ces résultats sont des analyses faites à partir du matériel biologique prélevé, mais sans relation directe avec une question de santé publique ou animale (Wood *et al.* 2012).

Parallèlement, de nouvelles séries d'études commencent à être publiées, passant de la recherche des « virus de chauves-souris » à l'analyse des « viromes de chiroptères ». Les travaux associés à ces articles abordent le groupe avec les nouveaux outils de la biologie moléculaire comme les séquenceurs à haut débit. Cela se traduit par l'exploration du « virome » de certaines populations de chauves-souris, ou plutôt de quelques individus de quelques populations, avec sans doute encore des difficultés d'interprétation. En effet, deux articles que l'on peut utiliser comme exemples ont récemment illustré ce que l'on pouvait faire maintenant (Donaldson *et al.* 2010; Li *et al.* 2010). A partir soit de guano, soit d'écouvillons -il faut alors capturer les animaux- des centaines de milliers de séquences de bases sont identifiées et analysées. Elles sont ensuite comparées à des séquences référencées qui permettent de les rapprocher, ou non, de familles virales déjà connues. Les résultats proposés associent certaines de ces séquences à des familles virales de mammifères, d'oiseaux, de reptiles, d'insectes, de plantes, de bactéries (phages). D'autres séquences restent encore à identifier et le tout est à interpréter. Les virus d'insectes pourraient être ceux des proies des espèces insectivores mais les chauves-souris ont aussi des arthropodes externes parasites. Ceux-ci peuvent ajouter leurs propres virus à ceux des invertébrés consommés. Les virus de plantes auraient transité par les insectes, ensuite capturés par les chauves-souris. L'autre piste de réflexion consiste à espérer anticiper une éventuelle future émergence à partir de l'analyse fine des viromes des diverses espèces de chauves-souris. Cela pourrait quand même s'avérer assez délicat. La différence entre le virus du SRAS et tous les virus « SARS-like », non ou peu pathogènes, semble reliée à une seule déletion de 29 nucléotides. Comment l'anticiper ? Comment anticiper les conséquences sanitaires associées ? L'histoire du SRAS ne dit toujours pas quand cette déletion a eu lieu, ni où, ni chez quelle espèce: une chauve-souris (réservoir de coronavirus), une civette palmiste (peut-être vecteur) ou un être humain (les malades) ?

Discussion : Comment relire ces données biologiques déjà connues, accumulées à leur sujet, avec un regard épidémiologique ? Peut-on imaginer que la combinaison d'une longue histoire évolutive associée à de nombreuses adaptations physiologiques, éthologiques, correspondant à tous les écosystèmes différents habités, aient permis aux chiroptères de jouer un rôle épidémiologique particulier dans l'histoire naturelle de nombreux virus ? Leur grande diversité spécifique associée aux effectifs élevés de certaines populations plurispécifiques pourraient aller dans le sens de cette hypothèse (Dobson 2005; Rupprecht 2009; Daszak 2010; Wibbelt *et al.* 2010; Wang *et al.* 2012). Certains essaient de développer des outils d'aide à la décision qui permettraient d'anticiper de futures émergences d'agents pathogènes encore non connus.

Pourtant, le bilan en termes de santé publique, reste modeste, au delà des effets médiatiques. La seule épidémie vraie, celle du SRAS, a causé environ 8.000 cas dont 800 décès. La probabilité de voir se reconstituer la chaîne d'événements qui a abouti à cet épisode semble faible. Ceci n'exclut pas une autre émergence selon d'autres voies, bien sûr. Tous les autres cas

correspondent à de plus de petits foyers, parfois dramatiques, mais ponctuels et localisés. Aucune souche virale issue de chiroptères ne semble en cours d'adaptation à l'homme, d' « humanisation », comme cela s'est passé pour les virus HIV, différents aujourd'hui des SIV dont ils dérivent pourtant.

Ce qui a beaucoup changé en 20 ans se sont les connaissances sur les virus portés par les chiroptères. Les facteurs de risque, les facteurs d'exposition ne semblent pas avoir considérablement évolué, si ce n'est l'invasivité par l'homme d'habitats encore peu modifiés jusque là, la destruction des dernières forêts primaires, voire la consommation directe de roussettes. L'impact semble beaucoup plus direct pour les chauves-souris.

Conclusion : Les chauves-souris sont vraiment de curieux animaux et leur point de vue, pied en l'air et tête en bas, est original. La richesse apparente en nouveaux virus des chiroptères et leur tolérance immunitaire globale sont-elles une cause ou une conséquence de toutes les diverses adaptations évoquées ci-dessus ? Il y a les nombreux contacts entre individus dans des essais de milliers, voire beaucoup plus, d'individus. Les rassemblements sont régulièrement plurispécifiques, ce qui peut enrichir le microbiome. Comment se combinent leur longue espérance de vie avec leurs variations de température interne, en particulier pendant l'hibernation ? Comment le système immunitaire est-il adapté à de telles variations d'ambiance interne ? Et les virus ?

En termes de santé publique, il semble que les risques aient peu changé. Les sources d'exposition ont encore peu varié aujourd'hui et c'est ce qu'il faut garantir. La meilleure prévention est probablement à effectuer à ce niveau, pas en essayant d'intervenir au niveau des populations réservoir. En fait, il se pourrait bien que les chiroptères apportent beaucoup plus que ces quelques nouveaux virus. Leurs caractéristiques biologiques, adaptatives et évolutives proposent peut-être une nouvelle lecture de certaines données épidémiologiques, physiologiques et immunitaires. Aux biologistes, aux respect des chauves-souris.

Bibliographie :

- Arthur L, Lemaire M (2009) Les chauves-souris de France, Luxembourg et Suisse. Biotope, Mèze (Collection Parthénope); Muséum national d'Histoire naturelle, Paris, 544p.
- Bleher DS, Hicks AC, Behr M, Meteyer CU, Bertowski-Zier BM, Buckles EL, Coleman JTH, Darling SR, Gargas A, Niver R, Okoniewski JC, Rudd RJ, Stone WB (2009) Bat white-nose syndrome : an emerging fungal pathogen ? Science, 323, 227.
- Daszak P (2010) Bats, in black and white. Science, 329, 634-635.
- Desvars A, Duval T, Punelle C, Pascal M, Vourc'h G (2009) The flying fox *Pteropus seychellensis* of Mayotte (Comoros) : method of capture and blood sampling. J. Wildl. Dis., 45 (3), 870-873.
- Dobson A (2005) What links bats to emerging diseases? Science, 310, 628-629.
- Donaldson EF, Haskew AN, Gates JE, Huynh J, Moore CJ, Frieman MB (2010) Metagenomic analysis of the viromes of three North American bat species: viral diversity among different bat species that share a common habitat. J of Virol. 84 (24), 13004-13018.
- Drexler JF, Corman VM, Müller MA, Maganga GD et al. (2012) Bats host major mammalian paramyxoviruses. Nature Communication, doi: 10.1038/ncomms1796
- Fleming TH, Racey PA (eds.) (2009) Islands bats. Evolution, ecology & conservation. Chicago University Press, Chicago, 549p.
- Keesing F, Belden LK, Daszak P, Dobson A, Harvell CD, Holt RD, Hudson P, Jolles A, Jones KE, Mitchell CE, Myers SS, Bogich T, Ostfeld RS (2010) Impact of biodiversity on the emergence and transmission of infectious diseases. Nature, 468, 647-652.
- Kunz TH, Fenton MB (eds.) (2003) Bat ecology. The University of Chicago Press, Chicago, 779p.
- Li L, Victoria JG, Wang C, Jones M, Fellers GM, Kunz TH, Delwart E (2010) Bat guano virome: predominance of dietary viruses from insects and plants plus novel mammalian viruses. J. Virol. 84 (14), 6955-6965.
- Rupprecht CE (2009) Bats, emerging diseases, and the human interface. PLoS Negl. Trop. Dis. 3 (7), e451.
- Teeling EC, Springer MS, Madsen O, Bates P, O'Brien SJ, Murphy WJ (2005) A molecular phylogeny for bats illuminates biogeography and the fossil records. Science, 307, 580-584.
- Wang LF, Walker PJ, Poon LLM (2011) Mass extinction, biodiversity and mitochondrial function: are bats "special" as reservoirs for emerging viruses ? Current Opinion in Virology, 1, 649-657
- Wibbelt G, Moore MS, Schountz T, Voigt CC (2010) Emerging diseases in Chiroptera: why bats? Biology Letters published on line 28 April 2010.
- Wilson DE, Reeder DAM (2005) Mammal species of the world. Third Edition, Vol. I and II. The Johns Hopkins University Press, Baltimore, 2142p.
- Wood JLN, Leach M, Waldman L et al. (2012) A framework for the study of zoonotic disease emergence and its drivers : spillover of bat pathogens as a case study. Phil. Trans. R. Soc. B, 367, 2881-2892.

***Neisseria meningitidis* targets human endothelial cells in a human skin xenograft transplantation model in SCID mice.**

O. Join-Lambert^{1,2,6}, H. Lécuyer^{4,2,6}, F. Miller⁴, L. Lelièvre^{2,6}, L. Furio⁵, S. Fraïtag^{1,6}, P. Pelissier³, M. Coureuil⁴, X. Nassif^{4,2,6}
¹Laboratoire d'Anatomie et de Cytologie Pathologiques ²Laboratoire de Microbiologie, AP-HP, Hôpital Necker-Enfants Malades ³Service de Chirurgie Reconstructrice et Plastique, Fondation Hôpital Saint-Joseph ⁴INSERM U1002 ⁵INSERM U781 ⁶Université Paris Descartes, Paris, France

Background: *Neisseria meningitidis* (Nm) is a strict human pathogen. Mouse models of meningococcal infections are appropriate to study virulence factors associated with Nm sepsis but can not be used to study bacterial-endothelial cells interactions *in vivo* as Nm only interacts with human cells. We established a mouse model of meningococcal infection in 10 weeks old female SCID mice transplanted with human skin grafts.

Methods: Mice were infected one month after transplantation with a lethal dose of 2x10⁶ colony forming units (CFUs) of the pilated and capsulated Nm strain 2C43 or with a non pilated 2C43 Δ *pilE* isogenic mutant by intraperitoneal route. Human holotransferrin (10 mg) was co-injected to promote bacterial growth *in vivo*. Bacteremia was assessed by quantitative blood cultures and mice were euthanized one day after infection for tissue analysis for histopathology and immuno-histology studies.

Results: As reported in clinical studies in patients with meningococemia, the wild type strain targeted the intraluminal surface of human endothelial cells in the graft and formed colonies that ended up in obliteration of the lumen of infected vessels. No bacteria could be detected in mouse vessels including skin and brain. Infection with the Δ *pilE* mutant resulted in a similar level of bacteremia (10⁶ CFUs/ml). However, the Δ *pilE* bacterial load of the graft one day after infection was significantly decreased (1000 times fewer) as compared to that of the wild type strain, and no bacteria could be detected adhering to endothelial cells within the graft.

Conclusion: These data demonstrate for the first time *in vivo* that Nm specifically interact with human endothelial cells *in vivo* in a pilus-dependent manner. This model should have a great impact on our understanding of invasive meningococcal disease.

Linezolid (LZD) prevents the development of lung damages in a murine model of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pneumonia (PN).

C. Jacqueline, A.H. Broquet, A. Roquilly, M. Davieau, G. Potel, J. Caillon, K. Asehounne
 UPRES EA 3826, Université de Medicine, Nantes, France

Background: LZD is a synthetic antibiotic used for the treatment (TT) of serious infections caused by gram-positive pathogens. In addition to its antibacterial activity, LZD displays potent mediated effects on virulence factors, production of inflammatory cytokines, and host defenses.

Methods: PN was induced by intra-tracheal instillation of MRSA strain ATCC 33591 (LZD MIC=2 mg/L). LZD was injected using the subcutaneous route (80 mg/kg bid) for 48 hours post-infection (hpi). Animals were randomly assigned to: SHAM (non-infected, no TT), LZD (non-infected, TT) MRSA (infected, no TT), and MRSA+LZD (infected, TT). The following parameters were evaluated 24 and 48 hpi: bacterial loads in lungs and spleen, neutrophils accumulation (myeloperoxidase, MPO), endothelial permeability (Fluorescein isothiocyanate-tagged albumin), and cytokines (ELISA).

Results: See Table.

| Time post-infection | TT | Bacterial load (log ₁₀ CFU/g) | | | | Cytokines (pg/mg lung proteins) | | |
|---------------------|----------|--|---------|----------------------|----------------------|---------------------------------|-------------------------|--------------------------|
| | | Lung | Spleen | MPO (U/g of lung) | Albumin-FITC (%) | TNF-a | IL-1b | MIP-2 |
| - | SHAM | n.d. | n.d. | 4.0±1.3 | 4.8±1.1 | n.d. | n.d. | n.d. |
| | LZD | n.d. | n.d. | 4.3±0.9 | 4.9±0.6 | n.d. | n.d. | n.d. |
| | MRSA | 5.9±0.3 | 2.4±0.3 | 14.8±4.1 | 7.5±2.2 | 49.8±14.0 | 652.6±128.7 | 800.3±492.9 |
| 24 hpi | MRSA+LZD | 5.6±0.2 | 2.4±0.4 | 10.7±4.8 | 7.4±3.0 | 8.6±5.2 ^c | 195.6±95.3 ^c | 371.8±123.8 ^c |
| | LZD | n.d. | n.d. | 4.1±1.1 | 4.6±0.9 | n.d. | n.d. | n.d. |
| | MRSA | 5.6±0.3 | 2.3±0.2 | 13.3±3.5 | 8.7±2.2 | 5.6±4.2 | 233.8±76.7 | 32.4±7.3 |
| 48 hpi | MRSA+LZD | 4.8±0.4 ^d | 2.6±0.5 | 6.1±4.2 ^c | 5.8±1.2 ^c | 9.9±2.5 | 198.8±49.4 | 27.0±4.6 |
| | MRSA | 5.6±0.3 | 2.3±0.2 | 13.3±3.5 | 8.7±2.2 | 5.6±4.2 | 233.8±76.7 | 32.4±7.3 |

n.d.: not detected; ^a P<0.001 vs MRSA 48h; ^b P<0.05 vs MRSA 48h; ^c P<0.001 vs MRSA 24h.

Conclusions: The bacterial counts in lung from animals treated with LZD (80 mg/kg bid) were significantly reduced after 2 days of treatment, but the drug failed to exhibit bactericidal activity. LZD significantly decreased the MPO levels at 48 hpi, a marker enzyme of neutrophils accumulation in lungs. LZD decreased endothelial permeability (%) at 48h as compared to the control group (MRSA), suggesting an inhibition of the development of pulmonary edema, a dramatic consequence of pneumonia. Consistent with these results, LZD decreased the production at 24 hpi of both TNF-a and IL-1b, major pro-inflammatory cytokines, as well as MIP-2, a chemokine involved in the recruitment of neutrophils within the infected site. Although showing a moderate impact on the lung bacterial load, these data demonstrate that all the surrogate markers of lung damage can be dramatically reduced by LZD therapy during MRSA PN.

Faut-il ajouter la moxifloxacine au traitement des tuberculoses ultra-résistantes ? Évaluation dans un modèle murin.A. Fillion³, A. Aubry^{3,2-1}, F. Brossier^{3,2-1}, A. Chaufour³, V. Jarlier^{3,2-1}, N. Veziris^{3,2-1}¹AP-HP ²Centre National de référence des mycobactéries et de la résistance aux antimycobactériens ³Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Faculté de médecine Pierre et Marie Curie, Paris, France

Le pronostic sévère de la tuberculose ultrarésistante (XDR-TB) est principalement due à la résistance aux fluoroquinolones (FQ). L'OMS recommande néanmoins d'inclure une FQ de dernière génération comme la moxifloxacine dans le traitement des XDR-TB. Nous avons montré que la moxifloxacine en monothérapie conserve une activité résiduelle dépendante du niveau de sensibilité à la moxifloxacine sur des souches de *M. tuberculosis* résistantes aux FQ.

Objet de l'étude : Déterminer l'impact de la résistance aux FQ sur l'activité d'un régime thérapeutique de seconde-ligne contenant la moxifloxacine.

Méthodes : 280 souris ont été inoculées avec la souche sauvage de référence de *M. tuberculosis* H37Rv ou l'un des trois mutants isogéniques présentant un niveau de résistance croissant aux FQ: bas niveau (substitution D500N dans la sous unité GyrB de l'ADN gyrase, cible unique des FQ chez *M. tuberculosis*), niveau intermédiaire et haut (substitution A90V et D94G dans la sous unité GyrA de l'ADN gyrase, respectivement). Le régime thérapeutique de seconde ligne contenait la moxifloxacine, le pyrazinamide et l'éthionamide pendant 6 mois supplémentés par de l'amikacine pendant les 2 premiers mois. L'efficacité du traitement a été évaluée par le dénombrement des charges bacillaires pulmonaire et la proportion de souris ayant une culture pulmonaire positive, a) au cours du traitement pour la mesure de l'activité bactéricide, et b) 3 mois après la fin du traitement pour la mesure du taux de rechute (activité stérilisante).

Résultats obtenus : Les charges bacillaires ont diminué plus rapidement pour la souche sauvage que pour les souches mutantes, mais sans différence significative entre celles-ci. En revanche, le taux de rechute après la fin du traitement était différent entre les souches mutantes et était lié au niveau de résistance aux FQ : souche sauvage (0%), GyrB D500N (33%), GyrA A90V (50%) et GyrA D94G (86%). Le taux de rechute de la souche GyrB D500N était même statistiquement non différent de la souche sauvage.

Conclusion : La réduction de l'activité stérilisante du régime thérapeutique de seconde ligne liée à la résistance aux FQ est contrebalancée par l'ajout de la moxifloxacine pour les souches de niveau de résistance bas et intermédiaire.

Impact de la diminution de sensibilité à la daptomycine chez *Enterococcus faecium* sur l'activité de cet antibiotique *in vitro* et *in vivo*.C. Richaud³, F. Chau³, M. Sotier², A. Bleibtreu⁴, B. Fantin³, V. Cattoir¹, A. Lefort³¹EA 4655, Université de Caen, Caen ²Laboratoire de toxicologie et de pharmacologie, Hôpital Bichat ³EA 3964 ⁴UMR 722, Université Paris-Diderot, Paris, France

Objet de l'étude : Le CLSI a retenu la valeur de 4mg/L comme concentration critique des entérocoques à la daptomycine (Dapto), pourtant peu de données existent sur l'impact d'une diminution de sensibilité de *E. faecium* à la Dapto sur son activité *in vivo*.

Méthodes : L'activité de la Dapto sur une souche sensible de *E. faecium* HM1070 (CMI: 2mg/L) et de 5 mutants isogéniques de sensibilité diminuée à la Dapto (CMI: 4 à 32mg/L) a été étudiée. Les CMI et CMB ont été déterminées avec et sans albumine humaine par macrodilution; des courbes de bactéricidie ont été réalisées en phase de croissance stationnaire et en phase exponentielle; la «fitness» des souches a été estimée par calcul de la pente maximale de la courbe de croissance (MGR) mesurée par densité optique; la taille et le potentiel de membrane des bactéries exposées à la Dapto a été mesurée par cytométrie de flux. Un modèle d'infection de cuisse de souris neutropénique a été utilisé avec des régimes thérapeutiques de Dapto permettant d'obtenir une Cmax (#76µg/mL) et une AUC_{0-24h} (#645µg.h/L) proches de celles observées chez l'homme avec des doses de 4mg/kg/24h.

Résultats : En présence d'albumine humaine les CMI et CMB sont augmentées de 2 à 5 dilutions. La Dapto est bactéricide en phase de croissance exponentielle et en phase stationnaire, bien que celle-ci soit moins rapide dans ce dernier cas. Mesurée par cytométrie de flux, la taille des bactéries est significativement augmentée en présence de Dapto à 0,25 et 1 fois la CMI, cet effet est moins marqué pour les souches de CMI>4mg/L; l'effet de la Dapto sur la dépolarisation membranaire n'est pas influencé par la diminution de sensibilité. Le MGR est diminué pour les souches de CMI de la Dapto >4mg/L. *In vivo*, une diminution significative du compte bactérien par gramme de cuisse a été mesurée chez les souris traitées par rapport aux animaux témoins non traités infectés par la souche de *E. faecium* HM1070 sensible ($\Delta \log \text{CFU/g thigh in 24h} = 1.22, p=0.05$) mais pas pour les souches isogéniques de CMI≥4mg/L.

Conclusions : Nos données suggèrent que la Dapto a une efficacité *in vivo* diminuée sur les souches de *E. faecium* de CMI 4mg/L sans perte de fitness. Ces souches pourraient donc poser des problèmes thérapeutiques.

Un charbon actif formulé administré par voie orale, le DAV131, diminue l'impact du céfotaxime sur la résistance à la colonisation intestinale par *Klebsiella pneumoniae* résistante aux β-lactamines chez la souris.N. Grall^{2,3}, N. Ducrot³, L. Massias⁴, S. Sayah-Jeanne¹, T.T. Nguyen⁵, E. Chachaty⁶, J. de Gunzburg¹, A. Andreumont^{2,3}¹Davolterra ²EA 3964 - Université Paris-Diderot ³Laboratoire de bactériologie, Hôpital Bichat - Claude Bernard, AP-HP ⁴Laboratoire de toxicologie, Hôpital Bichat - Claude Bernard, AP-HP ⁵UMR738 INSERM - Université Paris Diderot, Paris ⁶Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

Objet de l'étude : Les antibiotiques excrétés dans le tube digestif, comme les céphalosporines de troisième génération, perturbent la flore intestinale, affectent la résistance à la colonisation (RC), et facilite l'implantation de micro-organismes exogènes résistants. Nous avons étudié si le DAV131, un charbon actif formulé administré par voie orale, permettait de prévenir ces effets délétères chez la souris traitée par céfotaxime (CTX) par voie sous-cutanée (SC).

Méthodes : 30 souris Swiss ont été randomisées pour recevoir soit du CTX SC (300 mg/kg une fois par jour) uniquement (Groupe 1, n=8), soit un placebo (sérum physiologique) SC uniquement (Groupe 2, n=6), soit du CTX SC et du DAV131 par voie orale (25mg deux fois par jour; 20 min avant et 3h après l'injection de CTX) (Groupe 3, n=8), soit un placebo SC et du DAV131 par voie orale (Groupe 4, n=8) pendant 3 jours. Le troisième jour du traitement, les souris ont été inoculées par gavage gastrique avec 10⁶ CFU de la souche PUG-2 (*K. pneumoniae* résistante au CTX, CMI>32 mg/L). Les concentrations fécales de CTX ont été mesurées par HPLC pendant le traitement et les comptes fécaux de PUG-2 ont été suivis pendant les 9 jours suivant l'inoculation. Les Aires sous la Courbes (ASCs) respectives ont été calculées par une approche trapézoïdale et comparées entre les groupes 1 et 3 par le test non paramétrique de Wilcoxon.

Résultats : Les ASC des concentrations fécales de CTX étaient significativement réduites dans le groupe 3 par rapport au groupe 1 (0±0 µg/100mg x jours vs 4,62±7,73 jours x µg/100mg x jours, p=0,04), comme pour les ASC de la densité de colonisation fécale par PUG-2 (14,17±10,74 UFC (log₁₀/g x jours versus 34,59±8,61 UFC (log₁₀/g x jours, p=0,003).

Conclusion : Le DAV131 administré par voie orale adsorbe les résidus d'antibiotiques dans le colon de souris traitées par du CTX par voie parentérale et permet une restauration partielle de la RC par une souche résistante au CTX. Ces résultats pourraient ouvrir de nouvelles possibilités pour diminuer l'impact des antibiotiques sur la flore intestinale au cours des traitements.

Existe-t-il un lien entre l'infection à *Helicobacter pylori* et la survenue de démences ? Étude longitudinale de 20 ans (PAQUID).C. Roubaud Baudron^{1,2-4}, L. Letenneur³⁻⁴, A. Langlais³⁻⁴, A. Buissonnière²⁻⁴, F. Mège^{2,4}, N. Salles^{1,2-4}¹Pôle de gériatrie clinique, CHU hôpitaux de Bordeaux ²Laboratoire de Bactériologie, INSERM U853 ³SPED, INSERM U897 ⁴Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

Les démences sont responsables d'une prise en charge lourde et coûteuse. Leur incidence est estimée à 220.000 nouveaux cas par an. L'inflammation cérébrale joue un rôle majeur, c'est pourquoi l'implication d'agents infectieux dans la physiopathologie des démences est actuellement étudiée. L'infection à *Helicobacter pylori* acquise dans l'enfance perdure de nombreuses années et constitue un véritable modèle d'inflammation chronique.

L'objectif : De cette étude est de déterminer si l'infection à *H. pylori* est associée à une prévalence accrue de la démence et à un risque accru de développer une démence dans une cohorte longitudinale basée sur une population de sujets âgés vivant dans la communauté (cohorte PAQUID).

Méthodes : Le diagnostic sérologique de l'infection à *H. pylori* a été réalisé à T0 à partir des échantillons de sérum de sujets âgés inclus dans la cohorte PAQUID. Une première analyse descriptive et comparative a été réalisée à T0, incluant l'étude de la prévalence des démences en fonction de l'infection à *H. pylori*. Les sujets inclus dans la cohorte ont été suivis pendant 20 ans. Des modèles de Cox ont été utilisés pour étudier le risque de développer une démence en fonction de l'infection à *H. pylori*.

Résultats : Un total de 603 sujets a été inclus dans l'étude (348 femmes; âge moyen: 73.9±6.5 ans). Une sérologie *H. pylori*-positive a été diagnostiquée chez 391 (34,8%) sujets. A T0, la prévalence de la démence était significativement plus importante dans le groupe infecté (5,4% versus 1,4%, p=0,016) et l'analyse multivariée montrait une association significative de l'infection *H. pylori* avec le bas niveau socio-économique et la présence d'une démence. Après 20 ans de suivi, 153 cas incidents de démence ont été diagnostiqués. Après ajustement pour l'âge, le sexe, le niveau d'éducation, les facteurs de risque cardiovasculaires et le niveau cognitif de base, l'infection à *H. pylori* était significativement associée au risque de développer une démence (HR 1.48, p=0.04).

Conclusion : Les résultats de cette étude de cohorte permettent de renforcer l'hypothèse d'un lien entre l'infection à *H. pylori* et les démences.

Une histoire de Mec.

O. Dumitrescu

Faculté de Médecine « Lyon Sud – Charles Mérieux », Université Lyon I, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence des Staphylocoques, Bron, France

Staphylococcus aureus, commensal fréquent de la flore normale humaine, est aussi un pathogène redoutable qui a su développer des résistances à chaque nouvel antibiotique introduit depuis un demi-siècle. La plasticité de son génome lui confère la capacité de s'adapter à toutes les conditions environnementales, notamment d'acquies des gènes de résistance aux antibiotiques ainsi que d'établir des mécanismes de régulation pour s'adapter à des concentrations croissantes d'antibiotique. Ainsi, dès 1941 est apparue la résistance à la pénicilline qui a très vite diffusé en milieu communautaire et concerne actuellement plus de 90% des souches de *S. aureus*. Pendant les années 1950 sont apparues les souches de *S. aureus* multi-résistantes, car à la résistance à la pénicilline était associées des résistances à la streptomycine, à l'érythromycine, à la tétracycline, au chloramphénicol ainsi qu'aux sulfamides. En 1960, un an après l'introduction de la méticilline dans le traitement des infections staphylocoques, les premières souches hospitalières de *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) sont apparues en Grande-Bretagne.

Le génome de *S. aureus* comprend, hormis des gènes chromosomiques qui assurent la « maintenance » de la bactérie, toute une série d'éléments génétiques accessoires et mobiles portant la plupart des gènes associés à des facteurs de virulence et à la résistance aux antibiotiques. Le secret du pouvoir d'adaptation de *S. aureus* réside dans sa capacité à diversifier son génome grâce aux échanges de matériel génétique par des phénomènes de transfert horizontal de gènes. Le phénotype de résistance, comme le profil pathogénique, semble donc bien déterminé par les combinaisons de ces éléments génétiques accessoires portés par le chromosome.

Le temps zéro de l'évolution des SARM est l'acquisition du gène *mecA*, fragment d'ADN codant une protéine liant la pénicilline additionnelle (PLP2a). Les souches de *S. aureus* possédant le gène *mecA* sont résistantes à toute la famille des bêta-lactamines, car la transpeptidase PLP2a a une affinité faible vis-à-vis de ces molécules. Le gène *mecA* est inclus dans un élément génétique mobile : la cassette staphylocoque *staphylococcal cassette chromosome mec* (SCCmec), insérée au niveau d'un site spécifique du chromosome.

La cassette SCCmec comporte deux éléments essentiels: le complexe du gène *mecA* et un complexe de gènes codant des recombinases *ccr* (*cassette chromosome recombinase*) assurant les phénomènes d'intégration et d'excision de la cassette. La cassette SCCmec comporte également des éléments dits accessoires comme des séquences d'insertion, des transposons ou des copies de plasmide portant des gènes de résistance à des métaux lourds ainsi qu'à des antibiotiques autres que les bêta-lactamines. La combinaison des différentes classes de complexe *mec* et des 6 types de recombinases permet de définir à ce jour 10 types de cassettes (I-X). Ces dix types diffèrent d'une part, par leur structure et leur taille (20 à 66 kb) et d'autre part, par leur répertoire de résistances aux antibiotiques.

Les variants alléliques SCCmec de type I, II ou III se retrouvent plus particulièrement dans les souches de SARM d'origine hospitalière (SARM-H), tandis que les nouveaux variants alléliques de SCCmec, les types IV à VIII, ont été identifiés dans des souches de SARM d'origine communautaire (SARM-C). Des études conduites avec des souches d'origine animale ont permis l'identification de variants SCCmec fortement liés aux SARM adaptés aux différents espèces animales (SARM-A) : types V, IX et X. Les cassettes SSCmec des SARM-H comprennent, en plus du complexe du gène *mecA*, des éléments génétiques dits accessoires portant des gènes de résistance à des antibiotiques autres que les bêta-lactamines, responsables du profil de multi-résistance aux antibiotiques des souches hospitalières. Les allèles SCCmec de type IV-X portés par les SARM-C et SARM-A sont généralement de plus petite taille et ne contiennent pas de gènes additionnels de multi-résistance aux antibiotiques.

Des études récentes ont permis l'identification d'un nouveau type d'élément SCCmec, appelé *mecLGA* ou *mecC*. Il s'agit majoritairement de souches animales, mais une dizaine de cas d'infections humaines a été également signalé avec des souches présentant le gène *mecC* de résistance aux bêta-lactamines. Ce nouvel élément représente le type XI de la classification SCCmec et partage seulement 70% de similitude avec le *mecA* classique. Il encode une transpeptidase qui présente 63% de similitude avec la PLP2a classique, mettant ainsi en défaut les tests de laboratoire destinés au diagnostic des SARM et basés sur de techniques de biologie moléculaire ou immuno-chromatographie.

L'origine de la cassette de résistance demeure inconnue. Cependant différents indices comme la présence d'un gène *mecA* homologue chez *Staphylococcus sciuri* ou la présence de la séquence d'insertion IS1272 chez *Staphylococcus haemolyticus* retrouvée dans le type I et IV de SCCmec orientent vers la piste d'un échange horizontal entre *S. aureus* et des Staphylocoques à coagulase négative. Récemment le séquençage d'une souche de *Macroccoccus caseolyticus* résistante à la méticilline a révélé l'existence d'un complexe *mec*, *mecLRAM*, qui pourrait être un précurseur de l'actuel complexe *mec* de *S. aureus*.

Les premiers cas rapportés d'infection à SARM datent de plus de trente ans en arrière et revêtaient un caractère nosocomial, l'acquisition de SARM étant reliée à l'hospitalisation récente ou à l'exposition prolongée et récurrente aux antibiotiques. Dans ce contexte, l'acquisition de la cassette SCCmec confère en avantage évident et les staphylocoques qui en sont pourvus sont

sélectionnés par la présence des antibiotiques dans l'environnement hospitalier. Néanmoins, depuis les années 90, les infections à SARM se sont multipliées chez des patients n'ayant aucun facteur de risque traditionnel d'acquisition de SARM: il s'agit des infections à SARM-C. Les souches de SARM isolées dans ce contexte ont de caractéristiques génotypiques permettant de les différencier des SARM associées au milieu hospitalier. Bien qu'ils soient porteurs de cassettes SCCmec de plus petite taille avec un coût énergétique réduit pour la bactérie, il est judicieux de questionner les raisons de la persistance de ce déterminant de la résistance dans les génomes de SARM-C en l'absence de pression de sélection antibiotique. Plusieurs hypothèses ont été proposées, telles que l'association entre certaines cassettes SCCmec et de facteurs favorisant la virulence et la « fitness » des SARM-C (par exemple les PSM *phenol soluble modulins* et ACME *arginine catabolic mobile element* présents notamment dans le clone de SARM-C hautement épidémique USA300).

En conclusion, *S. aureus* est un pathogène dont le fort pouvoir d'adaptation permet sa survie grâce à l'acquisition successive de gènes de résistance aux antibiotiques, de mécanismes de régulation de la croissance en présence d'antibiotiques et de facteurs de virulence particuliers. Certains de ces aspects semblent intriqués et leur complexité n'est à ce jour pas résolue. La vigilance des cliniciens et microbiologistes est requise afin de signaler l'émergence de phénomènes épidémiologiques nouveaux ainsi que de veiller au respect des consignes de prévention et à l'utilisation judicieuse des antibiotiques tant en milieu hospitalier, que dans la communauté.

Références :

- Oliveira DC, Tomasz A and de Lencastre H. Secrets of success of a human pathogen: molecular evolution of pandemic clones of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Lancet Infect Dis* 2002; 2: 180-9
- Ito T, Okuma K, Ma XX, et al. Insights on antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* from its whole genome: genomic island SCC. *Drug Resist Updat* 2003; 6: 41-52
- Hiramatsu K, Cui L, Kuroda M, et al. The emergence and evolution of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Trends Microbiol* 2001; 9:486-93
- International Working Group on the Classification of Staphylococcal Cassette Chromosome Elements (IWG-SCC). Classification of staphylococcal cassette chromosome mec (SCCmec): guidelines for reporting novel SCCmec elements. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53: 4961-7
- Li S, Skov RL, Han X, et al. Novel types of staphylococcal cassette chromosome mec elements identified in clonal complex 398 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011; 55: 3046-50
- García-Álvarez L, Holden MT, Lindsay H, et al. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis*. 2011; 11: 595-603.
- Tsubakishita S, Kuwahara-Arai K, Baba T, et al. Staphylococcal Cassette Chromosome mec-Like Element in *Macroccoccus caseolyticus*. *Antimicrob Agents Chemother* 2010; 54: 1469-75
- Otto M. *Staphylococcus aureus* toxin gene hitchhikes on a transferable antibiotic resistance element. *Virulence*. 2010 Jan; 1: 49-51.
- Diep BA, Stone GG, Basuino L, et al. The arginine catabolic mobile element and staphylococcal chromosomal cassette mec linkage: convergence of virulence and resistance in the USA300 clone of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Infect Dis*. 2008; 197: 1523-30.

Les SARM dit "communautaires" sont-ils vraiment plus méchants ?

P. Tattevin

CHU Pontchaillou, Rennes, France

Comme leur nom l'indique, les souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) communautaires (SARM-Co) ont été initialement définies par leur mode d'acquisition. C'est en effet la principale caractéristique qui a attiré l'attention sur leur émergence dans les années 1990-2000, alors que les SARM représentaient le prototype du pathogène exclusivement nosocomial (1, 2). Presque 20 ans plus tard, avec 2418 articles au compteur si on entre 'community-acquired methicillin-resistant *S. aureus*' dans Pubmed, le mode d'acquisition n'est plus la signature de ces SARM-Co: D'abord, parce que le succès de leur dissémination les a placés au 1^{er} plan des infections nosocomiales à SARM dans de nombreux pays (Etats-Unis (3-5), Grèce (6), Algérie (7)). Ensuite parce que la recherche intensive consacrée, à juste titre, à ce pathogène d'exception, a déplacé l'attention vers l'étude de ses facteurs de virulence, ses capacités de transmission, et certaines formes cliniques 'signatures' (8).

Si un consensus est loin d'être finalisé, quelques données font désormais l'unanimité concernant la 'méchanceté' de ces SARM-Co:

- Bien que les émergences de SARM-Co soient clairement des événements indépendants, à différents points du globe (Europe, Océanie, Amérique), liés à des clones distincts ('ST80' en Europe et au Maghreb, 'ST8' USA300 aux Etats-Unis), ces clones portent les gènes codant la leucocidine de Pantón-Valentine (PVL), retrouvée chez > 99% des SARM-Co *versus* ~2% des SARM hospitaliers et des *S. aureus* sensibles à la méticilline.

- Cette toxine est clairement un facteur de virulence, avec une pathogénie bien caractérisée en ce qui concerne les pneumopathies (nécrosantes, hémorragiques, leucopniantes, forte létalité même en l'absence de comorbidité) (9, 10), les infections cutanées (plus étendues, plus suppuratives, plus récidivantes) (11, 12), et, à un degré moindre, les ostéomyélites de l'enfant (plus étendues) (13).

- La dissémination de ces SARM-Co dans certaines populations a été spectaculaire (14, 15), et est restée mal comprise, même si les caractéristiques des lésions cutanées - suppuratives sur des durées prolongées - et les facteurs socio-économiques et comportementaux ont certainement joué un rôle.

A l'inverse, certains éléments viennent tempérer cette mauvaise réputation des SARM-Co :

- Dans plus de 90% des cas, il ne s'agit que de lésions cutanées superficielles qui guérissent avec un traitement local (+/- incision) dans la majorité des cas (16). Les pneumopathies nécrosantes et hémorragiques restent des raretés, même dans les zones hyperendémiques, et la morbi-mortalité attribuable aux bactériémies à SARM-Co ne semble pas différente de celle des autres souches de *S. aureus* (5).

- La pénétration des SARM-Co dans certaines populations reste à ce jour un échec, plus de 20 ans après les premiers cas, notamment dans la plupart des pays d'Europe (6).

Références :

1. Del Giudice P, Tattevin P, Etienne J. [Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: Review]. *Presse Med.* 2012 Jul; 41(7-8): 713-20.
2. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H, et al. Community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carrying Panton-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. *Emerg Infect Dis.* 2003; 9(8): 978-84.
3. Seybold U, Kourbatova EV, Johnson JG, Halvosa SJ, Wang YF, King MD, et al. Emergence of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 genotype as a major cause of health care-associated blood stream infections. *Clin Infect Dis.* 2006 Mar 1; 42(5): 647-56.
4. Popovich KJ, Weinstein RA, Hota B. Are community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) strains replacing traditional nosocomial MRSA strains? *Clin Infect Dis.* 2008 Mar 15; 46(6): 787-94.
5. Tattevin P, Schwartz BS, Graber CJ, Volinski J, Bhukhen A, Mai TT, et al. Concurrent Epidemics of Skin and Soft Tissue Infection and Bloodstream Infection Due to Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*. *Clin Infect Dis.* 2012 Sep; 55(6): 781-8.
6. Otter JA, French GL. Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet Infect Dis.* 2010 Apr; 10(4): 227-39.
7. Antri K, Rouzic N, Dauwalder O, Boubekri I, Bes M, Lina G, et al. High prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* clone ST80-IV in hospital and community settings in Algiers. *Clin Microbiol Infect.* 2011 Apr; 17(4): 526-32.
8. Diep BA, Otto M. The role of virulence determinants in community-associated MRSA pathogenesis. *Trends Microbiol.* 2008 Aug; 16(8):361-9.
9. Diep BA, Chan L, Tattevin P, Kajikawa O, Martin TR, Basuino L, et al. Polymorphonuclear leukocytes mediate *Staphylococcus aureus* Panton-Valentine leukocidin-induced lung inflammation and injury. *Proc Natl Acad Sci U S A.* 2010 Mar 23; 107(12): 5587-92.
10. Gillet Y, Etienne J, Lina G, Vandenesch F. Association of necrotizing pneumonia with Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus*, regardless of methicillin resistance. *Clin Infect Dis.* 2008 Oct 1; 47(7): 985-6.
11. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Panton-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Infect Dis.* 1999 Nov; 29(5): 1128-32.
12. Issartel B, Tristan A, Lechevallier S, Bruyere F, Lina G, Garin B, et al. Frequent carriage of Panton-Valentine leukocidin genes by *Staphylococcus aureus* isolates from surgically drained abscesses. *J Clin Microbiol.* 2005 Jul; 43(7): 3203-7.
13. Cremieux AC, Dumitrescu O, Lina G, Vallee C, Cote JF, Muffat-Joly M, et al. Panton-valentine leukocidin enhances the severity of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* rabbit osteomyelitis. *PLoS One.* 2009; 4(9): e7204.
14. Tattevin P, Diep BA, Jula M, Perdreau-Remington F. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* USA300 clone in long-term care facility. *Emerg Infect Dis.* 2009 Jun; 15(6): 953-5.
15. Tattevin P, Diep BA, Jula M, Perdreau-Remington F. Long-term follow-up of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* molecular epidemiology after emergence of clone USA300 in San Francisco jail populations. *J Clin Microbiol.* 2008 Dec; 46(12): 4056-7.
16. Moran GJ, Krishnadasan A, Gorwitz RJ, Fosheim GE, McDougal LK, Carey RB, et al. Methicillin-resistant *S. aureus* infections among patients in the emergency department. *N Engl J Med.* 2006 Aug 17;355(7): 666-74.

abondamment en milieu hospitalier (Otter and French, 2010). Cette résistance est conférée par l'acquisition d'une cassette chromosomique SCCmec portant le gène *mecA*, qui code une protéine membranaire additionnelle (PLP2a), dont l'affinité très faible pour les bêta-lactamines entraîne une résistance croisée à toutes les molécules de cette famille. Chez l'animal, des souches de MRSA ont émergé au début des années 70 (premier MRSA responsable d'une mammite bovine en 1972), mais c'est la description de cas de contaminations humaines à partir d'élevages de porcs aux Pays-Bas en 2004 qui a véritablement renforcé l'éclairage sur un risque possible pour l'Homme à partir d'un réservoir lié à l'animal de production, d'où la dénomination de Livestock-Associated MRSA (LA-MRSA) pour ces souches.

LA-MRSA : l'exemple du complexe clonal CC398

Le complexe clonal (CC) le plus emblématique des LA-MRSA est le CC398. Décrit pour la première fois en France au début des années 2000 chez un éleveur de porcs (Armand-Lefevre et al., 2005), il a ensuite été largement détecté en Europe au cours d'une vaste enquête de portage conduite en 2008 par la Commission Européenne, mais également en Amérique de Nord ou en Chine. Ces souches sont principalement associées à une colonisation asymptomatique du porc, mais de nombreuses études ont maintenant décrit leur présence dans toutes les filières de production, dans la filière équine et chez les animaux de compagnie, démontrant l'existence d'un réservoir animal au sens large (Cuny et al., 2010).

Comme cité précédemment, l'importance de ce clone en tant que pathogène humain a été démontrée en 2004 (Voss et al., 2005). Depuis, le nombre de publications rapportant des cas d'infections humaines, parfois très sévères, n'a cessé de croître, et les souches appartenant à ce clone représentent aujourd'hui plus de 20% des cas de MRSA humains aux Pays-Bas et de près de 30% au Danemark (van Loo et al., 2007). Ces chiffres témoignent de la capacité de ce clone à diffuser rapidement et largement dans la population humaine, et de sa relativement faible spécificité d'hôte. Par ailleurs, il est établi que ces infections surviennent plus fréquemment dans les populations professionnellement exposées. Ainsi, la fréquence du portage de MRSA CC398 est 760 fois plus élevée chez les producteurs de porcs que dans la population hollandaise (Voss et al., 2005). De même, les vétérinaires et le personnel des abattoirs sont davantage à risque d'être colonisés, voire infectés, en raison de cette exposition. D'autres études ont montré que même l'entourage des professionnels exposés est à risque de colonisation et d'infection, témoignant ainsi de l'existence d'une transmission interhumaine. (Voss et al., 2005). Cependant, de façon assez rassurante, cette colonisation semble très transitoire (Graveland et al., 2010). Également, la présence de MRSA dans les aliments issus d'animaux de production a été rapportée (viande et lait), mais le risque pour l'Homme est considéré comme mineur.

Plusieurs publications rapportent aussi l'introduction de ce clone en milieu hospitalier, avec même de véritables bouffées épidémiques dans certains hôpitaux (Wulf et al., 2008). Néanmoins, aux Pays-Bas, il a été montré que la transmission interhumaine des MRSA CC398 est moins efficace que celle observée pour les MRSA hospitaliers (HA-MRSA). Enfin, si le clone CC398 semble très adapté à ses hôtes animaux, notamment le porc, certaines souches ont acquis par transfert horizontal certains facteurs de virulence humains majeurs, comme en témoigne l'isolement de souches porteuses du gène de la toxine de Panton Valentine (PVL), de la toxine du choc toxique staphylococcique (TSST-1) ou de certaines entérotoxines. Cette capacité d'acquisition rapide de traits adaptatifs et de virulence, classiquement décrit chez *S. aureus*, renforce l'inquiétude au plan de la santé publique, liée à l'émergence de telles souches et à leur capacité de diffusion rapide chez l'Homme.

MRSA et animaux de compagnie : un risque à la fois pour l'animal et pour l'Homme

Les animaux de compagnie occupent une place particulière en raison de leurs contacts très rapprochés avec l'Homme et de la médecine individuelle dont ils bénéficient. Cette spécificité explique sans doute pourquoi les clones circulant chez les carnivores domestiques sont sensiblement différents de ceux qui sont identifiés chez les animaux d'élevage. Ainsi, des études menées hors de France sur des MRSA isolés de chiens et de chats malades montrent que les animaux de compagnie portent les mêmes clones que les hommes qu'ils côtoient, même si le sens de la transmission reste souvent inconnu (Moodley et al., 2006; Rutland et al., 2009; Strommenger et al., 2006). Une étude récente en France indique une proportion de moins de 2 % de MRSA au sein des infections à staphylocoques à coagulase positive des chiens et des chats (Haenni et al., 2012).

Dans cette étude, la caractérisation moléculaire des 23 souches MRSA a montré que trois isolats (13 %) appartenaient au complexe clonal CC398. Aucun lien n'a pu être mis en évidence entre les trois chiens porteurs et des élevages porcins, mais leur habitat en zone semi-rurale ne peut exclure un contact avec des animaux de ferme. Deux de ces trois souches présentaient des gènes typiquement associés à la virulence chez l'Homme, laissant supposer une potentielle adaptation de ces souches animales à l'hôte humain. À l'exception de ces trois souches d'origine probablement animale, toutes les autres souches MRSA correspondaient à des clones communautaires ou associés à l'hôpital. Seize MRSA (69,6 %) appartenaient au clone Lyon, majoritairement impliqué dans les infections humaines hospitalières en France. Le propriétaire de l'un des chiens travaillait d'ailleurs en milieu hospitalier, confortant l'hypothèse que la source de la contamination de l'animal puisse provenir d'un établissement de soins. Trois autres isolats (13 %) appartenaient au clone Géraldine, à ce jour exclusivement décrit sur le territoire français. Également, un clone Barnim et un clone communautaire USA300 ont été retrouvés. Le clone Barnim a été isolé chez un chien atteint d'une pyodermites récidivante et dont les propriétaires strasbourgeois effectuaient de fréquents voyages en Forêt-Noire voisine, où ils chassaient avec lui. Il est donc possible que l'animal ait été infecté par contact direct avec un chien allemand ou son propriétaire, eux-mêmes porteurs de ce clone. Cette hypothèse est renforcée

60/14s 22/11/2012 - 12:00 - AMPÈRE 5

Quel risque représentent les Mec des animaux ?

J.Y. Madec

Bactériologie, Anses, Lyon, France

Staphylococcus aureus est une bactérie commensale ou pathogène opportuniste de l'Homme et des mammifères, à l'origine d'une variété d'infections suppuratives et toxiques. Ces infections sont un problème majeur de santé publique en raison de la virulence de ces bactéries, de leur résistance aux antibiotiques et de leur pouvoir épidémique. Les premières souches humaines de *S. aureus* résistantes à la pénicilline (MRSA) ont émergé en Angleterre chez l'Homme au début des années 60 avant de se répandre

par les résultats d'une étude qui a démontré la présence, chez des hommes et des chiens en Allemagne, de souches identiques appartenant au clone Barnim. Le clone USA300 a été isolé chez un chien présentant une complication postopératoire à la suite d'une chirurgie orthopédique. Cette infection a été soignée par une antibiothérapie ciblée puisque ce clone, bien que rendu très virulent par la production de toxine PVL, reste en général sensible aux antibiotiques, à l'exception de ceux de la famille des bêta-lactamines. Dans la période autour du geste chirurgical, le vétérinaire accueillait sa sœur à son domicile, laquelle se trouvait en convalescence après une péritonite aiguë ayant nécessité une longue hospitalisation près de New York, où elle habitait. Les propriétaires du chien n'étaient jamais sortis de leur environnement géographique proche. L'hypothèse d'une transmission du clone USA300 au vétérinaire par cette parente encore colonisée, puis au chien au cours du geste opératoire semble donc très probable.

Au final, lorsque la présence de MRSA est avérée chez un chien, la probabilité qu'il s'agisse d'un clone d'origine humaine est élevée. De fait, la distribution des clones identifiés chez les carnivores domestiques en France se révèle très proche de celle des clones hospitaliers et communautaires humains, avec une large majorité de clones Lyon et, dans une moindre mesure, de clones Géraldine. De plus, la détection des deux clones Barnim et USA300 démontre que les chiens et les chats peuvent également être vecteurs d'isolats moins fréquents en France. Ainsi, ces animaux, qui occupent une place privilégiée au sein des familles, peuvent être victimes de ces souches de MRSA humains, mais également en constituer un réservoir, donc un risque de diffusion ou de recontamination humaine. Néanmoins, il convient de considérer le principal staphylocoque à coagulase positive responsable d'infections chez les chiens et les chats n'est pas *S. aureus* mais *S. pseudintermedius*. La prévalence de plus en plus élevée de souches de *S. pseudintermedius* résistants à la métilcilline (MRSP) observée chez les chiens peut faire craindre des recombinaisons génétiques avec son proche parent *S. aureus*. De tels événements génétiques seraient susceptibles de générer de nouveaux clones plus résistants et/ou plus virulents de MRSP. Par conséquent, la surveillance des MRSA qui infectent les carnivores domestiques mérite d'être poursuivie, et les risques pour l'Homme d'évalués à leur juste mesure. A ce jour, peu d'infections humaines à MRSP sont rapportées, et aucune à MRSP.

mecC, le futur de l'épidémiologie des Mec animaux ?

En juin 2011, de nouveaux clones de MRSA multisensibles ont été décrits pour la première fois dans des prélèvements de mammites bovines et chez l'Homme au Royaume-Uni et au Danemark (Garcia-Alvarez et al., 2011). Ces souches portent un nouveau variant du gène *mecA* présentant moins de 70% d'homologie avec le gène *mecA* classiquement décrit. Compte tenu de cette faible homologie, ce variant a été considéré comme un véritable nouveau mécanisme de résistance. Initialement dénommé *mecALGA251* du nom de la première souche identifiée (*S. aureus* LGA251), il portera finalement le nom de *mecC* (International World Group for SCCmec Cassette (IWG-SCCmec)).

Les travaux conduits parallèlement par Garcia-Alvarez et al. et Shore et al. sur les premières souches identifiées ont permis de montrer que ce gène *mecC* est porté par une cassette SCCmec Type XI, différente de toutes les cassettes SCCmec décrites à ce jour (Garcia-Alvarez et al., 2011; Shore et al., 2011). A l'instar du gène *mecA* qui code une PLP2a, le gène *mecC* code une PLP2c possédant elle aussi une faible affinité pour l'ensemble des bêta-lactamines. Cependant, cette résistance s'avère phénotypiquement difficile à détecter en raison d'augmentations très variables de concentrations minimales inhibitrices d'une bêta-lactamine à l'autre, ce qui entraîne une mauvaise détection de certaines des souches par les automates d'analyses classiquement utilisés en routine. Par ailleurs, les techniques de PCR ciblant le gène *mecA*, qui sont fréquemment utilisées pour confirmer la nature MRSA des souches, ne permettent pas l'amplification du gène *mecC*. Par conséquent, certaines souches phénotypiquement résistantes à la métilcilline et porteuses du gène *mecC* peuvent au final, sur la base d'une PCR *mecA* négative, être rendues à tort comme sensibles à la métilcilline.

La caractérisation moléculaire des souches a permis de montrer que les souches portant la cassette SCCmec Type XI et le gène *mecC* appartenaient à au moins trois fonds génétiques différents (CC425, CC130, CC1943) et étaient présentes dans au moins trois zones géographiques différentes. Ces résultats suggèrent à la fois des transferts horizontaux de la cassette à plusieurs occasions, un large "spectre d'hôte" de cette cassette, et une probable dissémination géographique assez vaste de ce nouveau mécanisme de résistance. La description récente, lors de communications orales ou de posters dans plusieurs congrès européens, de souches cliniques ou animales portant le gène *mecC* en France, Allemagne, Suède, Suisse ou Portugal semble confirmer ces éléments.

En France, les sept premières souches humaines ont été identifiées dès le mois de mai 2011 sur la base de criblage des collections disponibles au CNR des staphylocoques et dans divers laboratoires hospitaliers français. Par ailleurs, deux souches animales ont été détectées par l'Anses Lyon, dans deux exploitations de Meurthe-et-Moselle (Laurent et al., 2012). Toutes ces souches appartiennent au complexe clonal CC130, qui est également majoritaire parmi les souches initialement décrites en Grande-Bretagne et au Danemark. La caractérisation moléculaire par puces à ADN des souches de ces deux pays, ainsi que des souches françaises, montre que certaines d'entre elles peuvent porter des gènes codant des entérotoxines ou la toxine de choc staphylococcique (TSST-1), qui sont des facteurs de virulence connus de *S. aureus*.

Aujourd'hui, l'hypothèse d'une origine bovine des souches de MRSA présentant le gène *mecC* est retenue, car les souches bovines et humaines sont co-localisées géographiquement, et bon nombre des souches humaines appartiennent à des clones exclusivement décrits jusqu'ici chez l'animal. La découverte de ces souches MRSA portant un variant du gène *mecA* ouvre donc un champ d'études en tout point analogue, en matière de santé publique, à celui ouvert il y a une décennie par l'émergence du clone MRSA CC398. Les

données épidémiologiques concernant ces souches sont encore très fragmentaires, tant dans la population humaine (Cuny et al., 2011) que dans les différentes espèces animales (Paterson et al., 2012). La caractérisation moléculaire, la spécificité d'hôte ainsi que les potentiels pathogénique et épidémique de ces souches restent à explorer.

Conclusion : Le risque posé pour l'Homme par les Mec animaux est probablement faible sur un plan quantitatif, mais des exemples documentés de passage animal-Homme existent. Ce risque doit être considéré au cas par cas en fonction des clones de MRSA et des espèces animales concernées. L'exposition professionnelle (éleveur, vétérinaire) joue à l'évidence un rôle majeur pour les animaux de production (exemple du clone CC398 et du porc). Au contraire, les Mec des carnivores domestiques sont essentiellement hébergés par *S. pseudintermedius* et non par *S. aureus*. Le risque d'infections à MRSA est donc davantage pour les chiens que pour l'Homme, sauf à considérer le risque de diffusion chez l'animal, puis de recontamination humaine. La question de la décontamination des chiens porteurs de MRSA peut, en outre, être posée. Enfin, le risque pour l'Homme du récent *mecC* ne peut pas être encore appréhendé de façon précise, mais il doit être pris avec le plus grand sérieux dans les années futures.

Références bibliographiques

1. Armand-Lefevre, L., Ruimy, R., Andremont, A., 2005, Clonal comparison of *Staphylococcus aureus* isolates from healthy pig farmers, human controls, and pigs. *Emerg Infect Dis*11, 711-714.
2. Cuny, C., Friedrich, A., Kozytska, S., Layer, F., Nübel, U., Ohlsen, K., Strommenger, B., Walther, B., Wieler, L., Witte, W., 2010, Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in different animal species. *Int J Med Microbiol*300, 109-117.
3. Cuny, C., Layer, F., Strommenger, B., Witte, W., 2011, Rare occurrence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* CC130 with a novel *mecA* homologue in humans in Germany. *PLoS ONE*6, e24360.
4. Garcia-Alvarez, L., Holden, M.T., Lindsay, H., Webb, C.R., Brown, D.F., Curran, M.D., Walpole, E., Brooks, K., Pickard, D.J., Teale, C., Parkhill, J., Bentley, S.D., Edwards, G.F., Girvan, E.K., Kearns, A.M., Pichon, B., Hill, R.L., Larsen, A.R., Skov, R.L., Peacock, S.J., Maskell, D.J., Holmes, M.A., 2011, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* with a novel *mecA* homologue in human and bovine populations in the UK and Denmark: a descriptive study. *Lancet Infect Dis*11, 595-603.
5. Graveland, H., Wagenaar, J.A., Heesterbeek, H., Mevius, D., van Duikeren, E., Heederik, D., 2010, Methicillin resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in veal calf farming: human MRSA carriage related with animal antimicrobial usage and farm hygiene. *PLoS One*5, e10990.
6. Haenni, M., Saras, E., Chatre, P., Medaille, C., Bes, M., Madec, J.Y., Laurent, F., 2012, A USA300 variant and other human-related methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains infecting cats and dogs in France. *J Antimicrob Chemother*67, 326-329.
7. Laurent, F., Chardon, H., Haenni, M., Bes, M., Reverdy, M.E., Madec, J.Y., Lagier, E., Vandenesch, F., Tristan, A., 2012, MRSA harboring *mecC* Variant Gene *mecC*, France. *Emerg Infect Dis*18, 1465-1467.
8. Moodley, A., Stegger, M., Bagcigil, A.F., Baptiste, K.E., Loeffler, A., Lloyd, D.H., Williams, N.J., Leonard, N., Abbott, Y., Skov, R., Guardabassi, L., 2006, spa typing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolated from domestic animals and veterinary staff in the UK and Ireland. *J Antimicrob Chemother*58, 1118-1123.
9. Otter, J.A., French, G.L., 2010, Molecular epidemiology of community-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in Europe. *Lancet Infect Dis*10, 227-239.
10. Paterson, G.K., Larsen, A.R., Robb, A., Edwards, G.E., Pennycott, T.W., Foster, G., Mot, D., Hermans, K., Baert, K., Peacock, S.J., Parkhill, J., Zadoks, R.N., Holmes, M.A., 2012, The newly described *mecA* homologue, *mecALGA251*, is present in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolates from a diverse range of host species. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*.
11. Rutland, B.E., Weese, J.S., Bolin, C., Au, J., Malani, A.N., 2009, Human-to-dog transmission of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Emerg Infect Dis*15, 1328-1330.
12. Shore, A.C., Deasy, E.C., Slickers, P., Brennan, G., O'Connell, B., Monecke, S., Ehrlich, R., Coleman, D.C., 2011, Detection of staphylococcal cassette chromosome *mec* type XI carrying highly divergent *mecA*, *mecI*, *mecR1*, *blaZ*, and *ccr* genes in human clinical isolates of clonal complex 130 methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Antimicrob Agents Chemother*55, 3765-3773.
13. Strommenger, B., Kehrenberg, C., Kettlitz, C., Cuny, C., Verspohl, J., Witte, W., Schwarz, S., 2006, Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains from pet animals and their relationship to human isolates. *J Antimicrob Chemother*57, 461-465.
14. van Loo, I., Huijsdens, X., Tiemersma, E., de Neeling, A., van de Sande-Bruinsma, N., Beaujean, D., Voss, A., Kluytmans, J., 2007, Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* of animal origin in humans. *Emerg Infect Dis*13, 1834-1839.
15. Voss, A., Loeffen, F., Bakker, J., Klaassen, C., Wulf, M., 2005, Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in pig farming. *Emerg Infect Dis*11, 1965-1966.
16. Wulf, M.W., Markestein, A., van der Linden, F.T., Voss, A., Klaassen, C., Verduin, C.M., 2008, First outbreak of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* ST398 in a Dutch hospital, June 2007. *Euro Surveill*13.

Évaluation de la prévalence du portage digestif des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes dans la population hospitalisée du sud de la France.

A. Pantel⁵, H. Marchandin⁴, M.F. Prère⁸, A. Boutet Dubois², N. Brieu¹, A. Gaschet⁷, A. Davin Regli³, A. Sotto⁶, J.P. Lavigne⁵

¹Laboratoire de Bactériologie, CH Pays d'Aix, Aix-en-Provence ²Laboratoire de Biologie Polyvalente, CH Alès, Alès ³Laboratoire de Biologie Polyvalente, CH Edmond Garcin, Aubagne ⁴Laboratoire de Bactériologie, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier ⁵Laboratoire de Bactériologie ⁶Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carêmeau, Nîmes ⁷Laboratoire de Biologie Polyvalente, CH St Jean, Perpignan ⁸Laboratoire de Bactériologie, CHU Purpan, Toulouse, France

Objet de l'étude : En raison de la forte probabilité d'impasse thérapeutique, les infections par les Bacilles à Gram Négatif (BGN) producteurs de carbapénémases constituent une menace grandissante. L'objet de l'étude était d'évaluer la prévalence du portage digestif de ces bactéries chez les patients hospitalisés dans le Sud de la France.

Méthodes : Du 1/02/12 au 30/04/12, tous les patients hospitalisés pour diarrhées aiguës dans les CHU de Nîmes, Toulouse, Montpellier, Aix-en-Provence et dans les CH d'Alès, Perpignan et Aubagne ont été inclus consécutivement. Les coprocultures ou écouvillons rectaux ont été ensuite adressés au laboratoire de bactériologie (CHU Nîmes). Le portage des bactéries productrices de carbapénémase KPC a été évalué par amplification NASBA (Nuclisens EasyQ KPC[®], bioMérieux) après extraction des acides nucléiques par des particules de silice (Nuclisens EasyMag[®], bioMérieux). Les autres carbapénémases ont été recherchées par ensemencement des selles sur les milieux chromogènes ChromID CARBA[®] et ChromID OXA-48[®] (bioMérieux) puis PCR spécifiques à partir des cultures.

Résultats obtenus : 1145 selles ou écouvillons rectaux ont été analysés. La prévalence du portage digestif des BGN résistants aux carbapénèmes était de 3%, celle des BGN producteurs de carbapénémases de 0,3%. Les carbapénémases détectées étaient des OXA-23 produites par des *A. baumannii* totorésistants isolés sur les 2 milieux sélectifs testés et une OXA-48 produite par *K. pneumoniae* détectée sur le milieu ChromID OXA-48. L'autre mécanisme de résistance aux carbapénèmes était dû à une imperméabilité membranaire. Aucune souche productrice de KPC, ni aucun gène *bla*_{KPC}, n'ont été identifiés. Les spécificités des milieux ChromID CARBA[®] et ChromID OXA-48[®] étaient de 94,2% et de 97,6%, respectivement.

Conclusion : La prévalence du portage des BGN producteurs de carbapénémases est donc très faible dans la population hospitalisée dans le Sud de la France. Les enzymes identifiées étaient uniquement des oxacillinasés confirmant la diffusion de ces enzymes dans nos Régions. Les entérobactéries productrices de carbapénémases de type KPC ou NDM, largement répandues dans certaines parties du monde, ne semblent pas diffuser dans nos hôpitaux. Une surveillance accrue de ces enzymes reste nécessaire.

Portage digestif d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi ou de carbapénémases chez les soldats français hospitalisés en France après rapatriement sanitaire d'un théâtre d'opération.

F. Janvier¹, S. Larréché¹, S. Tessé¹, N. Sanmartin¹, H. Delacour¹, D. Ollat², C. Rapp³, A. Mérens¹

¹Bactériologie ²Chirurgie orthopédique ³Maladies infectieuses et tropicales, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

Objet de l'étude : Déterminer la prévalence à l'admission à l'HIA Bégin du portage digestif d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE) ou de carbapénémase (EPC) chez les soldats français hospitalisés en France après rapatriement sanitaire de l'étranger.

Méthodes : Étude prospective sur 1 an. Inclusion de 83 écouvillons rectaux de militaires rapatriés sanitaires d'Afghanistan (n=29), du Moyen-Orient (n=8), d'Afrique (n=22), des Caraïbes (n=21) et de Polynésie Française (n=3). Chaque selle a été ensemencée sur gélose sélective CHROM ID ESBL. Toutes les bactéries isolées ont fait l'objet d'une identification, d'un antibiogramme par diffusion en gélose et d'une étude des mécanismes de résistance aux β-lactamines. Une CMI de l'ertapénème a été réalisée pour les isolats présentant un diamètre d'inhibition inférieur à 28 mm. Les isolats ont ensuite été caractérisés par biologie moléculaire : gène codant les BLSE, phylogroupe, appartenance ou non au clone O25b-ST131, RAPD.

Résultats : Aucune EPC n'a été détectée chez ces patients à risque. Onze patients étaient porteurs d'*E.coli* BLSE, soit une prévalence de 13,25%. Dix provenaient d'Afghanistan et 1 d'Afrique. Dix isolats étaient porteurs de *bla*_{CTX-M-15} et un de *bla*_{CTX-M-14}. Sept phénotypes de résistance étaient observés. Une résistance aux quinolones ou au cotrimoxazole était associée dans 91% des cas. Huit isolats appartenaient au phylogroupe des *E. coli* extra-intestinaux virulent B2 (n=3) et D (n=5) et 3 au phylogroupe des *E. coli* commensaux A (n=2) et B1 (n=1). Parmi les 3 *E. coli* B2, 2 appartenaient au clone O25b-ST131. Dix profils RAPD étaient retrouvés.

Conclusion : Ces données révèlent l'existence d'un portage digestif important d'EBLSE chez les militaires rapatriés sanitaires avec une prévalence et un

risque relatif élevé particulièrement pour la population rapatriée d'Afghanistan (prévalence à l'admission 34,5%; RR 18,6; P=0,0001) et confirme la nécessité d'un isolement préventif systématique avec précautions complémentaires de type contact pour ce type de patient.

Portage digestif d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^e génération dans une population d'adultes jeunes asymptomatiques : évolution entre 1999, 2009 et 2012.

F. Janvier², A. Bousquet², R. Abi², C. Garcia¹, S. Larréché², D. Delaune², S. Tessé², A. Mérens²

¹Biologie médicale, HIA du Val-de-Grâce, Paris ²Bactériologie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

Objet de l'étude : Évaluer le portage digestif d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^e génération (ERC3G) dans une population d'adultes jeunes asymptomatiques non hospitalisés et le comparer aux études de 1999 et 2009 sur plus de 1000 volontaires.

Méthode : Étude prospective sur une période de 6 mois. Inclusion de 124 selles moulées de jeunes militaires asymptomatiques pour lesquels une analyse systématique de selles a été demandée pour aptitude aux emplois alimentaires. Pour chaque prélèvement, le sujet devait répondre à 3 questions : hospitalisation, voyage dans l'année précédente, prise d'antibiotique dans les 6 mois. Chaque selle a été ensemencée sur gélose sélective CHROM ID ESBL. Toutes les bactéries isolées ont fait l'objet d'une identification, d'un antibiogramme par diffusion en gélose et d'une étude des mécanismes de résistance aux β-lactamines. Les isolats ont ensuite été caractérisés par biologie moléculaire : gène codant les BLSE, phylogroupe, appartenance ou non au clone O25b-ST131. Comparaison aux résultats des études antérieures de 1999 et 2009.

Résultats obtenus : En 2012 sur 124 prélèvements non répétitifs, 7 entérobactéries résistantes aux C3G ont été mises en évidence (prévalence 5,6%). Il s'agissait de 2 entérobactéries présentant une céphalosporinase hyperproduite (1,6%) et 5 *E. coli* BLSE (4%) parmi lesquels 4 étaient porteurs de CTX-M du groupe 1 et une de CTX-M du groupe 2. Ces 5 *E. coli*, appartenant au phylogroupe A (n=2), B1, B2 et D et aucun n'appartenait au clone O25b-ST131. Des résistances associées étaient retrouvées chez toutes les EBLSE avec une sensibilité de 0% aux sulfamides, de 80% à la ciprofloxacine et à la tobramycine. Aucun des 3 facteurs de risque de colonisation recherchés n'était retrouvé.

Conclusion : Ces données confirment l'augmentation significative du portage digestif d'ERC3G dans la communauté, y compris chez des adultes jeunes asymptomatiques, avec une prévalence de 2,1% en 1999, 4,2% en 2009 puis 5,6% en 2012 (p<0,05). Ce taux croissant d'ERC3G est exclusivement lié à l'émergence communautaire d'EBLSE de type CTX-M (0% en 1999 vs 4% en 2012 ; p<0,001). Le portage digestif d'entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinase est en revanche relativement stable.

Dépistage du portage digestif des entérobactéries BLSE chez des nouveau-nés hospitalisés en réanimation néonatale.

B. Oumokhtar², N. El Amri¹, N. El Ghachtouli¹, A. Bouharrou³

¹Faculté des sciences et techniques ²Laboratoire de Microbiologie, Faculté de Médecine et de pharmacie ³Service de néonatalogie et de réanimation néonatale, CHU Hassan II, Fès, Maroc

Objectif : Évaluer la fréquence du portage digestif des entérobactéries BLSE chez des nouveau-nés hospitalisés en réanimation néonatale.

Matériels et méthodes : Il s'agit d'une étude prospective réalisée dans un service de Néonatalogie et de Réanimation Néonatale. Entre février et mai 2011, 56 nouveau-nés ont été prélevés systématiquement par écouvillonnage rectal à l'admission puis à la sortie du service. Les prélèvements (n=102) sont ensemencés sur le milieu EMB puis incubés à 37°C pendant 24h. Toutes les colonies ont été identifiées et ont fait l'objet d'un antibiogramme sur Muller-Hinton selon les recommandations du CA-SFM (2010).

Résultats : Les résultats préliminaires de cette étude en cours ont permis d'identifier 104 isolats d'entérobactéries représentés par : *Klebsiella pneumoniae* 47%, *Escherichia coli* 40%, *Enterobacter cloacae* 3% et *Citrobacter sp.* 4%. Quatre nouveau-nés (7%) ont été dépistés porteurs de BMR (*K. pneumoniae* BLSE) à l'admission. Ces bébés provenaient de centres hospitaliers périphériques. Par ailleurs, la fréquence du portage digestif des entérobactéries BLSE a été de 53,5% (Trente nouveau-nés), dominées par *K. pneumoniae* BLSE (66%) et *E. coli* BLSE (31,5%).

Conclusion : Nous rapportons dans cette étude préliminaire un taux élevé de portage des Entérobactéries BLSE chez les nouveau-nés hospitalisés (53,5%). Le taux de BMR est un bon indicateur de la transmission croisée d'un réservoir à un autre de ces bactéries, par défaut d'observance des mesures d'hygiène et d'identification précoce des patients porteurs de BMR. Une stratégie active de maîtrise de la dissémination des BMR devrait être appliquée.

Abondance relative dans les selles des *Escherichia coli* produisant une β -lactamase à spectre élargi et occurrence dans les infections urinaires.

E. Ruppé^{1,2}, B. Lixandru⁵, R. Cojocar⁴, C. Bûke⁶, E. Paramythiotou³, C. Angebault^{1,2}, C. Visseaux², I. Djukoué², O. Burduniuc⁴, A. El Mniai², C. Marcel², T. Kesteman², L. Armand-Lefèvre^{1,2}, A. Andreumont^{1,2}
¹EA3964, Faculté de Médecine Paris Diderot ²Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris, France ³Fourth Internal Medicine Department, Attikon Hospital, Athènes, Grèce ⁴National Centre for Preventive Medicine, Chişinău, Moldavie ⁵Laboratory "Nosocomial Infections and Antibiotic Resistance", Cantacuzino Institute, Bucarest, Roumanie ⁶Infectious Diseases Polyclinic, Ege University, Izmir, Turquie

Objet de l'étude : Les infections du tractus urinaire (ITU) à *Escherichia coli* sont d'origine digestive. Celles causées par des souches produisant une β -lactamase à spectre élargi posent actuellement un problème de Santé Publique majeur. Dans cette étude, nous avons cherché à savoir si l'abondance relative des *E. coli* BLSE (AR-BLSE) parmi les entérobactéries totales des selles était liée à leur présence dans l'infection urinaire.

Méthodes : Entre octobre 2008 et mars 2011, la première selle émise après consultation pour une infection urinaire à *E. coli* a été obtenue auprès de 310 femmes dans quatre pays (Moldavie, Roumanie, Turquie, Grèce). L'AR-BLSE a été déterminée par dilutions sériées sur milieu Drigalski additionné ou non de céfotaxime (1 mg/L). Le lien entre la présence d'un *E. coli* BLSE dans l'urine et l'AR-BLSE dans les selles a été mesuré chez les femmes n'ayant pas reçu d'antibiotiques. Le groupe phylogénétique, le score de virulence et la clonalité des souches de *E. coli* BLSE ont été analysés.

Résultats obtenus : La prévalence des *E. coli* BLSE était de 20,3. 63/310) en portage digestif et de 12,3% (38/310) dans les ITU. L'exposition aux antibiotiques au moment du prélèvement de selles augmentait de 13 fois l'AR-BLSE moyenne [CI95%] (14,3% [5,6%-36,9%] %vs. 1,1% [0,32%-3,6%], p=0,001). Chez les femmes non-exposées aux antibiotiques, l'AR-BLSE moyenne était 18 fois plus élevée chez les femmes ayant une ITU à *E. coli* BLSE que celles ayant une ITU avec une autre souche de *E. coli* (respectivement 10% [0,54%-100%] vs. 0,56% [0,15%-2,1%], p<0,05). Le phylogroupe et le score de virulence des souches de *E. coli* BLSE fécales n'étaient pas différents selon que la souche était retrouvée dans les urines ou non. Une AR-BLSE <0,1% était à 100% prédictive d'une infection urinaire à *E. coli* non-BLSE.

Conclusion : L'AR-BLSE joue un rôle majeur dans l'occurrence des *E. coli* BLSE dans les ITU.

L'examen microbiologique quantitatif des selles en onco-hématologie : étude rétrospective 2003-2010.

N. Sanmartin¹, C. Martinaud¹, A. Bousquet¹, J. Konopacki², T. Samson¹, J.V. Malfuson², C. Soler, V. Foissaud¹, C. Mac Nab¹
¹Biologie ²Service d'hématologie clinique, HIA Percy, Clamart, France

Objectif : Décrire les agents pathogènes isolés des coprocultures quantitatives (CQ) chez les patients en cours de greffe et les comparer à ceux des bactériémies. Comparer les deux isolats lorsque l'examen des selles positif précédait une bactériémie.

Méthodes : Une décontamination digestive par Colimycine et Fungizone est réalisée pour les patients à haut risque de translocation digestive. Une CQ est réalisée toutes les semaines jusqu'à la sortie d'aplasie. Un seuil de 10⁶2 est retenu comme significatif. Nous avons analysé l'ensemble des microorganismes isolés des CQ sur une période de 8 ans puis comparé ces données à celles des bactériémies survenues dans cette même population.

Résultats : 724 examens des selles ont été inclus. 51% ont permis d'isoler au moins un microorganisme, correspondant à 222 patients et 450 agents pathogènes. Vingt-quatre pour cent étaient des bacilles Gram négatif (BGN), 50% des cocci Gram positif (CGP), 17% des levures ou champignons et 9% des bactéries anaérobies. Les 3 espèces les plus souvent isolées sont *E. faecalis* (22%), *E. faecium* (11%), *E. coli* (15%). Durant la même période, parmi les 723 épisodes bactériémiques, 70,8% des bactéries isolées étaient des BGN, 18,7% sont des CGP. Les 3 espèces les plus souvent isolées étaient *E. coli* (18,5%), *P. aeruginosa* (14,8%) et *S. maltophilia* (6,2%). L'analyse statistique (test de Fisher) met en évidence une différence significative entre les espèces retrouvées dans ces 2 types de prélèvements (p<0.0001). Enfin, dans 7 cas l'épisode bactériémique était précédé par l'isolement dans les selles du même agent pathogène, avec seulement 3 cas dans lesquels les profils de résistances étaient en faveur d'une même souche.

Conclusion : La coproculture quantitative est un examen délicat et couteux. Son impact sur la prise en charge des épisodes fébriles au cours des aplasies est difficile à évaluer. Malgré l'absence de relation entre le résultat des hémocultures et de cet examen, cette étude ne permet pas de conclure. En effet, il faudrait évaluer au cas par cas l'influence du résultat de la CQ sur la prise en charge thérapeutique. Ce travail est en cours et devrait nous permettre de conclure sur la place de cet examen.

Facteurs de risque de bactériémie à *Escherichia coli* après transplantation hépatique.

F. Bert, B. Larroque, F. Dondero, C. Paugam-Burtz, F. Durand, J. Belghiti, M.H. Nicolas-Chanoine
 Hôpital Beaujon, Clichy, France

Objet de l'étude : Les infections bactériennes, en particulier les bactériémies, sont une cause majeure de mortalité après transplantation hépatique (TH). *Escherichia coli* est l'une des principales causes de ces bactériémies. Le but du travail était d'étudier l'incidence et les facteurs de risque de bactériémie à *E. coli* (BEC) dans l'année suivant une TH.

Méthodes : L'étude a porté sur 745 patients ayant bénéficié d'une TH à l'hôpital Beaujon sur une période de 9 ans (2002-2010). Des variables préopératoires, peropératoires et postopératoires associées à la survenue d'une BEC dans l'année suivant la TH ont été identifiées par analyse univariée puis par régression logistique (stepwise).

Résultats : Parmi les 745 patients, 63 (8,4%) ont présenté au moins un épisode de BEC dans l'année suivant la TH. Le délai médian de survenue d'un 1^{er} épisode de BEC postgreffe était de 33 jours (extrêmes: 1-280 jours). La porte d'entrée était principalement abdominale et biliaire (49%), suivie de l'appareil urinaire (21%), du poumon (6%), de la peau et des tissus mous (5%). Une bactériémie primaire a été observée dans 19% des cas. La souche responsable était productrice de β -lactamase à spectre étendu dans 14% des cas. Les variables associées à une BEC lors de l'analyse univariée étaient l'infection à VIH (9,5% vs 2,8%, p=0,014), l'anastomose biliodigestive (22,2% vs 6,6%, p<0,0001), la reprise chirurgicale (49,2% vs 31,7%, p=0,005), l'insuffisance rénale postopératoire (51,7% vs 37,3%, p=0,031), la fuite biliaire (17,5% vs 6,5%, p=0,006) et la sténose biliaire (19,3% vs 8,5%, p=0,008). Après régression logistique, les facteurs prédictifs de BEC étaient l'infection à VIH (OR 4,1, IC95 1,4-11,8, p=0,01), l'anastomose biliodigestive (OR 5,6, IC95 2,7-11,6, p<0,0001), la sténose biliaire (OR 2,8, IC95 1,3-6,3, p=0,011) et l'insuffisance rénale postopératoire (OR 2,2, IC95 1,2-4,0, p=0,007). Chez les patients avec BEC, la mortalité à J15 de l'épisode était de 21% et la mortalité hospitalière était de 33%.

Conclusion : Les BEC sont une complication fréquente après TH, associée à une mortalité élevée. Les principaux facteurs prédictifs sont l'infection à VIH et les complications biliaires.

Risk factors for adenovirus infection and disease in pediatric hematopoietic stem cell transplant patients.

L. Feghou³, J.H. Dalle¹, S. Chevre², M. Ouachée¹, M. Fahd¹, K. Yacouben¹, A. Baruchel¹, F. Simon³, J. Le Goff³
¹Hématologie Clinique, Hôpital Robert Debré AP-HP - Université Paris Diderot ²Département de Biostatistiques ³Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Saint-Louis AP-HP - Université Paris Diderot, Paris, France

Background: Adenovirus (Adv) infections are a major cause of morbidity in hematopoietic stem cells transplantation (HSCT). The aim of the study was to determine risk factors for Adv infection and disease in pediatric HSCT patients to define the patients who should benefit of a screening for Adv.

Methods: Between September 2010 and December 2011, 65 pediatric HSCT patients were prospectively followed for 12 months and were weekly tested for adenovirus in blood and stool. Shedding was defined as a positive detection in stool only, systemic infection as positive detection in blood, and disease as infection with Adv associated symptoms. Univariable and multivariable Cox models were used to define predictive factors for shedding in stool, systemic infection and disease with estimated hazard ratio (HR) of event as a measure of association.

Results: Cumulative incidence of shedding in stools, infection and disease at 3 months post-HSCT were 39%, 21% and 17% respectively. Risk factors were age under 6 years, cord blood transplantation, mismatch unrelated donor and corticosteroids in preventing GvHD for shedding in stool (HR=2.6, HR=4.0, HR=9.1, HR=3.6, respectively); the same factors were selected for predicting disseminated infection (HR=8.3, HR=4.2; HR=11.1, HR=4.3 respectively) as well as grade 3-4 GvHD (HR=3.0). Risk factors for Adv disease were cord blood transplantation (HR=3.8) and grade 3-4 GvHD (HR=3.7). Based on multivariable models, mismatch unrelated donor (HR=3.4) and age below 6 (HR=2.9) remained associated with shedding in stool, while grade 3-4 GvHD and cord blood transplant remained associated with infection or disease (HR=2.9, HR=4.1; HR=3.5, HR=3.7 respectively). Correlations between Adv systemic infection and disease, and viral loads in stool or blood and other viral reactivations (CMV, EBV) will be assessed.

Conclusions: Age

Efficacité de la daptomycine (DAP) dans les infections à Gram positif (G+) chez des patients atteints d'hépatopathies malignes : résultats EU-CORE (European Cubicin® Outcomes Registry and Experience).

F. Camou², F. Saliba³, F. Keil¹, A. Robb⁵, G. Daikos⁴, au nom des Investigateurs Eucore

¹Hôpital, Leoben, Autriche ²CHU, Bordeaux ³CHB, Villejuif, France ⁴Hôpital, Athènes, Grèce ⁵Hôpital, Newcastle, Royaume-Uni

Objectifs : Les patients (pts) atteints d'hépatopathies malignes (HM) sont à haut risque d'infections à Gram positif (G+). DAP possède l'activité *in vitro* la plus puissante anti G+ comparativement aux autres anti-staphylocoques. Il y a peu de données cliniques sur la DAP dans le traitement des pts atteints d'infections G+ et de cancer hématologique. Nous rapportons ici l'expérience clinique avec un traitement (tt) de 1ère ligne par DAP dans les infections graves chez des pts atteints d'HM.

Méthodes : Les données ont été recueillies dans EU-CORE (European Cubicin® Outcomes Registry and Experience), étude multicentrique non-interventionnelle entre janvier 2006 et juin 2011. Les pts atteints d'HM, ayant reçu au moins une dose de DAP ont été inclus dans cette analyse. Les investigateurs ont évalué les résultats (guérison et amélioration=succès, échec, non évaluable) à la fin du traitement (tt) sous DAP et la sécurité d'emploi jusqu'à 30 js après la fin du tt.

Résultats : Sur 267 pts atteints d'HM, 83 ont reçu DAP en tt de 1ère ligne. Dans cette cohorte, 24% des pts >65 ans (homme: 61%) et 57 pts (69%) neutropéniques. La dose moyenne de DAP de 6 mg/kg (40%) a été administrée sur une durée médiane de 10j (1-47j). Les infections les plus fréquentes: bactériémies (40%) et SSTI (21%) et les pathogènes les plus fréquents: SCN (30%: *S. epidermidis*: 17%, autres: 13%), *S. aureus* (12%) et entérocoques (7%). Des taux de succès clinique élevés ont été obtenus avec DAP administrée soit en tt de 1ère ligne soit en tt de 2ème ligne chez des pts présentant un cancer hématologique (80% et 72%, respectivement). Chez les pts ayant reçu DAP en tt de 1ère ligne, des taux de succès similaires ont été observés chez pts avec neutropénie (sévère 79%; modérée 75%; légère 69%) ou sans (80%). La DAP s'est avérée efficace contre les SCN (82%), *S. aureus* (80%) et les entérocoques (100%). Des événements indésirables (EI) pouvant être liés à la DAP ont été rapportés dans 3 cas (4%): 2 pts (2%) ont arrêté leur tt par DAP en raison d'EI indépendamment de leur lien avec DAP. Quatre décès et 4 EIG ont été rapportés, mais sans aucun lien présumé avec la DAP.

Conclusions : La DAP a été bien tolérée et s'est avérée très efficace comme tt de 1ère ligne des infections à G+ chez des pts atteints de cancer hématologique, avec ou sans neutropénie.

Étude prospective de l'utilisation des antifongiques en Hématologie à l'hôpital Saint-Antoine.

A. Vekhoff¹, M. Annereau⁴, F. Isnard¹, E. Rochais⁴, C. Hennequin², M.C. Meyohas³, M. Antignac, J.P. Marie¹

¹Hématologie clinique ²Laboratoire de Mycologie ³Maladies infectieuses ⁴Pharmacie, Hôpital St-Antoine AP-HP HUEP, Paris, France

Le panel des traitements des infections fongiques a considérablement augmenté ces dernières années. Les dépenses d'antifongiques représentent sur l'hôpital 60% des dépenses d'antibiotiques (2M€). Une enquête prospective dressant l'état des lieux des prescriptions d'antifongiques en hématologie a été réalisée.

Méthode : Les prescriptions d'antifongiques ont été collectées sur 10 mois (2011-2012) par les externes en pharmacie. Les données recueillies portaient sur le patient, sa pathologie, la prise en charge thérapeutique, la description du traitement antifongique, les éléments cliniques et radiologiques, les résultats mycologiques justifiant l'instauration du traitement.

Résultats : L'étude a porté sur 101 patients (pts) représentant 166 séjours.

Les leucémies aiguës myéloblastiques (LAM) représentaient 52% des pts et 62 % des séjours, les leucémies aiguës lymphoblastiques (LAL) respectivement 15% et 16%, les lymphomes 10% et 6% et les myélomes 6% et 5%.

Les séjours correspondaient à un traitement d'induction ou de rattrapage (41%), une consolidation (30%), une allogreffe (10%), une autogreffe (8%) post allogreffe (2%). La médiane de durée d'aplasie était de 18 jours (2-130j).

Pour 70% des séjours, une prophylaxie par antifongique a été instaurée (44% par fluconazole (FCZ); 41% par posaconazole (PSZ) et 14% par Voriconazole (VCZ).

73% des LAM ont bénéficié d'une prophylaxie, 2/3 d'entre eux par PSZ et 1/3 par FCZ. 52% des pts sous PSZ n'ont pas nécessité d'autres d'antifongiques.

La durée médiane de prophylaxie de FCZ, PSZ et VCZ a été respectivement de 17, 14 et 22 jours.

Au total, le nombre de jours de traitement a été de 1990j en prophylaxie, 1281j en empirique (774j de caspofungine (CAS), 441j d'amphotéricine B liposomale (LAMB)) 396 jours de traitement préemptif (233j de CAS et 68j de LAMB) et 456j en curatif (138j de CAS; 175 de LAMB et 140j de VCZ).

Les traitements curatifs correspondent à 3 septicémies à candida (*dubliensis*, *krusei*, *glabrata*) une à *trichoderma* et 6 aspergilloses probables. Seuls 4 pts ont reçu une association (AMP+CFG).

Conclusion : La couverture prophylactique des LAM pourrait être encore améliorée afin de réduire le recours aux traitements antifongiques plus coûteux.

A l'exception du traitement curatif, la CAS demeure la principale molécule prescrite.

Photocarcinogénicité du voriconazole : de la phototoxicité aiguë aux carcinomes cutanés : résultats de l'étude VoriPeau rétrospective.

O. Epaulard^{4,6}, M.T. Leccia³, S. Blanche⁹, O. Chosidow^{1,13}, M.F. Mamzer-Bruneel¹⁰, P. Ravaut¹², A. Thiebaut⁵, C. Villier², O. Lortholary^{11,7-8}

¹Service de Dermatologie, Hôpital Henri-Mondor, Créteil ²Centre régional de Pharmacovigilance, Grenoble ³Service de Dermatologie et Photobiologie, Grenoble ⁴Service des Maladies Infectieuses ⁵Unité de Thérapie Cellulaire, Hématologie, CHU de Grenoble ⁶UVHCI, UMI 3265 UJF-EMBL-CNRS, Grenoble ⁷Centre d'Infectiologie Necker Pasteur ⁸Centre national de référence mycologie et antifongiques, CNRS URA 3012, Institut Pasteur ⁹Service d'Immunologie et Hématologie Pédiatrique ¹⁰Service de Transplantation Rénale ¹¹Service des Maladies Infectieuses, Hôpital Necker-Enfants-Malades ¹²Service d'épidémiologie clinique, Hôtel-Dieu ¹³Université Paris-Est Créteil, Paris, France

Objet de l'étude : Le voriconazole est un antifongique responsable d'une phototoxicité dont le spectre va dans la littérature des érythèmes aigus aux lésions préneoplasiques et néoplasiques. Nous avons cherché à caractériser rétrospectivement la survenue de tels cas en France depuis 2002 (AMM européenne).

Méthode : Nous avons proposé aux sociétés savantes concernées par la prise en charge clinique des infections fongiques (SPILF, SF de Transplantation, SF de Greffe de Moelle et de Thérapie Cellulaire, SF d'Hématologie, Centre de Référence des Déficit Immunitaires Hérités, Société d'Immunologie-Hématologie Pédiatrique), à la SF de Dermatologie, et à la SF de Pharmacologie et de Thérapeutique, de diffuser un appel à déclaration. Pouvait être déclaré tout phénomène cutané aigu ou chronique survenu sous voriconazole, et tout cas de néoplasie cutanée survenu après ou lors d'un traitement par voriconazole. Les données étaient recueillies par mail ou via la visite d'un attaché de recherche clinique. Les cas ont ensuite été analysés par un comité multidisciplinaire afin d'apprécier l'imputabilité du voriconazole.

Résultats : 67 déclarations ont été reçues, dont 61 analysables. 19 concernaient des carcinomes épidermoïdes; l'imputabilité du voriconazole était haute (H) dans 15 cas, intermédiaire (I) dans 2 cas et basse dans 2 cas. Pour les cas d'imputabilité H et I (3 femmes et 14 hommes, âge moyen 49 ans), on constatait de façon presque constante la succession d'une phototoxicité aiguë, puis de kératoses actiniques, puis de carcinomes souvent multiples (9 cas), et touchant souvent le scalp (10 cas). 13/17 patients étaient immunodéprimés, dont 7 transplantés. La médiane de survenue des carcinomes était de 39 mois après début du voriconazole (35 mois en durée cumulée de traitement); elle était plus courte chez les patients transplantés (35,0 vs 45,2 mois, p=0,049). Les autres déclarations (imputabilité: H=31, I=4) rapportaient entre autres un érythème parfois bulleux (31 cas), une chéilite (7 cas), des kératoses (4 cas).

Conclusions : Cette étude confirme par de nouveaux cas qu'une phototoxicité prolongée sous voriconazole est à l'origine de lésions préneoplasiques et de carcinomes cutanés. Tout traitement par voriconazole doit s'associer à une photoprotection, et être reconsidéré en cas de phototoxicité.

Le traitement préemptif des candidémies est-il utile ? Bilan de huit années de surveillance prospective dans un service d'adultes brûlés.

J.F. Arnould, E. Naux, R. Le Floch, F. Morio

CHU de Nantes, Nantes, France

Le traitement préemptif des candidémies en fonction de l'index de colonisation reste controversé.

Nous rapportons ici notre expérience (2003 à 2010) du traitement préemptif des patients brûlés porteurs d'un cathéter central, en recourant au fluconazole (pour les espèces de *Candida* sensibles) ou à la caspofungine (pour les espèces résistantes au fluconazole, depuis 2006).

Comparant les données recueillies de façon prospective de 2003 à 2010 (286 patients) à celles recueillies en 2001-2002 (77 patients) nous avons déterminés les modifications de l'incidence des candidémies, les circonstances de survenues de celles-ci, la mortalité attribuable et les conséquences sur la mortalité globale, enfin l'évolution des espèces de *Candida*. L'index de colonisation a été déterminé depuis 2003 une fois par semaine, en fonction de prélèvements d'au moins quatre sites. Une approche de la dépense en fonction du coût du traitement et des examens biologiques a été faite durant les quatre dernières années.

L'incidence des candidémies fut significativement plus basse de 2003 à 2010 par rapport à la période 2001-2002 (1,7% versus 7,8%; selon le test de Fisher p=0,0142). La mortalité des patients candidémiques fut de 37%. Des écarts importants au protocole ont été retrouvés dans tous les cas de candidémies. La mortalité des patients non candidémiques fut de 20%, correspondant à la mortalité globale. Malgré une mortalité attribuable de 17%, la petite taille de l'échantillon ne permet pas de retrouver une différence de mortalité

($p=0,2924$). Il n'y a évidemment pas de différence dans la mortalité globale. Il n'y a pas eu de variation significative des espèces de *Candida*. *Candida albicans* reste en 2010 au même niveau qu'en 2002 (70%) malgré l'utilisation de fluconazole et de caspofungine. De 2007 à 2010 quarante quatre pour cent des patients furent traités. Le surcoût généré rapporté à l'ensemble de la population (traitée et non traitée) fut d'environ 30€ par patient et par jour.

Dans notre population de patients le traitement préemptif semble bien avoir réduit l'incidence des candidémies. Il n'a pas réduit la mortalité globale. Il n'a pas induit l'apparition d'espèces de *Candida* réputées résistantes. Le surcoût doit être apprécié en fonction de ces résultats.

83/21DP 22/11/2012 - 13:07 - HALL PIERRE CURIE

Evidence of persistent enterovirus infection in heart tissues of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy.

N. Lévêque^{4,2}, F. Renois^{4,2}, Y. N'guyen^{4,2}, A. Bouin^{4,2}, F. Lesaffre^{5,2}, C. Fichet^{1,2}, C. Boulagnon¹, P. Bruneval³, P. Fornès^{1,2}, L. Andréoletti^{4,2}

¹Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris ²EA-4684 Cardiovir, SFR-CAP santé, Faculté de médecine ³Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims ⁴Laboratoire de virologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims ⁵Service de Cardiologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims, Reims, France

Background: Enterovirus (EV) are a common infectious cause of acute myocarditis in children and young adults, a disease which is a precursor to 10-20% chronic myocarditis cases as well as dilated cardiomyopathy (DCM, prevalence = 7 cases / 100 000, 2nd cause of heart transplantation). The viral molecular mechanisms involved in the progression of acute myocarditis to chronic myocarditis and then to DCM are currently poorly understood. Earlier, a coxsackievirus B2 (CVB2) population containing 5' terminally deleted (TD) genomes was reported in myocarditic human heart tissue and associated with persistent replication at low level, which could be linked to the development of chronic cardiomyopathies.

Objectives: To detect and quantify RNA molecules of wild-type and TD EV strains in cardiac tissue samples obtained from idiopathic DCM patients. To assess the EV persistence mechanisms through the measurement of the positive- to negative-strand viral RNA ratio and the detection of the VP1 protein.

Patients: One hundred and nineteen formalin-fixed, paraffin-embedded explanted heart tissue samples collected between 2000-2009 from a population of 24 adult patients suffering from idiopathic DCM (18 men/6 women, mean age 43.8 years-old \pm 13) and control samples from 14 adult patients, who had died accidentally or by suicide, were analyzed. One to 3 anatomical location were obtained from each patient (left ventricle, septum, right ventricle).

Methods: Standardised quantitation of total EV RNA molecules of wild-type and TD strains using one-step real-time RT-PCR assay. Specific isolation and quantitation of negative-strand EV RNA for positive- to negative-strand viral RNA ratio determination. Detection of EV VP1 capsid protein by immunohistochemistry.

Results: Enteroviral RNA was detected in 8 (33%) of the 24 patients tested. The median viral load per microgram of total extracted nucleic acids was 357 copies, ranging from 127 to 3368. Negative-strand RNA molecules were detected in 4 enterovirus positive DCM patients with positive- to negative-strand viral RNA ratios ranging from 2 to 20. The capsid protein VP1 was detected in 6 from the 8 EV RNA positive DCM patients. Neither enterovirus RNA nor VP1 have been detected in the control samples.

Conclusion: Total and negative-strand enterovirus RNA quantitation provided information fundamental to the understanding of enterovirus cardiac infections by demonstrating virus persistence in the heart tissue of idiopathic DCM patients characterized by low viral loads and low positive- to negative-strand RNA ratios. These findings are consistent with the presence of previously described TD viral forms.

84/21DP 22/11/2012 - 13:14 - HALL PIERRE CURIE

L'expression d'alpha-toxine n'est pas associée à la mort des ostéoblastes au cours de l'infection intracellulaire par les SARM communautaires.

J.P. Rasigade^{2,1,4}, J. Ranfaing⁴, S. Trouillet⁴, T. Ferry^{4,3}, F. Vandenesch^{2,1,4}, G. Lina^{2,1,4}, F. Laurent^{2,1,4}

¹Centre National de Référence des *Staphylococcus* ²Laboratoire de Bactériologie ³Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon ⁴Inserm U851, Université Lyon 1, Lyon, France

Objectif : La prévalence des infections ostéo-articulaires (IOA) à *Staphylococcus aureus* résistants à la pénicilline (SARM) est en augmentation dans de nombreux pays. Les SARM communautaires (SARM-C) sont plus cytotoxiques vis-à-vis des ostéoblastes que les SARM hospitaliers (-H), ce qui pourrait participer à la plus grande sévérité des IOA à SARM-C. La surexpression de l'alpha-toxine par les SARM-C de la lignée USA300 étant considérée comme déterminante dans la virulence de ces souches, notre objectif a été de déterminer si la surexpression d'alpha-toxine est commune à différentes lignées de SARM-C, et si cette surexpression est associée à la cytotoxicité au cours de l'infection intracellulaire d'ostéoblastes en culture.

Méthodes : Quinze souches de SARM-C et 20 souches de SARM-H appartenant à 7 lignées différentes (SARM-C USA300, ST80 et ST30; SARM-H EMRSA-2, ST228, ST239 et EMRSA-15; n=5 souches par lignée) ont été incluses, ainsi que les souches de référence 8325-4, RN6390 et leurs mutants isogéniques *hla*⁻, déficients en alpha-toxine. L'activité alpha-toxine a été mesurée par un test de lyse d'hématies de lapin. La cytotoxicité a été mesurée par un test de relargage de lactate deshydrogénase dans un modèle *ex vivo* d'infection intracellulaire d'ostéoblastes MG-63 après 24h d'incubation.

Résultats : Les niveaux moyens de cytotoxicité et d'activité alpha-toxine étaient plus élevés d'un facteur 1.7 et 1.9, respectivement, chez les SARM-C que chez les SARM-H ($P < 0.001$ pour chaque différence, test de Mann-Whitney). L'activité alpha-toxine n'était pas associée à la cytotoxicité en régression linéaire multivariée contrôlée sur le statut SARM-C ou -H de chaque souche. Par ailleurs, aucune différence significative de cytotoxicité entre les souches 8325-4 et RN6390 *hla*⁺ et *hla*⁻ n'a été observée.

Conclusion : Nos résultats démontrent que la surexpression d'alpha-toxine est commune aux principales lignées de SARM-C. Cependant, l'activité alpha-toxine n'a pas montré d'association indépendante avec la cytotoxicité, et la délétion du gène *hla* n'avait pas d'impact dans notre modèle. Collectivement, ces données indiquent que la surexpression d'alpha-toxine chez les SARM-C n'est pas impliquée dans la cytotoxicité supérieure de ces souches par rapport aux SARM-H.

85/21DP 22/11/2012 - 13:21 - HALL PIERRE CURIE

Augmentation des séjours hospitaliers avec infection à *Clostridium difficile*, France, 2002-2010 : une analyse des données nationales PMSI.

B. Coignard², R. Mas², J. Lambert², F. Barbut¹

¹Laboratoire *C. difficile* associé au CNR Bactéries Anaérobies et Botulisme, Paris ²Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

Depuis l'émergence du clone 027 en 2006, les infections à *Clostridium difficile* (ICD) font l'objet d'une surveillance via le signalement des cas groupés ou sévères à l'hôpital, un centre national de référence et une étude nationale d'incidence (ICD-Raisin, 2009). L'analyse de la base nationale PMSI (court-séjour) a permis de compléter ces données.

Ont été retenus les séjours hospitaliers ≥ 24 h avec une ICD codée (A04.7) en diagnostic principal ou associé (SH-ICD); les réhospitalisations avec ICD dans un délai de 2002 à 2010, 38486 SH-ICD étaient recensés dans 1145 établissements de santé (ES). L'âge médian (74 ans) et le sex-ratio H/F (0,75) des patients était stable; 5191 (13,5%) SH-ICD conduisaient à un décès. De 2002 à 2005, l'incidence annuelle des SH-ICD était stable (3,4 à 4,1 pour 100000 habitants) puis augmentait jusqu'à 12,4 en 2010 (+25%/an de 2005 à 2010). De 2002 à 2010, le nombre d'ES avec ≥ 1 SH-ICD augmentait de 358 à 756. L'incidence des SH-ICD augmentait de 0,5 à 1,9 chez les PMSI permet de suivre l'évolution de l'incidence des ICD. L'augmentation observée peut s'expliquer par la diffusion de clones épidémiques, mais aussi une amélioration du codage, une sensibilisation accrue des cliniciens et une meilleure sensibilité des tests diagnostiques. Si les données de 2009 sont cohérentes avec celles de l'étude ICD-Raisin, l'augmentation persiste en 2010 en l'absence d'épidémies majeures et justifie un rappel des recommandations de prévention.

86/21DP 22/11/2012 - 13:28 - HALL PIERRE CURIE

Les hémocultures en automate : faut-il proscrire la "pré-incubation" ?

M. Lecso-Bornet^{2,1}, D. Trystram², V. Jarlier²

¹Microbiologie, Faculté de Pharmacie, Université Paris Descartes ²Bactériologie-Hygiène, G.H. Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Objet de l'étude : La société Bio-Mérieux a recommandé en 2009 de ne pas pré-incuber les flacons d'hémocultures avant leur introduction dans l'automate BacT/ALERT afin de favoriser la détection "des germes produisant peu de CO₂". Cette recommandation suivait une étude expérimentale ayant montré une mauvaise détection de *Pseudomonas aeruginosa* dans des flacons pré-incubés.

Nous avons appliqué cette recommandation aux hémocultures prélevées pendant les heures de fermeture du laboratoire,

Deux ans après cette modification, l'étude rétrospective présentée avait pour but de déterminer

- si cette absence de pré-incubation ne risquait pas d'entraîner un retard dans la prise en charge des hémocultures positives à deux des principales espèces responsables de bactériémies: *Escherichia coli*, et *Staphylococcus aureus*
- et si elle permettait bien de détecter un plus grand nombre de bactériémies à *Pseudomonas aeruginosa*.

Méthode : 2 périodes de 21 mois chacune ont été étudiées, pendant lesquelles les flacons étaient (période A) ou non (période B) pré-incubés à 37°C pendant les horaires de fermeture du laboratoire. Les caractéristiques des hémocultures positives à *E. coli*, *S. aureus* et *P. aeruginosa* ont été comparées.

Résultats : L'étude a montré, dans la période B, un allongement des délais moyens de positivité et de prise en charge par le laboratoire des hémocultures positives à *E. coli* (respectivement 0,76 à 0,82j et 1,15 à 1,23j) et *S. aureus* (respectivement 1,19 à 1,33j et 1,47 à 1,65j). Cet allongement est significatif

pour le délai de prise en charge pour *E. coli* ($p=0,04$) et à la fois pour les délais de positivité et de prise en charge pour *S. aureus* (respectivement $p=0,016$ et $p=0,002$). Elle n'a, par ailleurs, pas montré de modification de la distribution du nombre de flacons positifs à *P. aeruginosa*.

Conclusion : L'absence de pré-incubation des flacons d'hémoculture aux heures de fermeture du laboratoire semble entraîner un retard de prise en charge des hémocultures positives à *E. coli* et surtout *S. aureus* sans pour autant modifier la détection des épisodes de bactériémie à *P. aeruginosa*.

87/21DP 22/11/2012 - 13:35 - HALL PIERRE CURIE

Échec du traitement par ciprofloxacine d'une pyélonéphrite à *Escherichia coli* producteur de AAC(6)-Ib-cr phénotypiquement sensible aux fluoroquinolones dans un modèle murin.

T. Guillard^{6,4,5}, E. Cambau^{4,3}, F. Chau⁴, L. Massias², C. de Champs^{6,5}, B. Fantin^{4,1}

¹AP-HP, Groupe Hospitalier Paris Nord Val de Seine - Hôpital Beaujon, Service de médecine interne, Clichy ²Laboratoire de Pharmacologie, AP-HP, Groupe Hospitalier Paris Nord Val de Seine - Hôpital Bichat ³AP-HP, Groupe Hospitalier Lariboisière - Saint-Louis, Laboratoire de Bactériologie ⁴PRES Sorbonne Paris Cité, Université Paris Diderot-Paris 7, EA3964, Paris ⁵Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU de Reims, Hôpital Robert Debré ⁶Université de Reims Champagne-Ardenne, EA4687 SFR CAP-Santé, Reims, France

Introduction : La production d'AAC(6)-Ib-cr est un mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones qui confère un faible niveau de résistance à la ciprofloxacine (Cip) et à la norfloxacine. Ce mécanisme a été mondialement décrit chez des souches *E. coli*. Le but de cette étude était de déterminer son impact clinique sur le traitement d'une pyélonéphrite par ciprofloxacine.

Matériel et Méthodes : Des souches isogéniques hébergeant un plasmide portant *aac(6)-Ib-cr* (p449) ont été obtenues par conjugaison à partir d'une souche *E. coli* CFT073 sensible aux quinolones et d'une souche CFT073GyrA^R présentant un premier niveau de résistance (D87G *gyrA*). La CMI de Cip a été déterminé pour les quatre souches. Dans le modèle murin de pyélonéphrite, les souris infectées pendant 48 heures ont été traitées pendant 48h avec un schéma optimal de Cip de 10mg/kg deux fois par jour. Les souris ont été sacrifiées avant le traitement et 18h après la dernière dose de Cip. La densité bactérienne dans les broyats de reins (\log_{10} UFC/g) obtenus pour les souris traitées avec Cip ont été comparées à celles des souris non traitées. Les mutants résistants après traitement ont été recherchés sur gélose contenant Cip à 4 x CMI.

Résultats : Les CMI de Cip étaient respectivement de 0,015, 0,06, 0,25 et 0,5 mg/l pour CFT073, CFT073/p449, CFT073GyrA^R et CFT073GyrA^R/p449. Le traitement par Cip diminuait significativement la densité bactérienne dans les reins des souris infectées par CFT073 ($1,2$ vs $4,3 \log_{10}$ CFU/g, $p=0,0001$) par rapport aux témoins infectés non traités, alors qu'aucune diminution significative n'a été observée pour CFT073/p449 ($2,7$ vs $3,1 \log_{10}$ CFU/g, $p=0,84$), CFT073GyrA^R ($4,2$ vs $4,1 \log_{10}$ CFU/g, $p=0,35$) et CFT073GyrA^R/p449 ($2,9$ vs $3,6 \log_{10}$ CFU/g, $p=0,47$). Aucun mutant résistant n'a été détecté après le traitement.

Conclusion : Malgré une faible augmentation de la CMI, AAC(6)-Ib-cr réduit significativement l'activité bactéricide de la Cip dans un modèle expérimental murin de la pyélonéphrite *E. coli*. La réduction est similaire à celle observée pour les souches ne portant qu'une mutation *gyrA*.

95/23SEP 22/11/2012 - 15:00 - APOLLINAIRE 6

Traitement des infections à *Helicobacter pylori* : recommandations.

C. Burucoa

Bactériologie, CHU de Poitiers, Groupe d'Étude Français des *Helicobacters* (GEFH), Poitiers, France

L'infection à *Helicobacter pylori* est habituellement acquise durant la petite enfance. Sa prévalence diminue dans les pays développés comme la France mais reste très élevée dans les pays en voie de développement et dans les populations issues de ces pays. La colonisation de la muqueuse gastrique entraîne systématiquement une gastrite la plupart du temps asymptomatique. L'évolution vers des pathologies gastro-duodénales sévères (ulcères gastriques et duodénaux, cancer et lymphome du MALT) menace 15% des malades infectés mais nécessite de nombreuses années d'infection et ne se déclare généralement qu'à l'âge adulte.

Indications de recherche et d'éradication de *H. pylori*

- Ulcère gastrique ou duodéal. Les ulcères sont des indications formelles à la recherche et l'éradication de *H. pylori* qui favorise la cicatrisation et prévient la récurrence des ulcères.
- Lymphome du MALT. L'éradication de *H. pylori* fait partie de la prise en charge initiale de tous les lymphomes du MALT gastriques. Elle peut suffire à obtenir une rémission durable.
- AINS et aspirine. L'éradication est recommandée avant de commencer un traitement par AINS, particulièrement en cas de traitement prolongé ou en cas d'antécédent d'ulcère.

Prévention du cancer gastrique. L'infection par *H. pylori* est le facteur de risque principal du cancer gastrique de type intestinal ou diffus; l'éradication de

la bactérie réduit le risque de cancer et prévient la progression des lésions pré-neoplasiques. L'infection par *H. pylori* doit être recherchée et traitée dans les cas suivants :

- antécédents familiaux de cancer gastrique au premier degré.
- résection localisée d'un cancer gastrique
- lésions pré-neoplasiques: atrophie avec ou sans métaplasie intestinale.
- traitement au long cours (au moins 6 mois) par antisécrotoires gastriques
- avant une chirurgie bariatrique par by-pass gastrique
- mutation des gènes de réparation de l'ADN (HNPCC).
- Il n'est pas recommandé de rechercher *H. pylori* chez un enfant qui souffre de douleurs abdominales fonctionnelles.
- L'association avec les maladies suivantes n'est pas établie: otite moyenne aiguë, maladies parodontales, allergie alimentaire, asthme, mort subite des nourrissons, retard de croissance, obésité
- Dyspepsie. Le bénéfice symptomatique de l'éradication chez les patients dyspeptiques sans lésion endoscopique est faible. Chez les patients ayant une endoscopie pour dyspepsie, la recherche et l'éradication de *H. pylori* sont justifiées même en l'absence de lésion visible pour prévention du cancer de l'estomac.
- Anémie par carence en fer et Carence en vitamine B12 sans cause trouvée, Purpura thrombopénique chronique idiopathique. Dans ces 3 cas l'éradication doit être proposée.
- Indications spécifiques à l'enfant.
- Diagnostic de l'infection

Les tests réalisés à partir de prélèvements endoscopiques

Le test rapide à l'uréase. Utilisable pour un diagnostic rapide, en salle d'endoscopie. Sa positivité est suffisante pour initier un traitement d'éradication. Sa négativité n'exclut pas une infection.

L'anatomo-pathologie. L'examen histologique détecte l'infection et évalue les lésions de la muqueuse; cinq biopsies sont recommandées.

La culture. La culture est la seule méthode permettant de déterminer la sensibilité de *H. pylori* à tous les antibiotiques. Elle est recommandée chaque fois que possible et particulièrement après échec d'un traitement d'éradication. Deux biopsies (antrale et fundus) sont nécessaires.

L'amplification génique. L'amplification génique a une excellente sensibilité et spécificité pour le diagnostic de l'infection. Elle permet la détermination des principales mutations impliquées dans la résistance à la clarithromycine (PCR en temps réel) et à la levofloxacine (test HelicoDR).

Les tests non invasifs : La sérologie. Elle ne permet pas de contrôler l'éradication. Elle est recommandée dans les situations où les autres tests peuvent être mis en défaut: ulcère hémorragique, atrophie glandulaire, lymphome du MALT, utilisation récente d'antibiotiques ou d'IPP.

Le test respiratoire à l'urée marquée. Il détecte une infection active. Le test est fortement recommandé pour le contrôle de l'éradication, sous réserve de sa réalisation au moins 4 semaines après l'arrêt des antibiotiques et au moins deux semaines après l'arrêt d'un traitement par IPP.

La détection des antigènes bactériens dans les selles. Elle est recommandée pour le diagnostic et le contrôle de l'éradication, si le test respiratoire n'est pas réalisable.

Particularités chez l'enfant : Lorsqu'une endoscopie est nécessaire, la recherche de *H. pylori* et l'étude de sa résistance aux antibiotiques sont recommandées. L'infection doit être prouvée par culture ou par l'association de l'histologie et du test à l'uréase rapide. La sérologie n'est pas recommandée. L'éradication est toujours justifiée. Elle doit être contrôlée soit par test respiratoire à l'urée marquée soit par recherche d'antigènes dans les selles 6 à 8 semaines après l'arrêt du traitement.

Traitement : La résistance aux antibiotiques est le facteur déterminant de l'échec du traitement d'éradication de *H. pylori*. Il faut adapter les recommandations de traitement de première ligne aux niveaux de résistance aux antibiotiques observés en France (clarithromycine 23%, fluoroquinolones 17%). La trithérapie de 7 jours à base de clarithromycine ne doit donc plus être prescrite en traitement probabiliste de première ligne en France.

- Le traitement probabiliste de première ligne
- La thérapie séquentielle doit être recommandée en première ligne en France.
- La quadrithérapie à base de bismuth bismuth est l'alternative, particulièrement chez les patients allergiques aux β -lactamines.
- Le traitement séquentiel

Les 5 premiers jours association amoxicilline (1 gr X2, 50 mg/Kg/j chez l'enfant) et un IPP double prise (1-2 mg/Kg/J chez l'enfant) suivie les 5 jours suivants de l'association d'IPP (1-2 mg/Kg/J chez l'enfant), de clarithromycine (500 mg X 2, 20 mg/Kg/J chez l'enfant) et de métronidazole (500 mg X 2, 20 mg/Kg/j chez l'enfant) en deux prises quotidiennes.

La quadrithérapie à base de bismuth : Cette formulation galénique réunie dans une seule gélule 140 mg de sous citrate de bismuth, 125 mg de métronidazole et 125 mg de tétracycline. Trois gélules sont administrées 4 fois par jour en association à 20 mg d'oméprazole deux fois par jour pendant 10 jours. La quadrithérapie à base de bismuth n'est pas disponible pour les enfants.

Le traitement de seconde ou troisième ligne : Chez l'enfant, dès le premier échec d'éradication, il est recommandé de pratiquer une nouvelle endoscopie et de déterminer la résistance aux antibiotiques de la souche infectante par PCR ou par culture et antibiogramme pour orienter le choix thérapeutique. Aucun traitement probabiliste ne peut être recommandé.

Chez l'adulte, après un échec d'éradication de *H. pylori* et en l'absence

d'isolement de la souche, les antibiotiques exposant aux résistances déjà employés dans les précédentes associations thérapeutiques ne doivent pas être réutilisés. Chez les patients n'ayant pas précédemment reçu de clarithromycine, le traitement séquentiel doit être proposé ; chez les patients ayant reçu de la clarithromycine, la quadrithérapie à base de bismuth est proposée.

Après un échec d'éradication la réalisation d'un antibiogramme ou la détermination par des techniques de PCR des mutations bactériennes associées aux résistances à la clarithromycine et à la lévofloxacine est une alternative permettant de prescrire une trithérapie orientée.

Chez l'adulte, c'est seulement après deux échecs d'éradication que la pratique d'une endoscopie pour isolement et antibiogramme de la souche est indispensable.

En fonction de la sensibilité de la souche, on proposera :

- Un traitement séquentiel ou une quadrithérapie à base de Bismuth
- lévofloxacine (500 mgX2), amoxicilline (1 gr X2) et IPP double prise, 10 jours
- rifabutine (150 mgX2), amoxicilline (1 gr X2) et IPP double prise, 10 jours

Références :

1. Malfertheiner P, Megraud F, O'Morai CA et al. Management of *Helicobacter pylori* infection—the Maastricht IV/Florence consensus report. *Gut* 2012; 61:646-64.

2. Site du GEFH : <http://www.helicobacter.fr>

Conseils de pratique de la SNFGE : <http://www.snfge.org/01-Bibliotheque/0K-Conseils-pratique/pdf/Conseil-de-Pratique-SNFGE--H-pylori.pdf>

97/24s 22/11/2012 - 14:20 - APOLLINAIRE 8

Epidémies d'hépatite A d'origine alimentaire en France.

E. Couturier, M.J. Letort, V. Vaillant

Département des maladies infectieuses, Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice, France

L'hépatite aiguë A est une maladie commune, ubiquitaire et survenant de manière sporadique ou épidémique. La transmission féco-orale par contamination directe, de personne à personne, à partir d'un sujet infecté avec un taux d'attaque secondaire pouvant atteindre 20 à 50% dans l'entourage du sujet infecté est la plus fréquente. La contamination indirecte par ingestion d'aliments ou d'eau contaminés est plus rare.

En France, depuis ces dernières décennies, l'incidence de l'hépatite A a considérablement diminué et la couverture vaccinale est basse. En 2009-2010, une étude nationale séroépidémiologique de prévalence du virus de l'hépatite A (VHA) a été menée dans la population française métropolitaine âgée de 12 à 49 ans. L'estimation de la prévalence anti-VHA était de 16% pour la classe d'âge 6-29 ans et 39% pour les 30-49 ans[1].

La surveillance de l'hépatite aiguë A est assurée par la déclaration obligatoire (DO) et par le centre national de référence (CNR) des virus des hépatites à transmission entérique. Les principaux objectifs de la DO sont de détecter les cas groupés afin de prendre les mesures de contrôle et d'estimer les taux d'incidence et ses tendances. Le CNR contribue à la surveillance épidémiologique par l'identification et le typage des souches.

La DO permet de recueillir en routine les principales expositions à risque de transmission du VHA : présence d'autre cas d'hépatite A dans l'entourage, séjour hors France métropolitaine, consommation de fruits de mer en métropole et travailler ou fréquenter une crèche ou un établissement pour personnes handicapées[2].

De 2006 à 2011, 7 463 cas ont été déclarés en France, soit en moyenne 1 244 cas par an (2 cas/100 000 habitants). L'incidence moyenne annuelle chez les 15 ans et moins est 3 fois plus élevée que celle des plus de 15 ans (4,3/100 000 vs 1,5/100 000). L'exposition à risque la plus fréquente est la présence d'autres cas d'hépatite A dans l'entourage représentant en moyenne 48% des cas notifiés. Il s'agit de l'entourage familial pour plus de trois quart d'entre eux. La deuxième exposition à risque la plus fréquente est un séjour hors métropole pour en moyenne 36% des cas notifiés. Il s'agit d'un séjour dans l'un des pays du Maghreb pour presque la moitié d'entre eux (47%). Enfin, la consommation de fruits de mer représente 23% en moyenne des cas déclarés dont 49% déclarent avoir consommé des huîtres[2].

Depuis la mise à DO, les épidémies d'origine alimentaire identifiées sont peu fréquentes. Une importante épidémie d'origine alimentaire est survenue en France en 2007 et était liée à la consommation d'huîtres (111 cas). Les produits incriminés provenaient d'un établissement conchylicole des Côtes d'Armor. La source de contamination n'a pas été identifiée mais l'hypothèse d'une contamination des coquillages par des débordements du réseau pluvial ou des rejets d'eaux usées à proximité de l'établissement a été avancée[3].

En 2009, une épidémie liée à la consommation de tomates séchées est survenue en France avec 59 cas identifiés dans 18 départements métropolitains. Les tomates séchées provenaient d'un même lot de tomates séchées surgelées, importées de Turquie, transformées en France puis ensuite distribuées dans des chaînes de sandwicheries et chez des traiteurs[4-5]. De même, entre 2009 et 2012, des épidémies liées à la consommation de tomates séchées ont été décrites en Australie[6], aux Pays-Bas[7] et en Angleterre[8]. Les épidémies dans ces pays y compris en France ont été causées par des souches de génotype IB identiques ou très proches.

Identifier une épidémie d'origine alimentaire et trouver l'aliment en cause peut être compliqué. En effet, il est difficile d'identifier les cas groupés d'hépatite A

d'origine alimentaire commune suspectée car ils peuvent être dispersés dans le temps et l'espace. D'autre part, il peut être difficile d'identifier l'aliment en cause car les cas ne se souviennent pas ou mal de leur consommation alimentaire dans les 2 à 6 semaines avant la maladie.

Les principaux véhicules alimentaires de transmission du VHA identifiés sont les coquillages (huîtres, palourdes)[3,9-10] et les végétaux comme les myrtilles[11], fraises[12] et framboises[13]. Aux Etats-Unis, en 2003 des oignons verts importés contaminés du Mexique et consommés frais dans des restaurants avaient été à l'origine de plus de 600 cas [14].

Dans les pays industrialisés, la source la plus fréquemment identifiée lors d'épidémie d'origine alimentaire est un manipulateur de denrées présent au point de vente (restaurant, cafétéria, boulangerie etc) ou préparant des denrées chez un traiteur. Une revue de ces épidémies d'origine alimentaire aux Etats-Unis (1968-2001) a montré qu'elles avaient en commun : la présence d'un manipulateur contaminé ayant travaillé pendant la période estimée d'excrétion fécale du virus et ayant manipulé des denrées crues ou après cuisson, la présence de cas secondaires parmi les autres manipulateurs ayant consommé les aliments préparés par le cas index, et des taux d'attaque assez bas parmi les clients exposés [15]. Les aliments incriminés étaient des sandwiches, de la salade, des fruits frais, des gâteaux avec un glaçage.

En France, ces dernières années, deux épidémies d'origine alimentaire impliquant des manipulateurs de denrées ont été investiguées : l'une avec 11 cas résidant dans 5 communes limitrophes ayant participé à des fêtes de village approvisionnées en pain, pâtisseries, quiches par un même boulanger [16] et l'autre avec dix cas, élèves d'un même collège et ayant mangé à la cantine du pâté de foie [17]. Une troisième épidémie est actuellement en cours d'investigation, 4 cas parmi le personnel d'un restaurant traiteur (cuisinier étant le cas index) et 5 clients identifiés à ce jour (données CVAGS/Cire Pays-de-Loire).

Dans un article récent sur le poids des infections d'origine alimentaire aux Etats-Unis, il est estimé que parmi les épisodes de cas groupés d'hépatite A, 7% seraient d'origine alimentaire générant 1 566 [702-3 024] épisodes par an [18]. En France, une étude similaire publiée en 2005 avait estimé à 400 le nombre annuel de cas d'hépatite A d'origine alimentaire [19].

Il existe donc un potentiel épidémique important en cas d'introduction d'un aliment contaminé, notamment dans un contexte où une part importante de la population n'est pas immunisée. Dans les pays industrialisés, l'importation de produits alimentaires de pays de haute endémicité VHA, distribués largement et avec une durée de vie longue (comme les produits congelés) peut entraîner des épidémies de grande ampleur.

La prévention de l'hépatite A repose sur l'hygiène personnelle et collective, en particulier l'hygiène des mains. Le personnel de cuisine (restaurant, collectivité, industrie agro-alimentaire etc) ou toute personne amenée à manipuler des aliments, surtout s'il n'y a pas de cuisson (sandwiches, salades etc) doivent être éduqués sur le risque féco-oral et les mesures d'hygiène alimentaire. La vaccination anti-hépatite A est recommandée pour le personnel impliqué dans la préparation alimentaire en restauration collective [20]. Il faut aussi rappeler qu'elle est recommandée dans l'entourage familial d'un patient atteint d'hépatite A.

Références

1. Lepoutre A, Antona D, Fonteneau L, et al. Enquête nationale de séroprévalence des maladies infectieuses 2009-2010, 1er résultats. 12ème Journées Nationales d'Infectiologie, Communication orale. Toulouse 2011. Médecine et Maladie Infectieuses 41, 16.
2. <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Hepatitis-A>
3. Guillois-Bécel Y, Couturier E, Le Saux JC, et al. An oyster associated hepatitis A outbreak in France in 2007. *Euro Surveill* 2009; vol 14, issue 10, 12 March 2009
4. Couturier E, Grout L, Roque-Afonso AM, et al. Epidémie d'hépatite A liée à la consommation de tomates semi-séchées, France, 2009-2010. *BEH* 2010;13-14:165-68.
5. Gallot C, Grout L, Roque-Afonso AM, et al. Hepatitis A associated with semi-dried tomatoes, France, 2010. *Emerg Infect Dis* 2011;17:566-7.
6. Donnan EJ, Fielding JE, Gregory JE et al. A multistate outbreak of hepatitis A associated with semidried tomatoes in Australia, 2009. *CID* 2012;54(6):775-81
7. Fournet N, Baas D, van Pelt W, et al. Another possible food-borne outbreak of hepatitis A in the Netherlands indicated by two closely related molecular sequences. July to October 2011. *Euro Surveill* 2012; volume 17, issue 6, 9 February 2012.
8. Carvalho C, Thomas HL, Balogun K, et al. A possible outbreak of hepatitis A associated with semi-dried tomatoes, England, July-November 2011. *Euro Surveill* 2012; volume 17, issue 6, 9 February 2012.
9. Bialek SR, George PA, Xia GL, et al. Use of molecular epidemiology to confirm a multistate outbreak of hepatitis A caused by consumption of oysters. *Clin Infect Dis* 2007; 44:838-40.
10. Sanchez G, Pinto RM, Vanaclocha H, et al. Molecular characterization of hepatitis A virus isolates from a transcontinental shellfish-borne outbreak. *J Clin Microbiol* 2002; 40:4148-55.
11. Calder L, Simmons G, Thornley C, et al. An outbreak of hepatitis A associated with consumption of raw blueberries. *Epidemiol Infect* 2003; 131:745-51.
12. Centers for Disease Control and prevention. Hepatitis A associated with consumption of frozen strawberries-Michigan, March 1997. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep* 1997; 46:288-95.
13. Hutin YJF, Pool V, Cramer EH, et al. A multistate foodborne outbreak of hepatitis A. *N Engl J Med* 1999; 340:595-602.
14. Wheeler C, Vogt T, Armstrong GL, et al. An outbreak of hepatitis A associated with green onions. *N Engl J Med* 2005;353:890-7.
15. Fiore AE. Hepatitis A transmitted by food. *CID* 2004;38:705-15.

16. Cas groupés d'hépatite A dans plusieurs communes des Landes Juillet-octobre 2004. Rapport InVS, octobre 2005. <http://www.invs.sante.fr/Dossiers-thematiques/Maladies-infectieuses/Maladies-a-declaration-obligatoire/Hepatitis-A/Publications>
17. Schwarz NG, Revillion M, Roque-Afonso AM, et al. A food-borne outbreak of hepatitis A virus (HAV) infection in a secondary school in Upper Normandy, France, in November 2006. *Euro Surveill* 2008; volume 13, issues 4-6, Apr-Jun 2008.
18. Scallan E, Hoekstra RM, Angulo FJ, et al. Foodborne illness acquired in the United States - Major pathogens. *Emerg Infect Dis* 2011;17:7-15.
19. Vaillant V, De Valk H, Baron E, et al. Foodborne infections in France. *Foodborne Pathog Dis* 2005; 2(3):221-32.
20. Le calendrier des vaccinations et les recommandations vaccinales 2012. *Bull Epidemiol Hebd* 2012;14-15:161-87.

100/26o 22/11/2012 - 14:00 - AMPÈRE 5

Valeur prédictive de l'hypermonocytose (HMN) dans le diagnostic des spondylodiscites à *Mycobacterium tuberculosis* versus *pyogenes*.

B. Davido, P. de Truchis, D. Le Du, A. Dinh, C. Perronne
Maladies infectieuses, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France

Introduction : La spondylodiscite (SPD) est une infection ostéo-articulaire de diagnostic souvent difficile reposant sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et microbiologiques.

La biologie est peu informative avec parfois une absence de syndrome inflammatoire notamment en cas d'infection à *M. tuberculosis* (BK)[1].

L'hypermonocytose (HMN) est un marqueur aspécifique de l'inflammation par stimulation des macrophages sécrétant des cytokines dont IL1, IL6, IL8 et TNF.

L'apport de l'HMN pourrait aider au diagnostic étiologique souvent retardé de plusieurs mois des SPD.

L'objectif de notre étude est d'évaluer la valeur prédictive de l'HMN dans le diagnostic des SPD à BK versus pyogènes. Le distinguo se base classiquement sur des caractéristiques radiologiques notamment la présence d'abcès para vertébral et/ou des parties molles, associée à des images de SPD étagées.

Matériels et Méthodes : Étude réalisée au CHU Raymond Poincaré de 2005 à 2012, chez des patients présentant une SPD confirmée par la série d'éléments :

- Cliniques: douleur rachidienne inflammatoire, fièvre, septicémie
- Radiologiques d'infection (radiographies standards et IRM)
- Positivité d'au moins un prélèvement bactériologique

Ont été exclus les patients sous corticothérapie dans le mois précédent l'inclusion, aux antécédents de néoplasie ou maladie hématologique qui sont sources d'HMN.

L'HMN étant définie par une valeur >1000/mm³ des monocytes sur la première NFS réalisée pendant l'hospitalisation.

Résultats : 38 patients ont été recensés dont 28 présentant une SPD à pyogènes et 10 à BK.

Dans le groupe pyogènes on recense un sexe ratio H/F=1,54, un âge moyen=64,17 ±18,56 ans contre H/F=1,5 et un âge moyen=38,9 ±19,08 ans dans le groupe BK. Les groupes sont homogènes (p=0,001).

25% de patients atteints de SPD à pyogènes présentaient une hypermonocytose avec une moyenne à 810/mm³ ±280 parmi les SPD à pyogènes contre 0% dans le bras BK avec une moyenne à 541/mm³ ±188.

Dans notre série, l'hypermonocytose a une sensibilité de 25% pour repérer les SPD à pyogènes et une excellente VPP de 100%.

Conclusion : L'existence d'une hypermonocytose devant la présomption clinique d'une SPD doit orienter le clinicien sur une étiologie à pyogènes plutôt que tuberculeuse compte tenu d'une VPP=100%. Ce travail mérite d'être conforté par une étude de plus grande ampleur.

Référence :

1. Conférence de consensus des spondylodiscites – SPILF – 2007 http://www.infectiologie.com/site/medias/_documents/consensus/2007-Spondylodiscites-Court.pdf

101/26o 22/11/2012 - 14:15 - AMPÈRE 5

Microbiological markers suggesting high inoculum size at time of surgery are risk factors for relapse in patients with *S. aureus* prosthetic joint infection.

A. Bouaziz, I. Uçkay, S. Lustig, A. Boibieux, F. Laurent, D. Lew, P. Hoffmeyer, P. Neyret, C. Chidiac, T. Ferry
Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Objective: To determine if easy-to-obtained microbiological markers suggesting high inoculum size at time of surgery are associated with a higher risk of treatment failure in patients with *S. aureus* prosthetic joint infection (PJI).

Methods: Retrospective cohort study including all patients admitted between 2000 and 2010 in the Geneva University Hospitals, Switzerland and in

Hospices Civils de Lyon, France) with the diagnosis of hip or knee PJI due to *S. aureus*. Treatment failure was defined by re-isolation of *S. aureus* in cultures from peroperative samples of a subsequent surgery, or early death directly attributed to the PJI during the follow-up. Microbiological markers that might reflect a high inoculum size at time of surgery were: (i) all positive peroperative sample cultures; or (ii) at least one positive suction drainage culture. Univariate Cox analysis and Kaplan Meier curves were performed to determine risk factors for treatment failure. Independent risk factors for treatment failure were determined by using a stepwise Cox proportional hazards model.

Results: One-hundred and twenty-nine patients (mean age: 69 ±15 years) were included (83 hip). Implant was retained in 88 patients (68%). All positive peroperative sample cultures and at least one suction drainage culture positive were detected in 77 (60%) and 45 (50%) patients, respectively. During a follow-up of 2.8 ±2.2 years, a treatment failure involving *S. aureus* occurred in 35 patients (28%) and 2 died directly from the PJI. The variables: "all positive peroperative sample cultures", "at least one suction drainage culture", and "not performing 2-stage exchange"; were significantly associated with treatment failure. In multivariate analysis, "all positive peroperative sample cultures" were the only variable independently associated with treatment failure (table 1; HR, 3.267; 95%IC, 1.293-8.256; P=0.012).

Conclusion: Easy-to-obtained microbiological markers suggesting high inoculum size at time of surgery might be taken into account in the treatment strategy in patients with *S. aureus* PJI. A more aggressive surgical treatment, such as repeated debridements or implant removal, and/or more prolonged antimicrobial therapy may be required in these cases, to reduce the inoculum size, and improve the prognosis.

102/26o 22/11/2012 - 14:30 - AMPÈRE 5

Événements indésirables liés à l'antibiothérapie au cours des spondylodiscites infectieuses compliquées à pyogènes.

J. Karsenty, T. Perpoint, F. Ader, A. Boibieux, C. Barrey, C. Chidiac, T. Ferry, Lyon BJI Study Group
Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Objectif de l'étude : Décrire les événements indésirables (EI) liés à l'antibiothérapie au cours du traitement des spondylodiscites (SDI) compliquées à pyogène et d'étudier leurs facteurs de risque.

Méthodes : Étude rétrospective incluant les patients présentant une SDI compliquée (immunodépression, complications locales à types d'abcès ou d'épidurite, présence de matériel) pris en charge dans le service de maladie infectieuse de la Croix Rousse (Hospices Civils de Lyon) entre 2007 et 2010. Recueil de tous les EI, dont les graves (EIG) selon la classification Common Terminology Criteria for Adverse Events 4.0. Analyse uni puis multivariée par modèle de Cox.

Résultats : Trente-cinq femmes et 49 hommes, ont reçus une antibiothérapie d'une durée moyenne de 33 ± 24 semaines. Tous les patients ont reçus une antibiothérapie intraveineuse initiale, d'une durée moyenne de 15 ± 13 semaines et 95% une bithérapie. Quatre échecs thérapeutiques (5%) ont été observés, dont un décès lié à un EIG de l'antibiothérapie. Quarante-trois patients (51%) ont présenté un EI conduisant à une modification de l'antibiothérapie et 20 patients (24%) ont présenté un EIG. Les facteurs de risque indépendants de survenue d'EIG étaient le sexe féminin (HR, 2.717; IC 95%, 1.104-6.689; p=0.030), une infection subaiguë évoluant depuis plus de 1 mois (HR, 3.029; IC 95%, 1.155-7.941; p=0.024) et la présence d'un abcès paravertébral (HR, 2.574; IC 95%, 1.039-6.378; p=0.041). Aucun antibiotique n'était associé à la survenue d'EIG.

Conclusion : Les formes compliquées de SDI de notre cohorte ont justifié une antibiothérapie lourde et prolongée. Le taux d'échec thérapeutique est bas (5%), au prix d'une importante toxicité. Les facteurs de risques d'EIG retrouvés sont davantage liés au terrain et la présentation clinique, qu'à un antibiotique en particulier. Au cours du traitement des SDI compliquées, il faut être particulièrement vigilant quant à la survenue d'EIG, surtout chez les femmes, en cas d'évolution subaiguë ou d'abcès paravertébral.

103/26o 22/11/2012 - 14:45 - AMPÈRE 5

Traitement prolongé par ertapénème à la dose de 1g/12h par voie sous-cutanée au cours des infections ostéoarticulaires complexes.

T. Ferry, A. Sénéchal, M.C. Gagnieu, A. Boibieux, F. Laurent, T. Perpoint, M. Tod, C. Chidiac, Lyon BJI Study Group
Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Objet de l'étude : Analyser les données de tolérance et d'efficacité concernant l'utilisation d'ertapénème à la dose de 1g/12h par voie sous-cutanée (SC) au cours des infections ostéoarticulaires complexes (IOAc). Déterminer les paramètres pharmacocinétiques ($t_{1/2}$ et aire sous la courbe [AUC]) de l'ertapénème administré par voie SC.

Méthodes : Analyse rétrospective de tous les patients ayant reçu l'ertapénème 1g/12h dans le service de maladies infectieuses et tropicales de la Croix-Rousse (Hospices Civils de Lyon) « en sauvetage » pour une IOAc. Un dosage plasmatique de la forme totale de l'ertapénème a été mis en place afin de détecter un surdosage (C_0 , C_{max} , and C_{6h}) chez ces patients.

Résultats : Tous les patients ont reçu l'ertapénème plutôt que l'imipénème du fait du manque de voie d'abord veineux et d'une contre-indication potentielle à la mise en place d'une VVC. Neufs patients présentaient une allergie à un traitement de première ligne et 8 étaient infectés par une entérobactérie multirésistante. La durée moyenne de traitement était de 90 ± 38 jours, totalisant 808 injections IV et 1389 injections SC. Un patient a présenté un EIG (encéphalopathie) aboutissant à une interruption de traitement (J14). Parmi les 16 autres patients (suivi médian 133 jours), 3 superinfections (dont 2 à *P. aeruginosa* résistant aux carbapénèmes) et une rechute avec acquisition de résistance à l'ertapénème sont survenues (taux de succès de 94%). Le C_0 était plus élevé, alors que le C_{max} plus bas chez les patients recevant l'ertapénème par voie SC (respectivement 20.2 mg/L vs. 11.6 mg/L, $p=0.007$; et 69.2mg/L vs. 98.9 mg/L, $p=0.007$). Parmi les 14 patients qui ont reçu l'ertapénème par voie SC, comparativement à ce qui est décrit dans la littérature pour la forme IV, le $t_{1/2}$ estimé était allongé de 4h à 5.9 h (IQR 5.1-7.6), pour une AUC_{0-12h} équivalente (589 mg.h/L, IQR 525-655).

Conclusion : L'utilisation prolongée de fortes doses d'ertapénème (1g/12h) par voie SC chez des patients présentant une IOAC était: (i) bien tolérée, notamment aux sites d'injection; (ii) efficace; (iii) associée à des paramètres PK devant permettre un temps maximal passé au-dessus de la CMI des germes impliqués. Toutefois, l'acquisition de la résistance aux carbapénèmes doit limiter la généralisation de son utilisation.

104/26o 22/11/2012 - 15:00 - AMPÈRE 5

Coûts et difficultés de la prise en charge de patients présentant des infections ostéo-articulaires (IOA) à bactéries hautement résistantes (BHR).

A. Dinh², C. Rouzaud¹, S. Freni¹, B. Davido^{1,2}, D. Le Du^{1,2}, C. Lawrence¹, A.C. Crémieux^{1,2}, T. Judet¹, C. Perronne^{1,2}
¹CHU R. Poincaré ²SPILF, Garches, France

Objet : Les infections à BHR sont un problème majeur de santé publique notamment en termes de coût. Il existe peu de données ni d'évaluation économique de la prise en charge d'une cohorte de patients présentant des IOA à BHR.

Méthodes : 7 patients présentant des IOA à BHR ont été regroupés sur un seul site hospitalier expert afin de concentrer les moyens humains et d'éviter la désorganisation d'autres hôpitaux pendant une durée de 4 mois. Nous rapportons l'expérience et les difficultés organisationnelles rencontrées ainsi que le coût de leur prise en charge.

Résultats obtenus : Le délai nécessaire à l'organisation du secteur comprenant l'identification d'une aile en fonction des circuits patients, la mise en place des mesures d'isolement, l'aménagement logistique et géographique ainsi que la réalisation des travaux permettant un isolement matériel du secteur a été de 8 jours.

Dans ce même intervalle, le recrutement du personnel para médical itinéraire dédié a pu être réalisé sans difficulté à l'exception du poste de kinésithérapeute. Cette situation a conduit à une mutualisation des moyens humains présents sur le site et donc un assouplissement de la réglementation d'isolement après 2,5 mois de recherche infructueuse.

Le surcoût total de la prise en charge s'élève à 585 006 €, comprenant 117 588 € de recette des Groupes Homogènes de Maladies d'hospitalisation (T2A) auxquelles il convient d'ajouter la perte de recette liée à la fermeture de 6 lits nécessaires à l'occupation de l'ensemble du secteur (146 603 €) et des frais supplémentaires de 320 815 € dont 172 857 € uniquement de personnel para médical (ces dépenses de personnel représentent 30% du surcoût de la prise en charge).

Conclusion : La mise en place matérielle et logistique est de moins de 10j pour une équipe habituée. Les principaux obstacles ont été l'absence de rééducation lié à la difficulté de recruter un kinésithérapeute dédié ainsi que l'absence de structure d'aval ce qui a inutilement prolongé la durée d'hospitalisation. Etant donné la progression dramatique de l'épidémiologie de la résistance bactérienne, de nouvelles pistes de réflexions sur les modalités et le type d'isolement ainsi que le circuit d'aval des patients sont nécessaires.

105/26o 22/11/2012 - 15:15 - AMPÈRE 5

Enquête auprès des centres de référence et centres correspondants pour les infections ostéo-articulaires complexes : pratiques de l'antibiothérapie dans la prise en charge des infections de prothèse.

V. Zeller, S. Marmor, L. Lhotellier, J.M. Ziza, N. Desplaces, P. Mamoudy
CRIOA, GH Diaconesses Croix Saint-Simon, Paris, France

Objet de l'étude : Décrire les pratiques de l'antibiothérapie (ABt) en terme de durée, de voie d'administration et d'association, au cours de la prise en charge des infections de prothèse (IP), 3 ans après la création des centres de référence et 2 ans après la publication des recommandations pour la pratique clinique des infections ostéo-articulaires sur matériel.

Méthodes : Enquête menée entre octobre 2011 et mars 2012 auprès des infectiologues des centres de références et de centres correspondants. Envoi d'un questionnaire type avec des questions d'ordre général organisationnel (nombre d'IP/an, prescripteur de l'ABt, lieu de prise en charge) et 2 cas cliniques théoriques avec questions pratiques sur la durée IV et totale, ainsi que sur le choix de l'ABt.

Résultats : Parmi 19 centres contactés, 15 ont répondu dont les réponses

figurent dans le tableau. L'ABt était prescrite par plusieurs intervenants de l'équipe dans 11 centres incluant infectiologue dans 8, microbiologiste dans 5, orthopédiste dans 4, anesthésiste dans 1 et autre médecin dans 2 centres. Le prescripteur de l'ABt était unique dans 4 centres: infectiologue dans 3 et anesthésiste dans un centre.

| Nombre de centre | Cas 1 : IP aiguë à <i>S. aureus</i> MS Excision- synovectomie | Cas 2 : IP chronique à <i>S. epi MR</i> (CMI vanco/teico 2mg/ml), Changement 2 temps |
|--|---|--|
| Durée totale de l'ABt | | |
| 6 semaines | 9 | 5 |
| 12 semaines | 6 | 7 |
| autre durée | 0 | 3 |
| Durée de la voie IV | | |
| < 2 semaines | 11 | 2 |
| 2-4 semaines | 4 | 3 |
| ≥ 6 semaines | 0 | 10 |
| Choix de l'ABt IV (QCM) | cloxa/genta : 9 autre choix : 6 | vanco/mino : 7 dapto/mino : 7 autre choix : 12 |
| Choix de l'ABt orale de relais | lévo/rifam : 10 autre choix : 5 | poursuite de l'ABt IV : 9 linézolide : 4 minocycline : 2 |
| Utilisation d'un spacer aux antibiotiques | non applicable | Oui : 7 Non : 8 |

Conclusion : Il existe une hétérogénéité importante de l'organisation et des pratiques, mais certaines tendances se dégagent. Au cours de l'IP aiguë à *S. aureus* MS, la durée totale de l'ABt est diminuée à 6 semaines pour la majorité des centres. Le choix des molécules assez homogène. En revanche au cours de l'IP chronique à *S. epidermidis* MR, la durée totale de l'ABt est prolongée (≥12 semaines) pour la majorité des centres, mais le choix de l'ABt ainsi que l'utilisation d'un spacer aux AB sont de pratiques variables.

106/27o 22/11/2012 - 14:00 - AMPÈRE 8

Comparaison des techniques FilmArray® et Smart22® pour la détection des pathogènes respiratoires.

N. Schnepf^{1,2}, J. Cherot¹, S. Drusch¹, C. Scieux^{1,2}, F. Simon^{1,2}, J. Le Goff^{1,2}
¹Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Saint-Louis ²Université Paris Diderot, Paris, France

Contexte et objectifs : La technique FilmArray® (Idaho Technology Inc.) est une technique unitaire permettant l'extraction des acides nucléiques et l'amplification simultanée de 20 pathogènes respiratoires (17 virus et 3 bactéries) en 75 minutes. L'automate FilmArray® inclut un seul compartiment; seul un prélèvement peut ainsi être analysé à la fois. Nous avons comparé cette technique au test Smart22® (Pathfinder) utilisé en pratique quotidienne.

Matériel et Méthodes : Cette étude prospective a inclus 206 prélèvements respiratoires (175 aspirations nasopharyngées et 31 liquides de lavage bronchoalvéolaire) réceptionnés au laboratoire du 20 janvier au 22 février 2012. Les tests FilmArray® ont été effectués du lundi au vendredi de 9 à 18h, avec un automate (période 1) ou 2 automates (période 2) à disposition. Les tests Smart22® ont été effectués du lundi au vendredi en une série quotidienne. La comparaison des techniques FilmArray® et Smart22® a concerné les pathogènes respiratoires détectés et le délai de rendu du résultat aux cliniciens.

Résultats : Les prélèvements pour lesquels l'amplification du contrôle interne était en échec (un échantillon avec FilmArray® et 23 échantillons avec Smart22®) ont été analysés une deuxième fois. Finalement, les résultats étaient interprétables pour 203 prélèvements en FilmArray® et 202 en Smart22®. Au total, 56,2% des prélèvements (114/203) étaient positifs avec le test FilmArray® et 50,5% (102/202) avec le test Smart22®, avec une bonne corrélation entre les deux techniques ($k=0,88$). Le FilmArray® détectait plus d'infections mixtes (19%) que le Smart22® (15%). Les discordances concernaient 11,6% des prélèvements (12 positifs dans les deux techniques et 12 positifs uniquement en FilmArray®). En comparaison au Smart22®, FilmArray® détectait plus de rhinovirus (29 vs 19), de métagpneumovirus (9 vs 4), de coronavirus 229E ou OC43 (7 vs 2), de VRS (12 vs 10) et de virus parainfluenza (6 vs 4). En revanche, la technique FilmArray® ne détectait pas de l'adénovirus présent dans deux prélèvements en coinfection avec du rhinovirus. Les médianes du délai de rendu des résultats aux cliniciens étaient respectivement de 50h en FilmArray® pendant la période 1 (un automate) et de 19h pendant la période 2 (deux automates). En Smart22®, cette médiane était de 50h pendant toute la durée de l'étude.

Conclusion : La technique FilmArray permet une détection rapide et fiable des pathogènes respiratoires, à l'exception de celle des adénovirus. Elle peut être adaptée à l'urgence ou aux laboratoires ayant peu de prélèvements respiratoires à analyser au quotidien.

107/27o 22/11/2012 - 14:15 - AMPÈRE 8

Evaluation of the xTAG-RVP fast panel for detection of respiratory viruses over a 6-month period in a pediatric hospital.

A. Schnuriger, Y. Michel, M. Belhiba, I. Igualada, V. Marinho, I. Ansart, K. Saloum, A. Garbarg-Chenon
Laboratoire de Virologie, Hôpital Trousseau, AP-HP, Paris, France

Objectives: Pediatric respiratory infections require a fast and accurate diagnosis. The xTAG Respiratory Viral Panel (RVP) Fast (Luminex® Abbott®)

was evaluated for practicability and performance, as compared to "in-house" molecular techniques. Results were analyzed with regard to clinical data.

Methods: 580 respiratory samples, selected between January and June 2011, were tested in parallel by a) two "in-house" triplex real-time RT-PCR assays, one detecting influenza A (FLU-A), influenza B (FLU-B) and respiratory syncytial virus (RSV), the second detecting parainfluenzae viruses (PIV) 1 and 3 and the human metapneumovirus (hMPV), and b) the xTAG-RVP Fast multiplex RT-PCR test, detecting FLU-A/B, RSV, PIV-1/2/3/4, hMPV, adenoviruses, entero-rhinoviruses, coronaviruses NL63/HKU1/229E/OC43 and human bocavirus.

Results: The practicability of the RVP Fast assay was satisfactory, with a total duration of 4 hours after RNA extraction, allowing results within one working day. For the 6 viruses detected by both assays (FLU-A/B, RSV, PIV-1/3 and hMPV), results were concordant for 486/580 samples (84%), including 114 samples positive for at least one virus. Discrepancies were related in 97% of cases to a lower sensitivity of the RVP Fast assay in detecting 'low-positive' (Ct>35) in-house results, particularly for PIV-3. The RVP Fast assay allowed identification of 288 additional viruses, including 218 entero/rhinoviruses, 30 bocaviruses, 22 coronaviruses, 14 adenoviruses and 4 PIV-4. The coinfection rate was 3.6% by the in-house assay, and 9.7% by the RVP Fast assay. For 80 infants with clinical data, preliminary results showed that the severity score was related to the virus detection rate using RVP Fast ($p=.036$), but not the in-house assay. According to the RVP Fast, mono- or co-infected status was not related to severity, but entero/rhinovirus coinfection with any other virus was related to severe disease ($p=.018$).

Conclusion: The xTAG-RVP Fast assay allowed identification of numerous additional respiratory viruses and viral coinfections in the samples tested. The clinical impact of these coinfections is currently under investigation. This preliminary study suggests that coinfection by entero/rhinoviruses might increase the severity of respiratory infections.

108/27o 22/11/2012 - 14:30 - AMPÈRE 8

PLEXID Ibis-Abbott technology as a single tool for the detection and typing of microbiological infections in immuno-compromised patients.

J. Le Goff^{1,4}, S. Mercier-Delarue¹, L. Feghoul^{1,4}, J.L. Pons^{1,4}, J. Menotti^{4,2}, A. Bergeron^{3,4}, F. Simon^{1,4}

¹Microbiologie ²Parasitologie ³Pneumologie, Hôpital Saint-Louis ⁴Université Paris Diderot, Paris, France

Introduction: The PLEXID technology (Abbott) combining multiplex PCR and mass spectrometry enables the detection and identification of a large spectrum of pathogens in a single run.

Objectives: To compare the accuracy and the rate of infections detected by the PLEXID and routine analysis.

Methods: We evaluated 3 different PLEXID assays; the Viral IC assay (73 RNA and DNA viruses' species), the BAC Detection assay (3,400 species of bacteria, 40 species of Candida) and the Broad Fungal assay (350 families of fungi).

Viral IC assay. We analyzed 273 frozen samples from patients infected or not with adenovirus (Adv). We then parallelized the routine and PLEXID in 79 prospective samples from hematopoietic stem cell and kidney transplant patients.

BAC detection assay. 48 peripheral blood and catheters were tested and compared to BACT Alert (BioMérieux) blood culture.

Broad Fungal assay. Broncho-Alveolar Lavages (BAL) and nasopharyngeal aspirates from 25 patients were tested and compared with fungal culture.

Results: Using Viral IC assay, Adv was detected in 96.8% and in 78.0% of Adv positive frozen plasma and stool. 100% of species were correctly identified. Viral loads (Adenovirus R-gene™) were correlated with PLEXID levels up to 6 log₁₀ copies/ml ($r^2=0.67$, $p<10^{-4}$). PLEXID detected in 66% of Adv positive plasma at least one another virus. In the 79 prospective plasma, results were correlated with those found in routine. CMV and EBV (plasma on PLEXID vs whole blood on routine) were positive when the viral load was above 3.5 and 4.5 log respectively. PLEXID identified 3 JC/BK, 2 HSV-1 and 1 parvo-B19 infections in 6/79 patients from whom routine tests were not prescribed for these viruses.

BAC detection assay identified like did the blood culture a *S. heamolyticus* in a catheter and a *P. entomophila/putida/aeruginosa* mixture in a sepsis, and a *C. albicans* DNA in a patient under antifungal therapy, the culture remaining negative. The *C. albicans* infection in liver, spleen and lung was then confirmed according to imaging results and a positive culture in a BAL the following days. Other analyses onto reference bacterial strains confirmed the perfect accuracy of PLEXID in bacterial identification. Finally, BAC assay identified from a frozen pulmonary biopsy an *Actinomyces* unrecognized by classical culture.

Broad Fungal assay identified correctly all the samples. A *H. capsulatum* infection was detected 19 days before the culture isolation. Candida species identification was also perfectly in agreement with routine procedures.

Conclusions: PLEX-ID showed a high sensitivity and accuracy in the identification of viruses, bacteria and fungus and enabled an early detection of pathogens not amenable or slowly to recovery in culture. The use of PLEX-ID as a unique fast screening tool for any viral infection in transplant patients needs further prospective studies but opens a new deal in monitoring of these patients.

109/27o 22/11/2012 - 14:45 - AMPÈRE 8

Comparison of bioNexia® Influenza A+B to Quickvue® Influenza A+B test for the detection of Influenza in clinical samples.

C. Picard¹, V. Escuret¹, J.S. Casalegno², B. Lina^{1,2}, M. Valette¹

¹National Influenza Centre - HCL ²Virology laboratory - HCL, Bron, France

Abstract-Objective: Influenza is an infectious viral disease, responsible for epidemics and pandemics. Rapid diagnostic tests (RDT) for influenza are easy-to-use tools for doctors. The aim of this study is to compare the performance of a new rapid test bioNexia® Influenza A+B (bioMérieux SA) to QuickVue® Influenza A+B test (Quidel corp) versus cell culture and PCR.

Material and methods: In France, surveillance of influenza in the general population is organized through the GROG* network. The clinicians collected nasopharyngeal swabs during the winter 2011-2012 influenza A H3N2 outbreak and sent them to the laboratory in a transport medium. All samples were inoculated on MDCK cells for virus isolation. The specimens were tested by PCR for influenza A-B and Rhinovirus. According to patient age, additional tests were performed for Human metapneumovirus (hMPV) and Respiratory Syncytial Virus (RSV) by PCR, and for adenovirus and RSV by RDT. Influenza virus was therefore tested by cell culture, PCR, and both RDTs.

Results: In this study, 155 clinical samples were analysed. Compared to viral culture and PCR, the sensitivity of bioNexia® for influenza A was higher than QuickVue® (respectively 57.7% and 50% against 53.8% and 46.7%) contrary to specificity (respectively 96.1% and 96.8% vs 98.7% and 100%) (statistically non-significant difference $p<0.05$). Although a limited number of samples were available for influenza B, similar results were found between both tests. False positive results for Influenza A were observed for bioNexia® in 2 patients associated with RSV and hMPV infections. When the samples were tested again, these results were not confirmed.

Conclusion: The cassette device made bioNexia® more convenient to use than QuickVue®. In this study conducted on clinical samples, bioNexia® RDT showed similar or slightly higher sensitivity for influenza A H3N2 compared to QuickVue®. The specificity of bioNexia® was found to be highly satisfactory for an easy-to-use rapid test. Further studies have to be conducted to extend the number of samples to other influenza virus subtypes.

*GROG = Groupes Régionaux d'Observation de la Grippe (Influenza Regional Surveillance Groups)

110/27o 22/11/2012 - 15:00 - AMPÈRE 8

Prevalence and load levels of cardiotropic virus genomes in explanted heart tissues of adults with idiopathic dilated cardiomyopathy using a new analysis method.

Y. Nguyen^{5,3}, F. Renois^{5,3}, N. Lévêque^{5,3}, M. Picard-Maureau¹, P. Bruneval², P. Fornès^{4,3}, L. Andréoletti^{5,3}

¹Abbott GmbH and Co. KG, Wiesbaden, Allemagne ²Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital Européen Georges Pompidou, Université Paris VI, Paris ³EA-4684 Cardiovir, Faculté de médecine ⁴Laboratoire d'anatomopathologie, CHU Robert Debré ⁵Laboratoire de virologie, CHU Robert Debré, Reims, France

Objective: To identify and to assess the viral load levels of CV in idiopathic dilated cardiomyopathy (IDCM) patients.

Methods: Cardiotropic viruses were semi-quantified using a technology based on PCR assays coupled to mass spectrometry analysis (PCR/ESI-TOF MS) and in comparison by classic real-time PCR assays in 68 explanted heart samples obtained from 34 IDCM adult patients, and in 28 cardiac samples collected from 14 healthy heart controls.

Results: Thirty-nine (57%) of the 68 heart samples were positive for single (87%) or multiple (13%) viral genomes detection using the new and classical molecular assays, corresponding to twenty-five (73%) of the 34 IDCM patients: Human Herpes Virus 6+ Enterovirus (EV)=1 (4%); EV=8 (32%); Human Parvovirus B19 (PVB19)=9 (36%); EV+PVB19=7 (28%). PCR/ESI-TOF MS results correlated well with EV and PVB19 detection by classical PCR assays (κ tests= 0.75 [0.51–0.99; 95%] and 0.63 [0.40–0.86; 95%], respectively). Moderate levels of EV genomic RNA (median value =511 [178–3200] copies/ μ g of total extracted nucleic acids) and of PVB19 DNA (median value =490 [34–2000] copies/ μ g of total extracted nucleic acids) were measured using PCR/ESI-TOF MS and showed no correlation with the time course of disease ($P>0.2$). Only two of the 14 control subjects were positive for viral genome detection (PVB19).

Conclusion: We identified single or mixed EV and PVB19 cardiac infections as leading potential causes of IDCM. The low viral load levels were compatible with chronic persistent cardiac infections.

111/27o 22/11/2012 - 15:15 - AMPÈRE 8

Faisabilité et fiabilité de la mesure de la charge virale VIH1 à partir d'échantillons de sang total déposés sur du papier Dried Blood Spots (DBS).H. Hochard¹, I. Mukagatare⁵, B. Christian², E. Paris¹, R. Seshagiri Rao³, D. Edukondala Rao⁴, N. Sambamurthy^{3,4}, C. Delamare¹¹Laboratoire de Bactériologie-Virologie ²Service de médecine A, Metz, France ³Kandukur ⁴Dispensaire, Kavali, Inde ⁵Laboratoire, Butare, Rwanda**Objet :** Évaluer la faisabilité et la fiabilité de la mesure de la charge virale VIH1 (CV) à partir d'échantillons de sang total déposés sur du papier « Dried Blood Spots » (DBS) au Rwanda et en Inde.**Méthodes :**

1. Validation chez 185 patients prélevés au Rwanda par comparaison des CV plasmatiques (plasmas congelés) et DBS (5 dépôts de 50 µl de sang total conservés à température ambiante sans climatisation au Rwanda pendant 44 à 74 jours). Les échantillons ont été envoyés pour tests au laboratoire de virologie du CHR Metz-Thionville. Les CV DBS ont été réalisées à partir de 2 spots par la technique m2000sp® (Abbott) selon les recommandations du fabricant.

2. Application des CV DBS chez 149 patients du sud de l'Inde dont 79 traités. Les DBS ont été conservés à température ambiante sans climatisation pendant 3 jours et testés dans un délai moyen de 21 jours.

Résultats : L'étude au Rwanda a montré une sensibilité et une spécificité par rapport à la CV plasmatique de 89 et 99% respectivement avec une corrélation de coefficient $r^2 = 0,90$. La différence moyenne entre la CV plasmatique et la CV DBS était de $0,05 \pm 0,19 \log_{10}$. Le seuil de sensibilité de la méthode DBS a été trouvé entre 1000 et 5000 cp/ml.

L'étude en Inde a montré la présence d'un inhibiteur de PCR dans 14 cas (9%) mais la réalisation d'un nouveau test a permis la validation dans tous les cas. Chez les 59 patients en succès immunologique d'après les critères de l'OMS (médiane CD4: 370/mm³, 86-1830), 4 patients (6%) présentaient une CV détectable (médiane 4.7 log/ml). Chez les 20 patients en échec immunologique (médiane CD4: 290/mm³, 28-905), 7 (35 %) étaient en échec virologique (médiane CV 4.85 log/ml).

Conclusion : La facilité du traitement pré-analytique de la technique DBS en grande partie automatisée et la stabilité de l'ARN sur le papier à température ambiante élevée suggèrent que cette méthode rend la CV accessible aux patients dans les régions reculées des pays en développement si les conditions économiques le permettent.

Mots-clés : VIH; charge virale; Dried Blood Spots.

112/28o 22/11/2012 - 14:00 - AMPÈRE 9

Population pharmacokinetics of plasma and urine colistin methanesulfonate (CMS) and colistin in critically ill patients.N. Grégoire⁴, E. Comets²⁻³, B. Megarbane¹, P. Gobin⁴, D. Balayn⁴, O. Mimoz⁴, W. Couet⁴¹Hôpital Lariboisière ²INSERM UMR738, Université Paris Diderot ³Université Paris Diderot, Sorbonne, Paris ⁴INSERM U1070, Université de Poitiers et CHU de Poitiers, Poitiers, France

Objectives: Colistin, frequently the last line defense therapy against Gram(-) MDR infection, is administered as an inactive prodrug (CMS). In healthy volunteers it was shown that CMS is predominantly eliminated unchanged in urine, with renal clearance related to creatinin clearance, while colistin renal clearance is very low¹. The aim of this study was to assess colistin pharmacokinetics (PK) in critically ill patients from plasma but also urine data to better characterize the effect of renal function.

Methods: Patients received multiple doses ranging from 0.5 to 9 MUI of CMS. Blood samples were withdrawn after the first dose and at steady-state while urine samples were collected over one to four dosing intervals. CMS and colistin concentrations in urine and plasma were determined using a validated LC-MS/MS method. Population PK analysis was performed with Monolix software.

Results: Ninety (90) critically ill patients, 54 males (36 females) median (range) age 64 (18-91) yr, weight 77 (40-175) kg, creatinin clearance 75 (14-368) mL/min were included in the analysis. Plasma samples (n=770) were collected for every patient while urine samples (n=44) were collected for 26 of them. A PK model with one compartment for CMS and one for colistin, distinguishing between renal and non-renal clearances for CMS and assuming negligible renal clearance of colistin, adequately fitted the data. CMS volume of distribution was 19.2 L, its renal clearance and non renal clearances were 75.5 and 49.7 mL/min respectively. CMS renal clearance was related to creatinin clearance and CMS volume of distribution was related to body weight. Volume of distribution for colistin was 10.7 L and its total clearance was 43.0 mL/min.

Conclusions: Urine sampling allowed better estimation of CMS renal clearance in critically ill patients and therefore better evaluation of the impact of renal function on colistin PK.

Bibliography:

1. Couet, W., Gregoire, N., Gobin, P. et al. (2011). Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 89, 875-879.

113/28o 22/11/2012 - 14:15 - AMPÈRE 9

Plasma pharmacokinetics and epithelial lining fluid (ELF) concentrations of colistin after nebulisation or intravenous administration of colistin methanesulfonate (CMS) in critical care patients.M. Boisson, S. Marchand, N. Grégoire, O. Mimoz, W. Couet
Inserm U1070, University of Poitiers and University Hospital of Poitiers, Poitiers, France

Background: Colistin is frequently used by nebulisation (Neb) as CMS to treat pulmonary Gram(-) infections in intensive care patients. However to date colistin pharmacokinetics (PK) in patients has only been described after intravenous (IV) administration (1,2).

Methods: After ethics committee approval and informed consent, 6 patients under mechanical ventilation received 2 MIU of CMS (Colimycine[®], Sanofi Aventis) by Neb (Aeroneb Pro[®], Aerogen) for 30 min, then 8h later the IV treatment (2 MIU/8h) was started. Blood samples were collected after CMS Neb and 1st IV dosing. Mini bronchoalveolar lavages (BAL, KimVent[®], Kimberly-Clark) were performed at 1h and 3h after CMS Neb and IV dosing at steady-state. Colistin and CMS concentrations were assayed by LC-MS/MS (3). ELF concentrations were corrected for dilution after measuring urea.

Results: CMS absolute bioavailability after Neb was quite variable with a median at 11% (3-46%). CMS t_{1/2} was almost twice longer after Neb than after IV dosing (2.6±1.3h vs 1.6±0.5h) suggesting a flip-flop. Colistin plasma peak concentration after CMS Neb was 18±8% of that observed after IV dosing; Colistin concentrations were virtually similar in ELF and plasma following IV dosing but much higher in ELF following CMS Neb (Table 1).

Table 1 – Median colistin concentrations (mg/mL) in plasma and ELF 1h and 3h after CMS IV infusion or Nebulisation

| | | H1 | | H3 | |
|--------------|--------|---------------------|---|---------------------|---|
| | | [Colistin] | [Colistin] _{ELF} / [Colistin] _{Plasma} | [Colistin] | [Colistin] _{ELF} / [Colistin] _{Plasma} |
| IV | ELF | 3.43 [2.25-28.9] | 1.35 [0.51-8.66] | 2.40 [1.82-8.96] | 1.01 [0.59-3.58] |
| | Plasma | 3.03 [1.64-4.38] | | 2.40 [1.96-4.70] | |
| Nebulisation | ELF | 104 [60-267] | 1869 [437-3234] | 391 [9.53-1137] | 854 [65.7-5667] |
| | Plasma | 0.12 [0.40-0.19] | | 0.30 [0.15-0.57] | |

Conclusion: CMS Neb with the Aeroneb Pro[®] system leads to much higher colistin ELF concentrations than IV administration with limited systemic exposure. As far as colistin ELF concentrations may be predictive of clinical efficacy, these data support the use of CMS Neb for the treatment of pulmonary infections due to bacteria sensitive to colistin in critical care patients.

References:

1. Plachouras D. et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2009(53):3430-6
2. Garonzik S.M. et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2011(55):3284-94
3. Gobin P. et al., *Antimicrob Agents Chemother.* 2010(54):1941-8

114/28o 22/11/2012 - 14:30 - AMPÈRE 9

Evaluation of colistin dose in chronic intermittent dialysis patients: a population pharmacokinetics approach.A. Marso², G. Lebrun¹, A. Boulamery², D. Jaubert¹, P. Brunet¹, B. Bruguerolle², N. Simon²¹Centre de Néphrologie et Transplantation Rénale, Hôpital Conception, APHM²Service de Pharmacologie Médicale et Clinique, Hôpital Timone, APHM, Marseille, France

Introduction: Colistin, an old antibiotic, has re-emerged to treat infections caused by multidrug-resistant gram-negative bacteria. It is administered intravenously in the form of colistin methanesulfonate (CMS), hydrolyzed *in vivo* into the active drug. However, pharmacokinetic data are limited, especially in particular populations, like in dialysis patients. Through target concentration (2000 ng/ml) are rarely achieved in these patients.

The aim of this preliminary study was to characterize the pharmacokinetics of colistin in chronic intermittent dialysis patients and to simulate different dose regimens in order to estimate the most appropriate.

Methods: Five chronic intermittent dialysis patients were included (age: 39-65 years; weight: 55-84 kg). CMS, dose ranging from 1 to 3 million units, was administered, every 48h, at the end of the dialysis period. Colistin plasma concentrations were determined by a LC/MS/MS method. Population pharmacokinetic analysis was performed using NONMEM version 7.2 software. The population parameters were secondly used to simulate different dosing interval and doses of colistin according to the appropriate target concentration.

Results: Data were modeled with a one-compartment model. This model estimated two different mean clearances: off dialysis (0.615L/h) and on dialysis period (0.994L/h); and a mean volume of distribution (26L). Simulations confirmed that dosing interval of 48h did not allow to reach target concentrations, except with high doses and a risk of adverse events.

Discussion and conclusion: Simulations showed that the best scheme allowing to reach target concentrations and avoiding high concentrations-dependent adverse events, was a 24h dosing interval. However, a daily administration is difficult to achieve for these patients who already came three times a week at the hospital for a dialysis session.

To find an efficient compromise solution is a real challenge!

115/280 22/11/2012 - 14:45 - AMPÈRE 9

La cefoxitine est-elle efficace en cas de pyélonéphrite aiguë (PNA) à *Escherichia coli* sécréteur de bêta-lactamase à spectre étendu BLSE (EcBLSE) ?

H. Guet-Reville², A. Emirian¹, B. Nebbad¹, O. Join-Lambert², V. Jullien³, J.R. Zahar²

¹Service de Bactériologie, Virologie, Hygiène, Hôpital Henri Mondor, AP-HP, Créteil ²Service de Microbiologie-Hygiène hospitalière, Hôpital Necker-Enfants-Malades, AP-HP ³Service de Pharmacologie clinique, Hôpital Saint-Vincent-de-Paul, AP-HP, Paris, France

Objet de l'étude : Malgré des données succinctes quant à l'efficacité de la cefoxitine, dans les PNA à EcBLSE, les sociétés savantes proposent son utilisation dans un souci d'épargne des carbapénèmes. Notre objectif était d'évaluer la possibilité d'utiliser cette molécule au vu des CMI et à l'aide d'un modèle de pharmacocinétique / Pharmacodynamie (PK/PD) récemment mis au point¹.

Matériels et méthodes : La sensibilité à la cefoxitine de 144 souches d'EcBLSE, isolées d'urines de PNA entre 2008 et 2012 a été déterminée par méthode de diffusion en gélose selon les recommandations du CASFM et les CMI mesurées par la méthode des E-test. La distribution des CMI de la cefoxitine a été utilisée pour déterminer la probabilité d'atteindre une concentration plasmatique supérieure à la CMI pendant 50% du temps de l'intervalle d'administration et ceci pour une posologie de 2g x 3/j en perfusion de 1h. Pour ce faire, une simulation sur 10000 patients avec une clairance de la créatinine de 120 ml/min a été réalisée.

Résultats : 88% (126/144) des souches étaient sensibles à la cefoxitine par diffusion en gélose (diamètre d'inhibition ≥ 22 mm). La CMI50 % était de 4mg/l (extrema: 1,5; 32). 93 % des souches étaient sensibles d'après la CMI (sensibilité critiques ≤ 8 mg/L). La valeur prédictive négative du diamètre d'inhibition mesuré était de 0,83.

En considérant l'ensemble des souches d'EcBLSE sensibles par la méthode de diffusion, la probabilité de succès pharmacodynamique était de 69%. Seule une CMI < à 2mg/l (14% des souches) permettait d'obtenir une probabilité de succès d'au moins 80%. Pour ces souches, l'administration de la cefoxitine sur une durée de 4 heures 3 fois par jour était, selon notre modèle, la seule modalité permettant d'atteindre un taux de succès de 100%.

Discussion : Il paraît nécessaire d'adapter les modalités d'administration de la cefoxitine en fonction des CMI dans les PNA à EcBLSE. Des études clinico-microbiologique prospective doivent impérativement être menée avant de généraliser son usage dans le traitement des infections à EcBLSE.

Références :

1. Isla A. *et al.* Population pharmacokinetics of prophylactic cefoxitin in patients undergoing colorectal surgery. Eur J Clin Pharmacol. 2012 May; 68(5): 735-45.

116/280 22/11/2012 - 15:00 - AMPÈRE 9

Adaptation de posologie de la vancomycine dans une population pédiatrique atteinte de tumeurs solides : analyse pharmacocinétique par approche de population.

R. Guilhaumou², A. Marsot², P. Buffet Delmas², A. Rome¹, A. Boulamery², N. Andre¹, N. Simon²

¹Service d'Oncologie Pédiatrique ²Service de Pharmacologie Clinique, Hôpital de la Timone, Marseille, France

Objet de l'étude : La vancomycine est, en association, l'antibiotique de choix en prévention des infections staphylococciques chez les patients porteurs d'un cathéter veineux et atteints de pathologies tumorales. De précédentes études réalisées dans diverses populations atteintes de tumeurs ont montré que les concentrations efficaces de vancomycine étaient rarement atteintes aux posologies usuelles. Notre objectif a donc été de déterminer les posologies optimales à administrer chez les enfants atteints de tumeurs solides et traités par vancomycine en perfusion continue pour une neutropénie solide.

Méthodes : Nous avons réalisé une étude rétrospective de 2009 à 2011 chez des patients traités pour une tumeur solide et présentant une neutropénie fébrile. La vancomycine était administrée en association (C3G/amikacine) à la posologie initiale de 30 mg/kg/j (perfusion continue). La posologie était ensuite adaptée selon un suivi thérapeutique classique (cible de 20-25 µg/mL). Des hémocultures étaient systématiquement prélevées avant la mise sous traitement antibiotique. Une analyse pharmacocinétique de population (NONMEM) et des simulations de doses de vancomycine en fonction de la concentration cible attendue ont été effectuées.

Résultats : Trente-cinq patients, âgés de 0,3 à 17,9 ans, ont été inclus (21 garçons et 14 filles). Les hémocultures sont revenues positives dans 43% des cas et 79% des bactéries mises en causes étaient des staphylocoques. La

pharmacocinétique de la vancomycine a été décrite selon un modèle à un compartiment. Une influence du poids sur la clairance totale a été observée (Cl=4,63x (WT/70)^{0.75}L/h) mais pas sur le volume de distribution (V(L)=34,7 L). A partir des simulations réalisées, nous proposons une augmentation de la posologie en mg/kg inversement corrélée au poids du patient ; allant de 70 mg/kg pour un poids de 5kg à 35mg/kg pour un poids ≥60 kg.

Conclusion : Nos résultats ont permis de décrire de nouveaux schémas posologiques de la vancomycine dans cette population. Un abaque, tenant compte de la cible et du poids de l'enfant, a été créé pour permettre aux cliniciens d'adapter a priori la dose de vancomycine afin d'obtenir précocement des concentrations efficaces et d'éviter la sélection de souches résistantes.

117/280 22/11/2012 - 15:15 - AMPÈRE 9

Comparison of six generic vancomycin products in the treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* experimental endocarditis in rabbits.

P. Tattevin⁶, A. Saleh-Mghir³, B. Davido³, I. Ghou², L. Massias⁵, C. Garcia De La Maria¹, J.M. Miró¹, C. Perronne³, F. Laurent⁴, A.C. Crémieux³
¹IDIBAPS, Barcelone, Espagne ²Hôpital Ambroise Paré, Boulogne ³Hôpital Raymond Poincaré, Garches ⁴Hôpitaux Universitaires, Lyon ⁵Hôpital Bichat-Claude Bernard, Paris ⁶CHU Pontchaillou, Rennes, France

Background: Concerns have recently emerged about the potency and the quality of generic vancomycin (VAN) products approved for use in humans, based on experiments in a neutropenic mouse thigh infection model. However, other animal models may be more appropriate to decipher VAN generics bactericidal activity *in vivo*, and to predict their efficacy in humans.

Methods: We compared the bactericidal activity of six generic VAN products currently used in France (Mylan, Sandoz), Spain (Hospira), Switzerland (Teva), and United States (Akorn-Strides, and APP), in a rabbit model of aortic valve endocarditis induced by 8x10⁷ CFU of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) COL strain (VAN MIC, 1.5 µg/ml). Ten rabbits in each group were treated with i.v. VAN, 60 mg/kg b.i.d., during 4 days.

Results: All generic VAN products were superior to controls (no treatment) in terms of residual organisms in vegetations (P<0.02 for each comparison), and in spleen (P<0.005 for each comparison). Pairwise comparisons of generic VAN products found no significant differences. Mean peak serum VAN levels, measured 45 mn after the last injection, ranged from 35.5 (APP) to 45.9 µg/ml (Teva). Mean trough serum VAN levels, measured 12 h after the last injection, ranged from 2.3 (Hospira) to 9.2 µg/ml (APP). There were no significant differences in the time-kill curve studies performed with the six generic VAN products.

Conclusion: A stringent MRSA endocarditis model found no significant differences in the bactericidal activity of six generic VAN products currently used in Europe and America. Although recently suggested by some experts, the refinement of marketing authorization process for injectable anti-infective generic drugs would appear premature at this stage.

| | Median organism titer - log ₁₀ CFU/g [interquartile range] (% sterile) | | | | | | |
|-------------|---|----------------------|---------------------|----------------------|---------------------|---------------------|----------------------|
| | T0 (controls) | T1 (Mylan) | T2 (Sandoz) | T3 (TEVA) | T4 (APP) | T5 (Akorn) | T6 (Hospira) |
| Vegetations | 9.4 [8.6-9.8] (0%) | 3.2 [2.4-5] (50%) | 2.6 [2.2-4.4] (50%) | 5 [2.8-6.6] (30%) | 6.6 [3.4-7.3] (20%) | 2.7 [2.4-5] (40%) | 2.5 [2.4-3.2] (70%) |
| Spleen | 5.4 [4.5-6.5] (0%) | 1.9 [1.7-2.3] (100%) | 2 [1.5-2.2] (100%) | 1.8 [1.6-1.8] (100%) | 1.5 [1.4-1.6] (90%) | 1.6 [1.5-1.7] (90%) | 1.8 [1.6-1.9] (100%) |

118/29s 22/11/2012 - 14:00 - BRILLAT SAVARIN 1

Automatisation complète du laboratoire de bactériologie : présent ou futur ?

G. Lina

Bactériologie, Centre National de Référence des Staphylocoques, Lyon, France

Les laboratoires de bactériologie souffrent des mêmes problèmes que toutes les autres disciplines des laboratoires de biologie médicale: une augmentation constante de la charge de travail malgré une diminution de personnel liée à une coupe drastique de budget. Depuis le milieu du siècle dernier, certains pensent qu'il est possible de gagner du temps technicien par l'utilisation d'automates. Pour la bactériologie, cela a débuté par des systèmes de détection quantification des bactéries par différentes méthodes. Certaines de ces méthodes sont actuellement utilisées dans les automates d'hémocultures et dans les automates d'identification des bactéries et de leur sensibilité aux antibiotiques. Très récemment, plusieurs industriels, présentent de nouvelles machines permettant d'automatiser de nombreuses étapes de l'analyse bactériologique. L'objectif de notre exposé est de présenter l'ensemble de ces automates actuellement disponibles et d'identifier ceux qui le seront prochainement, afin d'appréhender leur impact sur la future organisation des laboratoires de bactériologie.

Comment choisir son automate de biologie moléculaire ?

S. Boisset

Département des Agents Infectieux, Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble, France

L'utilisation des techniques de biologies moléculaires fondées sur l'amplification d'acides nucléiques a connu un essor considérable dans le domaine de la bactériologie au cours de ces 15 dernières années. La PCR a plus particulièrement trouvé sa place dans le diagnostic d'urgence (cas de la méningite bactérienne), lorsque l'on suspecte un germe à croissance lente ou difficile sur les milieux de culture usuels (*Bordetella*, Mycobactéries,...) ou encore pour la recherche des bactéries à tropisme intracellulaire (*Chlamydiae*, *Coxiella*, *Bartonella*...). La PCR permet également de mettre en évidence une cause infectieuse lorsque les cultures sont négativées par la prise d'antibiotique ou encore l'identification rapide de gènes de résistance aux antibiotiques (gène *meaC* de *S. aureus*, gènes *van* chez les entérocoques, résistance à la rifampicine de *Mycobacterium tuberculosis*) (1). De nouvelles applications sont en plein essor comme la détection de *C. difficile* à partir de selles ou encore du Streptocoque B dans les prélèvements vaginaux (2-3).

Historiquement, les techniques de biologie moléculaire étaient réservées à des laboratoires spécialisés qui disposaient de locaux adaptés et qui avaient la maîtrise de techniques dites « maison ». En regroupant toutes les étapes sur une seule plateforme, l'automatisation facilite l'accès aux laboratoires non spécialistes à ces technologies et fait entrer pleinement la biologie moléculaire dans les services de routine. Depuis le début des années 2000, des solutions d'automatisation sont apparues de manière exponentielle avec en premier lieu les automates d'extraction des acides nucléiques et les automates de PCR en temps réel (4). Le développement conjoint de kits de diagnostic standardisés a permis à la PCR de supplanter les techniques conventionnelles dans certaines applications. Ainsi, la prise en charge du diagnostic biologique de la coqueluche repose désormais sur la détection de *Bordetella pertussis* et *B. parapertussis* par PCR sur aspirations naso-pharyngées, cette analyse ayant remplacé la sérologie à la nomenclature en mars 2011.

Le marché de l'instrumentation en biologie moléculaire est aujourd'hui en mesure de proposer plusieurs dizaines d'automates et d'extracteurs différents. Quel est l'automate idéal ? Le choix peut s'avérer parfois complexe mais il est intrinsèquement dépendant des attentes et des contraintes du laboratoire. Aussi, à l'instar de la démarche pour l'automatisation de la bactériologie conventionnelle, le choix doit reposer d'une part sur les caractéristiques de l'automate et d'autre part sur les contraintes du laboratoire.

Nous recenserons les paramètres clés pour choisir un équipement adapté à ses besoins. Côté automate : quel(s) volume(s) d'échantillons l'automate peut-il absorber ? De quelle nature ? En combien temps ? Peut-on lancer les analyses au coup par coup ? Quels sont les kits de diagnostic validés sur l'automate ? Peut-on adapter des PCR « maison » ? Existe-t-il la possibilité de connecter l'automate au système informatique du laboratoire ?

Côté laboratoire : quels sont les volumes et les types d'échantillons à traiter ? Dans quel délai ? Le laboratoire dispose-t-il d'un personnel dédié et formé aux techniques de biologie moléculaire ? Quels sont les panels de PCR réalisés ? L'automate va-t-il fonctionner 24h/24 ?

Nous présenterons dans cet exposé un aperçu de l'offre disponible en ciblant plus spécifiquement les plateformes susceptibles d'intégrer l'ensemble des étapes de l'extraction à la PCR et à la détection.

Références :

1. Espy MJ *et al.* Real-time PCR in clinical microbiology applications for routine laboratory testing. Clin Microbiol Rev. 2006.
2. O'Horo JC *et al.* Molecular techniques for diagnosis of Clostridium difficile infection: systematic review and meta-analysis. Mayo Clin Proc. 2012.
3. Honest H *et al.* Rapid tests for group B Streptococcus colonization in laboring women: a systematic review. Pediatrics. 2006.
4. Merel P. Automatisation et biologie moléculaire : de l'extraction des acides nucléiques à la PCR en temps réel. Spectra Biologie. 2007.

Surprescription des antibiotiques en ville : aspects comportementaux de la prescription en médecine de ville.

E. Cabanes², A. de Pontfarcy¹, T. Boyer-Chamard², K. Jidar¹, J.P. Aubert², S. Diamantis^{2,1}

¹Hôpital Marc Jacquet, Melun ²DMG Paris 7, Paris, France

Objectif : La surprescription en ville est évaluée à plus de 30% et de façon homogène parmi les médecins généralistes. L'objectif est d'établir des facteurs associés à la surprescription d'antibiotique.

Méthodes : Enquête par questionnaire téléphonique réalisé sur un échantillon randomisé de médecins généralistes parisiens. Le questionnaire standardisé recueille des données sociodémographiques, comportementales et organisationnelles.

Résultats : Parmi les 80 (80%) médecins ayant répondu au questionnaire 33 (41%) ont le sentiment de surprescrire. Le degré de surprescription en France est connue par 9 (11%) médecins et 41 (52%) estiment ne pas pouvoir prescrire moins. En analyse univariée, l'attitude « empathique » vis à vis des demandes du patients, se sentir limité par le temps et avoir une bonne perception du volume d'antibiotiques prescrits en ville sont associés au sentiment de surprescrire. En analyse multivariée, l'attitude « empathique »

(ORa=23.8; p=0.004) et la bonne perception de la surconsommation en antibiotiques (ORa=20; p=0.006) sont liés au sentiment de surprescrire.

Conclusions : La connaissance de la surprescription en antibiotique en France et le sentiment de surprescrire est faible. L'attitude « empathique » vis à vis des demandes du patients sur la prescription et la connaissance de la surprescription en antibiothérapies sont des facteurs associés au sentiment de surprescription. De ces résultats, il est possible de déterminer un profil de prescripteur plus susceptible de rationaliser leur prescription d'antibiotique.

Prescription contrôlée des carbapénèmes : rôle de l'infectiologue.

A. Mothes, M. Martinot, K. Demesmay, M. Mohseni-Zadeh, L. Souply, D. de Briel

Maladies Infectieuses, Hôpitaux Civils, Colmar, France

Objet de l'étude : L'augmentation de la prévalence des entérobactéries β -lactamases à spectre élargi (EBLSE) aboutit à une augmentation de la consommation des carbapénèmes, avec un risque écologique majeur: le développement d'entérobactéries productrices de carbapénémases. La circulaire de novembre 2011 propose un encadrement renforcé de ces prescriptions grâce à l'intervention d'un infectiologue auprès des prescripteurs. Un tel encadrement a été instauré au sein de notre institution avec un suivi d'impact de cette consultation sur la consommation de carbapénèmes.

Méthode : Étude qualitative prospective interventionnelle basée sur la réévaluation par un infectiologue de toutes les prescriptions de carbapénèmes aux Hôpitaux Civils de Colmar initiées entre le 09/12/11 et le 26/04/12. L'évaluation a porté sur l'indication de la prescription, la posologie, les associations d'antibiotiques. La conformité en traitement probabiliste était définie soit par un antécédent de colonisation à EBLSE, une infection sévère (choc septique), le caractère nosocomial de certaines infections, ou l'application d'un protocole. La conformité en traitement documenté était définie par l'absence d'alternative aux β -lactamines et fluoroquinolones.

Résultats : Trente patients ont été inclus. 22% (2/15) des prescriptions de carbapénèmes étaient non-conformes en traitement probabiliste et 89% (8/9) après documentation microbiologique. Dans 23% des cas, la posologie n'était pas adaptée à la fonction rénale. 57% des prescriptions de carbapénèmes n'ont pas fait l'objet d'association à un autre antibiotique actif sur les EBLSE. Au total, 2/3 des prescriptions ont été modifiées par l'infectiologue dont 12 revues pour leur indication avec, désescalade par entapénème chez 5 patients, arrêt chez 2 patients, simplification chez 1 patient et switch pour une molécule alternative chez 3 patients. La prescription de carbapénèmes encadrée par un protocole (endophtalmie, pancréatite) représentait 20% de la consommation de carbapénèmes de notre étude.

Conclusion : Notre étude, avec 2/3 des dossiers ayant fait l'objet de modification de prescription démontre le rôle primordial de l'infectiologue dans la réévaluation de la prescription des carbapénèmes et dans la poursuite de la sensibilisation des prescripteurs.

Impact de la réévaluation systématique des carbapénèmes : une analyse en régression segmentée.

T. Delory, B. Berdugo, F. About, A. Emirian, A. de Farcy, C. Brun Buisson, P. Lesprit

CEPI, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

Objet de l'étude : Étudier l'impact de la réévaluation systématique des prescriptions de carbapénèmes (CP) après mise en place de leur dispensation contrôlée.

Matériel et méthodes : Après diffusion de recommandations de bon usage des CP, mise en place de l'intervention en mai 2011 dans un hôpital de 1241 lits. Signalement des prescriptions informatisées et/ou sur ordonnance nominative par la pharmacie au référent en antibiothérapie suivie d'une réévaluation systématique à J3-J5. Analyse en régression segmentée de l'évolution de la consommation en DDJ/1000JH des CP comparée à l'évolution des Entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) sur l'hôpital, en 12 points mensuels pré et post-intervention, et description des interventions menées.

Résultats : On observait une baisse de 2.6 DDJ/1000JH (p=0.022) de la consommation de CP après mise en place de l'intervention. Il existait une tendance à l'augmentation mensuelle des EBLSE sur la période de l'étude, de 0.02 cas/1000JH (p=0.093). 337 prescriptions (262 patients, âge moyen 63.5 ans, sexe ratio=2.74) ont été évaluées en post-prescription avec un délai de signalement médian de 2j [1; 3]. Services prescripteurs: réanimation (195, 57.9%), médecine (90, 26.7%) et chirurgie (52, 15.4%). Principaux sites infectieux: respiratoires (92, 27.3%), urinaires (67, 19.9%), digestifs (42, 12.5%). Une documentation microbiologique était retrouvée dans 81.3% (274) des cas, dont 39.2% (132) d'EBLSE. 76.6% (258) des prescriptions ont été modifiées avec un délai médian de 2j [1; 4], sur avis du référent (167, 49.6%) ou par les services (91, 27%). La réévaluation conduisait principalement à l'arrêt du CP (224, 66.5%) avec (172, 51.1%) ou sans désescalade (52, 15.4%); plus rarement à une réduction de la durée prévue (38, 11.3%). La désescalade reposait principalement sur les β -lactamines (152, 45.1%): céphalosporines (83, 24.6%) ou pipéracilline \pm tazobactam (48, 14.2%). La durée médiane de traitement par CP était de 3j [2; 7].

Conclusion : La mise en place de la dispensation contrôlée des carbapénèmes associée à une réévaluation systématique a conduit dans notre expérience à une modification de ¼ des prescriptions, et à une réduction significative de la consommation sur l'établissement, alors que le taux d'EBLSE tendait à augmenter.

128/31o 22/11/2012 - 16:45 - APOLLINAIRE 2

Facteurs associés au non-respect des recommandations de prescription des carbapénèmes.

M. Burgard², J. Niel³, M. Groh¹, H. Baudet³, E. Weiss¹, B. Pilmis¹, M. Postaire³, J.R. Zahar²⁻¹

¹Équipe mobile d'infectiologie ²Équipe opérationnelle d'hygiène ³Pharmacie hospitalière, Hôpital Necker, Paris, France

Objectif : Identifier les facteurs associés au non-respect des prescriptions de carbapénèmes (carba) dans un hôpital universitaire.

Méthodes : Suivi exhaustif et prospectif des prescriptions de carbapénèmes du 1/11/11 au 1/7/12. Évaluation du respect (i) des recommandations à J0, (ii) lors de la réévaluation du traitement (J3+/-1) et (iii) de la durée du traitement.

Résultats : 328 prescriptions curatives (214 patients) ont été évaluées. Il s'agissait dans 80% d'imipenem. La durée médiane était de 6j, quart.: 3-11j. Il s'agissait de 53% de prescriptions pédiatriques, 66% en service de médecine et 66% chez des patients immunodéprimés dont 21% de neutropéniques. Dans 95% des cas il s'agissait d'infections associées aux soins. Dans 26% des cas il s'agissait d'une infection urinaire, 26% pulmonaire, dans 11% des cas de bactériémies primaires et dans 23% des cas de sepsis d'origine non déterminée. 62% étaient microbiologiquement documentées et il s'agissait dans 49% de ces cas d'EBLSE.

A J0, 77% des prescriptions étaient conformes aux recommandations locales. Lors de la réévaluation à J3+/-1, seules 60% des prescriptions initiales étaient poursuivies et seules 11% étaient non-conformes.

En analyse univariée les facteurs associés au non-respect des recommandations étaient à J0 le type de service chirurgie (RR 2.5), la pédiatrie (RR 1.5), les inf. nosocomiales (RR 0.5), le statut immuno-compétent (RR 1.5) et la neutropénie (RR 0.05). En analyse multivariée, les facteurs associés étaient la chirurgie (RR 2.9, IC 1.3-6.7, p 0.0.1), les inf. nosocomiales (RR 0.5, IC 0.3-0.9, p 0.02), et la neutropénie (RR 0.1, IC 0.0-0.5, p 0.003).

A J3, aucun facteur de risque n'a pu être identifié.

Parmi les 171 traitements maintenus au-delà du 4^{ème} jour, 26% avaient une durée considérée excessive (médiane 10j). Ceci était plus fréquent chez les immuno-déprimés non neutropéniques (RR 1.5) et en cas d'infection non documentée (RR 1.7) en analyse univariée. En analyse multivariée, la durée excessive était associée aux infections non documentées (RR 2.4, IC 1.2-5.3, p: 0.02).

Parmi les 94 inf. à EBLSE: il n'existait pas de traitement alternatif pour 32%, la localisation ou la gravité l'empêchaient pour 29% et un traitement alternatif était possible pour 39%.

Conclusion : La connaissance des facteurs associés à une prescription non adéquate de carbapénèmes permet de cibler les actions de maîtrise antibiotique: à J0 inf. non nosocomiales, patients non neutropéniques, chirurgie et au delà de J4: inf. non documentées.

129/31o 22/11/2012 - 17:00 - APOLLINAIRE 2

Bonne utilisation des aminosides à l'hôpital : suivi des nouvelles recommandations par les prescripteurs.

L. Napoly¹, A. Diallo², A. Hulien¹, P. Lesprit²

¹Laboratoire de Pharmacologie-Toxicologie ²Unité de Contrôle, Épidémiologie et Prévention de l'Infection, AP-HP, GH Henri Mondor, Créteil, France

Objet de l'étude : Le bon usage des aminosides repose sur le respect des indications, le choix de la molécule, la durée de traitement, l'utilisation de la dose unique journalière (DUJ) et le suivi thérapeutique dans certaines indications. Nous avons étudié, début 2012, en prospectif, le respect des nouvelles recommandations de l'Ansm après actualisation des recommandations locales et information de tous les médecins, puis nous avons comparé ces résultats à ceux de l'audit réalisé en 2001.

Méthodes : Étude prospective sur 2 mois, des prescriptions d'aminoside au sein des services excepté l'hématologie. La qualité de la prescription a été évaluée sur la durée du traitement, les modalités d'administration, l'indication et la réalisation des dosages.

Résultats obtenus : 113 prescriptions ont été analysées (vs 100 en 2001). La population étudiée était âgée de 64,7±2,5 ans, pesait en moyenne 75,8±3,1kg. Elle comprenait 49,6% de patients de réanimation (vs 24% en 2001, p<0.05) et 57,8% d'insuffisants rénaux (vs 40% en 2001, p<0.05). Les infections étaient majoritairement nosocomiales (72,6%): pneumopathies (30,1%), sepsis (23%), infections urinaires (19,5%), endocardites (4,4%), autres (23%). 76,6% des patients avaient une infection documentée dont 41,2% secondairement documentée. La durée moyenne de traitement était 3,7±0,7 vs 7,4±1,5 jours en 2001 (p<0,001). La DUJ a été utilisée dans 97,3% des cas (65,4% en 2001, p<0,01). Les doses administrées étaient inférieures aux recommandations dans 26,5% des cas. Des dosages de résiduelles sériques ont été effectués chez 57% des patients insuffisants rénaux (97% si l'on exclut une durée de traitement inférieure à 2 jours, vs 68% en 2001). Les concentrations

maximales n'ont été mesurées que dans 28,6% des cas où elles étaient indiquées et plus particulièrement dans les services de réanimation. Au total, 33,3% des dosages étaient en adéquation avec les recommandations.

Conclusion : En 10 ans on note une amélioration significative de l'utilisation des aminosides dans notre hôpital en terme de réduction de la durée et de l'utilisation de la DUJ. Les efforts doivent désormais porter sur l'optimisation des posologies et des dosages, notamment chez les insuffisants rénaux.

130/31o 22/11/2012 - 17:15 - APOLLINAIRE 2

De-escalation of antibacterial therapy in urinary tract infections: a neglected opportunity to save broad-spectrum agents.

E. Montassier²⁻¹, E. Duchene¹, J. Caillon², G. Potel²⁻¹, E. Bataud²⁻¹

¹Urgences, CHU de Nantes ²EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Nantes, France

Objective: Because fluoroquinolones and 3rd-generation cephalosporins select multiple bacterial resistances, usage of both classes should be restricted. Fluoroquinolones and 3rd-generation cephalosporins are the cornerstone of the empiric treatment of urinary tract infections, and should be replaced by antibacterial agents with narrower antibacterial spectrum as soon as susceptibility tests are available (the so-called de-escalation). Our objectives were to assess the frequency of de-escalation when treating inpatients for urinary tract infections, and frequency of conditions justifying not to de-escalate antibacterial therapy.

Methods: Retrospective study of adult inpatients that were treated for urinary tract infection due to *Escherichia coli* in Nantes University Hospital during 2010. Broad-spectrum empirical treatment was started in the Emergency Department. Strains had to be susceptible to at least one of the following antibacterial agents: amoxicillin, co-amoxiclav, cotrimoxazole. De-escalation was defined as the replacement of the empiric therapy by an antibiotic with a narrower antibacterial spectrum, according to the susceptibility test, within 4 days in hospital.

Results: Eighty patients were included (mean age, 70 ± 22 years; females, n=62). Diagnosis was: cystitis, n=10; pyelonephritis, n=47; prostatitis, n=13; unspecified urinary tract infection, n=10. De-escalation was prescribed in 31 patients (39%). Initial treatment was switched to amoxicillin (n=21), co-amoxiclav (n=2) or cotrimoxazole (n=8). Thirteen conditions justifying not to de-escalate antibacterial therapy were detected in 11 patients: shock, n=5; renal abscess, n=1; obstructive uropathy, n=4; bacterial resistance or clinical contraindication to both cotrimoxazole and β-lactams, n=3. Hence, de-escalation could have been prescribed for 38 patients for whom it has not been done (38/49, 78%). Finally, de-escalation was prescribed for 31 patients among 69 (45%) for whom it was possible both from a bacteriological and a clinical point of view.

Conclusion: De-escalation is under-prescribed in our institution, and should be actively implemented.

131/32o 22/11/2012 - 16:00 - APOLLINAIRE 6

Prise en charge des pneumopathies communautaires hospitalisées en France : résultats de l'enquête REACH – aspect microbiologique.

J.P. Stahl², F. Martin¹, J.L. Pourriat³, J. Ostinelli⁴, S. Geha⁴, C. Soufflet⁴

¹CHG, Compiègne ²CHU, Grenoble ³Hôtel-Dieu, Paris ⁴AstraZeneca, Rueil-Malmaison, France

Introduction-Objectifs : Les données concernant la prise en charge en vie réelle des pneumopathies aigües communautaires (PAC) sont peu nombreuses. Une enquête observationnelle rétrospective (NCT01293435) a été mise en place début 2011 dans 10 pays européens pour recueillir des données épidémiologiques. Au total 2039 patients ont été analysés. Nous rapportons ici les données spécifiques à la France.

Matériel et méthodes : Trente-cinq services hospitaliers, dont 11 appartenant au CPHG, sélectionnés de manière à être représentatifs, ont inclus 366 patients hospitalisés pour PAC afin de connaître leur prise en charge.

Résultats : Parmi les patients hospitalisés, 59.6% étaient des hommes (n=218); l'âge moyen était de 64.1±18.5 ans. Les patients avaient reçu une antibiothérapie préalable à l'hospitalisation dans 13% des cas. Les patients hospitalisés pour CAP présentaient des co-morbidités dans 76.8% des cas (une maladie respiratoire 32.5%, un diabète 17.8%, une maladie vasculaire périphérique 13.7%). Un diagnostic microbiologique était disponible pour 147 (40.2%) patients. Un cocci G+ était retrouvé chez 82 patients (55.8%): *S pneumoniae*, *SASM* et *SARM* chez respectivement 46.3%, 8.9% et 1.4% des patients. Aucun pneumocoque résistant n'a été mis en évidence. Parmi les patients avec bactériémies (26), un cocci G+ était retrouvé chez 69.2% d'entre eux. Les bacilles G- étaient retrouvés chez 23 patients (15.6%): *E Coli*, *Legionella* et *Klebsiella spp* chez 6.1%, 3.4% et 3.4% respectivement. *H influenzae* était présent chez 11 patients (7.5%) et *P aeruginosa* chez 6 (4.1%). Les tests à visée diagnostique réalisés étaient les hémocultures (57.4%), les Ag urinaires *Legionella* 43.7% et *S pneumoniae* (42.1%), l'ECBC pour 31.1%, le LBA pour 14.2%. Le traitement antibiotique était empirique dans 87.7% des cas, donné en moyenne durant 9.7±4.6 jours. Les traitements initiaux les plus fréquents étaient l'amox/clav dans 38.8%, l'amoxicilline dans 9.8% et la ceftriaxone dans 8.2% des cas.

Les modifications du traitement antibiotique initial ou le décès durant le traitement initial étaient de 18.6%. La durée moyenne du séjour hospitalier

était de 13.1 jours (±10.6) et la mortalité globale de 5.2%.

Conclusion : La prise en charge initiale par antibiothérapie des PAC en France est extrêmement variable. Les germes isolés sont ceux rencontrés classiquement dans cette pathologie. Les modifications du traitement antibiotique initial sont relativement importantes dans cette indication.

132/32o 22/11/2012 - 16:15 - APOLLINAIRE 6

Incidence, caractéristiques et mortalité des patients immunocompétents hospitalisés en service de réanimation et atteints de pneumopathie acquise sous ventilation mécanique à *Candida* sp.

J. Gagnaire², T. Béné^{2,1}, L. Argaud³, C. Guérin⁴, J.J. Lehot⁵, M.C. Nicolle², P. Vanhems^{2,1}, Services De Réanimation Des Hospices Civils De Lyon⁶, Unités D'hygiène Hospitalière Des Hospices Civils De Lyon⁷
¹Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Équipe Épidémiologie et Santé Publique, CNRS UMR 5558, Université Lyon 1 ²Service d'hygiène, épidémiologie et prévention, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon ³Services de réanimation médicale, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon ⁴Services de réanimation, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon ⁵Services de réanimation, Hôpital Louis Pradel, Hospices Civils de Lyon ⁶Services de réanimation, Hospices Civils de Lyon ⁷Unités d'hygiène hospitalière, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Objet de l'étude : La mortalité liée aux pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) à *Candida* sp est peu analysée, celles-ci constituent néanmoins une réalité en réanimation. L'objectif était de comparer l'incidence et la mortalité hospitalière des patients atteints de PAVM à *Candida* sp comparée à celles des patients atteints de PAVM bactériennes, chez des patients immunocompétents.

Méthodes : Les données analysées sont issues de la surveillance prospective des infections nosocomiales dans les services de réanimation des Hospices Civils de Lyon entre janvier 2003 et décembre 2011. Cette surveillance est basée sur un protocole national. Parmi les patients adultes hospitalisés ≥48 heures en réanimation, non immunodéprimés, intubés pendant 48 heures ou plus, seuls les patient ayant développé au moins une PAVM à *Candida* sp ou une PAVM bactérienne confirmée microbiologiquement par un prélèvement provenant d'un lavage broncho-alvéolaire ou d'une aspiration bronchique protégée au cours du séjour ont été inclus. Une analyse multivariée à l'aide d'une régression de Cox a été conduite afin de comparer la mortalité liée aux PAVM à *Candida* sp à celle liée aux PAVM bactériennes.

Résultats obtenus : Au total, 1 064 patients, comptant pour 10 024 jours d'intubation à risque, ont été inclus. Parmi eux, 56 (5,3%) ont présentés une PAVM à *Candida* sp et 1008 (94,7%) une PAVM bactérienne. Les 3 bactéries les plus fréquentes étaient: *Staphylococcus aureus* (n=253), *Pseudomonas aeruginosa* (n=234) et *Escherichia coli* (n=101). Le délai moyen entre l'admission et la survenue de la PAVM était de 9 jours pour les PAVM à *Candida* sp et de 10 jours pour les PAVM bactériennes (p=0,43). La mortalité brute hospitalière des patients atteints de PAVM à *Candida* sp est plus élevée que celle des patients atteints de PAVM bactérienne (42,8% versus 25,1% respectivement, p=0,003). La survenue d'une PAVM à *Candida* sp en comparaison à une PAVM bactérienne augmente le risque de mortalité (risque relatif ajusté=1,55; IC 95% 1,02-2,38, p=0,041), indépendamment de l'âge du patient, de l'IGSII et du contexte traumatique du patient à son admission.

Conclusion : Bien que peu fréquente, la survenue d'une PAVM à *Candida* sp chez des patients non immunodéprimés semble augmenter le risque de mortalité en comparaison à une PAVM d'étiologie bactérienne.

133/32o 22/11/2012 - 16:30 - APOLLINAIRE 6

Description d'une série de 31 cas de PAVM à *Stenotrophomonas maltophilia* dans le service de réanimation de l'hôpital de Versailles : présentations cliniques, schémas thérapeutiques et évolutions.

S. Merceron², L. Adda¹, B. Planquette², B. Pangon¹, J.P. Bedos², A. le Monnier¹
¹Laboratoire de Microbiologie-Hygiène ²Service de Réanimation Médicale et Chirurgicale, CH André Mignot, Le Chesnay, France

Stenotrophomonas maltophilia (SM) est un bacille à Gram négatif aérobie strict non fermentaire, responsable d'infections nosocomiales chez des patients immunodéprimés (sepsis, infections pulmonaires, etc.). SMest impliqué dans 2 à 8% des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM). Cependant, les facteurs de risque de survenue d'une PAVM à SM et les facteurs influençant l'évolution défavorable vers une récurrence ou un décès ont très peu été étudiés.

Nous avons analysés rétrospectivement les caractéristiques (présentation clinique, schéma thérapeutique et évolution) d'une série de 31 cas diagnostiqués entre 2001 et 2010 dans le service de réanimation du CHV.

Le faible nombre de cas confirme qu'il s'agit d'une étiologie rare, pour laquelle nous n'avons pas observé d'augmentation de l'incidence sur la décennie étudiée. Il s'agit toujours de patients graves, présentant de nombreuses comorbidités et antécédents. Le jour du diagnostic, tous les patients étaient sous antibiotiques à large spectre dont un carbapénème dans 45% des cas et tous avaient plusieurs procédures en place. La PAVM à SM survient après un délai médian de 16 jours de ventilation mécanique et de réanimation, confirmant qu'il s'agit de PAVM de survenue tardive avec un caractère

nosocomial dans tous les cas.

Les schémas thérapeutiques sont très divers faute de consensus dans la littérature. L'antibiothérapie probabiliste est rarement adaptée d'emblée. L'adaptation du traitement a lieu entre J1 et J5 à l'origine d'un retard au traitement efficace et dans certains cas de conséquences sur la morbi-mortalité. Le traitement repose le plus souvent sur une association (67%) de 2 voire 3 antibiotiques parmi le TMP-SXT, la ticarcilline+acide clavulanique et la ciprofloxacine. Une récurrence a été observée dans 4 cas (13%), un échec thérapeutique dans 5 autres (16%). La mortalité globale est de 48%, dont 39% à J30.

L'étude des facteurs de risque d'infection et des facteurs pronostiques est rendue difficile par la gravité des patients. Seule une étude prospective, multicentrique, cas incident versus témoins, permettrait d'assurer un recrutement suffisant de cas pour analyser les facteurs impliqués dans la survenue de PAVM àSM et l'impact des choix thérapeutiques sur leur récurrence et leur pronostic.

134/32o 22/11/2012 - 16:45 - APOLLINAIRE 6

Prévention de légionellose nosocomiale, patients « à risque » : vers le risque nul ?

M. Reyrolle^{2,1}, S. Gardes^{5,4}, S. Coudras^{5,4}, J. Droguet^{3,4}, G. Lina^{1,4}, R. Girard^{5,4}, S. Jarraud^{1,2}
¹CNRL ²Groupe hospitalier Est, Bron ³DAT ⁴Hospices Civils Lyon, Lyon ⁵Unité hygiène CHLS, Pierre Bénite, France

La prévention des cas de légionellose nosocomiales reste un problème de santé publique car la mortalité peut être supérieure à 20% pour les patients immunodéprimés. Quand l'eau d'un hôpital est colonisée dès son ouverture le risque peut être majeur comme cela a été le cas en 2001 à l'Hôpital Européen George Pompidou. La construction d'un nouveau bâtiment dans un hôpital nécessite une réflexion multidisciplinaire et la mise en œuvre de mesures de prévention de la colonisation bactérienne des réseaux d'eau dès la conception du bâtiment. La législation permet théoriquement de gérer le risque car elle exige l'absence de *L.pneumophila* dans les services de patients à haut risque (HR) (2). Aucune réglementation n'existe pour *L non-pneumophila* dans l'eau des hôpitaux.

Objectif : Le but de ce travail a été de prévenir le risque de colonisation bactériologique dont *Legionella* pour un nouveau bâtiment d'Hématologie de 42 chambres au Centre Hospitalier Lyon.

Méthodes : Le bâtiment a été construit avec le système Waterclean (CIAT). La procédure CATREL qui consiste à réaliser des purges et un suivi de la colonisation bactérienne dès la mise en eau a été appliquée(1). Pour le suivi analytique de l'eau froide (EF) et de l'eau chaude (ECS) : les *Legionella* ont été quantifiées par culture (NFT 90-431) et par PCR (NFT 90-471), la flore totale à 22°C, à 37°C et la présence de *Pseudomonas aeruginosa* (ISO 16266) ont été analysés. Les analyses mensuelles ou bi-mensuelles ont été mises en place sur 12 points dès la mise en eau en décembre 2010 jusqu'à l'arrivée des patients en septembre 2011. Après l'arrivée des patients, le suivi s'est poursuivi. Le diagnostic de légionellose pour les patients est réalisé par détection d'antigène urinaire (Now *Legionella*), culture et PCR pour les prélèvements respiratoires.

Résultats :

L'environnement : la flore bactérienne était présente, pour les *Legionella* par culture aucune *Lp* n'a été détectéesauf rares *Lanisa*, la PCR avait des résultats de 10³ à 2x10⁴ UG/L *L. spp* et *L. pneumophila*.

Le cas de légionellose : en mars 2012 a été diagnostiqué par PCR et par séquençage *L anisa* sur un prélèvement pulmonaire. Le patient présentait aussi une coinfection à H1N1et *aspergillus*, il est décédé.

Suite au cas, les douches et robinets des 42 chambres ont été sécurisés par des filtres terminaux. Des purges quotidiennes ont été mises en place. Un suivi analytique seulement par PCR *Legionella* tous les 15 jours est réalisé avec l'objectif d'avoir des résultats PCR *L spp* Lp <LD.

Les filtres installés diminuent le débit et peuvent augmenter le biofilm, ils pourront être enlevés si les analyses PCR sont conformes et avec l'accord de l'ARS.

Conclusion : La législation définit absence de *L pneumophila* dans les réseaux d'eau pour les patients HR mais cette étude montre que *L anisa* est pathogène même si seule la présence d'ADN est détectée. Pour les services avec des patients HR, le suivi régulier l'EF et de l'ECS en PCR avec des seuils Lspp et Lp doit permettre de gérer le risque.

Références :

- 2011 Legionella J Freney S Jarraud Ed Lavoisier 243-271
- 2010 Arrêté relatif à la surveillance des légionelles dans les ERP

Étude pilote cas-témoins évaluant l'efficacité de la vaccination antigrippale saisonnière 2011-2012 chez l'adulte hospitalisé.

X. Duval⁹⁻¹¹, K. Seddik¹¹, P. Loulergue¹⁰⁻¹¹, M. Rondy⁶, D. Postil³⁻¹¹, C. Merle⁵⁻¹¹, P. Tattevin⁸⁻¹¹, H. Laurichesse²⁻¹¹, F. Lucht¹³⁻¹¹, S. Pillet¹², A. Krivine⁶, F. Galtier⁴⁻¹¹, C. Dualé¹⁻¹¹, N. Lenzi¹¹, O. Launay¹⁰⁻¹¹
¹Centre de Pharmacologie Clinique F-63003 ; Inserm, CIC 501, UMR 1107 ²Inserm CIC 501, Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU, Clermont-Ferrand ³Inserm CIC-P 0801, CHU Dupuytren, Limoges ⁴Centre d'Investigation Clinique ; INSERM, CIC 1001, CHRU Montpellier, Montpellier ⁵Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHRU de Montpellier ⁶EpiConcept ⁷Laboratoire de Virologie, Hôpital Cochin, AH-HP ⁸Maladies Infectieuses et Réanimation Médicale, Hôpital Pontchaillou ; CIC-Inserm-0203, Faculté de Médecine, Université Rennes 1, IFR140 ⁹Inserm CIC 007, AP-HP, Hôpital Bichat ; Inserm U738 ; Université Paris Diderot, Paris 7, UFR de Médecine, site Bichat ¹⁰Inserm, CIC BT505 ; Assistance-Publique Hôpitaux de Paris (AP-HP), Hôpital Cochin, CIC de Vaccinologie Cochin-Pasteur ; Université Paris Descartes ¹¹REseau national d'Investigation Clinique en Vaccinologie, REIVAC, Paris ¹²Laboratoire de Virologie ¹³Service des Maladies Infectieuses, CHU Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

Objet de l'étude : Mesurer l'efficacité du vaccin grippal saisonnier chez l'adulte dans la prévention des gripes virologiquement documentées hospitalisées durant la saison grippale 2011-2012.

Méthode : Étude prospective cas-témoins conduite dans sept hôpitaux français incluant les patients de 18 ans et plus hospitalisés avec un syndrome grippal (présence d'au moins un des quatre symptômes systémiques suivants : fièvre, malaise, céphalées, myalgies et d'au moins un des trois symptômes respiratoires suivants : toux, maux de gorge ou essoufflement) ayant débuté au cours des 7 jours précédant l'hospitalisation et acceptant la réalisation d'un prélèvement naso-pharyngé pour la recherche de virus grippal par RT-PCR. Les patients vaccinés étaient ceux qui avaient reçu le vaccin grippal 2011-2012 au moins 14 jours avant le début du SG. Les cas étaient les patients avec une PCR positive pour le virus grippal, les témoins ceux avec PCR négative. L'efficacité vaccinale (EV) a été calculée selon la formule $EV=1-OR$. Ajustée sur les facteurs de confusion potentiels.

Résultats : Parmi les 174 patients hospitalisés inclus dans l'analyse, 74 (42,5%) avaient une PCR grippale positive (71 de type A, 3 de type B) et 100 une PCR grippale négative. Parmi les 71 cas de grippe A, 62 ont été sous-typés A(H3N2), trois A(H1N1) et six n'ont pas pu être sous-typés. Etant donné la distribution des virus, les analyses ont été restreintes aux cas de grippe A(H3N2). La taille de l'échantillon pour l'analyse était donc de 162 patients, parmi lesquels 62 cas et 100 contrôles. L'EV a été estimée à 12,6% (IC95% -94,4% -60,7%) dans la population générale, 28,8% (IC95% -68,5% -69,9%) pour les patients ciblés par la vaccination et 40,3% (IC95% -93,9% -81,6%) pour les patients âgés de plus de 75 ans.

Conclusion : Cette étude pilote met en évidence une faible efficacité du vaccin grippal 2011-2012 sur la prévention des gripes hospitalisées en population générale et dans les populations ciblées par les recommandations vaccinales, des résultats d'efficacité cohérents avec ceux du réseau hospitalier européen. Ils pourraient s'expliquer par la faible concordance entre la souche vaccinale et le virus circulant.

Évolution des otites moyennes aiguës à pneumocoque ou *H. influenzae* sous antibiotiques depuis l'introduction des vaccins pneumococciques conjugués.

R. Cohen⁵⁻¹, C. Levy⁵, E. Bingen⁴, S. Béchet⁵, F. Thollot², V. Derkx⁵, E. Varon³
¹CHI de Créteil, Créteil ²AFFA, Essey-Les-Nancy ³CNRP AP-HP
⁴HEGP ⁵Service de microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris ⁵ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France

Objectifs : Les deux bactéries pathogènes majeures des otites moyennes aiguës (OMA) sont le pneumocoque (Sp) et *H. influenzae* (Hi). L'introduction des vaccins pneumococciques conjugués a entraîné des bouleversements dans l'épidémiologie des OMA: réduction de l'incidence, modifications des pathogènes impliqués et de la résistance aux antibiotiques. La flore rhinopharyngée est le réservoir des bactéries des OMA et quand une seule espèce bactérienne est isolée, on considère généralement que c'est elle qui est responsable de l'otite. L'objectif de cette étude est de comparer les caractéristiques évolutives des OMA chez des enfants porteurs dans leur nasopharynx d'une seule espèce bactérienne, Hi ou Sp.

Méthodes : Un prélèvement nasopharyngé était réalisé par des pédiatres chez des patients âgés de 6 à 24 mois ayant une OMA. Lorsqu'une seule espèce bactérienne, Hi ou Sp était retrouvée, les informations concernant l'évolution de l'OMA devaient être recueillies prospectivement.

Résultats : Entre 2007 et 2011, 4454 patients ayant une OMA et âgés de 13,4 mois (médiane 12,7 mois) ont été inclus. 24,9% portaient un germe unique: Sp (12,3%) ou Hi (12,6%). Le tableau ci-dessous présente les caractéristiques et l'évolution des OMA en fonction de la bactérie isolée.

| N (%) | Hi seuls (n = 561) | Sp seuls (n = 547) | p |
|--|-----------------------|-----------------------|---------|
| Caractéristiques | | | |
| Age moyen ±DS (mois) | 14,2± 5,2 | 12,9 ± 5,1 | 0,0001 |
| Mode de garde (%) | | | |
| Crèche | 38,8 | 33,1 | 0,113 |
| Domicile | 24,6 | 28,7 | |
| Nourrice | 36,6 | 38,2 | |
| Antécédents d'OMA | 57,0 | 47,5 | 0,004 |
| Antécédents d'OMA récidivantes | 19,8 | 14,1 | 0,021 |
| Utilisation d'antibiotique 3 mois avant l'inclusion (%) | 50,5 | 35,3 | <0,0001 |
| Fièvre et otalgie (%) | 36,7 | 48,6 | <0,0001 |
| Conjonctivite (%) | 57,8 | 11,5 | <0,0001 |
| Evolution en fin de traitement parmi les patients évaluables | 424 | 440 | |
| Echec | 81 (19,1) | 52 (11,8) | 0,003 |
| Evolution 1 mois après le début du traitement parmi les patients évaluables | 175 | 207 | |
| Récidives | 43 (24,6) | 24 (11,6) | 0,001 |

Conclusion : Les patients présentant une OMA à Hi ont reçu plus souvent des antibiotiques dans les 3 mois précédant l'inclusion et présentent d'avantage d'échecs et de récidives que ceux porteurs de Sp seuls.

Physiopathologie des IOA : démonstration du rôle majeur des *phenol-soluble modulins* dans la mort des ostéoblastes infectés par les SARM communautaires.

J.P. Rasiqade²⁻³⁻⁵, S. Trouillet⁵, T. Ferry⁴⁻⁵, B.A. Diep¹, J. Ranfaing⁵, A. Sapin³, G. Lina²⁻³⁻⁵, F. Vandenesch²⁻³⁻⁵, F. Laurent²⁻³⁻⁵
¹Department of Medicine - Division of Infectious Diseases, University of California, San Francisco, Ca, Etats-Unis ²Centre National de Référence des Staphylocoques ³Laboratoire de Bactériologie ⁴Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hospices Civils de Lyon ⁵INSERM U851, Université Lyon 1, Lyon, France

Objectif : *Staphylococcus aureus* est la première cause d'infections ostéo-articulaires (IOA). Les *S. aureus* résistants à la méticilline d'origine communautaire (SARM-C) sont associés à des formes d'IOA plus aiguës et sévères que les SARM hospitaliers (SARM-H). Les SARM-C et -H sont capables d'envahir les ostéoblastes et la cytotoxicité résultant de cette invasion est plus élevée chez les SARM-C que -H, ce qui pourrait participer à la sévérité des IOA à SARM-C. Les facteurs de virulence associés à cette cytotoxicité des SARM-C ne sont pas connus. Nous avons exploré l'impact sur la cytotoxicité de la leucocidine de Pantone-Valentine (PVL) et des *phenol-soluble modulins* (PSM), des peptides amphipathiques impliqués dans la lyse des polynucléaires neutrophiles par les SARM-C.

Méthodes : Un modèle *ex vivo* d'infection intracellulaire à *S. aureus* sur ostéoblastes humains MG-63 a été utilisé. Le relargage de lactate-deshydrogénase dans le surnageant après 24h d'incubation a été mesuré comme marqueur de cytotoxicité. Chaque expérience a été répétée trois fois en triplicat. La cytotoxicité a été comparée chez trois couples isogéniques *pvl*^{+/+} de SARM-C USA300, ST80 et ST30, et chez un couple isogénique *psm*₁₋₄^{+/+} de SARM-C USA300.

Résultats : Le niveau de cytotoxicité des souches *pvl* n'était pas significativement différent de celui de leurs souches parentales respectives dans les trois fonds génétiques testés ($P>0,05$, test non-paramétrique de Mann-Whitney). A l'inverse, la cytotoxicité était significativement atténuée chez la souche *psm*₁₋₄^{+/+} par rapport à sa souche parentale (22.4±1.5 UI/mL vs. 33.4±3.6 UI/mL (moy±IC 95%), respectivement ; $P<0,0001$).

Conclusion : La cytotoxicité élevée des SARM-C au cours de l'infection intracellulaire des ostéoblastes est associée à l'expression des PSM alpha et est indépendante de l'expression de la PVL. Ces résultats suggèrent que la sévérité accrue des IOA à SARM-C est de nature multi-factorielle, et que la destruction du tissu osseux par ces souches hypervirulentes est à la fois indirecte et PVL-dépendante, via le recrutement, l'activation et la lyse des polynucléaires neutrophiles, mais également directe et PSM-dépendante via l'invasion et la lyse des cellules osseuses.

Existence d'un lien entre la capacité à produire un biofilm et le complexe clonal des *Staphylococcus aureus* responsables d'infections ostéo-articulaires sur matériel ?

G.G. Aubin³⁻², C. Lasserre³⁻², N. Caroff³, D. Lepelletier³⁻², A. Reynaud³⁻², J.P. Lavigne¹, S. Corvec³⁻²
¹INSERM U1047, Université de Montpellier 1 ²Service de Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes ³EA3826, Faculté de Médecine de Nantes, Nantes, France

Objet de l'étude : La capacité à produire un biofilm de souches de *S. aureus* issues d'infections ostéo-articulaires sur matériel (IOAM) a été comparée à leur patrimoine génétique afin de définir éventuellement un suivi personnalisé des patients.

Méthodes : 57 souches de *S. aureus* ont été isolées entre 2007 et 2010 au CHU de Nantes. Les complexes clonaux (CC) ont été déterminés par MLST. Les gènes de résistance et de virulence ont été criblés par puce à ADN (StaphyType, Alere[®]). La méthode à la résazurine a été utilisée pour mettre en évidence la formation de biofilm. La souche *Staphylococcus epidermidis* ATCC 35984, fortement productrice de biofilm, a été incluse comme témoin positif. Les souches ont été séparées en 3 groupes : faiblement, modérément et fortement productrices de biofilm.

Résultats : Les souches appartenaient à 17 CC différents. Les CC 30, 5, 8, 45 et 15 étaient prédominants (20, 20, 15, 12 et 7% respectivement). La puce à ADN cible 334 séquences cibles incluant les principaux gènes de virulence et résistance. 5 isolats (9%) étaient résistants à la méticilline (gène *mecA*). Les gènes de la toxine du choc staphylococcique (TSST) et de la leucocidine de Pantone et Valentine étaient présents respectivement chez 16 et 1 isolat. 69% des *S. aureus* possédant le gène *TSST* appartenaient au complexe clonal 30. Tous les isolats possédaient l'opéron *icaABD* mais aucun le gène *bab* (protéines associées au biofilm). Concernant les adhésines : la sialoprotéine osseuse (*bbp*), la protéine liant la fibronectine A, celle liant la fibronectine B (*fnbB*) et l'adhésine liant le collagène (*cna*) étaient respectivement retrouvées chez 53, 55, 40 et 27 isolats. Les souches appartenant au CC8 étaient plus souvent classées comme modérément ou fortement productrices de biofilm *in vitro* (9 souches CC8/10) que les autres (40%). De plus, l'analyse génotypique montre que ces souches possèdent un allèle particulier des gènes *bbp* et *fnbB*.

Conclusion : Les *S. aureus* appartenant au CC8, produisant fortement du biofilm, peuvent accroître les difficultés à traiter les IOAM. Des études complémentaires sont en cours afin d'analyser le rôle des gènes *bbp* et *fnbB* dans la formation de biofilm. La recherche du CC des *S. aureus* pourrait être une donnée intéressante dans la gestion des IOAM.

139/33o 22/11/2012 - 16:30 - APOLLINAIRE 8

Efficacité comparative du linézolide versus vancomycine seuls ou en association avec la rifampicine dans un nouveau modèle d'ostéite du rat à *Staphylococcus epidermidis*.

D. Croisier-Bertin^{3,2}, D. Labrousse³, S. Da Silva³, D. Hayez³, J.P. Lavigne⁴, C. Rouard¹, N. Bourgeois-Nicolaos^{1,5}, P. Chavanet^{2,3}, E. Aslangul^{6,5}
¹Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béchère, Université Paris Sud, Clamart ²Département Infectiologie, CHU le Bocage ³Vivexia, Dijon ⁴Laboratoire de Bactériologie, CHU, Nîmes ⁵Université Paris Descartes ⁶Service de Médecine Interne, Hôtel-Dieu ⁷EA4065, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques, Université Paris Descartes, Paris, France

Les ostéites du diabétique sont fréquentes et les Staphylocoques à coagulase négative (CoNS) sont responsables de 25% d'entre elles. L'efficacité des molécules anti-staphylococciques et la durée du traitement restent imprécises. Par ailleurs, aucun modèle animal d'infection osseuse à CoNS n'a été rapporté.

Objectifs :

- Mise au point d'un modèle d'ostéite à CoNS chez le rat,
- Evaluation de l'efficacité de différentes stratégies thérapeutiques et de différentes durées de traitement dans ce modèle.

Méthodes : Après une étape de caractérisation de la virulence de plusieurs souches cliniques de CoNS (modèle de *Caenorhabditis elegans*), la souche GUL2175 a été retenue pour la mise au point du modèle. Les deux cavités tibiales de rats Wistar sont infectées (5×10^9 Log CFU). Six groupes sont constitués : 1 groupe témoin non traité (T) et 5 groupes traités par vancomycine (VAN 50mgx2/kg/j), linézolide (LZ 35mgx2/kg/j), rifampicine (RIF 25mgx2/kg/j), VAN+RIF ou LZ+RIF. Le traitement est débuté 7j après l'infection, la charge bactérienne osseuse est évaluée après sacrifice à J10, J12, J14, J18 et J20.

Résultats : Aucune mortalité n'a été rapportée entre J0 et J7, ni en cours de traitement. Chez les témoins, la clairance bactérienne entre J0 et J7 est d'environ 2 Log CFU/g d'os.

| Jour post-infection | Charge tibiale (Log CFU/g) | | | | | |
|---------------------|----------------------------|------------|------------|------------|-------------|------------|
| | T | VAN | LZ | RIF | VAN-RIF | LZ-RIF |
| J7 | 5.1 ± 0.1 | - | - | - | - | - |
| J10 | 4.5 ± 0.7 | 3.2 ± 0.6 | 4.2 ± 0.6 | 1.6 ± 0.9* | 1.8 ± 1.1* | 1 ± 0* |
| J12 | 4.3 ± 0.4 | 3.7 ± 0.9 | 3.3 ± 0.5* | 2.2 ± 1.1* | 1.4 ± 0.7** | 1.6 ± 1.2* |
| J14 | 4.7 ± 0.3 | 3.6 ± 0.3 | 3.3 ± 1.8 | 4.1 ± 1 | 1.3 ± 0.6* | 1 ± 0** |
| J18 | 3.9 ± 0.3 | 2.4 ± 1.6 | 1.8 ± 0.1* | 3.3 ± 0.3 | 1 ± 0** | 1 ± 0** |
| J20 | 3.5 ± 0.3 | 1.6 ± 1.3* | 1.6 ± 0.5* | 1 ± 0** | 1 ± 0** | 1 ± 0** |

NB : résultats exprimés en m ± SD; J10=début de l'antibiothérapie; effectif de 4 à 6 tibias par groupe. * p<0.05 et ** p<0.01 versus T.

Conclusion : Le LZ est plus rapidement efficace que la VAN en monothérapie. La monothérapie RIF s'associe à une forte réduction bactérienne initiale puis une réascension transitoire en cours de traitement et une stérilisation à 14j de traitement. Les associations VAN-RIF et LZ-RIF sont synergiques, avec une stérilisation plus précoce avec LZ-RIF, dès J7 de traitement.

140/33o 22/11/2012 - 16:45 - APOLLINAIRE 8

Impact sur le microbiote intestinal d'un traitement par linézolide associé à la rifampicine dans un modèle d'ostéite à *Staphylococcus epidermidis* chez le rat.

C. Rouard^{2,4}, E. Aslangul⁵, A.J. Waligora-Dupriet⁴, D. Croisier-Bertin³, M. Devriese¹, M.J. Butel⁴, F. Doucet-Populaire^{2,1}, N. Bourgeois-Nicolaos^{2,4}
¹EA 4043, USC INRA, Faculté de Pharmacie, Université Paris Sud, Châtenay-Malabry ²Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béchère, Université Paris-Sud, Clamart ³Vivexia, Dijon ⁴EA4065, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Université Paris Descartes ⁵Service de Médecine Interne, Hôtel-Dieu, Paris, France

Objectif : Les antibiotiques administrés diffusent dans l'organisme au site de l'infection mais également au niveau des microbiotes et peuvent entraîner une modification de leur composition et/ou une émergence de la résistance. L'objectif de notre étude était de déterminer l'impact du traitement par linézolide (LZ) plus rifampicine (RIF) sur la composition et sur l'émergence de la résistance au LZ et à la RIF au sein du microbiote intestinal dans un modèle d'ostéite chez le rat.

Méthodes : Les deux cavités tibiales de dix neuf rats ont été infectées par une souche clinique de *S. epidermidis* (5×10^9 UFC). Deux groupes ont été constitués de façon aléatoire : un groupe témoin (T) non traité (n=9), un groupe traité par LZ (35mg/kg/12h) + RIF (25mg/kg/12h) (n=10) (LZ+RIF). Deux rats ont été sacrifiés à J0, J2, J5, J7, J11 et J13 après le début du traitement dans chaque groupe, et leur caecum a été prélevé et congelé. Nous avons réalisé une quantification par PCR quantitative (exprimée en log₁₀UFC/g de contenu caecal) de la charge bactérienne globale, des staphylocoques, des entérocoques, des entérobactéries et de différents groupes de bactéries anaérobies. Nous avons recherché par culture la présence de souches résistantes au LZ et à la RIF parmi les staphylocoques et les entérocoques.

Résultats : Nous avons observé un impact significatif du traitement LZ+RIF sur la charge bactérienne globale de 1 log₁₀UFC/g en comparaison au groupe T. Dans le groupe LZ+RIF nous avons mis en évidence une diminution de la concentration en staphylocoques et en entérocoques de 2 log₁₀UFC/g et une augmentation en entérobactéries de 2 log₁₀ UFC/g. Nous avons également observé une diminution de la concentration des différents groupes de bactéries anaérobies *Lactobacillus/Leuconostoc*, *Bacteroides*, *Bifidobacterium* et *Clostridium sp.* de 3 à 4 log₁₀UFC/g. Aucune souche résistante au LZ ou à la RIF n'a été isolée parmi les staphylocoques et les entérocoques.

Conclusion : Nous avons montré qu'un traitement LZ+RIF n'entraînait pas d'émergence de souches résistantes au LZ et/ou à la RIF au sein des staphylocoques et des entérocoques. Cependant ce traitement peut altérer le microbiote intestinal avec notamment une diminution des bactéries à Gram positif aérobies et anaérobies.

141/33o 22/11/2012 - 17:00 - APOLLINAIRE 8

Experimental assessment of calcium-deficient apatite delivering daptomycin in acute osteomyelitis: a new effective approach?

G. Amador¹, H. Gautier², C. Desessard¹, V. Le Mabeque¹, A.F. Miègeville¹, J.M. Boulter², P. Weiss², G. Potel¹, J. Caillon¹, C. Jacqueline¹
¹EA 3826 ²INSERM UMRS 791, Nantes, France

Background: Calcium-deficient apatites (CDA) can be associated with antibiotics to form drug-delivery systems. Daptomycin is considered as an alternative to vancomycin for MRSA strains with a vancomycin MIC ≥ 2 µg/mL. However, treatment by daptomycin must not be managed alone because of a rapid emergence of resistant mutants. The aim of this work was to assess the *in vivo* contribution of daptomycin introduced by wet granulation onto CDA granules and to compare the antimicrobial activity after 4 days, with or without systemic treatment.

Methods: Femoral trepanation of rabbits was performed, followed by injection of 1 mL10⁹ CFU MRSA (daptomycin MIC=2µg/mL) into the knee cavity. A surgical debridement of the infected tissues was performed 3 days later and animals were randomly assigned to: D_(IV) (computer-controlled infusion syringe pump simulating a human-equivalent dose of 6 mg/kg once daily for 4 days), D_(CDA10%) or D_(CDA25%) or D_(CDA50%) (100 mg CDA with daptomycin 100, 250 or 500 µg/mg respectively), and D_(IV) + D_(CDA10%) or D_(CDA25%) or D_(CDA50%) (100 mg CDA with daptomycin filling in addition to IV infusion). Surviving bacteria were counted in bone marrow (BM) and bone (BO) at days 3 and 7 (4-days treatment).

Results:

| Treatment | n | Mean ± SD Dlog ₁₀ CFU/g of tissue (day 7 – day 3) | |
|---|---|--|---------------------------|
| | | BM | BO |
| D _(IV) | 8 | -0.69 ± 0.62 | -0.85 ± 1.01 |
| D _(CDA10%) | 5 | -3.28 ± 2.21 | -5.62 ± 2.48 ^a |
| D _(IV) + D _(CDA10%) | 6 | -4.63 ± 2.53 ^a | -2.48 ± 1.47 ^a |
| D _(CDA25%) | 6 | -2.25 ± 3.54 | -2.35 ± 1.45 |
| D _(IV) + D _(CDA25%) | 6 | -2.17 ± 2.89 | -4.63 ± 1.28 ^a |
| D _(CDA50%) | 5 | -1.53 ± 2.53 | -4.12 ± 1.12 ^a |
| D _(IV) + D _(CDA50%) | 6 | -5.23 ± 2.22 ^a | -7.28 ± 1.87 ^b |

n: number of animals. / a: P<0.05 vs D_(IV) / b : P<0.01 vs D_(IV)

Student-Newman-Keuls test after ANOVA.

Conclusions: (1) D_(IV) was not effective after a 4-day treatment of MRSA. (2) D_(IV) + D_(CDA50%) was the most efficient group with a) about 50% of sterile samples b) only 8% of samples exhibiting mutants (25 to 70% in the other groups). (3) This local delivery system of daptomycin showed excellent results and could be a clinical response to osteomyelitis, associated to rifampicin or gentamicin.

142/33o 22/11/2012 - 17:15 - APOLLINAIRE 8

Titanium device with pH-sensitive gentamicin-grafted nanoparticles for orthopaedics (TiGnp): *in vitro* assessment.

G. Amador¹, L. Pichavant², G. Potel¹, J. Caillon¹, V. Heroguez³, M.C. Durrieu², A. Hamel¹, C. Pfirmann¹, C. Jacqueline¹

¹EA 3826, Nantes ²CBMN UMR5248 ³LCPO CNRS UMR5629, Pessac, France

Background: The immuno-incompetent zone around an implant, the production of biofilm and the relatively poor availability of antibiotics from the blood stream at the site of infection probably contribute to the prosthesis-related infection failure treatment. Most of them are resulting from per-operative contamination with *Staphylococcus* sp, therefore inflammation and acidic local conditions. The grafting of particles onto the biomaterial in a covalent way increases the specific surface and confers a pH-sensitive release of gentamicin in its native form. The aim of this study is to assess the *in vitro* efficacy of the TiGnp to inhibit MRSA growth at different pH and bacterial loads.

Methods: For pH efficacy assessment, 200µL gentamicin eluates at pH solutions pH=4, 5, 6 or 7 were mixed in microplate with 100µL MRSA 10⁸ CFU/mL suspension. Potent inoculum effect was tested from 10² to 10⁸ CFU/mL at pH 6 and 7. Bacterial growth was confirmed by a cloudy BHI observation.

Results:

1. Gentamicin grafted onto nanoparticles on titanium devices, showed an anti-MRSA activity at pH 4 after 2 days.
2. Bacterial growth was observed after 2 days for pH 5 and 6 in 25% of cases, but not after 4 days.
3. pH 7 totally inhibit the gentamicin release from nanoparticles.
4. TiGnp inhibit bacterial loads lower to 10⁵ CFU/mL

Conclusions: TiGnp is able to release gentamicin in inflammatory conditions and inhibit MRSA per-operative loads *in vitro*.

144/35s 22/11/2012 - 16:20 - AMPÈRE 5

Développement des outils du diagnostic microbiologique.

P.E. Fournier

Aix-Marseille Université, URMITE, UM63, CNRS 7278, IRD 198, Inserm 1095, Faculté de Médecine, Marseille, France

Le diagnostic des endocardites repose avant tout sur les hémocultures usuelles. Cependant, dans 2,5 à 31 des cas selon les séries, les hémocultures restent négatives, posant le problème de l'adaptation thérapeutique et de l'identification de la source du microorganisme responsable. La disparité en incidence des endocardites à hémocultures négatives (EIHN) peut être expliquée par plusieurs facteurs dont: i) des différences dans les critères utilisés; ii) des variations dans l'antibiothérapie précoce avant hémocultures; iii) le rôle de pathogènes inconnus; iv) des facteurs épidémiologiques spécifiques, comme pour les agents de zoonoses et v) les étiologies non infectieuses. Parmi les micro-organismes fastidieux, *Coxiella burnetii*, l'agent de la fièvre Q, et *Bartonella* sp. semblent être les plus communs. Les autres bactéries, dont *Brucella* sp., *Abiotrophia* sp., *Tropheryma whipplei*, *Legionella* sp., et les mycobactéries sont moins fréquentes. Depuis 2001, nous utilisons un protocole de prélèvements et tests systématiques comportant des sérologies, la détection d'auto-anticorps, et quand cela est possible, la culture et la PCR sur les échantillons de valve cardiaque. A ce protocole a été ajouté en 2009 la détection des anticorps contre le porc an raison de la détection de tels anticorps chez des patients porteurs de bioprothèses valvulaires de porc. Pendant une période de 10 ans, nous avons étudié 1.334 patients avec EIHN, dont 1.230 considérées comme des endocardites possible selon les critères de Duke. Notre stratégie nous a permis d'identifier un agent étiologique chez 775 patients, dont *C. burnetii* dans 54.2% des cas, *Bartonella* sp. dans 19.2%, et d'autres bactéries fastidieuses dans 4.1% des cas (*T. whipplei* 2.6 %). Au total, les bactéries fastidieuses représentent 77.5% de tous les diagnostics d'EIHN. Au-delà des étiologies infectieuses, nous avons détecté 10 cas d'endocardite marastique, 12 cas d'endocardite de Libmann-Sacks, 4 autres maladies auto-immunes, and un cas d'EIHN à rechute chez un patient dont la seule cause possible était une allergie au porc. Nous suggérons que l'investigation d'une EIHN doit comporter de façon systématique les sérologies fièvre Q et *Bartonella* sp., les tests de PCR à large spectre et l'analyse histologique lorsque des biopsies valvulaires sont disponibles, et la détection d'auto-anticorps.

145/35s

22/11/2012 - 16:40 - AMPÈRE 5

Apport des modèles animaux.

A. Lefort

Service de Médecine Interne, Hôpital Beaujon, Clichy, et EA3964, Université Paris Diderot, Paris, France

L'utilisation des modèles animaux s'est très tôt avérée utile pour la compréhension de la physiopathologie et l'amélioration de la prise en charge de l'endocardite infectieuse. En effet, dès 1885, Ribbert démontre, en injectant à des animaux des staphylocoques enchâssés dans des granules de pommes de terre, la nécessité d'une lésion valvulaire pour permettre la greffe bactérienne endocarditique. L'année suivante, Wissokowitch introduit un guide métallique par la carotide interne droite de lapins et constate qu'une lésion valvulaire même superficielle constitue un facteur favorisant la greffe endocarditique (1). Par la suite, divers modèles ont été décrits, dans diverses espèces animales (chiens, chevaux, cochons, opossums, rats, lapins...), jusqu'à ce qu'en 1970 Garrison et Freedman (2) décrivent le modèle actuellement utilisé, légèrement modifié trois ans plus tard par Durack et Beeson (3).

Le modèle actuel repose sur l'insertion par la carotide interne droite de lapins néo-zélandais d'un cathéter en polyéthylène qui va être conduit par voie rétrograde jusqu'au ventricule gauche. Celui-ci va provoquer une lésion de l'endothélium valvulaire et la constitution d'une végétation fibrino-plaquettaire aseptique. Vingt-quatre heures plus tard, le cathéter étant laissé en place, un inoculum bactérien calibré est injecté par voie veineuse périphérique. Les bactéries vont alors coloniser la végétation et entraîner la constitution des végétations d'endocardite infectieuse (4).

Le modèle d'endocardite expérimentale du lapin présente l'avantage d'une physiopathologie proche de celle rencontrée chez l'homme. La possibilité de reproduire chez des groupes d'animaux homogènes une infection rare mais sévère chez l'homme et de contrôler différents facteurs qui peuvent intervenir dans le déroulement de l'infection, tels que l'agent infectieux, la durée d'évolution de l'infection ou le schéma thérapeutique, permet de cibler l'étude expérimentale sur tel ou tel aspect à étudier. Ce modèle constitue typiquement un modèle d'infection difficile à traiter, du fait d'un fort inoculum bactérien au sein des végétations, des caractéristiques bactériennes au sein de la végétation (phase stationnaire de croissance, formation de biofilms) et des difficultés de diffusion des antibiotiques, du caractère limité de l'intervention des défenses de l'hôte (absence de cellules phagocytaires au sein de la végétation) et en conséquence de l'émergence facilitée de mutants résistants. Un modèle d'endocardite expérimentale chez le rat a également été mis au point. Il présente l'avantage d'une plus grande simplicité et d'un moindre coût ; néanmoins, la taille des végétations étant beaucoup plus petite, ce modèle paraît plus éloigné de l'infection humaine. Il paraît moins performant pour l'évaluation thérapeutique, mais adapté aux études d'antibioprofilaxie (4,5).

Certaines limites doivent cependant rendre prudent dans l'extrapolation à l'homme des résultats des modèles : la persistance d'un cathéter rapproche plus l'infection de l'endocardite sur prothèse que sur valve native ; le délai entre l'infection et le traitement est toujours plus court chez l'animal que chez l'homme ; seules certaines souches bactériennes sont évaluées et les résultats ne sont pas extrapolables à l'ensemble des bactéries d'une espèce ; les caractéristiques de l'hôte diffèrent entre l'homme et l'animal et peuvent interagir différemment avec l'action des antibiotiques ; la pharmacocinétique des antibiotiques varie beaucoup en fonction de l'espèce et ce facteur doit être pris minutieusement en compte dans le choix des régimes thérapeutiques.

Les informations fournies par le modèle de Garrison et Freedman depuis le début de son utilisation sont très nombreuses. Le modèle a largement contribué à la compréhension de la physiopathologie de l'endocardite infectieuse : rôle des lésions cardiaques préalables, propriétés d'adhérence des germes responsables de l'endocardite, propriétés bactériennes permettant leur persistance in situ, rôle des plaquettes, mécanismes permettant l'invasion bactérienne et de la dissémination de l'infection, caractère limité des défenses de l'hôte (1, 6, 7). Le modèle est également très utile pour évaluer les conditions de l'efficacité des antibiotiques pour le traitement de l'endocardite infectieuse : détermination des paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques prédictifs de l'activité antibactérienne, évaluation comparative de différents régimes thérapeutiques, bénéfice des associations d'antibiotiques par rapport aux monothérapies, positionnement des nouvelles molécules. Du fait de la rareté de l'endocardite infectieuse, les études prospectives randomisées sont difficiles à réaliser, et bon nombre des recommandations de traitement de l'endocardite infectieuse ont été établies à partir des résultats des modèles animaux. Le modèle d'endocardite expérimentale a également permis d'établir l'intérêt de la prophylaxie (5). Enfin, les modèles sont particulièrement intéressants pour l'analyse des échecs de traitement. Pour citer quelques exemples, on a pu ainsi montrer que le caractère bactériostatique de l'activité de la tigécycline était le principal facteur limitant son activité dans l'endocardite infectieuse (8,9), que la discordance entre l'excellente activité *in vitro* et l'activité modérée *in vivo* de la daptomycine vis-à-vis des entérocoques résultait de sa forte liaison protéique (10), alors que la discordance entre la bonne activité *in vitro* et l'inactivité *in vivo* de l'association de quinupristine et de dalfofpristine vis-à-vis de *E. faecium* de phénotype MLS_B inducible résultait d'un défaut de diffusion de la dalfofpristine au centre des végétations (11,12), ou encore que les échecs thérapeutiques observés en cas d'utilisation de la teicoplanine pour le traitement d'infections à entérocoques de phénotype VanB (résistants à la vancomycine mais sensibles à la teicoplanine) résultaient de l'émergence de mutants résistants à cet antibiotique (13,14).

Les modèles d'endocardite expérimentale paraissent donc incontournables pour la compréhension de l'endocardite infectieuse et pour l'amélioration de sa prise en charge thérapeutique.

Références :

1. Contrepois A. Notes on the early history of infective endocarditis and the development of an experimental model. *Clin Infect Dis* 1995;20:461-6.
2. Garrison P.K., Freedman L.R. Experimental endocarditis. I: Staphylococcal endocarditis in rabbits resulting from placement of a polyethylene catheter in the right side of the heart. *Yale J Biol Med* 1970;42:394-410.
3. Durack D.T., Beeson P. B., Petersdorf R.G. Experimental bacterial endocarditis. III: Production and progress of the disease in rabbits. *Br J Exp Pathol* 1973;54:142-51.
4. Lefort A., Fantin B. Rabbit model of bacterial endocarditis. In: *Handbook of animal models of infection*, O. Zak and M.A. Sande, (Ed.). 1999;611-7.
5. Glauser M.P., Francioli P. Relevance of animal models to the prophylaxis of infective endocarditis. *J Antimicrob Chemother* 1987;20:87-93.
6. Moreillon P. Infective endocarditis. *Lancet* 2004;363:139-49.
7. Tunkel A.R., Scheld W.M. Experimental models of endocarditis. In: *Infective endocarditis*, 2nd edn (ed. Kaye D.). 1992;37-56. Raven Press, New York.
8. Jacqueline C., Amador G., Batard E., Le Mabeque V., Miegville A.F., Biek D., et al. Comparison of ceftaroline fosamil, daptomycin and tigecycline in an experimental rabbit endocarditis model caused by methicillin-susceptible, methicillin-resistant and glycopeptide-intermediate *Staphylococcus aureus*. *J Antimicrob Chemother* 2011;66:863-6.
9. Lefort A., Lafaurie M., Massias L., Petegnief Y., Saleh-Mghir A., Muller-Serieys C., et al. Activity and diffusion of tigecycline (GAR-936) in experimental enterococcal endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:216-22.
10. Caron F., Kitzis M.D., Gutmann L., Cremieux A.C., Maziere B., Vallois J.M., Saleh-Mghir A. et al. Daptomycin or teicoplanin in combination with gentamicin for treatment of experimental endocarditis due to a highly glycopeptide-resistant isolate of *Enterococcus faecium*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992;36:2611-6.
11. Fantin B., Leclercq R., Ottaviani M., Vallois J.M., Maziere B., Duval J. et al. *In vivo* activities and penetration of the two components of the streptogramin RP59500 in cardiac vegetations of experimental endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1994;38:432-7.
12. Fantin B., Leclercq R., Garry L., Carbon C. Influence of inducible cross-resistance to macrolides, lincosamides and streptogramin B-type antibiotics in *Enterococcus faecium* on activity of quinupristin-dalfopristin *in vitro* and in rabbits with experimental endocarditis. *Antimicrob Agents Chemother* 1997;41:931-5.
13. Aslangul E., Baptista M., Fantin B., Depardieu F., Arthur M., Courvalin P. et al. Selection of glycopeptide-resistant mutants of VanB-type *Enterococcus faecalis* BM4281 *in vitro* and in experimental endocarditis. *J Infect Dis* 1997;175:598-605.
14. Lefort A., Arthur M., Depardieu F., Chau F., Pouzet C., Courvalin P. et al. Expression of glycopeptide-resistance gene in response to vancomycin and teicoplanin in the vegetations of rabbits infected with VanB-type *Enterococcus faecalis*. *J Infect Dis* 2004;189:90-7.

146/35s 22/11/2012 - 17:00 - AMPÈRE 5

L'évolution des recommandations d'antibioprophylaxie.

X. Duval

GHU Bichat-Claude Bernard, Paris, France

Le pronostic de l'endocardite infectieuse ne s'est que peu amélioré au cours des dernières décennies malgré les progrès de la chirurgie de réparation ou de remplacement valvulaire : le taux de mortalité intra hospitalière est en effet d'environ 20% dans les larges séries récentes, et la mortalité à 5 ans s'élève aux environs de 40%. Toutes les mesures conduisant à réduire la survenue de cette maladie sont donc souhaitables.

La prophylaxie de l'endocardite infectieuse a reposé pendant de nombreuses années sur l'administration d'un antibiotique actif sur les microorganismes responsables d'endocardite dans l'heure qui précède la réalisation d'une procédure considérée à risque de bactériémie chez des individus appartenant à une population à incidence élevée d'endocardite. Cette prophylaxie antibiotique a ainsi concerné de 1954 à 2002, la plupart des patients présentant des cardiopathies cyanogènes, des valvulopathies congénitales ou acquises avec régurgitation ainsi que les patients porteurs de prothèse valvulaire ou ayant des antécédents d'endocardites.

Cette attitude a été remise en question à la fin des années 1990 du fait de 2 grands arguments : 1/ l'absence d'argument en faveur de l'efficacité de l'antibioprophylaxie dans la plupart des études cas témoins et 2/ la découverte de la survenue de bactériémies spontanées à la suite d'activités quotidiennes (brossage des dents, mastication).

Dans le contexte de la juste prescription de l'antibiothérapie, les recommandations françaises de prophylaxie de l'endocardite établies en 2002 ont été les premières à réduire le champ de l'antibioprophylaxie obligatoire aux seuls patients à très haut risque d'endocardite (cardiopathies cyanogènes non opérées, prothèses cardiaques, antécédents d'endocardite) devant subir un nombre réduit de procédures. Ces recommandations soulignaient l'importance de l'hygiène générale comme la principale action de prévention de l'endocardite infectieuse.

Cette réduction des indications a été suivie par la British Society for Antimicrobial Chemotherapy en 2006 puis par l'American Heart Association en 2007, cette dernière réservant l'antibioprophylaxie aux seuls patients à haut risque de décès de l'endocardite et d'incidences élevées (prothèses cardiaques, antécédents d'endocardite et cardiopathies cyanogènes non opérées) et à la seule condition qu'ils subissent un soin bucco dentaire

entraînant une effraction de la muqueuse buccale, une manipulation de la gencive, ou une manipulation périapicale.

Cette attitude a été adoptée par la société européenne de cardiologie en 2009, puis par le groupe de travail de l'AFSSAPS sur la prescription des antibiotiques en pratique bucco-dentaire en 2011. Ce dernier a adjoint aux recommandations une liste d'actes bucco-dentaires contre indiqués chez les individus à haut risque d'endocardite, car considérés à très fort risque de bactériémies et non indispensables aux soins du patient, comme par exemple, l'anesthésie intra-ligamentaire ou la mise en place d'implant. Les anglo-saxons avaient pour leur part adopté une attitude plus radicale en 2008 en ne recommandant plus l'antibioprophylaxie de l'endocardite.

Trois études ont analysé les conséquences sur l'épidémiologie de l'endocardite infectieuse de ces modifications drastiques des pratiques d'antibioprophylaxie. La première, anglo-saxonne, parue en 2011, fondée sur l'analyse des codages d'hospitalisations, n'a pas mis en évidence d'augmentation significative du nombre d'endocardites, que l'on analyse l'ensemble des cas ou ceux rapportés aux streptocoques de la cavité buccale ; dans le même temps, les auteurs rapportaient une diminution d'environ 70% de la dispensation d'antibiotiques pour prophylaxie de l'endocardite. Début 2012, l'AEPEI publiait les résultats de l'enquête épidémiologique française de 2008-2009 et la comparaison des tendances épidémiologiques depuis 1991. L'incidence de l'endocardite n'avait pas augmenté en France entre 1999 et 2008-2009, que l'on analyse l'ensemble des endocardites, celles à streptocoque viridans chez les patients n'ayant pas de cardiopathies connues ou chez ceux ayant une cardiopathie à risque d'endocardite infectieuse. La dernière étude provient des USA, qui sur un petit effectif de patient, ne notait pas d'augmentation de l'incidence des endocardites à streptocoque viridans.

Dans chacune de ces études, c'est l'incidence des endocardites à *Staphylococcus aureus* qui augmente, en particulier dans la population âgée et chez les patients sans cardiopathie préalablement identifiée à risque d'endocardite. Ces endocardites sont, dans un nombre important de cas, liées aux soins, en particulier à l'utilisation de cathéters.

La politique d'antibioprophylaxie a donc connu un bouleversement majeur au cours des 10 dernières années dans le monde. A ce jour, il n'existe pas de preuve que la réduction des indications d'antibioprophylaxie ait entraîné d'augmentation de l'incidence de l'endocardite. Cependant, une surveillance épidémiologique prolongée est nécessaire afin d'éliminer avec certitude l'absence d'effet. Les recommandations de prophylaxie doivent continuer à renforcer les mesures d'hygiène et à lutter contre les infections nosocomiales qui représentent maintenant un tiers des étiologies de l'endocardite.

Références :

1. Prescription des antibiotiques en pratique bucco-dentaire, AFSSAPS 2011.
2. Temporal trends in infective endocarditis in the context of prophylaxis guideline modifications: three successive population-based surveys. Duval X. et al. *J Am Coll Cardiol*. 2012 May 29;59(22):1968-76.
3. Infective endocarditis prophylaxis: moving from dental prophylaxis to global prevention? Chirouze C. et al. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2012 Sep;31(9):2089-95.

147/36o 22/11/2012 - 16:00 - AMPÈRE 8

Diagnostic microbiologique moléculaire des épisodes de diarrhées aiguës sévères du patient adulte transplanté de rein.

N. Lévêque⁶⁻³, J.F. Coste⁶, V. Vuible⁷, N. Noël⁷, A. Debrumetz⁷, A. de Rougemont², L. Benejat¹, A. Wolak⁸, I. Villena⁵, C. de Champs⁴, P. Rieu⁷, L. Andréoletti⁶⁻³

¹CNR *Campylobacters* et *Helicobacters*, Université de Bordeaux Segalen, Bordeaux ²CNR des virus entériques, CHU de Dijon, Dijon ³EA-4684 *Cardiovir*, SFR-CAP santé, Faculté de médecine ⁴Laboratoire de bactériologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims ⁵Laboratoire de parasitologie, Hôpital Maison Blanche, CHU de Reims ⁶Laboratoire de virologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims ⁷Service de néphrologie, Hôpital Maison Blanche, CHU de Reims ⁸Unité d'aide méthodologique, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims, Reims, France

Contexte : La diarrhée en transplantation rénale est une complication fréquemment attribuée au traitement immunosuppresseur en l'absence de cause infectieuse prouvée.

Objectif : Améliorer le diagnostic microbiologique par la réalisation de tests moléculaires.

Patients : Tous les patients adultes transplantés de rein suivis au CHU de Reims ayant présenté un épisode de diarrhées aiguës sévères (≥3 selles/jour >7 jours et/ou perte de poids ≥2kgs et/ou fièvre et/ou glaires et/ou sang dans les selles et/ou motif d'hospitalisation) entre septembre 2010 et novembre 2011.

Méthodes : Réalisation d'une coproculture standard, d'une recherche de *Clostridium difficile*, d'un examen parasitologique des selles, d'une recherche par tests rapides des rotavirus, adénovirus et norovirus à réception des selles. Analyse rétrospective des échantillons collectés par 7 troupes de biologie moléculaire (xTAG GPP, Luminex molecular diagnostics; Seeplex Diarrhea ACE detection, Seegene; Gastroenteritis viruses, Gastroenteritis parasites Diagenode; RIDAGENE Norovirus, EHEC/EPEC, r-biopharm; CLART EnteroBac, Genomica). Recueil des données démographiques, cliniques, biologiques et thérapeutiques à la date de prélèvement.

Résultats : Cinquante-quatre épisodes de diarrhées sévères survenus chez 49 patients ont été recensés. Un ou plusieurs pathogènes entériques ont été mis en évidence par biologie moléculaire dans 39 épisodes (72%), contre 13

(24%; $p=0,0056$) par le diagnostic microbiologique classique. Les 3 principaux pathogènes détectés par (RT-) PCR étaient les *E. coli* entéropathogènes ($n=15(38\%)$), les campylobactères ($n=15(38\%)$) et les norovirus ($n=14(36\%)$). Parmi les 39 échantillons positifs, le diagnostic moléculaire a identifié 15 infections multiples non détectées par les techniques microbiologiques classiques. Le protocole d'immunosuppression associant ciclosporine et mycophénolate mofétil était associé à un risque accru de développer une gastro-entérite virale ($p=0,001$; odds ratio: 5,8). Les infections à norovirus étaient responsables d'une perte de poids supérieure aux autres causes de diarrhées ($-3\text{kg} \pm 2,7$; $p=0,048$). Les patients souffrant d'une infection entérique multiple présentaient un nombre de selles par jour significativement supérieur à celui des patients souffrant d'une infection entérique simple ($p=0,039$).

Conclusion : En améliorant significativement le diagnostic microbiologique des épisodes de diarrhées du patient transplanté rénal, les techniques moléculaires sont susceptibles d'éviter des modifications inutiles du traitement immunosuppresseur limitant les risques de rejets du greffon.

148/360 22/11/2012 - 16:15 - AMPÈRE 8

Infections virales d'origine alimentaire : données de prévalence Norovirus et virus des hépatites A et E.

F. Loisy, S. Hattet, G. Letournier, A. Delage, B. Lebeau
Ceeram, La Chapelle sur Erdre, France

Les virus entériques sont reconnus comme une cause majeure de toxico-infections alimentaires collectives; les norovirus étant les plus fréquemment impliqués. Les origines de contamination sont multiples. Pour mener des enquêtes épidémiologiques, des méthodes pour rechercher ces virus dans les aliments et faire une corrélation avec les cas cliniques sont nécessaires.

Basée sur la future méthode standard européenne, les méthodes ont été optimisées pour permettre une détection virale quelle que soit la matrice soumise à l'essai. Après élution et concentration virale, les ARN sont extraits avec des billes de silice magnétique puis détectés avec les kits de RT-PCR en temps réel ceeramTools™. Après validation des méthodes, une étude de prévalence (NoV, VHA, VHE) a été menée sur une collection d'échantillons (1766) regroupant différents types d'aliments.


La méthode a démontré une limite de détection à 500 copies de génome pour toutes les matrices. Sur 1766 échantillons testés, 3,3% ont été positifs en NoV GI, 7,5% en Nov GII, 2,4% en HAV. Sur 440 échantillons testés en HEV, un taux de détection (0,9%), du même ordre que celui observé pour HAV, a été détecté.

Des échantillons de tomates séchées soupçonnés à l'origine d'une épidémie d'hépatite A en Australie (plus de 300 cas) ont été analysés. Une souche identique à celle retrouvée chez les malades a été séquencée. Ces résultats ont permis de mettre en place des actions rapides à l'échelle internationale pour limiter les cas cliniques.

Ces données démontrent l'intérêt des outils développés pour réaliser des études épidémiologiques et assurer une meilleure sécurité alimentaire. Pour réaliser des études complètes une gamme de kits ceeramTools marqués CE-IVD a été développée sur un panel de 12 virus à transmission entériques (norovirus GI, GII, GIV, virus des hépatites A et E, rotavirus, astrovirus, entérovirus, sapovirus, virus Aïchi, Adénovirus 40/41).

149/360 22/11/2012 - 16:30 - AMPÈRE 8

Entérovirus 68, un pathogène émergent des voies respiratoires basses chez les enfants hospitalisés pour maladies respiratoires aiguës, 2009-2010, Reims, France.

F. Renois, A. Bouin, L. Andréoletti
Unité de Virologie Médicale et Moléculaire EA-4684-CardioVir, 
Faculté de Médecine et CHU, Reims, France

Objet de l'étude : Depuis sa découverte en 1962 en Californie à partir de prélèvements respiratoires obtenus d'enfants atteints de bronchiolite ou de pneumonie, peu d'infections à entérovirus 68 (EV-D68) ont été rapportées. Cependant au cours des trois dernières années, des souches EV-D68 ont été isolées au Japon, aux Philippines, en Europe et aux États-Unis. A ce jour l'EV-D68 est considéré comme un agent pathogène émergent des voies respiratoires. Mais la difficulté de détection des EV-D68 mène à une sous-estimation de la prévalence et du rôle des infections à EV-D68 dans les pathologies respiratoires aiguës en pédiatrie.

Méthodes : De septembre 2009 à juin 2010, 675 aspirations naso-pharyngées ont été collectées chez des enfants (1 an). Une extraction des acides nucléiques a été réalisée sur les prélèvements (NucliSens EasyMag, Biomérieux) suivie d'une RT-PCR quantitative en sonde Taqman® spécifique de la région 5' non codante (5'NC) du genre Entérovirus (entérovirus et rhinovirus) pour la détection et la quantification de la charge virale. Les échantillons positifs ont alors été typés par amplification de la région génomique VP4/VP2. Les échantillons positifs à EV-D68 ont été également amplifiés sur les régions VP1 et 5'NC afin d'identifier la clade et les variants.

Résultats obtenus : Nous avons pu détecter 335 (49,6%) Entérovirus sur les 675 prélèvements collectés avec une charge virale moyenne de $6,3 \times 10^7$ copies/ml. Sur les 335 positifs, 84 ont pu être séquencés: avec 49 RHV-C (58,3%); 24 RHV-A (28,6%); 1 RHV-B (1,2%) et 10 EV-D68 (11,9%). L'analyse phylogénétique des régions 5'NC, VP1 et VP4/VP2 ont montré que les 10

souches EV-D68 isolées sont regroupées et appartiennent toutes à la clade C.

Conclusion : Nous apportons la preuve qu'au cours de l'automne 2009 en France, des souches EV-D68 étaient responsables d'une proportion non négligeable des cas pédiatriques hospitalisés pour maladies respiratoires aiguës (wheezing et bronchiolite sévère). Nos résultats fournissent de nouvelles informations sur le potentiel tropisme spécifique des voies respiratoires inférieures du EV-D68 clade C et d'accroître notre prise de conscience du rôle clinique de ces souches.

Mots clés : Entérovirus 68, enfants hospitalisés, wheezing, bronchiolite, charge virale, analyse phylogénétique.

150/360 22/11/2012 - 16:45 - AMPÈRE 8

Infections virales respiratoires chez les patients transplantés.

A. Chabrol², C. Tcherakian², E. Catherinot², E. Rivaud², E. Gault¹, L.J. Couderc²

¹Hôpital Ambroise Paré Service de Virologie, Boulogne ²Hôpital Foch Service de Pneumologie, Suresnes, France

Introduction : Les patients transplantés sont à risque important de développer une infection d'u fait de leur traitement immunosuppresseur. En cas de symptomatologie respiratoire ou ORL, les patients sont souvent mis de façon empirique sous antibiotiques. Nous souhaitons nous intéresser à l'épidémiologie des infections virales communautaires chez les patients transplantés pulmonaires, rénaux et de CSH.

Patients et méthodes : Nous avons inclus tous les patients majeurs transplantés pulmonaires, rénaux et de CSH présentant une symptomatologie respiratoire ou ORL étant hospitalisé à Foch. L'étude s'est déroulée sur une période de un an de novembre 2011 à novembre 2012. Selon la symptomatologie les patients bénéficiaient soit d'un écouvillon nasal ou d'un LBA sur lesquels étaient réalisés des PCR VRS, PIV, grippe, métagonovirus, chlamydia et mycoplasme. On s'intéressait par ailleurs à l'existence d'une co infection bactérienne et si les résultats modifiaient la thérapeutique.

Résultats : 130 patients inclus entre novembre et mai 2012. nous avons eu 36 prélèvements positifs (27,8%) dont 2 avec une co infection virale. Les virus retrouvés étaient 12 grippe (31,6%); 14 HMPV (36,8%); 10 VRS (26, 3%); 2 PIV (5,3%). Aucune co infection par le mycoplasme ou le chlamydia n'a été mise en évidence. Chez 16 patients (44,5%), il s'agissait d'une infection virale isolée.

Conclusion : Les infections virales chez les patients transplantés sont fréquentes et dans plus de 50% des cas elle est associée à une surinfection bactérienne.

PS : les résultats seront mis à jour au fil de l'année.

151/360 22/11/2012 - 17:00 - AMPÈRE 8

La mutation G1896A serait-elle impliquée dans le portage inactif du virus de l'hépatite B ?

A. Ducancelle², A. Pivert², V. Thibault⁸, E. Gordien⁵, H. Gohier², S. Castellain¹, B. Roquebert⁷, V. Mackiewicz⁶, E. Schvoerer¹⁰, S. Larrat³, S. Maylin⁹, S. Alain⁴, F. Lunel-Fabiani²

¹Unité de virologie clinique et fondamentale, EA 4294, CHU Amiens, Amiens ²Laboratoire de virologie, UPRES EA 3859, CHU Angers, Angers ³Laboratoire de virologie, CHU Grenoble, Grenoble ⁴Département de virologie, UMR INSERM 1092, CHU Dupuytren, Limoges ⁵Laboratoire de virologie, CHU Avicenne ⁶Laboratoire de virologie, Hôpital Beaujon ⁷Laboratoire de virologie, Hôpital Bichat ⁸Laboratoire de virologie, Hôpital La Pitié-Salpêtrière, CERVI ⁹Laboratoire de virologie, Hôpital Saint-Louis, Paris ¹⁰Laboratoire de virologie, CHU Strasbourg, Strasbourg, France

Objet de l'étude : Le rôle des mutants précoces (PC) du virus de l'hépatite B (VHB) dans la sévérité des lésions hépatiques reste controversé. Nous avons mené une étude nationale, financée par l'ANRS, sur la prévalence de la mutation précoce G1896A (PC) et de la double mutation A1762T/G1764A du promoteur basal du core (PBC) chez des sujets atteints d'une infection chronique par le VHB non traités.

Méthodes : 157 patients ont été inclus à ce jour dans des centres hospitaliers parisiens et de province. La moyenne d'âge des sujets est de 41 ans (60% femmes et 40% hommes). La recherche des mutants PC et BCP a été réalisée au laboratoire de virologie du CHU d'Angers, par séquençage direct, sur trois sérums distants d'au moins 6 mois pour chaque patient.

Résultats : Le séquençage de la région PC/BCP montre qu'il y a une accumulation des mutations G1896A et A1762T/G1764A au cours du temps; la prévalence pour ces mutations est respectivement de 48% et de 37% après 2 ans de suivi. Les patients AgHBe (-) sont majoritairement infectés par des souches de phénotype PC muté (63% versus 18% chez les sujets AgHBe (+); $p=0,001$). Les sujets avec des transaminases élevées sont majoritairement infectés par des souches de phénotype BCP muté (56% versus 34% chez les sujets avec des transaminases normales; $p=0,046$). Nous décrivons une prévalence plus élevée de la mutation G1896A isolée chez les patients aux scores de fibrose F0-F1 ($p=0,007$) alors que la double mutation A1762T/G1764A, associée ou non à la mutation G1896A, est majoritairement retrouvée chez les patients aux scores de fibrose F2-F3-F4 ($p=0,005$).

Conclusion : Notre étude confirme les données de la littérature à savoir que les sujets porteurs d'un virus de phénotype BCP muté ont plus souvent des transaminases élevées et une fibrose hépatique sévère. Nous montrons également que les sujets infectés par un virus de phénotype PC muté ont plus souvent des transaminases normales et une fibrose minime. Ces résultats doivent être confirmés sur un plus large effectif. Nous pouvons émettre une hypothèse selon laquelle, au cours de l'histoire naturelle de l'hépatite B et selon les génotypes, la sélection d'un virus de phénotype PC muté permettrait le passage vers une forme inactive de la maladie hépatique.

152/36o 22/11/2012 - 17:15 - AMPÈRE 8

Intérêt de la détection urinaire des papillomavirus oncogènes (HPV-HR) par technique de PCR- temps réel (PCR-TR) au sein d'une population de patients infectés par le VIH.

V. Rabier^{2,3}, P. Fialaire³, Y. Vandamme³, J. Chenebault³, P. Abgueuen³, S. Fanello¹, E. Pichard³, F. Lunel-Fabiani², A. Ducancelle²

¹Département de santé publique, CHU ²Laboratoire de virologie, UPRES EA 3859, CHU ³Service des maladies infectieuses et tropicales, CHU, Angers, France

Objet de l'étude : Les infections à HPV-HR sont plus fréquentes dans la population infectée par le VIH. Elles occasionnent des cancers du col de l'utérus et de l'anus, nécessitant un dépistage annuel par frottis et anuscopie, méthodes invasives difficilement acceptées par cette population. Plusieurs études de grande ampleur ont montré l'intérêt de la recherche d'ADN d'HPV-HR sur prélèvements vaginaux dans le cadre du dépistage du cancer du col de l'utérus. En 2004, l'étude PAPU, utilisant une technique de PCR-TR dans les urines développée dans le laboratoire de virologie du CHU d'Angers, a montré une bonne concordance entre prélèvements vaginaux et urinaires pour la détection d'HPV-HR. C'est dans ce contexte que nous avons souhaité évaluer l'intérêt d'un test commercial de PCR-TR sur les urines prélevées chez les femmes et les hommes infectés par le VIH.

Matériel et méthodes : Cette recherche a été proposée aux patients suivis pour une infection VIH au CHU d'Angers (n=620). Les prélèvements vaginaux, urinaires et anaux ont été prélevés puis conservés sur milieu de transport Cervi-collectO. La méthode Abbot Real Time High Risk HPV[®] a été utilisée pour la détection des HPV-HR (16, 18 et autres HPV HR) sur les trois types de prélèvements.

Résultats : 85 femmes et 133 hommes ont été inclus dans l'étude. L'âge moyen des femmes et des hommes était respectivement de 43 et 49 ans et le taux moyen de CD4 de 647 el/mm³ et 564 el/mm³. La concordance entre les résultats des PCR-TR HPV réalisées sur prélèvements vaginaux et urinaires était de 81%. Les prévalences d'HPV-HR retrouvées sur prélèvements vaginaux (40%) et urinaires (35%) n'étaient pas statistiquement différentes (p=0.52). La prévalence d' HPV-HR sur prélèvements urinaires chez les hommes était de 6%.

Conclusion : Comme dans l'étude PAPU, nous démontrons une bonne corrélation entre prélèvement vaginal et urinaire chez la femme séropositive pour la détection d'HPV-HR. Ce test urinaire pourrait donc être utilisé dans le suivi de ces femmes. La prévalence d'HPV-HR obtenue dans cette population est trois fois plus élevée que dans la population générale. Pour les hommes, la prévalence d'HPV-HR urinaire est très inférieure aux données de la littérature et les performances analytiques du test doivent être améliorées.

153/37s 22/11/2012 - 16:00 - AMPÈRE 9

Cartographie à grande échelle des populations de mycobactéries à croissance rapide du réseau hydrique à Paris.

S. Dubrou⁴, J. Konjek^{5,2}, E. Macheras^{5,2}, T. Tully¹, B. Weltz³, L. Guidicelli⁴, E. Chignon⁴, M. Joyeux³, J.L. Gaillard^{5,2}, B. Heym^{5,2}, G. Sapriel^{5,2}

¹CNRS/UPMC/ENS - UMR 7625, Laboratoire Écologie et Évolution, UPMC ²EA 3647, UFR des Sciences de la Santé Paris Ile-de-France Ouest, UVSQ ³Eau de Paris, Direction de la recherche, du développement et de la qualité de l'eau ⁴Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris ⁵Service de Microbiologie, Hôpital Ambroise Paré, Boulogne-Billancourt, France

Structure of RGM species communities in Paris drinking water system : Non pigmented and late pigmented rapidly growing mycobacteria (RGM) are ubiquitous organisms of soil and water environments (1, 2, 3) commonly found in distribution water systems (4, 5, 6). Most are harmless, but some are opportunistic pathogens of increasing concern in humans (8, 9, 10). An increase in the number of NTM infections involving non-pigmented and late-pigmented rapidly growing mycobacteria (RGM) has recently been reported (11, 12). Among RGM, *Mycobacterium fortuitum*, *Mycobacterium abscessus* and *Mycobacterium chelonae* are the commonest RGM pathogens. These pathogens can cause a wide spectrum of diseases in humans, including pulmonary tract infections, skin and soft-tissue infections and disseminated infections (13, 14). These infections occur mostly, but not exclusively, in patients with predisposing conditions (e.g., cystic fibrosis, immunosuppressive therapy). However, workers exposed to contaminated water or dust may also be affected (15, 16). Many outbreaks of skin and soft-tissue infections have been reported over the last decade, following invasive procedures such as surgery, plastic surgery, intramuscular injections, tattooing (17, 18, 19). Most of the RGM species recovered from human infections are only slightly or moderately susceptible to most of the available antibiotics. It is thus difficult to develop curative protocols (20). Preventive strategies are therefore required to

control RGM infections.

Although RGM have been occasionally found in previous survey in drinking water systems (4, 5, 6), up to now, there is no clear picture of RGM species communities in these environments. Furthermore, little is known about the effects of water origin, treatment processes and storage on RGM development. In the present study, we carried out a three-year survey of RGM species identified by rpoB sequencing at various sites distributed over the entire Parisian drinking water treatment and distribution system. We studied RGM content in the Paris drinking water treatment and distribution system between 2007 and 2009 (1389 water samples were taken from 60 points in the system, covering all production units, water storage tanks and distribution systems units).

RGM were detected in 75% of samples, and their prevalence increased significantly along the storage and distribution network. Our study could also give a significant description of the RGM species community in Paris drinking water system, since 98% of the analysed isolates could be identified. Results showed that *M. chelonae* and *M. llatzerense* were the most frequently detected species, each of them representing one third of the isolates, respectively.

Hierarchical clustering based on species composition at each sampling point led to the characterization of three significantly distinct types of RGM species communities. Results showed that a specific geographical distribution of RGM species communities could be characterized. Interestingly water treatment plants were associated with a specific type of RGM community, containing species of the *M. fortuitum* group but none of the most prevalent species (i.e. neither *M. chelonae* nor *M. llatzerense*). On contrary, water distribution network was associated with other specific type of RGM communities, containing mainly *M. llatzerense*, and/or *M. chelonae*.

Statistical independence tests showed that, within water distribution network, RGM communities type was strongly linked to kind of water origin (i.e. groundwater versus surface water), and to the position along distribution network (i.e. production site exit, storage tanks, and distribution units). RGM community dominated by *M. llatzerense* was significantly associated with upstream network points, and with groundwater. On contrary, RGM community dominated by *M. chelonae* was significantly associated with downstream network points, and with surface water. Finally, our results clearly showed that *M. chelonae* prevalence specifically increased along water distribution network (and could explain 50% of global RGM increase), whereas *M. llatzerense* prevalence remained stable.

Thus, our study allowed to describe different type of RGM communities within Paris drinking water system, and showed that they follow a specific geographical distribution pattern. Our results also highlight the high level of contamination of water storage and distribution systems with one of the principal pathogenic RGM species, *M. chelonae*, that appear to be increasingly prevalent along water distribution system. However, up to now, we don't know what is the reason of this increase (specific ability to colonize pipe surface, mixing of water from different origins, physico-chemical parameters). Moreover, it is not known if these environmental populations of *M. chelonae* have infectious potential, or if they are harmless environmental strains. Further studies on water physico-chemical parameters, as well as molecular typing of these strains, are being performed in order to answer these questions.

References :

- Bland C. S., Ireland J. M., Lozano E., Alvarez M. E., and Primm T. P. 2005. Mycobacterial ecology of the Rio Grande. U.S. Patent 10. Applied and environmental microbiology. Am Soc Microbiol 71: 5719-5727
- Chilima B. Z., Clark I. M., Floyd S., Fine P. E. M., and Hirsch P. R. 2006. Distribution of environmental mycobacteria in Karonga District, northern Malawi. U.S. Patent 4. Applied and environmental microbiology. Am Soc Microbiol 72: 2343-2350.
- Covert T. C., Rodgers M. R., Reyes A. L., and Stelma G. N. 1999. Occurrence of Nontuberculous Mycobacteria in Environmental Samples. U.S. Patent 6. Applied and Environmental Microbiology. American Society for Microbiology 65: 2492-2496.
- Hilborn E. D., Covert T. C., Yakrus M. A., Harris S. I., Donnelly S. F., Rice E. W., Toney S., Bailey S. A., and Stelma Jr G. N. 2006. Persistence of nontuberculous mycobacteria in a drinking water system after addition of filtration treatment. U.S. Patent 9. Applied and environmental microbiology. Am Soc Microbiol 72: 5864-5869.
- Le Dantec C., Duguet J. P., Montiel A., Dumoutier N., Dubrou S., and Vincent V. 2002. Occurrence of mycobacteria in water treatment lines and in water distribution systems. U.S. Patent 11. Applied and environmental microbiology. Am Soc Microbiol 68: 5318-5325.
- Santos R., OLLVEIRA F., Fernandes J., Goncalves S., Macieira F., and Cadete M. 2005. Detection and identification of mycobacteria in the Lisbon water distribution system. Water science and technology. IWA 177-180.
- Parrish S. C., Myers J., and Lazarus A. 2008. Nontuberculous mycobacterial pulmonary infections in non-HIV patients. U.S. Patent 4. Postgrad Med 120: 78-86.
- Primm T. P., Lucero C. A., and Falkinham III J. O. 2004. Health impacts of environmental mycobacteria. U.S. Patent 1. Clinical microbiology reviews. Am Soc Microbiol 17: 98-106.
- Van Ingen J., Boeree M. J., Dekhuijzen P. N. R., and Van Soolingen D. 2009. Environmental sources of rapid growing nontuberculous mycobacteria causing disease in humans. U.S. Patent 10. Clinical Microbiology and Infection. Wiley Online Library 15: 888-893.
- O'Brien R. J., Geiter L. J., and Snider Jr D. E. 1987. The epidemiology of nontuberculous mycobacterial diseases in the United States. Results from a national survey. U.S. Patent 5. The American review of respiratory disease 135: 1007.
- Olivier K. N., Yankaskas J. R., and Knowles M. R. 1996. Nontuberculous mycobacterial pulmonary disease in cystic fibrosis. U.S. Patent 4. Semin Respir Infect. UNITED STATES 11: 272-84.

12. Howard S. T., and Byrd T. F. 2000. The rapidly growing mycobacteria: saprophytes and parasites. U.S. Patent 15. Microbes and infection. Elsevier 2: 1845-1853.
13. Ingram C. W., Tanner D. C., Durack D. T., Kernodle Jr G. W., and Corey G. R. 1993. Disseminated infection with rapidly growing mycobacteria. U.S. Patent 4. Clinical infectious diseases. Oxford University Press 16: 463-471.
14. Cayer M. P., Veillette M., Pageau P., Hamelin R., Bergeron M. J., Meriaux A., Cormier Y., and Duchaine C. 2007. Identification of mycobacteria in peat moss processing plants: application of molecular biology approaches. U.S. Patent 1. Canadian journal of microbiology. NRC Research Press 53: 92-99.
15. Chobot S., Malis J., Sebková H., Pelikán M., Zatloukal O., Palicka P., and Kocurová D. 1997. Endemic incidence of infections caused by *Mycobacterium kansasii* in the Karviná district in 1968-1995 (analysis of epidemiological data—review). U.S. Patent 4. Cent Eur J Public Health. CZECH REPUBLIC 5: 164-73.
16. Duarte R. S., Lourenço M. C. S., de Souza Fonseca L., Leão S. C., Efigenia de Lourdes T. A., Rocha I. L. L., Coelho F. S., Viana-Niero C., Gomes K. M., and da Silva M. G. 2009. Epidemic of postsurgical infections caused by *Mycobacterium massiliense*. U.S. Patent 7. Journal of clinical microbiology. Am Soc Microbiol 47: 2149-2155.
17. Kim H. Y., Yun Y. J., Park C. G., Lee D. H., Cho Y. K., Park B. J., Joo S. I., Kim E. C., Hur Y. J., and Kim B. J. 2007. Outbreak of *Mycobacterium massiliense* infection associated with intramuscular injections. U.S. Patent 9. Journal of clinical microbiology. Am Soc Microbiol 45: 3127-3130.
18. Kluger N., Muller C., and Gral N. 2008. Atypical mycobacteria infection following tattooing: review of an outbreak in 8 patients in a French tattoo parlor. U.S. Patent 7. Archives of dermatology. Am Med Assoc 144: 941.
19. Nessar R., Cambau E., Reytrat J. M., Murray A., and Gicquel B. 2012. *Mycobacterium abscessus*: a new antibiotic nightmare. Journal of Antimicrobial Chemotherapy. Br Soc Antimicrob Chemo.

154/37s 22/11/2012 - 16:20 - AMPÈRE 9

Pertinence du modèle zebrafish pour l'analyse de la virulence et de la sensibilité *in vivo* de *Mycobacterium abscessus* aux antibiotiques.

L. Kremer

Laboratoire de Dynamique des Interactions Membranaires Normales et Pathologiques, CNRS UMR5235, Université Montpellier 2, France

Relevance of the zebrafish model to investigate *Mycobacterium abscessus* virulence and its *in vivo* susceptibility to antibiotics

Mycobacterium abscessus is one major non tuberculous mycobacterium involved in acute and chronic pulmonary diseases in patients with Chronic Obstructive Pulmonary Disease or Mendelian diseases including IL-12R, IFN γ deficiencies. *M. abscessus* is also an important pathogen in cystic fibrosis patients, as exemplified by the last survey performed in France in 2004 [1] and its presence is particularly deleterious for transplantation. An important issue with this emerging pathogen relies on its intrinsic resistance to most available antibiotics, thus warranting the development of new therapeutic approaches to combat this microorganism. Although a rapid-grower, it shares several traits with *M. tuberculosis*, such as the ability to i) persist silently for years and even decades in the human host, and to ii) induce a lung disease associated with caseous lesions, a hallmark of *M. tuberculosis* infection.

M. abscessus exists in two forms: a Rough (R) cord-forming variant and a Smooth (S) non-cording variant. Both morphotypes of *M. abscessus* behave differently inside the host. Several *ex vivo* and *in vivo* studies have described the hyper-virulence phenotype of R morphotype as compared to S [2]. In human disease, several epidemiological studies have confirmed the persistence of the R morphotype as compared to the S morphotype of *M. abscessus* [3]. The major difference between R and S morphotypes is characterized by the loss of glycopeptidolipid (GPL), a bacterial surface-associated glycolipid. Highly virulent R variants induce important levels of TNF-secretion by macrophages. Interestingly, GPLs are known as metabolites required for sliding motility and for biofilm formation [4]. These molecules have also been suspected to play a role in virulence by inhibiting phagocytosis [5]. A model has been proposed where the loss of GPL will unmask the lipoproteins responsible for the pro-inflammatory response [6]. However, this model is still insufficient to explain the R behaviour *in vivo*, and it is very likely the R morphotype has to be associated with other important molecular events than the simple loss of GPL at the surface of the bacilli.

Because our understanding of the pathogenesis of *M. abscessus* has been hampered by the restricted panel of cellular/animal models available, we have developed and exploited the zebrafish embryo model of infection that also offers the possibility to easily manipulate the host response. Studying the infection of zebrafish embryos with *M. marinum* (a slow-growing mycobacteria that mostly infects fish and amphibians) has recently brought remarkable insights to the understanding of human tuberculosis [7]. Interestingly, the *M. abscessus* genome sequencing revealed the presence of a mercury-resistance plasmid found to be 100% similar to an episome harboured by *M. marinum*, suggesting that the two species have exchanged this plasmid and thus might share the same ecosystem [8], leading us to propose that zebrafish embryos may, as shown for *M. marinum*, also represent an attractive and useful experimental model to decipher and compare the physiopathological events characterizing the S/R variants of *M. abscessus*.

A microinjection protocol in the caudal vein was first developed and the fate and progression of the infection was monitored in real-time by fluorescence microscopy, thanks to the optical transparency of the embryo. In contrast to the S variant, the R morphotype induced a more robust and lethal infection in

zebrafish embryos, characterized by the rapid development of infection foci within the Central Nervous System (CNS). These findings are particularly interesting in the light of recent clinical studies reporting the presence of *M. abscessus* in the CNS of human infected patients [9,10]. The use of a mpx:GFP zebrafish transgenic line, exhibiting green fluorescent granulocytes, indicated that neutrophils are actively recruited to CNS infection foci. An intense pro-inflammatory response with production of IL-1 and TNF- α was measured by qRT-PCR. The role of TNF- α in the control of *M. abscessus* infection was subsequently confirmed using TNF-R morpholinos; TNF-R morphants were found to be extremely susceptible to *M. abscessus* infection. Next, the use of a mpeg1:mCherry transgenic line, exhibiting red fluorescent macrophages, demonstrated the presence of isolated or small aggregated bacilli within macrophages during early infection. In contrast, later stages were characterized by the presence of large mycobacterial aggregates extensively replicating extracellularly, with high capacity for the R variant to form serpentine cords, which failed to be phagocytized by macrophages. The high propensity of the R variant to form cords *in vivo* may, therefore, represent a strategy evolved by the R (but not S) *M. abscessus*, to escape the macrophage or avoid being phagocytized by macrophages or granulocytes. In addition, extracellular replication and cording enable mycobacteria to induce a strong inflammatory response, leading to rapid tissue damage (abscess) and to larval death.

Furthermore, we demonstrated that the model's utility to evaluate at a spatiotemporal level the action of several antimicrobial agents. Larvae infected with the R variant were directly soaked in water containing either clarythromycin or imipenem. High concentrations of drugs were associated to a strong reduction in bacterial burden, a progressive disappearance in the number and size of infection foci within the CNS, and a complete protection of the drug-treated larvae, at least with imipenem. Thus, this biological system allows to directly observe the *in vivo* effects of an antibiotic on *M. abscessus*-induced symptoms and infection. Importantly, because embryos are particularly suited for high throughput screening [11], we anticipate that optimization of this biological system may represent a useful *in vivo* platform dedicated to future identification of new antibacterials against this pathogen.

References :

1. Roux AL, Catherinot E, Ripoll F, Soismier N, Macheras E, et al. (2009) Multicenter study of prevalence of nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis in France. J Clin Microbiol 47: 4124-4128.
2. Catherinot E, Clarissou J, Etienne G, Ripoll F, Emile JF, et al. (2007) Hypervirulence of a rough variant of the *Mycobacterium abscessus* type strain. Infect Immun 75: 1055-1058.
3. Catherinot E, Roux AL, Macheras E, Hubert D, Matmar M, et al. (2009) Acute respiratory failure involving an R variant of *Mycobacterium abscessus*. J Clin Microbiol 47: 271-274.
4. Nessar R, Reytrat JM, Davidson LB, Byrd TF (2011) Deletion of the mmpl4b gene in the *Mycobacterium abscessus* glycopeptidolipid biosynthetic pathway results in loss of surface colonization capability, but enhanced ability to replicate in human macrophages and stimulate their innate immune response. Microbiology 157: 1187-1195.
5. Villeneuve C, Etienne G, Abadie V, Montrozier H, Bordier C, et al. (2003) Surface-exposed glycopeptidolipids of *Mycobacterium smegmatis* specifically inhibit the phagocytosis of mycobacteria by human macrophages. Identification of a novel family of glycopeptidolipids. J Biol Chem 278: 51291-51300.
6. Roux AL, Ray A, Pawlik A, Medjahed H, Etienne G, et al. (2011) Overexpression of proinflammatory TLR-2-signalling lipoproteins in hypervirulent mycobacterial variants. Cell Microbiol 13: 692-704.
7. Davis JM, Clay H, Lewis JL, Ghori N, Herbomel P, et al. (2002) Real-time visualization of mycobacterium-macrophage interactions leading to initiation of granuloma formation in zebrafish embryos. Immunity 17: 693-702.
8. Ripoll F, Pasek S, Schenowitz C, Dossat C, Barbe V, et al. (2009) Non mycobacterial virulence genes in the genome of the emerging pathogen *Mycobacterium abscessus*. PLoS One 4: e5660.
9. Talati NJ, Roupael N, Kuppalli K, Franco-Paredes C (2008) Spectrum of CNS disease caused by rapidly growing mycobacteria. Lancet Infect Dis 8: 390-398.
10. Lee MR, Cheng A, Lee YC, Yang CY, Lai CC, et al. (2012) CNS infections caused by *Mycobacterium abscessus* complex: clinical features and antimicrobial susceptibilities of isolates. J Antimicrob Chemother. 67:222-225.
11. Carvalho R, de Sonneville J, Stockhammer OW, Savage ND, Veneman WJ, et al. (2011) A high-throughput screen for tuberculosis progression. PLoS One 6: e16779.

155/37s 22/11/2012 - 16:40 - AMPÈRE 9

Les mycobactéries atypiques : de la souris à l'étude clinique chez l'homme.

C. Andrejak

CHRU, Amiens, France

Les infections à mycobactéries non tuberculeuses (MNT) sont en incidence croissante et, malheureusement, peu de molécules actives sont actuellement disponibles. Afin d'améliorer la prise en charge de ces patients, l'idéal est de tester différents antibiotiques et associations d'antibiotiques sur des modèles animaux. Les modèles animaux doivent mimer au mieux l'infection telle qu'elle se déroule chez l'homme. Jusqu'à récemment, les principaux modèles murins disponibles sont des modèles d'infection par voie intraveineuse. Par exemple, pour *M. xenopi*, une seule étude utilisant un modèle murin a été publiée et il s'agissait de souris beige infectées par voie intraveineuse (1). Pour *M. avium*

complex (MAC), la plupart des modèles utilisés sont des modèles d'infection par voie intraveineuse (2-4). Gangadharam et al, dès 1989, (5) avait comparé quatre voies d'infection : intraveineuse, intra-péritonéale, orale et intra-rectale. La voie intraveineuse mimait le mieux l'infection disséminée du patient VIH. Néanmoins, aujourd'hui, que ce soit pour *M. xenopi* ou MAC, la plupart des infections sont pulmonaires et la voie de contamination chez l'homme est à priori la voie inhalée. Il semble donc qu'un modèle murin d'infection par nébulisation de MNT mimerait mieux l'infection pulmonaire à MNT de l'homme. De plus, peu d'études ont comparé différentes espèces de souris en terme de « susceptibilité » à l'infection. La souris beige (C57Bl/6J bg/bg⁺) est l'espèce la plus souvent utilisée dans les modèles d'infection à MAC (4, 6, 7).

Avec l'équipe du Pr Grosset (Johns Hopkins University, Baltimore, USA), nous avons comparé plusieurs modèles murins d'infections pulmonaires à *M. xenopi* et MAC par aérosolisation de 4 espèces de souris différents, 2 espèces de souris immunocompétentes (BALB/c et C57Bl/6) et 2 espèces de souris immunodéprimées (C57Bl/6J bg/bg⁺ ou beige, déficientes en cellules natural killer et des souris athymiques nude) (8, 9). Pour chacune des deux espèces de MNT, 120 souris (30 souris de chaque espèce) ont été infectées simultanément par nébulisation en utilisant le système d'Inhalation Glas-Col (Glas-Col Inc., IN, USA). Chaque souris a été pesée de manière hebdomadaire à partir du jour qui a suivi l'infection jusqu'au jour du sacrifice. Cinq animaux de chaque groupe ont été sacrifiés le lendemain de l'infection (J1) pour établir les valeurs de bases pour le poids de la rate et le nombre de CFU des poumons et de la rate. Pour vérifier qu'au moins un de ces modèles animaux puisse être utilisé comme modèle d'infection à *M. avium* et à *M. xenopi* pour tester différentes associations d'antibiotiques, nous avons initié un traitement par clarithromycine après 28 jours d'infection (J28 ou S4) pour 10 souris de chaque groupe. Le traitement par clarithromycine (100 mg/kg dans 0,2 ml) a été administré quotidiennement par canule oesophagienne (gavage). La clarithromycine a été choisie car elle est un des antibiotiques utilisés dans les infections pulmonaires à MNT. Cinq souris non traitées de chaque groupe ont été sacrifiées 1, 2, 3, 4, 8, 12 et 23 semaines après infection (S1, S2, S3, S4, S8, S12, S23) et 5 souris traitées par clarithromycine de chaque groupe ont été sacrifiées après 1 et 2 mois de traitement.

Pour *M. xenopi* et MAC, une dissémination systémique de l'infection était retrouvée deux semaines après l'infection (présence de colonies dans la rate). Pour *M. xenopi*, la souris nude était la plus sensible à l'infection à *M. xenopi* avec une augmentation constante du nombre de CFU de 4,7 à 8,16 log₁₀ CFU entre J1 et S12, avec une réponse au traitement (dès le premier mois, la charge bactérienne a diminué de 1,5 à 2 log₁₀ par poumon). Pour MAC, la souris nude apparaissait la plus sensible à l'infection, avec une augmentation de 5,01 à 7,40 log₁₀ CFU entre J1 et S12. Mais, la réponse à la clarithromycine était plus claire pour les souris BALB/c (diminution de 3 log₁₀ CFU en 2 mois).

Nous avons donc choisi d'utiliser ces deux modèles murins d'infection par voie inhalée (Nude pour *M. xenopi* et BALB/c, meilleur compromis entre susceptibilité et réponse au traitement pour MAC) (8, 9). Pour ces deux expérimentations, les différents traitements ont été débutés 28 jours après l'infection. En effet, il s'agit d'un modèle « d'infection chronique ». Les antibiotiques sont ensuite administrés quotidiennement par canule oesophagienne avec des posologies adaptées à la pharmacocinétique de la souris (10 mg/kg/J pour la rifampicine (RIF), 100 mg/kg/J pour moxifloxacine (MXF), clarithromycine (CLR) et éthambutol (EMB)). L'administration de l'amikacine (AMK) était réalisée par voie sous cutanée. Enfin, la rifampicine était donnée 1 heure avant les autres antibiotiques afin d'éviter les interactions médicamenteuses. Pour évaluer l'efficacité des différentes combinaisons, 5 souris de chaque groupe étaient sacrifiées à intervalles réguliers, et leurs poumons étaient écrasés, dilués et mis en culture sur milieu solide 7H11 « sélectif ». Le nombre de CFU était mesuré après 28 jours d'incubation. Un groupe de souris non traitées étaient sacrifiées au même rythme.

Pour *M. xenopi*, ce travail avait mis en évidence que les associations contenant de la clarithromycine étaient les plus efficaces et aucune différence n'avait été mise en évidence entre les associations contenant de la clarithromycine et celles contenant de la moxifloxacine (RIF-EMB-CLR vs RIF-EMB-MXF et RIF-EMB-CLR-AMK vs RIF-EMB-MXF-AMK). Ces résultats sont à la base d'un essai thérapeutique chez l'homme (essai CaMoMy) comparant deux associations (RIF-EMB-CLR vs RIF-EMB-MXF) en terme d'efficacité, de mortalité et de tolérance. (10) Pour comparer ces associations, le seul critère de jugement objectif est le taux de négativation des prélèvements après 6 mois de traitement. Compte tenu de l'absence de données dans la littérature, l'objectif principal de cette étude est de comparer le taux de négativation des prélèvements à 6 mois quelque soit l'association et les objectifs secondaires de les comparer.

Pour MAC, l'évaluation de différentes associations antibiotiques sur le modèle murin confirmait que la clarithromycine est le pilier du traitement (11). En effet, les deux associations les plus efficaces étaient celles contenant de la clarithromycine. Néanmoins, l'addition de MXF à CLR-EMB-RIF n'augmentait pas l'efficacité et la substitution de la CLR par la MXF avait un impact négatif sur l'efficacité. Enfin, contrairement à des études antérieures, cette étude ne retrouve pas d'antagonisme entre MXF et CLR (2).

Ces deux études réalisées sur des modèles murins d'infection par voie inhalée de MNT montrent bien l'intérêt des modèles animaux pour tester de nouveaux antibiotiques ou de nouvelles associations avant de les proposer à l'homme.

Références :

- Lounis N, Truffot-Pernot C, Bentoucha A, Robert J, Ji B, Grosset J. Efficacies of clarithromycin regimens against *Mycobacterium xenopi* in mice. *Antimicrob Agents Chemother*. 2001; 45: 3229-30.
- Kohno Y, Ohno H, Miyazaki Y, Higashiyama Y, Yanagihara K, Hirakata Y, Fukushima K, Kohno S. *In vitro* and *in vivo* activities of novel fluoroquinolones alone and in combination with clarithromycin against clinically isolated *Mycobacterium avium* complex strains in Japan. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 4071-4076

- Lounis N, Ji B, Truffot-Pernot C, Grosset J. Comparative activities of amikacin against *Mycobacterium avium* complex in nude and beige mice. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997; 41: 1168-9.
- Bermudez LE, Inderlied CB, Kolonoski P, Petrofsky M, Aralar P, Wu M, Young LS. Activity of moxifloxacin by itself and in combination with éthambutol, rifabutin and azithromycin *in vitro* and *in vivo* against *Mycobacterium avium*. *Antimicrob Agents Chemother* 2001; 45: 217-222
- Gangadharam PR, Perumal VK, Parikh K, Podapati NR, Taylor R, Farhi DC, Iseman MD. Susceptibility of beige mice to *Mycobacterium avium* complex infections by different routes of challenge. *Am Rev Respir Dis*. 1989; 139: 1098-104.
- Ji B, Lounis N, Truffot-Pernot C, Grosset J. Effectiveness of various antimicrobial agents against *Mycobacterium avium* complex in the beige mouse model. *Antimicrob Agents Chemother*. 1994; 38: 2521-9.
- Fattorini L, Xiao Y, Mattel M, Li Y, Iona E, Ricci ML, Thoresen OF, Creti R, Orefici G. Activities of isoniazid alone and in combination with others drugs against *Mycobacterium avium* infection in beige mice. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42: 712-714
- Andréjak C, Almeida D, Tyagi S, Converse P, Ammermann NC, Grosset J. Improving existing tools for *Mycobacterium xenopi* treatment: Assessment of drug combinations and characterisation of mouse models of infection and chemotherapy. *Soumis à J Antimicrob Chemother*
- Andréjak C, Tyagi S, Almeida D, Bishai B, Grosset J. Activity of clarithromycin- and/or moxifloxacin-containing regimens in *M. avium* complex (MAC) in aerosolized-infected mice. *Proc Am Thoracic Soc* 2012
- Essai CaMoMy: évaluation de la capacité de deux schémas thérapeutiques (clarithromycine versus moxifloxacine) à négativer les cultures à 6 mois de malades porteurs d'une infection pulmonaire à *Mycobacterium xenopi*. Clinical Trial identifier N° NCT01298336
- Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, et al. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med* 2007; 175: 367-416

156/37s

22/11/2012 - 17:00 - AMPÈRE 9

Nouvelles cibles thérapeutiques pariétales.

J.L. Mainardi

AP-HP, Hôpital Européen Georges Pompidou; Centre de Recherche des Cordeliers, LRMA, Equipe 12, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, UMR S 872; Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, UMR S 872; INSERM, U872, Paris, France

Durant ces dernières années, *Mycobacterium abscessus* est devenu un pathogène important (1-3) à l'origine d'infections très diverses aussi bien chez le sujet immunocompétent que chez l'immunodéprimé (4). *M. abscessus* est le plus fréquemment impliqué dans les infections pulmonaires (5) et est devenu une bactérie majeure mise en cause lors d'infections chez les patients atteints de mucoviscidose (6,7). En effet, *M. abscessus* est la mycobactérie non tuberculeuse la plus fréquemment isolée chez les patients atteints de mucoviscidose (50% des mycobactéries non tuberculeuses) (8). *M. abscessus* est également responsable d'infections communautaires et nosocomiales touchant la peau et les tissus mous (1). Bien que *M. abscessus* soit une mycobactérie à croissance rapide, il partage des caractéristiques communes avec *M. tuberculosis*, notamment la capacité d'induire des infections pulmonaires latentes associées à des lésions caséuses, qui sont typiques de la tuberculose (3).

M. abscessus est une des mycobactéries les plus résistantes aux antibiotiques. Comme les autres mycobactéries à croissance rapide, *M. abscessus* est naturellement résistant aux antituberculeux utilisés en première intention, laissant peu d'options thérapeutiques (4). Le traitement de référence repose le plus souvent sur la combinaison d'un macrolide (clarithromycine) avec un aminoside (amikacine) et à une bêta-lactamine (céfotaxime ou imipénème). En fonctions du type d'infection, le traitement est souvent poursuivi par la clarithromycine en monothérapie, sachant qu'il s'agit du seul antibiotique disponible par voie orale (9). *M. abscessus* est classiquement considéré comme sensible *in vitro* à l'amikacine, la céfotaxime, l'imipénème et la clarithromycine. Toutefois, l'efficacité *in vivo* de ces antibiotiques, utilisés en association, est souvent remise en question (10). Par exemple, un gène conférant une résistance inducible à la clarithromycine par production d'une ARN méthylase a été retrouvé chez la plupart des souches de *M. abscessus* (11). Cependant, l'impact de cette résistance sur l'efficacité de la clarithromycine n'a été que très partiellement évalué (12). Ainsi, des études très récentes montrent que les souches résistantes à la clarithromycine sont fréquemment isolées au cours de la mucoviscidose, même en l'absence de traitement préalable par cette molécule (12). Les données portant sur la résistance des bacilles *in vitro* sont corrélées à une moins bonne réponse clinique chez les patients présentant une infection pulmonaire à *M. abscessus sensu stricto* (13). Cette corrélation n'a cependant pas été retrouvée pour les patients infectés par *M. massiliense* probablement parce que le gène de résistance à la clarithromycine n'est pas fonctionnel chez cette espèce (13). Ces observations remettent en cause le choix de la clarithromycine comme antibiotique de première intention dans le traitement des infections à *M. abscessus*.

La prise en charge des infections pulmonaires par *M. abscessus* reste donc difficile : la majorité des patients répondent à l'antibiothérapie recommandée mais souvent cette réponse n'est que provisoire avec une fréquence des rechutes estimée à 25% (14) et des échecs cliniques fréquents laissent comme unique option thérapeutique la résection chirurgicale des abcès pulmonaires (9). Une évaluation approfondie des traitements recommandés et le développement de nouvelles approches thérapeutiques sont donc nécessaires pour améliorer la prise en charge des infections pulmonaires par

M. abscessus. Dans le traitement de la tuberculose, les bêta-lactamines n'ont pas été utilisées jusqu'à présent car *Mycobacterium tuberculosis* produit naturellement une bêta-lactamase chromosomique à large spectre (BlaC). Cependant, des études récentes ont montré que les bêta-lactamines peuvent potentiellement être utilisées dans le traitement de la tuberculose (15) puisque l'acide clavulanique inactive irréversiblement cette bêta-lactamase BlaC (16,17).

Les bêta-lactamines inhibent la dernière étape de la synthèse de la paroi bactérienne (polymérisation du peptidoglycane) en bloquant la formation de ces ponts interpeptidiques en agissant comme des substrats suicides des enzymes responsables de leur formation, les D,D-transpeptidases. Les ponts interpeptidiques formés par les D,D-transpeptidases sont appelés de type 4→3 parce qu'ils relient les acides aminés localisés au 4^{ème} et 3^{ème} positions de peptides portés par des chaînes glycanes adjacentes. Il y a encore peu de temps, les D,D-transpeptidases, conservées dans le règne bactérien, étaient considérées comme la seule cible essentielle des bêta-lactamines. Nous avons récemment montré que les liaisons interpeptidiques appartenant à une classe particulière de bêta-lactamines, les carbapénèmes, inactivent une deuxième classe d'enzymes, les L,D-transpeptidases qui contournent la voie classique des D, D-transpeptidases en formant des liaisons interpeptidiques inhabituelles au sein du peptidoglycane (18-20). Les transpeptidases de configuration D, D et L, D ont une structure différente, utilisent des substrats donneurs d'acyle différents (pentapeptide versus térapeptide) et catalysent la formation de liaisons différentes (ponts interpeptidiques de type 4→3 versus 3→3), respectivement (19). L'utilisation exclusive d'un donneur d'acyle térapeptidique par les L, D-transpeptidases implique un rôle essentiel pour une autre famille d'enzymes, les D, D-carboxypeptidases, qui clivent la liaison D-Ala⁴-D-Ala⁵ d'un pentapeptide pour former un térapeptide. Nous avons récemment montré que les liaisons interpeptidiques du peptidoglycane de *M. tuberculosis* et *M. abscessus* sont majoritairement catalysées par les L, D-transpeptidases (respectivement 80% et 70%) (20-22). Ces observations indiquent que les bêta-lactamines ont plusieurs cibles potentielles chez *M. abscessus* : (i) Les L, D-transpeptidases qui semblent être les cibles les plus importantes puisqu'elles catalysent la formation de la majorité des ponts interpeptidiques; (ii) Les D,D-transpeptidases classiques appartenant à la famille des protéines de liaison à la pénicilline (PLP) qui pourraient éventuellement assurer une fonction essentielle dans la polymérisation du peptidoglycane au coté des L, D-transpeptidases. (iii) Les D, D-carboxypeptidases qui fournissent le substrat térapeptidique des L, D-transpeptidases en clivant la liaison D-Ala⁴-D-Ala⁵ des pentapeptides, sachant que ces enzymes peuvent appartenir à la famille des PLP et être inhibées par les bêta-lactamines. L'ensemble des résultats obtenus montrent donc que notre compréhension du mode d'action des bêta-lactamines chez *M. abscessus* est essentielle et dépend en tout premier lieu de l'identification des cibles de ces antibiotiques qui ne correspondent très probablement pas aux D, D-transpeptidases (PLP) classiques, puisque ces enzymes ne forment que 25% des ponts interpeptidiques du peptidoglycane. L'identification des cibles ouvrira la voie aux études cinétiques de leur inactivation par les bêta-lactamines. L'identification des cibles ouvrira également la voie à une approche rationnelle de l'évaluation de la sensibilité des souches de *M. abscessus* isolées chez les patients atteints de mucoviscidose. A plus long terme, les objectifs sont l'amélioration de la prise en charge des infections pulmonaires à *M. abscessus* et la recherche d'alternatives thérapeutiques, en contribuant notamment au développement de bêta-lactamines orales.

Références :

1. Medjahed, H., and J. M. Reyrat. 2009. Construction of *Mycobacterium abscessus* defined glycopeptidolipid mutants: comparison of genetic tools. *Appl Environ Microbiol* 75 :1331-8.
2. Petrini, B. 2006. *Mycobacterium abscessus*: an emerging rapid-growing potential pathogen. *Apmis* 114: 319-28.
3. Medjahed, H., J.L. Gaillard, and J.M. Reyrat. 2010. *Mycobacterium abscessus*: a new player in the mycobacterial field. *Trends Microbiol.* 18: 117-23.
4. Brown-Elliott, B. A., and R. J. Wallace, Jr. 2002. Clinical and taxonomic status of pathogenic nonpigmented or late-pigmenting rapidly growing mycobacteria. *Clin Microbiol Rev* 15: 716-46.
5. Sermet-Gaudelus, I., M. Le Bourgeois, C. Pierre-Audigier, C. Offredo, D. Guillemot, S. Halley, C. Akoua-Koffi, V. Vincent, V. Sivadon-Tardy, A. Ferroni, P. Berche, P. Scheinmann, G. Lenoir, and J. L. Gaillard. 2003. *Mycobacterium abscessus* and children with cystic fibrosis. *Emerg Infect Dis* 9: 1587-91.
6. Griffith, D. E. 2003. Emergence of nontuberculous mycobacteria as pathogens in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 167: 810-2.
7. Levy, I., G. Grisaru-Soen, L. Lerner-Geva, E. Kerem, H. Blau, L. Bentur, M. Aviram, J. Rivlin, E. Picard, A. Lavy, Y. Yahav, and G. Rahav. 2008. Multicenter cross-sectional study of nontuberculous mycobacterial infections among cystic fibrosis patients, Israel. *Emerg Infect Dis* 14: 378-84.
8. Roux AL, Catherinot E, Ripoll F, Soismier N, Macheras E, Ravilly S, Bellis G, Vibet MA, Le Roux E, Lemonnier L, Gutierrez C, Vincent V, Fauroux B, Rottman M, Guillemot D, Gaillard JL; Jean-Louis Herrmann for the OMA Group. 2009. Multicenter study of prevalence of nontuberculous mycobacteria in patients with cystic fibrosis in France. *J Clin Microbiol* 47: 4124-8.
9. Griffith DE, Aksamit T, Brown-Elliott BA, Catanzaro A, Daley C, Gordin F, Holland SM, Horsburgh R, Huitt G, Iademarco MF, Iseman M, Olivier K, Ruoss S, von Reyn CF, Wallace RJ Jr, Winthrop K; ATS Mycobacterial Diseases Subcommittee; American Thoracic Society; Infectious Disease Society of America. 2007. An official ATS/IDSA statement: diagnosis, treatment, and prevention of nontuberculous mycobacterial diseases. *Am J Respir Crit Care Med.* 175: 367-416
10. American Thoracic Society. 1997. Diagnosis and treatment of disease

caused by nontuberculous mycobacteria. This official statement of the American Thoracic Society was approved by the Board of Directors, March 1997. Medical Section of the American Lung Association. *Am J Respir Crit Care Med* 156: S1-25.

11. Nash, K. A., B. A. Brown-Elliott, and R. J. Wallace, Jr. 2009. A novel gene, *erm(41)*, confers inducible macrolide resistance to clinical isolates of *Mycobacterium abscessus* but is absent from *Mycobacterium chelonae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 53: 1367-76.
12. Bastian S, Veziris N, Roux AL, Brossier F, Gaillard JL, Jarlier V, Cambau E. 2011. Assessment of clarithromycin susceptibility in strains belonging to the *Mycobacterium abscessus* group by *erm(41)* and *rrl* sequencing. *Antimicrob Agents Chemother.* 55: 775-81.
13. Koh WJ, Jeon K, Lee NY, Kim BJ, Kook YH, Lee SH, Park YK, Kim CK, Shin SJ, Huitt GA, Daley CL, Kwon OJ. 2011 Clinical significance of differentiation of *Mycobacterium massiliense* from *Mycobacterium abscessus*. 183: 405-10
14. Jarand, J., A. Levin, L. Zhang, G. Huitt, J.D. Mitchell, and C.L. Daley. 2011. Clinical and microbiologic outcomes in patients receiving treatment for *Mycobacterium abscessus* pulmonary disease. *Clin Infect Dis* 52: 565-71.
15. Mainardi, J.L., J.E. Hugonnet, L. Gutmann, and M. Arthur. 2011. Fighting resistant tuberculosis with old compounds: the carbapenem paradigm. *Clin Microbiol Infect.* 17: 1755-6
16. Hugonnet, J.E. and J.S. Blanchard, J.S. 2007. Irreversible inhibition of the *Mycobacterium tuberculosis* β -lactamase by clavulanate. *Biochemistry.* 46: 11998-2004.
17. Hugonnet, J.E., L.W. Tremblay, H.I. Boshoff, C.E.r Barry, and J.S. Blanchard. 2009. Meropenem-clavulanate is effective against extensively drug-resistant *Mycobacterium tuberculosis*. *Science* 323: 1215-8.
18. Mainardi, J. L., M. Fourgeaud, J. E. Hugonnet, L. Dubost, J. P. Brouard, J. Ouazzani, L. B. Rice, L. Gutmann, and M. Arthur. 2005. A novel peptidoglycan cross-linking enzyme for a β -lactam-resistant transpeptidation pathway. *J Biol Chem.* 280: 38146-52.
19. Mainardi, J. L., R. Villet, T. D. Bugg, C. Mayer, and M. Arthur. 2008. Evolution of peptidoglycan biosynthesis under the selective pressure of antibiotics in Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol Rev* 32: 386-408.
20. Lavollay M., M. Fourgeaud, J.L. Herrmann, L. Dubost, A. Marie, Gutmann L, M. Arthur M, and J.L. Mainardi. 2011. The peptidoglycan of *Mycobacterium abscessus* is predominantly cross-linked by L,D-transpeptidases. *J Bacteriol.* 193: 778-82.
21. Lavollay, M., M. Arthur, M. Fourgeaud, L. Dubost, A. Marie, N. Veziris, D. Blanot, L. Gutmann, and J. L. Mainardi. 2008. The peptidoglycan of stationary-phase *Mycobacterium tuberculosis* predominantly contains cross-links generated by L,D-transpeptidation. *J Bacteriol* 190: 4360-6.
22. Gupta, R., M. Lavollay, J. L. Mainardi, M. Arthur, W.R. Bishai, and G. Lamichane. 2010. The *Mycobacterium tuberculosis* protein LdtMt2 is a nonclassical transpeptidase required for virulence and resistance to amoxicillin. *Nat Med* 16: 466-9.

162/39o 22/11/2012 - 16:15 - BRILLAT SAVARIN 3

Paludisme d'importation en France métropolitaine : données épidémiologiques, biologiques et cliniques 2006-2011 du Centre national de référence pour le paludisme "CNR Paludisme".

S. Houzé⁸⁻⁷⁻¹⁰, M. Thellier⁸⁻⁶⁻¹²⁻⁹, E. Kendjo⁸⁻⁶, B. Pradines⁸⁻²⁻⁴, D. Parzy⁸⁻²⁻³, N. Taudon⁸⁻²⁻³, V. Hubert⁸⁻⁷, P. Houzé⁸⁻⁵⁻¹¹, R. Durand⁸⁻¹⁻¹⁰, J. Le Bras⁸⁻⁷⁻¹⁰, M. Danis⁸⁻⁶⁻¹²

¹AP-HP, Hôpital Avicenne, Bobigny ²IMTSSA, Institut de Recherche Biomédicale des Armées ³Unité de Recherche en Pharmacologie et Physiopathologie Parasitaires, UMR-MD3 ⁴Unité de Recherche sur les Maladies Infectieuses et Transmissibles Emergentes (URMITE), UMR6236, Marseille ⁵AP-HP, Groupe hospitalier Lariboisière Saint-Louis ⁶AP-HP, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière - Charles Foix ⁷AP-HP, Hôpital Bichat-Claude Bernard ⁸Centre National de Référence du Paludisme ⁹INSERM, UMRS 945 Paris, France ¹⁰Université Paris Descartes-Paris 5 ¹¹Université Paris Diderot, Paris 7 ¹²Université Pierre et Marie Curie-Paris 6, Paris, France

Entre 2006 et 2011, environ 22.000 cas de paludisme d'importation, sont déclarés au «CNR du paludisme» (centre national de référence). Un réseau de 80 hôpitaux répartis dans tout le pays recueille, par l'intermédiaire d'un logiciel de saisie en ligne, les données épidémiologiques cliniques et biologiques des cas. Un échantillon de sang est adressé systématiquement pour confirmation de l'espèce et analyse de la résistance aux médicaments (génotypage et phénotypage). Le sex-ratio est de 1,8, l'âge médian est de 33 ans (IQR25-75 = 23-47) et 16% des patients ont moins de 15 ans. Un pic saisonnier est observé annuellement entre juillet et octobre. Les pays de contamination sont principalement situés en Afrique subsaharienne (plus de 90%). Plus de 70% des cas sont observés dans la population migrante. La proportion de cas graves a augmenté, de 5,2% à 8,4% entre 2006 et 2011 alors que la létalité reste constante, environ 0,33%. Sur la période, des taux élevés de résistance à la chloroquine et au proguanil sont observés avec les isolats de *P. falciparum* contractés en Afrique, tandis que la sensibilité aux autres antipaludiques reste constante. Ceci a amené les autorités sanitaires françaises à modifier les recommandations de prévention antipaludique en 2008. Tous les pays africains à l'exception de Madagascar sont maintenant classés dans la zone de forte prévalence de résistance aux antipaludiques. Aucun échec de chimioprophylaxie par atovaquone-proguanil n'a été associé à une résistance à *P. falciparum*. Dans le traitement curatif des accès simples, cette association est devenue le traitement de première ligne suivie par la quinine. La prescription de l'artéméter-luméfantine, l'unique ACT disponible

en France, augmente sensiblement dans les années récentes. Les échecs thérapeutiques curatifs associés à une résistance de *P. falciparum* à l'atovaquone-proguanil représentent moins de 3% des isolats testés. Ces données confirment la grande disparité de la population infectée avec une proportion croissante de migrants, mal informés ou non adhérents aux messages de prévention. L'importante diminution du nombre de cas de paludisme importés en France métropolitaine devra être confirmée les prochaines années.

163/39o 22/11/2012 - 16:30 - BRILLAT SAVARIN 3

Synthèse et étude de nouveaux antipaludiques énantiomériquement purs.

C. Desgrouas^{2,4}, A. Jonet¹, C. Mullié¹, S.S. Bun^{2,4}, N. Taudon^{3,4}, P. Sonnet¹
¹Laboratoire des glucides, UMR-CNRS 6219, UFR de Pharmacie, Amiens ²Laboratoire de Pharmacognosie, Aix-Marseille Université ³Parasitologie, IRBA ⁴Infections Parasitaires : Transmission, Physiopathologie et Thérapeutique, UMR-MD3, Marseille, France

Pour contrer la baisse d'efficacité des antipaludiques actuels, de nombreux travaux se sont concentrés sur la pharmacomodulation du noyau quinoléine de la chloroquine. Paradoxalement, peu de travaux ont porté sur la méfloquine (MQ). Cette dernière, actuellement commercialisée sous le nom de Lariam[®] se présente sous forme d'un mélange racémique des deux énantiomères *Erythro*. Elle possède des propriétés intéressantes telles qu'une longue demi-vie qui améliore l'observance et assure une bonne clairance parasitaire. Toutefois, son utilisation en prophylaxie a fortement diminué ces dernières années. Ceci est en partie dû à ces effets secondaires, en particulier neurologiques. Des effets neuropsychiatriques peuvent se manifester sous forme de trouble du sommeil, d'anxiété, de crises de panique, de dépression ou encore de psychose. Un lien entre l'activité et la toxicité de la MQ et la présence de deux carbones asymétriques dans sa structure a été suggéré. L'énantiomère (+) de la MQ est plus efficace que son énantiomère (-) qui est par ailleurs le seul responsable de la survenue des effets indésirables centraux. Nous avons ainsi orienté nos recherches vers la synthèse de nouveaux analogues, énantiomériquement purs, de la MQ. Pour accéder à ces composés, une synthèse asymétrique, en 5 étapes, a été mise en place. Les rendements varient de 35 à 98% selon l'amine utilisée et les excès énantiomériques sont supérieurs à 94%. Une librairie contenant plus d'une trentaine de 4-aminoquinoléinols a été obtenue. L'évaluation biologique de cette série sur des souches de *P. falciparum* sensibles et résistantes à la chloroquine montrent que les molécules de configuration S sont toujours nettement plus actifs que ceux de configuration R et deux d'entre eux sont plus actifs que la MQ (Cl₅₀=6.98 nM versus 26.5 nM sur souche W2). Les premiers tests de cytotoxicité n'ont pas mis en évidence de toxicité dans la gamme de concentrations testées et permettent de préjuger d'un excellent index de spécificité (> 1000). Enfin, les premiers essais effectués sur modèle animal, souris BALB/c infectées par *P. berghei*, ont montré une efficacité prometteuse pour la suite en impactant le taux de multiplication parasitaire et en diminuant la mortalité due à l'infection.

164/39o 22/11/2012 - 16:45 - BRILLAT SAVARIN 3

Potentialisation des antipaludiques actuels avec l'atorvastatine pour développer de nouvelles thérapies contre le neuropaludisme.

J. Dormoi, S. Briolant, N. Taudon, B. Pradines
Unité de parasitologie, IRBA - antenne Marseille, Marseille, France

Les deux complications majeures des infections à *Plasmodium falciparum* sont le neuropaludisme (NP) et l'anémie grave (AG) avec environ un million de morts à travers le monde chaque année dont un grand nombre d'enfants âgés de moins de cinq ans, dans les zones d'Afrique subsaharienne. Seulement 3 à 8% des cas de paludisme dégénèrent en NP. Cependant, les séquelles à long terme touchent 3 à 10% des adultes et 25% des enfants et ces personnes présentent des déficits cognitifs notamment au niveau de l'apprentissage. Le NP est une encéphalopathie aigue mais potentiellement réversible dont les causes sont multifactorielles et seulement en partie comprises à ce jour. Au niveau des armées, ce sont 15 000 militaires qui sont présents dans les zones impaludées, avec au moins 350 cas d'infection donnant des accès palustres mais surtout 2 morts chaque année.

L'atorvastatine (AVA) est un inhibiteur synthétique de l'enzyme 3-hydroxy-3-méthylglutaryl-coenzyme A (3HMG-CoA) réductase, utilisée afin de diminuer l'hyperlipoprotéïnémie. Les données, précédemment publiées, ont montré l'efficacité de l'AVA non seulement comme antibactérien mais aussi antiviral ou anti parasitique mais aussi comme modulateur de l'immunité et potentiel adjuvant *in vitro* pour les antipaludiques actuels. Les travaux menés dans notre laboratoire montrent, d'une part que l'AVA est la plus efficace des statines⁽¹⁾ (famille des inhibiteurs de 3HMG-CoA réductase) et potentialise la Méfloquine⁽²⁾ (MQ) et la Quinine^(3,4) (QN) *in vitro*. D'autre part, nous avons démontré une potentialisation de la MQ par l'AVA *in vivo*⁽⁵⁾. Des souris CBA/J, pré traitées avec l'association AVA+MQ pendant 3 jours avant et 3 jours après l'infection avec le parasite murin, *Plasmodium berghei*, ne développent pas de NP, et elles survivent deux semaines de plus que les groupes traités par l'AVA ou la MQ seule. Enfin nos dernières expériences *in vitro* révèlent une synergie entre le bleu de méthylène associé à l'AVA ou à la dihydroartémisinine⁽⁶⁾ (DHA).

Pour estimer l'efficacité *in vivo* de l'AVA en association avec les antis paludiques actuels, un modèle *in vivo* a été mis au point. En utilisant des

souris C57BL6/N infectées avec *Plasmodium berghei*, la physiopathologie du NP (troubles musculaires, paralysie, coma,...) est reproduite dans des les souris, traitées avec un antipaludiques actuels (QN, MQ, DHA) ou par l'association avec l'AVA. Une étude clinique est menée pour voir si l'association autorise une diminution de la prévalence des cas de NP.

Références :

1. Pradines and al. 2007
2. Wurtz and al. 2010
3. Parquet and al. 2009
4. Parquet and al. 2010
5. Souraud and al.
6. Dormoi and al.

165/39o 22/11/2012 - 17:00 - BRILLAT SAVARIN 3

Évaluation de l'activité antipaludique de la cépharanthine, molécule extraite de *Stephania rotunda*.

C. Desgrouas^{3,1}, C. Travail^{2,3}, N. Wurtz^{2,3}, C. Chapus^{2,3}, F. Mabrouki^{1,3}, B. Baghdikian^{1,3}, N. Taudon^{2,3}, E. Ollivier^{1,3}, D. Parzy^{2,3}
¹Laboratoire de Pharmacognosie, Aix-Marseille Université ²Relation hôte-parasite, IRBA ³Infections Parasitaires : Transmission, Physiopathologie et Thérapeutique, UMR-MD3, Marseille, France

Face à un besoin majeur de nouvelles molécules à activité antipaludique, la biodiversité végétale peut être une source de structures chimiques originales. Des études ethno-botaniques et pharmacologiques ont permis de retenir une plante cambodgienne, *Stephania rotunda*, et la sélection d'une bisbenzylisoquinoline, la cépharanthine, qui en est extraite. Cette molécule présente une activité antipaludique potentiellement intéressante. L'objectif de ce travail est d'apporter des éléments d'information sur le mécanisme d'action, les cibles parasitaires probables et la potentialisation de l'effet antipaludique par association avec les molécules utilisées en thérapeutique. Des observations à l'échelle microscopique ont permis de caractériser l'impact de la cépharanthine sur les différents stades de développement de *Plasmodium falciparum*. Ayant constaté sa capacité à exercer un blocage de croissance au stade anneau, nous avons défini un design d'étude transcriptomique adapté. Les profils d'expression obtenus par mise en œuvre de PCR temps réel en SYBRGreen et de la technologie des puces à ADN, sont pertinents au regard du blocage observé au microscope. Après analyse ANOVA deux voies et application d'un ratio supérieur à 2, 39 sondes ont une expression significativement modifiée par la présence de la cépharanthine. 57 annotations géniques ont été décrites parmi lesquelles les tâches de Maurer, impliquées dans le trafic de protéines parasitaires à la membrane du globule rouge, semblent être préférentiellement ciblées. Par ailleurs, les études de potentialisation montrent *in vitro* une tendance synergique avec la chloroquine, la luméfantine, l'atovaquone, la pipéraquine, la monodéséthylamodiaquine et antagoniste avec la dihydroartémisinine et la méfloquine. Sur souris Balb/c infectées par *P. berghei* ANKA, la cépharanthine a permis d'accroître l'activité de la chloroquine et de l'amodiaquine. Cet alcaloïde semble donc intéressant de par son mécanisme d'action probablement original ainsi que dans le cadre d'associations de molécules antipaludiques.

166/39o 22/11/2012 - 17:15 - BRILLAT SAVARIN 3

Performances et intérêt du test de diagnostic rapide par agglutination de particules de latex dans la prise en charge de l'amoebose hépatique d'importation aux urgences.

S. Larréché³, C. Bigaillon³, C. Ficko⁴, A. Bousquet³, F. Janvier³, C. Garcia², N. Sanmartin¹, A. Mérens³, C. Rapp⁴

¹Laboratoire de Biologie Médicale, HIA Percy, Clamart ²Laboratoire de Biologie Médicale, HIA du Val-de-Grâce, Paris ³Laboratoire de Biologie Médicale, HIA Bégin ⁴Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

L'amoebose hépatique est une cause classique mais rare de fièvre chez les voyageurs.

Son pronostic, le plus souvent favorable, est amélioré par la précocité du diagnostic.

Objectif : Évaluer les performances du test de diagnostic rapide Bichro-Latex Amibe (Fumouze) dans le diagnostic de l'amibiase tissulaire et déterminer son intérêt dans l'orientation diagnostique en urgence. Ce test permet la détection d'anticorps spécifiques anti-*Entamoeba histolytica* dans le sérum par agglutination de particules de latex sensibilisées.

Méthode : Étude rétrospective incluant tous les patients hospitalisés entre janvier 2001 et juillet 2012 dans l'un des trois HIA parisiens (Bégin, Val de Grâce ou Percy) ayant eu au moins 1 des 3 tests positifs parmi les techniques utilisées au laboratoire de l'HIA Bégin pour le diagnostic des amibiases tissulaires (Latex, ELISA ou Hémagglutination). Cette liste de patients a été ensuite croisée avec les données PMSI et avec l'analyse des comptes-rendus d'hospitalisation et de consultation.

Résultats : Ont été inclus 74 patients dont 45 patients avec un diagnostic d'amibiase tissulaire confirmé (42 amibiases hépatiques, 2 amoeboes intestinaux et 1 amibiase pleuro-pulmonaire) et 29 patients ayant eu au moins un test positif et pour lesquels un autre diagnostic a été retenu. A partir de cette population, les performances du Bichro-Latex Amibe, pour le diagnostic d'amibiase tissulaire ont été évaluées à 100% pour la sensibilité, 38% pour la

spécificité. Les faux-positifs du Latex correspondaient à des amibiases intestinales (n=4, toujours confirmées par les autres techniques sérologiques), à un abcès hépatique à pyogènes, 3 paludismes, 2 hépatites virales et 7 causes diverses.

Conclusion : Le TDR Bichro-Latex Amibe, de mise en œuvre simple et rapide, peut être réalisé dans tout laboratoire. Dans ce travail, l'excellente sensibilité en fait un outil intéressant dans l'algorithme diagnostique de l'amoebose hépatique d'importation en dehors des heures ouvrables afin d'orienter rapidement l'urgentiste. Cependant, sa faible spécificité chez le voyageur implique de réserver sa prescription à des sujets présentant réellement une fièvre associée à un abcès parenchymateux. Tout résultat doit être confirmé en heures ouvrables par d'autres techniques.

169/40s 23/11/2012 - 09:40 - APOLLINAIRE 2

Le futur.

V. Cattoir

Microbiologie, CHU Côte de Nacre, Caen, France

La sensibilité bactérienne aux antibiotiques est classiquement testée à l'aide de méthodes phénotypiques qui évaluent *in vitro* l'activité bactériostatique (CMI) des antibiotiques. Ces méthodes sont bien standardisées et sont à la base de la catégorisation clinique (S-I-R) des pathogènes. La CMI peut être évaluée directement par les méthodes de dilution (en milieu solide ou liquide) ou du E-test ou indirectement par la méthode des disques en diffusion. Même si certaines de ces méthodes ont été automatisées (ex. Phoenix, Becton Dickinson; Microscan, Siemens Healthcare Diagnostics; Vitek 2, bioMérieux), le délai de rendu des résultats reste généralement important (de 6 à 24 h) compte-tenu de l'importance de fournir un résultat rapide pour l'instauration d'une antibiothérapie adaptée précoce (12). Ces méthodes présentent aussi d'autres limites concernant leur reproductibilité (variabilité du milieu, effet inoculum...) ou la détection de résistances particulières (inductibles ou hétérogènes, par exemple). Ainsi, il apparaît nécessaire de développer de nouvelles technologies pour accéder à une information rapide et fiable sur la sensibilité aux antibiotiques.

Une première approche serait de pouvoir détecter la présence de germes multi-résistants (ex. SARM, BGN producteurs de BLSE ou de carbapénémases) sur milieux sélectifs en utilisant une technologie capable de détecter rapidement (6 cellules) visibles à l'œil. La plupart des innovations pour tester l'activité des antibiotiques sur un très faible volume de culture reposent sur la microfluidique et les nanotechnologies qui pourraient permettre la mesure de la croissance bactérienne en quelques minutes ou heures (3). L'utilisation de micro-oscillateurs mécaniques (recouverts d'une fine couche de milieu de culture) ont ainsi montré leur intérêt dans le suivi de la croissance bactérienne par mesure du changement de la fréquence de résonance qui est fonction de l'augmentation de la masse bactérienne sur le capteur dit en « cantilever » (9). La sensibilité de cette technique de « bio-capture » correspond environ à 100 cellules de *E. coli*, avec la possibilité de détecter une croissance sélective en présence d'antibiotiques en 2 h. D'autres bio-capteurs sont aussi prometteurs pour l'étude de la croissance bactérienne, ce sont les micro-particules magnétiques, les méthodes s'appuyant sur le principe d'AMBR (« Asynchronous Magnetic Bead Rotation »). Les billes magnétiques s'auto-assemblent en différentes structures sous un champ magnétique en montrant une fréquence de rotation unique. En présence d'une bactérie en phase de croissance, il va y avoir des perturbations dans les propriétés physiques des amas de billes magnétiques (forme et volume) et dans leur environnement (viscosité) ce qui modifie la fréquence rotatoire de ces groupements. Par mesure de ce changement, il va être possible de suivre la croissance bactérienne en présence ou non d'antibiotique. Ce type de bio-capteur, récemment décrit dans l'étude la sensibilité de *E. coli* aux aminosides, a montré sa fiabilité (vis-à-vis des méthodes de référence) et sa rapidité (quelques dizaines de minutes) dans la détermination des CMI de ces antibiotiques (13,19). Il est aussi possible de suivre le taux de croissance bactérienne par mesure des changements de viscosité du milieu à l'aide d'un micro-viscosimètre, ce qui a récemment été décrit chez *E. coli* pour lequel la CMI de la gentamicine a pu être correctement déterminée en moins de 2 h (18). Une autre méthode utilise le principe sur le fait que la concanavaleine A (qui a une forte affinité pour les sucres) induit l'auto-assemblage des nanoparticules d'or recouvertes de dextran (16). En cas d'inhibition de croissance en présence d'antibiotique, l'addition de concanavaleine A résulte en la formation d'amas importants de nanoparticules, du fait de la présence de sucres libres dans le milieu, ce qui résulte en un décalage important de la longueur d'onde de la résonance plasmonique de surface (SPR) mesurée. Si la bactérie est capable de croître, il y aura diminution de la quantité de sucres dans le milieu du fait de l'assimilation des sucres par les bactéries en croissance, et donc une diminution dans la taille des amas de nanoparticules et une augmentation du nombre nanoparticules liées aux sucres de surface des bactéries, ce qui confère un décalage plus faible de la longueur d'onde de la SPR mesurée. Une nouvelle technique vient d'être décrite, appelée « Spatial Light Interference Microscopy » (SLIM), capable d'étudier la croissance bactérienne en quelques dizaines de minutes par mesure de la masse cellulaire sèche (15), et pourrait donc être utile pour suivre la croissance bactérienne en présence d'antibiotique. Une autre technologie innovante est la diélectrophorèse (DEP) qui est basée sur le phénomène de mobilité des particules induite par un champ électrique non-uniforme (avec une électrode en quadrupôles). Par détection de changements dans les propriétés en DEP (variations de la fréquence de transfert – « cross-over frequency » – et de la longueur de la cellule) des bactéries avant et après traitement antibiotique, il est possible de déterminer si la bactérie est sensible ou non à l'antibiotique testé, avec détermination de la CMI à l'aide de courbes de concordance. Ceci a été démontré chez *E. coli* et *K. pneumoniae* pour

différentes bêta-lactamines responsables d'une élongation de la cellule bactérienne, qui est détectable par DEP en moins de 2 heures (4,5). A noter que cette technique a été développée pour un usage à haut débit à l'aide de plaques multi-puits (10). Une autre technique pour déterminer rapidement la CMI est la micro-calorimétrie (IMC, « isothermal microcalorimetry »). En effet, lorsque les bactéries dissipent de la chaleur lorsqu'elles sont en croissance, et donc il est possible de déterminer la CMI en étudiant la chaleur émise en fonction de concentrations croissantes d'antibiotique. Ceci a été démontré pour différencier des souches de *S. aureus* sensibles et résistants à la métilciline (1,23). Enfin, il faut citer le potentiel de la cytométrie en flux qui a été utilisée avec succès pour l'étude de la sensibilité de *Candida* spp. aux échinocandines en moins de 4 h (22) et celui de l'utilisation de phages reporters bioluminescents, comme cela a été décrit chez *Y. pestis* (17).

La technologie de MALDI-TOF MS (« matrix-assisted laser desorption / ionization time of flight mass spectrometry ») est maintenant devenue la méthode d'identification incontournable (24). Elle est aussi intéressante pour détecter rapidement certains mécanismes de résistance comme les bêta-lactamases, y compris les carbapénémases (11,21). A noter que la détection de certains déterminants de résistance (ex. PLP-2a) n'est pas si simple par cette méthode et que l'emploi de technologies plus sophistiquées (ex. LC-ESI-MS) serait plus adaptée.

A côté des méthodes phénotypiques, de nombreuses techniques génotypiques ont été développées pour la détection rapide de quelques gènes de résistance (ex. *mecA* pour les staphylocoques, *vanA* et *vanB* pour les entérocoques) (7). Même si ces techniques présentent plusieurs avantages (rapidité, sensibilité, utilisation directe à partir du prélèvement), elles présentent aussi certaines limites (détection unique des gènes de résistance connus ; problème entre présence du gène et expression de la résistance ; détection de la résistance et non de la sensibilité). Les nouvelles méthodes moléculaires (ex. PCR/ESI-MS, droplet digital PCR) semblent prometteuses pour l'identification des micro-organismes, mais ne sont pas encore adaptées pour la détection de gènes de résistance du fait du faible nombre de déterminants de résistance détectés. Grâce au développement de biotechnologies de plus en plus performantes et rapides et de moins en moins chères, le séquençage de génomes entiers est devenu à l'heure actuelle un outil essentiel, permettant d'obtenir un « antibiogramme virtuel » (8). Cependant, le principal problème réside dans le fait qu'il est difficile d'évaluer l'expression de la résistance, notamment d'origine chromosomique (ex. dérégulation enzymatique, efflux actif), tandis que la préparation des échantillons reste assez longue et délicate (7). La réponse transcriptionnelle à l'action d'un antibiotique a été étudiée avec l'utilisation du système nCounter analysis (NanoString Technologies) mais nécessite un appareil coûteux et une mise au point technique (2). Par contre, l'utilisation de ces techniques de séquençage à haut débit devrait avoir toute sa place dans la détection de mutations de résistance pour les bactéries à croissance lente comme les mycobactéries dont la majorité des mutations sont connues (6).

En résumé, les méthodes phénotypiques doivent être accélérées avec le développement de nanotechnologies, de microfluidique et d'imagerie numérique. Les méthodes génotypiques qui sont les plus rapides, car directement utilisables à partir du prélèvement, nécessitent une connaissance exhaustive des gènes de résistance (« panels » par espèce) ainsi que les outils et les compétences bioinformatiques appropriés. Enfin, ces deux types de méthodes sont complémentaires et devraient être encore utilisées en parallèle dans les laboratoires de microbiologie clinique pendant plusieurs années.

Références :

1. Baldoni D, Hermann H, Frei R, Trampuz A, Steinhuber A. 2009. Performance of microcalorimetry for early detection of methicillin resistance in clinical isolates of *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol* 47: 774-776.
2. Barczak AK, Gomez JE, Kaufmann BB, Hinson ER, Cosimi L, Borowsky ML, Onderdonk AB, Stanley SA, Kaur D, Bryant KF, Knipe DM, Sloutsky A, Hung DT. 2012. RNA signatures allow rapid identification of pathogens and antibiotic susceptibilities. *Proc Natl Acad Sci U S A* 109: 6217-6222.
3. Boedicker JQ, Li L, Kline TR, Ismagilov RF. 2008. Detecting bacteria and determining their susceptibility to antibiotics by stochastic confinement in nanoliter droplets using plug-based microfluidics. *Lab Chip* 8: 1265-1272.
4. Chung CC, Cheng IF, Chen HM, Kan HC, Yang WH, Chang HC. 2012. Screening of antibiotic susceptibility to β -lactam-induced elongation of Gram-negative bacteria based on dielectrophoresis. *Anal Chem* 84: 3347-3354.
5. Chung CC, Cheng IF, Yang WH, Chang HC. 2011. Antibiotic susceptibility test based on the dielectrophoretic behavior of elongated *Escherichia coli* with cephalixin treatment. *Biomicrofluidics* 5: 21102.
6. Daum LT, Rodriguez JD, Worthy SA, Ismail NA, Omar SV, Dreyer AW, Fourie PB, Hoosen AA, Chambers JP, Fischer GW. 2012. Next-generation ion Torrent sequencing of drug resistance mutations in *Mycobacterium tuberculosis* strains. *J Clin Microbiol*.
7. Didelot X, Bowden R, Wilson DJ, Peto TE, Crook DW. 2012. Transforming clinical microbiology with bacterial genome sequencing. *Nat Rev Genet* 13: 601-612.
8. Dunne WM, Jr., Westblade LF, Ford B. 2012. Next-generation and whole-genome sequencing in the diagnostic clinical microbiology laboratory. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31: 1719-1726.
9. Gfeller KY, Nugaeva N, Hegner M. 2005. Rapid biosensor for detection of antibiotic-selective growth of *Escherichia coli*. *Appl Environ Microbiol* 71: 2626-2631.
10. Hoettges KF, Hubner Y, Broche LM, Oglin SL, Kass GE, Hughes MP. 2008. Dielectrophoresis-activated multiwell plate for label-free high-throughput drug assessment. *Anal Chem* 80: 2063-2068.
11. Hooff GP, van Kampen JJ, Meesters RJ, van Belkum A, Goessens WH, Luider TM. 2012. Characterization of β -lactamase enzyme activity in

bacterial lysates using MALDI-mass spectrometry. *J Proteome Res* 11: 79-84.

12. Jorgensen JH, Ferraro MJ. 2009. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis* 49: 1749-1755.
13. Kinnunen P, McNaughton BH, Albertson T, Sinn I, Mofakham S, Elbez R, Newton DW, Hunt A, Kopelman R. 2012. Self-assembled magnetic bead biosensor for measuring bacterial growth and antimicrobial susceptibility testing. *Small* 8: 2477-2482.
14. London R, Schwedock J, Sage A, Valley H, Meadows J, Waddington M, Straus D. 2010. An automated system for rapid non-destructive enumeration of growing microbes. *PLoS One* 5: e8609.
15. Mir M, Wang Z, Shen Z, Bednarz M, Bashir R, Golding I, Prasanth SG, Popescu G. 2011. Optical measurement of cycle-dependent cell growth. *Proc Natl Acad Sci U S A* 108: 13124-13129.
16. Nath S, Kaitanis C, Tinkham A, Perez JM. 2008. Dextran-coated gold nanoparticles for the assessment of antimicrobial susceptibility. *Anal Chem* 80: 1033-1038.
17. Schofield DA, Molineux IJ, Westwater C. 2012. Rapid identification and antibiotic susceptibility testing of *Yersinia pestis* using bioluminescent reporter phage. *J Microbiol Methods* 90: 80-82.
18. Sinn I, Albertson T, Kinnunen P, Breslauer DN, McNaughton BH, Burns MA, Kopelman R. 2012. Asynchronous magnetic bead rotation microviscometer for rapid, sensitive, and label-free studies of bacterial growth and drug sensitivity. *Anal Chem* 84: 5250-5256.
19. Sinn I, Kinnunen P, Albertson T, McNaughton BH, Newton DW, Burns MA, Kopelman R. 2011. Asynchronous magnetic bead rotation (AMBR) biosensor in microfluidic droplets for rapid bacterial growth and susceptibility measurements. *Lab Chip* 11: 2604-2611.
20. Sinn I, Kinnunen P, Albertson T, McNaughton BH, Newton DW, Burns MA, Kopelman R. 2011. Asynchronous magnetic bead rotation (AMBR) biosensor in microfluidic droplets for rapid bacterial growth and susceptibility measurements. *Lab Chip* 11: 2604-2611.
21. Sparbier K, Weller U, Boogen C, Kostrzewa M. 2012. Rapid detection of *Salmonella* sp. by means of a combination of selective enrichment broth and MALDI-TOF MS. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31: 767-773.
22. Vale-Silva LA, Pinto P, Lopes V, Ramos H, Pinto E. 2012. Comparison of the Etest and a rapid flow cytometry-based method with the reference CLSI broth microdilution protocol M27-A3 for the echinocandin susceptibility testing of *Candida* spp. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 31: 941-946.
23. von Ah U, Wirz D, Daniels AU. 2008. Rapid differentiation of methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus* from methicillin-resistant *S. aureus* and MIC determinations by isothermal microcalorimetry. *J Clin Microbiol* 46: 2083-2087.
24. Wieser A, Schneider L, Jung J, Schubert S. 2012. MALDI-TOF MS in microbiological diagnostics-identification of microorganisms and beyond (mini review). *Appl Microbiol Biotechnol* 93: 965-974.

172/41s 23/11/2012 - 09:40 - APOLLINAIRE 6

Parvovirus B19 et grossesse : diagnostic échographique, prise en charge et pronostic d'une série continue de 27 cas.

D. Subtil¹, A. Chauvet¹, A. Dewilde², D. Hober²

¹Pôle d'Obstétrique, Hôpital Jeanne de Flandre ²Virologie, Centre de Biologie-Pathologie, Université Lille II, France

Position du problème : Les anasarques fœto-placentaires par anémie due à une infection à parvovirus B19 sont rares (AFP-B19). La mesure du pic de vélocité à l'artère cérébrale moyenne a amélioré leur diagnostic anténatal mais leur fréquence et leur pronostic restent mal connus. Malgré l'amélioration de la survie grâce aux transfusions *in utero*, la possibilité de séquelles neurologiques à distance rend le pronostic incertain.

Objectifs : Evaluer la fréquence, la prise en charge et le pronostic d'une série continue d'AFP-B19 observées pendant 15 ans.

Méthode : Etude rétrospective de 27 cas d'AFP-B19, soit 3/100 000 naissances. 24 cas ont été découverts lors de l'échographie systématique du 2^{ème} trimestre. 26 fœtus (96.2 %) avaient au moins 4 des 6 signes échographiques de Saltzman orientant vers une anémie. 80% des fœtus explorés avaient un pic systolique de vélocité à l'artère cérébrale moyenne (PSV-ACM) > 1.5 MoM, orientant également vers une anémie. 11 des 19 fœtus traités par exsanguino-transfusion sont nés vivants contre 2 parmi 6 en cas d'abstention (57.8 vs 33.3%, NS). Le pourcentage de survie était plus élevé pendant la seconde période d'étude (23.1% vs 71.4 %, p<0.02) en cas d'anémie moins sévère (p<0.03) et en cas de transfusions répétées (p=0.03). Dans notre série, un cas d'atrophie cérébrale anténatale a été dépisté, mais les 13 enfants nés vivants vont bien à l'âge de un an.

Conclusion : En cas d'anasarque, l'utilisation de critère échographique de Saltzman et la mesure de la PSV-ACM permettent d'évoquer l'origine anémique de l'anasarque et d'en mesurer l'intensité. Grâce à ces mesures, le choix du traitement est plus adapté (abstention ou transfusion, selon le degré d'anémie) et la survie s'est notablement améliorée dans notre série.

Mots clés : parvovirus B19, anasarque fœto-placentaire, anémie fœtale, transfusion *in utero*, pronostic à long terme.

175/43s 23/11/2012 - 09:20 - AMPÈRE 5

Pharmacocinétique-pharmacodynamie de la colistine : données récentes.

W. Couet

INSERM ERI 23, Pôle Biologie Santé (PBS), Médecine-Sud, Poitiers, France

After being abandoned in the early 1980s because of reported nephrotoxicity and neurotoxicity, colistin is having a second life as a "salvage" treatment against multi-resistant gram-negative bacteria such as *Pseudomonas* and *Acinetobacter* spp in critically ill patients [1]. Colistin is composed of at least 30 different polymyxin compounds, mainly colistin A and B and it is administered intravenously as a complex mix of colistin methanesulfonate (CMS) derivatives that may be easily converted into the active compound during storage or sample handling. Therefore development of specific analytical methods including liquid chromatography-tandem mass spectrometry (LC-MS/MS) assays [2], have constituted a prerequisite for completing modern accurate pharmacokinetic studies. The first pharmacokinetic study of colistin following single dose intravenous administration of CMS to healthy volunteers, has been conducted by our group [3], and demonstrated that about 2/3 of the CMS dose was excreted unchanged in urine. The first major modern pharmacokinetic study in critical care patients was published in 2009 by Plachouras et al. [4]. Patients had a relatively well preserved renal function and received 3 MIU (equivalent to 240 mg of CMS) infused over 15 min every 8h. In these conditions colistin steady-state plasma concentrations were at the most equal to 2 µg/mL which according to the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) breakpoints [5] may not be enough to insure antimicrobial efficacy. Furthermore since colistin concentrations increased slowly in plasma after initiating treatment the authors recommended to use a 9 MIU loading dose. The second major modern pharmacokinetic study of colistin after intravenous administration of CMS to critical care patients was conducted on a larger scale (n =105 patients for 851 samples analyzed) by Garonzik et al. [6] and completed Plachouras findings. Other more recent data already published or not and consistent with these initial studies will be discussed as well as case reports on specific sub-populations of interest. Finally data supporting the colistin nebulizations will be presented.

References :

1. Li J, Nation RL, Turnidge JD, et al. Colistin: The re-emerging antibiotic for multidrug-resistant gram-negative bacterial infections. *Lancet Infect Dis*. 2006; 6: 589-601.
2. Gobin P, Lemaitre F, Marchand S, Couet W, Olivier JC. Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry (lc-ms/ms). *Antimicrob Agents Chemother*. 2010; 54: 1941-1948.
3. Couet W, Gregoire N, Gobin P, et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther*. 89: 875-879.
4. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 2009; 53: 3430-3436.
5. European committee on antimicrobial susceptibility testing. In: <http://www.srga.org/eucastwt/MICTAB/MICmiscellaneous.html> JCB, ed.
6. Garonzik SM, Li J, Thamlikitkul V, et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother*. 55: 3284-3294.

176/43s 23/11/2012 - 09:40 - AMPÈRE 5

Adaptation posologique individuelle de la colistine.

N. Grégoire

INSERM ERI 23, Pôle Biologie Santé (PBS), Médecine-Sud, Poitiers, France

Colistin is increasingly being used clinically as a consequence of the emergence of multidrug-resistant pathogens. Determination of an optimal colistin dosage regimen should consider efficacy, toxicity and the emergence of resistance issues. The MIC breakpoints published by the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) are 2 µg/mL for *Enterobacteriaceae* and 4 µg/mL for *P. aeruginosa* (1). From *in vitro* and *in vivo* experiments colistin efficacy was best correlated to fAUC/MIC index (2, 3) however an optimal target value remained to be determined. To date authors seem to agree that to be effective an average colistin concentration of about 2.5 mg/L (corresponding to an AUC₀₋₂₄ value of 60 h.mg/L) should be reached at steady-state (4, 5). Historical colistin-associated nephrotoxicity was probably related to dosage regimens about three-fold greater than those used nowadays. In recent studies the incidence of nephrotoxicity ranged from 7.4 to 30% (6-8). Nephrotoxicity is related to the total cumulative dose of colistin (9) and was reported to exceed 30% in patients who received dosage greater than about 7 MUI per day (8). The resistance to colistin is beginning to emerge in several Gram-negative bacterial species (10). The use of sub-optimal dosing regimen is deemed to contribute to colistin resistance (2, 11) but data are lacking about the optimal colistin exposure preventing the emergence of resistant strains.

Colistin pharmacokinetics vary a lot between patients (5, 12-15) but also for a same patient from one administration to the other (12, 14). Colistin is generally administered as an inactive prodrug, the colistin methanesulphonate (CMS), either intravenously or by aerosol. CMS is partly eliminated unchanged in urine and partly transformed into colistin. In healthy volunteers it was shown that 70% of the dose was excreted unchanged in urine (16) and in critically ill

patients the renal clearance of CMS was reported to be proportional to the creatinin renal clearance (5, 12). Therefore in patients with normal renal function the currently recommended doses are not sufficient to obtain reliably efficacious steady-state concentrations (4). Moreover CMS volume of distribution increases when the body weight increases therefore patients with larger body weights have lower colistin concentrations as long as steady-state is not reached and time necessary to attain this steady-state is longer for these patients (5, 12). In critically ill patients reported values for colistin half-life vary between 2.6 h and 18.4 h (5, 12-15) resulting in a time necessary to attain steady-state of 12 to 48 h.

The large inter and intra-individual variability associated with the narrow therapeutic index justify the individual dosage adjustment. The application of a loading dose of CMS in order to reach immediately effective colistin concentrations is generally recommended (5, 14, 15). This loading dose can be either a flat-fixed dose, generally of 6 or 9 MUI (14), or a weight adjusted dose (MUI) = $1/15 \times C_{ss,target} \times weight$ (5). Maintenance dose should be administered twice or three times daily, with a total daily dose of 6 to 9 MUI. Recently a maintenance dose based on CrCL was suggested: daily dose (MUI) = $C_{ss,av,target} \times (0,05 \times CrCL + 1)$. Because CrCL and body weight explain only a weak part of the whole variability of colistin pharmacokinetics and because intra-individual variability is large a therapeutic drug monitoring (TDM) strategy is deemed to largely improve individual dosage adjustment over the treatment period. TDM necessitate that colistin concentrations were measured in plasma. Microbiological methods should be abandoned because they do not distinguish the colistin active moiety from the CMS inactive prodrug (4) and chromatographic procedures should be preferred (17). A fast workup procedure for blood sample chilling is necessary to prevent CMS degradation into colistin. Moreover, in order to reduce the impact of a potential degradation it would be preferable to sample when CMS concentrations are minimal compared to colistin, i.e. at trough. Bayesian procedures could be of help for a precoce individualization of dosage regimen by allowing individual pharmacokinetic parameters determination as soon as the first administration.

Nebulized CMS can be used as adjunctive therapy for the treatment of ventilator-associated pneumonia (VAP) and for patients with cystic fibrosis (CF). CMS is generally administered at a daily dose of 1.5-6 MUI divided in 2 to 4 doses. CMS is partly converted into colistin before systemic absorption and colistin concentrations in epithelial lining fluid (ELF) seem to be high (18-20). As the fraction of inhaled dose that reach blood circulation is low (19) intravenous dosage regimen should not be modified when associated with aerosol administrations.

By contrast, because CMS and colistin are cleared during haemodialysis and haemofiltration (21, 22) patients should receive increased dose when renal replacement therapy is performed (5).

In patients with CF, after iv administration of CMS 1.6-3.1 mg/Kg t.i.d (about 1.5-2 MUI t.i.d) colistin plasma concentrations were comparable to those observed in healthy volunteers, i.e it was difficult to reach concentrations greater than 2.5 mg/L. However in CF patients who were lung transplanted, despite a normal renal function, colistin plasma concentrations were increased, i.e. comparable to those observed in critically ill patients (23).

In conclusion more and more information is available about colistin pharmacokinetics and individual dosage recommendations begin to develop based on individual characteristics or on measurements of colistin plasma concentrations.

Références :

- EUCAST. (2012). *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters* (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, 2012).
- Bergen, P.J., Bullitta, J.B., Forrest, A., Tsuji, B.T., Li, J. & Nation, R.L. Pharmacokinetic/pharmacodynamic investigation of colistin against *Pseudomonas aeruginosa* using an *in vitro* model. *Antimicrob Agents Chemother* 54, 3783-9 (2010).
- Dudhani, R.V., Turnidge, J.D., Nation, R.L. & Li, J. fAUC/MIC is the most predictive pharmacokinetic/pharmacodynamic index of colistin against *Acinetobacter baumannii* in murine thigh and lung infection models. *J Antimicrob Chemother* 65, 1984-90 (2010).
- Couet, W., Gregoire, N., Marchand, S. & Mimoz, O. Colistin pharmacokinetics: the fog is lifting. *Clin Microbiol Infect* 18, 30-9 (2011).
- Garonzik, S.M. et al. Population pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and formed colistin in critically ill patients from a multicenter study provide dosing suggestions for various categories of patients. *Antimicrob Agents Chemother* 55, 3284-94 (2011).
- Falagas, M.E., Fragoulis, K.N., Kasiakou, S.K., Sermadis, G.J. & Michalopoulos, A. Nephrotoxicity of intravenous colistin: a prospective evaluation. *Int J Antimicrob Agents* 26, 504-7 (2005).
- Falagas, M.E., Kasiakou, S.K., Kofteridis, D.P., Roditakis, G. & Samonis, G. Effectiveness and nephrotoxicity of intravenous colistin for treatment of patients with infections due to polymyxin-only-susceptible (POS) gram-negative bacteria. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 25, 596-9 (2006).
- Pogue, J.M. et al. Incidence of and risk factors for colistin-associated nephrotoxicity in a large academic health system. *Clin Infect Dis* 53, 879-84 (2011).
- Spapen, H., Jacobs, R., Van Gorp, V., Troubleyn, J. & Honore, P.M. Renal and neurological side effects of colistin in critically ill patients. *Ann Intensive Care* 1, 14.
- Yahav, D., Farbman, L., Leibovici, L. & Paul, M. Colistin: new lessons on an old antibiotic. *Clin Microbiol Infect* 18, 18-29 (2012).
- Lim, L.M. et al. Resurgence of colistin: a review of resistance, toxicity, pharmacodynamics, and dosing. *Pharmacotherapy* 30, 1279-91 (2010).
- (2012). Population Pharmacokinetics of Plasma and Urine Colistin Methanesulfonate (CMS) and Colistin in Critically Ill Patients (P-1619). *ECCMID*.

- Markou, N. et al. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative bacilli infections: a prospective, open-label, uncontrolled study. *Clin Ther* 30, 143-51 (2008).
- Mohamed, A.F. et al. Application of a Loading Dose of Colistin Methanesulfonate (CMS) in Critically Ill Patients: Population Pharmacokinetics, Protein Binding and Prediction of Bacterial Kill. *Antimicrob Agents Chemother*, (2012).
- Plachouras, D. et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother* 53, 3430-6 (2009).
- Couet, W. et al. Pharmacokinetics of colistin and colistimethate sodium after a single 80-mg intravenous dose of CMS in young healthy volunteers. *Clin Pharmacol Ther* 89, 875-9 (2011).
- Gobin, P., Lemaitre, F., Marchand, S., Couet, W. & Olivier, J.C. Assay of colistin and colistin methanesulfonate in plasma and urine by liquid chromatography tandem mass spectrometry (LC-MS/MS). *Antimicrob Agents Chemother* 54, 1941-48 (2010).
- Athanassa, Z.E. et al. Pharmacokinetics of inhaled colistimethate sodium (CMS) in mechanically ventilated critically ill patients. *Intensive Care Med*, (2012).
- (2012). Plasma pharmacokinetics and epithelial lining fluid (ELF) concentrations of colistin after nebulisation or intravenous administration of colistin methanesulfonate (CMS) in critical care patients *ICAAC 2012*.
- Marchand, S. et al. Aerosol therapy with colistin methanesulfonate: a biopharmaceutical issue illustrated in rats. *Antimicrob Agents Chemother* 54, 3702-7.
- Li, J. et al. Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin in a critically ill patient receiving continuous venovenous hemodiafiltration. *Antimicrob Agents Chemother* 49, 4814-5 (2005).
- Marchand, S. et al. Removal of colistin during intermittent haemodialysis in two critically ill patients. *J Antimicrob Chemother* 65, 1836-7 (2010).
- (2012). Pharmacokinetics of Colistin Methanesulfonate and Colistin after Lung Transplantation in Cystic Fibrosis Patients *ICAAC 2012*.

178/44o 23/11/2012 - 09:00 - AMPÈRE 8

Stratégies de dépistage du streptocoque B.

L. Cavalie¹, C. Delmas¹, C. Assouline-Azougi², A. Berberi², N. Marty¹
¹Bactériologie-Hygiène ²Gynécologie-Obstétrique, CHU, Toulouse, France

Contexte : Le dépistage de streptocoque B est recommandé en France entre la 34^{ème} et la 38^{ème} semaine d'aménorrhée; le traitement asymptomatique du portage n'étant pas préconisé.

Objectifs : L'objet de cette étude est de comparer deux stratégies de dépistage du streptocoque B:

- un réalisé au moment de l'accouchement par un test rapide;
- un réalisé par culture durant le neuvième mois

Méthodes : Entre le 15/09/2011 et le 16/08/2012, la recherche de streptocoque B a été réalisée sur un prélèvement vaginal durant le neuvième mois par mise en culture sur une gélose CNA (Biomérieux) et à la délivrance par le test Xpert GBS (Cepheid).

Résultats : 1724 dépistages par PCR on été réalisés avec 67 échecs (3.9%), 224 positifs et 1433 négatifs. Parmi eux, il y a eu 10 doublons (2 PCR+ et 8 PCR-)

Pour 1290 parturientes, nous avons eu à la fois un résultat par culture et un par PCR (cf tableau).

| | Culture positive | Culture négative |
|-------------------|------------------|------------------|
| Xpert GBS positif | 109 (8.4%) | 1181 (83.6%) |
| Xpert GBS négatif | 86 (6.7%) | 66 (5.1%) |
| | 23 (1.8%) | 1115 (86.4%) |

De plus, pour 357 femmes de statut inconnu (culture non réalisée), la PCR fut positive pour 70.

Conclusion : Le dépistage par le test Xpert GBS à l'accouchement s'avère plus sensible que la culture au neuvième mois (11,8% de positifs versus 8,4%). Il permet de récupérer 5,6% de négatifs au 9^{ème} mois et 19,6% d'inconnus. Il permet de mieux apprécier le statut de portage de la parturiente à l'accouchement et de ne surveiller ou traiter que les enfants des mères positives à ce moment là (existence de portage transitoire). Il est de plus facilement réalisable et rapide.

179/44o 23/11/2012 - 09:15 - AMPÈRE 8

Impact sur la prescription antibiotique d'une technique rapide d'identification et de détermination de la sensibilité à la métilcilline des staphylocoques d'hémocultures.

E. Margat, C. Daurel, G. Durand, J. Michon, R. Leclercq
Microbiologie, CHU de Caen, Caen, France

Objet de l'étude : Impact sur la prescription antibiotique de l'identification et de la détermination de la sensibilité à la métilcilline des staphylocoques d'hémocultures par la PCR en temps réel Xpert MRSA/SA BC (Cepheid).

Méthodes : Pendant six mois, au CHU de Caen, tous les patients adultes avec un examen direct d'une ou de plusieurs hémocultures à coques à Gram positif en amas ont été inclus, sauf les patients neutropéniques ou hospitalisés en hématologie. Pendant les 3 premiers mois, la technique conventionnelle était utilisée 3 jours par semaine et la PCR 2 jours, puis l'inverse les 3 mois suivants. Les résultats de l'examen direct ou de la PCR ont été communiqués au service par téléphone. L'heure d'appel définit le T0 à partir duquel l'évolution de l'antibiothérapie a été relevée pendant 72 h. L'identification, la résistance à la métilcilline étaient également communiquées au service dès que disponibles. Les antibiotiques ont été classés selon trois catégories: inadapté (oxacilline pour *Staphylococcus aureus* résistant à la métilcilline, SARM), adapté non optimal (vancomycine pour *S. aureus* sensible à la métilcilline, SASM) et optimal.

Résultats : 170 épisodes ont été inclus dont 74 infections et 96 contaminations. 38 et 36 infections ont été incluses dans les groupes avec (+) et sans (-) PCR, dont 26 et 24 *S. aureus* (4 SARM et 22 SASM; 6 SARM et 18 SASM respectivement). Dans les groupes (+) et (-), 6 et 4 traitements étaient optimaux à T0. Après appel, 81% des épisodes dans le groupe (+) contre 55% dans le groupe (-) ont reçu des traitements optimaux. L'antibiothérapie optimale a été instaurée significativement plus tôt dans le groupe (+) (moyenne de 3,7 h) que dans le groupe (-) (moyenne de 21,5h) (P=0,005). Dans les bactériémies à SASM, un anti-SARM a été introduit dans 5% des épisodes dans le groupe (+) après communication du résultat de PCR contre 33% après communication de l'examen direct dans le groupe (-). Aucune différence n'a été remarquée entre les deux groupes pour les contaminations.

Conclusion : L'apport de la technique Xpert MRSA/SA BC a permis une amélioration significative du délai de prescription d'une antibiothérapie optimale. Vis-à-vis des SASM, une tendance non significative à la diminution de la consommation d'anti-SARM est observée.

180/44o 23/11/2012 - 09:30 - AMPÈRE 8

Y a-t-il des facteurs prédictifs d'un résultat positif de la sérologie *Mycoplasma pneumoniae* chez l'enfant ?

J. Le Gal, G. Pouessel, F. Dubos
Gastropédiatrie, Lille, France

Les infections à *Mycoplasma pneumoniae* (Mp) sont fréquentes en pédiatrie et de présentation clinique peu spécifique. Une des méthodes diagnostiques les plus utilisées est la sérologie mais elle semble peu rentable, d'après nos constatations. Le but de cette étude était de déterminer le taux de sérologies Mp positives parmi celles effectuées et d'identifier les facteurs prédictifs de sérologie Mp « positive » ou « positive et douteuse ». Il s'agissait d'une étude de cohorte descriptive et analytique, rétrospective, monocentrique, au centre hospitalier de Roubaix, en 2010. Cette étude incluait les enfants de moins de 18 ans qui avaient eu une sérologie Mp et/ou *Chlamydia pneumoniae* (Cp). Au total, 403 des 435 patients étaient inclus. 50 (12%) patients avaient une sérologie Mp « positive » et 72 (18%) une sérologie « douteuse ». La sérologie Mp était positive chez 18% des 5-15 ans. L'âge de plus de 3,5 ans avait une sensibilité de 70%, une spécificité de 52% pour prédire une sérologie Mp « positive ou douteuse » et la présence de signes cutanés avait une spécificité de 94%. Le pourcentage de sérologies Mp « positives ou douteuses » était plus important dans le groupe « consultation » par un pneumopédiatre, par rapport au groupe « hospitalisation et urgences » (p=0,11), mais sans différence statistiquement significative. Notre étude confirmait qu'aucun critère clinique, biologique ou radiologique ne permettait de prédire le résultat de la sérologie Mp.

En conclusion, la sérologie Mp ne devrait pas être utilisée en routine. Si elle était souhaitée, les conditions les plus favorables pour prédire sa positivité seraient la présence de signes cutanés chez les enfants de plus de 3,5 ans.

181/44o 23/11/2012 - 09:45 - AMPÈRE 8

A two-step laboratory diagnosis of *Clostridium difficile* infection.

N. Khanafar^{3,2}, P. Vanhems^{3,2}

¹Hospices Civils of Lyon-Microbiology Laboratory, Bron ²Hospices Civils of Lyon-Infection Control Unit, Edouard Herriot Hospital ³University of Lyon-Laboratory of Epidemiology and Public Health, CNRS UMR 5558, Lyon, France

Context: *C. difficile* infection (CDI) should be suspected in any patient with diarrhea or abdominal pain with recent antibiotic or healthcare exposures. The diagnosis of CDI is established by a combination of clinical suspicion and laboratory confirmation. Early recognition of patients suffering from CDI is primordial to prevent the transmission. Only watery or loose stool should be tested for CDI. Specimens should be transported as soon as possible and stored at 2° to 8°C until tested.

Objective: To describe the number of CDI cases using an algorithm that combines two tests.

Methods: Between January 2007 and October 2011, a prospective surveillance study of CDI in patients hospitalized was conducted in a University Hospital. Enzyme immunoassays (EIA) for toxin A and/or B detection coupled with culture were the 2-step protocol used in our hospital.

Results: A total of 6102 specimens, corresponding to 4401 patients, were tested. The median of age of patients was 61 years and there were men than women (52.8% vs 47.8%). The median duration between admission and

microbiological test for *C. difficile* was 7 days. EIA's positive toxins were observed in 306 specimens (5%). *C. difficile* was detected in anaerobic culture in 423 specimens (6.9%). Among these 266 (4.4%) were toxigenic, 243 (4%) and 23 (0.4%) were resistant to moxifloxacin. Approximately 36% (n=95) of specimens positive on toxigenic culture were negative on EIA test.

Conclusions: In our hospital a 2 steps algorithm we used to confirm the microbiological diagnosis of CDI. We found that 36% of positive toxigenic culture were not detected in EIA, a non negligible problem with the turnaround time required. The optimal laboratory diagnosis of CDI remains an area of controversy. The availability of multiple tests reflects and contributes to this uncertainty. Accurate diagnosis of CDI is vital for patient management, infection control, and the attainment of reliable surveillance data. The ongoing dilemmas concerning the accurate laboratory diagnosis of CDI highlight the need for sufficiently powered studies that incorporate both alternative gold standards and clinical interpretative data to resolve the uncertainties.

182/44o 23/11/2012 - 10:00 - AMPÈRE 8

Suivi de la cinétique des charges bactériennes par PCR en temps réel chez les patients atteints de légionellose.

L. Shadoud^{1,2}, C. Recule¹, I. Pelloux¹, J. Croizé¹, S. Jarraud⁴, J.F. Timsit³, M. Maurin^{1,2}

¹Laboratoire de Bactériologie, IBP, CHU de Grenoble ²LAPM, UMR CNRS 5163, UJF-Grenoble 1 ³Réanimation Médicale, CHU de Grenoble, Grenoble ⁴CNR Legionella, Lyon, France

La technique de PCR quantitative en temps réel (qPCR) offre la possibilité de détecter des agents pathogènes dans les prélèvements cliniques à visée diagnostique, mais également de les quantifier dans un but pronostique. Notre but est de mettre en évidence un lien entre la charge bactérienne à *Legionella pneumophila* dans les prélèvements respiratoires chez les patients atteints de légionellose, et la réponse au traitement antibiotique et le pronostic final de ces patients.

Nous avons utilisé deux tests de qPCR, ciblant soit le gène codant pour l'ARNr16S soit le gène *mip*, sur des prélèvements des voies aériennes inférieures réalisés chez 114 patients admis au CHU de Grenoble pour légionellose entre 2004 et 2011. Le diagnostic de légionellose était confirmé par la présence de signes cliniques et/ou radiologiques de pneumonie et l'isolement d'une souche de *Legionella* à partir des sécrétions respiratoires et/ou la positivité d'un test urinaire (Binax, Portland, ME, USA) permettant la détection de l'antigène soluble de *L. pneumophila* de sérotype 1.

La charge bactérienne à l'admission des patients variait de 1 copie à 4,5 x 10⁶ copies de génomes de *L. pneumophila* pour 5µL d'extrait ADN obtenu à partir de prélèvements des voies aériennes inférieures de ces patients. Chez certains patients, nous avons pu déterminer la cinétique de la charge bactérienne au cours du temps, alors que les patients recevaient une antibiothérapie adaptée. Les premières cinétiques recueillies montrent la possibilité de différencier les patients qui répondent rapidement au traitement antibiotique et évoluent favorablement au cours de la 1ère semaine d'hospitalisation, de ceux qui présentent une réponse modeste au traitement et nécessitent une hospitalisation prolongée, voire décèdent.

La PCR en temps réel semble donc représenter un outil pronostique d'intérêt au cours de la légionellose. Le type de cinétique observé chez un patient donné semble pouvoir prédire l'évolution des patients et la nécessité d'ajuster le traitement antibiotique. La détermination de la charge bactérienne est cependant influencée par la qualité des sécrétions respiratoires analysées, ce qui implique une meilleure standardisation de ces prélèvements cliniques.

183/44o 23/11/2012 - 10:15 - AMPÈRE 8

À l'ère des entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (EBLSE), comment épargner les carbapénèmes ? Le Maldi-Tof : une solution pour un traitement adapté précoce !

D. Tandé³, L. Quaesaet², S. Ansart², E. Stindel¹

¹Chirurgie orthopédique ²Maladies infectieuses, CHRU ³Laboratoire de Microbiologie - CHU Morvan, Brest, France

Objet de l'étude : La détection rapide d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) est un enjeu majeur car elle permet la prescription d'un traitement antibiotique d'emblée adapté et une économie d'utilisation des carbapénèmes, molécules de dernier recours. Nous décrivons une méthode utilisant la spectrométrie de masse MALDI-TOF (Bruker), pour la détection rapide en routine d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE.

Méthodes : Un total de 100 souches d'*E.coli* (50 BLSE) et 50 souches de *K.pneumoniae* (25 BLSE) ont été incubées à 37°C sous agitation pendant 3h en présence de solutions d'antibiotique (céfotaxime: seul et avec ac.clavulanique, céfépime seul et avec ac.clavulanique. Après centrifugation, le surnageant était analysé à l'aide du MALDI-TOF. La présence ou l'absence de pics définis comme appartenant au métabolite de l'antibiotique naturel ou hydrolysé par une BLSE éventuellement produite était analysée.

Résultats obtenus : Nous avons calculé les rapports de l'intensité du pic 370m/z correspondant à la molécule dégradée par l'enzyme -commun aux 2 antibiotiques- sur la somme des intensités des pics naturels de l'antibiotique, soit 456m/z et 396m/z pour le céfotaxime, 481m/z et 396m/z pour le céfépime. Selon les résultats préliminaires, un rapport supérieur à 0,33 pour le

céfotaxime permet la détection d'une BLSE de *E.coli* avec une sensibilité de 98% et une spécificité de 94%, et respectivement 100% et 88% chez *K.pneumoniae*. Un rapport supérieur à 1 pour le céfépime détecte la BLSE avec une sensibilité de 96% et une spécificité de 92% chez *E.coli*, et une sensibilité et spécificité de 92% chez *K.pneumoniae*.

Conclusion : Dans un contexte d'augmentation de la fréquence des EBLSE et de la diversité croissante des enzymes, cette technique facile à mettre en œuvre et peu onéreuse permettra l'identification rapide des EBLSE et une adaptation précoce des traitements.

184/45o 23/11/2012 - 09:00 - AMPÈRE 9

Evaluation of fully automated quantification of cytomegalovirus in whole blood by the new Abbott RealTime CMV assay on the m2000 RealTime System.

N. Schnepf^{1,2}, C. Scieux^{1,2}, F. Simon^{1,2}, M.C. Mazon^{1,2}, J. Le Goff^{1,2}
¹Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Saint-Louis ²Université Paris Diderot, Paris, France

Background: Quantitative detection of cytomegalovirus (CMV) DNA in blood by real-time PCR is currently used for the diagnosis and the management of CMV infection in transplant recipients. The reliability and accuracy of the assays used and the standardization of CMV quantification are critical points. We report the evaluation of an IVD/CE-labeled RealTime assay (Abbott RealTime CMV) that includes a complete fully automated extraction and amplification of CMV DNA from whole blood.

Methods: The analytical performances of the new Abbott RealTime CMV assay have been assessed in whole blood matrix using quality control panels (QCMD) and WHO International Standard for Human Cytomegalovirus (NIBSC code: 09/162). For clinical study, 302 EDTA whole blood samples collected from 207 patients between November 2010 and December 2010 were tested by the new CMV assay and compared to the Qiagen/artus IVD/CE-labeled CMV assay, on the same m2000 RealTime system.

Results: Intra-assay coefficients of variation (CV) were 1.37% and 2.41% at the mean values of 5.09 log₁₀ and 3.04 log₁₀ copies/ml respectively. Inter-assay CV determined with the same two samples in 11 different runs were 2.09% and 3.80% respectively. The threshold cycle values (Ct) of the Abbott internal control to check the overall process, determined on the clinical samples, showed very restricted variation. The lower limit of quantification according to QCMD expected values was 128 copies/ml and that according to Abbott RealTime CMV values was 50 copies/ml, in agreement with the cutoff of 40 copies/ml given in the package insert. The conversion factor between UI/ml and copies/ml determined with the WHO international standard was 1.44 in PBS and 3.16 in whole blood.

CMV DNA was detected in 107 (35%) and in 129 (43%) clinical samples with the Qiagen/Artus assay (cutoff value of 200 copies/ml) and the Abbott assay respectively. CMV DNA was undetectable with the Abbott assay but detected with the Qiagen/Artus assay in 8 samples and undetectable with the Qiagen/Artus assay but detected with the Abbott assay in 30 samples. A good correlation was observed for the 65 samples quantified by both assays ($r=0.84$, $p<0.01$) Viral load values measured with the Qiagen/Artus assay were on average 0.23 log₁₀ higher than those measured by the Abbott assay ($p=0.0003$).

Conclusion: The Abbott RealTime CMV assay provided high reproducibility and sensitivity. Quantitative values were very well correlated with the Qiagen/Artus CMV assay. The improved sensitivity might have an impact on clinical decisions for treated patients. The conversion factor between UI/ml and copies/ml depends on the matrix tested. This should be considered to guarantee a homogenous standardization between different commercial assays.

185/45o 23/11/2012 - 09:15 - AMPÈRE 9

Activité inhibitrice de l'artésunate, de la dihydroartémisinine et de l'artémisinine sur la réplication du cytomégalo virus.

A. Flobinus², N. Taudon¹, M. Desbordes¹, F. Simon^{2,4}, M.C. Mazon^{2,4,3}, N. Schnepf^{2,3}

¹Laboratoire de Bioanalyse et Pharmacocinétique, UMR-MD3 Infections Parasitaires: Transmission, Physiopathologie et Thérapeutique, Aix-Marseille Université, Institut de Recherche Biomédicale des Armées, Marseille ²Service de Microbiologie, Hôpital Saint-Louis ³Laboratoire associé CNR Cytomégalo virus ⁴Université Paris Diderot, Paris, France

L'artésunate (ART), utilisé de longue date dans le traitement du paludisme, inhibe *in vitro* la réplication du cytomégalo virus (CMV), ce qui a conduit à proposer son administration à des patients en échec de traitement par les antiviraux conventionnels. L'ART agit sur des voies d'activation cellulaire mais son mécanisme d'action antivirale reste mal connu. L'ART est un dérivé hémisuccinate de la dihydroartémisinine (DHA), produite à partir de l'artémisinine (ARS). *In vivo*, l'ART est rapidement converti en DHA par des estérases plasmiques et tissulaires. La DHA apparaît donc comme la molécule active. Le but du travail est d'évaluer la stabilité de l'ART et de la DHA, ainsi que leur activité antivirale dans différentes conditions expérimentales. L'ART et la DHA ont été dosés dans du milieu de culture contenant ou non du sérum de veau fœtal et en présence ou non de monocouches de fibroblastes embryonnaires humains. Les concentrations des

différentes molécules inhibant de 50% la synthèse de génomes de la souche de CMV de référence AD169 et d'un isolat clinique ont été déterminées. Un faible taux de conversion de l'ART en DHA a été observé. Le niveau de diffusion intra-cellulaire de ces molécules apparaissait très faible également. La somme des concentrations respectives d'ART et DHA a diminué rapidement, reflétant l'instabilité des molécules. De façon inattendue, l'activité anticytomégalo virale de la DHA était clairement plus faible que celle de l'ART tandis que l'ARS ne montrait aucune activité malgré une structure chimique très proche. Les activités antivirales de la DHA et de l'ART étaient fortement réduites en l'absence de sérum de veau fœtal, ce qui souligne l'importance du métabolisme cellulaire dans l'activité antivirale de ces molécules. L'inhibition de la réplication du CMV était accrue en cas d'apport des molécules sous forme de doses fractionnées. L'ensemble de ces résultats est en faveur de l'administration en clinique d'ART sous forme de doses fractionnées pour maintenir la présence de la molécule au cours du temps.

186/45o 23/11/2012 - 09:30 - AMPÈRE 9

Surveillance de herpes simplex virus resistance to antivirals : a 4-year single-center follow-up.

S. Burrel^{1,2}, C. Aimé², L. Hermet², Z. Ait-Arkoub², H. Agut^{1,2}, D. Boutolleau^{1,2}
¹ER1 DETIV, Pierre et Marie Curie University ²Virology Department, Pitié-Salpêtrière University Hospital, AP-HP, Paris, France

Objectives: Herpes simplex virus type 1 (HSV-1) and HSV-2 are responsible for a variety of clinical manifestations. The symptoms are usually self-limited but severe diseases may occur in immunocompromised patients. Emergence of viral resistance is a major obstacle for antiviral treatment effectiveness. Prolonged antiviral drug exposure and ongoing viral replication due to immunosuppression are considered as important risk factors for the emergence of drug resistance. Currently licensed drugs for therapy of HSV infections, i.e., acyclovir (ACV) and foscarnet (FOS), share the same target, the viral DNA polymerase (Pol). ACV requires a primophosphorylation by the viral thymidine kinase (TK). This survey concerning the emergence of HSV resistance to antivirals was conducted in our laboratory during a 4-year period.

Methods: The analysis of HSV resistance to antivirals was performed in two steps. First, a genotypic assay, based on UL23 (TK) and UL30 (Pol) gene sequencing, allowed the identification of mutations associated with either resistance to a specific drug or natural polymorphism. When the interpretation of viral sequences was difficult or ambiguous because of unpreviously described gene mutations, a phenotypic assay, consisting in a plaque reduction assay for the measurement of the antiviral 50% effective concentration (EC₅₀) in cell culture, was performed in order to determine the susceptibility of HSV strain to antivirals and the role of gene mutations of unclear significance.

Results: Between June 2008 and May 2012, a total of 201 HSV-positive biological samples (91 HSV-1 and 110 HSV-2) from 137 patients were analyzed. The samples were mainly mucocutaneous lesions (74%) and were recovered predominantly from patients without underlying medical condition (41%), HIV-infected patients (28%), and patients with malignant hemopathies (20%). Patients' age ranged from 3 to 86 years. Samples were received from metropolitan France, France overseas departments or territories, and Europe. Overall, the number of amino acid changes related to natural polymorphism identified in TK was 20 for HSV-1 and 9 for HSV-2. Twenty-one and 17 amino natural polymorphisms distributed along the DNA polymerase were identified for HSV-1 and HSV-2, respectively. Among the 201 biological samples, the reduced susceptibility to antivirals was confirmed by the genotypic analysis for 26 HSV-1 and 46 HSV-2. Regarding TK, 24% of HSV-1 and 42% of HSV-2 harbored either base insertions/deletions occurring in homopolymer repeats leading to the shift of the translational reading frame of UL23 or missense point mutations previously associated with ACV resistance. An alteration of Pol activity due to nonsynonymous mutations involved in the acquisition of drug resistance was observed only for HSV-1 (4.4%). Apart from the mutational changes surely conferring drug resistance, several newly identified amino acid changes potentially associated with natural polymorphism or with drug resistance were evidence in TK (13 for HSV-1 and 26 for HSV-2) and Pol (26 for HSV-1 and 32 for HSV-2).

Conclusion: Our results support the need for a continuous surveillance of the emergence of HSV resistance to antivirals. This work provides new data which will help in the interpretation of genotypic assay in the field of HSV resistance to antivirals.

187/45o 23/11/2012 - 09:45 - AMPÈRE 9

Réévaluation de la prévalence des virus herpès simplex résistants à l'aciclovir : étude sur 10 années à Lyon, de 2002 à 2011.

E. Frobert^{2,3}, J.S. Casalegno^{2,3}, S. Ducastelle-Lepretre¹, E. Sochay², B. Lina^{2,3}, F. Morfin^{2,3}

¹Hématologie Clinique ²Virologie, Hospices Civils de Lyon ³EA4610 Virpath, Université Lyon 1, Lyon, France

Introduction : L'utilisation de plus en plus répandue et fréquente de l'aciclovir (ACV) mais aussi l'augmentation du nombre de patients immunodéprimés pourraient être à l'origine d'une augmentation des souches HSV résistantes. Jusqu'à présent, la résistance des HSV à l'ACV concerne les patients immunodéprimés chez lesquels la prévalence est estimée entre 2,5 et 10 % selon les études.

Objectifs : Cette étude a pour objectif de réévaluer la prévalence des souches HSV résistantes à l'ACV, sur une période de 10 ans, à la fois dans la population immunocompétente, mais surtout dans la population immunodéprimée (greffés de moelle, greffés d'organes, patients VIH, patients atteints de cancer).

Méthode : Sur la période de 2002 à 2011, tous les patients hospitalisés ou ayant consulté au sein des Hospices Civils de Lyon et ayant eu un prélèvement positif pour HSV1 ou HSV2 ont été inclus dans cette étude rétrospective. La détection de la résistance des souches HSV a été réalisée par analyse phénotypique (Langlois *et al.*, 1986). La prévalence des souches HSV résistantes à l'ACV entre les périodes 2002-2006 et 2007-2011 a été comparée par analyse statistique (Epiinfo Software v3.5.1 CDC).

Résultats : Au total, 1538 patients ont été inclus, dont 1044 immunocompétents et 494 immunodéprimés. Dans la population immunocompétente, la prévalence de la résistance reste très faible <0,5%, sans augmentation significative entre les 2 périodes. Dans la population immunodéprimée, on observe une augmentation significative de la prévalence de 4,3% (11/255) à 13,4% (32/239) ($p=0,0002$). Cette augmentation significative se retrouve pour les patients greffés de moelle chez lesquels la prévalence passe de 10% (5/52) sur la période 2002-2006 à 38% (30/79) pour la période 2007-2011 ($p=0,0002$), alors que les autres types d'immunodépression ne voient pas cette prévalence augmenter (1,3% versus 2,9%; $p=0,2$).

Conclusion : La prévalence des souches HSV résistantes à l'ACV reste un problème majeur dans la population immunodéprimée, pour laquelle on observe une augmentation significative chez les patients greffés de moelle osseuse. Cette étude souligne l'intérêt de développer des techniques rapides de diagnostic de la résistance des HSV à l'ACV.

188/45o 23/11/2012 - 10:00 - AMPÈRE 9

Development of drug susceptibility assays for human herpesvirus 6, human herpesvirus 8 and Epstein-Barr virus by Real-Time PCR.

L. Bounaadja, J. Piret, N. Goyette, G. Boivin

Centre de recherche en infectiologie, Université Laval, Québec, Canada

Background: Eight different human herpesviruses cause severe diseases in adults and children. Their pathology differs widely depending on the virus and the specific population with immunocompromised patients being the most vulnerable. The screening and evaluation of candidate antiviral drugs against human herpesviruses 6 and 8 (HHV-6 and HHV-8) and Epstein-Barr virus (EBV) is complicated by the lack of convenient assay systems. Due to the absence of viral plaque formation in cell culture, most susceptibility assays measure the extracellular viral DNA load in the supernatant. For HHV-8 and EBV, the lytic viral replication must be first promoted by treatment of latently-infected B cells with 12-O-tetradecanoyl phorbol (TPA) and/or sodium butyrate. We have developed and validated real-time quantitative PCR assays to determine susceptibilities of HHV-6, HHV-8 and EBV in lymphoma cell lines against commercially available drugs [acyclovir (ACV), ganciclovir (GCV), foscarnet (FOS) and cidofovir (CDV)].

Methods: MT-4 cells were infected with HHV-6 at a MOI of 0.004 for 3 days. BCBL-1 (HHV-8) or P3HR-1 (EBV) cells were first treated with TPA/sodium butyrate or sodium butyrate, respectively, to induce lytic viral replication. All cell lines were then incubated with increasing concentrations of drugs in absence of the inducing agent(s). After 3 (HHV-6), 6 (HHV-8) or 4 (EBV) days of drug exposure, viral DNA was quantified in cell culture supernatant by real-time PCR. Viability of target cell lines was determined by a MTS assay. For each drug, we calculated the 50% effective concentration (EC_{50}) and the 50% cytotoxic concentration (CC_{50}).

Results: We found that CDV ($1.82 \pm 0.59 \mu\text{M}$) was the most potent agent against HHV-6 followed by GCV ($4.46 \pm 1.35 \mu\text{M}$), FOS ($9.74 \pm 1.50 \mu\text{M}$) and ACV ($16.21 \pm 2.45 \mu\text{M}$). The EC_{50} values determined for HHV-8 were $0.28 \pm 0.16 \mu\text{M}$, $0.97 \pm 0.40 \mu\text{M}$, $25.56 \pm 2.15 \mu\text{M}$ and $38.83 \pm 6.75 \mu\text{M}$ for CDV, GCV, ACV and FOS, respectively. For EBV, we found that CDV ($0.27 \pm 0.02 \mu\text{M}$), ACV ($0.51 \pm 0.33 \mu\text{M}$) and GCV ($0.57 \pm 0.42 \mu\text{M}$) were the most active drugs followed by FOS ($2.18 \pm 0.65 \mu\text{M}$). All CC_{50} values were in the millimolar range.

Conclusions: Drug susceptibility assays for HHV-6, HHV-8 and EBV based on a molecular readout will be useful for screening candidate antiviral agents.

189/45o 23/11/2012 - 10:15 - AMPÈRE 9

Mise en évidence de la présence de HHV-6 dans les spermatozoïdes.

A.N. Godet⁴⁻¹, M. Desmonet⁴⁻¹, G. Cayrol², H. Koubi⁴⁻¹, X. Pollet Villard², F. Marzouk², P. Bonnafous⁴⁻¹, H. Agut⁴⁻¹, C. Poirot², A. Gautheret-Dejean⁴⁻¹⁻³

¹Service de Virologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, AP-HP ²Service d'Histologie à orientation Biologie de la Reproduction-CECOS, Hôpital Tenon, AP-HP, Université Pierre et Marie Curie ³Laboratoire de Microbiologie, UPRES EA 4065, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ⁴Laboratoire de Virologie, ER1DETIV, Université Pierre et Marie Curie, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Objet de l'étude : Le sixième herpesvirus humain (HHV-6) appartient à la famille des *Herpesviridae* et infecte près de 90% de la population adulte. Des études menées notamment en France, ont montré que le HHV-6 était présent chez environ 1% de la population générale, dans les réservoirs cellulaires habituels (cellules mononucléées sanguines, cellules épithéliales des glandes

salivaires), mais également dans des follicules pileux (non permissifs). Le génome viral est alors intégré au génome cellulaire (ciHHV-6) et la charge virale sanguine dépasse une copie de génome viral par cellule. Quelques cas de transmission de ciHHV-6 des parents à l'enfant, certainement par le biais des cellules germinales ont été décrits. Cependant, la présence du HHV-6 sous cette forme dans les cellules germinales n'a pas encore été démontrée.

Méthodes : 185 échantillons de sperme ont été recueillis avec le consentement éclairés des 185 patients. Les spermatozoïdes ont été séparés du plasma séminal, des autres cellules, bactéries, virus et débris cellulaires par migration sur gradient de PureSperm[®] (45/90). Après lavage et centrifugation, les spermatozoïdes ont été conservés à -80°C. L'ADN total (cellulaire et viral) a été extrait à l'aide de la trousse QIAamp[®] DNA blood mini kit. L'ADN génomique du HHV-6 et le gène codant l'albumine ont été quantifiés par PCR en temps réel, et la charge virale a été exprimée en nombre de copies de génome viral par million de cellules (Cop/M).

Résultats obtenus : Parmi les 185 échantillons testés, la charge virale était indétectable pour 182, en faveur d'un ciHHV-6 pour deux (1 360 465 et 5 668 151 Cop/M), et de 147 368 Cop/M pour un. Le pourcentage de ciHHV-6 était de 1%.

Conclusion : Pour la première fois, nous avons identifié une intégration possible du HHV-6 dans des spermatozoïdes, avec un pourcentage de 1%. Ces résultats sont compatibles avec ceux retrouvés dans le sang. La charge virale de 147 368 Cop/M pose un certain nombre de questions. En effet, aucune donnée n'est disponible sur l'inféctabilité des spermatozoïdes par le HHV-6. Compte tenu de la procédure d'isolement des spermatozoïdes, la présence d'ADN de HHV-6 extracellulaire semble improbable. Nous rechercherons si au cours de la méiose les cellules reproductrices sont sensibles au HHV-6.

193/47SEP 23/11/2012 - 09:00 - BRILLAT SAVARIN 3

Physiopathologie de la primo-infection VIH.

A. Chéret

CHU de Tourcoing, Tourcoing, France

La primo-infection par le VIH est un moment clef de l'installation du virus dans l'organisme.

La plupart des infections par le VIH-1 surviennent après une exposition sexuelle via les voies génitales ou la muqueuse rectale ou orale. La transmission soit en tant que particule virale ou virus lié aux cellules est discuté chez l'homme alors que chez les primates, le SIV peuvent être transmis sous ses deux états (34, 35). Les cellules dendritiques de la muqueuse exposée se lient alors au virus grâce au DC-SIGN (dendritic cell-specific intercellular adhesion molecule-3-grabbing nonintegrin)(16). Après la contamination, la dissémination virale est effectuée via les cellules dendritiques les macrophages, les cellules épithéliales (15, 27, 33) et permettent le transfert aux lymphocytes TCD4 cibles puis vers les ganglions proximaux (8). La majorité des virus retrouvés en primo-infection en France était de sous-type B (75%) (9). La proportion de virus transmis, résistants à au moins un antirétroviral est estimée à 10,9%. Au cours de la primo-infection, le virus présente un tropisme accru pour les cellules exprimant le corécepteur CCR5+ (18). La population virale en primo-infection étudiée au niveau sanguin a été décrite comme étant le plus souvent homogène. L'étude chez des patients en primo-infection très précoce retrouve un seul cluster identique dans le plasma, les sous populations lymphocytaires TCD4 et les cellules de biopsies rectales. (A. Chéret, Bacchus, soumis).

L'intégration du génome viral dans les lymphocytes CD4 T aboutit à la constitution du réservoir VIH dans différents compartiments au cours de la phase de primo-infection dès les premières heures de l'infection (24). Le « stock » de cellules infectées très élevée en primo-infection (20) peut être estimé par la mesure de l'ADN-VIH(17, 26). Il est quantifiable dans les différents sous populations lymphocytaires sanguines (2, 4). Les tissus lymphoïdes associés à la muqueuse intestinale sont le siège majeur de l'infection (40)(7), le réservoir le plus important et il existe une bonne corrélation entre les niveaux d'infection des compartiments muqueux et sanguin (3). L'infection latente des lymphocytes T CD4+ quiescents est expliquée par la physiologie des cellules T. En effet, il existe une relation entre l'état d'activation du lymphocyte T CD4+ infecté et sa capacité à produire du virus (29). La majorité des lymphocytes CD4 intestinaux est de type effecteur ou effecteur mémoire activé et dans une moindre proportion des cellules CD4 naïves. Ces cellules CD4 intestinales sont donc des cibles particulières du VIH en étant activées de façon quasi permanente du fait de leur exposition à une multitude d'antigènes, et permettent un essaimage potentiel de l'infection au niveau systémique (23) (10). L'étude de la répartition et de la contribution des sous-populations lymphocytaires a été menée chez des patients en phase très précoce de primo-infection, moins de 32 jours depuis la contamination (A. Chéret, C. Bacchus, soumis) a mis en évidence que tous les sous-types lymphocytaires sont massivement infectés quel que soit leur état d'activation ou de différenciation. Ces cellules mémoires au moment de la primo-infection sont productrices de virus ce qui reflète un état global de subactivation de ces cellules qui pourrait être un des mécanismes d'amplification de la constitution du réservoir. (A. Chéret, Bacchus, soumis). Une des premières conséquences est la destruction massive du tissu lymphoïde digestif au moment de la primo-infection signant le début de l'instauration du déficit immunitaire.

Ce déficit d'évolution chronique s'inscrit dans une réponse immunitaire faisant intervenir plusieurs acteurs :

En premier lieu l'immunité innée qui intervient dans les minutes suivant l'infection par le VIH. Ces cellules produisent les interférons de type 1 en réponse à l'infection virale (22). Le rôle de cpag des cellules dendritiques aux

lymphocytes TCD4 et TCD8 est primordial dans l'établissement de la réponse adaptative (21). Les pDCs modulent la réaction immunitaire spécifique via la production d'INF γ , la production d'indoleamine 2-3, dioxygénase (DIO) qui induit la différenciation TCD4 en TRReg inhibant les réponses spécifiques anti-VIH (5). Parallèlement les cellules NK (natural killer) et NKT (natural killer T) (1) peuvent contrôler la réplication virale par cytolysse des cellules infectées et production de cytokines et chimiokines antivirales (11). Elles interagissent également avec les macrophages et influencent la réponse T et sont un relais pour activer l'immunité innée (38). Le rôle de l'immunité innée est apportée par des observations montrant que certains allèles HLA de classe 1 en particulier HLA-5701 et 03 sont associés à un meilleur contrôle du virus (13). Des altérations des populations de cellules NK (19) dendritiques et de monocytes circulants sont observées tant en terme quantitatif que qualitatif (capacité à être stimulées via les TLR) (25). Ces perturbations pourraient conduire à l'immunopathologie associée à l'infection par le VIH via éventuellement la dysrégulation de la production d'IFN γ .

Il est généralement admis que les réponses T spécifiques CD4+ et CD8+ participent au contrôle de la réplication virale, notamment pendant la phase aiguë de l'infection (6, 28). L'immunité acquise ou spécifique intervient plus tardivement au moment du pic viral car elle implique une cascade d'activation des cellules capables de reconnaître spécifiquement les antigènes viraux (18). Quelques études ont évalué la réponse TCD8 anti-VIH (37) en stade très précoce avant l'apparition des anticorps. Progressivement l'émergence de nombreux mutants échappent à l'action des TCD8 ne reconnaissant que les épitopes du virus initial à savoir ENV, NEF Gag p24 Pol, chronologiquement. La réponse à des épitopes plus conservés a probablement un impact important dans le contrôle au long cours de l'infection comme chez les patients qui contrôlent l'infection (30, 32). La réponse TCD4 (anti-Gag) est très affectée par l'infection virale massive de ces derniers induisant une mort cellulaire importante par apoptose et/ou effets cytopathogéniques (14). Les réponses T CD4+ et T CD8+ spécifiques ne permettent en général qu'un contrôle partiel de la réplication virale aboutissant à un équilibre immuno-virologique, représenté par le « set-point viral » (6). Il apparaît actuellement que la fonction essentielle de cellules T efficaces est la capacité à s'expandre qui est dépendante de la production notamment d'IL-2 (40). L'invasivité virale donne lieu en primo-infection VIH à une activation immunitaire intense et délétère des lymphocytes B, T et NK, dont l'origine n'est pas encore clairement définie, mais dont le niveau est lié à la progression de la maladie (12). Le reflet de cette activation massive est une tempête cytokinique qui coïncide avec une vague de sécrétion de protéines inflammatoires en primo-infection VIH qui stimulent l'immunité innée et adaptative (31). Des hauts niveaux de réponses cytokiniques sont retrouvés dans les formes graves d'infection aiguë avec les virus de la grippe (39). Cela suggère que la tempête cytokinique en primo-infection VIH contribue très probablement par une suractivation lymphocytaires à promouvoir la réplication virale et intervient en favorisant des mécanismes immunopathologiques délétères à terme pour les patients. La réponse anticorps qui découle de ces cascades immunologiques apparaît « tardivement » en primo-infection VIH environ 12 semaines après la transmission avec une cinétique d'apparition et des anticorps spécifiques de la primo-infection et qui ne possèdent pas de propriétés neutralisantes (36).

A la leur de ces informations l'hypothèse physiopathologique suivante s'impose : une intervention thérapeutique très précoce effectuée à un moment privilégié de l'infection, c'est-à-dire durant l'établissement du réservoir, aura pour conséquence de limiter la destruction massive des TCD4, notamment au niveau digestif. Cela pour préserver un statut immunitaire compétent en facilitant le développement des réponses immunitaires anti-VIH spécifiques. De plus, le traitement précoce et puissant risque de modifier considérablement les premières phases d'établissement du réservoir, protégeant les patients d'un risque de progression de l'infection. Cette hypothèse sera vérifiée avec l'analyse des données de l'essai ANRS047 OPTIPRIM.

Bibliographie :

- Alter, G., N. Teigen, R. Ahern, H. Streeck, A. Meier, E. S. Rosenberg, and M. Altfeld. 2007. Evolution of innate and adaptive effector cell functions during acute HIV-1 infection. *J Infect Dis* 195:1452-1460.
- Avettand-Fenoel V, D. B., Hocqueloux Laurent, Prazuck thierry, Samri Assia, Ménard Adeline, Blanc Catherine, Oualid Florine, Rouzioux Christine, Autran Brigitte and the ALT ANRS CO15 Study Group. 2009. An intermediate Subset of Effector-Memory CD4T Cells is the Major Reservoir of HIV in long Term Elite and Viremic Controllers. *CROI 2009 ABSTRACT*.
- Avettand-Fenoel, V., T. Prazuck, L. Hocqueloux, A. Melard, C. Michau, R. Kerdraon, E. Agoute, and C. Rouzioux. 2008. HIV-DNA in rectal cells is well correlated with HIV-DNA in blood in different groups of patients, including long-term non-progressors. *Aids* 22:1880-1882.
- avettand Fenoel Véronique, D. B., Hocqueloux Laurent, Prazuck thierry, Samri Assia, Ménard Adeline, Blanc Catherine, Oualid Florine, Autran Brigitte, Rouzioux Christine. 2009. Stability of HIV reservoir resting CD4 T Cell Subsets under effective HAART. *CROI Abstract*.
- Bosso, A., M. Vaccari, A. Hryniewicz, D. Fuchs, J. Nacsa, V. Cecchinato, J. Andersson, G. Franchini, G. M. Shearer, and C. Chougnet. 2007. Regulatory T-cell markers, indoleamine 2,3-dioxygenase, and virus levels in spleen and gut during progressive simian immunodeficiency virus infection. *J Virol* 81:11593-11603.
- Borrow, P., H. Lewicki, B. H. Hahn, G. M. Shaw, and M. B. Oldstone. 1994. Virus-specific CD8+ cytotoxic T-lymphocyte activity associated with control of viremia in primary human immunodeficiency virus type 1 infection. *J Virol* 68:6103-6110.
- Brenchley, J. M., B. J. Hill, D. R. Ambrozak, D. A. Price, F. J. Guenaga, J. P. Casazza, J. Kuruppu, J. Yazdani, S. A. Migueles, M. Connors, M. Roederer, D. C. Douek, and R. A. Koup. 2004. T-cell subsets that harbor human immunodeficiency virus (HIV) in vivo: implications for HIV pathogenesis. *J Virol* 78:1160-1168.

- Cameron, P. U., P. S. Freudenthal, J. M. Barker, S. Gezelter, K. Inaba, and R. M. Steinman. 1992. Dendritic cells exposed to human immunodeficiency virus type-1 transmit a vigorous cytopathic infection to CD4+ T cells. *Science* 257:383-387.
- Chaix, M. L., D. Descamps, M. Wirlden, L. Bocket, C. Delauger, C. Tamalet, V. Schneider, J. Izopet, B. Masquelier, C. Rouzioux, L. Meyer, and D. Costagliola. 2009. Stable frequency of HIV-1 transmitted drug resistance in patients at the time of primary infection over 1996-2006 in France. *Aids* 23:717-724.
- Chun, T. W., D. Engel, M. M. Berrey, T. Shea, L. Corey, and A. S. Fauci. 1998. Early establishment of a pool of latently infected, resting CD4(+) T cells during primary HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 95:8869-8873.
- Cocchi, F., A. L. DeVico, A. Garzino-Demo, S. K. Arya, R. C. Gallo, and P. Lusso. 1995. Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science* 270:1811-1815.
- Deeks, S. G., C. M. Kitchen, L. Liu, H. Guo, R. Gascon, A. B. Narvaez, P. Hunt, J. N. Martin, J. O. Kahn, J. Levy, M. S. McGrath, and F. M. Hecht. 2004. Immune activation set point during early HIV infection predicts subsequent CD4+ T-cell changes independent of viral load. *Blood* 104:942-947.
- Deeks, S. G., and B. D. Walker. 2007. Human immunodeficiency virus controllers: mechanisms of durable virus control in the absence of antiretroviral therapy. *Immunity* 27:406-416.
- Frahm, M. A., R. A. Picking, J. D. Kuruc, K. S. McGee, C. L. Gay, J. J. Eron, C. B. Hicks, G. D. Tomaras, and G. Ferrari. 2012. CD4+CD8+ T cells represent a significant portion of the anti-HIV T cell response to acute HIV infection. *J Immunol* 188:4289-4296.
- Gartner, S., P. Markovits, D. M. Markovitz, M. H. Kaplan, R. C. Gallo, and M. Popovic. 1986. The role of mononuclear phagocytes in HTLV-III/LAV infection. *Science* 233:215-219.
- Geijtenbeek, T. B., D. S. Kwon, R. Torensma, S. J. van Vliet, G. C. van Duinhoven, J. Middel, I. L. Cornelissen, H. S. Nottet, V. N. KewalRamani, D. R. Littman, C. G. Figdor, and Y. van Kooyk. 2000. DC-SIGN, a dendritic cell-specific HIV-1-binding protein that enhances trans-infection of T cells. *Cell* 100:587-597.
- Goujard, C., M. Bonarek, L. Meyer, F. Bonnet, M. L. Chaix, C. Deveau, M. Sinet, J. Galimand, J. F. Delfraissy, A. Venet, C. Rouzioux, and P. Morlat. 2006. CD4 cell count and HIV DNA level are independent predictors of disease progression after primary HIV type 1 infection in untreated patients. *Clin Infect Dis* 42:709-715.
- Keele, B. F., E. E. Giorgi, J. F. Salazar-Gonzalez, J. M. Decker, K. T. Pham, M. G. Salazar, C. Sun, T. Grayson, S. Wang, H. Li, X. Wei, C. Jiang, J. L. Kirchherr, F. Gao, J. A. Anderson, L. H. Ping, R. Swanstrom, G. D. Tomaras, W. A. Blattner, P. A. Goepfert, J. M. Kilby, M. S. Saag, E. L. Delwart, M. P. Busch, M. S. Cohen, D. C. Montefiori, B. F. Haynes, B. Gaschen, G. S. Athreya, H. Y. Lee, N. Wood, C. Seoighe, A. S. Perelson, T. Bhattacharya, B. T. Korber, B. H. Hahn, and G. M. Shaw. 2008. Identification and characterization of transmitted and early founder virus envelopes in primary HIV-1 infection. *Proc Natl Acad Sci U S A* 105:7552-7557.
- Kottliil, S., K. Shin, J. O. Jackson, K. N. Reitano, M. A. O'Shea, J. Yang, C. W. Hallahan, R. Lempicki, J. Arthos, and A. S. Fauci. 2006. Innate immune dysfunction in HIV infection: effect of HIV envelope-NK cell interactions. *J Immunol* 176:1107-1114.
- Lewin, S. R., and C. Rouzioux. 2011. HIV cure and eradication: how will we get from the laboratory to effective clinical trials? *Aids* 25:885-897.
- Lubong Sabado, R., D. G. Kavanagh, D. E. Kaufmann, K. Fru, E. Babcock, E. Rosenberg, B. Walker, J. Lifson, N. Bhardwaj, and M. Larsson. 2009. In vitro priming recapitulates in vivo HIV-1 specific T cell responses, revealing rapid loss of virus reactive CD4 T cells in acute HIV-1 infection. *PLoS One* 4:e4256.
- Malleret, B., B. Maneglier, I. Karlsson, P. Lebon, M. Nascimbeni, L. Perie, P. Brochard, B. Delache, J. Calvo, T. Andrieu, O. Spreux-Varoquaux, A. Hosmalin, R. Le Grand, and B. Vasin. 2008. Primary infection with simian immunodeficiency virus: plasmacytoid dendritic cell homing to lymph nodes, type I interferon, and immune suppression. *Blood* 112:4598-4608.
- Mehandru, S., and S. Dandekar. 2008. Role of the gastrointestinal tract in establishing infection in primates and humans. *Curr Opin HIV AIDS* 3:22-27.
- Mehandru, S., M. A. Poles, K. Tenner-Racz, A. Horowitz, A. Hurlley, C. Hogan, D. Boden, P. Racz, and M. Markowitz. 2004. Primary HIV-1 infection is associated with preferential depletion of CD4+ T lymphocytes from effector sites in the gastrointestinal tract. *J Exp Med* 200:761-770.
- Meyers, J. H., J. S. Justement, C. W. Hallahan, E. T. Blair, Y. A. Sun, M. A. O'Shea, G. Roby, S. Kottliil, S. Moir, C. M. Kovacs, T. W. Chun, and A. S. Fauci. 2007. Impact of HIV on cell survival and antiviral activity of plasmacytoid dendritic cells. *PLoS One* 2:e458.
- Ngo-Giang-Huong, N., C. Deveau, I. Da Silva, I. Pellegrin, A. Venet, M. Harzic, M. Sinet, J. F. Delfraissy, L. Meyer, C. Goujard, and C. Rouzioux. 2001. Proviral HIV-1 DNA in subjects followed since primary HIV-1 infection who suppress plasma viral load after one year of highly active antiretroviral therapy. *Aids* 15:665-673.
- Orenstein, J. M., M. S. Meltzer, T. Phipps, and H. E. Gendelman. 1988. Cytoplasmic assembly and accumulation of human immunodeficiency virus types 1 and 2 in recombinant human colony-stimulating factor-1-treated human monocytes: an ultrastructural study. *J Virol* 62:2578-2586.
- Pantaleo, G., C. Graziosi, and A. S. Fauci. 1997. Virologic and immunologic events in primary HIV infection. *Springer Semin Immunopathol* 18:257-266.
- Pierson, T., J. McArthur, and R. F. Siliciano. 2000. Reservoirs for HIV-1: mechanisms for viral persistence in the presence of antiviral immune responses and antiretroviral therapy. *Annu Rev Immunol* 18:665-708.

30. Potter, S. J., C. Lacabartz, O. Lambotte, S. Perez-Patrigeon, B. Vingert, M. Sinet, J. H. Colle, A. Urrutia, D. Scott-Algara, F. Boufassa, J. F. Delfraissy, J. Theze, A. Venet, and L. A. Chakrabarti. 2007. Preserved central memory and activated effector memory CD4+ T-cell subsets in human immunodeficiency virus controllers: an ANRS EP36 study. *J Virol* 81:13904-13915.
31. Roberts, L., J. A. Passmore, C. Williamson, F. Little, L. M. Bebell, K. Misana, W. A. Burgers, F. van Loggelenberg, G. Walz, J. F. Djoba Siaway, Q. A. Karim, and S. S. Karim. 2010. Plasma cytokine levels during acute HIV-1 infection predict HIV disease progression. *Aids* 24:819-831.
32. Saez-Cirion, A., C. Lacabartz, O. Lambotte, P. Versmisse, A. Urrutia, F. Boufassa, F. Barre-Sinoussi, J. F. Delfraissy, M. Sinet, G. Pancino, and A. Venet. 2007. HIV controllers exhibit potent CD8 T cell capacity to suppress HIV infection ex vivo and peculiar cytotoxic T lymphocyte activation phenotype. *Proc Natl Acad Sci U S A* 104:6776-6781.
33. Sharova, N., C. Swingle, M. Sharkey, and M. Stevenson. 2005. Macrophages archive HIV-1 virions for dissemination in trans. *Embo J* 24:2481-2489.
34. Sodora, D. L., A. Gettie, C. J. Miller, and P. A. Marx. 1998. Vaginal transmission of SIV: assessing infectivity and hormonal influences in macaques inoculated with cell-free and cell-associated viral stocks. *AIDS Res Hum Retroviruses* 14 Suppl 1:S119-123.
35. Sodora, D. L., F. Lee, P. J. Dailey, and P. A. Marx. 1998. A genetic and viral load analysis of the simian immunodeficiency virus during the acute phase in macaques inoculated by the vaginal route. *AIDS Res Hum Retroviruses* 14:171-181.
36. Tomaras, G. D., N. L. Yates, P. Liu, L. Qin, G. G. Fouda, L. L. Chavez, A. C. Decamp, R. J. Parks, V. C. Ashley, J. T. Lucas, M. Cohen, J. Eron, C. B. Hicks, H. X. Liao, S. G. Self, G. Landucci, D. N. Forthal, K. J. Weinhold, B. F. Keele, B. H. Hahn, M. L. Greenberg, L. Morris, S. S. Karim, W. A. Blattner, D. C. Montefiori, G. M. Shaw, A. S. Perelson, and B. F. Haynes. 2008. Initial B-cell responses to transmitted human immunodeficiency virus type 1: virion-binding immunoglobulin M (IgM) and IgG antibodies followed by plasma anti-gp41 antibodies with ineffective control of initial viremia. *J Virol* 82:12449-12463.
37. Trautmann, L., F. M. Mbitikon-Kobo, J. P. Goulet, Y. Peretz, Y. Shi, J. Van Grevenynghe, F. A. Procopio, M. R. Boulassel, J. P. Routy, N. Chomont, E. K. Haddad, and R. P. Sekaly. 2012. Profound metabolic, functional and cytolytic differences characterize HIV-specific CD8 T cells in primary and chronic HIV infection. *Blood*.
38. Ward, J., M. Bonaparte, J. Sacks, J. Guterman, M. Fogli, D. Mavilio, and E. Barker. 2007. HIV modulates the expression of ligands important in triggering natural killer cell cytotoxic responses on infected primary T-cell blasts. *Blood* 110:1207-1214.
39. Yu, X., X. Zhang, B. Zhao, J. Wang, Z. Zhu, Z. Teng, J. Shao, J. Shen, Y. Gao, Z. Yuan, and F. Wu. 2011. Intensive cytokine induction in pandemic H1N1 influenza virus infection accompanied by robust production of IL-10 and IL-6. *PLoS One* 6:e28680.
40. Zimmerli, S. C., A. Harari, C. Cellerai, F. Vallelian, P. A. Bart, and G. Pantaleo. 2005. HIV-1-specific IFN-gamma/IL-2-secreting CD8 T cells support CD4-independent proliferation of HIV-1-specific CD8 T cells. *Proc Natl Acad Sci U S A* 102:7239-7244.

194/47SEP 23/11/2012 - 09:20 - BRILLAT SAVARIN 3

Histoire naturelle de l'infection par le rétrovirus humain oncogène HTLV-1.

A. Gessain
Institut Pasteur, Unité d'Epidémiologie et Physiopathologie des Virus Oncogènes, Département de Virologie et CNRS, URA3015, Paris, France

Le rétrovirus HTLV-1 (Human T cell leukemia/lymphoma virus type 1) est le premier rétrovirus oncogène découvert chez l'homme. On estime qu'il infecte 10 à 20 millions de sujets dans le monde. Cependant, L'HTLV-1 n'est pas un virus ubiquitaire. En effet, il existe des zones de forte endémie virale, (sud du Japon, Afrique intertropicale, les Caraïbes, certaines régions d'Amérique Centrale et du Sud, du Moyen-Orient et d'Australie). Dans ces régions, de 0,5 à 50 % des sujets, selon le sexe et l'âge, possèdent des anticorps dirigés spécifiquement contre les antigènes viraux d'HTLV-1. Le diagnostic en routine repose sur la sérologie avec un dépistage, principalement par ELISA, et une confirmation par Western blot. La PCR, qualitative ou quantitative, permet de démontrer la présence de provirus dans les lymphocytes du sang périphérique et de le quantifier mais aussi de déterminer, par séquençage du produit amplifié, le génotype viral (principalement sous-type Cosmopolite en France). L'infection est chronique. La séroprévalence HTLV-1 augmente avec l'âge, en particulier chez la femme. Le virus se transmet de la mère à l'enfant par un allaitement prolongé (> 6 mois), mais aussi par contact sexuel, surtout dans le sens homme-femme, et enfin par voie sanguine, lors de la transmission de cellules lymphoïdes infectées. L'HTLV-1 est principalement l'agent étiologique de deux maladies très sévères; une lymphoprolifération maligne de cellules T, la leucémie-lymphome T de l'adulte, et une neuromyélopathie chronique, invalidante, la paraplégie spastique tropicale (TSP) ou myélopathie associée à HTLV-1 (TSP/HAM). La thérapeutique de ces affections reste très décevante malgré des progrès récents dans le cadre des formes leucémiques (aigüe et chronique) d'ATL. L'HTLV-1 est aussi associé à des maladies plus rares, telles des uvéites antérieures, des dermatites infectieuses et des myosites. La répartition des différents sous-types moléculaires d'HTLV-1 ou génotypes est liée à l'origine géographique des populations infectées et non pas à la pathologie associée. La très grande stabilité génétique d'HTLV-1 est utilisée comme un outil moléculaire pour mieux comprendre l'origine, l'évolution et les

voies de dissémination de ce rétrovirus et des populations infectées.

Principales publications récentes de l'unité EPVO du Pr Antoine Gessain dans le domaine de l'HTLV-1.

1. Transcytosis of HTLV-1 across a tight human epithelial barrier and infection of subepithelial dendritic cells. Martin-Latil S, Gnädig NF, Mallet A, Desdouts M, Guivel-Benhassine F, Jeannin P, Prevost MC, Schwartz O, Gessain A, Ozden S, Ceccaldi PE. *Blood*. 2012 Jul 19; 120(3): 572-80.
2. Tropical spastic paraparesis and HTLV-1 associated myelopathy: clinical, epidemiological, virological and therapeutic aspects. Gessain A, Mahieux R. *Rev Neurol (Paris)*. 2012 Mar; 168(3): 257-69. Review.
3. A new and frequent human T-cell leukemia virus indeterminate Western blot pattern: epidemiological determinants and PCR results in central African inhabitants. Filippone C, Bassot S, Betsem E, Tortevoye P, Guillotte M, Mercereau-Puijalon O, Plancoulaine S, Calattini S, Gessain A. *J Clin Microbiol*. 2012 May; 50(5): 1663-72.
4. HTLV-3/STLV-3 and HTLV-4 viruses: discovery, epidemiology, serology and molecular aspects. Mahieux R, Gessain A. *Viruses*. 2011 Jul; 3(7): 1074-90. Review.
5. [Human retrovirus HTLV-1: descriptive and molecular epidemiology, origin, evolution, diagnosis and associated diseases]. Gessain A. *Bull Soc Pathol Exot*. 2011 Aug; 104(3): 167-80. Review. French.
6. HTLV-2B strains, similar to those found in several Amerindian tribes, are endemic in central African Bakola Pygmies. Maucière P, Afonso PV, Meerens L, Plancoulaine S, Calattini S, Froment A, Van Beveren M, de Thé G, Quintana-Murci L, Mahieux R, Gessain A. *J Infect Dis*. 2011 May 1; 203(9): 1316-23.
7. Multiple retroviral infection by HTLV type 1, 2, 3 and simian foamy virus in a family of Pygmies from Cameroon. Calattini S, Betsem E, Bassot S, Chevalier SA, Tortevoye P, Njouom R, Mahieux R, Froment A, Gessain A. *Virology*. 2011 Feb 5; 410(1): 48-55.
8. Highly active antiretroviral treatment against STLV-1 infection combining reverse transcriptase and HDAC inhibitors. Afonso PV, Mekaouche M, Mortreux F, Toulza F, Moriceau A, Wattel E, Gessain A, Bangham CR, Dubreuil G, Plumelle Y, Hermine O, Estaquier J, Mahieux R. *Blood*. 2010 Nov 11; 116(19): 3802-8.
9. Meta-analysis on the use of zidovudine and interferon-alfa in adult T-cell leukemia/lymphoma showing improved survival in the leukemic subtypes. Bazarbachi A, Plumelle Y, Carlos Ramos J, Tortevoye P, Otrók Z, Taylor G, Gessain A, Harrington W, Panelatti G, Hermine O. *J Clin Oncol*. 2010 Sep 20; 28(27): 4177-83.
10. Biofilm-like extracellular viral assemblies mediate HTLV-1 cell-to-cell transmission at virological synapses. Pais-Correia AM, Sachse M, Guadagnini S, Robbiati V, Lasserre R, Gessain A, Gout O, Alcover A, Thoulouze M. *Nat Med*. 2010 Jan; 16(1): 83-9.
11. Alteration of blood-brain barrier integrity by retroviral infection. Afonso PV, Ozden S, Cumont MC, Seilhean D, Cartier L, Rezaie P, Mason S, Lambert S, Huerre M, Gessain A, Couraud PO, Pique C, Ceccaldi PE, Romero IA. *PLoS Pathog*. 2008 Nov; 4(11): e1000205.
12. New insights into prevalence, genetic diversity, and proviral load of human T-cell leukemia virus types 1 and 2 in pregnant women in Gabon in equatorial central Africa. Etenna SL, Caron M, Besson G, Makuwa M, Gessain A, Mahé A, Kazanji M. *J Clin Microbiol*. 2008 Nov; 46(11): 3607-14.
13. Adult T-cell leukemia/lymphoma and HTLV-1. Mahieux R, Gessain A. *Curr Hematol Malig Rep*. 2007 Oct; 2(4): 257-64.
14. Human T lymphotropic virus type 1 subtype C melanesian genetic variants of the Vanuatu Archipelago and Solomon Islands share a common ancestor. Cassar O, Capuano C, Bassot S, Charavay F, Duprez R, Afonso PV, Abel M, Walter H, Mera W, Martin PM, Chungue E, Gessain A. *J Infect Dis*. 2007 Aug 15; 196(4): 510-21.
15. A major susceptibility locus for HTLV-1 infection in childhood maps to chromosome 6q27. Plancoulaine S, Gessain A, Tortevoye P, Boland-Auge A, Vasilescu A, Matsuda F, Abel L. *Hum Mol Genet*. 2006 Nov 15; 15(22): 3306-12.
16. DC-SIGN facilitates fusion of dendritic cells with human T-cell leukemia virus type 1-infected cells. Ceccaldi PE, Delebecque F, Prevost MC, Moris A, Abastid JP, Gessain A, Schwartz O, Ozden S. *J Virol*. 2006 May; 80(10): 4771-80.
17. Seroprevalence and molecular epidemiology of human T-Cell leukemia virus type 1 (HTLV-1) and HTLV-2 in blood donors from Dakar, Senegal. S, Calattini S, Abah-Dakou J, Thiam D, Diakhaté L, Gessain A. *J Clin Microbiol*. 2006 Apr; 44(4): 1550-4.

196/48o 23/11/2012 - 11:00 - APOLLINAIRE 2

Place des bactéries multirésistantes émergentes au sein des signalements externes des infections nosocomiales à l'AP-HP : évolution 2007-2011.

M. Lepointeur, C. Berthélé, M. Huang, C. Monteil, V. Jarlier, S. Fournier
Équipe Opérationnelle d'Hygiène, Direction de la Politique Médicale, AP-HP, Paris, France

Objectif : Depuis 2001, le signalement externe de certaines infections nosocomiales, rares ou sévères, est obligatoire dans les établissements de santé. Cette étude décrit l'évolution des signalements externes d'infections nosocomiales au sein des 39 hôpitaux de l'Assistance Publique-Hôpitaux de Paris (AP-HP) dans les 5 dernières années, en particulier les motifs liés à des bactéries multirésistantes émergentes (BMRé).

Méthode : Les signalements d'infections nosocomiales émis par les hôpitaux de l'AP-HP sont recensés de façon prospective par l'équipe opérationnelle

d'hygiène du siège de l'AP-HP. Une base de données recueille les caractéristiques de ces signalements (date, hôpital concerné, motif, mesures prises, nombre de cas,...) et permet de décrire leur évolution entre 2007 et 2011.

Résultats : Le nombre de signalements a augmenté de 70% en 5 ans, passant de 94 en 2007 à 159 en 2011. Cette progression est liée à une augmentation des signalements à bactéries multirésistantes considérées comme émergentes en raison de leur mécanisme de résistance aux antibiotiques encore rare en France. Il s'agit des entérocoques résistants à la vancomycine, des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC), et des *Acinetobacter baumannii* résistants à l'imipénème (ABRI). En effet, les BMRé représentaient 16 signalements (17%) en 2007 contre 96 (60%) en 2011. La majorité de ces BMRé ont été isolés chez des patients ayant été hospitalisés à l'étranger (68% des signalements d'EPC et d'ABRI).

Parallèlement, le nombre des autres motifs de signalement est resté stable (aspergilloses, infections à streptocoque du groupe A, épidémies de gastro-entérite, épidémies de grippe) ou a diminué (23 infections à *Clostridium difficile* en 2007 contre 12 en 2011; 11 légionelloses en 2007 contre 4 en 2011).

Conclusion : Depuis 5 ans, le nombre de signalements d'infections nosocomiales est en nette augmentation dans les hôpitaux de l'AP-HP principalement en raison de l'émergence de bactéries particulièrement résistantes. Ces BMRé sont identifiées le plus souvent chez des patients rapatriés d'un pays étranger ce qui justifie d'isoler et dépister ces patients afin d'en limiter la diffusion dans notre pays.

197/48o 23/11/2012 - 11:15 - APOLLINAIRE 2

Contrôle des entérobactéries productrices de carbapénémase dans les hôpitaux de l'AP-HP : 8 ans d'expérience.

S. Fournier³, M. Lepointeur³, C. Brun Buisson², C. Richard², V. Jarrier³, et le réseau des équipes d'hygiène de l'AP-HP¹

²CLIN central ³Direction de la Politique Médicale, Équipe opérationnelle d'hygiène, AP-HP, Paris, France

Objet : Le contrôle des entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC) représente un enjeu majeur pour les années à venir. Depuis 2004, un programme de surveillance et de contrôle des EPC a été progressivement mis en place dans les 38 hôpitaux de l'Assistance Publique - Hôpitaux de Paris.

Méthodes : Depuis 2004, les caractéristiques de chaque alerte impliquant une EPC ont été recueillies de façon prospective: lieu d'admission, lien avec l'étranger, bactéries et enzymes impliquées, survenue de cas secondaires, mesures de prévention et de contrôle des épidémies mises en place.

En 2008, il a été recommandé aux hôpitaux de l'AP-HP d'isoler et dépister tout patient transféré d'un hôpital d'un pays étranger à forte prévalence d'EPC.

En 2009, des recommandations visant à prévenir la diffusion des EPC ont été diffusées: isolement des cas, dépistage des patients contacts; en cas d'épidémie, regroupement des cas et des contacts dans des secteurs dédiés distincts.

Résultats : Depuis 2004, 100 alertes impliquant une EPC ont été recensées à l'AP-HP, dont 74 depuis 2011. Parmi ces 100 alertes, 86% ont impliqué un patient ayant un lien récent avec l'étranger. Ces patients ont été accueillis en réanimation dans 32% des cas.

Les espèces bactériennes les plus fréquentes étaient *Klebsiella pneumoniae* (n=66) et *Escherichia coli* (n=27), les principales enzymes impliquées OXA-48 (58%) et KPC (26%).

Ces 100 alertes ont concerné 153 patients, dont un tiers a développé une infection. Parmi ces infections, un tiers étaient des bactériémies. Trente et un patients sont décédés (20%), sans que le lien entre l'infection et le décès ne puisse être précisé. Treize alertes correspondaient à des épidémies (2 à 14 cas). Le nombre moyen de cas par alerte, incluant le cas index, est passé de 3,2 avant 2009 à 1,2 en 2012, et la proportion d'alertes correspondant à des épidémies est passée de 40% avant 2009 à 9% en 2012, montrant l'efficacité des mesures de prévention des épidémies mises en place.

Conclusion : Le nombre d'alertes concernant des patients porteurs d'EPC s'accroît nettement, particulièrement depuis 2011. La majorité de ces patients ont un lien récent avec l'étranger. Une politique active de prévention des épidémies a permis de limiter la diffusion des EPC au sein des 38 hôpitaux de l'AP-HP.

198/48o 23/11/2012 - 11:30 - APOLLINAIRE 2

Prévalence du portage d'entérobactéries BLSE autour de porteurs d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC).

I. Lolom², L. Armand-Lefèvre¹, G. Birgand², E. Ruppé¹, A. Andreumont¹, J.C. Lucet²

¹Bactériologie ²UHLIN, GH Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris, France

Introduction : La stratégie de contrôle de la diffusion des EPC comprend un dépistage extensif des patients contacts (PC) des cas initiaux (CI). Nous avons évalué la prévalence du portage d'EBLSE à partir des résultats de dépistages EPC.

Méthodes : Surveillance prospective de porteurs d'EPC et des mesures de contrôle depuis juin 2009 dans un CHU de 950 lits. Cette stratégie comporte

1. un dépistage transversal initial des PC, le plus souvent ceux admis depuis

plus de 72 h. dans l'unité de CI ;

2. un dépistage hebdomadaire, puis plus espacé en SSR ou lors de situations paraissant maîtrisées. Dépistage par écouvillon rectal ensemençé sur milieu ESBL (bioMérieux) et, depuis sept 2010, sur milieu Drigalski avec bandelette E-test à l'ertapénème, sans et après enrichissement dans un bouillon à 0,5 mg/L d'ertapénème. L'analyse a porté sur les PC présents dans l'unité des CI hors réanimation.

Résultats : Sur un total de 11 CI entre 06/2009 et 07/2012 (36 mois), 7 ont été hospitalisés hors réanimation, pour 10 séjours dans 10 unités (3 au SMIT, 2 en médecine interne, un en gériatrie, un en SSR, 3 dans une autre unité). Sur un total de 12926 dépistages rectaux d'EPC/EBLSE durant cette période, 1136 (8,8%) l'ont été pour dépister les PC des 7 CI. Au total, 3 cas secondaires d'EPC ont été identifiés (tous hors réanimation), un seul paraissant lié au CI et deux de découverte fortuite. La prévalence globale du portage/porteurs d'EBLSE était de 22.0%/12.7% (250 dépistages et 145 patients porteurs/1136 dépistages), de 22.9%/11.4% au SMIT (577 dépistages), 32.4%/19.5% en SSR (210 dépistages), et de 14.3%/10.9% en médecine et chirurgie (349 dépistages). 175 EBLSE ont été identifiées, 100 *E. coli* (57,1%), 36 *K. pneumoniae* (20,6%), 25 *Enterobacter spp.* (14,2%), et 14 autres EBLSE. Seuls 21 des 145 (14,5%) porteurs ont eu un prélèvement clinique positif à EBLSE.

Conclusion : Le dépistage extensif des PC de CI porteurs d'EPC a permis de n'identifier qu'un cas secondaire probable. En revanche, il a permis d'observer une prévalence élevée des EBLSE dans les services impliqués, et largement méconnue par les seuls prélèvements à visée clinique. Ces données soulignent l'importance d'associer les précautions standard aux précautions contact pour le contrôle des EBLSE.

199/48o 23/11/2012 - 11:45 - APOLLINAIRE 2

La maîtrise de la diffusion des bactéries hautement résistantes (BHR) passe-t-elle par l'application systématique des recommandations ?

G. Birgand², I. Lolom², E. Ruppé¹, L. Armand-Lefèvre¹, S. Belorgey², A. Andreumont¹, J.C. Lucet²

¹Bactériologie ²UHLIN, GH Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris, France

Introduction : Les BHR (entérobactéries productrices de carbapénémase [EPC] et entérocoques résistants aux glycopeptides [ERG]) font l'objet de recommandations strictes pour la maîtrise de leur diffusion en France. Nous rapportons l'expérience d'un CHU, adaptant les mesures à l'analyse du risque épidémique (Répi).

Méthodes : De 01/2009 à 06/2012, 22 épisodes (11 ERG, 11 EPC [8 OXA-48, 2 KPC, 1 NDM1]) ont été identifiés. Une analyse de Répi a été menée: délai admission/BHR+, nombre de cas, niveau de respect des précautions standard (PS) et contact (PC), charge en soins (du cas initial (CI), du service), ratio personnel/patients (Pts), antibiothérapie. Les mesures ont été adaptées à l'évaluation du Répi, allant de PC renforcées pour un cas isolé à des secteurs dédiés avec cohorting du personnel pour les porteurs, les Pts contacts et les Pts indemnes (triple secteur) lors de cas secondaires (Cas2) découverts lors des dépistages initiaux puis hebdomadaires des Pts contacts. Les caractéristiques épidémiologiques et microbiologiques, les mesures de contrôle et le suivi sont rapportés.

Résultats : Les Pts étaient initialement hospitalisés en réanimation (n=4), médecine (n=14) ou chirurgie (n=4). Leur durée de séjour variait de 11j, à 13 mois (médiane, 30j.). Dix CI ont été identifiés dans les 48 h. suivant l'admission. Des PC renforcées ont été débutées pour tous les CI, un arrêt de transferts et des admissions décidé d'emblée pour 5/22 épisodes, et secondairement pour 4 autres après survenue de Cas2. Le personnel a été renforcé pour 4 épisodes et un secteur de cohorting avec personnel dédié aux porteurs créé pour 3 autres, dont une fois un triple secteur. Des Cas2 ont été identifiés dans 5/22 épisodes: 1 à 5 cas 2/épisode pour un total de 13 cas2; 4 ERG et un EPC; 2 épisodes avec 4 et 5 cas2 d'ERG survenus autour de CI identifiés 17 et 60j. après l'admission, mais 3 épisodes avec 4 cas2 malgré des PC renforcées dès l'admission.

Conclusion : Cette expérience est l'une des plus larges en France. Elle suggère la possibilité de graduer les mesures en fonction du Répi, dès lors que des pré-requis sont présents. Cependant, des cas2 sont survenus autour de Pts seulement placés en PC renforcées, soulignant que cette attitude doit être mise en œuvre avec prudence.

200/48o 23/11/2012 - 12:00 - APOLLINAIRE 2

Lutte contre les entérobactéries multirésistantes : la gestion des excréta est-elle optimale ?

M. Lepointeur³, S. Nérome², G. Bendjelloul⁴, B. Cottard-Boulle¹, C. Monteil³, M. Huang³, V. Jarrier³, S. Fournier³

¹Équipe Opérationnelle d'Hygiène, Hôpital Ambroise Paré, AP-HP, Boulogne-Billancourt ²Équipe Opérationnelle d'Hygiène, Hôpital Beaujon, AP-HP, Clichy ³Équipe Opérationnelle d'Hygiène, Direction de la Politique Médicale, AP-HP ⁴Unité d'Hygiène et de Lutte contre les Infections Nosocomiales, Hôpital Bichat, AP-HP, Paris, France

Objectif : Les excréta représentent une source majeure de diffusion des entérobactéries multirésistantes (EBLSE, EPC), bactéries digestives et agents d'infections urinaires. L'objectif était de recenser les équipements et les

pratiques de gestion des excréta dans les établissements de l'Assistance Publique - Hôpitaux de Paris (APHP).

Méthode : Une enquête un jour donné a été réalisée en 2012 à l'aide d'un questionnaire permettant de dénombrer les patients concernés, de recenser les équipements et d'évaluer les pratiques en vigueur.

Résultats : Au total, 536 services de toutes spécialités appartenant à 28 hôpitaux sur les 38 de l'APHP ont participé à l'enquête. Sur un total de 21000 lits, 13230 (63%) ont été couverts par l'enquête: 7546 lits de MCO (57%) dont 1079 lits de pédiatrie et 5684 lits de SSR/SLD (73%). Parmi les patients présents le jour de l'enquête, 5697 (43%) portaient des changes complets (1642 dans les services MCO soit 22% et 4055 dans les services de SSR/SLD soit 71%) et 1767 (13%) utilisaient un bassin.

Près de 61% des lits ont accès à des WC partagés, 43% des WC sont équipés de douchettes rinçage-bassin dont l'utilisation favorise la projection d'aérosols de bactéries fécales dans l'environnement.

Seuls 15% des services utilisent des couvercles de bassins, 8% utilisent des sacs à usage unique de recueil des excréta. 68% des services sont équipés de lave-bassins dont les deux tiers ont subi au moins une panne dans l'année.

Seuls 52% des locaux des lave-bassins sont équipés de solution hydro-alcoolique.

Dans 79% des services recourant à l'utilisation de bassins, un rinçage du bassin est effectué avant la désinfection, le plus souvent dans la chambre du patient (87%). La raison avancée est une inadéquation entre les modèles de bassins disponibles et les lave-bassins en place, ce qui entrave le nettoyage correct des bassins dans les lave-bassins. Seuls 8% des personnels interrogés déclarent avoir suivi une formation sur la gestion des excréta.

Conclusion : Cette enquête montre que, dans la lutte contre la diffusion des entérobactéries multirésistantes et parallèlement à la promotion de l'hygiène des mains par la friction hydro-alcoolique, la gestion des excréta est un point clé, souvent négligé, à prendre en compte.

201/48o 23/11/2012 - 12:15 - APOLLINAIRE 2

PCR en temps réel dans une stratégie de maîtrise des entérocoques résistant aux glycopeptides (ERG) : des économies ou un surcoût ?

G. Birgand³, R. Ruimy¹, M. Shwarzinger⁵, I. Lolom³, S. Belorgey³, N. Houhou⁴, L. Armand-Lefèvre, Y. Yazdanpanah^{2,5}, A. Andreumont¹, J.C. Lucet³
¹Bactériologie ²Infectiologie ³UHLIN ⁴Virologie, GH Bichat-Claude Bernard, AP-HP ⁵ATIP-Avenir U738, Inserm, Paris, France

Introduction : L'application des recommandations de maîtrise de la diffusion des ERG, basée sur une stratégie de « search and isolate », est coûteuse et désorganisatrice pour les unités de soins.

Objectif : Évaluer l'intérêt économique de la PCR en temps réel (PTR, Cepheid Xpert™ *vanA/vanB*) dans le cadre du contrôle d'un épisode d'ERG dans 2 unités de soins.

Méthodes : Dans notre établissement, le dépistage transversal (DT) des Pts contacts (PC) d'ERG est associé à l'arrêt des transferts et des admissions dans l'unité affectée. Si le cas initial (CI) est unique et les mesures de contrôle bien respectées, la négativité du 1^{er} DT autorise les admissions et le transfert interne des PC. La culture des écouvillons rectaux a été réalisée sur milieu sélectif chromogène (Oxoid Brilliance VRE) sans et avec 24h d'enrichissement en bouillon sélectif (AES VRE). Les souches isolées étaient identifiées puis caractérisées phéno-et génotypiquement. Les délais (du dépistage rectal au résultat), coûts des techniques et les journées d'hospitalisation (JH) perdues par l'arrêt d'activité lors de l'épisode ont été calculées prospectivement. La perte de recette pour l'hôpital a été calculée en multipliant le nombre de JH perdues par le poids moyen du cas traité dans l'unité concernée (360€ en diabétologie et 426€ en néphrologie).

Résultats : L'identification d'un *E. faecium vanA* en diabétologie en février 2012 a fait dépister 31 PC de l'unité par méthode de culture+enrichissement. Le délai médian d'analyse était de 70,5h. (IIQ: 69.4-70.5 h.); 41 JH étaient perdues en 72h. d'interruption d'activité. Le coût global était estimé à 14 288 euros : 13 968€ de perte de recette et 320€ de dépistage. Un PC transféré en néphrologie était retrouvé porteur. En néphrologie, 22 PC du cas secondaire ont été dépistés dans la journée par PTR sans arrêt de l'activité. Parmi eux, 19 (86%) étaient négatifs en *vanA*; 2 positifs en *vanB* et 3 résultats invalides ont nécessité une culture. La durée médiane d'analyse était de 4,6h. (4-19h.). Le coût global de la stratégie était estimé à 856€ (coûts de dépistage).

Conclusion : Le dépistage par PTR apparaît comme un outil utile et rentable d'aide rapide à la décision pour le contrôle des ERG *vanA*. Il est moins utile en cas d'ERG *vanB* (faux positifs).

205/49SEP 23/11/2012 - 12:00 - APOLLINAIRE 6

Suivi des infections post-opératoire en post-hospitalisation.

P. Jarno
CCLIN Ouest, Rennes, France

En 2006 [1], les infections du site opératoire (ISO) représentaient 17% des infections nosocomiales (IN). Or elles augmentent la morbidité et les coûts liés aux soins (prolongement des hospitalisations, ré-hospitalisations). C'est donc un problème de santé publique important qui a conduit les professionnels de la lutte contre les IN à organiser leur surveillance au sein de réseaux initialement inter régionaux puis national en 1999, coordonnés par les CCLIN puis par le

Réseau d'Alerte et de Surveillance des IN (RAISIN) depuis 2001. Parallèlement, la surveillance des ISO a été intégrée, sous la forme d'un indicateur de procédures (SURVISO: proportion de services de l'établissement ayant mis en place une surveillance de ses ISO) dans le tableau de bord des IN en 2006 et sous la forme d'indicateurs de résultats (d'objectif quantifié de résultats) dans le programme 2009-2013[1] [2].

Au cours de la dernière décennie, la proportion d'ISO apparaissant après la sortie du patient n'a cessé de croître en raison de la diminution de la durée d'hospitalisation et du développement de la chirurgie ambulatoire. De 2004 à 2008, la proportion d'ISO diagnostiquées après la sortie est passée de % à % [3], dans la partie basse de la fourchette comprise entre 30 et 70% de différentes études récentes [5], [7], [8], [9], [19], voire plus de 70% pour certaines interventions [17], [18]. Mais, en France, seule la moitié des interventions est suivie à 30 jours (67,6% à 15 jours) [3] et 67,6% des interventions chirurgicales surveillées semblent suivies après la sortie [4].

Dans le cadre d'un réseau de surveillance dont un des objectifs est de permettre aux établissements de se comparer, la connaissance de l'existence (ou non) d'un procédé systématique de suivi des ISO après l'hospitalisation (SPH) est nécessaire pour que les taux d'incidence des ISO soient informatifs [8], [9]: si les ISO en post-hospitalisation ne sont pas recensées, les taux d'incidence présentés sous-estimeront l'incidence réelle. Plusieurs études ont montré que l'existence d'une SPH augmente significativement le taux d'incidence des ISO [7], [8], [9], [11].

Au-delà de l'existence ou non d'un procédé suivi, la comparaison entre établissements, entre régions ou entre pays nécessite (comme l'ont souligné les responsables des réseaux allemands et français) de connaître le périmètre et la qualité des procédés de SPH mis en œuvre d'un établissement de soins à un autre [14], [5]. Cela a conduit différents professionnels à étudier les procédés existants dans les établissements [6], [8], [10], [12] et à comparer les incidences selon les procédés [9].

- Petherick et al ont réalisé une revue de la littérature entre 1993 et 2004: 78 études portaient sur la SPH. Dans ces études, les principales méthodes utilisées pour détecter les ISO en post-hospitalisation étaient: l'observation directe de la cicatrice chirurgicale par le personnel soignant (chirurgien ou infirmière), l'entretien téléphonique avec le patient et le questionnaire écrit rempli par le patient, avec parfois combinaison de plusieurs méthodes. Les méthodes de référence pour le recueil des ISO survenant en post-hospitalisation restent à définir. Il n'existe pas de consensus international. Les auteurs insistent sur la nécessité de déterminer un moyen réalisable, fiable, valide et standardisé afin de collecter cette information [10].

- Whitby et al ont cherché à impliquer le patient dans la reconnaissance des symptômes et des signes cliniques d'une ISO en lui proposant une éducation avant la sortie de l'établissement. Leurs résultats suggèrent qu'éduquer les patients entraîne un sur-diagnostic d'infection (VPP peu informative) mais permet d'identifier la quasi-totalité des infections (VPN proche de 100%). Ce qui questionne quant à la valeur de taux d'incidence des ISO obtenus par l'auto appréciation isolée de la présence ou de l'absence de signes d'infection de leur cicatrice chirurgicale par les patients eux-mêmes [12].

- Taylor, qui propose des contacts téléphoniques avec le patient après sa sortie confirme les résultats de Whitby en termes de VPP et VPN et en tire des conclusions différentes puisqu'il considère que les contacts téléphoniques permettent de sélectionner les patients à risque et proposent donc une visite auprès d'un médecin en cas de signes. Cela permet de limiter les consultations post intervention à 7% des patients: 5% ont vu le diagnostic d'ISO confirmer; 2% des ISO n'ont pas été confirmées [16].

- McNeish et al décrivent et évaluent une méthode de recueil des ISO survenant en post-hospitalisation par téléphonie automatisée sans résultat probant [6].

- Manniën et al ont analysé les données recueillies par le réseau hollandais de surveillance des IN entre 1999 et 2004: la surveillance concernait 64 des 98 ES hollandais, soit 131 798 interventions chirurgicales. Le réseau national recommandait 2 méthodes de SPH: l'insertion d'un formulaire spécifique dans le dossier médical ambulatoire du patient et l'examen systématique des dossiers médicaux ambulatoires; méthodes considérées comme réalisables et fiables pour les ES hollandais car presque tous les patients sont revus par leur chirurgien après la sortie. D'autres méthodes de SPH « actives » ont été recensées: les questionnaires écrits envoyés aux patients ou aux chirurgiens et les entretiens téléphoniques avec les patients. Si aucune méthode active n'était utilisée, les auteurs considéraient la SPH comme « passive »: ISO retrouvées par hasard, par exemple lors d'une réhospitalisation. Les auteurs évoquent les limites de chaque méthode de SPH: faible sensibilité des questionnaires remplis a posteriori par les chirurgiens, observation directe des cicatrices post-opératoires de tous les patients par le chirurgien ou le professionnel responsable du contrôle des IN décrite comme le « gold standard » de la surveillance des ISO mais chère, chronophage et difficile à mettre en place en routine, très peu de retour des questionnaires écrits remis au patient, apport d'informations plus fiables grâce aux entretiens téléphoniques par un professionnel de santé entraîné mais méthode très chronophage; absence de fiabilité de l'auto-évaluation par les patients quant à l'absence ou la présence d'une IN. Une bonne méthode de SPH devrait donc permettre le suivi de tous les patients après la sortie avec un diagnostic fiable d'absence ou de présence d'ISO tout en limitant les coûts et la quantité de travail.

Les résultats montrent que 24% des ES utilisaient comme SPH une méthode recommandée, 25% une autre méthode active et 52% une méthode « passive ». La proportion d'ISO retrouvées après la sortie (par rapport à l'ensemble des ISO diagnostiquées) était plus importante lorsqu'une des méthodes recommandées était mise en place (43% vs 30% avec une autre méthode « active » et vs 25% avec une méthode « passive »).

Les auteurs insistent sur l'importance de la mise en place d'une SPH active

pour la plupart des interventions, notamment lorsque la proportion d'IN apparaissant après la sortie du patient est importante. Au Pays-Bas, les taux d'incidence des ISO annuels de référence pour chaque procédure chirurgicale sont donnés séparément en fonction du type de SPH mise en place. Pour les interventions chirurgicales bénéficiant d'une des SPH recommandée par le réseau national, le taux d'incidence des ISO est calculé en incluant les ISO survenues avant et après la sortie. Alors que pour les autres interventions chirurgicales, avec ou sans SPH, seules les ISO apparaissant avant la sortie sont prises en compte [9].

En France, deux études inter régionales ont été menées sur la SPH. En 2007, dans l'inter région Sud-Est, 21,5% des procédures chirurgicales n'ont pas fait l'objet d'un suivi systématique après la sortie. Parmi celles bénéficiant d'un suivi systématique, 92,9% étaient prévues pour être suivies au minimum jusqu'à un mois après l'intervention, ce qui est le double du suivi effectif à 30 jours rapporté par la surveillance ISO Sud-Est 2006 [11]. En 2008, dans l'inter région Ouest, la moitié des ES de l'inter-région avaient mis en place un procédé de suivi des ISO après la sortie du patient. Les procédés étaient hétérogènes entre les établissements. L'incidence des ISO était plus élevée pour les ES ayant un procédé de suivi des ISO en post-hospitalisation, mais la différence n'était pas significative [4].

Ces études ont permis de faire un état des lieux des procédés de SPH utilisés en France.

Objectifs : l'objectif général de la présente enquête est d'améliorer la qualité des données du réseau de surveillance des ISO en affinant les taux d'incidence des ISO par un meilleur recensement des ISO survenant en post-hospitalisation. Plusieurs objectifs opérationnels ont été identifiés :

- faire un état des lieux et estimer la fréquence des procédés de suivi des ISO en post-hospitalisation existant actuellement dans les services de chirurgie participant à la surveillance ISO RAISIN;
- comparer les taux d'incidence des ISO selon l'existence ou non d'un procédé de suivi des ISO en post-hospitalisation et selon le type de procédé;
- proposer des recommandations de suivi des ISO en post-hospitalisation.

Méthode : tous les ES participant à la surveillance ISO 2010 ont été sollicités pour répondre à l'étude complémentaire sur les procédés de suivi: chaque service a saisi un questionnaire en ligne.

Un procédé de suivi des ISO en post-hospitalisation est un recueil systématique, grâce à une organisation spécifique au niveau du service de chirurgie, de la présence ou non d'une ISO (variable ISO renseignée) après la sortie du patient de l'établissement de santé.

Il faut bien distinguer le suivi clinique du suivi épidémiologique. Dans le cadre de la surveillance des ISO par les réseaux de surveillance, il s'agit d'évaluer le suivi épidémiologique. En d'autres termes, ce sont les moyens mis en œuvre par chaque service de chirurgie pour suivre leurs patients au moins trente jours après l'intervention chirurgicale afin de renseigner le cas échéant la survenue d'une ISO.

Résultats : 1152 services de 371 ES ont participé (48% des inscrits). 85% des services déclarent mettre en place un PSPH et parmi eux 36% ont un procédé écrit.

Les principaux procédés utilisés: consultation (84%), système d'information hospitalier (SIH) (33%), relance téléphonique (7%) et questionnaire (6%).

43% des services ont 1 seul PSPH; 40%, 2; 16%, 3 et 2%, 4. L'existence d'un PSPH et le nombre de procédés employés différaient de façon significative selon le type d'ES ($p < 10^{-3}$).

L'incidence était différente selon l'existence d'un PSPH (1%; IC: [0,95-1,06]) ou non (0,8; IC: [0,68-0,92]) et selon le type de PSPH ($p < 0,05$): 1,7% si relance téléphonique; 1% si consultation ou questionnaire et 1,1% si SIH.

Elle variait de 0,8% si 1 seul PSPH à 1,7% si 4 PSPH ($p < 0,05$).

Conclusion : Si 85% des services déclarent avoir mis en place un procédé de suivi, les pratiques sont variées. L'incidence augmente avec l'existence et le nombre de PSPH utilisés et semble différente selon le type de procédé.

Dans le cadre d'une réflexion menée au niveau européen, des recommandations restent donc à définir avec les sociétés savantes pour améliorer la qualité du suivi et optimiser les données du réseau ISO-RAISIN.

[1] **En 2012, le taux d'incidence* des infections du site opératoire pour 100 actes, pour des interventions ciblées** à faible risque d'infection, a diminué globalement d'un quart, y compris pour les infections profondes ; [données de référence : ISO RAISIN 2008]**

207/50s 23/11/2012 - 11:20 - APOLLINAIRE 8

Immunodépression induite par le sepsis.

G. Monneret

Laboratoire d'Immunologie, Hôpital E. Herriot - Hospices Civils de Lyon, 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 caractérisés par la mise en place différée (quelques heures à quelques jours) d'une immunodépression majeure. Plusieurs mécanismes participent à ce phénomène (tolérance à l'endotoxine, régulation épigénétique, anergie lymphocytaire, apoptose). Ils peuvent être assimilés à une défaillance d'organe (i.e., du système immunitaire) supplémentaire qu'il serait important de prendre en compte dans la prise en charge des patients qui survivent aux premières heures du sepsis. En effet, l'amplitude et la persistance dans le temps de cette immunodépression sont

associées à un risque accru d'infection nosocomiale (ou de réactivation virale) et de mauvais pronostic. Il est donc aujourd'hui raisonnable d'évaluer de nouvelles approches thérapeutiques ciblées visant à restaurer les fonctions immunitaires. Nous envisagerons dans cette présentation les mécanismes physiopathologiques qui sous-tendent l'immunosuppression induite par les états septiques, les biomarqueurs utiles à son suivi et les perspectives thérapeutiques qui en découlent (GM-CSF, IL-7, anti-PD-1) afin de restimuler le système immunitaire.

Références :

1. Hotchkiss RS, Karl IE. The pathophysiology and treatment of sepsis. *N Engl J Med* 2003; 348(2): 138-150.
2. 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.
3. Hotchkiss RS, Coopersmith CM, McDunn JE, et al. The sepsis seesaw: tilting toward immunosuppression. *Nat Med* 2009; 15(5): 496-497.
4. Pugin J. Immunostimulation is a rational therapeutic strategy in sepsis. *Novartis Found Symp* 2007; 280: 21-27.
5. 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.
6. Meisel C, Scheffold JC, Pischowski 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.
7. Kalil A. C., and D. F. Florescu. 2009. Prevalence and mortality associated with cytomegalovirus infection in nonimmunosuppressed patients in the intensive care unit. *Crit Care Med* 37: 2350-2358.
8. Boomer, J. S., K. To, K. C. Chang, O. Takasu, D. F. Osborne, A. H. Walton, T. L. Bricker, S. D. Jarman, 2nd, D. Kreisel, A. S. Krupnick, A. Srivastava, P. E. Swanson, J. M. Green, and R. S. Hotchkiss. 2011. Immunosuppression in patients who die of sepsis and multiple organ failure. *JAMA* 306: 2594-2605.
9. Hotchkiss, R. S., and S. Opal. 2010. Immunotherapy for sepsis—a new approach against an ancient foe. *N Engl J Med* 363: 87-89.
10. Unsinger, J., C. A. Burnham, J. McDonough, M. Morre, P. S. Prakash, C. C. Caldwell, W. M. Dunne, Jr., and R. S. Hotchkiss. 2012. IL-7 Ameliorates Immune Dysfunction and Improves Survival in a Two-Hit Model of Fungal Sepsis. *J Infect Dis*. 2012

210/52s 23/11/2012 - 11:00 - AMPÈRE 5

Les staphylocoques.

O. Dumitrescu

Faculté de Médecine « Lyon Sud-Charles Mérieux », Université Lyon I, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence des Staphylocoques, Bron, France

Staphylococcus aureus résistant à la métilicine (SARM) est un pathogène responsable d'infections nosocomiales (IN) grevées d'une morbi-mortalité accrue. Le SARM fait partie des bactéries multi-résistantes dont l'émergence fait suite au mésusage des antibiotiques dans le milieu hospitalier. Dans les années 1990, les hôpitaux français se sont trouvés confrontés à une situation endémique au regard de la prévalence des IN à SARM. Ces infections touchent particulièrement les patients fragilisés soignés dans des services tels que les soins intensifs et les réanimations. Certains patients peuvent être porteurs sains avant de développer une infection invasive ou ils peuvent tout simplement jouer le rôle de réservoir sans jamais déclarer d'infection à SARM. Dès lors, la transmission croisée de SARM (via les mains du personnel ou le matériel) à partir d'un patient infecté ou d'un patient porteur expose au risque de diffusion épidémique de ce pathogène.

Dans le cadre de la politique de lutte contre les IN mise en place dès les années 1988, la maîtrise de la résistance bactérienne aux antibiotiques va devenir une priorité de santé publique. Des programmes sont mis en place dont les deux composantes essentielles sont la réduction de la pression de sélection par un usage rationnel des antibiotiques et la prévention de la transmission croisée. En 1998 sont publiées, sous le titre « Isolement septique » des recommandations pour éviter la transmission des bactéries-multi-résistantes dont font également partie les SARM. L'application de ces mesures par les professionnels de santé a permis d'obtenir une baisse de 40 % du taux de prévalence de patients infectés par SARM. Le succès de cette stratégie suppose une collaboration étroite entre les cliniciens, les hygiénistes et les microbiologistes avec et la mise en place d'un dépistage efficace des patients porteurs de SARM à l'admission dans les établissements de soins.

Les recommandations de «Prévention de la transmission croisée» établies par la Société Française d'Hygiène Hospitalière (SFHH) en avril 2009 encadrent la pratique du dépistage des bactéries multi-résistantes dans les établissements de santé. Le dépistage du SARM est réalisé dans les services de réanimation à l'admission de tous les patients, et plus particulièrement des patients à haut risque d'infection (les dialysés chroniques, les porteurs de cathéter central de longue durée, les greffés hépatiques), mais aussi lors de toute situation d'épidémie. En cours de séjour en réanimation il est recommandé de dépister régulièrement les patients pour le SARM, la fréquence étant habituellement hebdomadaire. En ce qui concerne les autres unités d'hospitalisation (médecine, chirurgie, gynécologie-obstétrique, soins de suite et réadaptation, soins de longue durée) le dépistage de SARM n'est pas recommandé en l'absence de situation épidémique. Les sites anatomiques choisis dans les recommandations sont les fosses nasales antérieures et les plaies chroniques. Toutefois, des publications récentes ont montré que le taux de dépistage pourrait être amélioré si un prélèvement de gorge était réalisé en plus du prélèvement nasal. En effet, les sites de colonisation semblent varier en

fonction du clonotype de SARM : ainsi, les SARM communautaires de type USA300 sont retrouvés préférentiellement au niveau de la gorge et non pas du nez.

Au niveau microbiologique, c'est le laboratoire qui statue sur le choix des techniques de mise en évidence des SARM dans les prélèvements de dépistage, car il n'existe pas actuellement de consensus national. La plupart des laboratoires utilisent des milieux chromogéniques enrichis en antibiotiques et spécifiques du SARM, l'ensemencement des prélèvements s'y faisant directement et sans passer par une étape d'enrichissement. Différentes études ont montré un apport certain de l'enrichissement (allant jusqu'à doubler les résultats positifs), néanmoins, la perte engendrée de 12 à 24 heures jusqu'à l'obtention du résultat final a conduit à l'exclusion de cette étape. Les techniques de biologie moléculaires quant à elles, bien qu'offrant la possibilité d'un gain de temps de près de 24 heures par rapport aux procédés de culture classique, se heurtent au problème du coût trop élevé et ne sont pas utilisées actuellement en routine de laboratoire.

Un dépistage positif conduit à l'isolement du patient et à l'application d'un faisceau de mesures spécifiques «type contact» visant à maîtriser la transmission croisée du SARM. La levée de ces mesures est déclenchée par le départ du patient (au domicile ou dans un autre service d'hospitalisation) ou bien par la disparition du portage objectivée par plusieurs dépistages négatifs (au moins deux prélèvements négatifs). Chez certains patients à risque de développer une IN à SARM (par exemple le patient qui subira une chirurgie thoracique ou orthopédique), une décontamination peut être proposée afin d'éradiquer l'état de portage avant l'intervention programmée. Cette décontamination est basée sur l'utilisation de la mupirocine par application nasale, associée à des toilettes du patient avec un savon antiseptique. Il sera alors utile d'étudier l'efficacité de la décontamination par au moins deux prélèvements négatifs successifs.

Hormis la question du dépistage de SARM dans le contexte hospitalier, nous allons aborder dans cette conférence la question émergente du SARM communautaire. Cet aspect est actuellement encadré par des recommandations émanant du Haut Conseil de la santé publique sous le titre de «Recommandation sur la prise en charge et la prévention des infections cutanées liées aux souches de SARM communautaire».

En conclusion, des moyens de dépistage mis en œuvre dans les derniers 15 ans ont permis, grâce à une collaboration étroite entre cliniciens, hygiénistes et microbiologistes, de contenir et diminuer la diffusion de SARM en milieu hospitalier. Ces acteurs doivent garder leur vigilance et continuer à agir et développer des stratégies afin de répondre à des nouveaux défis tels que l'émergence de nouveaux types de SARM (communautaires, MecC).

Références :

1. Société Française d'Hygiène Hospitalière, Recommandations nationales sur la prévention de la transmission croisée : précautions complémentaires contact. Avril 2009.
2. Jarlier V, Trystram D, Brun-Buisson C et al. Curbing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 French hospitals through a 15-year institutional control program. Arch Intern Med. 2010; 170: 552-9.
3. Lee C.J, Sankaran S, Mukherjee DV et al. *Staphylococcus aureus* oropharyngeal carriage in a prison population. Clin Infect Dis. 2011; 52: 775-8.
4. Nonhoff C, Denis O, Brenner A et al. Comparison of three chromogenic media and enrichment broth media for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from mucocutaneous screening specimens: Comparison of MRSA chromogenic media. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2009; 28: 363-9.

Haut Conseil de la santé publique Commission spécialisée « Sécurité des Patients : infections nosocomiales et autres événements indésirables liés aux soins et aux pratiques ». Recommandation sur la prise en charge et la prévention des infections cutanées liées aux souches de SARM communautaire. Décembre 2009.

212/52s 23/11/2012 - 11:40 - AMPÈRE 5

Détection des BMR chez les entérobactéries : qui ? Quoi ? Comment ?

L. Dortet

Microbiologie, Hôpital de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Les entérobactéries et en particulier *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* sont ubiquitaires, et fréquemment rencontrées en pathologie infectieuse. Ce sont des bactéries commensales du tube digestif fréquemment responsables d'infections communautaires (ex : infection urinaire, infection digestives) ou nosocomiales.

Les bactéries sont dites multirésistantes aux antibiotiques (BMR) lorsque, du fait de l'accumulation de **résistances acquises** à plusieurs familles d'antibiotiques, elles ne sont plus sensibles qu'à un nombre très limité d'antibiotiques utilisables en thérapeutique. La multirésistance peut conduire à des impasses thérapeutiques. Comme le montrent les résultats des enquêtes nationales de prévalence, les BMR ont une place importante dans les infections nosocomiales en France. A ce titre, les entérobactéries qui représentent 40 % des bactéries des infections nosocomiales (y compris des bactériémies), deux tiers de celles des infections urinaires et un quart de celles des infections du site opératoire, ne font pas exception à la règle (12).

La lutte contre les BMR dans les établissements de santé, qui s'intègre dans une politique globale de prévention des infections nosocomiales et de maîtrise de la résistance aux antibiotiques, est une priorité nationale qui implique toute la communauté médicale.

Dans cet exposé, nous traiterons de la détection des BMR au sein de la famille des entérobactéries en tentant de répondre à trois questions : (i) Quels sont

les mécanismes de résistances responsables d'une classification de BMR ? (ii) Quels sont les moyens et techniques actuelles de détections de ces BMR ? (iii) Comment dépister les patients porteurs d'entérobactéries BMR ?

1. Les critères de choix des BMR chez les entérobactéries

En raison de leur fréquence élevée, de leur potentiel pathogène se traduisant par une morbi-mortalité et des coûts accrus, de leur caractère commensal qui expose au risque de diffusion, de leur caractère clonal ou du caractère **transférable des mécanismes de résistance** impliqués, les BMR qui font l'objet du programme national de surveillance dans les établissements de santé sont les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (E-BLSE) (6) et les entérobactéries productrices d'une carbapénémase (EPC) (5).

Il faut noter que les entérobactéries qui ne présentent pas toutes ces caractéristiques, notamment le caractère transférable du mécanisme de résistance, (ex. *Enterobacter* ou *Serratia* hyperproducteurs de céphalosporinases...) ne sont pas incluses dans le programme national de surveillance des BMR, mais peuvent justifier, dans certaines circonstances, des mesures de surveillance ou d'intervention, en particulier au niveau local en cas d'événements particuliers ou dans le cadre d'actions visant à diminuer la pression de sélection par les antibiotiques.

2. Détection des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (E-BLSE) et dépistage des patients porteurs

Décrites depuis les années 80, les E-BLSE n'ont cessé de disséminer à travers le monde. En France, le taux d'incidence des E-BLSE de manière générale ont beaucoup augmenté depuis le début des années 2000, passant de 0,1 pour 1000 jours d'hospitalisation en 2002 à 0,4 / 1000 JH en 2010 (12, 13). De plus, la production d'une BLSE implique dans la majorité des cas une résistance à l'ensemble des β -lactamines exceptées les carbapénèmes et les céphamycines. En outre, les E-BLSE sont souvent résistantes à d'autres familles d'antibiotiques (ex: aminosides, quinolones,...) favorisant les risques d'impasse thérapeutique et l'augmentation progressive de l'utilisation des carbapénèmes. Ainsi des recommandations relatives aux mesures à mettre en œuvre pour prévenir l'émergence des E-BLSE et pour lutter contre leur dissémination ont été instaurées en 2010 par le Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP) (6).

La vaste majorité des BLSE sont des enzymes capables d'hydrolyser l'ensemble des β -lactamines dont les céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G), à l'exception des céphamycines (ex: cefoxitine) et des carbapénèmes (ex: imipénème, méropénème, ertapénème). Ces enzymes ont pour particularité d'être inhibées par les inhibiteurs classiques des β -lactamases que sont l'acide clavulanique et le tazobactam. C'est cette propriété qui est largement mise à profit pour leur détection (3).

2.1 Détection des E-BLSE

Test de synergie « double disque » : Cette méthode qualitative est réalisée directement sur l'antibiogramme standard en diffusion (gélose de Mueller-Hinton). Elle consiste à détecter une synergie entre un disque contenant une C3G et un disque contenant de l'acide clavulanique (ex : amoxicilline + ac. clavulanique) distant de 30 mm. La présence d'une BLSE s'exprime par l'apparition d'une synergie en « bouchon de champagne ». L'hydrolyse des C3G n'étant pas équivalente pour toutes les BLSE, il sera nécessaire de tester plusieurs C3G (cefotaxime, ceftazidime et cefepime) en combinaison avec l'acide clavulanique. Toutefois, si la souche productrice d'un BLSE produit aussi d'une autre β -lactamase capable d'hydrolyser les C3G, comme l'hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique (ex: chez *Enterobacter sp.*, *Serratia sp.*, *C. freundii*, *M. morgani*, ...), la détection de l'image de synergie peut être facilitée par le rapprochement des disques de C3G avec le disque contenant l'acide clavulanique, ou par la réalisation d'un antibiogramme standard sur gélose de Mueller-Hinton additionnée de 250 mg/L de cloxacilline qui est un inhibiteur spécifique de céphalosporinases. Chez certaines espèces intrinsèquement très sensible aux β -lactamines, certaines BLSE peuvent s'exprimer à bas niveau. Dans ce cas leur détection est facilitée par la recherche d'une synergie signification entre C3G et acide clavulanique avec des disques distants de 40-45 mm.

E-test BLSE : Ces E-test se présentent sous la forme de double-bandelettes imprégnées d'un côté par un gradient de céfotaxime, de ceftazidime ou de cefepime et de l'autre côté par un gradient de la même céphalosporine additionnée d'acide clavulanique à concentration constante (4 mg/L). Le test est considéré comme positif (a) par toute diminution d'au moins 3 dilutions de la concentration minimal inhibitrice (CMI) de la C3G en présence d'acide clavulanique par rapport à la CMI de la C3G seule, (b) en cas de présence d'une zone fantôme sous la plus basse concentration de C3G ou (c) en cas de déformation de l'ellipse d'inhibition de la C3G dans les CMI les plus basses. L'interprétation des résultats de ce type de test est délicate. De plus, lorsque les CMI aux C3G sont basses, et donc en dehors des limites de CMI disponible sur la bandelette, le E-test BLSE peut échouer dans sa détection des BLSE.

Disques combinés : Plusieurs fournisseurs ont développé des tests de détection des BLSE basés sur la méthode des disques combinés. Le principe de cette méthode repose sur les mesures en parallèle des diamètres d'inhibition retrouvés autour d'un disque contenant une céphalosporine (ex: cefpodoxime) et d'un disque contenant la même céphalosporine associée à de l'acide clavulanique. En fonction du type de disque, une différence de diamètre supérieure ou égale à 5 mm indique la production d'une BLSE.

Méthodes automatisées : Le test BLSE disponibles sur les systèmes automatisés de détermination de la résistance aux antibiotiques (VITEK 2, Phoenix, MicroScan...) sont basés sur la détermination simultanée de l'activité antibactérienne de plusieurs céphalosporines utilisées seules ou en association avec de l'acide clavulanique. Toute diminution relative de la croissance bactérienne (mesure de la turbidité) dans les puits contenant une céphalosporine + l'acide clavulanique par rapport au puit contenant

uniquement la céphalosporine est interprétée par le système expert automatisé comme BLSE positif.

Détection biochimique des BLSE (ESBL NDP test) : Récemment, un test de détection biochimique rapide des BLSE, basé sur la détection colorimétrique de l'hydrolyse du céfotaxime (inhibée en présence de tazobactam) a été mis au point. Ce test permet de détecter la majorité des BLSE à partir des colonies ayant poussées sur milieux usuels ou directement à partir de certains prélèvements cliniques (ex : hémocultures) (8).

Détection moléculaire des E-BLSE : La détection moléculaire de la production d'une BLSE est habituellement basée sur des techniques d'amplification PCR utilisant des amorces spécifiques des différentes familles de BLSE (TEM, SHV, CTX-M ...) +/- suivi d'un séquençage du produit d'amplification. Ces techniques sont réalisables à partir de colonies bactériennes ou de prélèvements cliniques (11). Plus récemment, des puces ADN ont été mises au point. Elles permettent de détecter simultanément au sein d'une même souche la présence de gène codant pour diverses β -lactamases, dont les grandes familles de BLSE (2).

2.2 Dépistage des patients porteurs de E-BLSE

Classiquement, le dépistage des patients porteurs de E-BLSE est réalisé à partir d'un écouvillonnage rectal (ou d'une selle). Les écouvillons sont déchargés sur des géloses sélectives contenant une céphalosporine. Cette méthode présente un seuil de détection de l'ordre de 10^2 - 10^4 par gramme de selle. Les géloses sélectives du commerce ont une très bonne sensibilité, mais leur spécificité est variable (10% à 89% selon les études). Il est donc nécessaire de confirmer la présence d'une BLSE par un test de confirmation (cf. ci-dessus).

3. Détection des entérobactéries productrices de carbapénèmes (EPC) et dépistage des patients porteurs

Ces dernières années, de nouvelles résistances ont émergé au sein des entérobactéries dont la plus inquiétante est production de carbapénémase, en particulier chez *K. pneumoniae*. Ces carbapénèmes sont des enzymes capables d'hydrolyser la quasi-totalité des β -lactamines, y compris les carbapénèmes. Ces carbapénèmes sont de différents types: des métallobactamases (IMP, VIM, NDM), des carbapénèmes de classe A (KPC, GES) et des carbapénémase de classe D (OXA-48) (7). De plus, comme pour les E-BLSE, les entérobactéries productrices d'une carbapénémase (EPC) sont très souvent résistantes à de nombreuses autres familles d'antibiotiques limitant encore les possibilités thérapeutiques. Compte tenu du caractère émergent de leur résistance en France, de leur pathogénicité et de leur pouvoir de diffusion épidémique, les EPC ont récemment fait l'objet de recommandations particulières de la part du HCSP (5).

Deux mécanismes peuvent causer la résistance des entérobactéries aux carbapénèmes: (i) production d'une carbapénémase, (ii) défaut d'accumulation de l'antibiotique (impermeabilité, efflux) associé à la production d'une céphalosporinase et/ou d'une BLSE. Il est primordial de distinguer ces 2 mécanismes.

3.1 Détection des EPC

Toute diminution de la sensibilité aux carbapénèmes sur l'antibiogramme standard doit conduire à une analyse complémentaire du mécanisme de résistance. Cependant certaines EPC (ex: souches productrices de OXA-48) sont catégorisées comme sensibles aux carbapénèmes quelle que soit la méthode d'antibiogramme utilisé. L'ertapénème est le carbapénème le plus sensible pour la détection des EPC car la CMI observée est souvent la plus forte au sein des carbapénèmes. La production d'une carbapénémase doit donc être suspectée pour toute diminution de sensibilité à l'ertapénème (diamètre d'inhibition inférieur à 28 mm ou CMI supérieure à 0,5 mg/L).

Tests d'inhibition : Les tests d'inhibition (ex: Kit carbapénémase Rosco, E-test MBL Biomérieux ou disque MBL Biorad) reposent sur l'augmentation de sensibilité aux carbapénèmes en présence d'inhibiteurs spécifiques de β -lactamases: acides boroniques pour les enzymes KPC de classe A, EDTA ou acide dipicolinique pour les métallobactamases (IMP, VIM, NDM). À ce jour, il n'existe pas de test d'inhibition spécifique des carbapénémase de classe D (OXA-48).

La détection d'une résistance aux carbapénèmes lié à l'hyperproduction d'une céphalosporinase associée à un certain degré d'imperméabilité (surtout chez *Enterobacter*, *Serratia*, *C. freundii*) est réalisée en testant en parallèle la sensibilité les carbapénèmes sur un milieu contenant de la cloxacilline (inhibiteur des céphalosporinase) et sur le même milieu sans cloxacilline.

Test de Hodge modifié : Ce test repose sur l'utilisation d'un disque d'ertapénème et la souche de référence sensible *E. coli* ATCC 25922 ensemencée par écouvillonnage sur gélose Mueller-Hinton. Les souches tests suspectées de produire une carbapénémase et des souches témoins (positif et négatif) sont ensemencées en strie depuis le disque vers le bord de la gélose sur une longueur d'au moins 20 mm. Une déformation de la zone d'inhibition de la souche de référence le long de la strie est considérée comme suspecte pour la production d'une carbapénémase. Ce test ne permet pas de donner une orientation sur la classe à laquelle appartient la carbapénémase. Ce test est relativement efficace pour la détection des carbapénémase de type KPC et OXA-48. Cependant il existe des problèmes de sensibilité (faux négatifs) pour les souches productrices de carbapénémase de type NDM et de spécificité (faux positifs) pour les souches résistantes aux carbapénèmes via l'association d'une défaut d'accumulation et la production d'une céphalosporinase et/ou d'une BLSE (4).

Spectrophotométrie : L'activité carbapénémase peut être recherchée par spectrophotométrie à partir de la culture. Un extrait enzymatique de la culture bactérienne (culture riche en milieu liquide 16-24h) est mis en contact avec un carbapénème dont la diminution d'absorbance au cours du temps signe l'hydrolyse de l'antibiotique et donc la présence d'une carbapénémase. Cette technique relativement peu coûteuse (hors matériel) requiert cependant une

bonne expertise technique (1).

Détection biochimique des EPC (Carba NP test) : Récemment, un test de détection biochimique rapide des EPC, basé sur la détection colorimétrique de l'hydrolyse de l'imipénème a été mis au point (10). Ce test permet de parfaitement discriminer les souches productrices de carbapénèmes des souches résistantes aux carbapénèmes via un mécanisme associant un défaut d'accumulation et la production d'une céphalosporinase et/ou d'une BLSE. Le Carba NP test est réalisé directement à partir des colonies ayant poussées sur l'antibiogramme ou sur un milieu sélectif destiné au dépistage des patients porteurs de BLSE et/ou d'EPC. Les résultats de ce test d'hydrolyse sont obtenus en moins de 2h.

Détection moléculaire des EPC : La détection moléculaire de la production d'une carbapénémase est habituellement basée sur des techniques d'amplification PCR utilisant des amorces spécifiques des différentes familles de carbapénèmes (KPC, VIM, IMP, NDM, OXA-48, ...) suivi d'un séquençage du produit d'amplification. Ces techniques sont réalisables à partir de colonies bactériennes ou de prélèvements cliniques. Plus récemment, des puces ADN ont été mise au point. Elles permettent de détecter simultanément au sein d'une même souche la présence des gènes codant pour diverses β -lactamases, dont les grandes familles de carbapénèmes (2).

3.2 Dépistage des patients porteurs d'EPC

Les recommandations de prise en charge et de prévention des infections liées aux entérobactéries productrices de carbapénèmes impliquent le dépistage digestif par écouvillonnage rectal ou prélèvement de selles et la mise en place de mesures de prévention complémentaires « contact » selon les dernières recommandations de la Société française d'hygiène hospitalière. Ces mesures doivent être réalisées dès l'admission chez tout patient rapatrié d'un pays étranger ou ayant été hospitalisé dans un pays étranger dans l'année précédant son admission. L'équipe opérationnelle d'hygiène doit être informée et intervenir dans tous les cas de patients transférés par rapatriement sanitaire (5).

Le dépistage des patients porteurs de EPC est réalisé à partir d'un écouvillonnage rectal (ou d'une selle). Les écouvillons sont déchargés sur des géloses sélectives +/- chromogéniques contenant un carbapénème (Brilliance CRE, Oxoid; chromID CARBA, Biomérieux; COLOREX KPC, E&O laboratories; CHROMagar KPC, CHROMagar; milieu SUPERCARBA) ou des géloses sélectives utilisées pour la détection des E-BLSE et/ou sur une gélose sélective des bacilles à Gram négatifs (ex: Drigalski, McConkey) sur laquelle est placé un disque d'ertapénème. Dans l'état actuel des évaluations, le milieu SUPERCARBA (contenant de l'ertapénème) est celui qui possède la meilleure sensibilité pour la détection des EPC (9). Les milieux sélectifs classiquement utilisés pour la détection des E-BLSE sont dans l'incapacité de détecter les souches d'entérobactéries produisant uniquement une carbapénémase de type OXA-48. En effet, les carbapénèmes de type OXA-48 n'hydrolysent pas les C3G. En absence d'association d'OXA-48 avec une BLSE (environ 25-30% des souches productrices d'OXA-48) la croissance est inhibée sur les milieux sélectifs de dépistage des E-BLSE.

Quoi qu'il en soit, il sera nécessaire de confirmer la diminution de sensibilité aux carbapénèmes par la réalisation d'un antibiogramme, et la présence ou l'absence de carbapénémase via l'utilisation des tests complémentaires décrits précédemment.

Références :

- Bernabeu S, Poirel L, Nordmann P. 2012. Spectrophotometry-based detection of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis* 74: 88-90.
- Cuzon G, Naas T, Bogaerts P, Glupczynski Y, Nordmann P. 2012. Evaluation of a DNA microarray for the rapid detection of extended-spectrum β -lactamases (TEM, SHV and CTX-M), plasmid-mediated cephalosporinases (CMY-2-like, DHA, FOX, ACC-1, ACT/MIR and CMY-1-like/MOX) and carbapenemases (KPC, OXA-48, VIM, IMP and NDM). *J Antimicrob Chemother* 67: 1865-9.
- Drieux L, Brossier F, Sougakoff W, Jarlier V. 2008. Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide. *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl 1:90-103.
- Girlich D, Poirel L, Nordmann P. 2011. Value of the modified Hodge test for detection of emerging carbapenemases in Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 50: 477-9.
- Haut Conseil de la Santé Publique. 2010. Maitrise de la diffusion des bactéries multirésistantes aux antibiotiques importées en France par des patients rapatriés ou ayant des antécédents d'hospitalisation à l'étranger.
- Haut Conseil de la Santé Publique. 2010. Recommandations relatives aux mesures à mettre en oeuvre pour prévenir l'émergence des entérobactéries BLSE et lutter contre leur dissémination.
- Nordmann P, Dortet L, Poirel L. 2012. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! *Trends Mol Med* 18: 263-72.
- Nordmann P, Dortet L, Poirel L. 2012. Rapid Detection of Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 50: 3016-22.
- Nordmann P, Girlich D, Poirel L. 2012. Detection of carbapenemase producers in enterobacteriaceae by use of a novel screening medium. *J Clin Microbiol* 50: 2761-6.
- Nordmann P, Poirel L, Dortet L. 2012. Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg Infect Dis* 18: 1503-7.
- Oxacelay C, Ergani A, Naas T, Nordmann P. 2009. Rapid detection of CTX-M-producing Enterobacteriaceae in urine samples. *J Antimicrob Chemother* 64: 986-9.
- Réseau BMR-Raisin. 2010. Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France.
- Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. 2008. The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 14 Suppl 1: 33-41.

Analyse du génome d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* exprimant la carbapénémase bla_{KPC-2} par pyroséquençage à haut débit.

R. Bonnin^{2,3}, T. Naas^{2,3}, R. Bonomo¹, P. Nordmann^{2,3}

¹Case Western Reserve University, Research Service, Louis Stokes Cleveland Department of Veterans Affairs, Cleveland, Etats-Unis ²Microbiologie, Hôpital de Bicêtre ³INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objectifs de l'étude : La résistance aux carbapénèmes chez *Klebsiella pneumoniae* médiée par la carbapénémase KPC a disséminé rapidement à travers le monde. Les enzymes de type KPC sont principalement trouvées au sein du clone *K. pneumoniae* ST258. Ce projet a été initié par le séquençage complet d'une souche de *K. pneumoniae* ST258 exprimant la carbapénémase bla_{KPC-2}.

Méthodes : Le génome de la *K. pneumoniae* ST258 BIC a été analysé par pyroséquençage à haut débit. Les séquences des plasmides ont été reconstruites grâce au logiciel CLC workbench et l'assemblage a été vérifié par PCR et séquençage Sanger. L'analyse détaillée des déterminants de résistance et des facteurs de virulence putatifs a été effectuée.

Résultats : Le gène bla_{KPC-2} est porté par un plasmide de groupe d'incompatibilité IncFII d'une taille de 79,641 paires de bases. Ce plasmide comprenait l'isoforme Tn4401a. La *K. pneumoniae* BIC a accumulé de nombreux déterminants de résistance incluant 4 gènes codant pour des β-lactamases dont la carbapénémase KPC et la β-lactamase à spectre étendue (BLSE) SHV-12, deux gènes codant pour des enzymes de modification de aminoglycosides incluant l'AAC(6)-Ib-cr acétylant les fluoroquinolones. Ce dernier déterminant est porté par un petit plasmide de type ColE portant également le gène codant pour la cloacin, une toxine de type colicine. De plus, plusieurs mutations dans les gènes codant pour les topoisomérases (résistance aux fluoroquinolones) et les gènes codant pour les porines ont été identifiées. L'analyse du génome a révélé la présence de quatre plasmides. Deux plasmides conjuguatifs de type IncFII dont le plasmide portant le gène bla_{KPC-2}, un plasmide conjuguatif de type IncX portant la BLSE bla_{SHV-12} et un petit plasmide mobilisable de type ColE. L'analyse du chromosome a révélé la présence d'un nouvel élément intégratif et conjuguatif (ICE). Celui-ci porte les fonctions de conjugaison, de partition et d'intégration ainsi qu'un large ensemble de gènes de fonction inconnu. Des gènes de virulence putatifs ont également été identifiés notamment un gène codant pour une toxine bactériolytique de type colicin favorisant de façon la colonisation par ce clone ST258.

Conclusions : Il s'agit de la première analyse internationale du génome d'une souche *K. pneumoniae* produisant la carbapénémase KPC. Le gène bla_{KPC-2} est porté par un plasmide conjuguatif de type IncFII portant également les β-lactamases à spectre restreint bla_{OXA-9} et bla_{TEM-1}. De nombreux déterminants de résistance ont été identifiés dans cet isolat incluant la résistance aux aminoglycosides (*aacA4*, *aphA1*), aux fluoroquinolones (mutations dans les topoisomérases) et aux métaux lourds (opéron *ars*, *cop* et *sil* permettant la résistance aux dérivés de l'arsenic, du cuivre et de l'argent). De nouveaux éléments génétiques mobiles ont été identifiés incluant un nouveau transposon contenant un système de restriction/modification de l'ADN porté sur un plasmide et un nouvel élément intégratif et conjuguatif porté sur le chromosome. Certains gènes impliqués dans la virulence et l'adaptation ont également été identifiés.

qnrD est porté par des petits plasmides non transmissibles chez les *Proteae*.

T. Guillard^{4,2,3}, A. Grillon³, C. Cartier³, J. Madoux³, C. de Champs^{4,3}, E. Cambau^{2,1}

¹Laboratoire de Bactériologie, AP-HP, Groupe Hospitalier Lariboisière-Saint-Louis ²PRES Sorbonne Paris Cité, Université Paris Diderot, EA3964, Paris ³Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Reims, Hôpital Robert Debré ⁴Université de Reims Champagne-Ardenne, EA4687 SFR CAP-Santé, Reims, France

Introduction : Le gène *qnrD* est le dernier gène *qnr* à avoir été décrit chez les entérobactéries. Il a été rapporté la première fois chez *Salmonella* spp. Nous avons récemment décrit deux souches de *Providencia rettgeri* hébergeant *qnrD* sur un petit plasmide non-transmissible. Notre hypothèse étant que *qnrD* a d'abord émergé chez les *Proteae* avant de diffuser aux autres entérobactéries nous avons recherché si d'autres souches de *Proteae* hébergeaient *qnrD* sur des plasmides similaires.

Matériel et Méthodes : 313 souches cliniques de *Proteae* ont été recueillies en 2010 et 2011 dans nos hôpitaux respectifs, indépendamment de leur phénotype de résistance aux quinolones. Les gènes *qnr* ont été détectés par PCR en temps-réel. Les plasmides portant *qnrD* ont été transférés dans *E. coli* DH10B par électroporation, puis leur séquence a été déterminée selon une stratégie de marche en avant.

Résultats : Six (2%) souches portaient un gène *qnr* : 5 *qnrD* et 1 *qnrA1*. Aucun *qnrB*, qui est le gène *qnr* le plus fréquent chez les souches cliniques d'entérobactéries, n'a été détecté. Les souches portant *qnrD* n'étaient pas liées épidémiologiquement (données cliniques et RAPD). Quatre souches de *Proteus mirabilis* (CMI de la ciprofloxacine (Cip): 0,06mg/l) hébergeaient *qnrD* sur un plasmide de 2683 pb (pRS12-11, pRS12-104, pRS12-189 et pLRB12-304) de séquence identique à 98% avec celle des plasmides que nous avons

décrits précédemment (pDIJ09-518a, pGHS09-09) et à plus de 95% avec celle de plasmides décrits par d'autres équipes (pT80, p831 et pHIRE-U1). La 5^{ème} souche positive était un *Proteus vulgaris* qui hébergeait *qnrD* sur un plasmide de 4286 pb (pRS12-78). Ce plasmide diffère des autres plasmides par une insertion de 1603 pbs située entre *qnrD* et son promoteur, et ceci est associée à une CMI Cip plus basse (0,03mg/l).

Conclusion : En recherchant systématiquement la présence de *qnrD* chez les *Proteae* nous avons montré que ce gène est presque toujours présent sur des petits plasmides non conjuguatifs et qu'il ne confère pas toujours une résistance aux quinolones. Ceci conforte notre hypothèse de l'émergence de *qnrD* d'abord chez les *Proteae* même si nous n'avons pas encore de faits montrant que cette tribu en soit le progéniteur.

Les transposons vecteurs de diffusion des gènes de carbapénémases (bla_{KPC}, bla_{NDM-1} et bla_{OXA-48}).

R. Bonnin^{1,2}, L. Poirel^{1,2}, P. Nordmann^{1,2}

¹Microbiologie, Hôpital Bicêtre ²INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

La prévalence de la résistance aux carbapénèmes chez les bacilles à Gram négatifs est en augmentation d'un point de vue international. L'étude de ces mécanismes de résistance et de leurs bases génétiques est d'importance majeure afin de comprendre leur plasticité génétique.

Si les gènes de résistance aux carbapénèmes sont essentiellement plasmidique, ils font tous partie de transposons de différents types. Les gènes de type bla_{KPC} sont identifiés au sein d'un transposon de type Tn3. Les gènes de type bla_{NDM} sont associés à des structures génétiques différentes dont le point commun est d'être associé à un fragment de la séquence d'insertion ISAbat125 en amont du gène bla_{NDM}. Chez *Acinetobacter baumannii*, ils sont associés à deux copies de ISAbat125 formant le transposon Tn125. Le gène de la carbapénémase bla_{OXA-48} (la carbapénémase la plus répandue en France) fait partie d'un transposon composite nommé Tn1999. Dans tous les cas, l'expression de ces β-lactamases est associée à des promoteurs dont les séquences sont localisées en amont de ces gènes.

La mobilité de ces transposons a été démontrée clairement pour les transposons associés aux gènes bla_{KPC} et bla_{OXA-48}. L'identification de facteurs favorisant (ou mieux inhibant) la transposition sont un challenge d'avenir important.

Dissémination du gène bla_{TEM-52} chez des souches d'*Escherichia coli* isolées de bovins en France : la faute aux plasmides Inc11/ST36.

M. Haenni¹, E. Saras¹, V. Métayer¹, B. Doublet², A. Cloeckaert², J. Madec¹

¹Bactériologie, Anses, Lyon ²UMR1282 Infectiologie et Santé Publique, INRA, Nouzilly, France

Objectif : Chez l'animal, la présence de résistances aux β-lactamines dues aux enzymes des groupes CTX-M a fortement augmenté durant la dernière décennie, alors que celles du groupe TEM restent rares et identifiées presque exclusivement chez les souches d'*E. coli* et de *Salmonella enterica* humaines ou de volaille. Le but de cette étude était de caractériser les plasmides portant le gène bla_{TEM-52} chez des souches d'*E. coli* bovines, afin de documenter les voies de transmission de ce gène.

Méthode : De 2006 à 2010, 204 souches productrices de BLSE ont été collectées par le Résapath, réseau de surveillance de la résistance chez les pathogènes vétérinaires. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par diffusion (y compris test de synergie). Les gènes bla_{TEM}, bla_{OXA}, bla_{CTX-M} et bla_{SHV} ont été recherchés par PCR puis séquencés. Les plasmides ont été caractérisés par PCR, conjugaison et S1-PFGE. La localisation du gène bla_{TEM-52} a été démontrée par Southern blot, et le type plasmidique déterminé par PBRT et pMLST. Les plasmides ont été comparés par RFLP. La clonalité des souches a été analysée par PFGE.

Résultats : Sept souches non clonales d'*E. coli* (7/204, 3.4%), provenant de diverses régions françaises et collectées à des périodes différentes (2006-2010), produisaient une enzyme TEM-52c. Le gène bla_{TEM-52} était porté systématiquement par un plasmide d'environ 90 kb et de type Inc11. Cinq plasmides appartenaient au sous-type ST36 (complexe clonal CC-5), alors qu'un plasmide appartenait au nouveau sous-type Inc11/ST98 non relié au CC-5. Les 5 plasmides Inc11/ST36, portés par un transposon Tn3, présentaient un profil RFLP identique entre eux, mais également identique à celui identifié chez des poules en Belgique.

Conclusion : En l'absence de clonalité des souches, la transmission de bactéries productrices de l'enzyme TEM-52c d'un bovin à l'autre n'est pas une hypothèse crédible de dissémination de ce gène. Plus vraisemblablement, nos résultats suggèrent le succès écologique du plasmide Inc11/ST36 au sein du réservoir animal, à l'image de données comparables rapportées chez des poules en Belgique (Cloeckaert et al, AAC 2007). Ce réservoir de plasmides bla_{TEM-52}/Inc11/ST36 est une source de diffusion possible vers d'autres espèces animales ou vers l'homme.

Sélections *in vivo* et *in vitro* de TEM-158, un allèle de TEM résistant aux inhibiteurs de bêta-lactamase et à la ceftazidime.

H. Jacquier^{2,7}, G. Marcadé¹, E. Raffoux^{3,5}, H. Dombret^{3,5}, P.L. Woerther⁹, J.L. Donay⁴, G. Arlet⁸, E. Cambau^{2,6}

¹Service de Microbiologie-Hygiène, Hôpital Louis-Mourier, Colombes ²Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Lariboisière ³Département d'Hématologie ⁴Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Saint-Louis ⁵EA 3518, Institut Universitaire d'Hématologie ⁶EA3964 ⁷INSERM, UMR-S 722, Université Paris Diderot ⁸ERB Antibiotiques et Flore digestive, Université Pierre et Marie Curie, Paris ⁹Service de Bactériologie-Virologie, Institut Gustave Roussy, Villejuif, France

Objet de l'Etude : Le spectre de résistance de la bêta-lactamase TEM varie selon la présence de mutations ponctuelles dans sa séquence, certaines mutations conférant un phénotype de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) et d'autres à un profil de « TEM résistante aux inhibiteurs » (IRT). A la fin des années 1990, un nouveau sous-groupe appelé Complex Mutant TEM (CMT), combinant ces deux types de mutations a émergé. A ce jour, aucune étude n'a jamais décrit la sélection *in vivo* d'une CMT à partir d'un allèle de BLSE ou d'IRT. Nous explorons dans cette étude la sélection *in vivo* d'une souche d'*Escherichia coli* sécrétrice de CMT.

Méthodes : Nous rapportons le cas d'un patient hospitalisé dans le service d'Hématologie de l'hôpital Saint-Louis (Paris) et traité par ceftazidime pour une bactériémie à *E. coli* de phénotype IRT (souche EC1). En absence d'amélioration clinique, de nouvelles hémocultures prélevées 8 jours plus tard rapportent une souche d'*E. coli* de phénotype similaire, mais portant une résistance étendue à la ceftazidime (souche EC2). L'analyse de la clonalité par ERIC-PCR, le séquençage du gène *bla*_{TEM}, et le profil de restriction plasmidique ont été réalisés pour les souches EC1 et EC2. Par ailleurs, des mutants d'EC1 résistants à la ceftazidime ont été sélectionnés *in vitro* pour reproduire le mécanisme observé *in vivo*.

Résultats : La clonalité des 2 souches a été objectivée par ERIC-PCR. Le même profil de restriction plasmidique a été observé pour les 2 souches. Les mutations M69L et N276D, correspondant à l'IRT TEM-35, ont été identifiées pour la souche EC1. Une mutation supplémentaire R164S, conférant isolément une résistance à la ceftazidime, et précédemment rapportée en association avec M69L et N276D dans la CMT TEM-158 a été identifiée pour la souche EC2. Par ailleurs, 16 clones résistants à la ceftazidime ont été obtenus *in vitro*, dont un portant la mutation R164S. De façon intéressante, une mutation dans un résidu hautement conservé (E166K), a été identifiée pour 4 mutants.

Conclusions : Il s'agit de première sélection *in vivo* d'une CMT décrite à ce jour. Cet événement s'est produit lors d'un traitement par ceftazidime et a été reproduit *in vitro*.

Phénotypes et génotypes de résistance aux antibiotiques chez *Escherichia coli* d'origine animale en Tunisie : un fond génétique riche et hétérogène.

R. Dhifali², H. Kilani², Y. Saénz¹, R. Mansouri², W. Mehri², M.S. Abbassi²
¹Unidad de Microbiología Molecular, Centro de Investigación Biomédica de La Rioja, Logrono, Espagne ²Laboratoire de recherche de bactériologie, Institut de la Recherche Vétérinaire de Tunisie, Tunis, Tunisie

Objectif : Étude des mécanismes de résistance chez une collection de *Escherichia coli* d'origine animale, ainsi que la détermination des intégrons portant les gènes de virulence et les gènes cassettes impliqués

Matériel et Méthodes : Cent neuf isolats de *Escherichia coli* ont été prélevés à partir de matière fécale de bovin, ovin et de volaille dans le nord de la Tunisie. Les souches ont été caractérisées par la détermination du profil de résistance aux antibiotiques, la recherche des gènes de résistance aux antibiotiques suivants par PCR: *tetA*, *tetB*, *tetC*, *sul1*, *sul2* et *sul3*. En plus, la présence des gènes *int1* et *int2* codant respectivement pour les intégrons de classe 1 et de classe 2 a été analysée par PCR en utilisant des amorces spécifiques. Le contenu des régions variables des intégrons a été aussi déterminé par PCR et séquençage.

Résultats : Un pourcentage élevé de résistance a été trouvé pour les antibiotiques suivants: tétracycline, triméthoprim-sulfaméthoxazole, sulfonamides, streptomycine, acide nalidixique et ampicilline. Parmi les 78 isolats résistants à la tétracycline, 54 (69,2%) et 13 (16,6%) hébergent respectivement *tetA* et *tetB*, dont 6 isolats ont l'association *tetA+tetB*. Le gène *tetC* n'a pas été détecté. Parmi 63 isolats résistants aux sulfamides, 25 (39,7%), 16 (25,4%) et 6 (9,5%) hébergent respectivement les gènes *sul1*, *sul2* et *sul3*. Les combinaisons *sul1+sul3* (3 isolats), *sul1+sul2* (4 isolats), *sul2+sul3* (un isolat) et *sul1+sul2+sul3* (un isolat) ont été trouvées. Les intégrons de classe 1 et 2 ont été identifiés respectivement chez 53 (48,6%) et 2 (1,8%) isolats. La région conservée *qac-sul1* de l'intégron classe 1 a été détectée chez 19 isolats ayant l'intégron classe 1, un autre isolat possède cette région en absence de l'intégron classe 1. La région variable de l'intégron de classe 2 présente la même structure des gènes cassettes: *dfrA1-sat1-aadA1*. Le séquençage des régions variables (RV) des intégrons de classe 1 chez 20 isolats a été réalisé. Sept arrangements de gènes cassettes ont été trouvés parmi l'intégron de classe 1, contenant différents allèles de *dfrA* (résistance au triméthoprim) et *aadA* (résistance à la streptomycine), *cmlA* (résistance au chloramphénicol). L'organisation des gènes cassettes récemment décrite,

dfrA12+orfF+aadA2+cmlA1+aadA1+qacH+IS440+sul3, a été trouvée chez deux isolats.

Conclusion : Il ressort de notre étude :

- Des fréquences élevées de résistance aux antibiotiques chez les isolats de *E. coli* isolés de volaille contrairement aux isolats de bovin et de caprin;
- Dominance de l'intégron de classe par rapport au classe 2, du gène *tetA* chez les isolats résistants à la tétracycline, du gène *sul1* chez les isolats résistants aux sulfamides;
- variabilité des arrangements de gènes cassettes chez les RV des intégrons de classe 1.

Les céphalosporines et les associations bêta-lactamines-inhibiteurs de bêta-lactamases dans le traitement des BLSE : le point de vue du clinicien.

P. Lesprit

Unité de contrôle épidémiologie prévention de l'infection, Hôpital Henri Mondor, Créteil, France

La diffusion pandémique hospitalière et communautaire des entérobactéries sécrétrices de β-lactamases à spectre élargi (EBLSE) est une préoccupation internationale. Cette diffusion est responsable d'un risque non négligeable d'inadéquation thérapeutique et de surmortalité (1). De ce fait, l'utilisation des carbapénèmes (CP), considérés comme le traitement de référence est en augmentation croissante dans les hôpitaux. Ainsi, les consommations de CP à l'AP-HP ont augmenté de 6 à plus de 10 DDJ/1000 JH entre 2003 et 2009. La surconsommation des CP expose au risque secondaire d'émergence ou de sélection de bacille à Gram négatif résistants aux CP (*Pseudomonas aeruginosa*, entérobactéries productrices de carbapénémase). Pour les patients infectés, il ne reste alors que peu ou même aucune solution thérapeutique (2). Dans ce contexte, la maîtrise de la prescription des CP est une priorité nationale et l'introduction de molécules efficaces en substitution de cette classe thérapeutique est une urgence thérapeutique (3).

Alors même qu'il n'existe pas d'études randomisées prouvant l'efficacité des autres bêta lactamines (BL) dans les infections à EBLSE, les recommandations de l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) suggèrent la possibilité d'utiliser parmi les BL les molécules actives au vu des données de l'antibiogramme sans prendre en compte le mécanisme de résistance. Depuis 2009, le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) a modifié les concentrations critiques des céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) et de l'aztréonam. Il est constaté que des souches présentant un mécanisme de résistance acquis (BLSE ou Céphalosporinase), mais pour lesquelles la CMI vis-à-vis des C3G ou de l'aztréonam est ≤ 1 mg/L peuvent être traitées par ces mêmes antibiotiques. Le CASFM a émis en 2011 de nouvelles recommandations (www.sfm-microbiologie.org) indiquant de ne plus faire de lecture interprétative pour la catégorisation des souches d'EBLSE ou de céphalosporinases hyperproduites. Au total, un résultat brut « sensible » au céfotaxime, à la ceftazidime, au céfépime et/ou à l'aztréonam mais également à l'amoxicilline-acide clavulanique et à la pipéracilline-tazobactam d'un isolat producteur de BLSE ne doit pas être interprété. Afin de s'assurer de l'efficacité du traitement, si une de ces molécules était choisie, le CA-SFM recommande aux microbiologistes de déterminer la CMI exacte de la molécule utilisée et de suivre l'efficacité de ce traitement.

Dans cette situation, plusieurs molécules pourraient prétendre à une efficacité dans le traitement des infections à EBLSE: C3G (céfotaxime, ceftriaxone) ou C4G (céfépime), céfoxitine, pénicillines avec inhibiteurs de pénicillinase (amoxicilline/acide clavulanique, pipéracilline/tazobactam) ou aztréonam (4). Toutefois l'expérience clinique et les données pharmacocinétiques restent discordantes. Malgré l'efficacité microbiologique des C3G sur certaines souches, les données cliniques et pharmacocinétiques suggèrent que leur utilisation dans certaines infections à fort inoculum (exemple des pneumopathies sous ventilation assistée) expose à l'échec (5). Elles pourraient être proposées dans des indications ciblées telles que les infections urinaires et biliaires à souches sensibles. Par ailleurs, l'interaction synergique entre les céphalosporines et l'acide clavulanique offre des perspectives intéressantes pour le traitement des infections urinaires (6). Parmi les autres molécules utilisables, citons la céfoxitine, céphalosporine non hydrolysée par les BLSE mais dont l'utilisation est limitée par : i) une résistance naturelle des *Enterobacter* sp, et ii) le risque de sélection de souches imperméables par mutation notamment pour *Klebsiella pneumoniae*. Les pénicillines avec inhibiteurs de pénicillinase sont des molécules attractives dans cette indication. Plusieurs données microbiologiques et pharmacocinétiques suggèrent que l'utilisation de cette classe thérapeutique n'expose pas à l'individu à un risque d'échec et permettrait de préserver avec les mesures d'hygiène la collectivité de la diffusion des espèces résistantes aux CP. Mais les données d'efficacité clinique sont rares et discordantes. Ainsi leur activité dépend du foyer infectieux, de l'inoculum, de l'espèce microbienne, des modalités d'administration et de la dose des antibiotiques choisis. En France et en Espagne les données microbiologiques suggèrent qu'un pourcentage non négligeable d'EBLSE est sensible aux BL (J. Robert, RICAI 2011; 7). A l'hôpital Beaujon, une évaluation menée sur 3 mois sur des souches d'EBLSE isolées de prélèvements cliniques montre les résultats suivants: pour *E. coli*, sensibilité à la ceftazidime, 25%, à la céfoxitine 87%, à l'amoxiclav 30%, à pipéracilline-tazobactam, 80%; pour *K. pneumoniae*, sensibilité à la céfoxitine 91% et à pipéracilline-tazobactam, 66%; pour *E. cloacae*, sensibilité à pipéracilline-tazobactam, 41% (V. Leflon-Guibout, données personnelles). Toutefois l'utilisation des BLIBL semble limitée par la CMI. Ainsi en cas de CMI

supérieure ou égale à 8 mg/L l'utilisation des pénicillines avec inhibiteurs est associée à un échec clinique, les modèles suggérant l'impossibilité de répondre aux impératifs pharmacocinétiques et pharmacodynamiques à des valeurs telles de CMI. Enfin dans un travail récent cumulant les données de 6 études de cohortes prospectives, les auteurs ne mettaient pas en évidence de surmortalité ou de prolongation des durées de séjour hospitaliers en cas d'utilisation des pénicillines avec inhibiteurs comparativement aux CP dans les bactériémies à *E. coli* BLSE et ceci après ajustement sur les différents facteurs confondants (8). Toutefois dans ce travail, le groupe de patients recevant des CP semblait présenter une infection initialement plus grave. Ainsi et au regard des modèles animaux, l'efficacité de ces molécules reste insuffisamment prouvée (9).

En pratique, que faire dans l'immédiat ? Appliquer les recommandations de bon usage des CP (10), obtenir rapidement du laboratoire de microbiologie la valeur des CMI des BL quand une alternative au CP est envisagée (infections urinaires et biliaires principalement). A titre d'exemple, 453 prescriptions de CP ont été relevées à Henri Mondor sur 16 mois et évaluées par le référent antibiotique. 364 (80,3%) sont microbiologiquement documentées dont 171 (37,7%) à EBLSE. Sur ces 171 prescriptions, 119 (69,5%) ont été modifiées entre J3 et J5, les modifications comprenant une désescalade dans 67 cas (céfotaxime, n=27; pipéracilline/tazobactam, n=20, autres n=20). Cependant, l'impact de ces interventions sur l'évolution des patients n'a pas été évalué.

Au total, si préserver l'efficacité des CP est désormais un objectif prioritaire pour les hôpitaux, des stratégies alternatives d'antibiothérapie curative reposant sur des molécules à spectre plus étroit sont suggérées mais leur efficacité clinique n'a pas été rigoureusement évaluée. Il est urgent de mettre en place des études observationnelles prospectives multicentriques de pratique dans les hôpitaux et également des études randomisées. Ainsi, nous avons soumis un projet PHRC multicentrique randomisé comparant chez des patients traités par CP pour une infection à EBLSE la stratégie de maintien du CP contre une stratégie de désescalade pour une autre BL. Cette étude a pour but d'évaluer (1) que la stratégie d'épargne des CP n'est pas inférieure en termes d'efficacité clinique et d'éradication microbiologique; (2) l'impact écologique des deux stratégies sur la flore intestinale des patients traités; (3) l'épargne de l'utilisation de la stratégie alternative sur la consommation des CP.

Références :

- Schwaber MJ, Carmeli Y. Mortality and delay in effective therapy associated with extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae bacteraemia : a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2007; 60: 913-20.
- Carmeli I, Akova M, Cornaglia G, et al. Controlling the spread of carbapenemase-producing Gram negatives: therapeutic approach and infection control. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16: 102-111.
- Haut Conseil de la Santé Publique. Recommandations relatives aux mesures à mettre en œuvre pour prévenir l'émergence des entérobactéries BLSE et lutter contre leur dissémination. Février 2010.
- Tärnberg M, Ostholm-Balkhed A, Monstein HJ, Hällgren A, Hanberger H, Nilsson LE. *In vitro* activity of β -lactam antibiotics against CTX-M-producing *Escherichia coli*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2011;30 :981-7.
- Paterson DL, Ko WC, Von Gottberg A, Casellas JM, Mulazimoglu L, Klugman KP, Bonomo RA, Rice LB, McCormack JG, Yu VL. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum β -lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol*. 2001; 39: 2206-12.
- Campbell JD, Lewis II JS, McElmeel ML, et al. Detection of favorable oral cephalosporin-clavulanate interactions by *in vitro* disk approximation susceptibility testing of extended-spectrum- β -lactamase-producing members of the *Enterobacteriaceae*. *J Clin Microbiol* 2012; 50: 1023-26.
- Rodríguez-Bano J, Picon E, Navarro MD, et al. Impact of changes in CLSI and EUCAST breakpoints for susceptibility in bloodstream infections due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 894-900.
- Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Retamar P, Picón E, Pascual A; the Extended-Spectrum β -Lactamases-Red Española de Investigación en Patología Infecciosa/Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria Group. β -Lactam/ β -Lactam Inhibitor Combinations for the Treatment of Bacteremia Due to Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*: A Post Hoc Analysis of Prospective Cohorts. *Clin Infect Dis*.2012; 54:167-174.
- Vardakas KZ, Tansarli GS, Rafailidis PI, et al. Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bacteraemia due to Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2012 Aug 21. [Epub ahead of print]
- Gauzit R, Gutmann B, Brun-Buisson C, et al. Recommandations de bon usage des carbapénèmes. *Antibiotiques* 2010;12: 183-9.

223/55SEP 23/11/2012 - 11:00 - BRILLAT SAVARIN 1

Structures des méningocoques et implications dans la virulence et dans les stratégies de prévention.

M.K. Taha¹, I. Parent du Châtelet²

¹Unité des infections bactériennes invasives et Centre national de référence des méningocoques, Institut Pasteur, Paris ²Unité Maladies à Prévention Vaccinale, Département des Maladies Infectieuses, Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

Les infections invasives à méningocoques (IIM) sont provoquées par *Neisseria meningitidis*, le méningocoque, qui est une espèce bactérienne exclusivement retrouvée chez l'homme. Le méningocoque est présent le plus souvent

comme une bactérie commensale du rhino-oropharynx (portage asymptomatique retrouvé chez 10% de la population générale) mais cette bactérie est aussi responsable d'infections invasives graves. Le méningocoque est une bactérie variable par transformation et recombinaison génétique. Des variants sont ainsi continuellement générés du fait des 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). Les souches du méningocoque peuvent, grâce à une panoplie de facteurs de virulence, survivre dans l'organisme infecté et lutter contre ses défenses immunitaires.

1-La Capsule : La capsule qui protège la bactérie contre la dessiccation et qui joue un rôle important dans la résistance à l'activité bactéricide du sérum et à la phagocytose. La capsule influence également les interactions entre la cellule hôte et la bactérie. Les vaccins actuels contre le méningocoque sont fabriqués à partir du polyside capsulaire. Ils sont dirigés contre les souches des sérogroupes A, C, Y et W135. Les vaccins polysidiques sont peu immunogènes chez le jeune enfant et n'induisant pas de réponse mémoire. Leur immunogénicité et efficacité sont améliorées avec les vaccins conjugués qui permettent aussi d'éviter le phénomène d'hypo-réactivité provoquée par les vaccins polysidiques [1].

Le polyside capsulaire du méningocoque du sérotype B est peu immunogène car il est similaire d'une structure à la surface des cellules de l'homme. Le développement des vaccins contre le méningocoque B à partir des protéines sous-capsulaires se heurte à la variabilité de ces structures.

2- Les autres structures de la surface bactérienne : Ces structures sont également impliquées dans la colonisation, l'invasion et la dissémination des bactéries [2]. Il s'agit des structures variables qui subissent des variations antigéniques et des variations de phase. C'est notamment les pili qui sont des appendices filamenteux répartis à la surface bactérienne et qui participent aux processus d'adhésion aux cellules épithéliales et endothéliales cibles. Les pili sont immunogènes et manifestent une variation antigénique qui permet à la bactérie d'échapper à la réponse immunitaire de l'hôte et de moduler le niveau et le tropisme de l'adhésion des souches bactériennes aux cellules cibles [3].

Les porines bactériennes (PorA et PorB) sont des protéines de membrane externe immunogènes qui assurent le transport de différents nutriments. Le méningocoque dispose également de systèmes de captation du fer directement de ressources humaines comme la lactoferrine et la transferrine (récepteurs spécifiques de la transferrine et de la lactoferrine). Le méningocoque produit une IgA1 protéase qui est une protéine extracellulaire capable de couper spécifiquement l'IgA1 humaine. Notons également la capacité de liaison du méningocoque aux régulateurs négatifs du complément comme facteur H, un régulateur négatif de la voie alterne du complément via une protéine bactérienne qui lie spécifiquement le facteur H humain. Cela permet à la bactérie de réduire l'activation du complément à sa surface d'échapper ainsi à l'action bactéricide du complément.

Les lipo-oligosaccharides (LOS) ou l'endotoxine sont l'équivalent des lipopolysaccharides (LPS) des autres bactéries à Gram négatif et semblent jouer un rôle important dans l'atteinte « toxique » au cours du choc septique.

L'absence d'un vaccin polysidique contre les souches du sérotype B peut-être contournée par le développement de vaccins à base de protéines de surface bactérienne. Cependant, la variabilité des immunogènes de surface du méningocoque est un obstacle à la généralisation de ces vaccins. Ce défaut a été partiellement compensé par l'utilisation de vaccins « sur mesure », à base de vésicules membranaires exprimant l'ensemble des protéines de la membrane externe bactérienne [4]. Il s'agit d'un vaccin préparé à partir d'une extraction de vésicules de membrane externe d'une souche du méningocoque. Ces vésicules sont immunogènes. La réponse immune est majoritairement dirigée contre la protéine de membrane externe PorA. Ce type de vaccins est donc souche-spécifique. Ces vaccins sont adéquats pour le contrôle des situations épidémiques ou hyperendémiques provoquées par un type particulier de souches (événement clonal comme la situation en Seine Maritime).

Des nouvelles approches génomiques, comme celle de la « vaccinologie reverse », ont permis ensuite d'identifier un « cocktail » de plusieurs candidats protéines pour un vaccin universel contre les souches du méningocoque et en particulier le méningocoque B [5]. Des vaccins recombinants sont en cours d'évaluation et sont composés de plusieurs protéines [6-8]. Le composant majeur de ces vaccins est la protéine qui lie le facteur H humain (fHbp : *Factor H Binding Protein*).

Plusieurs aspects restent donc à explorer avant que ces vaccins recombinants arrivent sur le marché [8]. En effet, Ces protéines ainsi que leur niveau d'expression dans les différentes souches du méningocoque sont variable. Il faut donc évaluer [9] :

- La couverture des souches actuellement en circulation.
- La corrélation entre l'activité bactéricide des anticorps dirigés contre ces protéines

Evolution récente des infections invasives à Méningocoque en France

Les IIM sont des maladies à Déclaration Obligatoire (DO). La surveillance des IIM repose sur la déclaration obligatoire (DO) à l'Agence Régionale de Santé (ARS) qui évalue les mesures de prophylaxie pour les contacts proches et organise leur mise en œuvre. Les DO sont transmises à l'Institut de Veille Sanitaire (InVS) pour analyse et les souches sont envoyées pour caractérisation au Centre National de Référence des méningocoques (CNR).

1-Evolution de l'incidence et de la mortalité

L'incidence des IIM en France se situe depuis plus de vingt-cinq ans autour de 1 cas pour 100.000 habitants. En 2011, l'incidence corrigée pour la sous-notification était de 0,97/100.000, en augmentation de 9%

par rapport à 2010 [10].

En 2011, le taux global de mortalité était de 10 % mais il différait selon le sérotype : il était de 7% pour les IIM B (28 décès) et de 17% pour les IIM C (14 décès). Ce taux est également plus élevé en cas de *purpura fulminans* qu'en son absence.

2-Evolution de la distribution en sérotype

En 2011 et en France Métropolitaine, 72,8% d'IIM étaient du sérotype B, 15,5% du C, 2,6% du W135, 8,5% du Y et 0,6 % de sérotypes rares. En 2010, cette distribution était : B 74%, C 17%, W135 2%, Y 5% et 1% étaient soit de sérotypes plus rares [10, 11].

La baisse de l'incidence des IIM C amorcée après le pic de 2002-2003 et observée entre 2009 et en 2010 continue en 2011. Cette baisse notable des IIM C en France a donc débuté antérieurement aux recommandations de vaccination contre le méningocoque C pour les 1-24 ans faites par le Comité technique des vaccinations/Haut conseil de santé publique (CTV/HCSP) en 2009 et parues au calendrier vaccinal en 2010. Il est donc difficile d'évaluer la part de cette vaccination dans la baisse récente de l'incidence ce qui rend difficile la comparaison des incidences moyennes pré et post introduction de la vaccination. Cependant, les données de 2011 montrent une réduction de l'incidence entre 2010 et 2011 à la limite de la significativité chez les enfants de 1 à 14 ans alors que l'incidence n'a pas baissé ou a augmenté dans les autres groupes d'âge. Ceci est en faveur d'un impact positif de la vaccination chez les 1-14 ans. Le sérotype Y a augmenté en 2010 et a continué d'augmenter en 2011. L'analyse des âges des cas d'IIM Y pour les 10 dernières années montre qu'une baisse progressive des âges médian et moyen des IIM Y est observée depuis 2006, passant de respectivement de 73 ans et 62 ans en 2006 à 20 ans et 29 ans en 2010. Des augmentations similaires de l'incidence des IIM Y sont également observées en Europe (notamment dans les Pays Scandinaves) [12]. En 2012, une réémergence des cas d'IIM W135 importés d'Afrique Sub-saharienne a été observée [13].

La situation d'hyperendémie des IIM B liée au clone B:14:P1-7,16 dans la région de Dieppe, Seine-Maritime, a régressé suite à la campagne de vaccination MenBvac® démarrée en juin 2006 [14, 15].

Les complexes clonaux (CC) les plus fréquents en 2011 étaient les complexes clonaux ST-41/44, ST-32 et ST-11 qui caractérisaient 58% des souches invasives circulantes. Les souches de ces complexes clonaux sont hyper-invasives. Sur la période 2003-2010, quatre complexes clonaux (ST-41/44, ST-32, ST-11 et ST-269) étaient responsables de plus de 75% des cas d'IIM. Cependant, le nombre des cas d'IIM dus aux souches du complexe clonal ST-269 a reculé en 2011 en comparaison avec 2010. Par contre, le nombre des souches qui n'appartiennent pas à des complexes clonaux caractérisés a augmenté en 2011. Les méningocoques B prédominaient au sein des CC ST-41/44, ST-32, ST-269, ST-213, ST-162 et ST-60. Le sérotype C prédominait parmi les CC ST-11, le sérotype Y parmi les ST-23 et ST-167 et le sérotype W135 parmi les CC ST-22. Les souches W135 récentes (2012) étaient du CC ST-11[10].

En conclusion, le méningocoque est une bactérie capsulée hautement variable avec une épidémiologie changeante et imprévisible. La stratégie vaccinale doit donc composer avec ces deux aspects de la biologie de cette bactérie.

Références :

1. Poolman J, Borrow R. Hyporesponsiveness and its clinical implications after vaccination with polysaccharide or glycoconjugate vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2011; 10: 307-22
2. Roupheal NG, Stephens DS. *Neisseria meningitidis*: biology, microbiology, and epidemiology. *Methods Mol Biol* 2012; 799: 1-20
3. Coureuil M, Join-Lambert O, Lecuyer H, Bourdoulous S, Marullo S and Nassif X. Mechanism of meningeal invasion by *Neisseria meningitidis*. *Virulence* 2012; 3
4. Holst J, Feiring B, Naess LM, et al. The concept of "tailor-made", protein-based, outer membrane vesicle vaccines against meningococcal disease. *Vaccine* 2005; 23: 2202-2205
5. Mora M, Veggi D, Santini L, Pizza M and Rappuoli R. Reverse vaccinology. *Drug Discov Today* 2003; 8: 459-64
6. Santolaya ME, O'Ryan ML, Valenzuela MT, et al. Immunogenicity and tolerability of a multicomponent meningococcal serogroup B (4CMenB) vaccine in healthy adolescents in Chile: a phase 2b/3 randomised, observer-blind, placebo-controlled study. *Lancet* 2012; 379: 617-24
7. Richmond PC, Marshall HS, Nissen MD, et al. Safety, immunogenicity, and tolerability of meningococcal serogroup B bivalent recombinant lipoprotein 2086 vaccine in healthy adolescents: a randomised, single-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect Dis* 2012
8. Taha MK, Deghmane AE. Vaccines targeting serogroup B meningococci. *Lancet Infect Dis* 2012
9. Vogel U, Stefanelli P, Vazquez J, Taha MK, Claus H and Donnelly J. The use of vaccine antigen characterization, for example by MATS, to guide the introduction of meningococcus B vaccines. *Vaccine* 2012; 30 Suppl 2: B73-7
10. Parent du Châtelet I, Taha M-K, Lepoutre A, Maine C, Deghmane AE and Lévy-Bruhl D. Les infections invasives à méningocoques en France en 2011. *Bull Epidemiol Hebd* 2012
11. Parent du Châtelet I, Taha M-K, Lepoutre A, Maine C, Deghmane AE and Lévy-Bruhl D. Les infections invasives à méningocoques en France en 2010. *Bull Epidemiol Hebd* 2011; 475-480
12. Broker M, Jacobsson S, Detora L, Pace D and Taha MK. Increase of meningococcal serogroup Y cases in Europe: A reason for concern? *Hum Vaccin Immunother* 2012; 8
13. Parent du Châtelet I, Barboza P and Taha M-K. W135 invasive meningococcal infections imported from Sub-Saharan Africa to France, January to April 2012. *Euro Surveill* 2012; 17
14. Caron F, Delbos V, Houivet E, et al. Evolution of immune response

against *Neisseria meningitidis* B: 14: P1.7, 16 before and after the outer membrane vesicle vaccine MenBvac. *Vaccine* 2012

15. Caron F, du Châtelet IP, Leroy JP, et al. From tailor-made to ready-to-wear meningococcal B vaccines: longitudinal study of a clonal meningococcal B outbreak. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 455-63

225/55SEP 23/11/2012 - 11:40 - BRILLAT SAVARIN 1

Utilisation des vaccins méningococciques polysidiques conjugués et non conjugués.

D. Floret

Université Claude Bernard Lyon 1 - Hôpital Femme Mère Enfant, Bron, France

La gamme des vaccins polysidiques méningococciques s'est récemment élargie avec l'arrivée de vaccins quadrivalents conjugués et non conjugués. La place respective des différents vaccins disponibles mérite donc d'être précisée, ce qui a été fait dans un récent rapport du Haut Conseil de la Santé Publique (1).

1. Les vaccins actuellement disponibles comprennent

• 1.1 des vaccins polysidiques non conjugués :

— Vaccin méningococcique A + C polysidique® indiqué pour l'immunisation active contre les formes invasives des infections à méningocoques des sérotypes A et C chez les adultes et les enfants à partir de l'âge de 2 ans. Le schéma vaccinal comporte une seule dose. Une revaccination est indiquée après 2 à 4 ans en fonction de l'exposition.

— Le vaccin A,C,Y,W135 commercialisé sous le nom de MENCEVAX®, indiqué pour l'immunisation active des adultes, adolescents et enfants de plus de 2 ans contre la maladie méningococcique invasive dues aux méningocoques des groupes A, C, W135 et Y. Le schéma vaccinal comporte une seule dose. Les personnes exposées peuvent être revaccinées.

• 1.2 des vaccins polysidiques conjugués :

— 1.2.1 Les vaccins monovalents méningococciques C conjugués au nombre de trois :

— MENINGITEC® : vaccin méningococcique du groupe C conjugué à la protéine CRM197 de la toxine de *Corynebacterium diphtheriae*

— MENJUGATEKIT® : vaccin méningococcique du groupe C conjugué à la protéine CRM197 de la toxine de *Corynebacterium diphtheriae*

— NEISVAC® : vaccin méningococcique polysidique du groupe C conjugué à l'anatoxine tétanique.

Ces trois vaccins considérés comme équivalents sont indiqués pour l'immunisation active des nourrissons à partir de l'âge de 2 mois, des enfants, des adolescents et des adultes, pour la prévention des maladies invasives dues à *Neisseria meningitidis* du sérotype C. Le schéma vaccinal comporte pour les nourrissons de moins de 12 mois, l'administration de 2 doses espacées d'au moins 2 mois et un rappel au cours de la 2^e année. Après l'âge de 12 mois, une seule dose est nécessaire. La nécessité de rappels n'est pas établie.

— 1.2.2 Les vaccins quadrivalents conjugués A,C,Y, W135 au nombre de deux :

— MENVEO® contient les oligosides des *Neisseria meningitidis* de groupe A, C, W 135 et Y, conjugués à la protéine CRM-197 de la toxine de *Corynebacterium diphtheriae*. Il est indiqué pour l'immunisation active des enfants (à partir de 2 ans), des adolescents et des adultes. Le schéma vaccinal comporte une seule dose. La nécessité de doses de rappel n'est pas établie.

— NIMENRIX® contient l'oligoside de *Neisseria meningitidis* des groupes A, C, W, et Y, conjugués à l'anatoxine tétanique. Il est indiqué dans l'immunisation active des sujets à partir de 12 mois. Le schéma posologique est d'une seule dose. La nécessité d'injections de rappel n'est pas établie.

2. L'épidémiologie des infections invasives à méningocoques en France et dans le monde (1) représente un élément décisif pour l'indication des différents vaccins.

Le sérotype A prédomine en Afrique subsaharienne où il est hyperendémique dans la ceinture de la méningite. Les sérotypes B et C prédominent dans les Amériques et en Europe. Les autres sérotypes restent minoritaires dans le monde. Cependant, le sérotype Y s'est implanté de façon endémique en Amérique du Nord (Etats-Unis et Canada). Le sérotype W135 a été responsable d'épidémies en Arabie saoudite (pèlerinage de la Mecque) et en Afrique (Niger, Burkina Faso). Les épidémies survenues début 2012 en Afrique subsaharienne ont été principalement dues au sérotype W135. En France, les sérotypes B et C représentent respectivement 64 % et 28 % des cas sur les vingt-cinq dernières années. Le sérotype W135 circule à minima et sous la forme uniquement de cas sporadiques. Cependant, une augmentation a été observée début 2012 due en partie à des cas importés. Le sérotype Y circule également à bas bruit mais a récemment augmenté et représentait 8 % des IIM de sérotype connu en 2011. Le sérotype A est exceptionnellement observé.

3. Avantages des vaccins conjugués

Comparativement aux vaccins non conjugués, les vaccins tétravalents

conjugués présentent des avantages :

- meilleure immunogénicité alors qu'un taux plus élevé d'anticorps permet d'anticiper une protection de plus longue durée ;
- création d'une mémoire immunitaire laissant espérer une bonne qualité d'effet rappel dans l'éventualité d'injections itératives.
- effet potentiel sur le portage participant à la mise en place d'une immunité de groupe
- absence de phénomène d'hyporéactivité observé avec les vaccins non conjugués et susceptible d'obérer la réponse à des injections ultérieures (2,3).

4. Les recommandations concernant l'utilisation des différents vaccins disponibles ont été précisées par 2 avis du Haut Conseil de la Santé Publique (4,5).

La stratégie de prévention des infections invasives à méningocoques de sérotype C reste basée sur l'utilisation des vaccins conjugués monovalents qui sont recommandés chez les nourrissons à partir de l'âge de 12 mois avec une extension chez les enfants, les adolescents et les adultes jusqu'à l'âge de 24 ans révolus.

Les personnes relevant de la vaccination par un vaccin quadrivalent A,C,Y,W135 se limitent

- aux personnels des laboratoires de recherche travaillant spécifiquement sur le méningocoque
- aux sujets exposés transitoirement aux méningocoques A, Y ou W135 : prophylaxie post exposition, pèlerinage de La Mecque ou voyage dans une zone d'endémie à méningocoque A, Y ou W 135, notamment la ceinture de la méningite en Afrique subsaharienne.
- aux personnes devant pouvoir bénéficier d'une protection durable et étendue vis-à-vis d'un nombre élargi de sérogroupes de méningocoque du fait d'un déficit en fraction terminale du complément ou qui reçoivent un traitement anti-C5A, d'un déficit en properdine ou celles ayant une asplénie anatomique ou fonctionnelle, des personnes ayant reçu une greffe de cellules souches hématopoïétiques

L'utilisation des vaccins tétravalents méningococciques conjugués doit être privilégiée dès l'âge autorisé par leurs AMM respectives (1 an pour le NIMENRIX®, 2 ans pour le MENVEO®) aux dépens des vaccins méningococciques non conjugués (vaccin méningococcique A+C® polysidique et MENCEVAX®).

Cependant, en l'absence d'AMM pour les vaccins méningococciques tétravalents conjugués avant l'âge de 1 an, seul le vaccin bivalent non conjugué A+C peut être actuellement utilisé entre 6 mois et 1 an dans l'unique objectif d'une protection contre les infections invasives à méningocoque du groupe A.

Lorsque la vaccination par un vaccin méningococcique tétravalent conjugué A, C, Y, W135 est envisagée chez un sujet ayant reçu antérieurement un vaccin méningococcique :

- Aucun délai n'est recommandé après la vaccination avec un vaccin conjugué monovalent C
- Un délai de trois ans est recommandé après la vaccination avec un vaccin tétravalent non conjugué (durée estimée de protection du vaccin non conjugué) ;
- En cas de nécessité impérative et urgente d'élargir la protection aux sérogroupes Y et W135 des sujets vaccinés depuis moins de trois ans avec le vaccin non conjugué A+C, et en l'absence de données spécifiques, aucun délai minimum n'est recommandé.

Lorsque la vaccination par un vaccin méningococcique conjugué monovalent C est envisagée chez un sujet ayant reçu antérieurement un vaccin méningococcique non conjugué contenant la valence C (vaccin méningococcique A+C® polysidique et vaccin tétravalent non conjugué MENCEVAX®), un délai de trois ans est recommandé (durée estimée de protection du vaccin non conjugué).

Références :

1. Haut Conseil de la Santé Publique. Vaccins méningococciques tétravalents A,C,Y,W135. Recommandations d'utilisation. Rapport du groupe de travail. 12 juillet 2012. www.hcsp.fr
2. Poolman J, Borrow R. Hyporesponsiveness and its clinical implications after vaccination with polysaccharide or glycoconjugate vaccines. *Expert Rev Vaccines* 2011; 10:307-22.
3. MacDonald NE, Halperin SA, Law BJ, Forrest B, Danzig LE, Granoff DM. Induction of immunologic memory by conjugated vs plain meningococcal C polysaccharide vaccine in toddlers: a randomized controlled trial. *JAMA* 1998; 280:1685-9.
4. Haut Conseil de la santé publique. Avis relatif à l'utilisation du vaccin méningococcique A, C, Y, W135 MENVEO®. 25 juin 2010. Disponible sur www.hcsp.fr
5. Haut Conseil de la Santé Publique. Avis relatif à l'utilisation du vaccin méningococcique tétravalent conjugué A,C,Y,W135 et à la place respective des vaccins méningococciques tétravalent conjugués et non conjugués. 12 juillet 2012. Disponible sur www.hcsp.fr
6. *Université Claude Bernard Lyon1. Hôpital Femme Mère Enfant Bron

Conflits d'intérêt : déclaration publique d'intérêt consultable sur le site du Haut Conseil de la Santé Publique www.hcsp.fr

Vaccins méningococciques protéiques en développement : B ou universels ?

E. Grimprel

Service de Pédiatrie Générale, Hôpital Trousseau, Paris, France

Le polyside capsulaire de surface qui détermine le sérotype des méningocoques est relativement peu immunogène mais sa combinaison avec un support protéique a permis d'obtenir des vaccins efficaces contre les infections invasives à méningocoque de sérotype C, A, Y et W135. Malheureusement, le polyside de surface des méningocoques de sérotype B, majoritaires en Europe, présente des similitudes avec certaines protéines cellulaires humaines exposant au risque théorique d'induction de phénomènes auto-immuns s'il était utilisé comme antigène vaccinal. C'est donc vers les protéines antigéniques de surface que la recherche s'est tournée pour développer d'autres vaccins.

Les premiers vaccins protéiques mis au point sont constitués de vésicules extraites par détersion à partir d'une suspension bactérienne (vaccins OMV pour Outer Membrane Vesicle). Ils contiennent de multiples protéines de membrane externe de différentes classes telles qu'une porine A de classe 1, une porine B de classe 3, la protéine RMP de classe 4 et la protéine OPC de classe 5 C. Parmi ces antigènes, la protéine PorA est la plus importante en terme de protection, permettant d'induire des anticorps sériques à activité bactéricide vis-à-vis de la souche vaccinale [1]. Le mode de préparation de ces vaccins rend cependant le choix des antigènes impossible et leur spécificité est limitée à la souche bactérienne dont sont issues les protéines. D'une façon générale, les vaccins OMV ont une efficacité clinique sur le terrain estimée entre 70 et 87 % selon les souches et les types de vaccins [2]. Ces vaccins n'ont donc été utilisés avec succès que dans certains pays dans lesquels une souche clonale hyper endémique sévissait comme Cuba et plus récemment la Nouvelle Zélande et la Norvège. C'est ce type de vaccin qui a été récemment utilisé en Seine Maritime pour contrôler le foyer hyperendémique d'infections invasives à Méningocoque de sérotype B [3].

La recherche s'est donc appliquée à identifier d'autres protéines ayant un potentiel de couverture plus large dans le but d'obtenir une vaccination plus « universelle ». Les antigènes protéiques doivent en effet :

- être communs aux principales souches virulentes circulantes;
- avoir peu de variation génomique au sein des souches ou des groupes clonaux;
- être exprimés en quantités suffisantes lors de la croissance bactérienne;
- et induire la synthèse d'anticorps fonctionnels bactéricides.

Le développement de ces vaccins est complexe car il n'y aura d'étude clinique d'efficacité compte tenu des taux bas d'incidence des infections invasives à méningocoque B dans la population générale. Les AMM seront donc attribuées sur les données de tolérance et d'immunogénicité. Le candidat vaccin devra démontrer sa capacité à couvrir la majorité des souches virulentes circulant dans les différents pays où ce vaccin sera proposé. Le seul corrélat de protection connu et validé étant l'activité bactéricide du sérum du sujet vacciné contre la souche bactérienne en question, il faudrait en théorie tester toutes les souches invasives circulantes par cette technique, ce qui n'est pas envisageable pour de simples questions de logistique et surtout quantité de sérum disponible, en particulier chez le nourrisson.

Actuellement deux vaccins sont en développement.

Le vaccin actuellement le plus avancé est le vaccin Bexsero® (Novartis Vaccines and Diagnostics). Ce vaccin comporte quatre protéines recombinantes : fHbp (sous-variant 1.1) fusionnée avec une protéine accessoire GNA 2091, NHBA (variant 1.2) fusionnée avec la protéine accessoire GNA1030, et NadA (variant 3.1). Dans la version finale du vaccin Bexsero®, le composant OMV du vaccin néozélandais a été ajouté afin d'améliorer la couverture théorique du vaccin (protéine PorA) et offrir un effet immuno-modulateur adjuvant.

La seule étude clinique publiée à ce jour montre une immunogénicité et une tolérance satisfaisantes chez l'adolescent selon un schéma à deux doses espacées de un ou deux mois [4].

La méthode mise au point par Novartis pour démontrer son potentiel de couverture vis-à-vis des souches de méningocoque B circulantes porte l'appellation de MAST Elisa (pour Meningococcal Antigen Typing System) [5]. Cette méthode a été appliquée à un panel de 1052 souches invasives isolées entre juillet 2007 et juin 2008 en Angleterre et pays de Galles, en France, en Allemagne, en Norvège, et en Italie [6]. Sur une population de nourrissons de 13 mois vaccinés, 78% des souches testées sont apparues potentiellement couvertes par le vaccin (IC95% 66-91). Le taux de protection potentielle variait entre 73% à 87% selon les pays.

Le second candidat vaccin est développé par Pfizer. Il comporte deux protéines fHbp issues de chacune des deux sous-familles A et B et exprimées par tous les isolats étudiés à ce jour mais à un niveau d'expression variable [7]. Une activité bactéricide a été retrouvée chez l'animal et chez l'homme vis-à-vis d'un pourcentage élevé de souches cliniques testées [8]. Les premières études d'immunogénicité effectuées en phase 2 chez l'adulte et l'enfant ont montré une séroréponse en hSBA vis-à-vis d'un panel de souches de méningocoques B [9-11]. Les deux premiers essais publiés montrent une bonne tolérance et immunogénicité chez le nourrisson de 18 à 36 mois et l'adolescent [12-13].

Du fait de leur structure protéique, indépendante de la capsule polysidique, ces vaccins peuvent prétendre, de principe, protéger contre des infections invasives méningococciques quel que soit le sérotype capsulaire. Cette propriété restera à démontrer selon les mêmes méthodes appliquées aux méningocoques de sérotype B.

Références :

1. Holst J, Martin D, Arnold R, Campa Huergo C, et al. Properties and clinical performance of vaccines containing outer membrane vesicles from *Neisseria meningitidis*. *Vaccine* 2009 ; 27 : 3-12.
2. Holst J, Feiring B, Naess LM, Norheim G, et al. The concept of "tailor-made", protein-based, outer membrane vesicle vaccines against meningococcal disease. *Vaccine* 2005; 23: 2202-5.
3. Caron F, Parent du Châtelet I, Leroy JP, Ruckly C, et al. From tailor-made to ready-to-wear meningococcal B vaccines: longitudinal study of a clonal meningococcal B outbreak. *Lancet Infect Dis* 2011; 11: 455-63.
4. Santolaya ME, O'Ryan ML, Valenzuela MT, Prado V, Vergara R, Muñoz A, Toneatto D, Graña G, Wang H, Clemens R, Dull PM, for the V72P10 Meningococcal B Adolescent Vaccine Study group. Immunogenicity and tolerability of a multicomponent meningococcal serogroup B (4CMenB) vaccine in healthy adolescents in Chile: a phase 2b/3 randomised, observer-blind, placebo-controlled study. *Lancet* 2012; 379: 617-24.
5. Donnelly J, Medini D, Boccadifuoco G, Biolchia A et al. Qualitative and quantitative assessment of meningococcal antigens to evaluate the potential strain coverage of protein-based vaccines. *PNAS* 2010; 107: 19490-5.
6. Donnelly JJ. European Meningococcal Disease Society 2011; Abstract O 08. <http://emgm.eu/meetings/emgm2009/abstracts.pdf>.
7. Murphy E, Andrew L, Lee KL, Dilts DA, et al. Sequence Diversity of the Factor H Binding Protein Vaccine Candidate in Epidemiologically Relevant Strains of Serogroup B *Neisseria meningitidis* JID 2009; 200:379-89.
8. Jiang HQ, Hoiseth SK, Harris SL, McNeil LK, et al. Broad vaccine coverage predicted for a bivalent recombinant factor H binding protein based vaccine to prevent serogroup B meningococcal disease. *Vaccine* 2010; 28: 6086-93.
9. Nissen MD, Marshall HS, Richmond P, et al. A randomised, placebo-controlled, double-blind, Phase I trial of ascending doses of meningococcal group B rLP2086 vaccine. Presented at: 26th Annual Meeting of the European Society for Paediatric Infectious Diseases, Graz, Austria, 13-17 May 2008.
10. Richmond P, Marshall HS, Nissen MD, et al. A randomised, observer-blinded, active control, Phase I trial of meningococcal serogroup B rLP2086 vaccine in healthy children and adolescent aged 8 to 14 years. Presented at : International Pathogenic *Neisseria* Conference. Rotterdam, The Netherlands, 7-12 September 2008.
11. Snape MD, Dawson T, Morant A, et al. Immunogenicity and reactogenicity of a novel serogroup B *Neisseria meningitidis* vaccine administered from 6 months of age. Presented at : International Pathogenic *Neisseria* Conference. Rotterdam, The Netherlands, 7-12 September 2008.
12. Marshall HS, Richmond PC, Nissen MD, Jiang Q, Anderson AS, Jansen KU, Reynolds G, Ziegler JB, Harris SL, Jones TR, Perez JL. Safety and Immunogenicity of a Meningococcal B Bivalent rLP2086 Vaccine in Healthy Toddlers Aged 18-36 Months: A Phase 1 Randomized-controlled Clinical Trial. *Pediatr Infect Dis J*. 2012 ; 31 : 1061-8.
13. Richmond PC, Marshall HS, Nissen MD, Jiang Q, Jansen KU, Garcés-Sánchez M, Martínón-Torres F, Beeslaar J, Szenborn L, Wysocki J, Eiden J, Harris SL, Jones TR, Perez JL; 2001 Study Investigators. Safety, immunogenicity, and tolerability of meningococcal serogroup B bivalent recombinant lipoprotein 2086 vaccine in healthy adolescents: a randomised, single-blind, placebo-controlled, phase 2 trial. *Lancet Infect Dis*. 2012; 12 : 597-607.

228/56s 23/11/2012 - 11:20 - BRILLAT SAVARIN 3

L'hépatite Delta chez les patients co-infectés VIH-VHB.

P. Miaillhes¹, K. Lacombe²

¹CHU, Lyon ²Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

De par leurs modes de transmission très proches (transfusion, rapports sexuels, actes endoscopiques) et leurs régions d'endémicité superposables, les infections multiples par les virus de l'immunodéficience humaine (VIH) et des hépatites B (VHB) et Delta (VHD) sont relativement fréquentes. Dans la Cohorte EuroSIDA regroupant les pays Européens, l'Argentine et Israël, les prévalences respectives des co-infections VIH-VHB et VIH-VHB-VHD ont été estimées à 6,5% et 12,5%, dont 87% étaient porteurs d'une hépatite Delta répliquative [1]. Le VHD est un petit virus déficient à ARN qui nécessite la présence de l'AghBs pour se multiplier [2], il infecte donc les patients soit dans le cadre d'une co-infection avec le VHB (acquisition simultanée des deux virus) soit dans le cadre d'un super-infection (acquisition du VHD ultérieure à celle du VHB). Dans le premier cas, l'hépatite aigue Delta est spontanément résolutive dans la très grande majorité des cas. Dans la deuxième situation, l'infection aboutit à un passage à la chronicité dans 90 à 95% des cas [2]. Le diagnostic du VHD doit être préconisé chez tout patient porteur d'une co-infection VIH-VHB et repose dans un premier temps sur la sérologie permettant de mettre en évidence la présence d'anticorps anti-Delta. Dans un deuxième temps, chez les patients avec sérologie positive, une évaluation de la répllication virale par PCR Delta permet de détecter les patients porteurs d'une hépatite Delta chronique [3]. Le sérotypage (de 1 à 6) n'a qu'un intérêt épidémiologique, et en France, la majorité des patients co-infectés VIH-VHB-VHD sont porteurs des sérotypes 1 (Europe) et 5 (Afrique Sub-Saharienne) [4]. Chez les patients porteurs d'une infection par le VIH, l'immunodépression crée un contexte favorable à l'aggravation des lésions hépatiques et à l'émergence de pathologies hépatiques terminales telles que la cirrhose [4] et le carcinome hépato-cellulaire [5]. De fait, la majorité des patients porteurs d'une co-infection VIH-VHB-VHD sont cirrhotiques et doivent bénéficier d'un suivi hépatique rapproché, afin de dépister les complications hépatiques assez tôt pour qu'ils puissent bénéficier d'une prise en charge adaptée précoce

(transplantation hépatique pour les plus graves) [6]. Afin de réduire le risque d'évolution vers une maladie terminale du foie, il existe peu de stratégies thérapeutiques ayant une réelle efficacité. L'interféron standard et dans sa forme pegylée est le seul traitement utilisé à ce jour, avec une efficacité très limitée puisque moins de 30% des patients présentent une négativation de la charge virale VHD avec une normalisation des transaminases, tandis que quasi aucun ne guérit vraiment, la reprise de répllication virale étant la norme à l'arrêt du traitement [7]. Certains auteurs ont suggéré, suite à l'analyse de données de cohorte que le ténofovir, puissant analogue nucléotidique de la transcriptase inverse du VHB pouvait, en inhibant la répllication du VHB, avoir une action indirecte sur celle du VHD [8]. Cependant, ces données sont encore trop parcellaires et nécessitent d'être confirmées par d'autres équipes avec un suivi longitudinal des patients plus long. Cette présentation sera donc l'occasion de proposer une revue très actualisée des différentes problématiques auxquelles fait face le clinicien confronté à la prise en charge de patients co-infectés VIH-VHB et VHD, qu'elles soient d'ordre diagnostique, clinique ou thérapeutique.

Références :

1. Soriano, V., et al., *Hepatitis delta in HIV-infected individuals in Europe*. *Aids*, 2011; 25(16): p. 1987-92.
2. Hughes, S.A., H. Wedemeyer, and P.M. Harrison, *Hepatitis delta virus*. *Lancet*, 2011. 378(9785): p. 73-85.
3. Le Gal, F., et al., *Quantification of hepatitis delta virus RNA in serum by consensus real-time PCR indicates different patterns of virological response to interferon therapy in chronically infected patients*. *J Clin Microbiol*, 2005. 43(5): p. 2363-9.
4. Lacombe, K., et al., *Impact of chronic hepatitis C and/or D on liver fibrosis severity in patients co-infected with HIV and hepatitis B virus*. *Aids*, 2007. 21(18): p. 2546-9.
5. Sheng, W.H., et al., *Impact of hepatitis D virus infection on the long-term outcomes of patients with hepatitis B virus and HIV coinfection in the era of highly active antiretroviral therapy: a matched cohort study*. *Clin Infect Dis*, 2007. 44(7): p. 988-95.
6. *European AIDS Clinical Society, Guidelines - Version 6 - October 2011*.
7. Serrano, B.C., M.P. Manns, and H. Wedemeyer, *Hepatitis delta and HIV infection*. *Semin Liver Dis*, 2012. 32(2): p. 120-9.
8. Sheldon, J., et al., *Does treatment of hepatitis B virus (HBV) infection reduce hepatitis delta virus (HDV) replication in HIV-HBV-HDV-coinfecting patients?* *Antivir Ther*, 2008. 13(1): p. 97-102.

233/58DP 23/11/2012 - 13:00 - HALL PIERRE CURIE

Intérêt clinique de la quantification de l'HSV1 dans les LBA.

E. Frobert^{2,3}, G. Billaud², J.S. Casalegno^{2,3}, D. Goncalves², J. Robert¹, B. Lina^{2,3}, F. Morfin^{2,3}

¹Service de Réanimation, Hôpital Edouard Herriot ²Virologie, Hospices Civils de Lyon ³EA4610 Virpath, Université Lyon 1, Lyon, France

Introduction : La détection d'un virus Herpes simplex (HSV) dans un prélèvement respiratoire bas soulève souvent la question de sa signification au niveau clinique. En effet, il reste souvent difficile de différencier une contamination bronchique par la bouche / gorge, d'une excrétion trachéo-bronchique ou d'une réelle implication dans la pathologie pulmonaire.

Objectifs : Cette étude rétrospective a pour objectifs de déterminer un lien entre la gravité clinique et la quantité d'HSV au niveau d'un prélèvement respiratoire bas et de valider un seuil de quantification qui puisse sembler significatif. L'intérêt de la normalisation de la quantification d'HSV par rapport à la quantité de cellules présentes dans le prélèvement a également été évalué.

Méthode : Sur la période 2011-2012, 59 patients ayant un LBA positif en HSV soit en PCR soit en culture ont été inclus dans cette étude rétrospective. La quantification de l'HSV a été réalisée par PCR temps réel (R-gene, Argène BioMérieux, France) ainsi que la normalisation par rapport à la quantité de cellules présentes dans le prélèvement (Rhino&EV/Cc r-gene, Argène BioMérieux, France). La détermination du seuil de quantification significatif par rapport aux caractéristiques cliniques des patients a été évaluée par analyse statistique (Epiinfo Software v3.5.1 CDC).

Résultats : Cette étude montre qu'une charge virale HSV élevée supérieure à 10⁴ copies/ml de LBA est significativement associée à une admission en réanimation (p<0.001), à une ventilation mécanique (p<0.01) et à la survenue de décès (p<0.01). Les autres facteurs étudiés tels que âge >50 ans, le statut immunitaire, la présence de signes pulmonaires, d'une comorbidité, ou d'une co-infection ne semblent pas significatifs. De plus, la normalisation des charges virales par rapport à la quantité de cellules ne modifie pas de manière significative le seuil de 10⁴ copies d'HSV / ml de LBA.

Conclusion : La détermination de ce seuil de quantification peut représenter un apport non négligeable pour le clinicien. Pour certains patients présentant un tableau pulmonaire grave, et particulièrement les patients de réanimation intubés, il paraît désormais nécessaire d'évaluer l'intérêt d'un traitement systématique par l'aciclovir en cas de détection d'un HSV dans un LBA.

Prédominance du clone ST398 au sein des souches de *Staphylococcus aureus* isolées des ostéites du pied chez le diabétique.

E. Senneville⁶, M. Brière^{5,4}, C. Neut¹, N. Messad⁵, J.L. Richard³, A. Sotto^{5,4}, J.P. Lavigne^{2,5}

¹U995, INSERM, Lille ²Laboratoire de Bactériologie ³Service des Maladies de la Nutrition et Diabétologie ⁴Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carémeau ⁵U1047, INSERM, Nîmes ⁶Service de Maladies Infectieuses, CH Dron, Tourcoing, France

Objet de l'étude : Les ostéites à *Staphylococcus aureus* sont une complication fréquente (10 à 60%) des plaies du pied chez le diabétique. Le but de cette étude était d'évaluer les clones de *S. aureus* circulants en France dans cette pathologie.

Méthodes : Des patients adultes diabétiques de type 1 et 2, ayant une plaie infectée du pied (Grades 2-4; SPILF 2007) ont été inclus du 1/01/08 au 31/12/10 dans 12 CHU en France. Après préparation de la plaie, un prélèvement était réalisé par biopsie osseuse selon les recommandations nationales. Les prélèvements monomicrobiens à *S. aureus* étaient conservés pour l'étude génotypique par des biopuces à ADN (StaphyType96[®], Alere): détection de 333 gènes de virulence/résistance et assignation de l'origine clonale de la souche.

Résultats obtenus : 57 patients ont été inclus (63% d'hommes, âge médian 67 ans (38-85)) et 61 souches de *S. aureus* ont été isolées (4 patients ayant 2 types de *S. aureus* de morphotypes différents). La prévalence des SARM était de 19,7%. Une grande diversité clonale a été observée: un total de 13 complexes clonaux (CC) connus et 4 singletons. Le clone ST398 (d'origine animale notamment porcine) était le plus fréquemment détecté (n=20, 33%) représentant 41% des souches sensibles à la méticilline. Ces souches ont été isolées dans 10 hôpitaux sur 12. Aucun lien n'a pu être démontré entre les différents patients suggérant une propagation nationale de ce clone. Ces souches ont la particularité d'être productrices de pénicillinases et sensibles aux autres antibiotiques. Quelques caractéristiques génétiques ont été observées : absence d'entérotoxine, présence d'hémolysines (*hlgV*, *hlgA*, *hla*, *hld*), de *cap5*, et de 3 gènes codant pour une MSCRAMM (*bbp*, *clfA*, *clfB*). Toutes les souches appartenaient au groupe *agr* 1.

Conclusion : Cette étude multicentrique démontre l'émergence et la dissémination du clone ST398 dans les ostéites du pied chez le diabétique en France. L'adaptation d'un clone passé de l'homme à l'animal est un problème alarmant nécessitant une surveillance accrue.

Identification des bacilles à Gram négatif non fermentant par spectrométrie de masse dans la mucoviscidose : comparaison des 4 bases de données disponibles en France.

A. Ferroni⁵, M.O. Husson², G. Durand¹, J. Leto⁴, P.H. Boyer³, J.L. Beretti⁵, C. Segonds⁶, F. Vandenesch³, R. Courcol², X. Nassif⁶, A.M. Freydière³, Groupe « Mucomicrobe » pour l'association Vaincre La Mucoviscidose ¹BioMérieux, La Balme Les Grottes ²Centre de Biologie, CHU de Lille, Lille ³Centre de Biologie et de Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon ⁴Andromas SAS ⁵Laboratoire de Microbiologie, CHU Necker-Enfants Malades, Paris ⁶Observatoire Burkholderia cepacia, Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Purpan, Toulouse, France

Les souches de bacilles à Gram négatif non fermentant (BGNNF) isolées de patients atteints de mucoviscidose sont encore identifiées majoritairement par des techniques biochimiques classiques. Pour de nombreuses espèces, ces outils ne donnent pas une identification satisfaisante, obligeant à recourir à la biologie moléculaire. Récemment, la spectrométrie de masse MALDI-TOF a montré de meilleures performances.

Dans le cadre de l'homogénéisation des pratiques des laboratoires de Microbiologie rattachés aux CRCM (Centre de Ressources et de Compétence de la Mucoviscidose) nous avons voulu nous assurer que les 4 systèmes MALDI-TOF différents proposés en France étaient capables de donner des identifications fiables de ces BGNNF.

Pour cela, entre juillet 2011 et août 2012, 91 souches de BGNNF isolées de patients atteints de mucoviscidose, d'identification réputée difficile par les techniques classiques et provenant de 6 CRCM ont été identifiées à l'aveugle dans les 3 CRCM possédant des systèmes MALDI-TOF différents utilisant les 4 bases de données: Andromas à Paris, Bruker à Lille, Saramis et Vitek MS IVD v2 à Lyon. Les souches donnant des résultats discordants entre les sites ou mal identifiées au niveau de l'espèce ont donné lieu à une identification moléculaire.

Les 91 souches de BGNNF ont donné une identification au niveau de l'espèce ou d'espèces phylogénétiquement proches dans 93%, 86%, 85% et 84% des cas, du genre dans 1%, 12%, 9% et 0% des cas, une erreur d'identification d'espèce dans 0%, 0%, 0% et 2% des cas, de genre dans 0%, 2%, 3% et 8% des cas, et une absence de spectre interprétable dans 6%, 0%, 3% et 6% des cas, respectivement pour les bases Andromas, Bruker, Saramis et Vitek MS IVD v2. Les principales erreurs d'identifications d'espèces proches ont été notées au sein du complexe *cepacia*. Les échecs d'identification étaient partiellement expliqués par une absence de l'espèce dans les bases de données considérées. Quelque soit le système MALDI-TOF utilisé, l'identification par spectrométrie est donc performante pour l'identification des

BGNNF dans la mucoviscidose, ce qui permet de conseiller cette technique à tous les CRCM. L'utilisation préférentielle de l'une des 4 bases de données portera sur la facilité de faire évoluer cette base.

Intérêt du dosage du N-oxyle voriconazole : exemple d'un cas clinique.

C. Sauzay¹, C. Metz¹, K. Bihan², N. Tissot², M.H. Fievet¹, P. Tilleul¹, C. Funck-Brentano², J.S. Hulot², N. Zah²

¹Service de Pharmacie ²Service de Pharmacologie, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Objet de l'étude : Le voriconazole est un antifongique majeur, fréquemment utilisé en prophylaxie dans le traitement des aspergilloses chez des patients immunodéprimés. Il a été montré que la mesure des concentrations résiduelles de voriconazole était pertinente en termes d'efficacité et de toxicité. De plus, sa pharmacocinétique présente une forte variabilité inter et intra individuelle. Le voriconazole est métabolisé par différents cytochromes dont le CYP2C19. Son métabolite principal est le N-Oxyle voriconazole (VNO). Les CYP2C9 et CYP3A4 peuvent être à l'origine d'interactions médicamenteuses. Nous décrivons un cas clinique de Mr S, traité, par voie orale puis par voie IV, jusqu'à 800 mg/j de Vfend[®]. Les concentrations plasmatiques de voriconazole restent indétectables à plusieurs reprises.

Méthodes : Trois hypothèses ont été explorées pour expliquer cet échec thérapeutique. La première est la présence d'un polymorphisme génétique des variant CYP2C19*3 et *17 et du CYP2C9*2 et *3. La deuxième, est une interaction médicamenteuse vérifiée par l'analyse du dossier médical du patient. Enfin, un dosage de la concentration résiduelle de VNO a été réalisé par chromatographie liquide haute performance.

Résultats : Les concentrations plasmatiques de voriconazole ont été inférieures à la limite de quantification (<0.5µg/mL). L'analyse génétique n'a montré aucun variant allélique des CYP2C19 et 2C9. Aucun inducteur enzymatique connu n'a été coadministré. Le dosage du métabolite a permis de révéler une accumulation du VNO, dont la concentration passe de 1.1 à 40.8µg/ml en 10 jours.

Discussion/conclusion : Les concentrations indétectables de voriconazole associées à des concentrations élevées du métabolite suggèrent un profil de métabolisme très rapide chez ce patient. Cela a entraîné une accumulation très importante du métabolite. Dans la littérature, les concentrations plasmatiques de VNO sont normalement comprises entre 1 et 3 µg/mL. En conclusion, un dosage systématique du VNO chez des patients en échec thérapeutique pourrait être utile, cela permettrait de détecter rapidement une métabolisation anormale et d'envisager une alternative thérapeutique.

Évaluation du taux d'entérobactéries résistantes aux C3G concernées par les recommandations du CA-SFM 2011 selon la méthode de réalisation de l'antibiogramme.

L. Prots³, F. Parisot⁴, D. Neri¹, T. Fosse², et membres du Groupe Bmr du Réseau Azurclin

¹Laboratoire de Biologie, CH Cannes, Cannes ²Laboratoire de bactériologie, CHU Nice ³LBM Labazur Nice ⁴LBM Novescia Côte-d'azur, Nice, France

Objectifs : Mesurer l'impact des nouvelles recommandations du CA-SFM 2011 sur le rendu des céphalosporines de 3^{ème} génération et de l'Aztréonam (ATM) vis-à-vis des entérobactéries en fonction des 2 mécanismes de résistance, hyperproduction de céphalosporinase (HCASE), β-lactamases à spectre étendu (BLSE) et de la technique de réalisation de l'antibiogramme.

Méthodes : Étude ville-hôpital sur l'année 2011 comptabilisant une seule souche par patient et par technique quel que soit le prélèvement: pour les phénotypes BLSE et HCASE, étude des % des molécules catégorisées sensibles (S) par rapport au nombre de molécules testées: ATM, ceftazidime (CAZ), céfotaxime (CTX), ceftriaxone (CRO) et céfépim (FEP), % de souches catégorisées S pour chaque technique, diffusion (SIR) et milieu liquide (Vitek[®], Phoenix[®]).

Résultats : 1409 BLSE (dont plus de 70% de *Escherichia coli*) et 926 HCASES ont été isolées.

Ce tableau résume pour chaque phénotype, le nombre et % () des antibiotiques catégorisés S et ceux des souches concernées.

| | BLSE identifiées | CAZ | CTX | CRO | FEP | ATM | BLSE concernées |
|----------------------|-------------------|------------|----------|----------|-----------|----------|------------------|
| Diffusion | 806 | 189 (24,0) | 47(5,9) | nc* | 132(24,4) | 74(13,7) | 268(33,2) |
| Phoenix [®] | 436 | 88 (16,1) | nc | 8 (1,8) | nc | 41(14,9) | 68(15,6) |
| Vitek2 [®] | 167 | 58 (34,5) | nc | 2 (1,3) | nc | nc | 60(35,9) |
| | HCASE identifiées | | | | | | HCASE concernées |
| Diffusion | 577 | 22(4,0) | 91(16,0) | nc | nc | 93(18,3) | 136(23,6) |
| Phoenix [®] | 325 | 26(8,7) | nc | 36(11,1) | nc | 47(23,3) | 77(23,7) |
| Vitek2 [®] | 44 | 3(6,8) | nc | 7(15,9) | nc | nc | 10(22,7) |

*Non concerné

Les résultats entre les méthodes sont variables notamment sur la CAZ

(malgré une circulation de souche essentiellement CTX-M); l'augmentation du panel d'antibiotiques (FEP, ATM, testés selon l'origine des prélèvements) accroît le nombre de catégorisation en S pour une même souche.

Conclusion : Le pourcentage élevé de souches concernées par les nouvelles recommandations implique une réflexion collégiale et adaptée à chaque établissement (restriction des antibiotiques rendus, recours à un référent, détermination des CMI sur prescription contrôlée,...) avant leurs mises en application, seule garantie d'un non mésusage des antibiotiques catégorisés S. Les différences de méthodes posent la difficulté supplémentaire d'une variabilité de rendus inter-laboratoires dans le cadre du parcours de soin du patient nécessitant une étude plus approfondie (comparaison des méthodes, inoculum, recrutement).

238/58DP 23/11/2012 - 13:35 - HALL PIERRE CURIE

Bactériémies au Centre de Traitement des Brûlés (CTB) de l'HIA Percy : étude rétrospective 1997-2011.

N. Sanmartin¹, P. Jault², C. Soler¹, T. Leclerc², C. Mac Nab¹, S. Bugier¹, N. Donnat², A. Cirrode², C. Hoffman², V. Foissaud¹, T. Samson¹, L. Barges²
¹Biologie ²Service des brûlés, HIA Percy, Clamart, France

Objectif : Décrire l'évolution des espèces bactériennes isolées des hémocultures et leur profil de résistance chez les patients hospitalisés au CTB de l'HIA Percy depuis 1997; décrire les éventuels facteurs source de fluctuations.

Méthodes : Étude de l'ensemble des patients hospitalisés entre 1997 à 2011. Les données sont extraites du logiciel SIRSCAN2000. Ne sont retenus dans l'étude que les germes isolés lors de la période septicémique et pour les staphylocoques à coagulase négative la répétition de la même espèce et du même antibiotype. L'ensemble des sites prélevés a été étudié pour chaque hémoculture positive à la recherche d'une porte d'entrée.

Résultats : Épidémiologie: 365 germes retenus; 43,1% de bacilles Gram négatif (BGN), 42,2% de cocci Gram positif (CGP), 5,5% de levures et 9,3% d'anaérobies. L'évolution se fait en trois périodes: prédominance des CGP jusqu'en 2000, équivalence des deux groupes, émergence des BGN en 2009. Les candidémies sont exceptionnelles malgré de fréquentes colonisations. Le profil de résistance: 24% des *Pseudomonas aeruginosa* sont BMR; 45% des *Staphylococcus aureus* sont des SARM; 10% des entérobactéries ont une BLSE. L'incidence des SARM chute en 2005 avec augmentation de la résistance des BGN. L'apparition des bactériémies est en moyenne de 17j pour les CGP versus 24j pour les BGN. Les principales portes d'entrée sont pulmonaire (36%), cutanée (30%), cathéter et urinaire (34%).

Conclusion : L'évolution des germes et des résistances est superposable à celle rapportée dans la littérature. La prévalence d'hémocultures positives est faible par rapport aux autres services de réanimation et de brûlés grâce à une application stricte des règles d'hygiène et de mesures spécifiques au CTB Percy. Ces dernières regroupent: une surveillance microbiologique exhaustive, un microbiologiste dédié, une prise en charge spécifique des patients ou de blessés de guerre rapatriés, une sensibilisation et une formation régulière de l'équipe paramédicale, l'application de mesures exceptionnelles lors d'un phénomène épidémique ou de patient porteur de BMR... La disparité des pratiques au sein des différents établissements de grands brûlés rend indispensable l'élaboration d'un consensus de bonnes pratiques.

239/59o 23/11/2012 - 14:30 - APOLLINAIRE 2

Test de diagnostic rapide des entérobactéries productrices de carbapénémases.

P. Nordmann, L. Poirel, L. Dortet
Service de Bactériologie-Hygiène, Hôpital de Bicêtre, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objet de l'étude : La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries est l'un des problèmes les plus importants de la médecine moderne. Cette résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries correspond soit à la surexpression d'une β -lactamase sans activité hydrolytique significative vis-à-vis des carbapénèmes associée à une diminution de la perméabilité de la membrane externe; soit à l'expression d'une carbapénémase hydrolysant la grande majorité des β -lactamines, dont les carbapénèmes. Il est primordial de pouvoir distinguer ces 2 types de mécanismes de résistance afin de limiter la diffusion des entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC). En effet, les gènes codant pour ces carbapénémases possèdent le plus souvent un support plasmidique, facilitant leur dissémination.

Actuellement, la détection des carbapénémases repose sur des méthodes phénotypiques plus ou moins sensibles et spécifiques, et sur des techniques moléculaires relativement onéreuses et limitées aux enzymes connues. De plus ces techniques donnent des résultats tardifs, limitant ainsi leur intérêt en clinique.

Nous avons développé, un nouveau test de détection rapide des carbapénémases, sensible et spécifique, le Carba NP test, qui est ici évalué.

Méthodes : Le Carba NP test est un test biochimique basé sur la détection colorimétrique de l'hydrolyse d'un carbapénème. Le Carba NP test a été analysé directement à partir d'antibiogrammes réalisés en milieu solide de 162 souches d'EPC (KPC, VIM, IMP, NDM, OXA-48,...) et de 46 souches non-productrices de carbapénémase (dont certaines résistantes aux carbapénèmes).

Résultats : Le Carba NP test présentait une spécificité et une sensibilité de

100% permettant ainsi une détection efficace des souches productrices de carbapénémases en moins de 2h.

Conclusions : Les bonnes spécificités et sensibilité du Carba NP test associées à son très faible coût rendent l'utilisation possible dans la plupart des services de microbiologie. De plus, l'utilisation du Carba NP test dans les procédures classiques de dépistage des patients porteurs d'EPC, offre un gain de temps considérable (24h à 48h) pour la détection des carbapénémases, favorisant ainsi une mise en place efficace des mesures de prévention de la diffusion de EPC recommandées par le Ministère.

240/59o 23/11/2012 - 14:45 - APOLLINAIRE 2

Évaluation de la performance du nouveau test chromogénique β LACTA™ pour la détection rapide de *Pseudomonas aeruginosa* non-sensibles à la ceftazidime.

T. Laurent¹, D. Huang¹, C. Dallenne², P. Bogaerts¹, Y. Glupczynski¹
¹CHU Mont-Godinne UCL, Yvoir, Belgique ²Bio-Rad Laboratories, Steenvoorde, France

Objet de l'étude : Une méthode de détermination rapide et fiable de la sensibilité à la ceftazidime (CFZ) des *Pseudomonas aeruginosa* (PA) peut présenter un intérêt thérapeutique majeur. Nous avons évalué un nouveau test chromogénique rapide, le β LACTA™ (BLT; Bio-Rad), quant à sa capacité à prédire la sensibilité à la CFZ des PA.

Méthodes : 133 isolats de PA dont 100 souches consécutives isolées à partir de prélèvements cliniques de la routine et 33 de collection porteuses de β -lactamases acquises caractérisées (carbapénémases [n=11], BLSE [n=12], carbapénémases+BLSE [n=3] et autres [n=7]) ont été testés. Un antibiogramme (AB) par méthode de diffusion des disques en gélose a été réalisé parallèlement au BLT, et la sensibilité des souches à la CFZ a été interprétée selon les recommandations du CLSI. Le BLT a été réalisé sur colonies fraîches de 24 h à partir d'un milieu TSA au sang selon les recommandations du fabricant et le résultat définitif était lu après 30 minutes. Le résultat est négatif lorsque le BLT/la suspension reste jaune et positif lors de tout virage colorimétrique (orange, rouge ou pourpre). Les résultats du BLT ont été comparés à ceux obtenus à partir de l'AB pour la CFZ.

Résultats obtenus : Sur 100 isolats cliniques consécutifs, 18 présentaient une sensibilité intermédiaire (I) ou étaient résistants (R) à la CFZ (18% de prévalence) à l'AB et tous étaient positifs au BLT (valeur prédictive positive de 100%). Ces 18 souches présentaient phénotypiquement un profil suggérant une surexpression de céphalosporinase (AmpC chromosomique déréprimée). Par ailleurs, le BLT était négatif pour 81/82 des souches CFZ sensibles (S) (valeur prédictive négative de 99%). Les 33 souches PA de collection ont donné un résultat positif au BLT, même si 6 d'entre-elles étaient CFZ S. Globalement, sur les 133 souches de PA testées, le BLT présentait une sensibilité de 98% et une spécificité de 91,3% pour la détection de PA CFZ I ou R.

Conclusion : Le BLT permet une détection précoce, rapide et fiable de l'hydrolyse de la CFZ chez PA. Si ces résultats préliminaires sont confirmés par d'autres études, le BLT pourrait s'avérer comme un test simple et utile en clinique pour le choix de l'antibiothérapie empirique des infections à PA.

241/59o 23/11/2012 - 15:00 - APOLLINAIRE 2

Détection rapide des *Pseudomonas* sp. producteurs de carbapénémases.

L. Dortet, L. Poirel, P. Nordmann
Service de Bactériologie-Hygiène, Hôpital de Bicêtre, INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objet de l'étude : Les principaux mécanismes de résistance aux carbapénèmes chez les *Pseudomonas* sp. correspondent à une diminution de la perméabilité de la membrane externe (modification de la porine D2, efflux), ou à l'expression d'une carbapénémase capable d'hydrolyser la grande majorité des β -lactamines, dont les carbapénèmes. Il est primordial de pouvoir distinguer ces 2 types de mécanismes de résistance. En effet, les gènes codant pour carbapénémases possèdent le plus souvent un support plasmidique, facilitant leur dissémination au sein du genre *Pseudomonas* mais aussi chez d'autres espèces bactériennes comme les entérobactéries.

La détection des carbapénémases repose actuellement sur des méthodes phénotypiques peu ou pas assez sensibles ou spécifiques, ou bien sur des techniques moléculaires relativement onéreuses et limitées aux enzymes connues. De plus ces techniques sont relativement consommatrices de temps, limitant ainsi leur intérêt en clinique.

Nous avons développé, un nouveau test de détection des carbapénémases, le Carba NP test, que nous avons évalué pour la détection des *Pseudomonas* producteurs de carbapénémases.

Méthodes : Le Carba NP test est un test biochimique basé sur la détection colorimétrique de l'hydrolyse d'un carbapénème. Le Carba NP test a été utilisé directement à partir des antibiogrammes en milieu solide de 36 souches de *Pseudomonas* producteurs de carbapénémases (VIM, IMP, NDM, KPC, GES, ect...) et de 72 souches non-productrices de carbapénémase (phénotype sauvage, efflux imperméabilité, BLSE, ect...).

Résultats : Le Carba NP test présentait une spécificité de 100% et une sensibilité de 94% permettant ainsi une détection efficace des souches productrices de carbapénémases en moins de 2h. Cependant, les souches

productrices d'une carbapénémase de type GES (GES-2 et GES-5) n'ont pas été détectées par le Carba NP test.

Conclusions : Le Carba NP test possède une excellente spécificité et sensibilité pour la détection des souches de *Pseudomonas* sp. et en particulier *P. aeruginosa* productrices de carbapénémases. L'identification de carbapénémases revêt un intérêt dans la gestion des risques de diffusion de la multi-résistance aux antibiotiques.

242/590 23/11/2012 - 15:15 - APOLLINAIRE 2

Comparaison des milieux de culture SUPERCARBA, CHROMagar KPC et Brilliance CRE pour la détection des entérobactéries de sensibilité réduite aux carbapénèmes.

D. Girlich^{1,2}, L. Poirel^{1,2}, P. Nordmann^{1,2}

¹Bactériologie, CHU de Bicêtre ²INSERM, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objectifs : La dissémination rapide notamment en France des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases renforce la nécessité de leur rapide détection. Les carbapénémases le plus fréquemment identifiées chez les entérobactéries sont de la classe A de Ambler (KPC), de la classe B de Ambler ou métrallo-β-lactamases (MBL) (IMP, VIM et NDM), ou de la classe D de Ambler (de type OXA-48). Le milieu de culture SUPERCARBA (Drigalski, erlapénème, cloxacilline, zinc), a été évalué en parallèle avec deux autres milieux commercialisés CHROMagar KPC (CHROMagar Ltd.) et Brilliance CRE (Oxoid, Thermofisher Scientific). Ces deux milieux contiennent au moins un carbapénème dont la nature n'est pas précisée.

Méthodes : Au total 142 souches d'entérobactéries (essentiellement *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*) ont été testées, dont 121 souches de sensibilité réduite aux carbapénèmes (dont 114 productrices de carbapénémases). Les CMI des carbapénèmes ont été déterminées par Etest et les β-lactamases ont été caractérisées par PCR puis séquençage. Les souches ont été mises en solution à raison de 5x10⁷ CFU/ml (0.5 Mc Farland) et des dilutions successives ont été étalées sur les trois milieux sélectifs (1 CFU à 5x10⁶ CFU/boîte). La sensibilité et la spécificité des milieux ont été déterminées par dénombrement des colonies après 24h à 37°C.

Résultats : Le milieu SUPERCARBA a la sensibilité la plus élevée (96.5%) par rapport à celle de Brilliance CRE (76.3%) et de CHROMagar KPC (43%). SUPERCARBA a permis la détection de toutes les souches productrices de carbapénémase dont OXA-48 y compris de celles présentant un bas niveau de résistance aux carbapénèmes. La spécificité de ces trois milieux sélectifs était similaire (57 à 68%). La moindre spécificité de ces milieux est attribuable notamment au choix des souches testées, incluant de nombreuses souches de sensibilité diminuée aux carbapénèmes mais non productrices de carbapénémases.

Conclusion : Le milieu SUPERCARBA est le premier milieu sélectif permettant la sélection, à la fois des souches productrices de KPC et de MBL, mais aussi des souches productrices de OXA-48 avec une sensibilité supérieure et une spécificité similaire à celle des milieux disponibles sur le marché.

243/590 23/11/2012 - 15:30 - APOLLINAIRE 2

Évaluation préliminaire des performances de MRSA SMART, un nouveau milieu sélectif chromogénique pour le dépistage du portage de SARM.

J. Tasse^{2,1}, A. Sapin^{2,1}, J.P. Rasigade^{2,1}, J.M. Roche³, A. Geraci³, L. Devigne Barbaux³, S. Ghirard³, G. Zambardi³, F. Vandenesch^{2,1}, F. Laurent^{2,1}

¹Centre National de Référence des Staphylocoques, Hospices Civils de Lyon ²Laboratoires de Bactériologie, Centre de Biologie Nord et Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon ³BioMérieux, Marcy L'étoile - La Balme Les Grottes, France

La gélose chromID[®] MRSA[™] (bioMérieux) est un milieu chromogène sélectif destiné au dépistage du portage de *S. aureus* résistant à la métilcilline (SARM) après 24 à 48h d'incubation. Cependant, en routine, il arrive que la lecture du milieu soit effectuée après seulement 18h, les prélèvements arrivant tout au long de la journée et les milieux étant souvent lus tous ensemble le lendemain matin, sans lecture postérieure. Cette situation peut engendrer une détection non optimisée des SARM. L'objectif de cette étude a été d'évaluer les performances préliminaires d'un milieu prototype ("MRSA SMART", bioMérieux, devant améliorer la rapidité de détection des SARM).

Des écouvillons nasaux (n=427) ont été déchargés dans du sérum physiologique qui a servi à l'ensemencement en quadrants des milieux MRSA SMART et chromID[®] MRSA (référence). La lecture des cultures a été réalisée après 18h et 24h d'incubation en notant la présence de colonies avec une coloration caractéristique des SARM (cc), avec une coloration pâle non caractéristique (cnc), sans coloration (sc) ou bien l'absence de colonies. A partir des colonies colorées (cc ou cnc), une identification maldi-tof par VITEK[®] MS (bioMérieux) et une PCR ciblant le gène *mecA* ont été réalisées après réisolement sur gélose au sang.

| | Lecture 18h | | Lecture 24h | |
|---------------------|---------------------------|------------|---------------------------|------------|
| | chromID [®] MRSA | MRSA SMART | chromID [®] MRSA | MRSA SMART |
| cc | 17 | 18 | 18 | 18 |
| cnc | 0 | 2 | 0 | 5* |
| sc | 213 | 123 | 239 | 140 |
| Absence de colonies | 197 | 284 | 170 | 264 |

*espèces identifiées par VITEK[®] MS: *E. faecium* (n=2), *E. cloacae* (n=1), *S. maltophilia* (n=1), *C. jeikeium* (n=1).

L'identification et la PCR ont confirmé que toutes les colonies "cc" correspondaient à des SARM et qu'à l'inverse les 5 "cnc" obtenues sur MRSA SMART n'étaient pas des SARM. Avec un peu d'habitude, ces colorations pâles sont très facilement distinguées des colorations spécifiques. En cas de doute, la réalisation d'une coloration de Gram ou d'un test catalase suffit à différencier les espèces correspondant aux "cnc" des SARM. Dans ce contexte, le milieu MRSA SMART s'avère sensible et spécifique et a permis la détection des 18 porteurs de SARM après seulement 18 heures d'incubation.

Au final, le prototype MRSA SMART est particulièrement prometteur et est davantage adapté aux pratiques de routine des laboratoires grâce à sa grande précocité de réponse.

244/590 23/11/2012 - 15:45 - APOLLINAIRE 2

Évaluation du test Genotype MTBDR plus dans la détection rapide de la résistance de *Mycobacterium tuberculosis* à la rifampicine et à l'isoniazide directement à partir des prélèvements cliniques.

M. Marzouk, A. Ferjani, I. Ben Kahla, J. Boukadida
Laboratoire de microbiologie et d'immunologie, UR02SP13, CHU Farhat Hached, Sousse, Tunisie

Introduction : L'émergence de souches multi-résistantes de *M. tuberculosis* représente un problème de santé publique majeur, qui de plus, se heurte à la lenteur des méthodes conventionnelles. Le kit Genotype MTBDRplus (Hain Lifescience, VER 1.0, Allemagne) représente un moyen de détection rapide de ces souches. Nous avons évalué la fiabilité de ce test directement à partir des prélèvements de patients tuberculeux.

Matériels et méthodes : Le kit MTBDRplus a été utilisé selon les recommandations du fabricant. Nous avons utilisé ce test directement sur 56 prélèvements cliniques: pulmonaires (n=35) et extra-pulmonaires (n=21) positifs à l'examen direct, et sur les 56 souches de *M. tuberculosis* provenant des cultures de ces échantillons cliniques. Nos résultats ont été comparés à ceux de la technique des proportions. L'analyse statistique a été réalisée à l'aide du logiciel Epi Info 6.04, Intervalle de confiance (IC) à 95%.

Résultats : La sensibilité et la spécificité du MTBDRplus pour la détection de la résistance à l'INH étaient de 100%. Deux souches résistantes à la rifampicine par la technique des proportions étaient sensibles par le kit. Une concordance de 100% a été retrouvée entre les résultats du kit directement à partir des prélèvements et à partir des isolats correspondants.

| MTBDRplus | Technique des proportions | | Sensibilité | Spécificité | VPP | VPN |
|-----------|---------------------------|--------------|-------------|-------------|------------|------------|
| | INH S (n=86) | INH R (n=26) | | | | |
| INH S | 86 | 0 | 100% | 100% | 100% | 100% |
| INH R | 0 | 26 | [94,7-100] | [84-100] | [94,7-100] | [98,2-100] |

| MTBDRplus | Technique des proportions | | Sensibilité | Spécificité | VPP | VPN |
|-----------|---------------------------|--------------|-------------|-------------|-------------|------------|
| | Rif S (n=98) | Rif R (n=14) | | | | |
| Rif S | 98 | 2 | 100% | 85,7% | 98% | 100% |
| Rif R | 0 | 12 | [95,3-100] | [56,2-97,5] | [92,3-99,7] | [69,9-100] |

IC à 95%

INH S/R: Sensible/ Résistant à l'isoniazide - Rif S/R: Sensible/Résistant à la rifampicine-

VPP : valeur prédictive positive - VPN : valeur prédictive négative

Conclusion : Le kit MTBDRplus est un test rapide et fiable dont le principal avantage est la détection des résistances directement à partir du prélèvement clinique. Cependant, il présente des limites de détection en rapport avec les limites de la banque des séquences de mutations.

246/605 23/11/2012 - 14:50 - APOLLINAIRE 6

Les virus "émergents" responsables de gastro-entérite.

A. de Rougemont

Centre National de Référence des virus entériques, CHU de Dijon, Dijon, France

Les gastro-entérites aiguës sont des infections diarrhéiques communes affectant toutes les tranches d'âges. Elles sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité importantes dans le monde avec chaque année près de 1,4 milliard d'épisodes et 2,2 millions de décès, majoritairement dans les pays en voie de développement [1]. Les virus en sont les principales étiologies devant les bactéries et les parasites, mais leur importance relative varie selon la saison, l'âge, le contexte épidémiologique et le niveau sanitaire des populations.

Seule la détection des antigènes des quatre virus les plus fréquents est couramment entreprise: les norovirus, impliqués dans plus de 85% des épidémies de gastro-entérites aiguës non bactériennes quelle que soit la tranche d'âge [2]; les rotavirus, première cause de diarrhée aiguë de l'enfant de moins de 5 ans; enfin les astrovirus et les adénovirus entériques de types 40 et 41, responsables d'infections chez les jeunes enfants. Néanmoins, les progrès constants des techniques de biologie moléculaire et notamment du

séquençage au cours de la dernière décennie ont permis, outre de mieux comprendre le rôle de ces virus dans la pathogenèse des infections entériques, de mettre en évidence l'émergence d'une multitude de nouveaux pathogènes responsables de gastro-entérites.

Ces nouveaux virus sont le plus souvent des souches virales issues d'évolutions génétiques de virus bien identifiés, les plus fréquentes. Les modifications du génome viral, par glissement, saut, recombinaison ou réassortiment, sont les principaux mécanismes d'émergence: ce sont souvent des virus ARN, possédant une grande diversité génétique et antigénique. Ces virus acquièrent de nouveaux antigènes pour lesquels la population est encore naïve ou sont parfois des virus animaux qui se sont adaptés à l'homme.

C'est le cas des norovirus humains (*Caliciviridae*) chez qui l'émergence de nouveaux variants épidémiques est due à des glissements antigéniques ou à des recombinaisons au sein de ces génogroupes. Seuls les génogroupes I et II, et en particulier le génotype GII.4, sont responsables de la majorité des gastro-entérites chez l'homme. Or, l'analyse phylogénétique des souches épidémiques de GII.4 des 20 dernières années a permis de démontrer que ces norovirus subissent une dérive génétique [3]. Jusqu'à l'an 2000, les variants pandémiques ont été représentés successivement par deux souches GII.4, Bristol (1987) puis US95/96 (1995). Avec l'apparition du variant Farmington Hills (2002), se caractérisant par la présence d'un acide aminé supplémentaire dans la protéine de capsid, une accélération du rythme d'évolution et d'émergence de nouveaux variants par cycles de 2 ou 3 ans a alors été observée [4-6]. De même, des phénomènes de recombinaison permettant l'association d'une polymérase d'origine inconnue (ORF1) et d'une capsid (ORF2) dérivées de souches circulantes ont été également décrits chez les norovirus [7, 8] tels les recombinants GII.b, GII.c, GII.e et GII.g qui peuvent présenter une capsid de GII.1, GII.3, GII.4, GII.12 ou encore de GII.13 [9-13]. Toutes ces souches sont aussi susceptibles de rapidement diffuser dans le monde entier et être à l'origine de vagues d'épidémies.

Ces mécanismes sont également retrouvés chez les rotavirus du groupe A (*Reoviridae*) qui possèdent deux antigènes majeurs VP4 (27 type P connus) et VP7 (19 type G connus). L'analyse des études épidémiologiques a révélé que les génotypes G1P[8], G2P[4], G3P[8], G4P[8] et G9P[8] étaient les plus fréquemment retrouvés chez l'homme. Mais le réservoir de souches est potentiellement large car il existe de nombreuses données démontrant la fragilité de la barrière d'espèce. L'émergence de nouvelles souches épidémiques est due à une dérive génétique intra-génotypique, qui peut être comparable au virus influenza B pour le génotype G1, le plus fréquent, à l'émergence de certains génotypes circulants probablement d'origine animale et ayant progressivement acquis une capacité épidémique, ainsi qu'à des mécanismes de réassortiments entre souches humaines ou avec des souches animales. Ces phénomènes sont en effet à l'origine de l'émergence mondiale du génotype G9 au début des années 2000 [14] et actuellement du génotype G12 [15, 16], mais également des génotypes G6 et G8, d'origine bovine, sur le continent africain [17, 18].

Les progrès de la biologie moléculaire ont permis de détecter également des astrovirus (*Astroviridae*) génétiquement distants des premiers astrovirus humains et probablement d'origine animale, telle la souche MLB1. Ils seraient en fait responsables d'environ un quart des épidémies à astrovirus, suggérant une plus grande diversité génétique et des capacités de recombinaison inter-génotypique [19]. D'autres virus, tels les sapovirus humains (*Caliciviridae*) présentent également des capacités de dérives antigéniques ou de recombinaisons génératrices de nouveaux virus.

Toutes ces souches peuvent rapidement prendre une place importante dans la responsabilité des épidémies de gastro-entérites d'autant que ces évolutions génétiques peuvent être à l'origine d'un accroissement de la virulence ou l'acquisition d'autres propriétés ayant pour conséquence un potentiel de diffusion accru.

À l'opposé, ce sont parfois de véritables nouveaux agents pathogènes responsables de gastro-entérites aiguës qui sont découverts mais leur impact sur l'épidémiologie reste souvent très modeste: ce sont pour certains des émergents de connaissance. Il s'agit de virus peu fréquents ou rares dont l'association avec les gastro-entérites n'est parfois pas bien établie malgré leur détection dans les selles de malades diarrhéiques. C'est le cas par exemple d'un nouvel adénovirus (*Mastadenoviridae*), de type 65, qui a été récemment décrit dans des selles d'enfants atteints de gastro-entérites [20]. On citera également divers genres de *Picornaviridae*: les virus Aichi (kobuvirus) liés à la consommation d'huître [21], des parechovirus [22], les cosavirus [23], les klassevirus [24] ou encore les rhinovirus C [25]; et des virus d'autres familles dont les bocavirus (*Parvoviridae*) [26], les coronavirus (*Coronaviridae*) [27] et les picobirnavirus (*Picobirnaviridae*) [28].

Ainsi, les progrès des techniques de biologie moléculaire permettent aujourd'hui d'une part de mieux détecter les modifications génétiques et antigéniques à l'origine de l'émergence de nouveaux virus responsables d'épidémies de gastro-entérites mais également de décrire de nouvelles familles de pathogènes dont la relation causale avec la maladie diarrhéique requière des études supplémentaires. En outre, la connaissance de l'épidémiologie moléculaire des rotavirus circulants, mais également des norovirus, se révèle indispensable dans l'élaboration des formules vaccinales présentes et à venir.

Références :

- Mathers, C.D., T. Boerma, and D. Ma Fat, *Global and regional causes of death*. Br Med Bull, 2009. 92: p. 7-32.
- Patel, M.M., et al., *Noroviruses: a comprehensive review*. J Clin Virol, 2009. 44(1): p. 1-8.
- Bok, K., et al., *Evolutionary dynamics of GII.4 noroviruses over a 34-year period*. J Virol, 2009. 83(22): p. 11890-901.
- Siebenga, J.J., et al., *Epochal evolution of GII.4 norovirus capsid proteins from 1995 to 2006*. J Virol, 2007. 81(18): p. 9932-41.
- Lindesmith, L.C., et al., *Mechanisms of GII.4 norovirus persistence in human populations*. PLoS Med, 2008. 5(2): p. e31.
- Bull, R.A., et al., *Rapid evolution of pandemic noroviruses of the GII.4 lineage*. PLoS Pathog, 2010. 6(3): p. e1000831.
- Bull, R.A., M.M. Tanaka, and P.A. White, *Norovirus recombination*. J Gen Virol, 2007. 88(Pt 12): p. 3347-59.
- Bull, R.A., et al., *Norovirus recombination in ORF1/ORF2 overlap*. Emerg Infect Dis, 2005. 11(7): p. 1079-85.
- Kageyama, T., et al., *Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse transcription-PCR*. J Clin Microbiol, 2003. 41(4): p. 1548-57.
- Ramirez, S., et al., *Genotyping of GII.4 and GIIb norovirus RT-PCR amplicons by RFLP analysis*. J Virol Methods, 2008. 147(2): p. 250-6.
- Eden, J.S., et al., *Norovirus GII.4 variant 2006b caused epidemics of acute gastroenteritis in Australia during 2007 and 2008*. J Clin Virol, 2010. 49(4): p. 265-71.
- Kremer, J.R., et al., *Genetic diversity of noroviruses from outbreaks, sporadic cases and wastewater in Luxembourg 2008-2009*. Clin Microbiol Infect, 2011. 17(8): p. 1173-6.
- Symes, S.J., et al., *Norovirus mixed infection in an oyster-associated outbreak: an opportunity for recombination*. Arch Virol, 2007. 152(6): p. 1075-86.
- Iturriza-Gomara, M., et al., *Rotavirus genotypes co-circulating in Europe between 2006 and 2009 as determined by EuroRotaNet, a pan-European collaborative strain surveillance network*. Epidemiol Infect, 2011. 139(6): p. 895-909.
- Cilla, G., et al., *Rotavirus genotypes in children in the Basque Country (North of Spain): rapid and intense emergence of the G12[P8] genotype*. Epidemiol Infect, 2012: p. 1-7.
- Stupka, J.A., J.I. Degiuseppe, and G.I. Parra, *Increased frequency of rotavirus G3P[8] and G12P[8] in Argentina during 2008-2009: whole-genome characterization of emerging G12P[8] strains*. J Clin Virol, 2012. 54(2): p. 162-7.
- Cunliffe, N.A., et al., *Molecular and serologic characterization of novel serotype G8 human rotavirus strains detected in Blantyre, Malawi*. Virology, 2000. 274(2): p. 309-20.
- Rahman, M., et al., *Genetic characterization of a novel, naturally occurring recombinant human G6P[6] rotavirus*. J Clin Microbiol, 2003. 41(5): p. 2088-95.
- Kapoor, A., et al., *New species of astroviruses in human stool*. J Gen Virol, 2009.
- Matsushima, Y., et al., *Novel human adenovirus strain, Bangladesh*. Emerg Infect Dis, 2012. 18(5): p. 846-8.
- Ambert-Balay, K., et al., *Prevalence and genetic diversity of Aichi virus strains in stool samples from community and hospitalized patients*. J Clin Microbiol, 2008. 46(4): p. 1252-8.
- Benschop, K.S., et al., *Comprehensive full-length sequence analyses of human parechoviruses: diversity and recombination*. J Gen Virol, 2010. 91(Pt 1): p. 145-54.
- Kapoor, A., et al., *A highly prevalent and genetically diversified Picornaviridae genus in South Asian children*. Proc Natl Acad Sci U S A, 2008. 105(51): p. 20482-7.
- Greninger, A.L., et al., *The complete genome of klassevirus - a novel picornavirus in pediatric stool*. Virol J, 2009. 6: p. 82.
- Lau, S.K., et al., *Detection of human rhinovirus C in fecal samples of children with gastroenteritis*. J Clin Virol, 2012. 53(4): p. 290-6.
- Arthur, J.L., et al., *A novel bocavirus associated with acute gastroenteritis in Australian children*. PLoS Pathog, 2009. 5(4): p. e1000391.
- Esper, F., Z. Ou, and Y.T. Huang, *Human coronaviruses are uncommon in patients with gastrointestinal illness*. J Clin Virol, 2010. 48(2): p. 131-3.
- van Leeuwen, M., et al., *Human picobirnaviruses identified by molecular screening of diarrhea samples*. J Clin Microbiol, 2010. 48(5): p. 1787-94.

247/60s 23/11/2012 - 15:10 - APOLLINAIRE 6

Le diagnostic biologique des virus responsables de gastro-entérites en 2012.

K. Ambert-Balay

CNR des virus entériques, CHU, Dijon, France

Les gastroentérites aiguës (GEA) virales représentent une des maladies infectieuses les plus fréquentes dans le monde, affectant les personnes de tout âge (1). Dans les pays en voie de développement, elles sont responsables d'une morbidité et d'une mortalité élevées. Dans les pays industrialisés, même si la mortalité est très faible, la morbidité reste forte et l'impact économique est important. En France, les données du réseau Sentinelles indiquent que les GEA sont à l'origine de 700 000 à 3,7 millions de consultations en médecine générale par an.

Quatre virus, les rotavirus du groupe A, les calicivirus, les astrovirus et les adénovirus, sont décrits comme principaux agents responsables de ces GEA (2). Chez les jeunes enfants de moins de 5 ans, les rotavirus sont la cause majeure de GEA (3), tandis que les norovirus, de la famille des *Caliciviridae*, sont le deuxième agent. En outre, les norovirus sont reconnus comme l'agent étiologique principal dans les autres classes d'âge (4). Ces derniers sont notamment associés aux épidémies qui touchent les collectivités, telles les EHPA, les hôpitaux, ou encore les écoles. Ils sont également excrétés par des patients immunodéprimés présentant des diarrhées persistantes (5).

Même si aucun traitement thérapeutique ne permet à l'heure actuelle d'éliminer les virus entériques, il est important de pouvoir diagnostiquer le virus responsable, afin de mettre en place les mesures d'hygiène et d'isolement adéquats qui permettront de limiter la dissémination de l'agent viral, afin

également d'éviter une antibiothérapie abusive. En outre, la caractérisation des virus permet une surveillance épidémiologique des souches circulantes, nécessaire par exemple dans le suivi de la vaccination contre le rotavirus chez les enfants, ou encore dans la compréhension de l'évolution des norovirus géographiquement et dans le temps. Également, chez les patients immunodéprimés, le diagnostic biologique en cas de gastroentérite chronique est très important car il peut amener à une modification du traitement thérapeutique.

La microscopie électronique a été le premier outil de diagnostic des infections à virus entériques, mais elle est maintenant rarement utilisée car elle présente une faible sensibilité, et nécessite un équipement particulier et un personnel de laboratoire très qualifié. A l'heure actuelle, deux types de méthodes sont disponibles pour le diagnostic biologique des virus entériques : les tests moléculaires et les tests immunologiques.

Les tests moléculaires sont basés sur l'amplification de l'ARN ou de l'ADN viral, après extraction des acides nucléiques de l'échantillon clinique. La reverse-transcriptase - PCR (RT-PCR) reste actuellement la méthode la plus utilisée pour le diagnostic des infections à norovirus. C'est une technique très sensible, mais qui est pour les norovirus compliquée par la grande diversité moléculaire de ces virus. Les amorces doivent être complémentaires de régions très conservées du génome, afin de pouvoir détecter le plus grand nombre possible de génotypes. La RT-PCR existe sous différents formats, en point final ou en temps réel, en une ou deux étapes. Différentes RT-PCR en point final ont été développées, ciblant soit le gène de l'ARN polymérase soit le gène de la capsid (6, 7). Elles permettent en outre le génotypage des souches par séquençage. Elles sont de plus en plus remplacées par des RT-PCR en temps réel, qui ont une spécificité accrue grâce à l'utilisation de sondes spécifiques, ainsi qu'une meilleure sensibilité (8, 9). Ces RT-PCR en temps réel ciblent pour la plupart la jonction hautement conservée entre l'ORF1 et l'ORF2. Elles permettent de plus de quantifier le taux d'acides nucléiques présents dans l'échantillon. Toutefois, la sensibilité extrême de ces PCR permet la détection de très faible quantité de virus pouvant être présent dans des échantillons de personnes ne présentant pas de signes de GEA (infections asymptomatiques), il faut donc être prudent dans l'interprétation des résultats (10). Pour permettre la détection simultanée de plusieurs virus dans un même échantillon, des PCR multiplex ont été développées, qui incorporent plusieurs couples d'amorces dans une même réaction (11, 12). Toutefois, les conditions de la réaction devant être adaptées pour tous les virus recherchés, la sensibilité peut en être diminuée. Plusieurs trousseaux commerciaux ont été développés, en point final et en temps réel, ainsi qu'en PCR multiplex, mais leur évaluation est actuellement peu documentée dans la littérature (13).

Les tests immunologiques utilisent des anticorps spécifiques pour détecter les antigènes viraux dans les selles. Ils sont plus faciles d'utilisation que les tests moléculaires, et nécessitent moins de matériel spécialisé, ce qui est un avantage pour les laboratoires qui ne sont pas toujours équipés pour les analyses de biologie moléculaire. Des kits commerciaux existent pour les différents virus entériques, soit sous format ELISA, soit sous format test immunochromatographique (ICG). Pour les rotavirus et les adénovirus, ces kits sont bien implantés dans les laboratoires en routine, notamment les tests d'ICG, de manipulation plus simple et plus rapide que les ELISA ; ils sont très utilisés pour la recherche des virus dans les selles pédiatriques. Un pourcentage de faux positifs important a toutefois été rapporté pour certains tests d'ICG (14). Pour les norovirus, diverses évaluations montrent des sensibilités par rapport à la RT-PCR comprises entre 36 et 80% pour les ELISA (15) et entre 35 et 82% pour les ICG (16-17). Ces différences de sensibilités sont dues à la grande diversité antigénique des souches virales et à la nécessité d'une charge virale élevée dans les échantillons pour obtenir un signal positif. A cause de leur sensibilité médiocre, ces tests ne sont pas recommandés pour le diagnostic clinique des infections à norovirus dans les cas sporadiques de gastroentérites. Toutefois, il a été démontré lors d'investigations d'épidémies de GEA, que la sensibilité des essais augmente lorsqu'au moins 6 échantillons sont testés (18). Ces tests immunologiques pour la détection des norovirus sont donc actuellement préconisés pour un examen préliminaire rapide dans le cadre d'épidémies de GEA où plusieurs échantillons sont disponibles, mais doivent être obligatoirement suivis d'analyses moléculaires dans le cas de tests négatifs (15-18).

Le choix de l'outil diagnostique pour la recherche des virus entériques est donc à faire en fonction des données cliniques et de l'origine de l'échantillon. Sur des selles pédiatriques dans des cas isolés de GEA, une recherche de rotavirus par test ICG pourra dans un premier temps être réalisée, sachant que les rotavirus sont les principaux agents responsables de GEA chez les enfants. Si la recherche des norovirus est envisagée, elle devra par contre se faire par test moléculaire, puisque les tests immunologiques pour la recherche des norovirus ne sont pas suffisamment sensibles. La même chose s'applique pour la recherche des norovirus sur des selles d'adultes présentant un cas isolé de GEA, notamment chez les patients immunodéprimés pour qui le diagnostic clinique est important. Dans le cadre d'épidémies touchant des adultes, qui sont le plus souvent dues au norovirus, les tests d'ICG pour la recherche de norovirus sont un bon outil pour un premier examen de dépistage sur plusieurs échantillons de selles; toutefois des résultats négatifs devront être suivis de tests moléculaires.

Références :

1. Kapikian AZ **1996**. Overview of viral gastroenteritis. *Arch Virol Suppl.* 12:7-19
2. Glass RI, J Breese, B Jiang, et al. **2001**. Gastroenteritis viruses: an overview. *Novartis Found Symp.* 238: 5-25
3. Parashar UD, EG Hummelman, JS Breese, et al. **2003**. Global illness and deaths caused by rotavirus disease in children. *Emerg Infect Dis.* 9: 565-572
4. Rocks B, M de Wit, H Vennema, et al. **2002**. Natural history of human calicivirus infection : a prospective cohort study. *Clin Infect Dis.* 35:246-253

5. Henke-Gendo C, G Harste, B Juergens-Saathoff, et al. **2009**. New real-time PCR detects prolonged norovirus excretion in highly immunosuppressed patients and children. *J Clin Microbiol.* 47, 9, 2855-2862
6. Jiang X, J Wang, DY Graham, et al. **1992**. Detection of Norwalk virus in stool by polymerase chain reaction. *J Clin Microbiol.* 30, 10, 2529-2534
7. Kojima S, T Kageyama, S Fukushi et al. **2002**. Genogroup-specific PCR primers for detection of Norwalk-like viruses. *J Virol Methods* 100, 107-114
8. Kageyama T, S Kojima, M Shinohara, et al. **2003**. Broadly reactive and highly sensitive assay for Norwalk-like viruses based on real-time quantitative reverse-transcription-PCR. *J Clin Microbiol.* 41, 1548-1559
9. Trujillo AA, KA McCautland, DP Zheng, et al. **2006**. Use of TaqMan real-time reverse transcription-PCR for rapid detection, quantification and typing of norovirus. *J Clin Microbiol.* 44-1405-1412
10. Phillips G, B Lopman, CC Tam, et al. **2009**. Diagnosing norovirus-associated infectious intestinal disease using viral load. *BMC Infect Dis.* 9, 63
11. Yan H, F Yagyu, S Okitsu, et al. **2003**. Detection of norovirus (GI, GII), sapovirus and astrovirus in fecal samples using reverse transcription single-round multiplex PCR. *J Virol Methods* 114, 37-44
12. Khamrin P, M Okame, A Thongprachum, et al. **2011**. A single-tube multiplex PCR for rapid detection in feces of 10 viruses causing diarrhea. *J Virol Methods* 173, 2, 390-393
13. Higgins RR, M Beniprashad, M. Cardona, et al. **2011**. Evaluation and verification of the seeplex diarrhea-V ACE assay for simultaneous detection of adenovirus, rotavirus, and norovirus genogroups I and II in clinical stool specimens. *J Clin Microbiol.* 49, 9, 3154-3162
14. Téllez Cj, R Montava, JM Ribes, et al. **2008**. Evaluation of two immunochromatography kits for rapid diagnosis of rotavirus infections. *Rev Argent Microbiol.* 40, 3, 167-170
15. Hall AJ, J Vinjé, B Lopman, et al. **2011**. Updated norovirus outbreak management and disease prevention guidelines. *MMWR Recomm Rep* 60, 3, 1- 15
16. Ambert-Balay K, P Pothier. **2012**. Evaluation of 4 immunochromatographic tests for rapid detection of noroviruses in faecal samples. *Accepted à J Clin Virol.*
17. Kirby A, M Ituriza-Gomara. **2012**. Norovirus diagnostics: options, applications and interpretations. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 10, 4, 423-433
18. Gray JJ, E Kohli, FM Ruggeri, et al. **2007**. European multicenter evaluation of commercial enzyme immunoassays for detecting norovirus antigen in fecal samples. *Clin Vacc Immunol.* 14, 10, 1349-1355

248/60s

23/11/2012 - 15:30 - APOLLINAIRE 6

Virus des gastro-entérites et diarrhées chez les patients transplantés d'organes.

N. Lévêque

EA 4684-Faculté de médecine-Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

La diarrhée est une complication fréquente touchant près d'un patient sur deux à la suite d'une transplantation d'organe ou d'une greffe de cellules souches hématopoïétiques [1-4]. Le diagnostic différentiel est alors difficile car les causes de diarrhées sont nombreuses. Tous les traitements immunosuppresseurs administrés en post-transplantation, et notamment le mycophénolate mofetil (MMF), ont été associés à la survenue de troubles gastro-intestinaux [5, 6]. Dans les transplantations de cellules souches hématopoïétiques, se surajoutent les conséquences du conditionnement préalable à la greffe et de la survenue éventuelle d'une maladie du greffon contre l'hôte (GVHD). Les troubles gastro-intestinaux peuvent être également liés à une toxicité médicamenteuse non liée au traitement immunosuppresseur, une exacerbation d'une maladie inflammatoire intestinale, à l'antibiothérapie à large spectre prescrite en prévention des infections bactériennes et fongiques ou enfin à une cause infectieuse. En pratique, la piste du traitement immunosuppresseur ou de la GVHD est souvent évoquée en l'absence de documentation microbiologique. Or, il ressort de différentes études menées que, dans 38 à 64% des cas, la diarrhée est de cause infectieuse [1, 3, 7-9]. Les virus y occupent une place prépondérante même si celle-ci reste dépendante de l'épidémiologie locale, de l'âge du patient et du type de transplantation. Dans deux études menées en Turquie, les virus représentent de 12 à 21% des étiologies infectieuses loin derrière les parasites (41 et 55% respectivement tandis qu'en Europe occidentale, ils partagent avec les bactéries la première position des étiologies infectieuses identifiées [1, 3, 7-10]. Les virus sont plus fréquemment en cause chez l'enfant et en transplantation rénale plutôt que chez l'adulte et en greffe de cellules souches hématopoïétiques même si les résultats des études sont parfois contradictoires [8, 11-12]. Parmi les virus incriminés, certains sont spécifiques au patient immunodéprimé et sont de ce fait qualifiés d'opportunistes. Le cytomegalovirus en est le prototype. L'incidence des diarrhées à CMV varie selon les études et les méthodes de diagnostic employées entre 11,8% et 26,7%, majoritairement entre le 1er et le 6ème mois post-transplantation [13]. Les atteintes du tractus gastro-intestinal, l'atteinte colique étant la plus fréquente, concernent près de 50% des patients transplantés infectés par le CMV [14-15]. Des diarrhées associées aux lymphoproliférations induites par l'EBV ou à des cas de colite à HHV6 ont également été rapportées [16-17]. Les virus entériques déjà responsables de gastroentérites dans la population générale sont également largement représentés chez le patient transplanté avec, par ordre de fréquence, les calicivirus (norovirus et sapovirus), les rotavirus, les astrovirus et les adénovirus entériques (sérotypes 40 et 41) [18]. Les norovirus représentent une cause majeure d'infections gastrointestinales chez le patient transplanté. Deux études récentes ont montré l'importance des norovirus chez le patient transplanté de rein. Dans ces deux cas, les norovirus

représentaient à eux seuls près de 17% des causes de diarrhées [19-20]. Ils tendent ainsi à supplanter l'agent historique des gastroentérites virales, le rotavirus, qui est responsable en transplantation d'organes solides de 1,3 à 3% des cas [21]. Les infections à astrovirus ont été majoritairement décrites dans des populations pédiatriques après greffe de moelle. Bien que cause reconnue de diarrhées communautaires, les astrovirus ne sont que rarement recherchés et donc vraisemblablement sous-estimés alors qu'ils sont pourtant à l'origine d'infections virales disséminées d'évolution fatale [22]. Parmi les nombreux sérotypes d'adénovirus, les sérotypes 40 et 41 sont les principaux enteropathogènes. D'autres sérotypes ont été sporadiquement rapportés comme responsable d'une symptomatologie diarrhéique chez le patient transplanté rénal comme le serotype 52 [23]. Enfin, d'autres virus à transmission entérique tels que les torovirus, coronavirus, picobirnavirus, bocavirus humains et virus aichi ont également été décrits même si leur place dans la diarrhée du transplanté d'organe reste à définir [24]. Le principal facteur de risque de diarrhée virale en post-transplantation est constitué par le traitement immunosuppresseur. L'association tacrolimus-MMF en transplantation rénale, une greffe de cellules souches périphériques ou de sang de cordon et l'utilisation de la fludarabine au cours du conditionnement ont été identifiés comme facteur prédisposant à l'infection à norovirus [12, 19]. L'hospitalisation prolongée semble également constituer un facteur de risque. Une contamination par le personnel soignant, excréteur asymptomatique au long cours de ces virus nus, résistants sur surface inerte et pourvu d'une infectivité élevée, a été récemment décrite [25]. Il faut noter que l'immunosuppression du patient transplanté prolonge la durée de l'excrétion virale dans les selles jusqu'à près de 900 jours, contre environ 14 jours chez l'immunocompétent, provoquant la récurrence des épisodes de diarrhées et participant à la dissémination des norovirus [20]. Souvent considérée comme une conséquence *a priori* bénigne de la transplantation, un épisode sévère de diarrhées peut provoquer une déshydratation avec perte de poids, une élévation de la créatininémie et une fluctuation des taux sériques d'immunosuppresseurs se traduisant par une augmentation importante de la mortalité et de la morbidité ainsi que par un moins bon pronostic fonctionnel du greffon [1-3]. La diarrhée en post-transplantation se traduit ainsi par un doublement du risque de perte du greffon et de décès du patient [2]. Plus particulièrement, la diarrhée à norovirus a été associée à une perte de poids significativement supérieure couplée à un allongement de la durée des symptômes par rapport aux causes bactériennes et parasitaires [19]. La sévérité des diarrhées à Norovirus est confirmée par d'autres études où des formes sévères et parfois létales à type de perforation intestinale ou de sepsis par translocation bactérienne ont été rapportées [26]. Enfin, un cas d'agranulocytose résolutif à l'arrêt de l'excrétion virale a été récemment décrit [27]. Il semble que la sévérité de la diarrhée à Norovirus est corrélée à l'intensité de l'immunosuppression et non au niveau de la charge virale [20]. Le diagnostic virologique des épisodes de diarrhées du patient transplanté se scinde en deux parties distinctes, complémentaires et chronologiques. L'analyse d'un prélèvement de selles à la recherche des virus entériques est une première étape nécessaire et peu invasive. Les tests rapides de détection d'antigènes peuvent constituer une méthode de première ligne mais leur capacité insuffisante à détecter une excrétion virale à bas niveau ou certains génotypes viraux limite leur utilisation chez le patient transplanté. Les tests moléculaires dorénavant considérés comme la méthode de référence de diagnostic des infections virales entériques doivent être privilégiés [28]. Il est probable que leur utilisation récente à plus large échelle aboutisse à une réévaluation à la hausse des étiologies virales dans les épisodes de diarrhées du patient transplanté [29]. Un panel regroupant Norovirus, Rotavirus, Astrovirus et Adénovirus proposé par de nombreuses troupes commercialisées sera dépisté en première intention et éventuellement complété avec l'aide du centre national de référence des virus entériques (Pr Pothier, CHU de Dijon) [30-31]. En cas d'investigations microbiologiques de première ligne négatives et de persistance de la symptomatologie au delà de 21 jours accompagnée de signes de gravité (hémorragie digestive, fièvre), un examen endoscopique sera réalisé. Les principaux virus opportunistes seront alors recherchés par PCR quantitative dans les prélèvements biopsiques complétés de l'analyse du sang périphérique. Les résultats obtenus seront systématiquement confrontés à l'examen histologique incluant la recherche des antigènes viraux par immunohistochimie. Il n'existe pas de traitement spécifique des infections virales entériques. La clairance virale est souvent conditionnée par un allègement du traitement immunosuppresseur à l'origine d'un risque accru de rejet du greffon ou d'apparition d'une GVHD. Néanmoins, des résultats probants ont été obtenus lors du traitement par immunoglobulines per os avec un impact significatif sur la résolution de la diarrhée et une réduction du nombre de selles à 7 jours. D'autres publications font état de l'utilisation du nitazoxanide, un antimicrobien à large spectre administré indifféremment dans les diarrhées bactériennes et parasitaires, pour le traitement des diarrhées sévères à Rotavirus et Norovirus [32-33]. En conclusion, faire la preuve de l'étiologie infectieuse de la diarrhée au moment de la prise en charge du patient transplanté permettrait de ne pas modifier inutilement le traitement immunosuppresseur et ainsi de protéger la survie à long terme du greffon et du patient [4, 34]. Un diagnostic microbiologique bien conduit aboutirait également à une réduction du nombre d'examen complémentaires inutiles et souvent mal tolérés (coloscopie), à une meilleure prise en charge thérapeutique des patients sur un plan infectieux (traitement symptomatique ou curatif) et à une meilleure prévention du risque de transmission nosocomiale de l'agent infectieux.

Références :

- Altıparmak, M.R., et al., Diarrhoea following renal transplantation. *Clin Transplant*, 2002. **16**(3): p. 212-6.
- Bunnapradist, S., et al., Incidence and risk factors for diarrhea following kidney transplantation and association with graft loss and mortality. *Am J Kidney Dis*, 2008. **51**(3): p. 478-86.
- Maes, B., et al., Severe diarrhea in renal transplant patients: results of the DIDACT study. *Am J Transplant*, 2006. **6**(6): p. 1466-72.

- Bunnapradist, S., et al., Mycophenolate mofetil dose reductions and discontinuations after gastrointestinal complications are associated with renal transplant graft failure. *Transplantation*, 2006. **82**(1): p. 102-7.
- Davies, N.M., et al., Gastrointestinal side effects of mycophenolic acid in renal transplant patients: a reappraisal. *Nephrol Dial Transplant*, 2007. **22**(9): p. 2440-8.
- Woillard, J.B., et al., Risk of diarrhoea in a long-term cohort of renal transplant patients given mycophenolate mofetil: the significant role of the UGT1A8 2 variant allele. *Br J Clin Pharmacol*, 2010. **69**(6): p. 675-83.
- Arslan, H., et al., Etiologic agents of diarrhea in solid organ recipients. *Transpl Infect Dis*, 2007. **9**(4): p. 270-5.
- Bandin, F., et al., Cryptosporidiosis in paediatric renal transplantation. *Pediatr Nephrol*, 2009. **24**(11): p. 2245-55.
- Yolken, R.H., et al., Infectious gastroenteritis in bone-marrow-transplant recipients. *N Engl J Med*, 1982. **306**(17): p. 1010-2.
- Liakopoulou, E., et al., Rotavirus as a significant cause of prolonged diarrhoeal illness and morbidity following allogeneic bone marrow transplantation. *Bone Marrow Transplantation*, 2005. **36**: p. 691-4.
- Ginsburg, P.M., et al., Diarrhea in liver transplant recipients: etiology and management. *Liver Transpl*, 2005. **11**(8): p. 881-90.
- Robles, J.D., et al., Norovirus Infection in Pediatric Hematopoietic Stem Cell Transplantation Recipients: Incidence, Risk Factors, and Outcome. *Biol Blood Marrow Transplant*, 2012.
- Fishman, J. A., et al., Infection in Organ-Transplant Recipients. *NEMJ*, 1998. **338**(24): p. 1741-51.
- Lemonovich, T.L. and R.R. Watkins, *Update on cytomegalovirus infections of the gastrointestinal system in solid organ transplant recipients*. *Curr Infect Dis Rep*, 2012. **14**(1): p. 33-40.
- Helanterä, I., et al., Primary CMV infections are common in kidney transplant recipients after 6 months valganciclovir prophylaxis. *Am J Transplant*, 2010. **10**(9): p. 2026-32.
- Godt, C., et al., A rare cause of ulcerative colitis - diarrhoea and perianal bleeding due to posttransplant lymphoproliferative disorder (PTLD). *Z Gastroenterol*, 2009. **47**(3): p. 283-7.
- Delbridge, M.S., et al., Colitis in a renal transplant patient with human herpesvirus-6 infection. *Transpl Infect Dis*, 2006. **8**(4): p. 226-8.
- Alain, S., et al., [Epidemiology of infectious acute diarrhoea in France and Europe]. *Arch Pediatr*, 2007. **14 Suppl 3**: p. S132-44.
- Roos-Weil, D., et al., Impact of norovirus/sapovirus-related diarrhea in renal transplant recipients hospitalized for diarrhea. *Transplantation*, 2011. **92**(1): p. 61-9.
- Schorn, R., et al., Chronic norovirus infection after kidney transplantation: molecular evidence for immune-driven viral evolution. *Clin Infect Dis*, 2010. **51**(3): p. 307-14.
- Stelzmueller, I., et al., Rotavirus enteritis in solid organ transplant recipients: an underestimated problem? *Transpl Infect Dis*, 2007. **9**(4): p. 281-5.
- Wunderlin, W., et al., Astrovirus infection in hospitalized infants with severe combined immunodeficiency after allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *PLoS One*, 2011. **6**(11): e27483.
- Ison, M.G., M. Green, and A.S.T.I.D.C.o. Practice, Adenovirus in solid organ transplant recipients. *Am J Transplant*, 2009. **9 Suppl 4**: p. S161-5.
- Cox, G.J., et al., Etiology and outcome of diarrhea after marrow transplantation: a prospective study. *Gastroenterology*, 1994. **107**(5): p. 1398-407.
- Heijne, J.C., et al., Quantifying transmission of norovirus during an outbreak. *Epidemiology*, 2012. **23**(2): p. 277-84.
- Schwartz, S., et al., Norovirus gastroenteritis causes severe and lethal complications after chemotherapy and hematopoietic stem cell transplantation. *Blood*, 2011. **117**(22): p. 5850-6.
- Chehade, H., et al., Acute norovirus-induced agranulocytosis in a pediatric kidney transplant recipient. *Transpl Infect Dis*, 2012. **14**(4): E27-9.
- Glass, R.I., et al., Norovirus gastroenteritis. *N Engl J Med*, 2009. **361**(18): p. 1776-85.
- Amar, C.F., et al., Detection by PCR of eight groups of enteric pathogens in 4,627 faecal samples: re-examination of the English case-control Infectious Intestinal Disease Study (1993-1996). *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2007. **26**(5): p. 311-23.
- Higgins, R.R., et al., Evaluation and verification of the Seeplex Diarrhea-V ACE assay for simultaneous detection of adenovirus, rotavirus, and norovirus genogroups I and II in clinical stool specimens. *J Clin Microbiol*, 2011. **49**(9): p. 3154-62.
- Liu, J., et al., Simultaneous detection of six diarrhea-causing bacterial pathogens with an in-house PCR-luminex assay. *J Clin Microbiol*, 2012. **50**(1): p. 98-103.
- Rossignol, J.F., et al., Effect of nitazoxanide for treatment of severe rotavirus diarrhoea: randomised double-blind placebo-controlled trial. *Lancet*, 2006. **368**(9530): p. 124-9.
- Siddiq, D.M., et al., Norovirus gastroenteritis successfully treated with nitazoxanide. *J Infect*, 2011. **63**(5): p. 394-7.
- Knoll, G.A., et al., Mycophenolate mofetil dose reduction and the risk of acute rejection after renal transplantation. *J Am Soc Nephrol*, 2003. **14**(9): p. 2381-6.

249/610 23/11/2012 - 14:30 - APOLLINAIRE 8

Le plasmide bla_{CTX-M-1} Inc11/ST3 : un succès majeur chez l'animal.

S. Dahmen, M. Haenni, J. Madec
Bactériologie, Anses, Lyon, France

Objectif : La résistance aux céphalosporines de troisième/quatrième générations chez les entérobactéries animales est souvent associée à la

présence d'une β -lactamase à spectre élargi (BLSE) de type CTX-M. Chez les souches d'*E. coli* animales, l'enzyme CTX-M-1 est l'une des BLSE les plus prévalentes. Les gènes correspondants sont principalement localisés sur des plasmides, qui jouent un rôle clé dans leur dissémination et qui appartiennent à divers groupes d'incompatibilité (Inc). Toutefois, certains plasmides ont un succès épidémiologique majeur, comme les plasmides IncFII portant le gène *bla*_{CTX-M-15} chez l'homme. En France, le plasmide *bla*_{CTX-M-1/Inc11/ST3} a été rapporté chez *Salmonella enterica* chez l'homme, la volaille et le bétail. Dans ce travail, nous avons cherché à savoir si ce plasmide *bla*_{CTX-M-1/Inc11/ST3} était plus largement présent au sein du réservoir animal.

Méthode : Dans le cadre du réseau Résapath, huit souches d'*E. coli* résistantes au ceftiofur ont été isolées d'un chat, de quatre chiens, de deux chevaux et d'une chèvre. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par diffusion (y compris test de synergie) et les CMI par E-test. Les gènes *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CTX-M} et *bla*_{SHV} ont été recherchés par PCR puis séquencés. La transférabilité de la résistance a été testée par conjugaison et la taille des plasmides estimée par S1-PFGE. La localisation du gène *bla*_{CTX-M-1} a été démontrée par Southern blot, et le type plasmidique déterminé par PBRT et pMLST. Les plasmides ont été comparés par RFLP. La clonalité des souches a été analysée par PFGE.

Résultats : La résistance au ceftiofur a été transmise par conjugaison pour toutes les souches. Le gène *bla*_{CTX-M-1} est localisé sur des plasmides de 112 à 120 kb, de type Inc11 et du même sous-type ST3. Les profils RFLP de ces plasmides sont identiques ou très similaires. Ils sont identiques à ceux précédemment identifiés chez les souches de *S. enterica* isolée chez l'homme, la volaille et le bétail. Les souches d'*E. coli* sont non clonales.

Conclusion : Dans cette étude, nous démontrons la présence du plasmide *bla*_{CTX-M-1/Inc11/ST3} chez des souches d'*E. coli* isolées d'un large éventail d'espèces animales en France. Les animaux ne présentaient aucun lien épidémiologique et, de surcroît, étaient principalement représentés par des animaux de compagnie, ne répondant donc à aucune logique de troupeau ou de filière. Les régions de collecte étaient très distantes et les souches ont été isolées sur une large période de temps (2006-2010). Ce travail suggère une forte prévalence et une large diffusion du plasmide *bla*_{CTX-M-1/Inc11/ST3} chez l'animal en France, quelle que soit la nature des clones d'entérobactéries et des espèces animales.

250/61o 23/11/2012 - 14:45 - APOLLINAIRE 8

Detection of clonally-related *Escherichia coli* isolates producing different CMY β -lactamases from a cystic fibrosis patient.

L. Crémet^{1,2}, N. Caroff², C. Giraudeau¹, J. Caillon^{1,2}, A. Reynaud^{1,2}, S. Corvec^{1,2}

¹Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU de Nantes ²Université de Nantes, EA3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, UFR de Médecine, Nantes, France

Objectives: This study reports details on *Escherichia coli* isolates recovered from a cystic fibrosis (CF) patient in order to understand how this pathogen adapts and resists to broad-spectrum antipseudomonal therapy in this context.

Methods: Five *E. coli* isolates were obtained in the four months preceding (one respiratory sample) and three months following (two respiratory samples, one urine, one dialysis catheter) a double-lung transplantation. All isolates were analysed in terms of clonality (ERIC-PCR, MLST), virulence profiles (phylogroup, search for 15 virulence genes), growth patterns (morphotype, biofilm-forming ability, growth rate), hypermutability, and antimicrobial susceptibility with molecular characterization of β -lactamases and porins.

Results: The five isolates shared similar ERIC-PCR profiles or Sequence Types (ST1193), and exhibited a same virulence profile. The respiratory isolates were strong mutators, exhibited mucoid or small-colony morphotypes, strong biofilm-forming ability, and grew slowly compared to the others. All isolates were highly resistant to ceftazidime. The respiratory isolates showed reduced susceptibility to cefepime and high resistance to aztreonam. The patient had received a 31-days course of ceftazidime/aztreonam until transplantation. All isolates harboured a same wild-type chromosomal AmpC. A CMY-2 enzyme was detected in the non-respiratory isolates, whereas L293S and V211A/L293S CMY-2 variants were identified in the respiratory isolates. OmpF porin loss was observed in the non-respiratory isolates.

Conclusions: Our study shows that, similarly to *Pseudomonas aeruginosa*, *E. coli* can undergo phenotypic and genomic changes in the CF context. For the first time, we identified an *in vivo* extended-spectrum evolution of the CMY-2 β -lactamase, during bacterial persistence in the CF lung.

251/61o 23/11/2012 - 15:00 - APOLLINAIRE 8

Diffusion du gène *bla*_{IMP-13} en France par l'intermédiaire des souches de *P. aeruginosa* (PA) appartenant aux ST621 et ST308.

D. Fournier¹, K. Jeannot¹, M. Robert-Nicoud¹, E. Muller¹, P. Cholley², N. Van Der Mee Marquet³, P. Plésiat¹

¹Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques ²Laboratoire d'Hygiène Hospitalière, CHRU de Besançon, Besançon ³Service de Bactériologie et Hygiène, CHRU de Tours, Tours, France

Introduction : L'objectif de ce travail était d'étudier 9 souches de PA productrices de la métallo-béta-lactamase (MBL) IMP-13, isolées chez des patients hospitalisés dans deux régions françaises (Centre et Ile de France), pendant la période 2010-2012. Ces souches ont été comparées au clone

épidémique d'origine italienne, ST621.

Méthodes : Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de l'imipénème (IPM), de la ceftazidime (CAZ), de la pipéracilline (PIP), de la ticarcilline (TIC) et de l'aztréonam (ATM) ont été déterminées par E-test et interprétées d'après les critères de l'EUCAST 2012. L'analyse génotypique des 9 isolats et du clone épidémique ST621 a été réalisée par électrophorèse en champ pulsé (enzyme *DraI*) et par MLST. Le gène *oprD* et l'environnement génétique du gène *bla*_{IMP} ont été analysés dans chaque souche par PCR puis séquençage.

Résultats : L'ensemble des souches exprimait un haut niveau de résistance à la CAZ et à la TIC (CMI>256mg/L) contrastant avec une diminution modérée de la sensibilité à l'ATM (CMI≤16 mg/L). Ces souches montraient, en revanche, une résistance très variable à l'IMP (CMI entre 4 et >256mg/L) selon que la porine spécifique *OprD* était altérée ou non. L'analyse génotypique des 9 souches a permis l'identification de 2 clones, B et C, appartenant respectivement aux séquence-types ST621 (sérotype O:4) et ST308 (sérotype O:11). 7/9 isolats présentaient un pulsotype identique à celui du clone italien et, comme pour ce dernier, montraient le gène *bla*_{IMP-13} localisé dans l'intégron InPSG, situé sur le transposon Tn5051. Dans les 2 autres isolats (clone C), la cassette *bla*_{IMP-13} était située en aval d'une cassette *aacA4* au sein d'un nouvel intégron, nommé In771.

Conclusion : En l'absence d'altération de la porine *OprD*, l'enzyme IMP-13 confère souvent des bas niveaux de résistance aux carbapénèmes chez PA. La détection difficile de cette MBL chez les souches catégorisées "sensibles" peut amener à sous-estimer sa prévalence en clinique. Cette étude décrit pour la première fois la présence du clone ST621 en France et montre que le gène *bla*_{IMP-13} est désormais porté par le clone ST308, ce qui peut accélérer sa propagation en France.

252/61o 23/11/2012 - 15:15 - APOLLINAIRE 8

Protocoles EARSS : épidémiologie dynamique des clones de *Staphylococcus aureus* (SARM et SASM) responsables d'infections invasives en France entre 2006 et 2011.

T. Nhan^{1-5,3}, A. Tristan^{1-5,3}, M. Bes^{1-5,3}, O. Dauwalder^{1-5,3}, J.P. Rasigade^{1-4,3}, H. Meugnier¹⁻⁵, V. Jarlier⁶, D. Trystram⁷, H. Chardon², F. Vandenesch^{1-5,3}, H. Grundmann⁸, J. Etienne^{1-5,3}, F. Laurent^{1-4,3}

¹CNR des staphylocoques, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Lyon

²Laboratoire de Bactériologie, Hôpital d'Aix-en-Provence (pour le réseau

REUSSIR), Aix-en-Provence ³BP21, INSERM U851 ⁴Laboratoire de

Bactériologie, CBN, Hospices Civils de Lyon, Lyon ⁵Laboratoire de

Bactériologie, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Lyon ⁶Laboratoire de

Bactériologie-Hygiène, EA 1541, UFR de Médecine Pierre et Marie Curie

(Paris 6), Site Pitié-Salpêtrière, AP-HP (pour le réseau ONERBA) ⁷Laboratoire

de Bactériologie-Hygiène, Site Pitié-Salpêtrière, AP-HP (pour le réseau

microbiologie CCLin Paris Nord), Paris, France ⁸RIVM, Bilthoven, Pays-Bas

Les objectifs de cette étude prospective étaient de caractériser les principaux clones de *Staphylococcus aureus* (SA) responsables d'infections invasives en France et d'apprécier l'évolution de la distribution temporelle et spatiale dans le cadre plus global de deux études européennes menées selon le même protocole en 2006 puis 2011.

Méthodes : Les 5 premières souches consécutives de SARM et de SASM isolées d'hémocultures entre janvier et juillet 2006 et 2011 dans les mêmes 23 laboratoires hospitaliers en France ont été incluses. Les souches ont été caractérisées selon leur profil de résistance, leur type agr, leur spa-type, leur profil génétique déterminé par puce à ADN (Identibac *S. aureus* Genotyping®, Alere) ainsi que par leur assignement clonal sur la base de ces mêmes puces.

Résultats : En 2006 et 2011, 76 et 84 SARM ainsi que 82 et 112 SASM ont respectivement été collectés.

Pour les SARM, les données sont présentées ci-dessous.

| Clone MRSA | 2006 n=76 | 2011 n=84 | P* (Fisher) |
|----------------------------|-----------|-----------|-------------|
| Lyon ST8-IV | 67,1% | 57,1% | 0,25 |
| New Pediatric ST5-VI | 7,9% | 20,2% | 0,04 |
| Classical Pediatric ST5-IV | 10,5% | 8,3% | 0,78 |
| ST22-IV | 0% | 4,8% | 0,12 |
| Géraldine ST5-I | 6,6% | 3,6% | 0,48 |
| Européen ST80-IV | 1,3% | 1,2% | 1,00 |
| Autres clones | 6,6% | 4,8% | 0,74 |

Depuis 2006, le clone Lyon est resté majoritaire. La prévalence du clone Classical Pediatric demeure stable tandis que celle du clone New Pediatric a significativement augmenté. L'émergence du clone ST22-IV est un phénomène préoccupant. Au sein d'un même clone, la prévalence des gènes de virulence et de résistance aux antibiotiques est restée stable.

Pour les SASM, il existe une diversité clonale importante et stable, marquée seulement par une augmentation significative de la proportion du clone CC398. A travers l'interface créée au niveau européen (<http://www.spatalepidemiology.net/srl-maps>), il est possible de suivre l'évolution spatio-temporelle des spa-types en France mais aussi, plus globalement en Europe, la dynamique d'importation et d'exportation des clones dans chaque pays.

Conclusion : Nos résultats soulignent l'intérêt de la surveillance épidémiologique des clones de SA circulant au niveau national et européen pour

- i. déceler l'émergence et/ou le potentiel de dissémination de clones spécifiques à l'échelle d'un pays ou d'un continent
- ii. adapter la prise en charge des infections invasives à SA.

253/61o 23/11/2012 - 15:30 - APOLLINAIRE 8

Épidémiologie moléculaire de souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases en France : 2011-2012.

A. Potron³⁻¹⁻², G. Cuzon³⁻¹⁻², S. El Anbassi², L. Poirel³⁻¹⁻², P. Nordmann³⁻¹⁻²

¹CNR associé Résistances aux antibiotiques ²CHU de Bicêtre, Laboratoire de Bactériologie, Le Kremlin-Bicêtre ³Résistances émergentes aux antibiotiques, unité INSERM U914, Paris, France

Objet de l'étude : Les carbapénémases sont identifiées de façon croissante chez les entérobactéries dans le monde entier et notamment en France. Une étude épidémiologique a été menée sur toutes les souches d'entérobactéries productrices des carbapénémases de type NDM, KPC et OXA-48 reçues dans l'Unité INSERM914/CNR Résistance aux antibiotiques entre le 1er janvier 2011 et le 31 juillet 2012.

Méthodes : Les souches bactériennes ont été identifiées par galerie 20E (Biomérieux, France). L'étude de la sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé et par E-tests (Biomérieux, France). Les gènes codant pour les β-lactamases ont été caractérisés par méthode PCR et séquençage. La comparaison génétique des souches a été réalisée par MLST (Multilocus Sequence Typing).

Résultats obtenus : 226 souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases isolées en France ont été analysées. Parmi les 226 souches étudiées, la carbapénémase OXA-48 a été détectée dans 161 souches (71,2%). Les carbapénémases de type KPC ont été détectées dans 48 souches (21,3%) et NDM-1 dans 17 souches (7,5%). La répartition en fonction de l'espèce était la suivante: 157 *Klebsiella pneumoniae* (69,5%), 37 *Escherichia coli* (16,4%), 21 *Enterobacter cloacae* (9,3%), 4 *Citrobacter freundii* (1,8%), 2 *C. koseri* (0,9%), 2 *Serratia marcescens* (0,9%), 1 *K. oxytoca* (0,4%), 1 *Proteus mirabilis* (0,4%), 1 *Salmonella sp* (0,4%). Les souches de *K. pneumoniae* de séquence type 101 et 395 étaient les plus fréquentes parmi les souches de *K. pneumoniae* OXA-48. Les souches productrices d'une carbapénémase de type KPC étaient dans 99% des cas des *K. pneumoniae*. Le ST-258 était le séquence type (ST) le plus fréquent. La carbapénémase NDM-1 a été identifiée dans des souches de ST variable.

Conclusion : L'espèce d'entérobactérie exprimant le plus fréquemment une carbapénémase est *K. pneumoniae*. OXA-48 est la carbapénémase la plus fréquemment identifiée en France et a diffusé largement chez *K. pneumoniae* mais aussi chez *E. coli*. KPC est associée essentiellement à un seul séquence type et les ST 101 et 395 sont les plus fréquemment associés aux souches de *K. pneumoniae* exprimant OXA-48.

254/61o 23/11/2012 - 15:45 - APOLLINAIRE 8

Diffusion en France d'un clone de *Pseudomonas aeruginosa* produisant la β-lactamase à spectre élargi SHV-2a.

K. Jeannot¹, D. Fournier¹, E. Müller¹, P. Cholley², P. Plésiat¹

¹Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, CHRU de Besançon ²Service d'Hygiène Hospitalière et d'Épidémiologie, CHRU, Besançon, France

Objet de l'étude : SHV-2a est une β-lactamase à spectre élargi (BLSE) fréquemment rencontrée chez les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération (C3G) mais qui reste sporadique chez les espèces non fermentantes comme *P. aeruginosa*. Ce travail décrit l'émergence d'un clone de *P. aeruginosa* produisant cette enzyme en France.

Méthodes : Vingt cinq souches de *P. aeruginosa* SHV-2a positives ont été isolées dans 13 hôpitaux français entre janvier et décembre 2011. Les souches provenaient principalement d'urines, d'hémocultures et de prélèvements pulmonaires. La présence de la BLSE a été détectée par le CNR de la Résistance grâce à des tests de synergie (DDST) entre la ceftazidime (Caz), le cefépime (Fep) et l'acide clavulanique (Amc). La mesure de la sensibilité aux antibiotiques, l'amplification et le séquençage du gène *bla*_{SHV-2a} ainsi que le génotypage des souches (PFGE) ont été effectués selon des protocoles standards.

Résultats obtenus : Toutes les souches (sérotypage O:11) présentaient une résistance de haut niveau aux pénicillines (CMI₉₀ de la ticarcilline >256 µg/mL; pipéracilline=256 µg/mL) ainsi qu'au Fep (64 µg/mL) associée à une résistance modérée à la Caz (16 µg/mL). La recherche de plasmide chez ces bactéries s'est avérée négative suggérant une localisation chromosomique du gène *bla*_{SHV-2a}. Comme décrit précédemment chez *P. aeruginosa*, la séquence d'insertion IS26 a été identifiée en amont du gène. Les expériences de génotypage par PFGE ont démontré la clonalité de toutes les souches sauf une. Les performances des tests de synergie (DDST) pour la détection de SHV-2a ont été évaluées. La méthode s'est révélée moins sensible avec les disques Caz-Amc (5/25) qu'avec les disques Fep-Amc (25/25). L'interprétation des résultats de synergie s'est trouvée facilitée par l'emploi d'un milieu gélosé renfermant 1000 µg/mL de cloxacilline pour inhiber la céphalosporinase naturelle AmpC.

Conclusion : Ce travail met en évidence la diffusion progressive d'un clone de *P. aeruginosa* producteur de SHV-2a dans les hôpitaux français. L'emploi du DDST classique Caz-Amc ne permet pas de détecter correctement la présence de cette BLSE parmi les souches cliniques. Une résistance plus forte

au Fep qu'à la Caz 4 fois) doit inciter le microbiologiste à réaliser des tests complémentaires, notamment un DDST Fep-Amc.

255/63o 23/11/2012 - 14:30 - AMPÈRE 5

Épidémie à *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase OXA-48 dans un centre de rééducation des Hospices Civils de Lyon.

E. Martin¹, J.P. Rasigade², N. Chatron², F. Breyse¹, M. De Montclos¹, M. Chomarat¹, I. Fredenucci¹, S. Gardes³, R. Girard³, C. Mauranne⁴, S. Tigaud², G. Lina¹, O. Dumitrescu¹

¹Laboratoire de bactériologie, Centre Hospitalier Lyon Sud ²Laboratoire de bactériologie, Hôpital de la Croix Rousse ³Unité d'hygiène hospitalière, Centre Hospitalier Lyon Sud ⁴Unité d'hygiène hospitalière, Hôpital Henri Gabrielle, Hospices civils de Lyon, Lyon, France

Nous décrivons une épidémie de 4 cas de patients porteurs de *Klebsiella pneumoniae* productrice de carbapénémase OXA-48 (KPC OXA-48) aux Hospices Civils de Lyon (HCL).

Les patients hospitalisés dans le Centre de Rééducation Henri Gabrielle (HG) sont transférés depuis différents services de Chirurgie des HCL. Les deux cas index (cas 1 et 2) ont été détectés grâce à la réalisation d'un antibiogramme de souches KPC isolées d'urines dans un contexte de colonisation sur sonde à demeure. Les cas 1 et 2 sont de patients rapatriés de Lybie et Tunisie respectivement, hospitalisés dans deux unités différentes de HG. Suite à la détection des cas index, un dépistage des patients « contact » sélectionnés par l'unité d'Hygiène et les médecins de HG a mis en évidence 2 cas de contaminations croisées (cas 3 et 4). Les souches isolées ont été caractérisées par identification, antibiogramme, tests phénotypiques et moléculaires de détection des carbapénémases. Des mesures de cohorting et de dépistage ont été prises afin de limiter la diffusion de l'épidémie.

Il s'agit d'une épidémie à KPC OXA-48. Dans les deux cas index, la détection d'une sensibilité diminuée à l'imipénème a fait rechercher une carbapénémase. Le test de Hodge positif et les tests des disques combinés négatifs ont fait évoquer une carbapénémase de type oxacillinase, ce qui a été confirmé par amplification du gène OXA-48 (test Check-Points ou PCR spécifique OXA-48). Les 4 souches sont initialement résistantes à l'ensemble des β-lactamines et les autres classes d'antibiotiques sont également touchées. L'épidémie a été prise en charge par des mesures de cohorting incluant une limitation des déplacements de 4 patients à l'extérieur du service clinique et leur regroupement dans un même service. Trois campagnes de dépistages itératifs ont été entreprises après la découverte de l'épidémie. Aucun nouveau cas n'a été découvert.

Nous avons décrit la première épidémie de KP OXA-48 dans les HCL. Cela souligne la nécessité du dépistage précoce en cas de rapatriement selon les recommandations en vigueur et l'utilité de mesure de cohorting pour limiter la diffusion de l'épidémie. Au niveau microbiologique, de techniques optimisées sont nécessaires afin de faciliter le dépistage des carbapénémases sur de grandes séries de prélèvements.

256/63o 23/11/2012 - 14:45 - AMPÈRE 5

Épidémiologie des entérobactéries productrices de carbapénémases en Belgique.

B. Jans¹, D. Te-din Huang², A. Guisset², P. Bogaerts², B. Catry¹, M. Goossens¹, Y. Glupczynski²

¹Institut Scientifique de Santé Publique, Bruxelles ²Centre National de référence (CNR) des entérobactéries résistantes, UCL, Mont-Godinne, Belgique

Introduction : Les premiers cas d'entérobactéries productrices de carbapénémases (CPE) ont été rapportés en Belgique dès 2008. Il s'agissait de cas isolés importés de Grèce (VIM-1; 2008) et du Pakistan (NDM-1; 2010).

En août 2011, le centre national de référence (CNR) a alerté les autorités sanitaires du nombre croissant de CPE envoyées par les laboratoires hospitaliers et un système centralisé de surveillance a été instauré en Belgique en janvier 2012.

Méthodes : La surveillance porte sur toute souche d'entérobactérie, non-sensible aux carbapénèmes, productrice de carbapénémase (confirmée par le CNR) ainsi que sur les souches rapportées par les hôpitaux en cas d'épidémie entre le 01/01 et le 30/06/2012. Un épisode de CPE est défini comme un ou plusieurs cas de patients infectés/colonisés par CPE, détectés dans un hôpital dans un délai d'un mois.

Résultats : Au total, 32 hôpitaux ont signalé 66 épisodes de CPE (217 cas), dont 52 à cas unique et 14 avec plusieurs cas (165 cas). En moyenne 2,5 nouveaux épisodes étaient signalés par semaine. Les épisodes impliquaient *K. pneumoniae* (n=41), *E. coli* (n=7), *C. freundii* (n=5) et *E. cloacae* (n=4). Les carbapénémases les plus fréquentes étaient OXA-48 (n=43 épisodes), KPC-2 (n=14) et VIM-1 (n=7).

Les épisodes avec cas multiples/clusters étaient principalement causés par des souches de *K. pneumoniae* de type OXA-48 (12 épisodes, 161 cas), ou plus rarement de type KPC-2 (2 épisodes, 4 cas).

Sur 217 patients porteurs de CPE (117 F, 99 H - âge moyen: 76 ans), 203 étaient hospitalisés: gériatrie (n=85), soins intensifs (n=49), médecine (n=38), chirurgie (n=22); 142 patients (66.4%) présentaient une colonisation et 72 (33.6%) une infection (% de cas infectés par type de carbapénémase: KPC: 62.5%, VIM: 42.8% et OXA-48: 30.7%). Seuls 10 cas de CPE (4.6%) étaient

liés à un transfert d'un pays étranger (principalement, Turquie, Maroc, Grèce, Italie). Il s'agissait de carbapénèmes OXA-48 (n=6), KPC-2 (n=3) et NDM-1 (n=1).

Conclusions : L'émergence rapide des CPE en Belgique est inquiétante et concerne majoritairement l'espèce *K. pneumoniae* productrice d'OXA-48. Un nombre important de clusters indépendants est mis en évidence dont l'origine semble autochtone et n'est plus qu'accessoirement consécutive à une importation de l'étranger.

257/63o 23/11/2012 - 15:00 - AMPÈRE 5

Diffusion épidémique des souches cliniques d'Acinetobacter spp. résistantes aux carbapénèmes au CHU Batna, Algérie (2008-2012).

A. Kassah-Laouar, K.N.S. Bessanane
Microbiologie, CHU - Faculté de médecine de Batna, Batna, Algérie

Introduction : Ces dernières années, l'évolution de la résistance aux antibiotiques de l'*Acinetobacter* spp. devient une préoccupation dans de nombreux pays. Le suivi de l'évolution de la résistance aux antibiotiques est un exercice important et un moyen de surveillance de l'apparition de nouveaux facteurs. Les unités de soins intensifs (USI) constituent un réservoir de personnes abritant des BMR qu'il faut dépister systématiquement.

Objectifs du travail :

- Connaître le profil de résistance aux carbapénèmes des souches d'*Acinetobacter* spp. isolées.

- Élaborer un suivi épidémiologique de ces souches.

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective sur une période de 05 années (2008-2012). L'identification des souches a été réalisée par les techniques bactériologiques conventionnelles.

La sensibilité aux antibiotiques des souches a été déterminée par la méthode de diffusion en milieu gélosé Mueller-Hinton avec des disques chargés et l'interprétation en sensible (S), intermédiaire (I) et résistant (R) a été faite selon les recommandations du CLSI.

Résultats : Au total 738 souches d'*Acinetobacter* spp. ont été isolées, les services de soins intensifs ont la plus forte prévalence (29.7%), suivi des services de chirurgie (24.2%). Le tiers (1/3) des souches a été isolé des pus et sérosités purulentes (32.6%), suivi des urines (20%), hémocultures (8.3%).

Dans la présente étude ces souches sont marquées par une résistance marquée à l'imipénème (40.3%), la résistance aux autres antibiotiques était respectivement: ceftazidime (66.3%), aztréonam (74%), ciprofloxacine (56.3%).

Conclusion : Cette étude a révélé la résistance aux carbapénèmes des souches d'*Acinetobacter* spp. Le typage moléculaire des souches par électrophorèse en champ pulsé doit être de règle afin de déterminer la clonalité et faire un suivi épidémiologique.

258/63o 23/11/2012 - 15:15 - AMPÈRE 5

Diffusion de la carbapénémase oxa 48 des entérobactéries à l'hôpital la Rabta en Tunisie.

H. Lengliz, C. Harchay, H. Maouia, A.B. Othman, M. Zribi, C. Fendri
Microbiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

Introduction : L'émergence et la dissémination d'entérobactéries productrices de carbapénémases représentent une menace car limite l'arsenal thérapeutique des infections liées à ces agents. Décrite pour la première fois en Turquie en 200, l'oxa-48 pose de plus en plus de problèmes dans notre hôpital. Le but de ce travail consiste à identifier les oxa-48 parmi les carbapénémases produites par les entérobactéries isolées à l'hôpital la RABTA.

Méthodes : Notre étude prospective a porté sur toutes les entérobactéries résistantes à l'Ertapénème et ou à l'Imipénème isolées dans notre laboratoire durant la période allant du 7 Janvier 2012 au 31 Juillet 2012. Pour chaque souche, un antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion sur gélose selon les normes établies par le CA-SFM. La CMI de l'Imipénème a été déterminée par la méthode d'E-TEST. La détection phénotypique des carbapénémases a été réalisée par le test de Hodge modifiée et l'étude génotypique par la détection du gène de résistance OXA-48 par PCR.

Résultats : 111 souches (*K.pneumoniae* n=72; *E coli* n=31; *M.morganii* n=1; *E.cloacae* n=4; *C.freundii* n=1; *K.oxytoca* n=2) ont été répertoriées parmi lesquelles 102 (92%) produisaient une β-lactamase à spectre étendu. Les souches provenaient surtout du service Chirurgie (18%). 41(37%) étaient isolées à partir d'examens cytotactériologiques des urines (ECBU). 28 (25%) des souches étaient positives au Test de Hodge dont 14 (50%) présentaient le gène OXA-48 (*K.pneumoniae* n=13). Parmi ces dernières, 10 étaient intermédiaires à l'imipénème (3≤CMI≤8) et 4 sensibles par E test. Pour les souches positives au test de Hodge et ne présentant pas l'OXA-48, 3 souches étaient intermédiaires et 11 sensibles à l'imipénème. 13 (46%) des patients sont décédés parmi lesquels 5 avaient le gène OXA-48.

Conclusion : Cette étude montre que la diffusion des carbapénémases de type OXA-48 chez les entérobactéries est en nette progression. Nos résultats ont montré que 50% des souches testées étaient productrices d'OXA-48 mis en évidence par PCR. Notre étude se poursuit pour typer les autres carbapénémases par PCR et Séquençage.

259/63o 23/11/2012 - 15:30 - AMPÈRE 5

Salmonella : sérotypes et état de résistance aux antibiotiques à Casablanca - Maroc.

R. Essayede¹, K. Zerouali¹, H. Belabbes¹, B. Bouchrif², N. Elmdaghri¹
¹Microbiologie, CHU Ibn Rochd ²Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

Introduction : Au Maroc, les salmonella ont subi au cours des dernières années, une évolution liée à l'émergence de nouveaux sérotypes, et des souches résistantes aux antibiotiques classiques.

Le but de cette étude est d'analyser le profil épidémiologique des infections à *Salmonella* sur neuf ans, et de déterminer la résistance aux antibiotiques des souches isolées.

Matériel & méthodes : Notre étude a porté sur les souches de *Salmonella* isolées au CHU Ibn Rochd, Casablanca, sur une période de neuf ans entre 2003 et 2011.

L'isolement et l'identification biochimique et antigénique des souches ont été réalisés selon les techniques standards de bactériologie. L'antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion selon les recommandations du CLSI. La recherche de β-lactamase à spectre étendu (BLSE) a été effectuée par le test phénotypique de double synergie.

Résultats : Deux cent onze souches de *Salmonella* ont été isolées à partir de différents produits pathologiques: sang (99 cas), selles (62 cas), urines (16 cas), pus (10 cas), liquide céphalorachidien (6 cas), et autres (18 cas).

Les sérotypes ont été répartis comme suit : *S. enteritidis* (86 souches soit 42%), *S. typhimurium* (46 souches soit 22%), *S. typhi* (38 souches soit 18%), *S. kentucky* (24 souches soit 11%), *Salmonella sp.* (15 souches non typées soit 7%), *S. paratyphi A* et *S. infantis* (1 souche chacun).

Cernant la résistance aux antibiotiques, *S. typhi* présente une résistance globale à l'ampicilline de 9.1%, au cotrimoxazole de 4.3% et une sensibilité de 100% aux autres antibiotiques testés.

La résistance des *Salmonella* mineures a montré globalement une multirésistance aux antibiotiques: fluoroquinolones (41.7%), ampicilline (40.8%), amoxicilline/acide clavulanique (25.5%), céftazidime (13.1%), cotrimoxazole (11.4%).

La situation a été marquée par l'émergence d'un nouveau sérotype: *S kentucky* caractérisé par sa résistance aux fluoroquinolones 100%.

La recherche de BLSE par test de double synergie s'est révélée positive chez 8 cas.

Conclusion : La modification de l'écologie microbienne des *Salmonella* avec apparition de nouveaux sérotypes, ainsi que l'émergence de souches résistantes aux antibiotiques doivent inciter à une surveillance épidémiologique au niveau national. Ceci permettrait d'établir de nouvelles recommandations concernant le traitement des infections à *Salmonella*.

Mots clés : *Salmonella*, sérotypes, résistance aux antibiotiques, BLSE, Maroc.

*actionnaire chez Andromas

261/64s 23/11/2012 - 14:40 - AMPÈRE 8

Chlamydia sp : que faisons-nous ? Que faut-il oublier ? Le point de vue du microbiologiste.

B. de Barbevrac^{1,2}, F. Obeniche¹, F. Mégraud¹, C. Bébéar^{1,2}
¹Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux, Laboratoire de Bactériologie ²Université de Bordeaux, INRA, USC Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, Centre National de Référence des Infections à Chlamydia, France

Les infections humaines à chlamydiae, bactéries à multiplication intracellulaire obligatoire présentent des caractéristiques originales (3). Elles sont spécifiques d'espèces et desérovars, et peuvent évoluer de différentes manières, aiguë, chronique et séquellaire. Deux espèces sont principalement rencontrées chez l'homme, *Chlamydia trachomatis* et ses 19 sérovars responsables de trachome (sérovars A-C), d'infections urogénitales sexuellement transmissibles (IST) (sérovars D-K) et de lymphogranulomatose vénérienne (sérovars L1-L3) et *Chlamydia pneumoniae*, biovar TWAR, responsable d'infection respiratoire. Une 3^{ème} espèce d'origine aviaire, *Chlamydia psittaci*, peut occasionnellement provoquer des pneumopathies sévères chez l'homme.

Au cours d'une infection à chlamydiae, la réponse anticorps est complexe et fait intervenir des anticorps de genre, d'espèces et de sérovars. Certaines techniques permettront la détection d'anticorps de genre, comme la fixation du complément et d'autres permettront la détection des anticorps d'espèce, comme l'immunofluorescence indirecte et certains tests immunoenzymatiques. D'une manière générale, la recherche d'anticorps anti-chlamydiae n'a pas la valeur diagnostique de la mise en évidence de la bactérie pour deux raisons principales. D'une part, en raison des communautés antigéniques existant entre les trois espèces susceptibles d'être rencontrées chez l'homme, il est souvent difficile de préciser l'espèce en cause. Seules les techniques ELISA utilisant des peptides de MOMP sont spécifiques de *C. trachomatis*. D'autre part, en raison de la persistance des anticorps des mois voire des années après l'infection, il est souvent difficile de distinguer une cicatrice sérologique d'une réelle infection en évolution.

Le diagnostic d'une infection à *C. trachomatis* est essentiellement direct. La nomenclature n'autorise le remboursement de la recherche directe de *C. trachomatis* que par des techniques d'amplification génique (JO 5/10/2011

acte 5257 B85). La sérologie a des indications limitées au diagnostic d'infection haute, de lymphogranulomatose vénérienne (LGV), d'arthrite réactionnelle et au bilan d'hypofertilité en utilisant des trousse ELISA spécifiques d'espèce. La sérologie rentre donc davantage dans le bilan d'extension de l'infection que dans le diagnostic de l'infection (6). Si la présence d'anticorps n'est pas synonyme d'infection compliquée, leur absence l'exclue. Les IgA, de par leur demi-vie courte, ont été proposés comme marqueur d'infection récente. L'étude des profils sérologiques des personnes dont l'infection était documentée par PCR a montré que l'absence d'IgA sérique n'était pas un marqueur de guérison et leur présence n'était pas un marqueur d'infection récente. C'est pourquoi la recherche des IgA a été supprimée de manière à éviter des traitements prolongés uniquement sur le critère de la présence ou de la persistance des IgA. De plus, après une infection à *C. trachomatis*, les anticorps persistent à un taux élevé pendant plusieurs mois et la sérologie ne permet pas de surveiller la guérison.

C. pneumoniae est considéré comme un des agents infectieux les plus répandus dans le monde responsable d'infections respiratoires et de pneumopathies en raison de la séroprévalence élevée observée dans la population générale. Le pic de séroconversion se situe entre 5 et 14 ans et la séroprévalence continue d'augmenter chez l'adulte pour atteindre 75 % chez les personnes âgées. Cependant des études récentes, montre que la prévalence des infections respiratoires dues à *C. pneumoniae* est beaucoup plus basse (<1,5%) qu'initialement décrite (6-22%). Cette apparente diminution des infections à *C. pneumoniae* peut être due à un changement des caractéristiques épidémiologiques de l'infection ou à un manque de spécificité du sérodiagnostic. En effet, le diagnostic de *C. pneumoniae* a bénéficié comme beaucoup d'autres pathogènes de l'arrivée des techniques de biologie moléculaire et les recherches positives restent exceptionnelles (5). Ces résultats posent la question de la pertinence du sérodiagnostic. Devant la discordance des résultats microbiologiques, recherche directe exceptionnellement positive- recherche d'anticorps très souvent positive, la spécificité du sérodiagnostic et son intérêt dans le diagnostic de l'infection à *C. pneumoniae* se pose.

La psittacose est une maladie rare mais qui pose un véritable problème de santé publique car elle touche des professionnels travaillant dans la filière aviaire (2). Plusieurs épisodes de cas groupés ont fait l'objet d'investigations dans des abattoirs : en 1990, 18 cas en Maine-et-Loire, en 1997, 15 cas dans le Morbihan, en 1998, 6 cas dans le même abattoir de canards du Maine-et-Loire qu'en 1990, en 2005, 7 cas en Mayenne. En 2006, 6 cas groupés ont été identifiés chez des éleveurs, inséminateurs ou gouveurs de canards dans les Deux-Sèvres, la Vendée et la Vienne. En 2008, une épidémie suite à une exposition d'oiseaux a été décrite en Pays de Loire avec un taux d'attaque parmi les exposants de 38% (33/86) (1). Pour la période 2002 à 2008, 207 cas hospitalisés avec un diagnostic principal, relié ou associé de psittacose ont été recensés dans le Programme médicalisé des systèmes d'information (PMSI) des établissements de soins soit une médiane de 28 cas par an. Le Centre National de Référence des infections à chlamydiae réalise une surveillance passive et non exhaustive. De 2005 à 2011, le CNR a identifié 145 cas de psittacose basés sur des critères sérologiques et de recherche directe par une technique de PCR mise au point au laboratoire (4). En sérologie, seules des lames pour immunofluorescence sont disponibles permettant la recherche d'IgG et d'IgM. La psittacose s'accompagne souvent de titres élevés d'anticorps (> 1/256) mais des réactions croisées avec les deux autres espèces peuvent gêner l'interprétation. Cependant une augmentation significative du taux d'anticorps anti-*C. psittaci* est souvent observée. Un cas suspect est un cas présentant un tableau clinique compatible avec une psittacose et une exposition à des oiseaux. Un cas est confirmé si la recherche directe (PCR « maison ») est positive ou si une séroconversion ou une augmentation significative du titre des anticorps (x 4) sur deux échantillons prélevés à deux semaines d'intervalle en présence ou non d'IgM (≥ 1/16) est observée. Un cas est probable si le titre d'anticorps IgG est ≥ 1/128 ou s'il est < 1/128 associé à des IgM. Un cas est possible s'il est lié épidémiologiquement à un cas confirmé avec un titre d'IgG < 1/128 sans IgM. En cas de recherche directe (PCR) non faite ou négative, le diagnostic sérologique repose sur l'analyse de la cinétique des anticorps qui permettra un diagnostic de certitude. Il est donc important de sensibiliser les cliniciens à l'importance de cette 2^{ème} sérologie.

En conclusion, la sérologie garde toute sa place dans le diagnostic de la psittacose, a une place limitée dans le diagnostic de l'infection génitale à *C. trachomatis* et pourrait être abandonnée dans le diagnostic des infections respiratoires à *C. pneumoniae* avec les outils actuels.

Références :

- Belchior, E., D. Barataud, R. Ollivier, I. Capek, K. Laroucau, B. Barbeyrac de, and B. Hubert. 2011. Psittacosis outbreak after participation in a bird fair, Western France, December 2008. *Epidemiol Infect*:1-5.
- Belchior, E., K. Laroucau, and B. d. B. 2010. La psittacose: évolution actuelle, surveillance et investigations en France. *Bull epidemiol Hebd Hors-série*:12-15.
- de Barbeyrac B, M. Clerc, L. Imounga, F. Obeniche, O. Peuchant, C. Le Roy, and C. Bébéar. 2011. Le point sur l'épidémiologie et le diagnostic des chlamydioses humaines en France. *Rev Franç Lab* 429:39-41.
- Menard, A., M. Clerc, A. Subtil, F. Mégraud, C. Bébéar, and B. de Barbeyrac. 2006. Development of a real-time PCR for the detection of *Chlamydia psittaci*. *J Med Microbiol* 55:471-473.
- Senn, L., K. Jatou, J. W. Fitting, and G. Greub. 2011. Does respiratory infection due to *Chlamydia pneumoniae* still exist? *Clin Infect Dis* 53:847-8.
- Stephens, A. J., M. Aubuchon, and D. J. Schust. 2011. Antichlamydial antibodies, human fertility, and pregnancy wastage. *Infect Dis Obstet Gynecol* 2011:525182.

262/64s 23/11/2012 - 15:00 - AMPÈRE 8

Chlamydia sp : que faisons-nous ? Que faut-il oublier ? : Le point de vue du clinicien.

J. Berruchon

Pneumologie, CH de la Roche-sur-Yon, France

Pour les cliniciens du nord-ouest et du nord de la Vendée, l'essentiel des problèmes pathologiques posés par les Chlamydiae provient de l'infection à *C. psittaci*. La source de contamination quasi-unique est l'élevage du canard à foie gras dont l'infection est fréquente, inoffensive pour lui mais à l'origine de troubles respiratoires graves pour l'homme.

L'existence de cette maladie ne saurait être mise en doute. Chaque année, plutôt en décembre-janvier, elle est à l'origine d'une dizaine d'hospitalisations pour pneumopathies au CHD, et j'ai pu par les signalements saisis auprès de mes collègues du département recenser 5 cas mortels au moins tous accompagnés d'un retard de diagnostic. Aucun n'avait été hospitalisé en Pneumologie.

Suivent de brefs rappels sur

- les étapes de l'élaboration du foie gras *in vivo* de la naissance à la mort du canard.
- les modes de transmission et de l'épidémiologie pour ce qu'on peut en connaître[1]
- les manifestations respiratoires et extra-respiratoires de la maladie[2], [3].

Cette pathologie est de traitement aisé si l'on traite par des antibiotiques adaptés: la sérologie pourrait en être le marqueur. Elle ne l'est pas. Nous l'oublions et elle nous oublie par ses aspects trompeurs.

Nous l'oublions : elle n'est pas réalisée quand il le faudrait pour des raisons sociales :

- La maladie atteint un milieu très défavorisé où l'emploi n'a été obtenu qu'avec difficulté, par des étrangers embauchés par une société d'intérimaires qui fait écran. Il n'y a plus la culture d'entreprise des agriculteurs vendéens créateurs de cette activité.

- Les médecins généralistes du lieu sont très vigilants et efficaces, comme en témoigne la disparition des admissions pour les psittacoses venant de leurs cabinets, mais leurs remplaçants ignorent les informations fournies par les patients eux-mêmes et qui pourraient les sauver

- La psittacose : c'est comme Alésia: elle n'a jamais existé en certains endroits et on peut çà et là trouver des tendances négationnistes chez les médecins, les patients, les entrepreneurs.

Deux décès récents ont alerté l'attention de l'Inspection du travail, de la Gendarmerie puis de l'opinion. A cette occasion la maladie a reçu un nom vernaculaire : la « Maladie du canard », avec une description nosographique tronquée: pneumonie qui tourne mal acquise dans les abattoirs de volailles, associée mentalement à une sorte de grippe que donneraient les anatidés. La maladie est mal connue dans les milieux professionnels et quasiment inconnue dans le public où elle est associée à des rumeurs[4]

- La politique s'en mêle puisqu'il y a menace sur l'emploi. La production de foie gras est la seule activité régulièrement rentable du secteur agro-alimentaire. De plus les éleveurs ont gardé un mauvais souvenir de l'épidémie de grippe aviaire. Ils craignent un effet "vache folle".

Ce mur de difficultés devrait pouvoir être franchi par la pratique de la sérologie.

La sérologie jusqu'à présent servait de référence pour les cliniciens et en matière médico-légale.

Elle est demandée devant des pneumopathies sévères atypiques chez des éleveurs de volailles.

On attend une élévation du taux des anticorps.

Or les caractéristiques de l'immunité contre *C. psittaci* bousculent les conceptions anciennes des cliniciens qui passent au rang d'idées reçues, comme les conceptions que s'en fait le public.

La chlamydiose à *C. psittaci* a un profil clinique pour laquelle on s'attend à une immunité de type humoral :

- La maladie passe pour être une pneumopathie d'allure grippale: en fait c'est une septicémie, avec des formes neurologiques dont "l'oreille de fermier" que l'on retrouve fréquemment en prélude à l'infection grave respiratoire, mais il y a de simples bronchites qui passent inaperçues[5], et qui aux yeux des professionnels des abattoirs représentent une sorte de vaccination obligatoire et protectrice si on l'entretien régulièrement.

- Le mode de transmission serait connu: poussières de fèces. En fait les microgouttes ont un rôle et un kärcher serait un instrument très dangereux, des travaux d'entretien aussi. Ne pas rester à côté de canards qui pataugent dans la boue surtout s'il y a du vent.

- Un contact unique, très bref suffit: cette affirmation par contre reçoit des vérifications quasi expérimentales fréquentes. L'incubation de 5 à 10 jours est souvent retrouvée. Sur ces premiers aspects la maladie est apparentée à une maladie respiratoire bactérienne ou virale banale, saisonnière pourvue d'une immunité de type humoral.

Mais le clinicien constate que des nuances de taille doivent être apportées la sérologie nous trompe

- La montée du taux des anticorps est lente, puisqu'on demande non pas 15 jours mais trois semaines à un mois pour faire les comparaisons. Les secondes sérologies manquent souvent.

- Le taux d'anticorps est faible, bien plus faible que le taux des réactions

croisées avec *C. pneumoniae*.

- Il est d'autant plus faible que le traitement a été commencé tôt et la trace sérologique peut tout simplement être absente, même dans des formes graves prouvées par PCR.

- La protection apportée par l'infection est curieuse, car elle dure moins d'un an: à preuve les récurrences de Noël chez les couples de gavageurs qui ne travaillent qu'en haute saison.

Se reposer sur la seule sérologie ou l'ignorer: le résultat est le même, les incertitudes sont dangereuses

- Selon les professionnels, tous les canards ou presque seraient infectés: ce n'est pas tout à fait exact mais pose le problème des souches réellement dangereuses, et aussi celui de souches inoffensives et potentiellement vaccinales.

- Et si *C. psittaci* n'était pas la responsable de la plupart des infections, mais une autre chlamydie ?[6]

- La maladie atteinte, nous disent les professionnels, les nouveaux ouvriers: ceux qui pratiquent l'élevage pour la première fois, ont une activité assez lointaine vis-à-vis de l'élevage: il est d'autant plus difficile de mettre à leur disposition des moyens diagnostics corrects et des décès "par pneumonie" ne sont pas rattachés à la psittacose

- Presque tous les ouvriers réguliers ont une infection dans leurs premiers mois de travail[7] et une étude sommaire montre que les bronchiteux chroniques ont plus de chance de fabriquer des anticorps. Bien des maladies professionnelles ont été déclarées chez des fumeurs qui avaient fait une bronchite à pneumocoques.

- Il n'y a pas de formes chroniques: mais la chlamydia a été soupçonnée de s'associer à une vascularité et de favoriser l'infarctus du myocarde. C'est là que la sérologie pourrait avoir son intérêt en témoignant d'une exposition.

- La déclaration de maladie professionnelle prouvée par une sérologie aiderait à cerner l'épidémie: idée reçue dangereuse car dans notre pratique la moitié environ des patients atteints sont des bénévoles, des proches de la famille non déclarés qui ne tiennent pas à se faire connaître, des temps partiels[8]...

- Un masque protège efficacement: oui si on le porte et s'il n'y a aucune interruption au fil des années pour les professionnels. Mais comment faire porter un masque aux gavageurs, aux voisins des élevages, aux électrotechniciens de maintenance? comment éviter ces quelques secondes d'inhalation de particules infectantes chez les patients dont on a soigneusement empêché l'immunisation? [9] surtout si le germe le plus redoutable n'est pas *C. psittaci* mais un autre agissant de manière inconnue?

- Il faut éviter de traiter à l'aveugle par des macrolides ou des quinolones et attendre le résultat de la sérologie...encore une affirmation dangereuse en pratique: c'est trop long et même le délai de l'immunofluorescence paraît trop long. Il faut une réponse dans les 24 heures.

En pratique et dans l'intérêt des patients, le diagnostic de psittacose est affirmé sur une exposition, des signes cliniques évocateurs. La sérologie a un intérêt comme témoin d'exposition Si l'augmentation du taux est réellement observée, la pneumopathie est guérie depuis longtemps. Le diagnostic biologique repose aujourd'hui de préférence sur la PCR qu'il faudrait pouvoir mettre à la disposition de toute la population. Une structure proche des CLAT pourrait soutenir cette action et procurer une éducation dans les zones d'endémie.

Références :

1. Etude descriptive de la psittacose humaine dans le centre-ouest et l'ouest de la France, 2008-2009, menée par l'INVS en ligne sur (-è_01.: <http://www.invs.sante.fr/surveillance/psittacose/index.htm>
2. BREWIS C., McFERRAN D.J., 'Farmer's ear': sudden sensorineural hearing loss due to Chlamydia psittaci infection. J Laryngol Otol 1997, 111 (9): 855-857
3. VANROMPAY D, DUCATELLE R, HAESBROUCK F, Chlamydia psittaci infections : a review with emphasis on avian chlamydiaosis Vet Microbiol 1995 jul;45(2-3): 93-119
4. Le Journal du Pays yonnais du jeudi 28 juin 2012 : 'Décès par maladie du canard : les employeurs face aux juges'
5. NEWMAN C.P. St J., PALMER, S.R., KIRBY, F.D., CAUL E.O., 1992, A prolonged outbreak of ornithosis in duck processors, Epidemiol. Infect, 108, 203-210
6. LAROUCAU, K., VORIMORE F., AAZIZ, R., BERNDT A., SCHUBERT Evelyn, SACHSE, K., 2009, Isolation of a new chlamydia agent from infected poultry coincided with cases of atypical pneumonia among slaughterhouse workers in France, Infection, Genetics and Evolution, 9 (2009) 1240-1247
7. DICKX V., GEENS T, DESCHUYFFELEER T, TYBERHIEN L, HARKINESHAD T, BEECKMAN L, VANROMPAY D, Chlamydia psittaci zoonotic risk assessment in a chicken and turkey slaughterhouse, Journal of clinical microbiology, sept. 2010, p. 3244-3250
8. LAURENS E., MASSON P., MAURY B., BESCHU D., EB F., Pneumonie à *Chlamydia psittaci* à propos de 46 observations, Rev Fr Mal Resp, actes du 4^{ème} congrès de Pneumologie de Langue Française, 1S34 N°53
9. Committee of the national Association of State Public Health Veterinarians: Compendium of measures to control Chlamydia psittaci infections among humans (Psittacosis) and pet birds (Avian chlamydiaosis), 2000, en ligne sur <http://www.cdc.gov/ncidod/y> est clairement fait appel à des appareils respiratoires, et à des cabines de protection biologique.

Legionella sp : que faisons-nous ? Que faut-il oublier ? Le point de vue du microbiologiste.

S. Jarraud

Centre National de Référence des légionelles, Bron, France

Le diagnostic de la légionellose s'appuie sur l'existence d'une pneumonie cliniquement et/ou radiologiquement confirmée. Néanmoins, seuls les examens microbiologiques apportent la certitude diagnostique. Les critères de définition des cas de légionellose en France ont été redéfinis fin 2011 : un cas est confirmé par l'isolement de *Legionella spp.* et/ou la présence d'antigène soluble urinaire et/ou une augmentation du titre d'anticorps (x4) avec un deuxième titre minimum de 128. La mise en évidence d'un titre élevé supérieur à 256 unique ou répété, et depuis fin 2011 la PCR, représentent les méthodes permettant un diagnostic probable de légionellose.

La place de la sérologie dans le diagnostic des légionelloses est une question récurrente. La détection des antigènes urinaires est le test de 1^{ère} ligne permettant de poser un diagnostic rapide, précoce et simple. Le diagnostic reste possible même après un traitement antibiotique adapté. Cette méthode présente cependant quelques limites. Ce test est limité à *L. pneumophila* sérotype 1 (Lp1), ce sérotype représente néanmoins 80 à 90% des cas de légionellose. La sensibilité est estimée à 70-90 % et apparaît améliorée si les urines sont préalablement concentrées (1). La sensibilité est corrélée positivement à la sévérité de l'infection; ainsi la description d'un épisode épidémique montre que les tests étaient positifs à 88 – 100% pour les formes sévères et seulement à 40 – 53% pour les formes moins sévères (2). La sensibilité des tests est enfin variable selon qu'il s'agisse de légionellose nosocomiale, communautaire ou liée au voyage. Les sensibilités sont alors respectivement de 44-46 %, 76-87 % ou 94 % (3,4). Ces différences sont expliquées par le fait que les tests de détection d'antigènes mettent en évidence principalement les souches reconnues par les anticorps monoclonaux appelés Mab-3/1 qui sont principalement responsables de légionelloses communautaires et surtout liées aux voyages; les souches Mab3/1 négatives étant principalement responsables de cas nosocomiaux.

L'introduction des outils moléculaires dans les critères de définition des cas a pour principal objectif d'améliorer le diagnostic par la détection d'autres sérotypes de *L. pneumophila* et d'autres espèces. Des données préliminaires suggèrent de plus que l'utilisation d'une PCR quantitative pourrait avoir un intérêt pour le pronostic de l'infection, le taux d'ADN semblant être corrélé à la sévérité de l'infection. Si on s'intéresse aux cas à Lp1, les études évaluant les performances de la PCR *Legionella* sur prélèvements respiratoires par rapport aux performances des tests de détection de l'antigène urinaire sont rares mais montrent que la sensibilité de la PCR n'est pas meilleure que celle des tests urinaires.

La mise en culture d'échantillon respiratoire pour recherche de *Legionella* reste fortement indiquée, notamment en cas d'antigénurie positive, pour réaliser les investigations épidémiologiques afin de préciser la source de contamination ou documenter le caractère groupé des cas. La culture permet encore actuellement des diagnostics de 1^{ère} intention de cas à *Legionella pneumophila* non sérotype 1 et à *Legionella non pneumophila*, non réalisés par antigénurie.

Dans ce contexte, la place de la sérologie apparaît limitée. Son principal intérêt est de détecter des réponses anticorps spécifiques pour l'ensemble des sérotypes de *L. pneumophila* ce qui permet d'identifier le sérotype en cause, et potentiellement pour toutes les espèces de *Legionella*. Néanmoins pour des raisons de praticabilité, seuls les anticorps de quelques espèces autres que *L. pneumophila* sont régulièrement recherchés par le CNR des légionelles. La sérologie a pour principal inconvénient de ne permettre qu'un diagnostic rétrospectif, les anticorps apparaissent le plus souvent deux semaines voire cinq semaines après le début de l'infection. La sensibilité de la sérologie varie suivant les études de 60 à 80 % et de nombreuses réactions croisées ont été décrites. Le sérodiagnostic est réalisé par immunofluorescence indirecte (IFI) ou à l'aide de tests ELISA. Les critères de définition des cas de légionellose incluent uniquement des critères d'IFI. La technique ELISA est largement proposée comme méthode de criblage pour la détection des anticorps de *L. pneumophila* (le plus souvent sérotypes 1 à 7) et montre une bonne corrélation avec les résultats de l'IFI. Pour être en adéquation avec les critères de définition de cas, les séroconversions devraient néanmoins être confirmées par une technique IFI. Enfin, un inconvénient majeur de la sérologie est la nécessité d'obtenir deux sérums à plusieurs semaines d'intervalle. L'absence d'un premier sérum rend extrêmement délicate l'interprétation de la sérologie car pour un titre élevé unique ou répété, la valeur prédictive positive (VPP) est extrêmement basse de 15 %. Le titre de 256 pour un sérum unique est utilisé pour déclarer un cas de légionellose présomptif durant une épidémie; son interprétation est beaucoup plus délicate en présence d'un cas sporadique.

Quelles sont les pratiques diagnostiques pour la légionellose en France? Une enquête récente réalisée par l'INVS conjointement au CNR a permis de préciser les pratiques diagnostiques en 2010, de 423 laboratoires hospitaliers interrogés (à l'exclusion du sérodiagnostic). Parmi ceux-ci 57 laboratoires (13,5%) n'ont réalisé aucune analyse en 2010. Les 345 laboratoires interrogés ayant répondu à l'ensemble du questionnaire pratiquent tous la détection des antigènes urinaires, 50% la culture et 8% la PCR (cette méthode n'étant pas encore incluse dans les critères de définition des cas). Sur les 160 000 tests urinaires réalisés en 2010, 0,87% étaient positives (5).

Par quelles méthodes les cas de légionellose sont-ils diagnostiqués en France? Les données de l'INVS issues du système de déclaration obligatoire pour les années 2008 à 2011 montrent que parmi les 5605 cas enregistrés au niveau national, 98,3% des cas étaient des cas confirmés. Parmi l'ensemble des cas, la très grande majorité (5381=96%) ont été diagnostiqués

par détection de l'antigène urinaire. Les autres méthodes qui ont permis le diagnostic des cas sont : la culture pour 76 (1,4%) cas, la séroconversion pour 52 (0,9%) cas, la sérologie isolée pour 75 cas (1,3%) et la PCR pour 21 (0,4%) cas (la PCR n'étant pas encore incluse dans les critères de définition des cas). Parmi les 52 cas diagnostiqués par séroconversion, l'espèce était connue pour 39 cas. Ces cas étaient tous des cas à *Legionella pneumophila* : 16 étaient des cas à LP1, 13 à LP non précisé, 2 à LP3, 1 LP4, 2 LP5, 3 LP6, 1 LP7, 1 LP8. Parmi les 16 cas à LP1, 13 cas avaient un test antigène urinaire négatif. Parmi les cas pour lequel le diagnostic avait été effectué par une antigénurie positive, 102 cas ont eu une première sérologie et 31 cas une 2^{ème} sérologie.

Que faut-il oublier ?

Le test de 1^{ère} ligne doit rester la détection des antigènes dans les urines. Si le test est positif, il apparaît important de ne pas réaliser de sérologie. Dans ce contexte, la culture doit au contraire être réalisée de façon systématique. La PCR *Legionella* n'a pas d'intérêt, seule une PCR spécifique Lp1 peut dans certaines situations être intéressante pour confirmer ou infirmer le sérotype en cause.

Chez les patients présentant une pneumopathie compatible avec une légionellose et si la détection des antigènes dans les urines est négative, la PCR est la méthode à privilégier, associée ou non à la culture. La sérologie ne devrait être pratiquée que si la PCR ne peut être réalisée par défaut d'échantillon respiratoire ou exceptionnellement si la PCR *L. pneumophila* est positive et que l'identification du sérotype est importante (délai acceptable pour obtenir un 1^{er} sérum).

Chez les patients présentant une pneumopathie compatible avec une légionellose contractée au cours de leur hospitalisation, il est important de prendre en compte la plus faible sensibilité des tests urinaires dans ce contexte.

Au total, la place de la sérologie dans le diagnostic des légionelloses devrait être très limitée si en parallèle la méthode PCR se développe.

Références :

- Guerrero C, Toldos CM, Yague G, Ramirez C, Rodriguez T, Segovia M. Comparison of diagnostic sensitivities of three assays (Bartels enzyme immunoassay [EIA], Biotest EIA, and Binax NOW immunochromatographic test) for detection of *Legionella pneumophila* serogroup 1 antigen in urine. *J Clin Microbiol.* 2004 Jan; 42(1): 467-8.
- Yzerman EP, den Boer JW, Lettinga KD, Schellekens J, Dankert J, Peeters M. Sensitivity of three urinary antigen tests associated with clinical severity in a large outbreak of Legionnaires' disease in The Netherlands. *J Clin Microbiol.* 2002 Sep; 40(9): 3232-6.
- Helbig JH, Uldum SA, Bernander S, Luck PC, Wewalka G, Abraham B, et al. Clinical utility of urinary antigen detection for diagnosis of community-acquired, travel-associated, and nosocomial legionnaires' disease. *J Clin Microbiol.* 2003 Feb; 41(2): 838-40.
- Olsen CW, Elverdal P, Jorgensen CS, Uldum SA. Comparison of the sensitivity of the *Legionella* urinary antigen EIA kits from Binax and Biotest with urine from patients with infections caused by less common serogroups and subgroups of *Legionella*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2009 Jul; 28(7): 817-20.
- Evaluation quantitative du système de surveillance des légionelloses en France en 2010, Rapport de l'Institut de Veille Sanitaire. www.invs.sante.fr

264/64s 23/11/2012 - 15:40 - AMPÈRE 8

***Legionella sp* : que faisons-nous ? Que faut-il oublier ? : Le point de vue du clinicien.**

J.F. Timsit

CHU, Grenoble, France

I - Rapide survol de la présentation clinique des formes graves

La légionellose représente 4-7% des pneumopathies communautaires hospitalisées et 8 à 20% des pneumonies communautaires admises en réanimation. En France, les légionelloses nosocomiales représentent moins de 15% des cas.

La légionellose survient fréquemment chez des hommes, âgés, ethylo-tabagiques (30-60%) des cas. Des maladies chroniques comme le diabète (>10%), une immunodépression (>10%) ou un cancer sont fréquemment rapportés.

Le temps passé entre le début des symptômes et l'hospitalisation est fréquemment de l'ordre d'une semaine (6 +/- 3 jours dans notre expérience (1)).

La légionellose entraîne fréquemment une hospitalisation en réanimation avec un tableau de détresse respiratoire et une pneumonie condensante fréquemment bilatérale et mal systématisée. On retrouve des signes extra-respiratoires dans 45% des cas (douleurs abdominales, diarrhée, vomissement, encéphalopathie). L'hyponatémie et des anomalies du bilan hépatique sont plus fréquentes dans la légionellose que dans les autres pneumonies communautaires.

Cependant aucune manifestation clinique et aucun paramètre radiologique ou biologique ne permet de distinguer formellement une légionellose d'une autre pneumonie communautaire.

Dans les formes hospitalisées en réanimation (1,2), L'évolution vers un état de choc septique (57%) et un syndrome de détresse respiratoire aigue de l'adulte est fréquente (46%). Le décès hospitalier survient dans 19 cas (23%).

Le traitement antibiotique par macrolides et/ou fluoroquinolones est débuté en moyenne 6.7 heures après l'admission à l'hôpital (écart type 3.2). La fluoroquinolone est débutée dans les 8 heures suivant l'admission à l'hôpital

dans deux tiers des cas.

Dans notre expérience de 83 cas de réanimation, le diagnostic est fait par l'antigénurie dans 74 cas (89%). La culture n'est positive que dans 18 cas (21.7%) après 5 jours en médiane. Le sérotype le plus fréquent diagnostiqué est *L. pneumophila* de type 1 (LP1) dans 89% des cas. Dans notre expérience la sérologie ne permet à elle seule le diagnostic que dans 9 cas.

Les facteurs de mauvais pronostic sont, non seulement la gravité de l'état physiologique antérieur et la gravité de la maladie aigue, mais aussi une infection liée à une légionelle autre que LP1 (1,2).

II- Apport potentiel des tests diagnostiques

Dans les études portant sur des populations de patients sévères des années 2000, l'utilisation de macrolides ou de fluoroquinolones dans les 8 premières heures améliorerait le pronostic des légionelloses graves. A l'opposé, la sur-utilisation des fluoroquinolones dans les pneumonies aiguës communautaires favorisent l'émergence de bactéries multirésistantes (3).

Pour le clinicien, il convient donc de détecter précocement la maladie avec un test ayant une bonne sensibilité et une excellente spécificité, simple et disponible rapidement. La détection d'antigène urinaire est donc un test adapté pour les formes de légionelloses liées à LP1.

La PCR quantitative en temps réel ciblant le gène codant pour l'ARN16S ou le gène mip possède une bonne valeur diagnostique si elle est effectuée sur des prélèvements respiratoires de bonne qualité (4). Dans notre expérience, l'évolution de la charge bactérienne pourrait permettre de différencier des patients répondant rapidement au traitement (5).

Au vu des données précédentes, Il nous manque

Un test possédant les mêmes propriétés pour les légionelloses non liées à LP1

Un test permettant un diagnostic précoce pendant la phase pré-hospitalière aisément utilisable par le médecin de ville.

Pour les patients les plus graves un test microbiologique confirmant le succès microbiologique du traitement entrepris permettrait l'optimisation thérapeutique des formes les plus graves.

La sérologie ne peut pas remplir cet objectif. Nous pourrions y substituer une sérothèque systématique qui ne serait utilisée qu'à des fins épidémiologiques ou pour confirmer ou infirmer des cas litigieux.

Références :

- Remy J, Kouatchet A, Hammer L, Tayoro J, Perrotin D, Guitton C, Schwebel C, Bonadona A, Hamidfar-Roy R, Tabah A, Barnoud D, Timsit JF – déterminants du pronostic des légionelloses graves hospitalisées en réanimation, étude multicentrique – Réanimation 2009 ; S1 : SO 078.
- Gacouin A, Le Tulzo Y, Lavoue S, et al. Severe pneumonia due to *Legionella pneumophila*: prognostic factors, impact of delayed appropriate antimicrobial therapy. *Intensive Care Med* 2002;28(6):686-91.
- Charbonneau P, Parienti JJ, Thibon P, et al. Fluoroquinolone use and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* isolation rates in hospitalized patients: a quasi experimental study. *Clin Infect Dis* 2006;42(6):778-84.
- Maurin M, Hammer L, Gestin B, Timsit JF, Rogeau O, Delavena F, Tous J, Epaulard O, Brion JP, Croize J – Quantitative real-time PCR tests for diagnostic and prognostic purposes in cases of legionellosis – *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:379-384
- Shadoud L, Recule C, Pelloux I, Croize J, Jarraud S, Timsit JF, Maurin M – Suivi de la cinétique des charges bactériennes par PCR en temps réel chez les patients atteints de légionellose – RICA1 23-24 nov 2012

265/65s 23/11/2012 - 14:30 - AMPÈRE 9

***Mycoplasma pneumoniae* gagne du terrain en France et en Europe.**

S. Pereyre

USC EA 3671, Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, INRA, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

Mycoplasma pneumoniae est responsable d'infections respiratoires plus fréquentes chez l'enfant et l'adulte jeune. Il n'appartient pas à la flore commensale. Dans sa forme la plus caractéristique, l'infection à *M. pneumoniae* réalise un tableau de pneumopathie atypique, d'installation progressive, avec de la fièvre, une toux sèche et des signes d'atteintes de la sphère ORL. *M. pneumoniae* serait ainsi responsable de 15 à 20% des pneumopathies communautaires, chiffre pouvant s'élever selon les études à 50% chez l'enfant (1). Cependant, dans la majorité des cas, l'infection à *M. pneumoniae* se manifeste par de simples trachéobronchites associant asthénie et toux sèche, pour lesquelles le diagnostic étiologique est rarement porté (1). Ce mycoplasme pourrait aussi jouer un rôle dans les exacerbations aiguës de l'asthme (1). *M. pneumoniae* est aussi responsable de complications extra-pulmonaires avec ou sans atteinte respiratoire associée. Les plus fréquentes sont des manifestations dermatologiques, éruptions, érythèmes, syndrome de Stevens Johnson, et des manifestations neurologiques telles que des méningo-encéphalites.

Les infections à *M. pneumoniae* surviennent sur un mode endémique, avec des poussées épidémiques tous les 4 à 7 ans, périodicité très probablement liée à des changements antigéniques au niveau de l'adhésine P1, protéine immunodominante (1).

En novembre 2010, une première publication fait état de l'augmentation récente des cas d'infections à *M. pneumoniae* au Danemark (18). Une épidémie est à nouveau rapportée dans ce pays en automne-hiver 2011 (21). Des épidémies sont aussi rapportées lors de ces mêmes saisons en 2010 puis en 2011 en Angleterre et au Pays de Galles (4, 5), dans les pays d'Europe du Nord (10), en République Tchèque (10) ainsi qu'en Israël (2, 12) et récemment

au Japon (13), faisant de cette épidémie une épidémie d'envergure mondiale. Ces épidémies touchent principalement les enfants. Certains pays comme la Suède rapportent une augmentation des prescriptions de macrolides et de doxycycline, antibiotiques actifs sur ce mycoplasme (11), tandis que le Danemark fait état d'une pénurie d'érythromycine pendant l'hiver 2011-2012 (3). La France n'a pas été épargnée. A Lyon, une augmentation des échantillons respiratoires positifs à *M. pneumoniae* a été rapportée chez les enfants de 5 à 15 ans en 2011 (9). Une recrudescence des cas a aussi été décrite en 2011 à Caen (17) et à Bordeaux (15).

L'espèce *M. pneumoniae* est une espèce homogène pour laquelle la principale méthode de typage était initialement basée sur l'étude du gène de l'adhésine P1. Les techniques d'étude de ce gène, PCR-RFLP (6), séquençage d'une région répétée (8), PCR en temps réel de type HRM (19), pyroséquençage pour la détection d'un SNP (20), n'ont qu'un faible pouvoir discriminant. Elles séparent les isolats cliniques en isolats de type 1, de type 2 et en quelques variants de ces deux types. De ce fait, le caractère clonal ou non des souches lors d'une épidémie n'a jamais été démontré. Dégrange *et al.* (7) ont récemment mis au point une technique de MLVA (Multi Locus VNTR (Variable Number Tandem Repeat) Analysis) pour le typage des souches de *M. pneumoniae*. Cette méthode s'appuie sur l'analyse de cinq loci, répartis dans le génome de *M. pneumoniae*, comportant des séquences répétées en tandem. Elle permet de distinguer plus de 30 génotypes différents. Cette technique a été automatisée puis adaptée pour être utilisable directement dans les échantillons cliniques respiratoires (14). L'utilisation de cette technique a permis de caractériser les souches diffusant au sein d'une collectivité scolaire et au sein de populations plus larges.

A Bordeaux, en janvier 2011, une épidémie de trachéobronchites et de pneumonies à *M. pneumoniae* a touché sept enfants dans une école primaire (16). Dans tous les cas, il s'agissait d'une souche de *M. pneumoniae* de type MLVA 34572 ou type J, démontrant, pour la première fois, la diffusion d'une souche clonale de *M. pneumoniae*. La même souche de *M. pneumoniae* MLVA type J a été retrouvée chez des sujets contacts asymptomatiques des familles de ces enfants, suggérant que le portage asymptomatique au sein du cercle familial est un facteur de propagation de l'infection.

Devant l'augmentation récente des cas d'infections à *M. pneumoniae*, la question de la diffusion clonale à grande échelle d'une souche unique de *M. pneumoniae* s'est posée. Nous avons étudié les types des souches de *M. pneumoniae* issues de 34 échantillons positifs à *M. pneumoniae* reçus à Bordeaux avant la période épidémique, entre 2007 et 2010, et ceux de 45 échantillons reçus en 2011 lors du pic épidémique. Comme attendu, en période endémique (2007-2010), la diffusion s'est révélée polyclonale avec 15 types MLVA différents identifiés, sans prédominance d'un type sur les autres (14). De façon plus surprenante, la diffusion pendant la période épidémique de 2011 n'était pas une diffusion clonale, mais aussi une diffusion polyclonale avec 13 types MLVA circulants (15). De la même façon, le typage de 63 échantillons respiratoires collectés à Jérusalem, Israël, pendant la bouffée épidémique de 2010, a montré une diffusion polyclonale, avec 15 types MLVA différents répartis de façon équilibrée (15). La même observation a été faite sur un nombre plus faible d'échantillons positifs à *M. pneumoniae* collectés en Angleterre et au Pays de Galles lors des pics épidémiques des hivers 2010-2011 et 2011-2012 (4, 5).

Ainsi, nous assistons actuellement à une recrudescence planétaire des infections à *M. pneumoniae*. La technique de typage par MLVA permet de reconnaître une diffusion clonale au sein une collectivité fermée mais suggère aussi que la recrudescence actuelle des cas d'infections à *M. pneumoniae* est probablement le fait de la diffusion simultanée de plusieurs clones différents. Il faut aussi garder en tête que le nombre de cas d'infections à *M. pneumoniae* comptabilisés dans les différentes publications est sans doute sous estimé en raison notamment du caractère généralement bénin et spontanément résolutif des infections à *M. pneumoniae*, de la mauvaise connaissance de ce pathogène par les médecins généralistes ainsi que de l'absence de remboursement de la PCR diagnostique en France.

Références :

- Atkinson, T. P., M. F. Balish, and K. B. Waites. 2008. Epidemiology, clinical manifestations, pathogenesis and laboratory detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. FEMS Microbiol. Rev. 32:956-973.
- Averbuch, D., C. Hidalgo-Grass, A. E. Moses, D. Engelhard, and R. Nir-Paz. 2011. Macrolide resistance in *Mycoplasma pneumoniae*, Israel, 2010. Emerg. Infect. Dis. 17:1079-1082.
- Blystad, H., G. Anestad, D. F. Vestheim, S. Madsen, and K. Ronning. 2012. Increased incidence of *Mycoplasma pneumoniae* infection in Norway 2011. Eurosurveillance 17.
- Chalker, V., T. Stocki, D. Litt, A. Bermingham, J. Watson, D. Fleming, and T. Harrison. 2012. Increased detection of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children in England and Wales, October 2011 to January 2012. Eurosurveillance 17.
- Chalker, V., T. Stocki, M. Mentasti, D. Fleming, and T. Harrison. 2011. Increased incidence of *Mycoplasma pneumoniae* infection in England and Wales in 2010: multilocus variable number tandem repeat analysis typing and macrolide susceptibility. Eurosurveillance 16.
- Cousin-Allery, A., A. Charron, B. de Barbeyrac, G. Fremy, J. S. Jensen, H. Renaudin, and C. Bébéar. 2000. Molecular typing of *Mycoplasma pneumoniae* strains by PCR-based methods and pulsed-field gel electrophoresis. Application to French and Danish isolates. Epidemiol Infect 124:103-111.
- Dégrange, S., C. Cazanave, A. Charron, H. Renaudin, C. Bébéar, and C. M. Bébéar. 2009. Development of multiple-locus variable-number tandem-repeat analysis for molecular typing of *Mycoplasma pneumoniae*. J. Clin. Microbiol. 47:914-923.
- Dumke, R., P. C. Luck, C. Noppen, C. Schaefer, H. von Baum, R. Marre, and E. Jacobs. 2006. Culture-independent molecular subtyping of

Mycoplasma pneumoniae in clinical samples. J. Clin. Microbiol. 44:2567-2570.

- Eibach, D., J. Casalegno, V. Escuret, G. Billaud, Y. Mekki, E. Frobert, M. Bouscambert-Duchamp, B. Lina, and F. Morfin. 2012. Increased detection of *Mycoplasma pneumoniae* infection in children, Lyon, France, 2010 to 2011. Eurosurveillance 17.
- Lenglet, A., Z. Herrador, A. Magiorakos, K. Leitmeyer, and D. Coulombier. 2012. Surveillance status and recent data for *Mycoplasma pneumoniae* infections in the European Union and European Economic Area, January 2012. Eurosurveillance 17.
- Linde, A., A. Ternhag, A. Torner, and B. Claesson. 2012. Antibiotic prescriptions and laboratory-confirmed cases of *Mycoplasma pneumoniae* during the epidemic in Sweden in 2011. Eurosurveillance 17.
- Nir-Paz, R., A. Abutbul, A. E. Moses, C. Block, and C. Hidalgo-Grass. 2012. Ongoing epidemic of *Mycoplasma pneumoniae* infection in Jerusalem, Israel, 2010 to 2012. Eurosurveillance 17.
- Okada, T., M. Morozumi, T. Tajima, M. Hasegawa, H. Sakata, S. Ohnari, N. Chiba, S. Iwata, and K. Ubukata. 2012. Rapid effectiveness of minocycline or doxycycline against macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae* infection in a outbreak among Japanese children. Clin. Infect. Dis. in press.
- Pereyre, S., A. Charron, C. Hidalgo-Grass, A. Touati, A. E. Moses, R. Nir-Paz, and C. Bébéar. 2012. The spread of *Mycoplasma pneumoniae* is polyclonal in both an endemic setting in France and in an epidemic setting in Israel. PLoS One 7:e38585.
- Pereyre, S., A. Charron, A. Touati, H. Renaudin, and C. Bébéar. 2012. The increased incidence of *Mycoplasma pneumoniae* infections in France in 2011 is polyclonal but mainly involves *M. pneumoniae* type 1 strains., p. 153, 19th Congress of the International Organisation for Mycoplasma, vol. Abstract book, Toulouse, France.
- Pereyre, S., H. Renaudin, A. Charron, and C. Bebear. 2012. Clonal Spread of *Mycoplasma pneumoniae* in Primary School, Bordeaux, France. Emerg. Infect. Dis. 18:343-345.
- Petitjean, J., J. Dina, S. Pradier, S. Gouarin, and A. Vabret. 2012. *Mycoplasma pneumoniae* epidemics in a hospital-based population in Normandy (1197-2012), p. 155, 19th Congress of the International Organisation for Mycoplasma, Toulouse, France.
- Rasmussen, J. N., M. Voldstedlund, R. L. Andersen, S. Ellermann-Eriksen, T. G. Jensen, H. K. Johansen, B. Kolmos, M. Molvadgaard, S. S. Nielsen, E. Olsen, K. Schønning, and S. A. Uldum. 2010. Increased incidence of *Mycoplasma pneumoniae* infections detected by laboratory-based surveillance in Denmark in 2010. Eurosurveillance 15.
- Schwartz, S. B., S. L. Mitchell, K. A. Thurman, B. J. Wolff, and J. M. Winchell. 2009. Identification of P1 variants of *Mycoplasma pneumoniae* by use of high-resolution melt analysis. J. Clin. Microbiol. 47:4117-4120.
- Spuesens, E. B., T. Hoogenboezem, M. Sluijter, N. G. Hartwig, A. M. van Rossum, and C. Vink. 2010. Macrolide resistance determination and molecular typing of *Mycoplasma pneumoniae* by pyrosequencing. J. Microbiol. Methods 82:214-222.
- Uldum, S. A., J. M. Bangsborg, B. Gahrn-Hansen, R. Ljung, M. Molvadgaard, R. Fons Petersen, and C. Widi Svarrer. 2012. Epidemic of *Mycoplasma pneumoniae* infection in Denmark, 2010 and 2011. Eurosurveillance 17.

266/65s

23/11/2012 - 14:50 - AMPÈRE 9

Mycoplasma pneumoniae : quoi de neuf sur le diagnostic et la résistance aux antibiotiques ?

C. Bébéar

USC EA 3671, Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, INRA, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

Mycoplasma pneumoniae est un mycoplasme pathogène pour l'homme entraînant des infections respiratoires chez l'enfant et l'adulte jeune. C'est la 2^{ème} cause de pneumonies aiguës communautaires derrière le pneumocoque (1). En 2010-2011, une épidémie d'infections respiratoires à *M. pneumoniae* a été décrite en Europe, en Israël et en Asie.

Le diagnostic biologique d'une infection à *M. pneumoniae* est plus souvent réalisé par la sérologie que par la culture et la PCR, cette dernière se développant de plus en plus. Ces méthodes directes ont cependant l'avantage d'affirmer le caractère récent de l'infection. De plus la PCR est plus sensible que la sérologie à la phase précoce de l'infection. En revanche, seule la recherche d'anticorps spécifiques de *M. pneumoniae* permet de différencier une colonisation éventuelle d'une infection. La combinaison de la PCR à la sérologie reste la meilleure approche pour le diagnostic de l'infection à *M. pneumoniae* (1).

Différentes cibles ont été proposées pour l'amplification génique par PCR de *M. pneumoniae*, principalement le gène de l'adhésine P1 et le gène codant l'ARNr 16S. Des techniques « maison » de PCR en point final et de PCR en temps réel sont utilisées dans certains laboratoires et il existe à ce jour de nombreuses troupes commercialisées. Des troupes sont adaptées à une PCR qualitative en point final avec révélation sur gel, d'autres ont été développées pour une PCR quantitative en temps réel adaptable sur la plupart des automates. Il existe également des troupes commercialisées de PCR multiplex en point final ou en temps réel pouvant détecter plusieurs cibles dans le même temps. La plupart détectent au moins *M. pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae* et *Legionella pneumophila*.

Du fait de son absence de paroi, *M. pneumoniae* résiste naturellement aux inhibiteurs de la synthèse de la paroi comme les β -lactamines (2). *M. pneumoniae* est sensible aux macrolides, lincosamides streptogramines et kétolidés (MLSK), ainsi qu'aux tétracyclines et fluoroquinolones. Les MLSK

sont les antibiotiques de choix pour le traitement des infections respiratoires à *M. pneumoniae* touchant principalement l'enfant. L'azithromycine et les kétolidés ont la meilleure activité *in vitro* sur *M. pneumoniae* tandis que les lincosamides, en particulier la lincosamine, ont une activité modeste.

La sensibilité aux antibiotiques de *M. pneumoniae* est très rarement recherchée. Cependant plusieurs études rapportent dans le monde depuis 2000 une augmentation significative de la résistance aux macrolides de *M. pneumoniae* entraînant des échecs thérapeutiques (2). Cette résistance, qui concerne plus de 85% des souches au Japon et en Chine en 2011, est moins fréquente en Europe où elle oscille entre 3% à 10% des isolats. Elle touche depuis 2005 environ 10% des souches françaises (3). Les souches cliniques résistantes présentent un phénotype MLS_B avec résistance acquise aux macrolides, lincosamides, streptogramines B et kétolidés. Elles ont acquis des mutations au niveau du ribosome bactérien et plus précisément de l'ARNr 23S. Récemment des techniques de PCR en temps réel ou de pyroséquencage ont été mises au point pour détecter cette résistance directement à partir des prélèvements (2). Elles devraient permettre d'adapter rapidement le traitement en cas de résistance, mais aussi de contrôler et de prévenir des épidémies à *M. pneumoniae* résistants aux macrolides en diminuant le portage pharyngé du mycoplasme et la dissémination de l'infection. Seules les tétracyclines et fluoroquinolones sont les alternatives de traitement des infections à *M. pneumoniae* résistant aux macrolides ; elles sont cependant contre-indiquées chez l'enfant. Il conviendra donc d'établir des recommandations pour la prise en charge de ces infections, qui sont devenues un challenge thérapeutique majeur en Asie (4).

Références :

1. Waites KB, Balish MF, Atkinson TP. New insights into the pathogenesis and detection of *Mycoplasma pneumoniae* infections. *Future Microbiol.* 2008; 3(6): 635-48. Epub 2008/12/17.
2. Bébéar CM, Pereyre S, Peuchant O. *Mycoplasma pneumoniae*: susceptibility and resistance to antibiotics. *Future Microbiol.* 2011; 6 (4): 423-31.
3. Peuchant O, Menard A, Renaudin H, Morozumi M, Ubukata K, Bébéar CM, et al. Increased macrolide resistance of *Mycoplasma pneumoniae* in France directly detected in clinical specimens by real-time PCR and melting curve analysis. *J Antimicrob Chemother.* 2009; 64(1): 52-8.
4. Bébéar C. Infections due to macrolide-resistant *Mycoplasma pneumoniae*: now what? *Clin Infect Dis.* 2012; Sep 12.

267/65s 23/11/2012 - 15:10 - AMPÈRE 9

Mycoplasma pneumoniae : un simple spectateur dans l'asthme ?

M. Favon^{1,2}, C. Bébéar⁴, C. Raherison³, F. Nacka¹, B. de Barbeyrac⁴, S. Pereyre⁴, H. Renaudin⁴, P.O. Girodet², F. Marquant², S. Desjardins², G. Chêne²

¹Département de Pédiatrie, Centre d'Investigation Clinique (CIC 0005) ²Pôle de Santé Publique, Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche Clinique et Epidémiologique ³Service des Maladies Respiratoires, CHU de Bordeaux ⁴Université Bordeaux 2, USC Mycoplasma and Chlamydia infections in humans, Bordeaux, France

Introduction : L'asthme est une affection des voies aériennes qui atteint en France 5% des adultes dans la population générale (1), et 10-15% des enfants et des adolescents. Alors que l'asthme est connu depuis de nombreuses années, l'augmentation récente et toujours d'actualité de sa prévalence pose d'importants problèmes de santé publique.

Le rôle des infections des voies aériennes dans les exacerbations d'asthme est bien établi (2). Ces exacerbations contribuent à un mauvais contrôle de la maladie asthmatique, sont souvent traitées par une antibiothérapie probabiliste et peuvent être à l'origine d'hospitalisations itératives.

Il est communément admis que les microorganismes pouvant être à l'origine de ces exacerbations sont souvent des virus, le plus souvent rhinovirus (C), virus respiratoire syncytial, virus influenza ou metapneumovirus (2). Les germes atypiques, *Mycoplasma pneumoniae* (Mp) et *Chlamydia pneumoniae*, peuvent être à l'origine d'infections des voies aériennes mais leur rôle dans l'exacerbation de l'asthme est d'une part mal connu, et d'autre part encore controversé (3). Ces deux pathogènes pourraient être à l'origine d'exacerbations de l'asthme compte tenu de leur tropisme respiratoire et de leur capacité à produire une inflammation diffuse du tractus respiratoire (4). Mp touche préférentiellement l'enfant et l'adulte jeune sous forme d'endémie avec des épidémies tous les 4 à 7 ans alors que l'infection à *C. pneumoniae*, endémique, est plus fréquente chez l'adulte. Ils sont difficiles à cultiver d'où une probable sous-estimation de leur incidence dans l'asthme.

Etat actuel des connaissances concernant le M. pneumoniae : L'association de Mp aux exacerbations aiguës de l'asthme a été évoquée depuis plus de 20 ans chez l'adulte (5) et l'enfant (6), avant l'avènement des méthodes de diagnostic moléculaire pour ce microorganisme. Le développement de ces techniques devrait accroître la détection d'agents infectieux dans l'asthme. Depuis cette époque, quelques publications ont suggéré qu'il existe une association entre infection à Mp à exacerbation aiguë de l'asthme notamment chez l'enfant (7-10), et chez l'adulte (11, 12). Ces études sont présentées dans le Tableau 1. Cependant, selon l'étude envisagée, les populations diffèrent et les méthodes de détection de Mp ne sont pas les mêmes, sérologie et/ou PCR (avec des techniques différentes), rendant difficiles les comparaisons.

Des travaux expérimentaux récents réalisés chez la souris confirment cette association, montrant que Mp provoque une inflammation des voies respiratoires avec une hyperréactivité bronchique. Ces effets sont encore plus marqués après sensibilisation allergénique, plaçant ainsi la souris en situation

à risque d'asthme (3, 13).

Il faut différencier le rôle de Mp en situation aiguë dans le cadre de l'exacerbation et en situation chronique dans le cadre d'un asthme stable contrôlé. Chez l'enfant, l'essentiel des études récentes porte sur le rôle de Mp dans l'exacerbation de l'asthme (9, 10), montrant une prévalence significativement plus importante de Mp chez les sujets malades versus les sujets contrôlés quand il y en a. Là encore les groupes contrôlés varient, de patients en asthme chronique stable à des contrôles sains (Tableau 1). Quelques études ont suivi l'effet d'un traitement antibiotique actif sur les germes atypiques (macrolides) chez des enfants asthmatiques en exacerbation. Elles montrent une amélioration et une résolution plus rapide des symptômes sous macrolides chez les sujets infectés par Mp (9, 10). Les sujets infectés par Mp non traités par macrolides présentent plus de récurrence ou de symptômes résiduels que les sujets infectés traités par ces antibiotiques (8-10). Dans ce cadre, l'effet des macrolides pourrait être relié aussi bien à leur activité antibactérienne qu'à leur activité anti-inflammatoire (4).

Chez l'adulte, deux études montrent les mêmes résultats que chez l'enfant dans l'exacerbation de l'asthme (11, 12), (Tableau 1). De rares études montrent un lien significatif entre l'asthme chronique stable et Mp (3, 4), avec un effet bénéfique sur la fonction respiratoire et une diminution des marqueurs inflammatoires sous macrolides, uniquement pour les patients ayant une PCR positive à Mp (4).

Tableau 1. Quelques chiffres de la littérature associant l'infection à Mp à l'asthme.

| Population | | Effectif | <i>Mycoplasma pneumoniae</i> (%) ^a | Ref |
|------------------------|---|----------|---|------|
| Age | Profil pathologique | | | |
| Enfants 3 m -14 ans | - Hospitalisation pour exacerbation asthme | 75 | 2,2 | (7) |
| | - Pas de population contrôlée | | | |
| Enfants 2-16 ans | - Hospitalisation pour exacerbation asthme | 82 | 5 | (8) |
| | - Pas de population contrôlée | | | |
| Enfants 2-14 ans | - Hospitalisation pour « wheezing » | 71 | 22,5 | (9) |
| | - Contrôles sains | 80 | 7,5 | |
| Enfants 2-15 ans | - Hospitalisation pour asthme sévère | 119 | 20 | (10) |
| | - Contrôles asthme stable ou rhinite allergique | 152 | 5,2 | |
| Adultes | - Hospitalisation pour exacerbation asthme | 100 | 18 | (11) |
| | - Contrôles sans asthme | 100 | 3 | |
| Adultes | - Hospitalisation pour exacerbation asthme | 30 | 10 | (12) |
| | - Contrôles sains | 40 | 2,5 | |
| Adultes | - Asthme chronique stable | 55 | 45,5 | (3) |
| | - Contrôles sains | 11 | 1,8 | |

^aDes méthodes de détection différentes (sérologie et/ou PCR) sont utilisées selon les études.

^bDifférence non significative de la prévalence de *C. pneumoniae* entre groupe « asthme sévère ou exacerbation d'asthme » vs groupe contrôlé.

Certaines études plus récentes ne confirment pas le rôle pathogène du Mp. En effet, Ansari et al. ont montré chez 62 adultes que le contrôle de l'asthme et les paramètres fonctionnels respiratoires n'étaient pas influencés par la présence ou non d'un Mp (14). Par ailleurs, un essai clinique réalisé chez l'adulte ne montre pas de bénéfice clinique lorsque la clarithromycine est associée à la fluticasone dans l'asthme bénin ou modéré, partiellement contrôlé (15).

La question de la pathogénie du Mp dans les exacerbations de l'asthme, et dans l'asthme chronique reste donc largement ouverte.

Étude clinique personnelle : Nous avons mené une étude longitudinale durant deux ans afin d'évaluer le rôle des infections à Mp chez les enfants et les adultes présentant une exacerbation d'asthme par rapport aux patients ambulatoires présentant un asthme chronique. La prévalence de Cp et des virus respiratoires a également été évaluée dans ces deux populations.

Chez 256 enfants et 68 adultes hospitalisés pour une exacerbation d'asthme ou suivis en consultation pour un asthme chronique, un débit expiratoire de pointe/une EFR, des prélèvements sanguins (sérologie) et des tests microbiologiques (PCR et culture) ont été effectués à l'inclusion, suivie d'une visite 7 semaines plus tard avec un 2^{ème} prélèvement (sérologie). Un entretien téléphonique a été réalisé 6 et 12 mois plus tard.

Une infection à Mp était plus fréquemment retrouvée chez les enfants souffrant d'asthme chronique (13,6%) par rapport aux enfants présentant une exacerbation (7,1%), tandis que l'inverse était constaté chez les adultes (6,3 vs 10,0%, respectivement). Une infection aiguë à Cp a été identifiée chez 3,9% des enfants et chez 7,4% des adultes. Les enfants consultant pour un asthme chronique étaient significativement plus infectés par Cp par rapport aux enfants hospitalisés pour une exacerbation d'asthme. Les virus étaient les micro-organismes les plus souvent détectés chez les enfants présentant une exacerbation d'asthme. Aucune différence n'a été constatée concernant les paramètres de suivi à court terme (score GINA de gravité, durée de l'oxygénothérapie et d'hospitalisation) et à long terme (contrôle, exacerbations), quel que soit le statut infectieux initial à Mp, chez les enfants et les adultes.

Cette étude suggère que Mp et Cp ne jouent pas un rôle direct dans la pathogénie de l'asthme aigu ou chronique chez les enfants et les adultes, et que le Mp n'est qu'un simple spectateur.

Conclusion : Si la recherche de Mp ne doit pas être systématique lors de l'asthme chronique ou en période d'exacerbation, il convient de rester prudent car le Mp peut engendrer de véritables pneumopathies sévères, ainsi que des manifestations extra-pulmonaires graves chez les enfants avec ou sans

asthme.

L'utilité des nouvelles méthodes diagnostiques pour détecter d'autres marqueurs d'activité de la maladie, pe la PCR de la toxine CARDS : community acquired respiratory distress syndrome toxin (16) est à explorer dans l'asthme.

Remerciements :

Bordeaux : Pierre-Olivier Girodet, Annaig Ozier, Axelle Demaegdt, Olivier Guissest, José-Manuel Tunon de Lara, Erick Puillandre, Patrick Berger, Najim Ifrak, Annick Andrieux, Vincent Boisserie Lacroix, Stéphanie Bui, Claudine Corneloup, Dominique Marchand, Stéphane Debelleix, Lilia Malot.

Bayonne : Cecilia Nocent, Sophie Schneider, Philippe Jouvencel

Libourne : Jean-René Nelson, Youssef Benhayoun, Jean-François Pujol

Bibliographie :

- Janson S. National Asthma Education and Prevention Program, Expert Panel Report. II: Overview and application to primary care. Lippincotts Prim Care Pract. 1998; 2: 578-88.
- Micillo E, Bianco A, D'Auria D, Mazzarella G, Abbate GF. Respiratory infections and asthma. Allergy. 2000; 55 Suppl 61: 42-5.
- Martin RJ, Chu HW, Honour JM, Harbeck RJ. Airway inflammation and bronchial hyperresponsiveness after Mycoplasma pneumoniae infection in a murine model. Am J Respir Cell Mol Biol. 2001; 24: 577-82.
- Sutherland ER, King TS, Icitovic N, Ameredes BT, Bleecker E, Boushey HA, et al. A trial of clarithromycin for the treatment of suboptimally controlled asthma. J Allergy Clin Immunol. 126: 747-53.
- Seggev JS, Lis I, Siman-Tov R, Gutman R, Abu-Samara H, Schey G, Naot Y. Mycoplasma pneumoniae is a frequent cause of exacerbation of bronchial asthma in adults. Ann Allergy. 1986; 57: 263-5.
- Berkovich S, Millian SJ, Snyder RD. The association of viral and mycoplasma infections with recurrence of wheezing in the asthmatic child. Ann Allergy. 1970; 28: 43-9.
- Freythuth F, Vabret A, Brouard J, Toutain F, Verdon R, Petitjean J, Gouarin S, Duhamel JF, Guillois B. Detection of viral, Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae infections in exacerbations of asthma in children. J Clin Virol. 1999; 13: 131-9.
- Thumerelle C, Deschildre A, Bouquillon C, Santos C, Sardet A, Scalbert M, Delbecq L, Debray P, Dewilde A, Turck D, Leclerc F. Role of viruses and atypical bacteria in exacerbations of asthma in hospitalized children: a prospective study in the Nord-Pas de Calais region (France). Pediatr Pulmonol. 2003; 35: 75-82.
- Esposito S, Blasi F, Arosio C, Fioravanti L, Fagetti L, Droghetti R, Tarsia P, Allegra L, Principi N. Importance of acute Mycoplasma pneumoniae and Chlamydia pneumoniae infections in children with wheezing. Eur Respir J. 2006; 16: 1142-6.
- Biscardi S, Lorrot M, Marc E, Moulin F, Boutonnat-Faucher B, Heilbronner C, Iniguez JL, Chaussain N, Nicand E, Raymond J, Gendrel D. Mycoplasma pneumoniae and asthma in children. Clin Infect Dis. 2004; 38: 1341-6.
- Lieberman D, Printz S, Ben-Yaakov M, Lazarovich Z, Ohana B, Friedman MG, Dvoskin B, Leinonen M, Boldur I. Atypical pathogen infection in adults with acute exacerbation of bronchial asthma. Am J Respir Crit Care Med. 2003; 167: 406-10.
- Meloni F, Paschetto E, Mangiarotti P, Crepaldi M, Morosini M, Bulgheroni A, Fietta A. Acute Chlamydia pneumoniae and Mycoplasma pneumoniae infections in community-acquired pneumonia and exacerbations of COPD or asthma: therapeutic considerations. J Chemother. 2004; 16: 70-6.
- Fonseca-Aten M, Okada PJ, Bowlware KL, Chavez-Bueno S, Mejias A, Rios AM, Katz K, Olsen K, Ng S, Jafri HS, McCracken GH, Ramilo O, Hardy RD. Effect of clarithromycin on cytokines and chemokines in children with an acute exacerbation of recurrent wheezing: a double-blind, randomized, placebo-controlled trial. Ann Allergy Asthma Immunol. 2006; 97: 457-63.
- Ansarin K, Abedi S, Ghotaslou R, Soroush MH, Ghabili K, Chapman KR. Infection with Mycoplasma pneumoniae is not related to asthma control, asthma severity, and location of airway obstruction. Int J Gen Med. 2011; 4: 1-4.
- Sutherland ER, King TS, Icitovic N, Ameredes BT, Bleecker E, Boushey HA, et al. A trial of clarithromycin for the treatment of suboptimally controlled asthma. J Allergy Clin Immunol. 2010; 126: 747-53.
- Peters J, Singh H, Brooks EG, Diaz J, Kannan TR, Coalson JJ, Baseman JG, Cagle M, Baseman JB. Persistence of community-acquired respiratory distress syndrome toxin-producing Mycoplasma pneumoniae in refractory asthma. Chest. 140: 401-7.

270/66s 23/11/2012 - 14:50 - BRILLAT SAVARIN 1

Équivalence PK/PD des génériques versus les princeps.

F. Jehl

Bactériologie, Laboratoire de bactériologie Hôpitaux Universitaires, Strasbourg, France

Pour les antibiotiques administrés par voie intra veineuse, la commercialisation des génériques n'est admise qu'après démonstration de l'équivalence pharmaceutique : il s'agit d'une équivalence de quantité d'un même composé actif dans la même présentation galénique. Les tests de bioéquivalence ne sont pas imposés, dans la mesure où la biodisponibilité des formes intra-veineuse est de 100% par définition, et que l'équivalence thérapeutique (même efficacité et même profil de tolérance que le comparateur) est, théoriquement, assurée par l'équivalence pharmaceutique sans test supplémentaires. Cependant, déjà en 1986, Dettelbach (ref) constatait que bioéquivalence et équivalence pharmaceutique n'étaient pas toujours synonymes d'équivalence

thérapeutique, la seule qui, *in fine*, devrait primer.

Qu'en est-il de l'équivalence pharmacodynamique ? Elle fait partie de l'équivalence pharmaceutique, et, pour les voies intra veineuses, suppose donc une bioéquivalence totale

Un certain nombre de travaux récents ont abordé ce problème d'équivalence PK/PD, avec des résultats discordants. Quelques exemples significatifs

1- Oxacilline : Onze génériques ont été comparés au produit *princeps* par Rodriguez et coll., en termes de composition, d'activité *in vitro* (CMI, CMB) et d'efficacité antibactérienne dans un modèle d'infection expérimentale. *In vitro*, il en ressort principalement que 8 d'entre eux ont un Emax et une ED 50 significativement plus bas bien qu'ayant des CMI-CMB équivalentes. *In vivo*, tous les génériques ont une activité bactériostatique et/ou bactéricide inférieure au produit princeps et une pharmacodynamie de bactéricidie différente.

2- Gentamicine : Vingt génériques ont été comparés à l'innovateur sur *E.coli* et *P. aeruginosa* par Zuluaga et all.

Résultats: en dépit d'une équivalence en termes de composition, d'activité anti bactérienne *in vitro*, environ la moitié des génériques ne démontrent pas une équivalence pharmacodynamique, ni thérapeutique, dans le modèle d'infection expérimentale chez la souris neutropénique

3- Vancomycine.

A - Des investigations similaires ont été réalisées dans le modèle d'infection chez la souris neutropénique avec des génériques de la vancomycine *versus* le produit *princeps* par Vesga et coll. Les CMI des génériques sont identiques à celles du produit *princeps* (Lilly). Malgré cela, dans le modèle d'infection, et pour des rapports ASC/ CMI identiques, voire supérieur pour le générique 1, ce dernier est inefficace (alors que ASC/CMI est le paramètre prédictif de l'efficacité bactério-clinique des glycopeptides). Il en est de même pour deux autres génériques, à un degré moindre mais néanmoins significatif. Dans cet exemple, l'équivalence thérapeutique ne peut être déduite de l'équivalence PK/PD.

B - Des résultats inverses ont été obtenus dans un modèle d'endocardite à SARM (RICAI 2012) qui aboutit à une équivalence thérapeutique pour six génériques de vancomycine. Ce travail n'a, néanmoins, pas pu inclure de comparateur *princeps* (Lilly). De surcroit, l'un des comparateurs stérilise 20% des végétations (titre 6.6 log cfu/g) et un autre 70% (titre 2.5 log cfu/g), sans pour autant que la différence ne soit significative en raison vraisemblablement des effectifs trop faibles.

4- Teicoplanine

7 génériques de teicoplanine ont été testés *versus* le *princeps in vitro* et par un modèle PK/PD sur 142 souches de SARM. Sur cet effectif, toutes les CMI 50 sont à 1mg/l, alors que 5 CMI 90 sont à 4 mg/L et deux à 8 mg/l. Les auteurs concluent à une équivalence d'activité *in vitro* en termes de CMI. Les AUC des génériques 5 et 7 sont 15-16% inférieurs au comparateur. Traduits en ASC/CMI, en prenant la CMI 90, les génériques 5 et 7 pourraient conduire à une situation théorique d'efficacité bactério-clinique médiocre (ASC/CMI = environ 200, pour des pré-requis de l'ordre de 400-500) et de risque de faible prévention d'émergence de résistance.

La teicoplanine, produit de fermentation, permet également d'illustrer le problème des antibiotiques constitués d'un mélange de plusieurs composés: dans le cas présent, il y a: A3; A2-1, A2.2 ; A2-3; A2-4; A2-5; A2-6. Ces composés ont leurs ratios propres dans les formulations injectées et ont leurs cinétiques sériques propres au décours de l'intervalle séparant deux administrations. A l'état d'équilibre, (environ 7 jours de traitements), les proportions respectives des constituants évoluent, par rapport au début de traitement de la façon suivante: en pic sérique, A2-1 à A2-3: de -2% à - 12%, A2-4 et A2-5 de +3 à +17%; en valeurs résiduelles, de -11% à -21% pour A2-1 à A2-3 et de +13 à +30% pour les deux autres (Jehl, données personnelles :en cours de publication). Ces variations sont inhérentes aux caractéristiques pharmacocinétiques des différents constituants de la teicoplanine *princeps*. La question sous-jacente est: faut-il exiger une similitude dd profils de ces constituants pour un générique de teicoplanine ? Existe-t-il des synergies d'action entre ces composés dans des ratios bien définis (ex: la pristinaamycine) ? existe-t-il des toxicité propres à l'un ou l'autre de ces constituants justifiant d'en connaître le profil PK précis pour tout nouveau générique ?

Globalement, il apparait difficile de tirer des règles générales permettant de statuer systématiquement à une équivalence thérapeutique ou de tolérance lorsqu'il y a une équivalence PK/PD, qui, d'ailleurs reste toujours à démontrer car elle n'est pas automatiquement liée à une équivalence pharmaceutique. Il semblerait que l'on ait à raisonner en cas d'espèces comme le montre l'exemple des génériques de gentamicine.

Références :

- Dettelbach, J. Clin.Pharmacol. 1986
- Rodriguez et al. BMC Infect. Dis. 2010; 10:153-167
- Zuluaga et al. Plos One 2010; 5
- Vesga et al. Antimicrob Agents Chemother; 2010. 54:3271-3279
- Fujimura et al. , J Infect Chemother. 2011; 17: 30-33

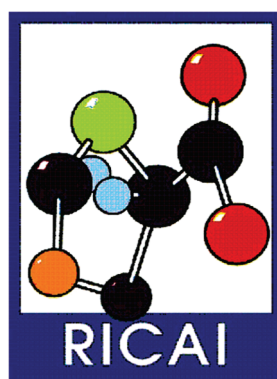
FDA: guidance for industry. Statistical approach to establishing bioequivalence. 2009

WHO: Multisource pharmaceutical products: guidelines on registration requirements to establish interchangeability; 2005

EMA: Committee for medicinal products for human use; Guidelines on the investigation of bioequivalence

**RÉSUMÉS
SESSIONS D’AFFICHES LIBRES**

*ABSTRACTS
FREE PAPERS FOR POSTERS SESSIONS*



First evaluation of chromID[®] OXA-48, a new chromogenic medium for detection of Enterobacteriaceae producing OXA-48 carbapenemase.

L. Devigne, M.P. Bourguignon, E. Courbière, S. Ghirardi, V. Vignon, G. Zambardi

R&D, BioMérieux, La Balme Les Grottes, France

Objectives: OXA-48 is an emerging carbapenemase of concern especially found in Europe, North Africa and Turkey and is responsible of outbreaks. OXA-48 producers usually are challenging to detect due to the frequent low level of expression. Furthermore, those isolates that do not co-produce an ESBL are missed by selective media aimed to detect ESBL producers. The goal of this study is to evaluate a prototype of chromID[®] OXA-48 (bioMérieux), specifically designed for the screening of OXA-48 producing Enterobacteriaceae carriers. Other available chromogenic media dedicated to the detection of carbapenemase producers also were included in the study: chromID[®] CARBA (bioMérieux), Colorex[™] KPC (Biomed Diagnostics) and Brilliance CRE (Oxoid).

Methods: The study was performed with a panel of 112 strains comprising various β -lactamases: OXA-48, carbapenemases other than OXA-48, ESBLs or high-level ampCs (some of them being associated to non-susceptibility to carbapenems by porin-loss) and oxacillinases with no carbapenemase activity. This panel also included various taxa of gram negative or positive bacteria and yeasts. The four media were inoculated by streaking a low inoculum with only 10^3 CFU per medium for the strains producing OXA-48 and a high inoculum with 10^6 CFU per medium for all the other strains. The media were read according to their package insert after 18 to 24 hours of incubation at 37°C.

Results: Despite of the low inoculum used, all the 19 strains producing an OXA-48 were positive on chromID[®] OXA-48, whereas the other media detected only 47% to 63% of those. Specificity of detection was 98% for chromID[®] OXA-48. For the other media, among the strains that do not produce a carbapenemase, 14% to 19% of them were found positive, thus necessitating the use of a carbapenemase confirmatory test.

Conclusion: This first evaluation of chromID[®] OXA-48 showed that this ready-to-use chromogenic medium appears both sensitive and specific for OXA-48 detection and therefore should facilitate infection control and prevention of outbreaks even in emerging countries. The use of both chromID[®] OXA-48 and chromID[®] CARBA, in combination, should allow an accurate detection of the clinically relevant carbapenemases including KPC, NDM, VIM, IMP, and OXA-48.

Fréquence et caractérisation moléculaire de mutants résistants au linézolide sélectionnés *in vitro* à partir de souches de staphylocoque à coagulase négative isolées d'ostéites du pied diabétique.C. Rouard^{2,3}, E. Aslangul⁴, A. Rivière², M. Olechny³, M.J. Butel³, F. Doucet-Populaire^{2,1}, N. Bourgeois-Nicolaos^{2,3}

¹EA 4043, USC INRA, Faculté de Pharmacie, Université Paris Sud, Châtenay-Malabry ²Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béchère, Université Paris-Sud, Clamart ³EA4065, UFR des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques Université Paris Descartes ⁴Service de Médecine Interne, Hôtel-Dieu, Paris, France

Objectif : La résistance au linézolide (LZ) en clinique est rare. Le mécanisme principal de cette résistance est lié à une modification de la cible par (i) des mutations dans les gènes *rrl* codant l'ARNr 23S (ii) des mutations dans les gènes *rpmC* et *rpmD* codant les protéines ribosomales L3 et L4 (iii) l'acquisition du gène *cfr* codant une ARNr méthyltransférase. L'objectif de cette étude était de caractériser phénotypiquement et génotypiquement des mutants résistants au LZ obtenus *in vitro* à partir de souches cliniques de staphylocoques à coagulase négative (SCN) isolées d'ostéite du pied diabétique.

Méthodes : Les mutants ont été obtenus par passages successifs sur milieu additionné de concentration croissante de LZ à partir de 3 souches de SCN sensibles au LZ (CMI=1mg/L) : SW1977 (*Staphylococcus warneri*), GUL2175 et SE6910 (*Staphylococcus epidermidis*). La CMI du LZ, la séquence des gènes *rrl*, *rpmC* et *rpmD* et le temps de génération ont été déterminés.

Résultats : La fréquence de mutation au LZ était faible ($< 10^{-10}$) comparée à celle de la rifampicine (4×10^{-8}) quelle que soit la souche. Les mutants résistants au LZ ont été obtenus au 6^{ème}, 8^{ème} et 9^{ème} passage pour SW1977, GUL2175 et SE6910. La CMI du LZ a augmenté pour atteindre 32 mg/L pour SW1977 au 10^{ème} passage, 64 mg/L pour SE6910 au 16^{ème} passage et par contre est restée à 8 mg/L pour GUL2175.

Chez les mutants obtenus de SW1977, la mutation G2576T a été identifiée dans 3 copies des gènes *rrl* au 6^{ème} passage puis dans 5 copies au 11^{ème} passage. Pour les mutants obtenus de SE6910 et GUL2175, la mutation G2447T dans l'ADNr23S et une mutation en position 152 dans la protéine L3 ont été identifiées.

La mutation G2576T n'a pas montré d'impact sur la croissance bactérienne des mutants, par contre l'acquisition d'une mutation dans la protéine L3 et de la mutation G2447T a augmenté le temps de génération de 35 à 45% par rapport aux souches parentales.

Conclusion : La sélection *in vitro* de souches de SCN résistants au LZ est possible mais nécessite plusieurs passages. Nous avons observé un polymorphisme dans les mécanismes de résistance et certains mécanismes ont induit un ralentissement de la croissance. Ces caractéristiques peuvent

expliquer la faible émergence de souches de SCN résistantes au LZ dans les ostéites.

Évaluation des performances d'une nouvelle bandelette Etest pour la détection de souches productrices de carbapénémases de type KPC.

D. Halimi, R. Martelin, V. Sauvonnet, M. Pompilio, S. Rivat, G. Durand, G. Zambardi

BioMérieux, La Balme les Grottes, France

Objectif : Les entérobactéries productrices de carbapénémases, comme KPC, posent un problème sérieux dans la gestion des infections liées aux soins. La détection précise de ces souches, par l'intermédiaire de tests peu coûteux et fiables, est une des clés pour prévenir et lutter contre ces infections. Des tests de synergie sont souvent préférés à la méthode de référence: le Test de Hodge Modifié, car ce dernier peut manquer de spécificité. bioMérieux a donc développé une nouvelle bandelette Etest[®] pour compléter l'offre déjà disponible dans le domaine de la détection phénotypique. Au test MBL (MP/MPi) récemment mis sur le marché, viendra s'ajouter le test KPC MP/MPB. L'objectif de cette étude est donc d'évaluer les performances de cette bandelette en utilisant un panel souches génétiquement caractérisées.

Méthode : Le test KPC MP/MPB est basé sur la réduction de la concentration inhibitrice (IC) du méropénème (MP) en présence d'un dérivé de l'acide boronique (MPB). Cette nouvelle bandelette est testée selon la procédure standard Etest[®] pour les germes à Gram négatif aérobies (0.5McF – Mueller Hinton agar-incubation à 35°C durant 16 à 20h). 128 Gram négatifs (81 souches KPC+ et 47 souches productrices de β -lactamases KPC-) ont été testés. Après incubation, une lecture de la concentration inhibitrice est réalisée pour chaque côté de la bandelette, permettant de calculer le ratio IC MP/MPB.

Le test est positif lorsque le ratio IC MP/MPB est >8 ou lorsque l'on observe une déformation de l'ellipse côté méropénème. Tous les autres résultats sont considérés comme négatifs ou indéterminés.

Résultats : Comparés aux résultats génotypiques obtenus avec le panel de souches, la sensibilité du test KPC est de 97.4% et la spécificité de 97.8% avec une prévalence de valeurs positives de 98.7% et de valeurs négatives de 95.7%. Les résultats rendus indéterminés représentent 4.7% des isolats.

Conclusion : Dans cette étude, le test Etest[®] KPC MP/MPB obtient des résultats très encourageants car il présente une bonne sensibilité et une bonne spécificité pour la détection des entérobactéries productrices de carbapénémase de type KPC. D'autres études seront réalisées sur ce test afin de confirmer ces performances mais également pour affiner et faciliter les critères d'interprétation.

Évaluation des performances d'un prototype de milieu sélectif chromogénique (MRSA SMART. BioMérieux) pour le dépistage du portage nasal de SARM permettant une lecture précoce des cultures.

F. Laurent

Centre National de Référence des Staphylocoques, Laboratoire de Bactériologie, Hôpital de La Croix Rousse, Hospices Civils de Lyon, Inserm U 851, Lyon, France

La gélose chromID MRSA[®] (bioMérieux) est un milieu chromogène sélectif destiné au dépistage du portage nasal de *S. aureus* résistant à la métilicilline (SARM) après 24h d'incubation. En routine, il arrive que la lecture du milieu soit en fait effectuée à des temps d'incubation raccourci (entre 18 et 24h), les prélèvements arrivant tout au long de la journée et les milieux étant souvent lus tous ensemble à J+1 le lendemain matin. Nous avons évalué les performances d'un milieu prototype présentant une nouvelle formulation (milieu MRSA SMART[®]) développée afin d'améliorer les performances de croissance des SARM et de permettre une lecture précoce après seulement 18h d'incubation.

Les écouvillons nasaux (n=427) ont été déchargés dans une suspension de sérum physiologique qui a servi à l'ensemencement en cadran des milieux MRSA SMART et chromID MRSA (référence). La lecture des cultures a été réalisée à 18 et 24h en tenant compte des colonies avec coloration caractéristique intense (cc) (SARM), des colonies avec coloration non caractéristique pâle (cnc), des colonies blanches (cb) ou de l'absence de colonies. A partir des colonies colorées (cc ou cnc), une identification par MALDI-TOF (bioMérieux) et une PCR ciblant le gène *mecA* ont été réalisées après ré-isolément sur gélose au sang.

| | 18h | | 24h | |
|---------------------|--------------|------------|--------------|------------|
| | chromID MRSA | MRSA SMART | chromID MRSA | MRSA SMART |
| cc | 17 | 18 | 18 | 18 |
| cnc | 0 | 2 | 0 | 5* |
| cb | xxx | xxx | xxx | xxx |
| Absence de colonies | xxx | xxx | xxx | xxx |

*espèces identifiées par MALDI-TOF : *E. faecium* (n=2), *E. cloacae* (n=1), *S. maltophilia* (n=1), *C. jeikeium* (n=1).

L'identification et la PCR ont confirmé que les cc correspondaient à des SARM et qu'à l'inverse les 5 cnc obtenues sur MRSA SMART n'étaient pas des SARM. Avec un peu d'habitude, les colorations pâles sont facilement distinguées des colorations spécifiques. En cas de doute, la réalisation d'une

coloration de Gram ou d'un test catalase suffit à différencier les espèces correspondant aux cnc des SARM. Dans ce contexte d'utilisation, le milieu MRSA SMART s'avère sensible et spécifique et a permis la détection des 18 porteurs de SARM après seulement 18 heures d'incubation.

Au final, le prototype du milieu MRSA SMART est particulièrement prometteur et adapté aux pratiques de routine des laboratoires avec une lecture possible après seulement 18h d'incubation.

277/67A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation de deux nouveaux milieux chromogènes sélectifs des entérobactéries productrices de carbapénémases.

B. Mottet-Ausel¹, R.N. Tan¹⁻²⁻³, L. Gibold¹⁻³, R. Bonnet¹⁻²⁻³, F. Robin¹⁻²⁻³

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Clermont-Ferrand ²Laboratoire associé BLSE/Céphalosporinase, CNR Résistance aux Antibiotiques ³INSERM U1071, INRA USC2018, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Objet de l'étude : La détection des souches productrices de carbapénémase est essentielle pour limiter leur dissémination. Deux milieux chromogènes sélectifs des entérobactéries productrices d'une carbapénémase (EPC) viennent d'être commercialisés (Brilliance[®] CRE, OXOID; et chromID[®] CARBA, Biomérieux). Ces deux milieux ont été évalués et comparés au milieu AES BLSE utilisé pour la recherche des entérobactéries productrices de BLSE (Drigalski + céfotaxime, MacConkey + ceftazidime).

Méthodes : 20 entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (4 KPC, 3 VIM, 2 NDM, 5 OXA-48, 6 non productrices de carbapénémases) ont été utilisées. Chaque entérobactérie a été ensemencée à partir d'une suspension initiale (à 10⁵ UFC/ml) diluée pour obtenir des concentrations de 10⁵, 10⁴, 10³, 10², et 10¹ UFC/ml. Après 24h d'incubation à 37°C les concentrations limites à partir desquelles des souches étaient détectées ont été relevées.

Résultats obtenus : Parmi les 14 souches productrices de carbapénémase étudiées, le milieu AES BLSE en détecte 85.7% (n=12) au seuil de 10³ UFC/ml, le milieu CRE 71.4% (n=10) au seuil de 10³ UFC/ml, et le milieu CARBA 78.6% (n=11) au seuil de 10³ UFC/ml. Au sein des 6 souches non productrices de carbapénémase le milieu BLSE en retrouve 100% (n=6) au seuil de 10² UFC/ml, le milieu CRE 33.3% (n=2) au seuil de 10² UFC/ml, et le milieu CARBA 83.3% (n=5) au seuil de 10⁵ UFC/ml. Les spécificités pour la détection des souches productrices de carbapénémase du milieu AES BLSE, du milieu CRE et du milieu CARBA sont donc respectivement de 0%, 66.7%, 16.7%.

Conclusion : Si le milieu BLSE présente la meilleure sensibilité, les 2 milieux CRE et CARBA présentent logiquement une meilleure spécificité, utile pour la gestion des isolements des patients, notamment en période d'épidémie. Parmi ces 2 milieux spécifiques des EPC, le milieu CRE présente une meilleure spécificité que le milieu CARBA (66.7% versus 16.7%) au prix d'une sensibilité moindre (71.4% versus 85.7% et 78.6%).

278/67A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

L'analyse systématique des mutations de l'ADN gyrase est indispensable à l'élaboration d'une stratégie fiable pour le diagnostic de la résistance aux fluoroquinolones chez *Mycobacterium tuberculosis*.

C. Bernard, N. Veziris, F. Brossier, W. Sougakoff, V. Jarlier, J. Robert, A. Aubry

Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux, Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Suite à l'utilisation des fluoroquinolones (FQ) dans le traitement des tuberculoses multirésistantes (MDR-TB), la résistance aux FQ est apparue, et avec elle les tuberculoses dites ultrarésistantes (XDR-TB). Les mutations dans l'ADN gyrase (GyrA2GyrB2), seule cible des FQ chez *M. tuberculosis*, sont le principal mécanisme de résistance aux FQ chez cette espèce. L'analyse des mutations trouvées chez les souches cliniques résistantes aux FQ, et de leur fréquence, est cruciale pour améliorer les méthodes moléculaires destinées à détecter la résistance aux FQ chez *M. tuberculosis*.

L'objet de l'étude : Était d'étudier la corrélation entre la mesure la sensibilité à l'ofloxacin et la présence de mutation dans l'ADN gyrase chez des souches cliniques de *M. tuberculosis*.

Méthodes : Le séquençage systématique des gènes *gyrA* et *gyrB* et la mesure de la sensibilité aux FQ par la méthode des proportions ont été réalisés sur les souches cliniques de *M. tuberculosis* présumées MDR, reçues au CNR de 2004 à 2010.

Résultats : Le séquençage des gènes *gyrA* et *gyrB* a été fait pour 514 souches, dont 63% MDR et 4% XDR (n=19). Parmi les 50 souches ayant une mutation dans *gyrA* et les 22 souches ayant une mutation dans *gyrB*, 29 étaient sensibles et 42 étaient résistantes aux FQ. 80% des souches résistantes aux FQ avaient une mutation unique dans *gyrA* (majoritairement aux positions 90 et 94), tandis que 16% avaient une mutation unique dans *gyrB*. Ces mutations dans *gyrB* étaient significativement associées à un faible niveau de résistance. Parmi les souches sensibles aux FQ, 5% avaient une mutation dans *gyrA* et 4% avaient une mutation dans *gyrB*. Ainsi la présence d'une mutation dans *gyrA* et/ou *gyrB*, n'est pas synonyme de résistance aux FQ, l'implication dans la résistance doit être confirmée par des études biochimiques.

Conclusions : Cette étude épidémiologique des mécanismes moléculaires de

résistance aux FQ montre que le diagnostic génotypique de la résistance aux FQ chez *M. tuberculosis* est (1) complémentaire mais pas encore en mesure de se substituer au diagnostic phénotypique, et (2) pourrait être améliorée en intégrant les données des études biochimiques visant à analyser l'impact des mutations sur la sensibilité aux FQ.

279/67A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation d'une technique de puce à ADN permettant la détection rapide et la caractérisation moléculaire des gènes de résistances des entérobactéries.

L. Bertaiola, M.L. Tritten, H.H. Siegrist, R. Lienhard
ADMED Microbiologie, La Chaux-de-Fonds, Suisse

Objectif : Améliorer la caractérisation des entérobactéries résistantes aux β-lactamines et confirmer rapidement une carbapénémase par l'utilisation de la technique d'amplification et d'hybridation sur puce à ADN « Check-MDR CT103 » (CT103) (Check-Points, Wageningen, Pays-Bas).

Méthode : Nous avons analysés 72 souches d'entérobactéries isolées dans notre laboratoire entre 2010 et 2012. Les phénotypes BLSE, carbapénémase, céphalosporinase et autres résistances sont caractérisés par les diamètres critiques et CMI (EUCAST 2012), les tests des doubles disques (5 molécules appartenant aux céphalosporines avec et sans a. clavulanicine ou cloxacilline), et le test de Hodge modifié. L'ADN est extrait sur NucliSENS EasyMag (Biomérieux). La mise en évidence des gènes de BLSE (CTX-M, TEM, SHV), AmpC plasmidiques (CMY-1/MOX, CMY-2/FOX, DHA, ACC, ACT/MIR) et carbapénémases (KPC, NDM, OXA-48, VIM, IMP) est réalisée avec le test CT103.

Résultats et discussion : Parmi les 72 souches analysées, 4 présentent 2 types de résistance différents. Parmi ces 76 profils de résistances, on obtient une totale concordance sur 68 d'entre eux (89%). Sur 50 phénotypes ESB, 49 sont génétiquement identifiés. Les gènes prédominants comprennent CTX-M1 (39%), CTX-M15-like (33%) et CTX-M9 (20%). Cette méthode a caractérisé 5 souches AmpC parmi 11 profils phénotypiques de type AmpC et 4 entérobactéries du groupe carbapénémase parmi les 5 profils suspectés. Elle nous a permis d'identifier la première souche OXA-48 au sein du laboratoire. Le CT103 n'a détecté aucun génotype de résistance non suspecté ou non identifié avec les critères phénotypiques parmi les 72 souches.

Conclusion : Nous observons une très bonne concordance entre les profils phénotypiques établis et les génotypes révélés par le CT103. Ce test représente une méthode précise, utile et efficace pour la caractérisation des gènes de résistance, l'identification rapide des carbapénémases et le suivi épidémiologique des souches mises en culture dans les laboratoires.

280/67A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Comparative evaluation of three selective media for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae.

T.D. Huang, C. Berhin, Y. Glupczynski

Laboratoire de Microbiologie, CHU Mont-Godinne (UCL), Yvoir, Belgique

Aims: Early detection by screening of infected patients and carriers of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (CPE) is of importance to prevent the spread of these isolates. We evaluated here the performance of three selective media to detect CPE isolates.

Methods: A collection of clinical isolates including 100 CPE isolates with characterized carbapenemases (OXA-48 [n=58], VIM-type [n=20], KPC-2 [n=17], NDM-1 [n=5]), 53 carbapenem non-susceptible Enterobacteriaceae (CNSE) not producing carbapenemase (likely porin deficient) isolates and 24 carbapenem susceptible Enterobacteriaceae (CSE) isolates was challenged against the different culture media. Two different inocula were used: 10⁶ CFU/spot (high inoculum) for CSE isolates and 10² CFU/spot (low inoculum) for CPE and CNSE isolates. The media used for detection of CPE included: chromogenic Colorex KPC medium (CKPC; CHROMagar), chromogenic Brilliance CRE medium (CCRE, Oxoid) and Supercarba medium (CSC; prepared on site with components kindly provided by L. Poirel/P. Nordmann, CHU Bicêtre, Paris). A MacConkey agar (Oxoid) was used as growth control. The analytical performances of each individual medium for the detection of CPE were calculated based on growth of CPE isolates at low inoculum and of CSE isolates at high inoculum.

Results: Overall sensitivities of 48%, 86% and 97% with CKPC, CCRE and CSC respectively were found for the detection of the 100 CPE isolates. All KPC-producing isolates were detected on all three media. However, significant differences in sensitivities were observed with OXA-48 producers (n=58) between CKPC (31%), CCRE (88%) and CSC (100%). Three CPE isolates only (all VIM-1 producers) did not grow on CSC. The specificities obtained with CKPC, CCRE and CSC were of 39%, 40% and 35% respectively for the inhibition growth of non-CPE isolates (n=77), but increased to 96%, 83% and 88% respectively when only CSE isolates (n=24) were considered.

Conclusions: CSC and CCRE displayed higher sensitivities compared to CKPC for the detection with low inocula of CPE isolates particularly for OXA-48 producers. CSC showed the best performance globally, but the additional workload required for the preparation of this medium may constitute a barrier for its use in a routine setting.

Évaluation du test chromogénique (betaLACTA™ test) pour la détection rapide des BLSE directement sur les urines.

S. Galah³, M. Doufair³, N. Genel², S. Vimont^{3,2}, C. Verdet³,
C. Dallenne-Redgosz¹, M. Juvin¹, G. Arlet^{3,2}

¹Bio-Rad, Marnes-la-Coquette ²Département de Bactériologie,
FMPMC ³Bactériologie, Hôpital Tenon, Paris, France

Objectif : Le test betaLACTA™ (Bio-Rad) a été développé pour la détection rapide (<15 min) des entérobactéries résistantes aux C3G à partir de colonies. De précédentes études ont montré ses excellentes sensibilités et spécificités vis à vis des entérobactéries productrices de BLSE (E-BLSE).

Dans ce travail, nous avons analysé la capacité de ce test à détecter les E-BLSE directement sur les urines positives à bacilles à Gram négatif (BGN) à l'examen direct sans attendre l'isolement et l'antibiogramme.

Méthodes : Sur une période de 3 mois (jours ouvrables), toutes les urines positives à BGN lors de l'examen direct (excepté les urines hémorragiques) ont été analysées (délai™ a été réalisé directement avec le culot urinaire après élimination du surnageant. La lecture (positif, négatif, non-interprétable) s'est réalisée entre 1 et 15 minutes. Les résultats sont confrontés à l'antibiogramme réalisé en routine.

Les E-BLSE ont été détectées par le double test de synergie et confirmées par PCR et séquençage.

Résultats : 200 urines ont été testées permettant l'isolement avec une numération $\geq 10^4$ CFU/ml de 221 BGN comprenant 207 entérobactéries (dont 149 *E. coli*, 21 *K. pneumoniae*, 19 *E. cloacae*) et 14 aérobies stricts (dont 8 *P. aeruginosa* et 3 *S. maltophilia*).

Durant la période 1, 10 urines se sont révélées positives (dont 3 avec un virage immédiat) et 2 non-interprétables. Durant la période 2, 20 urines se sont révélées positives (dont 6 avec un virage immédiat) et aucun résultat non-interprétable.

Toutes les urines positives et non-interprétables ont permis l'isolement de 33 E-BLSE (18 *E. coli*, 12 *K. pneumoniae*, 3 *E. cloacae*) dont 70% de CTX-M. Aucun test négatif n'a été associé à une E-BLSE.

Les autres BGN avec un phénotype de résistance aux β -Lactamines autre qu'une BLSE (pénicilline, céphalosporine de haut niveau, pénicilline + céphalosporine, oxacilline et TRI) ont tous été négatifs avec le test.

Conclusions : Le betaLACTA™ a permis la détection de toutes les entérobactéries BLSE directement à partir des urines, 48 heures avant l'antibiogramme. La centrifugation de 1,5 ml d'urine semble suffisante.

Évaluation d'un test rapide de dépistage du portage de gènes de résistance dans les selles.

F. Domain², V. Ubertelli², P.Y. Cousin², B. Périchon³, P. Courvalin³,
E. Blandin¹, C. Marcel¹, M. Perrier¹, T. Kesteman¹, E. Ruppé¹, A. Andremon¹,
M. Rattier², Y. Marcy²

¹Laboratoire de Bactériologie de l'hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP et
Université Paris 7 ²Genewave SAS ³Unité des Agents Antibactériens et Centre
National de Référence des Antibiotiques, Institut Pasteur, Paris, France

Contexte : Dans le cadre du projet OSEO-ISI Nosobio, Genewave a développé un test de dépistage rapide du portage digestif de gènes de résistance aux antibiotiques sur un prototype de sa plateforme Genespress®. À partir d'ADN extrait par un protocole manuel.

Objectif : Évaluation du test sur des isolats cliniques et des selles reconstituées hébergeant des gènes de résistance.

Méthodes : Étude en 2 volets :

- Validation du test sur 60 isolats portant différentes BSLE (TEM-BLSE, SHV-BLSE, CTX-M) et carbapénémases (KPC, OXA-48, VIM, IMP, NDM)
- Evaluation du test sur 120 échantillons de selles cliniques négatives reconstituées avec différentes concentrations d'isolats

Résultats : Le test rend un résultat dans 97% des cas. La sensibilité et la spécificité analytiques du test mesurées sur isolats sont respectivement pour les BSLE de 93% et de 100% et pour les carbapénémases de 82% et 100%. L'évaluation en cours dans des selles reconstituées montre que le test est capable de détecter la présence de gènes de résistance jusqu'à une concentration de 10^3 cfu/g avec une spécificité supérieure à 95%.

Conclusion : Les premiers résultats de cette évaluation permettent de démontrer la capacité de ce test à détecter une multiplicité de gènes de résistance dans des échantillons aussi complexes que des selles. De par sa rapidité, sa simplicité d'utilisation et ses performances, ce test de dépistage permettra une identification rapide des porteurs dans le contrôle de la dissémination et dans la réduction des infections.

Détection des carbapénémases au sein du genre *Acinetobacter*.

R. Bonnin^{1,2}, L. Poirel^{1,2}, P. Nordmann^{1,2}

¹Microbiologie, Hôpital de Bicêtre ²INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Introduction : La résistance aux carbapénèmes chez *Acinetobacter* sp. est d'importance clinique majeure car les carbapénèmes constituent souvent l'une des dernières options pour traiter ces infections à bactéries multirésistantes. La détection et l'identification rapide des mécanismes de résistance aux carbapénèmes sont donc cruciales pour prévenir l'apparition d'épidémies à *Acinetobacter baumannii* résistant aux carbapénèmes. Les principaux mécanismes de résistance aux carbapénèmes sont la production de β -lactamases de classe D ou de métallobactamases et dans une moindre mesure la production de β -lactamases de classe A aux propriétés de carbapénémase.

Méthodes : Différents principes de détection peuvent être utilisés incluant la détection phénotypique, la détection biochimique de l'activité carbapénémase, inhibition par l'EDTA, ou encore la détection moléculaire du gène de résistance.

Résultats/conclusions : L'analyse biochimique de l'expression enzymatique est globalement efficace mais un certain nombre de faux négatifs a été mis en évidence (notamment certains producteurs de NDM-1). L'inhibition de l'activité carbapénémase par l'EDTA est sensible mais non spécifique et de faux positifs ont été identifiés notamment parmi les producteurs de l'enzyme OXA-23. La recherche de gènes de résistance aux carbapénèmes et notamment des oxacillines (blaOXA-23, blaOXA-40 et blaOXA-58), des métallobactamases (blaIMP, blaVIM, blaSIM et blaNDM) et de certaines carbapénémases de classe A (blaKPC, blaGES) reste la technique de référence pour une identification sensible et précise des mécanismes de résistance.

Évaluation d'une nouvelle méthode de dépistage phénotypique de l'AAC(6')-Ib-cr.

R.N. Tan^{1,2}, B. Mottet-Auselo¹, L. Gibold^{1,3}, R. Bonnet^{1,2,3}, F. Robin^{1,2,3}

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU de Clermont-Ferrand ²Laboratoire associé
BLSE/Céphalosporinase, CNR Résistance aux Antibiotiques ³INSERM U1071,
INRA USC2018, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Objet de l'étude : En 2006, une nouvelle enzyme plasmidique AAC(6')-Ib-cr est décrite chez les entérobactéries, conférant une résistance aux aminosides (AS) et aux fluoroquinolones (FQ). Sa détection repose principalement sur le séquençage du gène *aac(6')-Ib-cr*. L'objectif de cette étude est d'étudier les performances d'une nouvelle technique de dépistage phénotypique décrite par Wachino et al pour la détection de ce mécanisme chez les entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE).

Méthodes : Les souches EBLSE sont isolées de prélèvements à visée diagnostique entre janvier et mars 2012 au CHU de Clermont-Ferrand.

Test de dépistage phénotypique: quelques colonies de la souche étudiée sont incubées à 37°C sous agitation dans un bouillon Luria Bertoni (LB) contenant de la norfloxacine (NOR) à 8 μ g/ml. Après 24h, 10 μ L de cette suspension bactérienne est appliquée sur un disque vierge déposé sur un milieu Mueller Hinton au préalablement ensemencé par un *E. coli* ATCC 25922 indicateur par écouvillonnage (CA-SFM). Après 24 h, un diamètre inférieur à 18 mm de l'*E. coli* indicateur est spécifique d'une dégradation de la NOR par l'AAC(6')-Ib-cr produite par la souche testée.

Le gène *aac(6')-Ib* a été détecté par PCR et la présence des mutations du variant cr a été vérifiée par séquençage.

Résultats obtenus : Sur 104 souches EBLSE, 38 présentaient une résistance aux AS dont 35 avec une résistance croisée aux FQ. Le gène *aac(6')-Ib* a été retrouvé par PCR dans 19/38 souches (50%).

Sur ces 19 souches, 16 (84%) avaient un test phénotypique positif. Le séquençage confirma que toutes ces souches positives présentaient un gène muté *aac(6')-Ib-cr*. Les 3 souches négatives au test possédaient toutes un gène sauvage. La sensibilité et la spécificité de ce test phénotypique étaient donc équivalentes à l'utilisation de la PCR et du séquençage.

Conclusion : Ce nouveau test phénotypique semble donc une méthode phénotypique simple pour la détection des souches produisant l'enzyme mutée AAC(6')-Ib-cr.

50% effective dose (ED₅₀) determination of KPI-10 for treating sepsis in mice due to quinolone-susceptible (QS) and quinolone-resistant (QR) nosocomial pathogens: comparison with ciprofloxacin (CIP).

C. Jacqueline², M. Davieau², C. Desessard¹, A.F. Miègeville², G. Potel²,
J. Caillon²

¹Atlagram ²UFR de Médecine, UPRES EA 3826, Nantes, France

Background : KPI-10 is a next generation fluoroquinolone with potent activity against multidrug-resistant pathogens, including QR strains. Using the murine sepsis model, the aim of the study was to determine the *in vivo* efficacy of KPI-10 in comparison with CIP against selected QS and QR gram-positive and gram-negative organisms.

Methods: The MICs for KPI-10 and CIP for *E. coli* QS, *E. coli* QR, *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. aureus* (MRSA), Group A *Streptococcus*, and *S. pneumoniae* strains are summarized in the Table. Mice were infected intraperitoneally with 0.5 mL of the bacterial inoculum (LD₁₀₀). Treatment was injected subcutaneously 1 and 4h after the bacterial challenge. For each drug, concentrations ranged from 0.01 to 100 mg/kg. After an observation period of 5 days, the Reed and Muench method was used for the determination of the ED₅₀.

Results: See Table.

| STRAINS | KPI-10 | | CIP | |
|-------------------------|------------|--------------------------|------------|--------------------------|
| | MIC (mg/L) | ED ₅₀ (mg/kg) | MIC (mg/L) | ED ₅₀ (mg/kg) |
| MRSA QR | 1 | 5.1 | 16 | 71.4 |
| <i>S. pneumoniae</i> QR | 0.06 | 15.7 | 1-2 | 17.3 |
| Group A <i>Strep</i> | 0.06 | 0.1 | 1 | 0.06 |
| <i>E. coli</i> QS | 0.03 | 0.4 | 0.015 | 0.2 |
| <i>E. coli</i> QR | 2 | 0.9 | 16 | 51.0 |
| <i>K. pneumoniae</i> QR | 4 | 1.0 | 32 | 11.2 |
| <i>A. baumannii</i> QR | 1 | 1.2 | 32 | 49.5 |
| <i>P. aeruginosa</i> | 0.015 | 0.8 | 0.075 | 0.2 |

Conclusions: KPI-10 exhibited similar *in vivo* activity to CIP against QS strains; however, KPI-10 demonstrated superior *in vivo* activity against QR Gram-negative isolates, including *E. coli* and *A. baumannii*. KPI-10 also demonstrated excellent activity against MRSA, with a 14-fold lower ED₅₀ compared with that of CIP. Despite a low MIC for KPI-10, the KPI-10 ED₅₀ associated with *S. pneumoniae* was similar to that of CIP. The results indicated that KPI-10 is a highly potent and effective antibacterial agent against both gram-positive and negative-gram pathogens in the murine sepsis model, including QR organisms. KPI-10 is a promising new agent for the treatment of infections due to emerging resistant pathogens.

286/68A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Caractérisation de la résistance à la tétracycline chez des souches cliniques de *Escherichia coli* isolées d'hémocultures et corrélation potentielle avec d'autres déterminants de la résistance.

S. Corvec^{1,3}, M. Lefebvre³, E. Montassier^{3,2}, N. Caroff³, E. Bataud^{3,2}

¹CHU de Nantes - Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière ²Service des Urgences CHU de Nantes ³Université de Nantes, EA3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Nantes, France

Objet de l'étude : Des données préliminaires suggèrent que la consommation hospitalière de tétracyclines (TE) est associée à la résistance de *Escherichia coli* aux quinolones. Nous formulons l'hypothèse que les résistances aux quinolones et aux TE chez *E. coli* sont liées. L'objectif de ce travail était d'évaluer la prévalence de cette résistance chez des souches cliniques de *E. coli*, de caractériser sur le plan moléculaire les gènes impliqués et d'envisager d'éventuelles corrélations avec d'autres déterminants de la résistance.

Méthodes : L'investigation de la résistance à la tétracycline a porté sur 120 isolats de *E. coli* issus de bactériémies chez des patients hospitalisés dans le service des urgences entre Juillet 2010 et Décembre 2011. L'identification et l'antibiogramme des souches ont été réalisés sur l'automate Vitek2[®] (bioMérieux). Les CMI à la TE ont été déterminées par diffusion en milieu gélosé. La souche ATCC25922 était utilisée comme témoin. Les gènes *tetA* et *tetB* ont été recherchés par PCR. Le groupe phylogénétique a été déterminé par PCR. L'association entre résistance à la TE et aux autres antibiotiques a été recherchée par le test de Fischer.

Résultats : Parmi les 120 isolats, 26,7% était résistants à la TE (n=32). Les CMI variaient de 16 à >256 mg/L; 10 souches CMI comprise entre 16-64 mg/L et 22 souches avec CMI ≥128mg/L. Les CMI les plus élevées étaient associées à la présence du gène *tetB*. 46,9% (n=15) possédaient le gène *tetA*, 46,9% le gène *tetB*. 3,1% (n=1) possédaient les deux, et 3,1% (n=1) aucun gène. Les souches appartenait respectivement pour 31,3%, 31,3%, 25% et 12,4% aux groupes A, D, B2 et B1. Il n'y avait pas d'association statistiquement significative entre le type de gène (*tetA/tetB*) et le groupe phylogénétique (p=0,29). Il y avait un lien significatif entre résistance à la TE et résistance aux β-lactamines (amoxicilline p=0,0002), aux aminosides (gentamicine p=0,002), fluorquinolones (ciprofloxacine p=0,001) et cotrimoxazole (p<10⁻⁶).

Conclusions : Chez des *E. coli* issus de bactériémies, la résistance à la TE est de 27%. La prévalence des gènes *tetA* et *tetB* était identique. Il existe une corrélation forte avec la résistance à d'autres antibiotiques notamment les fluoroquinolones et le cotrimoxazole.

287/68A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Recombinaison homologue chez *Klebsiella pneumoniae* à l'origine de la surexpression de la pompe d'efflux AcrAB.

S. Bialek-Davenet^{1,2,3}, E. Marcon¹, V. Leflon-Guibout¹, O. Tran Minh¹, R. Moreau³, M.H. Nicolas-Chanoine^{1,2,3}

¹Hôpital Beaujon AP-HP, Service de Microbiologie, Clichy ²Faculté de Médecine Paris Diderot ³INSERM U773, CRB3, Université Paris 7, Paris, France

Objet de l'étude : Chez *K. pneumoniae*, la surexpression de la pompe d'efflux AcrAB se traduit par une résistance croisée à la céfoxitine, aux quinolones, aux chloramphénicol et à la tétracycline, dénommée ci-après « phénotype efflux ».

Nous avons récemment montré que ce phénotype pouvait être expliqué par la présence de mutations ponctuelles dans le gène régulateur *ramR*, à l'origine d'une surexpression de l'activateur transcriptionnel RamA. Ici, nous décrivons pour la première fois la délétion complète du gène *ramR* chez un mutant *in vitro* surexprimant *acrB*.

Méthodes : Le mutant KPBj1 M3 Lev a été sélectionné à partir d'une souche de *K. pneumoniae* sensible aux antibiotiques, en présence de concentrations subinhibitrices de lévofloxacine. Une PCR permettant d'amplifier le gène *ramR* a été réalisée chez ce mutant, dont la sensibilité aux antibiotiques et l'expression des gènes *acrB* et *ramA* ont été comparées à celles de sa souche parentale et de son transformant avec le gène *ramR* sauvage. Enfin, une étude de la séquence du gène *ramR* et de ses régions flanquantes chez plusieurs espèces d'entérobactéries a été réalisée *in silico*.

Résultats : Le mutant KPBj1 M3 Lev présentait un phénotype efflux et surexprimait à la fois *acrB* et *ramA* par rapport à sa souche parentale. La délétion d'un fragment d'ADN de 720 pb, englobant tout le gène *ramR*, a été détectée chez ce mutant par PCR et séquençage. Cette délétion est survenue par un mécanisme de recombinaison homologue entre de courtes séquences directement répétées présentes de part et d'autre de *ramR* dans le génome de *K. pneumoniae*. L'apport du gène *ramR* sauvage a restauré la sensibilité du mutant aux antibiotiques et normalisé l'expression des 2 gènes *acrB* et *ramA*. Enfin, l'analyse *in silico* a révélé l'existence de séquences homologues encadrant *ramR* également chez *Salmonella enterica*, *Enterobacter cloacae* et *E. aerogenes*, suggérant une possibilité de délétion de ce gène aussi chez ces espèces.

Conclusion : Il s'agit de la première description dans la littérature d'une délétion complète de *ramR* chez une entérobactérie. La compréhension des mécanismes conduisant à la surexpression de l'efflux est cruciale car celui-ci participe à la multi-résistance aux antibiotiques incluant les carbapénèmes.

288/68A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Émergence *in vitro* de la résistance à la rifampicine chez *Propionibacterium acnes* : caractérisation moléculaire des mutations du gène *rpoB* impliquées.

U. Furustrand Tafin², G.G. Aubin¹, A. Trampuz², S. Corvec¹

¹CHU de Nantes - Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, Nantes, France ²Infectious Diseases Service, Department of Medicine, Lausanne University Hospital, Lausanne, Suisse

Objet de l'étude : *Propionibacterium acnes* est reconnu comme responsable d'infections sur matériel. L'activité de la rifampicine (RIF) a été démontrée sur *P. acnes* mais la résistance à la RIF n'a pas encore été décrite. Nous avons étudié l'émergence *in vitro* de la résistance à la RIF et caractérisé les mutations impliquées dans le gène *rpoB*.

Méthodes : La souche *P. acnes* ATCC11827 (CMI RIF= 0,004 µg/ml) a été utilisée. Le taux de mutation a été déterminé après pré-culture en bouillon BHI sur des boîtes MH contenant des concentrations de 4 et 8192 fois la CMI (soit 0,03 et 32 µg/ml). Les milieux étaient incubés 7 jours en anaérobiose à 35°C avant numération bactérienne. L'émergence progressive de la résistance a été étudiée par exposition à des concentrations croissantes de RIF, lors de cycle de 72h en utilisant un inoculum de 10⁶ cfu/mL ou 10³ cfu/mL. La stabilité de la résistance a été évaluée après 3 repiquages sur milieu MH. Ces expériences ont été réalisées en duplicate. Pour les mutants, le gène *rpoB* a été amplifié, séquencé puis comparé à la séquence de référence (NC006085).

Résultats : Une croissance de *P. acnes* a été observée sur les milieux contenant des concentrations de 4 et 8192 fois la CMI avec un taux de mutation respectif de 2±1 et 12±5 cfu/10⁹. La résistance progressive à la RIF est apparue au bout de 3 et 14 cycles de 72h lors de l'utilisation d'un inoculum fort ou faible. La CMI était stable et supérieure à 32 µg/ml y compris après 3 cycles de subcultures. Les mutations étaient détectées dans 2 régions (acides aminés 418 à 444 et 471 à 486) du gène *rpoB* après alignement avec la séquence de référence de *Staphylococcus aureus* (CAA45512). 3 substitutions 437His→Tyr, 442Ser→Leu et 483Ile→Val ont été détectées chez les mutants de haut niveau et 2 autres 444Leu→Ser et 485Ser→Leu chez les mutants de bas niveau.

Conclusions : A notre connaissance, il s'agit de la première description de l'émergence de la résistance à la RIF chez *P. acnes*. La CMI augmente passant de la sensibilité à la résistance. Cette dernière s'avère stable dans le temps. Comme chez d'autres espèces, cette résistance est conférée par des mutations dans le gène *rpoB*. La prévention de l'émergence de cette résistance par une association d'antibiotiques doit être évaluée.

289/68A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Profil de résistance des mycoplasmes urogénitaux aux antibiotiques : expérience du Laboratoire de Microbiologie de l'Hôpital Aziza Othmana, Tunis-Tunisie.

S. Ben Khelifa, S. Sammoud, M. Jeljili, D. Ammouche, S. Hamdi, W. Bellasoued, M. Ben Fathallah, O. Bahri

Laboratoire de Microbiologie-Biochimie, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

Introduction : *Ureaplasma urealyticum* et *Mycoplasma hominis* sont fréquemment associés à des infections génitales qui sont souvent méconnues. Ces dernières ont tendance à devenir chroniques, pouvant entraîner de graves complications, notamment une infertilité. L'utilisation intempestive

d'antibiotiques a favorisé l'émergence de souches résistantes, ce qui complique l'attitude thérapeutique.

Objectif : On se propose d'étudier le profil de résistance aux antibiotiques des souches des mycoplasmes uro-génitaux isolées dans notre laboratoire afin de reconsidérer la prise en charge syndromique.

Patients et méthodes : Notre étude s'est étendue sur une période de 7 mois allant du 1^{er} janvier jusqu'au 31 juillet 2012. Elle a porté sur tous les prélèvements génitaux réalisés à la recherche de mycoplasmes et ce dans le cadre d'un bilan d'infertilité.

Le diagnostic des mycoplasmes urogénitaux a été fait par galerie miniaturisée Mycoplasma IST 2® selon les recommandations du fournisseur. Cette galerie d'identification nous a permis l'identification du type incriminé, sa numération ainsi que l'étude de sa sensibilité vis-à-vis de 9 antibiotiques.

Résultats : Au total, 242 prélèvements ont été testés durant la période étudiée; il s'agissait de 138 prélèvements endo-cervicaux et 104 prélèvements de sperme. La recherche de mycoplasmes s'est révélée positive dans 38.4% des cas (n=93/242): 26 prélèvements de sperme et 67 prélèvements endo-cervicaux. Dans 83% des cas, la numération a été supérieure à 10⁴ UFC.

Ureaplasma urealyticum a été la souche prédominante; elle a été retrouvée dans 77% et 94% des prélèvements positifs chez l'homme et chez la femme respectivement.

Mycoplasma hominis a été retrouvé dans 4% des cas (n=10/242) dont 6 prélèvements de sperme et 4 prélèvements endo-cervicaux.

L'étude de la résistance aux antibiotiques a révélé :

- Pour Ureaplasma urealyticum: 42% de résistance à la ciprofloxacine, 22% à l'ofloxacine, 20% à l'érythromycine, 17% à l'azithromycine, 7% à la clarithromycine, 5% à la tétracycline, 4% à la doxycycline et 1% à la josamycine. Aucune des souches n'était résistante à la pristinamycine.

- Pour Mycoplasma hominis: 50% de résistance à la ciprofloxacine, 20% à l'ofloxacine, 10% à l'érythromycine, à l'azithromycine et à la clarithromycine. Aucune résistance, par contre, n'a été observée aussi bien pour la tétracycline, la doxycycline que la josamycine et la pristinamycine.

Conclusion : Les infections génitales liées aux mycoplasmes sont fréquentes et pourraient expliquer une infertilité aussi bien chez l'homme que chez la femme. La résistance aux antibiotiques de ces germes est également fréquente pouvant être responsable d'un échec thérapeutique. Notre étude démontre de l'importance de l'étude systématique de la sensibilité aux antibiotiques en cas d'infection urogénitale à mycoplasmes afin d'adapter l'attitude thérapeutique et de prévenir la sélection de souches multi-résistances pouvant entraîner des complications graves.

290/68A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Fourth Belgian multicentre survey of antibiotic susceptibility of anaerobic bacteria.

D. Van den Bossche³, I. Wybo³, E. Vekens³, K. Vandoorlaer³, G. Claeys⁵, H. Rodriguez-Villalobos¹, Y. Glupczynski⁸, M. Ieven⁴, P. Melin⁷, O. Denis², J. Verhaegen⁶, D. Piérard³

¹Cliniques Universitaires Saint-Luc ²Hôpital Universitaire Erasme ³Laboratoire de Microbiologie, Universitair Ziekenhuis Brussel, Brussels ⁴Universitair Ziekenhuis Antwerpen, Edegem ⁵Universitair Ziekenhuis Gent, Ghent ⁶Universitair Ziekenhuis Leuven, Leuven ⁷Cliniques Universitaires de Liège, Liège ⁸Cliniques Universitaires de Mont-Godinne, Yvoir, Belgique

Objectives : To collect recent data on the susceptibility of anaerobes to 10 antimicrobial agents.

Methods : 403 strict anaerobic clinical isolates from various body sites were collected from February 2011 to April 2012 in 8 Belgian university hospitals. MICs were determined centrally at one laboratory using E-test for penicillin (PEN), ceftioxin (FOX), amoxicillin/clavulanate (AMC), piperacillin/tazobactam (TZP), meropenem (MEM), clindamycin (CLI), metronidazole (MTZ), chloramphenicol (CHL) moxifloxacin (MXF) and tigecycline (TIG). When available, EUCAST breakpoints were used for interpretation.

Results : *Bacteroides* and *Parabacteroides* spp. (BAPA) accounted for 45% of the isolates, *Fusobacterium* spp. (FUS) for 5%, *Prevotella* and other Gram-negative bacilli (OGNB) for 13%, *Clostridia* (CLOS) for 9%, nonsporeforming Gram-positive bacilli (NSFGPB) for 10% and cocci (ANC) for 18%. According to EUCAST breakpoints, more than 90% of isolates were susceptible to AMC (94%), TZP (91%), MEM (96%), MTZ (92%) and CHL (98%) but only 70% and 40% to CLI and PEN respectively. At CLSI recommended breakpoints only 71% were susceptible to MOX (MIC≤2mg/L) and 79% to FOX (MIC≤16 mg/L). According to FDA breakpoints 91.8% of isolates were susceptible to TIG (MIC≤4mg/L). Overall, susceptibility to MTZ remains high. All isolates, except 14 BAPA and 1 ANC were susceptible to MEM. *Cfa* gene was present in 2 out of 9 MEM non-susceptible *B. fragilis* isolates. In the group of BAPA, susceptibility of *B. fragilis* and non-*B. fragilis* to AMC (TZP) was 96% (96%) and 81% (78%), respectively. All isolates of the other groups except 1 ANC were susceptible to AMC. More than 95% of FUS, OGNB and ANC isolates, 95% of CLOS and 90% of NSFGPB were susceptible to TZP. When compared to survey data from 2004, no major differences in susceptibility profiles was noticed with the single exception of the susceptibility of OGNB to CLI which decreased from 91% in 1993-1994 and 82% in 2004 to 69% in this survey.

Conclusion : MEM and MTZ remain very potent antimicrobial agents in the treatment of anaerobic infections. However resistant organisms were detected to each of them. Therefore susceptibility testing of anaerobic isolates is indicated in severe infections to confirm appropriateness of antimicrobial therapy.

291/68A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Étude de la sensibilité aux antibiotiques d'intérêt clinique chez des souches françaises de *F. tularensis* subsp. *holarctica*.

V. Sutura¹⁻³, M. Levert³, J.N. Del Bano¹, D. Schneider^{1,3,2}, M. Maurin^{1,3-2}

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU de Grenoble ²UM5163, CNRS ³Laboratoire Adaptation et Pathogénie des Micro-organismes, Université Joseph Fourier, Grenoble, France

Francisella tularensis est un bacille à Gram-négatif intracellulaire facultatif. Deux sous espèces sont responsables des cas humains de tularémie : *F. tularensis* subsp. *tularensis* en Amérique du Nord, et *F. tularensis* subsp. *holarctica* dans tout l'hémisphère Nord. Zoonose de faible incidence en France, la tularémie se manifeste le plus souvent sous la forme d'adénopathies régionales ou rarement par des formes systémiques (pulmonaires ou typhoïdiques). Le traitement de première intention correspond à l'utilisation d'une fluoroquinolone ou de la doxycycline, associée à la gentamicine dans les formes systémiques graves.

Cette étude porte sur l'évaluation de la sensibilité aux antibiotiques d'intérêt médical de 37 souches de *Francisella tularensis* subsp. *holarctica*, collectées au Centre National de Référence des *Francisella* entre 2004 et 2012. Ces souches ont été identifiées au niveau de la sous-espèce par séquençage de la région ITS. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) ont été déterminées par méthode de micro-dilution en milieu liquide vis-à-vis de trois fluoroquinolones (ciprofloxacine, lévofloxacine, moxifloxacine), de la gentamicine et de la doxycycline. L'érythromycine a été également testée afin de détecter d'éventuelles souches naturellement résistantes originaires d'Europe de l'Est.

Les 37 souches testées montrent une sensibilité aux fluoroquinolones (CMI ciprofloxacine = 0.032-0.064µg/mL, CMI lévofloxacine = 0.064µg/mL, CMI moxifloxacine = 0.125-0.25µg/mL), à la gentamicine (CMI = 0.125 - 0.5µg/mL) et à la doxycycline (CMI = 0.25 - 1µg/mL), et une résistance de bas niveau à l'érythromycine (CMI = 4 - 16µg/mL) qui les distinguent des souches d'Europe de l'Est, plus résistantes (CMI>256µg/mL), mais aussi Nord américaines qui présentent des valeurs inférieures de CMI (0.125 - 1µg/mL, *Johansson et al., 2002*).

Notre étude confirme l'absence de résistance acquise aux antibiotiques d'intérêt clinique chez les souches de *F. tularensis* isolées en France, et valide donc les recommandations thérapeutiques actuelles. Elle confirme également l'intérêt de l'évaluation de la sensibilité à l'érythromycine comme marqueur épidémiologique.

292/68A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

L'évolution de la sensibilité du gonocoque aux antibiotiques en France : les données du réseau de surveillance sentinelle Rénaço, 2001-2011.

A. Goubard¹, G. La Ruche², P. Sednaoui¹

¹Institut Alfred Fournier, centre national de référence des gonocoques, Paris ²Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

Objet de l'étude : Une recrudescence des cas de gonococcie est constatée depuis la fin des années 1990 en France comme dans d'autres pays européens. L'apparition récente de résistances aux céphalosporines de troisième génération (C3G) soulève un important problème de santé publique. Notre étude a pour but d'apprécier l'émergence de cette résistance en France.

Méthodes : Un réseau de laboratoires volontaires permet de suivre l'évolution des tendances des infections à gonocoque. Il comprend environ 200 laboratoires publics et privés répartis sur l'ensemble de la France métropolitaine. Les souches de gonocoque isolées par les laboratoires sont envoyées au Centre national de référence des gonocoques pour une étude de sensibilité à plusieurs antibiotiques par E-test.

Résultats obtenus : Le nombre de souches dont la sensibilité aux antibiotiques a été étudiée a décuplé entre 2001 et 2011, passant de 150 à 1 523. Ces souches ont été isolées chez des hommes dans 88% des cas.

En 2011, 23% des souches étaient sensibles à la pénicilline G (concentration minimale inhibitrice [CMI]≤0,064 mg/L) (contre 37% en 2001) et 18% étaient sensibles à la tétracycline (CMI≤0,5mg/L) (40% en 2001). La proportion de souches ayant un haut niveau de résistance à la ciprofloxacine (CMI≥1mg/L) a considérablement augmentée à partir de 2004 et est restée élevée (14% en 2001, 43% en 2011). Aucune souche résistante à la spectinomycine (CMI>64mg/L) n'a été détectée pendant cette période.

En 2010 et pour la première fois, 2 souches sur 1 399 avaient une sensibilité diminuée à la ceftriaxone (CMI>0,125mg/L), mais aucune en 2011. Les souches de sensibilité diminuée au céfixime (CMI>0,064mg/L) ont augmenté (1,6% en 2008, 5,8% en 2009 et 2010, 7,2% en 2011) même si les souches de sensibilité très diminuée (CMI>0,125mg/L) restent rares (0,7% en 2011).

Conclusion : La baisse de la sensibilité des souches de gonocoque aux C3G reste modeste mais justifie de rester vigilant. Nos données confortent les recommandations de l'Agence de sécurité du médicament préconisant la ceftriaxone à dose suffisante (500 mg IM en dose unique) en première intention pour le traitement des gonococcies urogénitales non compliquées.

Surveillance de la résistance des bactéries isolées d'hémocultures dans les hôpitaux non universitaires français de 1996 à 2011 : données de l'Observatoire des résistances du COL-BVH.O. Gallon², B. Lamy³, J.W. Decousser¹, P. Pina², COL-BVH¹Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Bécélère (AP-HP),Clamart ²Équipe Opérationnelle d'Hygiène, CH Sud-Essonne,Dourdan ³Laboratoire de Bactériologie, Hôpital Arnaud de Villeneuve, CHU Montpellier, Montpellier, France

Introduction : L'Observatoire des résistances du COL-BVH participe depuis 1996 à la surveillance nationale de l'évolution des résistances des germes isolés d'hémocultures.

Méthode : Pendant un mois, des hôpitaux volontaires non universitaires recueillent la sensibilité des souches isolées d'hémocultures, cliniquement significatives, dédoublonnées selon les recommandations de l'ONERBA.

Résultats : Depuis 1996, 75 à 102 centres hospitaliers participent à l'enquête du COL-BVH et 24215 souches bactériennes isolées d'hémocultures ont été analysées.

E. coli est la première espèce isolée (35% en 2011), suivie de *S. aureus* (12%), *S. epidermidis* (6,4%) et *S. pneumoniae* (4,4%).

Les portes d'entrée les plus fréquemment rencontrées sont les infections urinaires (37%) et intra-abdominales (18%), les bactériémies associées à une voie veineuse (18%) et les infections respiratoires (10%).

Chez *E. coli*, la proportion de BLSE augmente rapidement (1,4% en 2006 - 7,8% en 2011). Cette augmentation est plus rapide pour les souches isolées après 48 heures d'hospitalisation (1,9% en 2006 - 12,6% en 2011). La sensibilité à la ciprofloxacine baisse entre 2000 (96%) et 2011 (83%), avec une tendance plus marquée chez les souches isolées après 48 heures d'hospitalisation (96% en 2006 - 78% en 2011).

Chez *K. pneumoniae*, le taux de BLSE est de 29,0% en 2011 et atteint 49% chez les souches isolées après 48 heures d'hospitalisation. La sensibilité à la ciprofloxacine passe de 86% en 2007 à 73% en 2011.

Le taux de *S. aureus* résistants à la métilcilline (SARM) a diminué de 2005 (33%) jusqu'en 2009 (22%). Toutefois, il semble rester stable depuis (23% en 2010 et en 2011).

La sensibilité de *P. aeruginosa* n'évolue pas depuis plusieurs années. En 2011, les trois antibiotiques les plus actifs sont l'association pipéracilline-tazocilline (82%), la ceftazidime (88%) et l'imipénème (83%).

Conclusion : L'augmentation du taux de BLSE se poursuit chez les souches d'*E. coli* et de *K. pneumoniae* isolées d'hémocultures, parallèlement à la diminution de la sensibilité aux fluoroquinolones. Ce phénomène qui touche deux familles d'antibiotiques majeurs chez des souches isolées d'infections potentiellement graves est préoccupant. Par ailleurs, la diminution des souches invasives de SARM amorcée en 2004 semble se stabiliser.

294/68A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE**Épidémiologie et profil de sensibilité des isolats d'hémoculture à l'établissement hospitalier spécialisé Dr Maouche, Alger, Algérie.**

S. Rezgui, K. Kezzal

EHS Maouche MA, Alger, Algérie

Introduction : Les bactériémies sont des infections responsables d'une morbidité et d'une mortalité significatives. Elles constituent une urgence tant sur le plan diagnostique que sur le plan thérapeutique. Leur diagnostic repose sur l'isolement du germe au niveau d'une hémoculture.

La connaissance des principales espèces bactériennes responsables des bactériémies et de leurs profils de sensibilité aux antibiotiques facilite la mise en place d'une antibiothérapie probabiliste.

Objectifs :

- Dresser le profil épidémiologique des bactériémies et étudier la sensibilité aux antibiotiques des principaux germes en cause dans notre établissement hospitalier spécialisé ;

- Optimiser l'antibiothérapie probabiliste et/ou la corriger sur la base d'un antibiogramme.

Matériel et méthodes : Notre travail a été réalisé au niveau de l'unité de microbiologie du service de biologie clinique.

Une étude prospective a été effectuée sur une période d'une année allant de Novembre 2009 à Octobre 2010. Des hémocultures conventionnelles ont été réalisées devant des signes de bactériémies, à raison d'une, deux, trois voire quatre séries par patient.

L'identification bactérienne était basée sur les caractères morpho-tincoriaux, culturaux et les caractères biochimiques en utilisant les galeries classiques, les galeries API (Bio Mérieux) et les galeries Rapid (OXOID).

Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés par la méthode de diffusion en gélose selon les recommandations du CLSI. Pour certaines souches on a réalisé des CMI par E. test.

Résultats : Durant notre période d'étude 322 séries d'hémoculture ont été reçues au laboratoire, elles provenaient de 190 patients hospitalisés. 41 hémocultures ont été considérées comme positives (12,73%), 26 ont été considérées comme contaminées.

La tranche d'âge des patients était comprise entre 18 et 86 ans, excepté 3 enfants. Le sexe ratio H/F était de 1,21.

Le profil bactériologique était marqué par une prédominance des BGN (84,7%), avec en 1^{ère} place les Entérobactéries (61,5%) suivis par les BGN oxydatifs.

On a eu une faible fréquence d'isolement des CGP : *Staphylococcus spp*, *Streptococcus du groupe D*, *Streptococcus pneumoniae* et *Abiotrophia defectiva*.

On signale aussi l'isolement d'une levure, *Candida albicans*, dans une série d'hémoculture.

Le taux des BMR parmi les BGN était de 28,3%. Elles étaient représentées par les Entérobactéries productrices de BLSE, les Entérobactéries productrices de céphalosporinases de haut niveau et les souches de *Stenotrophomonas maltophilia* multi résistantes.

Les CGP étaient sensibles à la majorité des antibiotiques actifs sur eux sauf *Abiotrophia defectiva* qui présentait une sensibilité diminuée à la pénicilline. Aucune résistance aux glycopeptides n'a été décelée.

Discussion/Conclusion : Le profil bactériologique des bactériémies de notre établissement rejoint ce qui a été décrit dans le Maghreb mais il est totalement différent de celui des pays industrialisés.

Il était marqué par une prédominance des BGN et un taux alarmant de résistance des Entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération.

Le profil épidémiologique et antibiologique souligne l'importance des infections nosocomiales, ce qui nécessite la mise en place d'un programme de lutte contre ces infections et contre les BMR et impose une surveillance continue.

Enfin la connaissance de l'épidémiologie et la sensibilité des bactéries aux antibiotiques permet la rationalisation de l'utilisation des antibiotiques et la détermination d'un protocole d'antibiothérapie probabiliste afin d'améliorer le pronostic.

EHS : établissement hospitalier spécialisé

BGN : bacilles Gram négatif

CGP : cocci Gram positif

BMR : bactéries multi résistantes

295/68A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE**Infections urinaires en milieu communautaire en région Pays de la Loire : suivi de la sensibilité d'*E. coli* aux antibiotiques de 2009 à 2011.**S. Thibaut-Jovelin¹, J. Caillon¹⁻³, A. Marquet¹, F. Ollivier¹, J. Pivette²,P. Donny², E. Michaud², G. Grandjean¹, F. Ballereau¹⁻³, MedQual RéseauLaboratoires de Biologie Médicale (BM)¹¹Centre MedQual ²Direction Régionale du Service Médical de l'Assurance Maladie (DRSM), Région Pays de la Loire ³EA 3826, Nantes, France

Objectif : Suivre l'évolution de la sensibilité aux antibiotiques des souches d'*E. coli* isolées dans les urines en milieu communautaire de la région Pays de la Loire (PDL) depuis 2009.

Méthode : Recueil mensuel des antibiogrammes des souches d'*E. coli* isolées dans les urines par un nombre croissant de LBM dont la représentativité en PDL est mesurée à partir du SNIIR-AM (système national d'information interrégimes de l'assurance maladie).

Résultats : Depuis 2009, la représentativité du réseau de LBM ne cesse d'augmenter (39% de l'activité bactériologique régionale en 2009 vs 49% en 2011). Entre 2009 et 2011, 82770 antibiogrammes d'infections urinaires à *E. coli* ont été inclus pour la région PDL. La sensibilité à l'acide nalidixique est stable de 84,7% en 2009 à 84,8% en 2011, NS. La sensibilité à la ciprofloxacine est stable sur ces 3 années (90,5% vs 90,8%, NS). Une nette diminution de la sensibilité à l'amoxicilline-acide clavulanique est observée, de 71,5% à 69,5%, P<0,001. En revanche la sensibilité de la nitrofurantoïne a augmenté significativement en 3 ans (97,3% vs 98,7%, P<0,001). Pour la fosfomycine, les taux de sensibilité ont diminué (99,1% vs 98,6%, P<0,001). Pendant cette période, la sensibilité au cefixime augmente (96,1% vs 96,9%, P<0,001).

Conclusion : Le recours à la fosfomycine et aux furanes devrait être privilégié comme spécifié dans les dernières recommandations des infections urinaires communautaires. Les fluoroquinolones ne devraient plus être prescrites dans les infections urinaires en ville. Depuis 2010, MedQual s'est engagée avec la CPAM à instaurer un plan de communication auprès des médecins généralistes afin de porter à leur connaissance les résistances bactériennes sur le territoire régional et ainsi d'adapter leur prescription pour une juste utilisation des antibiotiques.

296/68A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE**Molecular mechanisms of higher MICs of antibiotics and quaternary ammonium compounds for *Escherichia coli* isolated from bacteremia.**

S. Buffet-Bataillon, A. Le Jeune, S. Le Gall-David, M. Bonnaure-Mallet, A.

Jolivet-Gougeon

Unité d'Hygiène Hospitalière, CHU Pontchaillou, Rennes, France

Objectives: A previous study identified an association between high MICs of quaternary ammonium compounds (QACs) and antibiotic resistance. The current aim was to investigate the genetic background of this association.

Methods: Of 153 *Escherichia coli* clinical strains, 7 were selected for their low or high MICs of antibiotics and/or QACs. Integron resistance gene contents

were identified by sequencing after PCR amplification. The genes encoding the efflux pump AcrA/TolC and its regulatory regions marA, marO, marR, soxS and rob were sequenced. The gene expression of acrA, tolC, marA, marOR, soxS and rob was assessed by quantitative real-time PCR. MICs in the presence and absence of the efflux pump inhibitor phenyl-arginine- β -naphthylamide (PAB β TA) were compared.

Results: Of the 7 strains, 5 were resistant to amoxicillin, amoxicillin / clavulanic acid and/or cotrimoxazole (trimethoprim / sulfamethoxazole) and/or had high MICs of ciprofloxacin and QACs. Four of the 5 harboured a class 1 integron (int1). In 3 of these 4 strains, the presence of *dfra/sul1* and *qacEdelta1* gene cassettes correlated with resistance to cotrimoxazole and high MICs of QACs. In all of the 5 strains, overexpression of tolC, marOR and soxS was always associated with higher MICs of antibiotics and/or QACs. PAB β TA reduced the MICs of ciprofloxacin and QACs, suggesting that extrusion of ciprofloxacin and QACs from bacteria depends on the AcrAB-TolC system.

Conclusions: To our knowledge, this report is the first to describe dual involvement of the AcrAB-TolC system and class 1 integrons in clinical *E. coli* strains.

297/69A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Persistence d'entérobactéries productrices de la carbapénémase NDM-1 sur une période de 6 mois chez un patient communautaire.

C. Arpin¹, P. Noury², L. Coulange-Mayonnove¹, P.T. Belotti¹, C. André¹, F. M'zali¹, C. Quentin¹

¹UMR CNRS 5234, Université de Bordeaux 2, Bordeaux ²Laboratoire Exalab, Villenave D'Ornon, France

Le 01/09/2011, une patiente communautaire sans antécédent de voyage à l'étranger a présenté une infection urinaire (IU) due à la souche de *Klebsiella pneumoniae* Kp5196, productrice de la métallo-enzyme NDM-1, sensible à la colistine (CS^S) et résistante aux nitrofuranes (NI^R). Deux mois plus tard, une seconde IU a été diagnostiquée, causée cette fois par une souche de *K. pneumoniae* NDM-1, CS^S NI^R. Un traitement par nitrofurantoïne a été mis en place et la persistance éventuelle d'entérobactéries NDM-1 a été examinée après une période de 6 mois.

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion en gélose et les souches ont été typées par PFGE (*Xba*I). Les gènes d'intérêt ont été recherchés par PCR. L'évolution des plasmides portant le gène *bla*_{NDM-1} a été étudiée par conjugaison et PFGE (nucléase S1).

Le 01/03/2012, la patiente, encore sous nitrofurantoïne, présentait toujours une IU associée à la souche de *K. pneumoniae* NDM-1 CS^S NI^R Kp5289. L'utilisation du milieu sélectif CHROMagarTM KPC a montré que les selles de cette patiente contenaient une prédominance de *Pseudomonas aeruginosa* sauvage et une faible quantité d'entérobactéries NDM-1 CS^S NI^R. Le traitement antibiotique a été arrêté et, 1 mois plus tard, ces souches avaient disparu des urines et des selles. Toutes les souches de *K. pneumoniae* appartenaient au même clone ST15. Leur pulsotype montrait un indice de Dice > 91% et elles possédaient un plasmide de type IncH portant les gènes *bla*_{NDM-1}, *bla*_{CTXM-15}, *bla*_{OXA-1}, *qnrB1*, *aac(6)-Ib*, *armA*, *sul1*, *dfra12* et *catA1*. Ce plasmide, a aussi été mis en évidence chez des souches d'*Enterobacter aerogenes* d'origine fécale. Il avait une taille de 270 kb chez Kp5196 et 300 kb chez les autres souches. Certains transconjugants de *K. pneumoniae* présentaient des antibiogrammes variés et des plasmides de tailles différentes, en relation avec la perte de gènes de résistance.

Cette étude a montré la persistance d'une IU à entérobactéries NDM-1 sur une période de 6 mois ainsi qu'un portage fécal, disparaissant avec la pression de sélection. Le transfert in vivo du plasmide portant le gène *bla*_{NDM-1} entre *K. pneumoniae* et *E. aerogenes* a été démontré. L'analyse des transconjugants donne des indications sur les modalités d'évolution du plasmide IncH.

298/69A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Carbapénémases isolées dans une unité stérile d'onco-hématologie à l'Hôpital Aziza Othmana, Tunis-Tunisie.

S. Sammoud¹, M. Hamdoun¹, Y. Ben Abdennebi², H. Ben Neji², R. Jeddi², R. Ben Amor², S. Hamdi¹, D. Ammouche¹, B. Meddeb², O. Bahri¹

¹Laboratoire de Microbiologie-Biochimie ²Service d'Onco-Hématologie, Hôpital Aziza Othmana, Tunis, Tunisie

Introduction : Les Carbapénèmes constituent le traitement de choix des infections invasives causées par des entérobactéries multi-résistantes, en particulier celles productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE). Actuellement, la résistance, de plus en plus décrite, à ces antibiotiques, représente une préoccupation majeure puisqu'elle serait à l'origine d'une impasse thérapeutique.

Observations :

Première observation : il s'agit d'un enfant âgé de 3 ans, atteint d'un lymphome de Burkitt. En Février 2012, le patient a présenté une diarrhée fébrile associée à une neutropénie sévère (100 PNN/ml). L'évolution a été marquée par une amélioration transitoire sous couverture antibiotique large associant colistine, teicoplanine et pipéracilline-tazobactam, suivie de l'apparition, 7j après, d'un état fébrile avec élévation de la C-réactive protéine (70mg/l). Les hémocultures étaient positives à *Klebsiella pneumoniae*. Une amélioration clinique a été observée après addition de la fosfomycine.

Deuxième observation : patient âgé de 29 ans, atteint d'un lymphome

lymphoblastique T, a présenté à j 21 de chimiothérapie un pic fébrile à 39°C avec une mucite grade 3 et une élévation de la C-réactive protéine (109,3 ng/ml) et de la procalcitonine (2,89 ng/ml). Le patient a été mis sous association d'antibiotiques : imipénème, amphotéricine B et colimycine. L'évolution a été caractérisée par la persistance de la fièvre, l'apparition de troubles neurologiques et d'une insuffisance rénale. L'imipénème a été par la suite remplacé par la ceftazidime au bout de 3 jours de traitement, et l'amphotéricine B par le voriconazole. Les hémocultures étaient positives à *Escherichia coli*. Malgré la couverture antibiotique large et l'ablation de la chambre implantable dont la culture bactériologique était négative, le patient est décédé.

Méthodologies : Dans les deux cas, l'identification bactérienne a été réalisée grâce à la galerie miniaturisée API 20E. Le profil de sensibilité aux antibiotiques a été déterminé par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM.

Les concentrations minimales inhibitrices de l'ertapénème, l'imipénème et le méropénème ont été déterminées par les bandelettes E-test. Une détection des BLSE a été faite par le test standard de double synergie avec et sans cloxacilline. La recherche de carbapénémases a été faite par le test de Hodge modifié avec identification de la classe de l'enzyme par amplification dans les gènes *bla*KPC et *bla*OXA-48 par des amorces spécifiques.

Résultats : La détection des BLSE a été négative pour les deux souches. *K. pneumoniae* était sensible à l'imipénème et au méropénème mais résistante à l'ertapénème, aux aminosides (sauf Amikacine) et aux fluoroquinolones. *E. coli* était sensible aux carbapénèmes, mais présentait une pénicillinase de bas niveau et une résistance à la tétracycline. Le test de Hodge modifié a été positif pour les 2 souches isolées. Pour *K. pneumoniae*, la PCR a été positive dans le gène *bla*OXA-48 confirmant la classe D de l'enzyme.

Conclusion : Il s'agit des premières souches d'entérobactéries, productrices de carbapénémase, décrites en onco-hématologie à l'Hôpital Aziza Othmana. Ce type d'enzymes a été isolé, pour la première fois, chez *K. pneumoniae* en Turquie ; il s'est ensuite rapidement propagé à différentes espèces d'Enterobacteriaceae dans toute la région méditerranéenne. La diffusion rapide de ce type d'enzymes et ses conséquences thérapeutiques justifie une plus grande vigilance quant à la détection et la surveillance de ces bactéries multi-résistantes afin d'assurer une meilleure prise en charge du patient.

299/69A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Programme régional de surveillance des bacilles à Gram négatif résistants aux carbapénèmes en Languedoc-Roussillon : bilan à 18 mois de surveillance.

A. Pantel³, H. Jean Pierre², H. Marchandin², A. Gaschet⁵, A. Boutet Dubois¹, A. Sotto⁴, J.P. Lavigne³, Les laboratoires de biologie du Languedoc Roussillon ¹Laboratoire de Biologie Polyvalente, CH Alès, Alès ²Laboratoire de Bactériologie, CHU Arnaud de Villeneuve, Montpellier ³Laboratoire de Bactériologie ⁴Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carêmeau, Nîmes ⁵Laboratoire de Biologie Polyvalente, CH St Jean, Perpignan, France

Objet de l'étude : La dissémination des Bacilles à Gram Négatif (BGN) producteurs de carbapénémases, endémiques dans certaines régions du monde, représente une menace importante. Afin de contrôler leur émergence, l'ARS du Languedoc-Roussillon a mis en place un centre régional de dépistage de ces souches. Le but de cette étude était de caractériser les BGN résistants aux carbapénèmes isolés en Languedoc-Roussillon.

Méthodes : Du 1/02/11 au 31/08/12, les BGN (entérobactéries, *P. aeruginosa* et *A. baumannii*) isolés dans les laboratoires de biologie (publics et privés) du Languedoc-Roussillon pour lesquels la production d'une carbapénémase (ertapénème et/ou imipénème I/R) était suspectée ont été envoyés au laboratoire de bactériologie du CHU de Nîmes. Après vérification de la résistance aux carbapénèmes (bandelettes E-tests), les éventuelles carbapénémases et β -Lactamases à Spectre Étendu (BLSE) produites ont été identifiées par biopuces Check-MDR CT-102 (Biocentric), les céphalosporinases plasmidiques par PCR. La clonalité des souches a été évaluée par Rep-PCR (bioMérieux).

Résultats obtenus : 194 souches ont été analysées: 143 entérobactéries, 35 *A. baumannii* et 16 *P. aeruginosa*. Parmi les entérobactéries résistantes, la seule carbapénémase détectée avec une prévalence de 11% était OXA-48 majoritairement chez *K. pneumoniae* (63% des souches productrices). Le principal mécanisme de résistance aux carbapénèmes était l'imperméabilité associée à la production d'une céphalosporinase déréprimée (56% des souches, principalement des *E. cloacae*), d'une BLSE (27%, majoritairement des CTX-M) ou d'une céphalosporinase plasmidique (6%, de type DHA-1). Parmi les BGN non fermentants, 32 *A. baumannii* produisaient une OXA-23 et appartenaient à 3 clones distincts. Aucune carbapénémase n'a été détectée chez *P. aeruginosa*.

Conclusion : Les oxacillinases sont les seules carbapénémases isolées actuellement dans notre région. Leur diffusion, chez les entérobactéries et chez *A. baumannii*, nécessite une surveillance accrue.

Increased number and diversity of carbapenemases produced by Gram-negative bacilli in a Lebanese hospital.

D. Hammoudi, C. Moubareck, D. Karam Sarkis

Laboratoire de microbiologie, Faculté de Pharmacie, Université Saint-Joseph, Beyrouth, Liban

Objective: The aim of the current study was to detect carbapenemases in gram-negative bacteria collected between January and June 2012 at the Hôtel-Dieu de France, a university hospital in Beirut.

Methods: *Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas* strains intermediate / resistant to imipenem were collected. Antimicrobial susceptibility testing was according to the recommendations of CA-SFM. Further phenotypic tests included cloxacillin test to inhibit AmpC production and visualize Extended-Spectrum β -lactamases (ESBL), and combined E-test strip (IMP/IMP+EDTA) to detect Metallo- β -Lactamases (MBLs). Genotyping by PCR sequencing was used to characterize carbapenemases.

Results: One *Klebsiella pneumoniae*, 8 *A. baumannii*, 75 *Pseudomonas aeruginosa*, and 12 *Pseudomonas* species intermediate / resistant to imipenem were collected. In *K. pneumoniae*, the comparative E-test was negative while the cloxacillin test was positive, indicating a plasmid-acquired AmpC. OXA-48 carbapenemase and ACC group belonging AmpC were detected by PCR. In *A. baumannii*, the comparative E-tests were negative while cloxacillin tests revealed the naturally produced AmpC in all strains and an ESBL in Abd4. Genotypic analysis detected one strain positive for OXA-24, six strains positive for OXA-23, and Abd4 positive for both OXA-23 and GES enzymes. In *P. aeruginosa*, the cloxacillin test revealed the naturally produced AmpC in all strains and the E-tests detecting MBLs were positive for 19 strains; 15 strains harbored VIM-2, two harbored IMP-1, and two harbored IMP-2. In *Pseudomonas* species, 2 VIM-2 positive strains were identified. Imipenem resistance in the remaining *Pseudomonas* strains is thought to arise from permeability alteration due to mutation in outer membrane protein OprD, and/or overexpression of MexAB-OprM efflux pump.

Conclusion: This study indicates the presence of OXA-24 and IMP-2 for the first time in Lebanon. A similar study conducted in 2011 in the same settings detected one OXA-48 producing *K. pneumoniae*, 3 VIM-2 producing *P. aeruginosa*, and 5 OXA-23/GES producing *A. baumannii*. An increase in the number of carbapenemases and dissemination of new varieties are noticed. A nationwide survey is in progress to estimate the true prevalence of carbapenemases in Lebanon.

Pratiques de dépistage des bactéries productrices de carbapénèmases au sein des hôpitaux du Collège de bactériologie-virologie-hygiène (COLBVH).R. Sanchez³, O. Bellon^{1,2}, Collège de Bactériologie, Virologie, Hygiène des Hôpitaux (COLBVH)¹Laboratoires de Bactériologie, Centre hospitalier du pays d'Aix, Aix-en-Provence ²Centre hospitalier Jean Marcel, Brignoles ³Centre hospitalier, Périgueux, France

Face à la diffusion des entérobactéries productrices de carbapénèmase (EPC) en France, les membres du COLBVH ont effectué, en mai 2012, une enquête concernant les pratiques de dépistage dans leurs structures de santé; Un questionnaire a été envoyé à tous les membres du collège: 129 structures (soit 63%) ont répondu dans les délais. Les caractéristiques, en termes de services de soins des structures ont été précisées.

75% des structures possèdent un document interne définissant la politique de dépistage de l'établissement: mais seuls 65 sites sur 129 ont mis en place une procédure de dépistage des EPC.

Cependant 62% des participants ont été confrontés à de telles souches. Les circonstances de découvertes sont variables: rapatriement sanitaire (30), hospitalisation à l'étranger dans l'année (23), voyage à l'étranger dans le semestre (7), retour de l'étranger (13) mais dans 23 cas les circonstances sont moins classiques: sujets contacts ou découvertes inopinées.

Les milieux utilisés sont variables en l'absence de milieux spécifiques commercialisés à l'époque: milieux sélectifs EPC (8), milieux (M) pour entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (EBLSE) simplement (40) MEBLSE avec disques de pénem (22), milieu de Drigalski avec ertapénem (24).

Les tests de confirmation sont variés avec seulement 4% de confirmation par biologie moléculaire: concentration minimale inhibitrice imipénem (26%) ou ertapénem (26%), l'utilisation de l'acide boronique (11%) ou l'EDTA (14%) sont peu utilisés de même que le test de Hodge (ertapénem 7%) (imipénem 7%) (avec cloxacilline 5%).

Seuls 44 centres recherchent en systématique la production de carbapénémase sur les EBLSE.

La dissémination de ces souches est importante puisque 63 centres ont envoyé une souche EPC au centre de référence en 2011 et début 2012.

L'apparition de nouveaux milieux et une meilleure connaissance des souches d'EPC va faire évoluer les méthodologies des centres au cours des mois à venir.

Évaluation de tests phénotypiques pour la détection de carbapénèmase.V. Decool, K. Alidjinou, F. Canis, G. Dewulf, E. Mazars, C. Cattoen
Service de Microbiologie - Centre hospitalier, Valenciennes, France

Objet de l'étude : L'émergence de bactéries productrices de carbapénèmase représente une problématique majeure d'autant que de nombreuses souches produisant ce type d'enzyme sont à l'origine de phénomènes épidémiques. La caractérisation phénotypique des carbapénèmases reste difficile et les souches suspectes doivent faire l'objet d'une confirmation par des techniques de biologie moléculaire, néanmoins, les microbiologistes doivent mettre en œuvre des tests permettant de les repérer. L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances de différents tests phénotypiques sur des souches bactériennes présentant une résistance à au moins un carbapénème.

Matériel et méthodes : Les souches bactériennes: 28 souches préalablement expertisées ont été incluses, 23 souches d'entérobactéries, 4 *Acinetobacter baumannii*, 1 *Pseudomonas aeruginosa*. Parmi ces souches, 8 produisaient une carbapénèmase (IMI-1, OXA-23, OXA-48, OXA-58 VIM-4), 19 étaient résistantes à au moins un carbapénème par d'autres mécanismes (impermeabilité, céphalosporinase de très haut niveau, BLSE).

Les techniques mises en œuvre: pour chaque souche, les tests suivants ont été réalisés: antibiogramme diffusion, test de synergie, étude des diamètres d'inhibition des carbapénèmes en présence et en absence de cloxacilline détermination des CMI aux carbapénèmes, test de Hodge, test de Hodge en présence de cloxacilline, détermination de la sensibilité à la témocilline, Etest MBL (BioMérieux), kit KPC + MBL (Rosco).

Résultats : Concernant les entérobactéries: le test de Hodge était positif pour les 5 souches produisant une carbapénèmase, la témocilline était résistante contact pour les 4 souches produisant une oxacilline, le kit KPC + MBL s'est avéré non contributif ne détectant pas les oxacillines. Pour les souches résistantes par un autre mécanisme, le test de Hodge était négatif dans 8 cas mais faussement positif pour 10 souches de groupe 3 produisant une céphalosporinase de très haut niveau: un test simple consistant à mettre en évidence la restauration d'un diamètre important d'un disque d'ertapénème en présence de cloxacilline permettait de lever le doute.

Concernant *P.aeruginosa*, le E.test MBL et le kit KPC + MBL a mis en évidence la métallogényme.

Concernant *A.baumannii*, le test de Hodge était positif pour les souches produisant OXA-23 et OXA-58, il était également faussement positif pour une souche associant impermeabilité et céphalosporinase de très haut niveau, la restauration d'un diamètre pour l'imipénème en présence de cloxacilline venait confirmer ce mécanisme.

Conclusion : Face à la grande diversité des carbapénèmases, plusieurs tests phénotypiques doivent souvent être mis en œuvre pour affiner une suspicion devant conduire à une expertise et envoi à un CNR. Le test de Hodge est contributif pour les souches produisant une carbapénèmase mais parfois faussement positif en particulier pour les souches produisant une céphalosporinase de haut niveau, dans ce cas il est aisé de mesurer la restauration de l'activité du carbapénème le plus touché en présence de cloxacilline sur un simple antibiogramme. Les oxacillines comptent parmi les carbapénèmases les plus fréquentes en France, leur difficulté de détection pour les entérobactéries liée à leur faible activité peut être résolue en testant la témocilline.

Faecal carriage of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* during a non-outbreak situation in Habib Bourguiba university hospital Sfax-Tunisia.B. Mnif, E. Chiboub, R. Haj Kacem, S. Gouiaa, F. Masmoudi, S. Mezghani, F. Mahjoubi, A. Hammami
CHU Habib Bourguiba, Sfax, Tunisie

Introduction: An important risk factor for nosocomial infection in hospitals is colonization with multidrug-resistant bacteria. We undertook a point-prevalence survey to determine the prevalence of digestive colonization of hospitalized patients with carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* (CPE) in Habib Bourguiba university hospital Sfax-Tunisia.

Methods: A point-prevalence survey, 18-22 February 2012, was conducted in the Habib Bourguiba university hospital Sfax-Tunisia, composed mainly of surgical wards. Faecal colonization by CPE was determined using rectal swab cultures on chromogenic agar: KPC CHROMagar[®]. ESBL production was tested by a double disk diffusion assay and carbapenemase production by the Hodge test. Resistance genes were sought by PCR-sequencing. The isolates were typed by PFGE. Epidemiological data were collected from the patient chart reviews.

Results: Of 284 hospitalized patients, 17 (6%) were colonized with 18 CPE (16 *Klebsiella pneumoniae*, 1 *Escherichia coli*, 1 *Providencia stuartii*). All these CPE were producing an OXA-48 carbapenemase associated with ESBL-encoding genes (13 *bla*_{CTX-M-15} and 2 *bla*_{CTX-M-14}) and/or the cephalosporinase CMY-4. The CPE were detected in 7 of the 15 wards of the hospital. PFGE of the 16 *K. pneumoniae* revealed two clones A (8 isolates) and B (2 isolates). The 6 remaining isolates showed different PFGE patterns. The clone A was detected in 8 patients hospitalized in 5 wards confirming cross-transmission between different wards. Only invasive procedures were significantly associated with CPE colonization.

Conclusion: The study revealed the wide dissemination of OXA-48-

carbapenemase producers, in a Tunisian hospital during a non-outbreak situation. Public health efforts to combat emergence and dissemination of MDR organisms need to be developed.

304/69A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Détection non moléculaire des entérobactéries productrices de carbapénémase : quelle place pour le test de Hodge modifié dans les laboratoires de proximité ?

A.S. Valentin², S. Dos Santos², R. Quentin², N. Van Der Mee-marquet^{1,2}

¹Réseau des Hygiénistes du Centre ²Service de Bactériologie et Hygiène, Centre Hospitalier Universitaire, Tours, France

Objets de l'étude :

1. Nous rapportons les résultats de l'analyse phénotypique et moléculaire de 78 souches d'entérobactéries transmises dans le cadre de la recherche des EPC à la Cellule Régionale d'Epidémiologie Nosocomiale du Réseau des Hygiénistes du Centre, depuis 12 mois.

2. Nous proposons une évolution de la stratégie de dépistage de première intention des EPC pour les laboratoires de proximité.

Méthode : En accord avec les recommandations nationales actuelles, les souches d'entérobactéries présentant une CMI > 0.5 mg/L à l'Ertapénème peuvent être transmises par les laboratoires de proximité à la CRENO. A la CRENO, la recherche de la production de carbapénémase est réalisée: CMI Erta., CMI Impip., test de Hodge, test de Hodge modifié et tests d'inhibition (Kit Rosco). Les souches suspectes (1 test + ou douteux) sont transmises au CNR pour l'analyse moléculaire (Pr Nordmann). Le résultat définitif mentionne la présence ou l'absence de carbapénémase ainsi que le type moléculaire.

Résultats obtenus : 78 souches avec CMI Erta. > 0.5 mg/L ont été transmises à la CRENO depuis 12 mois [36 *E. cloacae*, 5 *E. aerogenes*, 18 *K. pneumoniae*, 7 *E. coli*, 5 *Citrobacter*, 4 autres]: 26 recherches ont été négatives, et 52 souches suspectes ont été envoyées au CNR.

Confirmation moléculaire d'EPC pour 9 souches (9/78, 11,5%): 7 *K. pneumoniae* BLSE + [2 KPC, 5 OXA-48], 2 *E. coli* dont 1 BLSE + [2 OXA-48] => 8 BHR (EPC + BLSE +) et 1 BMR (EPC + BLSE -).

Facteurs de risque pour 6 cas (KPC et lien avec Inst. JC; OXA-48 pour 2 rapatriements sanitaires du Maroc); absence de facteur de risque pour 3 cas dont 1 patient mucoviscidose.

Résultats du test de Hodge modifié : + pour 10 souches [les 7 *K. pneumoniae* EPC, les 2 *E. coli* OXA-48 et 1 *E. coli* BLSE- OXA-23]

Conclusions : Le test de Hodge modifié a présenté une Sensibilité de 100%, une Spécificité de 98%, une Valeur Prédictive Positive de 90 % et une Valeur Prédictive Négative de 100%. Nous proposons qu'il soit mis en œuvre par les laboratoires de proximité pour les entérobactéries présentant une CMI Erta > 0,5 mg/L. Une fiche technique régionale est à disposition des biologistes pour la mise en œuvre.

305/69A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Durée et cinétique du portage d'entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) et d'entérobactéries sécrétrices de carbapénémase (ESC) dans une cohorte de patient isolés.

A. Dinh^{2,1}, C. Rouzard¹, C. Lawrence¹, B. Davido¹, D. Le Du¹,

A.C. Crémieux^{1,2}, J.L. Herrmann¹, C. Perronne^{2,1}

¹CHU R. Poincaré ²SPILF, Garches, France

Objet : En cas de portage de bactéries résistantes des mesures d'isolement s'imposent celles-ci sont fonction des caractéristiques épidémiques et de résistances bactériennes. Mais la durée de portage et la cinétique d'élimination sont mal connues. Nous avons étudié la durée de portage d'ERV et d'ESC dans une cohorte de patients isolés en secteur dédié.

Méthode : Six patients porteurs de bactéries multi et hautement résistantes ont été hospitalisés et isolés en secteur dédié de novembre 2011 à avril 2012. Un dépistage bactériologique était réalisé à leur arrivée dans le service puis hebdomadaires pendant toute la durée de leur hospitalisation et à chaque visite de suivi après leur sortie.

Etait pris en compte pour le calcul de la durée de colonisation le délai entre un premier dépistage positif et la disparition de l'agent sur 3 prélèvements successifs (ou 2 prélèvements négatifs sur 1 mois). Tout nouveau dépistage positif à distance ou à une autre espèce était considéré comme un nouvel épisode de colonisation.

Résultats : Concernant l'ERV, un seul patient était porteur au niveau cutané et ceci pendant une durée d'une semaine. Au niveau digestif 3 patients étaient colonisés, la durée du portage était de 107j, 41j et 7j. Les 2 patients colonisés pendant 41 et 107j étaient massivement exposés aux glyco lipopeptides. La durée moyenne globale du portage était de 51,6j.

Concernant les ESC, au niveau cutané 1 patient a présenté 1 prélèvement positif à l'entrée, 1 autre une co colonisation initiale de 7j puis un portage intermittent avec acquisition d'1 ESC différente retrouvée sur un prélèvement. Ce patient était sujet à une exposition antibiotique importante. La durée moyenne de portage était de 7j.

Au niveau digestif, 2 patients, massivement exposés aux antibiotiques, étaient porteurs intermittent d'ESC, les 2 autres patients porteurs l'ont été à une seule reprise. La durée moyenne globale de portage était de 12,8j.

Conclusions : La durée de portage des ESC et des ERV semble plus longue au niveau digestif qu'au niveau cutané et évidemment lié à l'exposition antibiotique. La cinétique d'excrétion de l'ERV semble plus lente que celle des ESC. Par ailleurs, toute nouvelle antibiothérapie chez un patient antérieurement porteur doit faire craindre une nouvelle excrétion.

306/69A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Propriétés génétiques et biochimiques de la carbapénémase OXA-48 et de ses variants.

A. Potron^{2,1}, E. Rondinaud², L. Poirer^{2,1}, P. Nordmann^{2,1}

¹CHU de Bicêtre, Laboratoire de Bactériologie ²Résistances émergentes aux antibiotiques, Unité INSERM U914, Le Kremlin-Bicêtre, France

Objet de l'étude : La carbapénémase OXA-48 a largement diffusée chez les entérobactéries en Europe et sur le pourtour méditerranéen. Des variants de cette enzyme ont été récemment identifiés, notamment OXA-181 qui semble avoir disséminé au moins dans le sous-continent indien. Nous avons récemment identifié deux nouveaux variants de OXA-48, OXA-204 provenant d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée en Tunisie et OXA-232 détectée dans différentes espèces d'entérobactéries isolées chez des patients ayant voyagé en Inde.

Méthodes : Les CMI des souches étudiées ont été déterminées par E-test. Les β -lactamases ont été caractérisées par méthode PCR et séquençage. L'analyse plasmidique a été effectuée par la méthode de Kieser et par conjugaison. L'environnement génétique des gènes codant pour les β -lactamases de type OXA-48 a été caractérisé par PCR et séquençage ou par clonage. La comparaison génétique des souches a été réalisée par MLST (Multilocus sequence typing). OXA-204 et OXA-232 ont été clonés dans un vecteur d'expression et exprimés dans le même fond génétique pour comparer leur spectre d'hydrolyse. La β -lactamase OXA-232 a été purifiée afin de caractériser de manière précise ses propriétés enzymatiques.

Résultats obtenus : La β -lactamase OXA-204 est une carbapénémase de spectre d'hydrolyse très proche de celui de OXA-48 alors que OXA-232 hydrolyse plus les pénicillines et moins les carbapénèmes que OXA-48. Le gène *bla*_{OXA-204} est localisé sur un plasmide de type IncA/C qui contient également un gène de type *bla*_{CMV-4}. Le gène *bla*_{OXA-232} est porté par un plasmide non-conjugatif mais mobilisable de type ColE. L'acquisition de ces deux β -lactamases n'est pas liée à IS1999 comme pour le gène *bla*_{OXA-48} mais est liée à la séquence d'insertion *ISEcp1*, connue comme l'un des vecteurs majeurs de la dissémination mondiale des gènes codant pour les β -lactamases à spectre étendu de type CTX-M.

Conclusion : Deux nouveaux variants de OXA-48 ont été caractérisés, illustrant la large dissémination des β -lactamases de type OXA-48 mais également leur évolution moléculaire. De plus, l'identification de variants de OXA-48 provenant d'Inde indique que la dissémination des carbapénémases n'est pas limitée à NDM dans ce pays.

307/70A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Pharmacokinetics of colistin methanesulfonate and colistin after lung transplantation in cystic fibrosis patients.

N. Grégoire¹, F. Piret-Dureau², C. Cerr², D. Grenet², F. Parquin², O. Mimoz¹, P. Gobin¹, W. Couet¹

¹INSERM U1070, Université de Poitiers et CHU de Poitiers, Poitiers ²Hôpital Foch, Suresnes, France

Objectives: Colistin is often the last line defense therapy against Gram(-) MDR infection in cystic fibrosis (CF) patients. It is administered as a prodrug (CMS). The aim of this study was to describe the pharmacokinetics of CMS and colistin in pulmonary transplanted CF patients.

Methods: Five (5) female CF patients, median (range) age 26 (21-32) yr, weight 40 (37-72) kg, creatinin clearance 115 (42-175) mL/min were included in the analysis within 20 days (n=4) or 9 months (n=1) after lung transplantation. CMS doses were ranging from 1 to 3.5 MUI / 8h. Blood samples (n=51) were collected after the first dose and at steady-state in every patient, and urine samples (n=7) were collected in 2 of them. CMS and colistin concentrations were measured by LC-MS/MS (1). Population PK analysis was performed with Monolix (<http://www.lixoft.com>).

Results: Colistin median concentration at steady-state was equal to 2.6 (0.7-7.6) μ g/mL. A PK model with one compartment for CMS and one compartment for colistin, distinguishing between renal and non-renal clearances for CMS and assuming negligible renal clearance of colistin, adequately fitted the data. CMS volume of distribution was 15 L, renal clearance and non renal clearances were 32 and 54 mL/min corresponding to a fraction of CMS converted into colistin of about 63%. CMS renal clearance was related and about 4-folds lower than creatinin clearance and CMS volume of distribution was related to body weight. Colistin volume of distribution and clearance were equal to 12 L and 47 mL/min.

Conclusions: CMS and colistin PK parameters values in CF patients with lung transplantation did not present major differences with previously reported values in critically-ill patients (2-4).

Bibliography:

- Gobin P. et al., Antimicrob Agents Chemother. 2010(54):1941-8
- Plachouras D. et al., Antimicrob Agents Chemother. 2009(53):3430-6
- Garonzik S.M. et al., Antimicrob Agents Chemother. 2011(55):3284-94

Impossibilité d'obtention de concentrations sériques de colistine au-dessus de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour une souche de *Pseudomonas aeruginosa* toto résistant (PATR) malgré des posologies maximales de colimycine.M. Hentzien⁴, Y. N'guyen^{4,2}, F. Goehringer^{4,1}, A.S. Batalla⁴, C. Strady^{4,5}, V. Vernet Garnier³¹Service de Maladies Infectieuses, CHU Nancy ²EA 4684 ³Laboratoire de bactériologie ⁴Médecine interne et maladies infectieuses, CHU Reims ⁵Groupe Courlancy, Reims, France**Objet de l'étude :** Données pharmacocinétiques pharmacodynamiques (PK/Pd) de la colimycine utilisée à posologie maximale chez une patiente traitée avec succès pour une bactériémie à PATR.**Méthode :** Dosage par spectroscopie de masse en tandem après chromatographie liquide (LC/MS/MS) des concentrations résiduelles et au pic de colistine prélevées respectivement avant et 1 heure après injection.**Cas clinique et Résultats :**

i) Femme de 77 ans hospitalisée pour bactériémie à PATR de sérotype O12 dans les suites d'une sphinctérotomie endoscopique. Le PATR était résistant à la tobramycine, la ciprofloxacine et la rifampicine selon les données de l'antibiogramme réalisé par technique de diffusion sur milieu de Mueller-Hinton. Les CMI de l'aztréonam, la ceftazidime, du doripénème et de la colimycine ont été mesurées par E-test à 12, 16, 3 et 3mg/L respectivement. L'imagerie objectivait un abcès hépatique du segment IV et une spondylodiscite L5-S1.

ii) Antibiothérapie initiale : association doripénème, aztréonam et colimycine (3MUX3/j) pendant 14 jours puis doripénème, fosfomicine et rifampicine pendant 7 jours sur les données du Pouvoir Bactéricide des Associations (PBA). Une nouvelle bactériémie à PATR a motivé l'ajout de colimycine à 3MUX3/j pendant 39 jours après une charge initiale à 12MU et un drainage percutané de l'abcès hépatique.

iii) Dosages réguliers de colistine réalisés durant cette période : aucun dosage n'a dépassé 2mg/L en résiduel et 2,5 mg/L au pic malgré une posologie maximale chez cette patiente de 60kg en fin d'hospitalisation.

iv) Évolution clinique tout de même très lentement favorable malgré un épisode d'hypercapnie et bradypnée attribué à la colimycine sans insuffisance rénale associée et ayant motivé un remplacement de la colimycine par l'aztréonam selon les données du PBA.

Conclusion : Aucun dosage de colistine au pic ou en résiduel ne dépassait la CMI de 3mg/L du PATR isolé dans les hémocultures malgré des posologies maximales de colimycine. L'évolution a tout de même été lentement favorable malgré un effet neurotoxique de la colimycine.**Apport de la DGGE dans le diagnostic microbiologique des plaies du pied chez le diabétique.**C. Duvyach Remy⁴, A. Cadière⁵, J.L. Richard¹, B. Roig⁵, A. Sotto³, J.P. Lavigne²¹Service des Maladies de la Nutrition et Diabétologie, Le Grau du Roi ²Laboratoire de Bactériologie ³Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carêmeau ⁴U1047, INSERM ⁵Unité Biodiagnostic, Laboratoire d'Étude et de Recherche en Environnement et Santé, Nîmes, France**Objet de l'étude :** Cette étude avait pour but :

1. d'étudier l'apport de l'Electrophorèse en Gradient de Gel Dénaturant (DGGE) dans le diagnostic microbiologique des infections des plaies du pied chez le diabétique en comparaison aux techniques classiques d'isolement par culture;

2. de mieux connaître les espèces bactériennes présentes sur ces plaies.

Méthodes : Dix-neuf patients adultes diabétiques de type 1 et 2, ayant une plaie du pied (grades 1-4; SPILF 2007) ont été inclus du 4/02/08 au 17/04/08. Après préparation de la plaie selon les recommandations nationales, des prélèvements en double étaient réalisés par écouvillonnage superficiel et par biopsie tissulaire profonde. Les prélèvements ont été analysés d'une part par culture classique selon les recommandations du REMIC et d'autre part par biologie moléculaire (extraction de l'ADN bactérien, amplification de la région V3 de l'ADN ribosomal 16s et DGGE). Chaque bande obtenue après migration a été séquencée afin d'identifier les espèces bactériennes présentes par comparaison aux bases de données.**Résultats :** La DGGE a permis l'identification d'un nombre plus important d'espèces bactériennes (4 espèces en moyenne) par rapport à la culture classique (1-2 espèces) et elle a identifié des bactéries non cultivables. Pour un même patient, la DGGE a mis en évidence une différence entre la flore bactérienne superficielle et la flore bactérienne profonde. Dans 9 cas sur 19, les bactéries pathogènes présentes ont été détectées uniquement dans le prélèvement profond démontrant l'utilité des prélèvements profonds dans cette pathologie. Dans 11 cas sur 19, la DGGE a permis d'identifier des espèces pathogènes ou potentiellement pathogènes (issues de flores intermédiaires) non isolées par culture classique, entraînant une erreur dans le spectre de prescription antibiotique.**Conclusion :** La DGGE, réalisable en 48h, pourrait être un outil diagnostic complémentaire au diagnostic bactériologique par culture dans le cadre des**Efficacité et tolérance rénale du traitement par vancomycine des infections ostéoarticulaires nosocomiales : étude rétrospective unicentrique.**C. Rodaix², E. Curis⁴, B. Brouard³, D. Archambeau¹, L. Eyrolle¹, B. Blanchet³¹Département d'anesthésie réanimation ²Service de chirurgie orthopédique ³Unité fonctionnelle de pharmacocinétique et pharmacochimie, Assistance publique des hôpitaux de Paris, Hôpital Cochin ⁴Département de biostatistiques, Assistance publique des hôpitaux de Paris, Hôpital Pitié-Salpêtrière, Paris, France

Le but de cette étude rétrospective et monocentrique est d'évaluer l'efficacité et la néphrotoxicité de la vancomycine dans le traitement des infections ostéo articulaires à staphylocoques résistants à la méticilline.

Cette étude incluait les patients traités par vancomycine en perfusion continue pour une infection ostéo articulaire à gram positif avérée (ponction articulaire, prélèvements per opératoires) ou suspectée. La posologie administrée était initialement de 40 à 60 mg/kg/j secondairement ajustée sur les dosages réalisés tous les 2j (cible 25-35mg/l). L'efficacité clinique était définie par :

1. des prélèvements per opératoires négatifs lors d'une réintervention;
2. une guérison clinico-biologique à 1 an. Une diminution de >25% de la clairance de la créatinine (MDRD) définissait une insuffisance rénale. Une association était recherchée entre la dose de vancomycine, la concentration cible et ses variations avec la guérison et l'apparition d'une insuffisance rénale.

Parmi les 38 patients inclus, 17 étaient traités pour une infection documentée et 21 pour une infection suspectée. 12 patients ont présenté une IR. Seuls 3 patients ont présenté un échec de traitement. En analyse univariée les facteurs prédictifs de la survenue d'une IR sont : la posologie initiale de vancomycine indexée au poids (IR: n=9; 36,5 +/-3,4 mg/kg vs non IR: n=23; 29,19 +/- 1,7 mg/kg p=0,047), la concentration maximale de vancomycine (IR n=12; 47,58 +/-3 mg/l vs non IR n=26 37,04 +/- 1,51 mg/l) et la variabilité de cette concentration (IR: n=12; 10,41 +/-0,76 vs non IR: n=25; 7,6 +/-0,62 p=0,07). De plus, l'IR allonge la durée d'hospitalisation (IR: n=10; 47,7 +/- 5,7j vs n=21 30,1 +/- 3,43j). L'analyse multivariée confirme ses résultats.

L'apparition d'une insuffisance rénale est associée à la posologie initiale indexée (OR 1,103 [1,005; 1,244] p=0,03), la vancomycémie maximale (OR 1,148 [1,05; 1,293] p=0,001), à sa variabilité (OR 1,348 [1,066; 1,794] p=0,001) et à l'allongement de la durée d'hospitalisation (OR 1,061 [1,013; 1,123] p=0,010).

La vancomycine est un traitement efficace des infections ostéo articulaires à gram positif associé statistiquement à un risque accru d'insuffisance rénale qui allonge la durée d'hospitalisation.

Systemic exposure profile and tissue penetration (lung, kidney, bone marrow, and gallbladder) of KPI-10 in rabbits after intravenous administration.C. Jacqueline², V. Le Mabecque², C. Desessard¹, A.F. Miègeville², G. Potel², J. Caillon²¹Atlangram ²UFR de Médecine, UPRES EA 3826, Nantes, France**Background:** KPI-10 is a next-generation fluoroquinolone (FQ) with potent activity against FQ-resistant pathogens. The aim of the study was to assess the pharmacokinetics of KPI-10 in a rabbit model by measuring plasmatic and tissue concentrations after intravenous (IV) administration.**Methods:** Blood and tissue samples were collected after KPI-10 infusion (20 mg/kg, 1hr-infusion) at the following time points: 0 (end of the infusion), 30min, 90min, 4hr, 8hr, 12hr, and 24hr after the end of IV infusion. Concentrations of KPI-10 in plasma and tissues were determined in a microbiological assay with *Bacillus subtilis* as the test organism and antibiotic medium No. 2 as the diffusion medium (lower detection limit, 0.25 mg/ml; intraday and interday variations, <10%).**Results:** After IV administration of a 20 mg/kg dose, the peak concentration and area under the curve (AUC) of KPI-10 in plasma were 7.4 mg/ml and 7.0 mg.h/ml, respectively. These values are consistent with the results previously published for other FQs. Corresponding C_{max}; AUC were 109.6;596.7, 23.3; 30.9, 40.7; 38.3, and 5.2 mg/g; 4.1 mg.h/g in the gallbladder, lung, kidney, and bone marrow, respectively. High KPI-10 concentrations were measured in the gallbladder and in the kidney, which suggest KPI-10 elimination by both hepatic and renal pathways (as for ciprofloxacin). The 1-hr infusion of KPI-10 in rabbits was well tolerated; the drug produced no obvious signs of tissue injury.**Conclusions:** According to the present data, KPI-10 is very well distributed to the tissues, with tissue concentrations at least 4-fold higher than those in plasma for all tissues tested except for bone marrow. Given that KPI-10 displays low MIC values against both FQ-susceptible and FQ-resistant pathogens, these data strongly suggest that KPI-10 should achieve tissue concentrations above MICs of most target pathogens.

plaies profondes infectées du pied diabétique. Elle pourrait avoir un impact sur le choix de l'antibiothérapie.

312/71A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Étude prospective clinico-microbiologique des hémocultures positives et issues de traitement.

V. Fihman², T. Billard-Pomares²⁻⁵, G. Barnaud², F. Magdoud², V. Manceron¹, B. Mesples³, J.D. Ricard⁴⁻⁵, C. Branger²⁻⁵

¹Médecine Interne ²Microbiologie-Hygiène ³Pédiatrie ⁴Réanimation Médico-Chirurgicale, Hôpital Louis Mourier - HUPNVS - AP-HP, Colombes ⁵Inserm U722, UFR de Médecine Paris 7 Diderot, Paris, France

Une étude prospective a été menée afin de

- déterminer l'incidence des contaminations et des infections bactériémiques dans un hôpital regroupant des activités pédiatriques et adultes,
- déterminer les facteurs influençant l'issue des bactériémies.

Méthodes : Entre le 1^{er} janvier et le 30 juin 2010, tous les patients présentant au moins une hémoculture positive ont été inclus. Les données démographiques, cliniques, microbiologiques et thérapeutiques de l'épisode ont été relevées. L'adéquation avec l'antibiothérapie et la mortalité hospitalière à 7 et 30 jours ont été analysées.

Résultats : Au total, 495 hémocultures positives correspondant à 227 épisodes ont été identifiées. Les infections représentaient 59% des épisodes. Les contaminations étaient plus fréquentes chez les moins de 15 ans (67% versus 26%, $p < 0,0001$). L'incidence des infections bactériémiques variait de 0,16/1000 journées d'hospitalisation (JH) en Soins de Longue Durée à 8,14/1000 JH en réanimation. Dans 44% des cas, les infections étaient communautaires, 38% nosocomiales et 18% associées aux soins.

Les principaux pathogènes étaient *Escherichia coli* (24%, dont 10% de résistant aux céphalosporines de 3^{ème} génération), les staphylocoques à coagulase négative (17%, dont 78% de résistant à la méticilline), *Staphylococcus aureus* (10%, dont 31% de résistant à la méticilline) et les Streptocoques des groupes A et B (10%).

Dans 56% des cas, l'antibiothérapie probabiliste des infections était appropriée, dans 10% inappropriée, dans 58% absente et dans 2% inconnue. Elle est plus fréquemment inappropriée en cas d'infection nosocomiale (17%, $p = 0,001$) ou lorsque le pathogène est un bacille à Gram négatif (17%, $p = 0,006$). Aucune différence de taux de mortalité n'existait entre les patients infectés et ceux ayant une hémoculture contaminée (14% versus 9%, $p = 0,308$). En cas d'infection, aucune différence de mortalité n'a été relevée en fonction de l'âge, de l'immunodépression, du pathogène ou de l'adéquation de l'antibiothérapie probabiliste ($p > 0,05$).

Conclusion : Le taux de contaminations des hémocultures en service pédiatrique nécessite de revoir les bonnes pratiques de prélèvement. L'antibiothérapie probabiliste ne semble pas avoir d'influence sur l'évolution.

313/71A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Profil épidémiologique et résistance aux antibiotiques des bactéries isolées des hémocultures dans un institut d'orthopédie.

Y. Ben Lamine, R. Ben Jemaa, D. Mhadhebi, S. Lachhab, F.Z. Naimi, S. Besbes

Unité de Microbiologie, Laboratoire de biologie clinique, Institut Mohamed Kassab d'Orthopédie, Ksar Said, Tunisie

Objet : L'objectif de notre étude est de déterminer l'épidémiologie et le profil de sensibilité aux antibiotiques des bactéries isolées des hémocultures, afin d'optimiser l'antibiothérapie probabiliste utilisée en première intention.

Méthodes : Étude rétrospective effectuée au laboratoire de biologie clinique de l'institut Mohamed Kassab d'Orthopédie du 1er janvier 2009 à 31 décembre 2011 portant sur 2526 prélèvements d'hémocultures (aérobie et anaérobie du système Bact/Alert). L'antibiogramme a été réalisé selon les recommandations du comité d'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

Résultats : Le service le plus prescripteur d'hémocultures était la réanimation avec 49.32%. Le taux de positivité des hémocultures était 21.61%. Nous avons isolé 546 germes.

Une large prédominance des cocci à Gram positif (71.97%) étaient marquée par la présence des staphylocoques à coagulase négative (SCN) avec 54.12% suivi des staphylocoques à coagulase positive avec 11.35%.

Les bactéries à Gram négatif (28.02 %), étaient dominées par les entérobactéries avec 18.68% des cas. *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa* étaient isolés respectivement dans 5.35% et 2.74% des cas.

La fréquence de la résistance à la méticilline des staphylocoques était de 16.12% pour *S. aureus* et 54.2% pour les SCN.

Les entérobactéries présentaient un taux de résistance très élevé aux céphalosporines de troisième génération corrélé avec un phénotype de bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) de 49.01% des isolats. Seulement 2.70% de nos souches présentaient une sensibilité diminuée à l'imipénème, ce qui permet d'éviter l'impasse thérapeutique.

La résistance des bacilles à Gram négatif non fermentant aux bêta-lactamines,

notamment l'*A. baumannii*, pose un véritable problème épidémique; en effet, le taux de résistance à la céftazidime était de 56.52%. L'amikacine et la colistine demeurent les antibiotiques les plus régulièrement actifs.

Conclusion : L'actualisation des données locales sur l'épidémiologie des germes et leurs résistances aux antibiotiques est un élément essentiel pour établir une stratégie de lutte contre les infections nosocomiales et la prolifération des bactéries multirésistantes.

314/71A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation de la technique de sonication pour le diagnostic microbiologique des infections ostéo-articulaires sur prothèse : étude pilote aux Hospices Civils de Lyon.

C. Piffaut², G. Demey³, S. Lustig³, S. Boisset¹, T. Ferry⁴, P. Neyret³, S. Tigaud², F. Laurent²

¹Laboratoire de Bactériologie, Hôpitaux Est, Bron ²Laboratoire de Bactériologie ³Service de Chirurgie Orthopédique ⁴Service des Maladies Tropicales et Infectieuses, Hôpital de la Croix-Rousse, Lyon, France

Objectif : La technique de sonication des prothèses articulaires, permettant de décrocher et de fragmenter le biofilm bactérien, a été présentée comme une alternative plus sensible que les méthodes traditionnelles (culture bactérienne des biopsies per-opératoires) pour le diagnostic des infections ostéo-articulaires sur prothèse. Notre travail a consisté en la mise en place d'une étude pilote au sein des Hospices Civils de Lyon afin d'étudier la faisabilité de la technique de sonication en routine et d'évaluer ses performances.

Méthodes : Cinquante deux prothèses articulaires de genou et de hanche explantées dans le service de chirurgie orthopédique de l'Hôpital de la Croix-Rousse à Lyon entre juin 2011 et mars 2012 ont été incluses dans l'étude. Nous avons comparé les résultats obtenus avec la technique de sonication avec ceux de la culture standard des biopsies tissulaires et osseuses per-opératoires. Les patients ont été classés en deux groupes, « suspicion d'infection » ($n=17$) et « descellement aseptique » ($n=35$) selon recommandations de SPLIF.

Résultats : La technique de sonication a permis de détecter, au seuil de 5 CFU/boîte, 47,1% des patients infectés. La spécificité de cette méthode était élevée (97,1%). Les avantages de la technique de sonication mis en évidence dans notre étude sont notamment le nombre élevé de colonies obtenues en culture, un délai de positivité plus court, une meilleure détection des variants microcoloniaux (*Small Colony Variants*). Si la sonication apparaît comme une technique simple à réaliser, moins chronophage que la culture standard incluant 5-7 prélèvements per-opératoires et représentant moins de 30 % du coût total de la culture standard, elle nécessite la mise en place d'une logistique adéquate et ne peut se substituer à l'ensemble des autres prélèvements per-opératoires mais pourrait permettre d'en réduire le nombre.

Conclusion : La technique de sonication apparaît comme prometteuse et mériterait d'être étudiée sur une série plus large. Elle apparaît comme complémentaire aux méthodes traditionnelles pouvant permettre (i) de mieux détecter des infections subcliniques chez des patients non suspects d'infection par libération des bactéries engluées dans le biofilm (ii) d'assurer l'isolement des formes SCV dans les infections chroniques.

315/71A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Fitness, résistance au stress et virulence extra-intestinale chez *Escherichia coli*.

A. Bleibtreu, P.A. Gros, O. Clermont, H. Le Nagard, J. Glodt, B. Picard, O. Tenailon, E. Denamur

INSERM U722 et INSERM U728, PRES Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Escherichia coli est une bactérie versatile, étant à la fois commensale du tube digestif et un problème majeur de santé publique du fait des infections extra-intestinales (EI). La compréhension des déterminants bactériens impliqués dans le développement de la virulence permettra un pas vers le contrôle des infections EI. Le rôle des gènes de virulence a été montré dans la pathogenèse EI d'*E. coli*. Par ailleurs, RpoS, un des 7 facteurs sigma de l'ARN polymérase, joue un rôle crucial dans la survie d'*E. coli* lors de différents stress (thermique, métabolique, acide et osmotique). RpoS contrôle à peu près 10% du génome d'*E. coli*. Son rôle dans la virulence EI est encore débattu. Enfin il existe un rôle des capacités métaboliques dans la virulence EI mal défini jusqu'à présent.

Pour déterminer la part relative de ces différents déterminants dans la virulence EI nous avons étudié une collection de 82 souches humaines (15 commensales et 67 isolats cliniques) représentative de la diversité phylogénétique de l'espèce et caractérisée précédemment en termes de facteurs gènes de virulence et de virulence intrinsèque à l'aide d'un modèle de septicémie murine. Nous avons réalisé *in vitro* des mesures des capacités de croissance, des expériences de compétitions ainsi que des mesures de l'activité RpoS.

Méthodes : Nous avons effectué des analyses de compétition contre une souche d'*E. coli* fluorescente et des essais de croissance en 3 milieux: Luria Bertani (LB), milieu minimum avec du gluconate (MMA) et urine humaine. Le taux de croissance maximal (MGR) a été calculé à partir des courbes de croissance produites par un automate lecteur de densité optique. L'activité RpoS a été déterminée par l'intensité de coloration par l'iode des colonies reflétant le taux de glycogène stockée par la souche lors d'un stress thermique.

Résultats : Tous les phénotypes étudiés ont mis en évidence une grande diversité au sein de l'espèce. Nous avons confirmé l'association entre les gènes de virulence, les groupes phylogénétiques B2, D et la virulence intrinsèque extra intestinale dans un modèle murin. Le MGR médian de la collection était en LB de 1,8 contre 1,4 en urine et 0,4 en MMA. En urine et en LB les souches ayant une forte virulence intrinsèque ont un MGR plus élevé, ce qui n'est pas le cas et en MMA. En compétition, les souches qui gagnent ont une activité RpoS plus importante, mais aucun de ces 2 facteurs n'est associé à la virulence intrinsèque.

Conclusions : A l'échelle de l'espèce la virulence extra intestinale est principalement dépendante des gènes de virulence avec toutefois une contribution significative des capacités de croissance.

316/72A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Endocardite infectieuse à *Streptococcus sinensis*.

E. Teicher

Le Kremlin-Bicêtre, France

Objet : En 2002 une nouvelle espèce de Streptocoque, *Streptococcus sinensis* dont la souche dominante est la HKU4 a été décrite. Depuis des cas d'endocardites infectieuses à *S. sinensis* ont été rapportés en Asie et en Europe. Nous rapportons un cas particulier par sa localisation.

Méthodes et résultat : Une femme de 20 ans, vietnamienne, récemment arrivée en France, consulte aux urgences pour fièvre persistante depuis une dizaine de jours. L'examen physique retrouvait une patiente fébrile avec un souffle continu à renforcement systolique, le reste de l'examen était sans particularité. L'échographie cardiaque montrait un canal artériel persistant, sans végétation. Les hémocultures prélevées sont positives à Streptocoque, identifié comme *S. sinensis*. Une deuxième échographie cardiaque réalisée, confirme le canal artériel persistant ainsi que des végétations en regard. Le diagnostic d'endocardite infectieuse à *S. sinensis* compliquant un canal artériel persistant est donc posé. Aucune porte d'entrée infectieuse n'est retrouvée. L'évolution clinique et biologique ont été favorables sous le traitement recommandé de 4 semaines d'amoxicilline 200 mg/kg/j. Dans un second temps, 3 à 6 mois après l'arrêt de l'antibiothérapie et en absence de récurrence infectieuse, la patiente sera opérée pour fermeture du canal artériel persistant.

Discussion : L'ARN 16S de *S. sinensis* a montré des liens étroits avec le *Streptococcus gordonii* et le *Streptococcus intermedius*. Cette bactérie pourrait être l'ancêtre commun des Streptocoques des groupes *anginosus* et *mitis*. Il s'agirait d'une bactérie ancienne, qui n'était pas clairement identifiée, classée dans le groupe des streptocoques alpha-hémolytiques de la cavité orale où elle semble résider. Moins de dix cas rapportés d'endocardite survenaient chez des sujets avec des pathologies cardiaques sous-jacentes.

Conclusion : *S. sinensis* est décrit comme un germe émergent d'endocardite infectieuse à travers le monde. Son identification précise est intéressante, permettant de cibler les groupes à risques et adapter le traitement antibiotique.

317/72A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Infection de défibrillateur automatique à *Arthrobacter albus*.

C. Soler¹, C. Mac Nab¹, J.P. Labbe², S. David², A. Mérens⁴, A. Lefleche³, N. Sanmartin¹, P. Héno²

¹Biologie ²Cardiologie, HIA Percy, Clamart ³CIBU PIB, Institut Pasteur, Paris ⁴Biologie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

Le genre *Arthrobacter* regroupe une soixantaine d'espèces; ces bacilles à Gram positif aérobies strict, se transforment en cellules coccoïdes en phase stationnaire. Leur habitat est le sol et se comportent comme des pathogènes opportunistes. Moins de 10 cas d'infections ont été décrites et *A. albus* n'a été isolé qu'une seule fois d'une hémoculture. Nous rapportons le premier cas d'infection d'un défibrillateur automatique implantable due à cette espèce. La patiente est une femme de 60 ans transférée depuis la Roumanie pour prise en charge d'une infection d'un défibrillateur automatique. Son admission fait suite à une majoration des troubles fonctionnels cardiaques et à la persistance de l'infection chronique en dépit d'un repositionnement du boîtier et de cures d'antibiothérapie. A son arrivée les signes d'insuffisance cardiaque sont francs avec écoulement purulent en regard de la loge du DAI. Le boîtier et les 3 sondes sont adressés en bactériologie; l'examen des sondes met en évidence l'existence d'un biofilm engageant la totalité des sondes. Les différents prélèvements permettent d'isoler sur gélose au sang et chocolat sous 5% de CO₂ de nombreuses colonies pigmentées en blanc, circulaires lisses de diamètre de 1mm. A la coloration de Gram il s'agit de bacilles à Gram positif dont la forme et le regroupement évoquent des corynéformes. Les hémocultures sont négatives. L'identification biochimique (galerie Api cory, Biomérieux) est en faveur d'un *Brevibacterium sp.*, mais après séquençage du gène codant pour l'ARN 16s, l'identification *A. cummingsii* ou *albus* est retenue; l'existence d'une résistance au desferrioxamine est en faveur de la dernière espèce. L'antibiogramme en milieu solide met en évidence une sensibilité aux bêta-lactamines, aux glycopeptides, à la pristinamycine. Une nouvelle DAI est mis en place et le Targocid est ajouté en sus de la Rocéphine. Après une semaine la patiente quitte le service et le traitement antibiotique est prescrit pour une durée d'un mois. Un système de télé cardiologie BIOTRONIK permet d'assurer son suivi à distance. Ce cas illustre pour la première fois l'implication d'*A. albus* comme agent d'infection de DAI et souligne la nécessité de respecter les mesures de prévention lors d'implantation de tels matériels.

318/72A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Quelle utilisation de la daptomycine dans les infections cardiovasculaires ?

T. Bancourt¹, A. Beausir², K. Moussa¹, C. Rousselière², P. Odou²

¹Service de Cardiologie ²Service de Pharmacie, CHRU, Lille, France

La daptomycine (D) représente un des derniers recours pour traiter les infections cardiovasculaires (icv) à gram + multi-résistants. Cette étude vise à établir un état des lieux des prescriptions de D et d'en vérifier la conformité par rapport aux données de la littérature.

Étude rétrospective menée sur 8 mois réalisée à partir des données médicales du service de cardiologie. La guérison est définie sur validation clinique.

54 patients sont traités de Janvier à Aout 2011. La D est instaurée dans le cadre : d'endocardites infectieuses (41%) dont 17% sur infection de la prothèse, d'infections sur matériel intrathoracique (34%) ou vasculaire (24%), de bactériémies (9%) ou en prophylaxie primaire avant la mise en place d'un heart mate (11%). Les données bactériologiques retrouvent 24 hémocultures positives à staphylocoques (4 SASM, 9 SARM, 10 S.epidermidis, 1 S.haemolyticus), 3 entérocoques, 3 streptococcus bovis et 24 hémocultures stériles. La D est prescrite, après validation par un infectiologue référent, à des posologies différentes : inférieur à 8mg/kg (19), entre 8 et 10 mg/kg (35) et supérieur à 10mg/kg (3). Dans 75% des cas, les associations font appel aux : pénicillines/inhibiteurs des bêta-lactamases (26%), rifamycines (18%), aminosides (17%) et carbapénèmes (15%). La durée moyenne de traitement par D est de 15j [1-25j] pour l'endocardite, 10j [1-20j] pour les infections sur matériel, 15j [6-33j] pour les bactériémies et 31j [10-90j] en prophylaxie. A la fin de l'épisode infectieux, le taux de guérison est de 55%, les décès de 27%, les récurrences de 18%.

Cette étude montre que la D est utilisée à forte posologie hors AMM et hors référentiel pour les icv non documentées mais demeure en adéquation avec les données de la littérature. Cette molécule représente une alternative intéressante pour les traitements documentés justifiée pour certains patients. Cet état des lieux apporte une réflexion nouvelle sur le bon usage de cette molécule qui devrait conduire à protocoliser les prescriptions de D en probabiliste et prophylaxie notamment justifiée par le coût journalier du produit.

319/72A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Endocardite infectieuse à *Streptococcus sinensis*.

V. Seta, D. Denis, E. Fourn, J.M. Michot, C. Ratour, N. Fortineau, O. Lambotte, E. Teicher

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

Objet : En 2002 une nouvelle espèce de Streptocoque, *Streptococcus sinensis* dont la souche dominante est la HKU4 a été décrite. Depuis des cas d'endocardites infectieuses à *S. sinensis* ont été rapportés en Asie et en Europe. Nous rapportons un cas particulier par sa localisation.

Méthodes et Résultat : Une femme de 20 ans, vietnamienne, récemment arrivée en France, consulte aux urgences pour fièvre persistante depuis une dizaine de jours. L'examen physique retrouvait une patiente fébrile avec un souffle continu à renforcement systolique, le reste de l'examen était sans particularité. L'échographie cardiaque montrait un canal artériel persistant, sans végétation. Les hémocultures prélevées sont revenues positives à Streptocoque, identifié comme *S. sinensis*. Une deuxième échographie cardiaque réalisée, confirme le canal artériel persistant ainsi que des végétations en regard. Le diagnostic d'endocardite infectieuse à *S. sinensis* compliquant un canal artériel persistant est donc posé. Aucune porte d'entrée infectieuse n'est retrouvée. L'évolution clinique et biologique ont été favorables sous le traitement recommandé de 4 semaines d'amoxicilline 200 mg/kg/j. Dans un second temps, 3 à 6 mois après l'arrêt de l'antibiothérapie et en l'absence de récurrence infectieuse, la patiente sera opérée pour fermeture du canal artériel persistant.

Discussion : L'ARN 16S de *S. sinensis* a montré des liens étroits avec le *Streptococcus gordonii* et le *Streptococcus intermedius*. Cette bactérie pourrait être l'ancêtre commun des Streptocoques des groupes *anginosus* et *mitis*. Il s'agirait d'une bactérie ancienne, qui n'était pas clairement identifiée, classée dans le groupe des streptocoques alpha-hémolytiques de la cavité orale où elle semble résider. Les moins de dix cas rapportés d'endocardite survenaient chez des sujets avec des pathologies cardiaques sous-jacentes.

Conclusion : *S. sinensis* est décrit comme un germe émergent d'endocardite infectieuse à travers le monde. Son identification précise est intéressante, permettant de cibler les groupes à risques et adapter le traitement antibiotique.

320/72A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Sémiologie respiratoire des bactériémies à porte d'entrée urinaire.

F. de Salvador-Guillouet¹, E. Denis¹, E. Cua¹, L. Landraud², P. Roge²

¹Bactériologie ²Infectiologie, Centre Hospitalier Universitaire, Nice, France

Les infections urinaires bactériémiques (IUB) peuvent être de présentation trompeuse, l'observation suggérant une fréquente sémiologie respiratoire. Notre objectif était de comparer la sémiologie respiratoire et urinaire des IUB à celle des infections urinaires compliquées non bactériémiques (CNB).

Patients et méthode : Il s'agit d'une enquête cas-témoins comparant IUB et CNB, sélectionnées au sein de la cohorte d'infectiologie. La sémiologie respiratoire rapportée incluait l'auscultation pulmonaire, la dyspnée, la toux, le

fait d'expectorer et la notion de douleur thoracique. La sémiologie urinaire incluait les brûlures urinaires, la pollakiurie, les douleurs rénales, la dysurie, et la rétention d'urines. Les IUB étaient définies par l'identification de la même bactérie dans les hémocultures et l'uroculture, et les CNB étant des infections urinaires fébriles avec ECBU positive et hémocultures stériles. L'appariement était réalisé sur l'âge, le genre et la présence de comorbidités cardiaques et pulmonaires.

Résultats : 172 IUB étaient comparées à 370 CNB. En analyse multivariée, les éléments suivants étaient significativement associés aux IUB : la rétention aigue d'urines, OR 2,84 [5,31-1,53], $p < 0,001$, l'existence d'au moins un signe respiratoire, OR 1,78 [1,18-2,68], $p = 0,005$, une comorbidité neurologique, OR 0,536 [0,305-0,942], $p = 0,030$, une douleur à l'ébranlement lombaire, OR=0,344 [0,186-0,659], $p < 0,001$, l'existence d'au moins un signe urinaire, OR=0,206 [0,128-0,332], $p < 0,001$.

Conclusion : Les signes respiratoires constituent le deuxième point d'appel clinique des IUB, tandis que les signes urinaires sont plus rares qu'au cours des CNB. La rareté relative de la sémiologie urinaire pourrait expliquer l'évolution bactériémique d'une infection urinaire.

321/72A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Réunion de concertation pluridisciplinaire « Endocardites ».

G. Wirth⁵, C. Greib⁵, E. Jan¹, D. Chrismet³, O. Peuchant³, F. Arsac⁴, M. Dijos⁴, E. Lazaro⁵, J.L. Pellegrin⁵, F. Camou²

¹Cardiologie ²Réanimation médicale,

Bordeaux ³Bactériologie ⁴Cardiologie ⁵Médecine Interne et Maladies Infectieuses, CHU Bordeaux, Pessac, France

Objet : Nous rapportons la création d'une RCP (Réunion de Concertation Pluridisciplinaire) "endocardites". Le premier objectif est d'établir une discussion avec tous les acteurs intervenants dans la prise en charge des endocardites infectieuses afin d'optimiser et de standardiser les prises en charge. Le deuxième objectif est la mise en place d'une cohorte prospective des endocardites infectieuses prises en charge en Aquitaine afin de réaliser des études épidémiologiques et d'orienter des études de recherche clinique en fonction des problématiques rencontrées.

Méthodes : Nous avons créé une fiche « RCP endocardites », rattachée au dossier informatique de tous les patients. Cette fiche, lorsqu'elle est remplie par le clinicien, active un lien qui envoie un mail à tous les acteurs de la RCP (médecins, chirurgiens, microbiologistes, pharmaciens) afin de disposer des données nécessaires lors de la RCP. Cette RCP est hebdomadaire via un système de visioconférence. Chaque patient présenté en RCP fait l'objet d'une conclusion figurant dans la fiche. L'extraction des données des fiches, nécessaire aux analyses épidémiologiques, se fait via un logiciel BusinessObjects.

Résultats : La RCP est en place depuis février 2012 sur les 3 sites du CHU de Bordeaux (3000 lits). En analysant les données des 83 dossiers d'endocardites présentés sur les 6 premiers mois, nous soulignons l'intérêt majeur de la discussion entre médecins, rythmologues, chirurgiens, microbiologistes et pharmaciens pour optimiser la prise en charge. En effet, la RCP a permis une modification thérapeutique dans 94% des cas (confirmation diagnostique (67%), modification de chimiothérapie anti-infectieuse (78%), extraction de pacemaker (85%), prise en charge chirurgicale (40%), relecture échocardiographie (30%)). 59% des patients sont rediscutés lors de RCP ultérieures. La place des infections sur matériel est prépondérante (47%) et des études voient le jour pour orienter ces prises en charge spécifiques.

Conclusion : Il existe un bénéfice clair à l'existence de RCP pour la prise en charge des endocardites infectieuses. Les perspectives sont d'ouvrir cette RCP aux CHG d'Aquitaine via la visioconférence. Des études de recherche clinique se mettent en place et ceci est facilité par l'existence de la RCP.

322/73A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

La tuberculose ostéo-articulaire extra-vertébrale : un diagnostic à ne pas méconnaître.

M. Ben Jemaa¹, E. Elleuch², T. Hachicha², W. Zribi¹, Z. Mni², H. Keskes¹, M. Ben Jemaa²

¹CHU Habib Bourguiba ²CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Objectifs : Analyse descriptive de la tuberculose ostéo-articulaire (TBCOA) périphérique

Patients et méthodes : Une étude rétrospective (2000-2011) a porté sur les patients atteints de TBCOA périphérique. Les données épidémiologiques, biologiques et radiologiques ont été recueillies. Les modalités thérapeutiques et évolutives ont été analysées.

Résultats : Vingt et un patients (6 hommes et 15 femmes) d'âge moyen de 49 ans ont été inclus. Le début était sub-aigu ou chronique dans 20 cas. La fièvre a été objectivée dans 8 cas, les signes d'impregnation tuberculeuse dans 14 cas et les douleurs ostéo-articulaires dans 16 cas. Les structures ostéo-articulaires atteintes étaient : la cheville (5), l'articulation coxo-fémorale (2), l'articulation sacro-iliaque (3), le grand trochanter (2), le tibia (2), le genou (3), les doigts (2), le crâne (4) et le sternum (1).

La radiographie standard a été faite dans 18 cas et était anormale dans 8 cas. La scintigraphie osseuse a été faite dans 10 cas et a montré des anomalies de fixation dans 7 cas. La TDM a été faite dans 10 cas et l'imagerie par résonance magnétique dans 11 cas. Elles ont montré des anomalies ostéo-articulaires dans tous les cas. Un prélèvement local a été fait dans 20 cas. Le

diagnostic a été confirmé par l'examen bactériologique (1 cas), une preuve histologique (19 cas).

Tous les patients ont reçu un traitement anti tuberculeux pour une durée moyenne de 13 mois. Un traitement chirurgical a été associé dans 17 cas. La guérison a été obtenue dans 18 cas, l'absence d'amélioration a été notée dans 1 cas et la rechute dans 2 cas.

Conclusion : La TBCOA périphérique est fréquente en pays d'endémie tuberculeuse. Le diagnostic doit être évoqué face à une évolution subaiguë ou chronique d'une infection ostéo-articulaire.

323/73A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Spondylodiscite tuberculeuse, à propos de 21 cas.

H. Bouchaib, N. Achour, M. Afiri

Service des Maladies Infectieuses, CHU Nedir Mohamed, Tizi-Ouzou, Algérie

Introduction : La spondylodiscite tuberculeuse (Sd tbc) est d'actualité dans notre pays. Le rachis dorsolombaire est le plus fréquemment atteint. Les manifestations cliniques sont peu spécifiques.

Objet de l'étude : Étude des caractéristiques radiocliniques, biologiques et des modalités de prise en charge diagnostique(Dc) et thérapeutique des Sd tbc.

Méthodes : Notre étude rétrospective concernait 21 cas de Sd tbc hospitalisés dans notre service du 1er /1/03 au 31/12/11. Le Dc fut retenu après confirmation bactériologique ou sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et évolutifs.

Résultats : Nos patients présentèrent les caractéristiques suivantes:

Sexe masculin prédominant (n=12), âge moyen=54 ans (30-81 ans).

Délai moyen de consultation = 3 mois.

Les localisations notées: lombaire (n=14), dorsolombaire (n= 6) et dorsale (n=1).

Le Dc de Sd, évoqué par les radiographies standard, fut confirmé par TDM et/ou IRM, pratiqué dans tous les cas. La biopsie discovertébrale, faite dans 19 cas, fut concluante 17 fois. Des complications furent notées: épidurite et compression médullaire (n=4). Tous les patients eurent un traitement antituberculeux, durée moyenne: 12 mois et une prise en charge rééducative adaptée. L'évolution fut favorable, hormis dans les cas de complications neurologiques.

Conclusion : L'imagerie joue un rôle important dans l'appréciation des lésions de la Sd tbc et permet de guider la biopsie, le traitement et la surveillance. Tout retard diagnostique peut compromettre le pronostic.

324/73A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Profil bactériologique et épidémiologique des infections sur prothèse articulaire : une étude rétrospective à propos de 41 cas.

O. Bouallegue, C. Chaouch, M. Zouari, L. Tilouch, A. Ghouila, S. Ketata, N. Boujaafar

Laboratoire de bactériologie-virologie, CHU Sahloul Sousse, Monastir, Tunisie

Il s'agit d'une étude descriptive, rétrospective et transversale qui a pour objectif d'étudier le profil bactériologique et épidémiologique des patients présentant une infection sur prothèse totale de la hanche (PTH) ou une prothèse totale de genou (PTG) et d'étudier les résultats de l'antibiothérapie à partir des données du laboratoire de microbiologie et des dossiers des patients hospitalisés au service d'orthopédie traumatologie du CHU Sahloul Sousse Tunisie.

Cette étude s'est étalée sur une période de 10 ans allant du 1^{er} janvier 2000 au 31 décembre 2009, 41 dossiers étaient retenus. Durant la même période, 1191 prothèses articulaires ont été réalisées.

Pour porter le diagnostic d'infection sur prothèse articulaire, quatre éléments étaient à notre disposition : diagnostic clinique, biologique, radiologique et bactériologique.

Parmi les 41 cas colligés, 18 étaient des infections sur PTH (soit 4%) et 23 PTG (soit 3,1%). Ce qui présente une incidence globale de 3,5%, avec un sexe ratio de 0,95 et un âge moyen de 67 ans. La survenue de l'infection était le plus fréquemment retrouvée chez des patients diabétiques (27,5%) ou porteurs de rhumatisme inflammatoire chronique (16,6%) sous corticothérapie et immunosuppresseurs. L'élévation de la VS était le signe le plus fréquent (78%) et celle de la CRP la plus spécifique. L'infection était mono microbienne dans 80,5% avec prédominance de cocci Gram positifs (62,2%), essentiellement *Staphylococcus aureus* dans 48% des cas dont 30,4% méticillino-sensible et 17,4% méticillino-résistant. Les bacilles Gram négatif étaient isolés dans 32,4% des cas. Le traitement était celui d'un traitement chirurgical associé à un antibiothérapie bactéricide de longue durée. Dans notre travail, les fluoroquinolones, les glycopeptiques, les céphalosporines de troisième génération et les aminosides étaient les plus prescrits en bithérapie. L'évolution était cliniquement favorable dans 85,3% des cas.

La complexité et la gravité des infections sur prothèse du genou et de hanche, impliquent une étroite collaboration entre les chirurgiens orthopédistes et microbiologistes dans le but d'améliorer le pronostic de ces infections et d'autres études sont nécessaires afin d'optimiser la prise en charge diagnostique et thérapeutique.

Efficacité et effets indésirables de traitements antibiotiques complexes d'une cohorte de sujets présentant des infections ostéo-articulaires (IOA) à bactéries hautement résistantes (BHR).

A. Dinh^{2,1}, V. Le Strat¹, C. Rouzaud¹, B. Davido^{1,2}, C. Lawrence¹, J.L. Herrmann¹, A.C. Crémieux^{1,2}, T. Judet¹, C. Perronne^{1,2}
¹CHU R. Poincaré ²SPLIF, Garches, France

Objet : Les IOA à BHR sont rares et nécessitent des antibiothérapies complexes prolongées et à fortes doses dont l'expérience clinique est limitée en terme d'efficacité et de tolérance.

Méthode : Six patients présentant des IOA à BHR ont été regroupés sur un seul site hospitalier expert. Nous rapportons les différents traitements antibiotiques prescrits ainsi que l'évolution des patients.

Résultats obtenus : Les 6 patients d'âge moyen 23 ans (20-34) présentaient des IOA chroniques plurimicrobiennes comprenant au moins une BHR isolée sur un prélèvement per opératoire. Ont été retrouvées, 2 cas d'ostéoarthritis de hanche dont une fistulisée au rectum, 2 cas d'ostéites tibiales dont une sur matériel en place et 2 cas d'ostéites fémorales.

Les principales bactéries responsables étaient *Klebsiella pneumoniae* sécrétrices de carbapénémase (n=3), entérobactéries sécrétrices de BLSE (n=7), *Pseudomonas aeruginosa* multi résistants (n=3), acinetobacter résistant à l'imipénème (n=1), Staphylocoque résistant à la méticilline (n=2);

Les principales molécules antibiotiques utilisées en association étaient carbapénèmes (n=4), fosfomycine (n=4), colimycine (n=3), aminoglycoside (n=3)

L'évolution était favorable avec absence de rechute à 4 mois, en moyenne, de l'arrêt de l'antibiothérapie sauf pour 2 patients, qui présentaient une fistulisation au rectum pour l'un et une infection sur matériel en place pour l'autre. Deux épisodes d'intolérance médicamenteuse (un DRESS, drug rash with eosinophilia and systemic symptoms, syndrome et une insuffisance rénale) ont été relevés nécessitant l'arrêt de l'antibiothérapie en cours avec secondairement récupération complète et sans séquelle.

Conclusion : Dans notre expérience les IOA à BHR ont une évolution favorable sous antibiothérapie adaptée, en dehors d'infection fistulisée complexe et d'infection sur matériel en place. Ceci malgré des épisodes d'intolérance médicamenteuse aiguë.

L'acide fusidique, une alternative thérapeutique dans les IOA, en cas de résistance ou d'allergie à la rifampicine ou aux fluoroquinolones.

S. Ivanoff, Y. El Samad, B. Brunschweiler, B. Canarelli, J.L. Schmit
 CHU d'Amiens, Amiens, France

Objet de l'étude : L'acide fusidique (AF) a parfois un intérêt dans le traitement des infections ostéo-articulaires (IOA), cependant, il existe très peu de données dans la littérature. Cette étude a pour objectif d'évaluer la place de l'AF dans les IOA sans et avec prothèse ou matériel d'ostéo-synthèse à staphylocoque.

Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective, réalisée à partir d'une cohorte de patients enregistrée dans le service d'orthopédie ou de maladie infectieuse du CHU d'Amiens entre 2004 et 2011. Tous les patients devaient recevoir au minimum 1 mois d'AF. L'efficacité était évaluée en respectant un recul d'un an après l'arrêt de l'AF.

Résultats : 21 patients (9 hommes et 12 femmes), de 64 ans en moyenne (35-93) ont été analysés. 10 patients avaient une prothèse, 7 du matériel d'ostéosynthèse et 4 une ostéite. Le délai moyen pose-symptôme était d'environ 53 mois.

13 patients avaient une IOA à staphylocoque doré (6 sensibles à la méticilline et 7 résistants) et 7 à staphylocoque coagulase négative (4 sensibles à la méticilline et 3 résistants). Un seul staphylocoque était intermédiaire à l'AF, tous les autres étaient sensibles. Un patient n'avait pas de documentation bactériologique.

La moyenne de recul était de 27 mois.

L'AF était efficace chez 11 (52%) patients : 5 (50%) prothèses, 5 (71%) ostéosynthèses et 1 (25%) ostéite (aucune différence significative).

Un patient, traité pour une ostéite a rechuté avec la même bactérie (staphylocoque doré), 9 (42%) ont développé une infection avec un nouveau germe. L'AF était choisi en 1^{ère} intention chez 10 (48%) en raison d'une résistance à la rifampicine et/ou à l'ofloxacet et chez 7 patients en raison d'une intolérance ou d'une réaction allergique à ces mêmes antibiotiques (33 % sur l'ensemble des patients, 63% des patients sensibles à l'ofloxacet et à la rifampicine).

Conclusion : Cette étude révèle que l'AF peut-être utilisée dans les IOA avec ou sans prothèse ou matériel d'ostéosynthèse mais en cas de résistance ou d'allergie à la rifampicine et/ou aux fluoroquinolones, cependant avec une efficacité moyenne (52%).

Spondylodiscites infectieuses, à propos de 31 cas.

H. Bouchaib¹, M. Afir¹, N. Achour¹, A. Ait Ameur²
¹Service de Maladies Infectieuses ²Service de Microbiologie, CHU Nedir
 Mohamed, Tizi-Ouzou, Algérie

Introduction : Les spondylodiscites infectieuses (SI) correspondent à une pathologie d'actualité. Le diagnostic (Dc) est le plus souvent évoqué sur un faisceau d'arguments cliniques et radiologiques.

Objet de l'étude : Cerner la présentation radio-clinique et biologique actuelle des SI et en apprécier le profil évolutif.

Méthodes : Étude rétrospective de dossiers de 31 patients hospitalisés pour SI dans notre service, du 1^{er} Janvier 02 jusqu'au 31 Décembre 11. Le Dc fut retenu après confirmation bactériologique ou sur un faisceau d'arguments cliniques, radiologiques et évolutifs.

Résultats : Notre série comporta 17 hommes et 14 femmes. Moyenne d'âge: 29 ans (18-73). Délai moyen de

Dc: 3 mois. La rachialgie fut le symptôme le plus fréquent (n=29). La CRP fut augmentée dans 28 cas.

Le Dc de SI évoqué par les radiographies standard, fut confirmé par TDM et/ou IRM, pratiqué dans tous les cas. La localisation lombaire fut la plus fréquente (n=18).

Hémocultures positives (n=4), Ponction-biopsie disco-vertébrale (PBDV) positive (n=21) sur 28 réalisées.

L'étiologie tuberculeuses fut retenue dans 21 cas, avec confirmation bactériologique et/ou histologique dans 17 cas. Un germe fut isolé dans 7 cas, *Staphylococcus aureus* fut le plus fréquent (n=4). Une antibiothérapie adaptée fut prescrite dans tous les cas avec une durée moyenne de 9 mois. Complications notées: epidurite et compression médullaire (n=4). Des séquelles à type de paraplégie furent notées chez 2 patients. Par ailleurs, l'évolution fut favorable.

Conclusion : Dans notre série, La PBDV permet le Dc dans 68% des cas, l'origine tuberculeuse est la plus fréquente.

Un Dc et une prise en charge précoces sont nécessaires afin de prévenir les complications graves.

Évaluation de la prise en charge du pied diabétique au CHU la Rabta.

A. Louhaichi, M. Khrouf, M. Guerfeli
 Ariana, Tunisie

Objectif : Le but de notre travail est d'évaluer la prise en charge du pied diabétique CHU la Rabta afin de contribuer à l'amélioration de la qualité de vie des patients.

Matériels et méthodes : Il s'agit d'une étude prospective, descriptive sur dossier à propos de 43 cas au service endocrinologie du CHU la Rabta sur une période de cinq mois. Les données recueillies comportaient: L'âge des patients, le sex-ratio, type de diabète avec son âge, type de lésion. Les examens paracliniques retenus: l'exploration doppler, la radiographie standard du pied, prélèvement bactériologique du pus (pratiqué chez 2 patients). Le traitement prescrit. Les aspects évolutifs.

Résultats : Dans notre étude nous présentons 43 diabétiques (40 DNID et 3DID) ayant des lésions de pied. Sexe ratio (homme/femme =3,3), âge moyen 60 ans et durée moyenne de diabète 15 ans. les lésions traumatiques représentent 46.68%. Les facteurs déclenchant la survenue des ulcérations Les lésions les plus fréquentes sont les gangrènes (32,55%), les ulcères et maux perforants plantaires (67,45%). Les principaux facteurs étiologiques sont la neuropathie périphérique (72,09%) et l'artérite des membres inférieurs (30,23%). L'ostéite et l'infiltration athéromateuse diffuse sont observées chez 46.66% des patients. Les prélèvements sont réalisés chez deux patients (90,70%) des patients ont bénéficié d'une antibiothérapie, les molécules les plus prescrites sont amoxicilline+ac.Clav (30%), acide fusidique (22%), pristinamycine (22%), ciprofloxacine (15%). L'amputation a été réalisée chez 37,20% des patients.

Conclusion : L'infection du pied chez les personnes diabétique demeure une des complications sévères en Tunisie, elle représente un motif fréquent de prescription d'antibiotiques ceci incite à une documentation microbiologique rigoureuse pour identifier les germes en cause et à avoir une parfaite maîtrise des règles de prescription des antibiotiques.

Spondylodiscites infectieuses : cohorte de 116 cas.

C. Rouzaud¹, A. Dinh^{2,1}, A.L. Roux¹, R. Carlier¹, J.L. Herrmann¹, L. Bernard¹
¹CHU R. Poincaré ²SPLIF, Garches, France

Objet : Étudier les caractéristiques cliniques et microbiologiques ainsi que la prise en charge de 116 cas consécutifs de spondylodiscites ayant été pris en charge dans un service de maladies infectieuses référent.

Méthode : Étude rétrospective descriptive monocentrique menée de 2006 à 2012. La définition de cas nécessitait un diagnostic de spondylodiscite infectieuse à l'IRM et une identification bactériologique par hémoculture ou prélèvement disco vertébral. Deux prélèvements étaient nécessaires en cas de

germe possiblement contaminant (staphylocoque à coagulase négative, corynébactérie, *Propionibacterium acnes*) et un suffisait en cas de germe pathogène.

Résultats obtenus : Nous avons recensé 116 patients, 82 hommes et 34 femmes, âge moyen 63 ans. La fréquence de la fièvre rapportée à l'admission est de 52% (n=61). Le délai diagnostique moyen est de 42,7 jours. Nous avons identifié 55 cas de bactériémies, 11 endocardites et 40 cas d'épidurites, 8 cas se sont compliqués de compression médullaire. L'épidémiologie microbiologique retrouve 38 infections à *Staphylococcus aureus* dont 36 méthicilline sensible et 2 méthicilline résistants, 11 infections à staphylocoques à coagulase négative, 10 infections à *Escherichia coli*, 16 infections à streptocoques non entérocoque, 4 infections à entérocoques, et 5 infections à *Pseudomonas aeruginosa*, 5 *Mycobacterium tuberculosis*. Cinq patients sont décédés de cause non septique, les autres n'ont pas présenté de signe de rechute. La durée de traitement était de 6 ou 12 semaines.

Conclusion : Le diagnostic de spondylodiscites est difficile, 48% des cas étaient aseptiques. Le principal micro-organisme isolé reste *S. aureus* sensible à la méthicilline, cette pathologie essentiellement communautaire ne semble pas présenter un contingent important de bactéries multi résistantes responsables. Il s'agit d'une pathologie potentiellement associée à une endocardite (10%), avec un risque neurologique, fréquemment bactériémique (47%), dominée par *Staphylococcus aureus* (32,7%), mais dont l'évolution ne semble pas corrélée à la durée de l'antibiothérapie et le pronostic peu sévère. Les décès sont liés à des pathologies intercurrentes due aux comorbidités des ces patients âgés.

330/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Evaluation of the new Mycofast Revolution kit for antibiotic susceptibility testing of genital mycoplasmas, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* spp.

C. Bébéar^{2,1}, H. Renaudin¹

¹CHU de Bordeaux ²Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

In 2011, the Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) Subcommittee on Human Mycoplasma Susceptibility testing has published guidelines for the methods for antimicrobial susceptibility testing for human mycoplasmas (M43-A). This document provides guidelines for performance, interpretation, and quality control of *in vitro* broth microdilution and agar dilution susceptibility tests for several antibiotics suitable for *Mycoplasma pneumoniae*, *Mycoplasma hominis* and *Ureaplasma* spp. A new commercial kit named Mycofast Revolution was developed by ELITech Microbio for identification, counting and antibiotic susceptibility testing of the genital mycoplasmas, *M. hominis* and *Ureaplasma* spp., and can be used directly from specimens. The susceptibility testing part consists in microtiter plates containing antibiotic powders at different breakpoint concentrations in accordance with the CLSI guidelines. In this study, the new kit Mycofast Revolution was evaluated for its antibiotic susceptibility testing part in comparison to the broth microdilution reference method described in the CLSI M43-A guidelines. A total of 25 strains were enrolled: 5 *U. urealyticum* (1 reference strain ATCC 27618, 2 wild-type clinical strains, 2 clinical strains resistant to tetracyclines or fluoroquinolones genetically characterized), 10 *U. parvum* (1 reference strain ATCC 27815, 6 wild-type clinical strains, 3 clinical strains resistant to tetracyclines or fluoroquinolones genetically characterized) and 10 *M. hominis* strains (1 reference strain ATCC 23114, 5 wild-type clinical strains, 4 clinical strains resistant to tetracyclines or fluoroquinolones genetically characterized). Their susceptibility profiles to tetracycline, erythromycin, clindamycin, levofloxacin and moxifloxacin were studied using the kit according to the manufacturer's instructions and compared to the MIC results given by the microbroth dilution reference method from CLSI. Three distinct inoculums were tested for each studied strain, corresponding to 10³, 10⁴ and 10⁵ Color Changing Units (CCU) per ml. 367 of the 375 tests realized (97.9%) were concordant between both methods. Strains categorized susceptible by MICs were also susceptible by the Mycofast Revolution kit. Strains resistant to tetracyclines or fluoroquinolones were correctly identified by the Mycofast Revolution kit. The Mycofast Revolution's results did not vary with the 3 inoculums tested. In summary, a very good correlation was observed between the susceptibility results given by the Mycofast Revolution kit and the MIC determination according to the CLSI guidelines.

331/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Dépistage de *Chlamydiae trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae* dans des prélèvements uro-génitaux à l'aide du système Panther® (Gen-Probe).

E. Ruppé¹, M. Delamare¹, C. Moreau¹, E. Bouvet², A. Andremon¹,

L. Armand-Lefèvre¹

¹Bactériologie, Groupe Hospitalier Bichat-Claude Bernard ²CDAG-Ciddist, Groupe hospitalier Bichat-Claude Bernard, Paris, France

Contexte : *Chlamydiae trachomatis* (CT) et *Neisseria gonorrhoeae* (NG) sont fréquemment responsables d'infections sexuellement transmissibles (IST). Leur évolution à bas bruit, particulièrement chez la femme, justifie leur recherche systématique. Le Panther® (Gen-Probe) est système automatisé comprenant l'extraction, l'amplification d'ADN (*transcription-mediated amplification*) et sa révélation, à partir de prélèvements vaginaux (PV) ou 1ers jets urinaires (PJU). L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances du Panther® et de mesurer la prévalence des infections à CT et NG chez

différents consultants au sein de notre établissement.

Matériels et méthodes : Du 1^{er} avril au 15 juin 2012, les PV et PJU des consultants au centre de dépistage anonyme et gratuite (CDAG), au centre d'information, de dépistage et de diagnostic des IST (Ciddist), en procréation médicalement assistée (PMA) et dans divers services ont été testés pour CT/NG par le Panther® (kits Aptima Combo2 et Aptima GC pour confirmation NG). Les recherches de CT ont été effectuées en parallèle par le kit CT Cobas Amplicor® (Roche) et celles de NG par culture.

Résultats : Au total, 518 prélèvements (282 PJU et 236 PV) ont été testés (28% Ciddist, 27% CDAG, 24% PMA et 21% autres). Le sexe ratio (H/F) était de 1,2 et l'âge moyen de 26,8 ans. La prévalence globale d'infections par CT et NG était de 9,1% (47/518) et 2,7% (14/518) respectivement; 7 patients (1,4%) étaient positifs pour CT et NG. Les prévalences de CT et NG étaient plus élevées chez les sujets du Ciddist (11,7 et 4,8% respectivement) et du CDAG (12,6 et 2,2%) qu'en PMA (1,6 et 0,8%) (P<0,05). La comparaison avec l'Amplicor® montrait 98,6% (511/518) de CT concordants; soit 91,5% (43/47) des résultats positifs et 99,4% (468/471) des négatifs. Parmi les 50/144 prélèvements du Ciddist mis en culture, 4 étaient positifs pour NG par culture contre 6 par biologie moléculaire. Le Panther® s'est révélé intuitif et pratique, notamment par le passage des prélèvements en flux continu.

Conclusion : La recherche combinée CT/NG systématique par le système Panther® est fiable, rapide et maniable et améliore le diagnostic des infections à NG dans les populations à risque.

332/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Apport du test XPERT® CT/NG (GenEXpert®) dans la prise en charge des infections pelviennes chez la femme.

A. Dubouix-Bourandy², J.A. Bourmazeau¹, S. Favrin¹, L. Puyuelo¹, R. Aoun¹, C. de Lapasse¹, V. Pietri², J.M. Gandois¹

¹Service de Gynécologie-Obstétrique, Clinique de L'Union ²Laboratoire Roudier Pietri Gandois Dubouix, Saint-Jean, France

Objet : Les infections à *Chlamydia trachomatis* et à gonocoques peuvent provoquer une pelvipéritonite ou une salpingite avec risque de stérilité tubaire et grossesse extra-utérine. Il n'est pas rare que ces complications soient les premières manifestations de l'infection. Les techniques moléculaires sont considérées comme techniques de référence pour le diagnostic des infections à Chlamydiae. La culture du gonocoque est très spécifique mais sa viabilité sur un milieu de transport ne dépasse pas 6 à 12h. Les tests de PCR sont donc recommandés pour le dépistage de *N. gonorrhoeae* des patients asymptomatiques. Le test Xpert® CT/NG vient d'obtenir son marquage CE pour le dépistage simultané des *Chlamydiae* et des gonocoques dans les prélèvements vaginaux, endocervicaux et urinaires. Nous avons dans un premier temps souhaité valider ce test dans des liquides de coelioscopie puis nous avons évalué l'impact du résultat dans la prise en charge de la patiente.

Méthodes : 50 liquides de coelioscopie ont été soumis à l'analyse par Xpert® CT/NG et comparés aux techniques habituellement utilisées dans notre laboratoire : PCR temps réel TaqMan® Roche pour la détection des *Chlamydiae* et culture standard pour la détection des gonocoques. Le temps de rendu de résultat des deux méthodes de détection moléculaire a ensuite été comparé par la méthode Lean Six Sigma®.

Résultats : Nous avons pu étendre l'utilisation de la technique de détection Xpert® CT/NG aux liquides de coelioscopie. Les valeurs de sensibilité étaient respectivement de 98.7% pour la détection de *C. trachomatis* et de 100% pour la détection de *N. gonorrhoeae*. La spécificité était de 100% pour les deux espèces. En ce qui concerne la détection moléculaire des infections à *Chlamydiae*, le temps de préparation de l'échantillon par Xpert® CT/NG était de 2 mn contre 2h10 par détection Taqman®. Le temps de rendu de résultat était quant à lui de 88 mn par technique Xpert® CT/NG- contre 4h10 pour la seconde technique.

Conclusion : L'utilisation de la technique Xpert® CT/NG est parfaitement adaptée à la détection rapide des principaux germes responsables de pelvi-infections chez la femme. Son utilisation flexible permet de l'utiliser au coup par coup en situation d'urgence et d'adapter ainsi rapidement l'antibiothérapie en conséquence.

333/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Détection de *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae*, and *Mycoplasma genitalium* in uro-genital samples by the real-time Dx CT/NG/MG PCR assay.

J. Loubinoux^{1,3}, H. Réglier-Poupet¹, H. Colboc², G. Collobert¹, A. Billoët¹, N. Tavares¹, N. Dupin^{2,3}, C. Poyart^{1,3}

¹Service de Bactériologie ²Service de Dermato-vénérologie, CIDDIST Tamier, Hôpitaux Universitaires Paris Centre Cochin Hôtel-Dieu Broca, Assistance Publique Hôpitaux de Paris ³Faculté de Médecine, Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Background: *Chlamydia trachomatis* (CT) and *Neisseria gonorrhoeae* (NG) are the most prevalent bacteria responsible for sexually transmitted infections (STIs). However, there is a recent growing interest in the pathogenic role of *Mycoplasma genitalium* (MG).

Objectives:

• To evaluate the automated nucleic acids extraction with NucliSens easyMAG® platform (bioMérieux, France) for the Dx CT/NG/MG assay (Bio-

Rad, France).

- To compare the Dx CT/NG/MG assay to the Roche Cobas TaqMan CT™ test for CT detection.
- To assess specificity of the Dx CT/NG/MG assay for NG detection.
- To determine the prevalence of MG.

Methods: We analysed 3272 clinical samples (1853 first-void urines, 1189 vaginal swabs, and 230 samples from other origins) prospectively collected from Sep-01-2011 to Mar-23-2012. Automated nucleic acids extraction was performed with NucliSens easyMAG® platform. The Dx CT/NG/MG real-time multiplex PCR was performed in parallel to the Cobas TaqMan CT™ test according to manufacturer's procedures. All NG positive results were confirmed either by culture or by another NG real-time PCR assay (Diagenode Diagnostics, Belgium).

Results: The patients (mean age: 30 yrs, sex ratio M/F: 1.1) belonged mostly to STIs consultations and Reproductive Biology. In women (n=1591), the prevalence of CT, NG, and MG was 8.5, 1.9, and 2.8%, respectively. In men (n=1681), the prevalence of CT, NG, and MG was 5, 2, and 2.3%, respectively. For CT detection, only 5/220 samples were discordant (low positive with Cobas TaqMan CT™ and negative with Dx CT/NG/MG). The Dx CT/NG/MG system enabled the detection of 85 NG positive samples, whereas only 29 were culture positive. However, among these 85 NG PCR positive, 21 were false positive, mostly throat samples for which the assay is not validated.

Conclusions: This study validates the NucliSens easyMAG® platform to extract nucleic acids for the use of the Dx CT/NG/MG assay. The Dx CT/NG/MG assay is an easy to use, rapid, and valuable test for the simultaneous detection in a single sample of the three major sexually transmitted pathogens. It is more sensitive than culture for NG detection. However, NG positive PCR might be confirmed by another method as recommended by recent studies. Interestingly, the prevalence of MG was higher than that of NG.

334/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Prevalence and risk factors associated with *Chlamydia trachomatis*, *Neisseria gonorrhoeae* and *Mycoplasma genitalium* infection in French pregnant women.

O. Peuchant^{5-2,3}, C. Leroy⁵⁻², C. Desvieux⁴, A. Paris⁴, J. Asselineau¹, C. Maldonado¹, G. Chêne¹, J. Horowitz⁴, D. Dallay⁴, B. de Barbeyrac^{5-2,3}, C. Bébéar^{5-2,3}

¹CHU de Bordeaux, Pôle de Santé Publique, Unité de Soutien Méthodologique à la Recherche Clinique et Epidémiologique ²INRA, USC Infections humaines à mycoplasmes et à chlamydiae ³Laboratoire de Bactériologie, CHU de Bordeaux ⁴Service de Gynécologie Obstétrique, CHU de Bordeaux ⁵Université Bordeaux, USC Infections humaines à mycoplasmes et à chlamydiae, Bordeaux, France

Objectives: In France, screening for sexually transmitted infections is recommended in at-risk populations to the exclusion of pregnant women, for whom screening is performed only if the patient is symptomatic. The objectives of this study were to estimate the prevalence and to identify risk factors associated with *Chlamydia trachomatis* (CT), *Neisseria gonorrhoeae* (NG) and *Mycoplasma genitalium* (MG) infection in pregnant women consulting at the Bordeaux University Hospital.

Methods: Pregnant women aged more than 18 years old (yo) with available vaginal swab performed during pregnancy were included after consenting to the study. Patients treated by macrolides or β-lactams within the prior 3 weeks before sampling were excluded from the study. Clinical, sexual behavior and sociodemographic characteristics were collected according to a standardized questionnaire. Real-time PCRs were performed on vaginal swabs by using the Roche Cobas® 4800 CT/NG test and an in house Taqman assay for MG detection.

Results: Among 1068 eligible patients, 1004 patients with a vaginal swab were included. The prevalence of CT and MG infections were 2.5% (25/1004) and 0.8% (8/1004), respectively. Higher prevalence of infection was found in patients aged 18 to 24 yo, i.e 7.9% for CT and 2.4% for MG. Overall, no NG infection and no dual CT/MG infection was identified. Most infected patients were asymptomatic (81.8%, 27/33), 3/33 were symptomatic of urogenital infection and 3/33 were hospitalized for premature rupture of membranes or threatened preterm delivery. CT infection was more frequent with: age ≤ 24 yo (odd-ratio (OR) = 6.7, 95% CI: 2.5-17.6, p<0.001), being single (OR=4.3, 95% CI: 1.5-11.3, p=0.005) and having more than five sexual partners in life (OR=6.5, 95% CI: 2.5-18.8, p<0.001). MG infection was more frequent with younger age (OR=9.0, 95% CI: 1.5-57.3, p=0.01), a history of abortion (OR=8.6, 95% CI: 1.5-50.6, p=0.01) and having a first sexual intercourse after 20 yo (OR=7.1, 95% CI: 1.2-47.3, p=0.03).

Conclusions: CT infection is highly prevalent in pregnant women, especially those aged 18 to 24 yo. Most of the cases were asymptomatic and could be identified only through screening. Systematic screening for CT infection could benefit to pregnant women, especially those under 25 yo.

335/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Dépistage systématique du *Chlamydia trachomatis* par auto-prélèvement chez les jeunes femmes de moins de 25 ans à la CDAG de Paris Belleville.

C. Charlois-Ou, P. Dhotte, N. Boo

Dases, Mairie de Paris, Paris, France

Objectif : Le dépistage systématique par auto-prélèvement de l'infection par *Chlamydia trachomatis* (CT) pour les jeunes femmes de moins de 25 ans a été mis en place par la Ville de Paris dans les 11 Consultations anonymes et gratuites (CDAG) parisiennes fin 2007. Nous avons voulu évaluer au sein de la CDAG de Belleville l'évolution de la prévalence du CT depuis l'introduction du dépistage.

Méthodes : Des prélèvements pour le dépistage du CT par auto-écouvillonnage vaginal ont été proposés à 6321 jeunes femmes de moins de 25 ans se présentant à la CDAG de Belleville du 1er janvier 2008 au 31 décembre 2011. Les prélèvements réalisés ont ensuite été analysés au Laboratoire d'Hygiène de la Ville de Paris par PCR en temps réel TAQMAN (Roche). Les données concernant les usagers ont été recueillies prospectivement à partir de fin 2010.

Résultats : En 4 ans, sur les 4165 femmes dépistées, 423 étaient infectées par le CT soit un taux moyen de positivité à 10,1% sur 4 ans. De 2008 à 2011, le taux annuel de dépistage augmente 50,55 à 75% et le taux annuel de positivité de 9,21% à 12,76%.

En 2011, les auto-prélèvements ont été proposés à 93% des jeunes consultantes de moins de 25 ans soit au total 1474 patientes. Seul 1% d'entre elles ont refusé d'être dépistées et 75% d'entre elles ont réalisé le test (les motifs de non réalisation étant principalement des ménorrhées à 85%). Il s'agissait du premier dépistage pour le CT pour 80% des jeunes femmes dépistées. Sur les 142 patientes étant infectées par le CT, 130 soit 91% d'entre elles sont venues chercher leurs résultats et ont été traitées dans le centre. Aucune d'entre elles n'était symptomatique. On a relevé que 43% des partenaires n'étaient pas joignables et n'ont pu bénéficier d'aucune prise en charge.

Conclusion : De 2008 à 2011, la prévalence de l'infection à *Chlamydia trachomatis* a augmenté au sein de la population venant consulter à la CDAG de Belleville, avec en 2011 un taux de positivité de 12,76 % très élevé par rapport à la prévalence nationale. Ces résultats confirment l'importance du dépistage systématique par auto-prélèvement chez les jeunes femmes de moins de 25 ans et la nécessité de renforcer le message de prévention sur les IST délivré aux usagers du centre.

336/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Epidémiologie des infections à *Chlamydia trachomatis* au CHU de Caen entre janvier 2000 et juin 2012.

J. Petitjean Lecherbonnier¹, I. Asselin², F. Guérin³, A. Vabret¹

¹Laboratoire de Virologie ²Service Orthogénie, CHU, Caen ³Laboratoire Hôpital, Saint-Lô, France

L'infection à *Chlamydia trachomatis* (Ct), 1^{ère} IST bactérienne, est en nette recrudescence en France depuis début 2000 (données Renachla). En 2003, l'émergence de LGV rectale est signalée en Ile de France. A Caen de 2000 à 2003, une étude de prévalence des IST au centre de détention montre une augmentation de la prévalence (multiplié par: x3) entre 2002 et 2003.

Objectifs : Donner un aperçu de l'évolution de la prévalence des chlamydioses uro-génitales dans la population générale bas-normande en chiffrant le nombre de cas diagnostiqués au laboratoire de virologie, CHU Caen, tout en sachant que ces résultats sont biaisés du fait d'une forte activité de dépistage réalisée dans les laboratoires d'analyses médicales (LAM) privés (résultats non inclus)

Matériel et méthodes : Entre janvier 2000 et juin 2012, la recherche de Ct est réalisée par PCR (Cobas Amplicor Roche: 2000-2007, Abbott realtime m2000 : 2007-2012) sur 13993 prélèvements uro-génitaux. Une analyse rétrospective des résultats (n=12707) est réalisée sur les 4 grandes catégories de prescripteurs:

1. Consultations d'hypofertilité (CECOS, PMA),
2. Services hospitaliers: CHU gynéco-obstétrique (consultations, bloc, orthogénie) et CH périphériques,
3. CDAG/CPMI et
4. prélèvements prélevés dans LAM de Caen

Le taux de positivité est calculé annuellement par catégorie de service prescripteur et par sexe

Résultats : L'activité de dépistage est plus féminine (ratio femmes/hommes F/H=1.5). Chez l'H, elle relève régulièrement d'un bilan d'hypofertilité dans 80% des cas. Elle augmente régulièrement depuis 2003 (Hx2, Fx4). Au cours de ces 12 ans, les principales modifications de prescripteurs sont: la perte du CDAG-CPMI en 2008, une augmentation régulière des prescriptions d'un LAM depuis 2006 (Hx3.5, Fx4.7), la mise en place d'un dépistage dans le service d'orthogénie du CHU Caen à partir de 2009.

La prévalence globale (H+F) est régulièrement croissante de 2000 (1,6%) à fin 2010 (8,6%) avec une légère diminution en 2011-2012.

Chez l'homme :

- le taux de positivité varie de 0,9% à 5,6%, avec une moyenne d'âge de 28 ans

- une augmentation des cas positifs est observée dans les bilans d'hypofertilité (prévalence de 1,4% en spermologie versus 0,3% avant 2007)
- 2 cas d'anorectite en 2010 avec souche LGV type L

Chez la femme :

- le taux de positivité varie de 2,5% à 10,4%, avec une moyenne d'âge de 24,9 ans
- on note un taux de positivité très élevé en consultation d'orthogénie (m=10,3%), avec une moyenne d'âge de 23,9 ans

Conclusion : Dans notre laboratoire, le taux de positivité des infections à Ct a progressé régulièrement en 12 ans et a été multiplié par 5 chez l'homme et la femme. La prévention de ces infections est une priorité de santé publique, elle passe par le dépistage qui doit s'appliquer plus largement. Le dépistage opportuniste chez les moins de 25 ans : médecins généralistes, gynécologues libéraux, structures de santé publiques (CPMI, CPEF, orthogénie,...) doit être fortement encouragé.

337/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Evaluation of the ADVIA Centaur[®] syphilis assay in routine conditions for the diagnosis of syphilis.

P. Sednaoui, L. Monfort, J. Broyon, A. Goubard
Laboratoire, Institut Alfred Fournier, Paris, France

Objectives: We had the opportunity to compare the ADVIA Centaur[®] Syphilis (SYPH) assay to our manual TPHA (TPHA, Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) and RPR (RPR NOSTICON II, bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France) methods that are used in routine in our lab, for the diagnosis of Syphilis. The SYPH assay is a fully automated immunoassay that uses Tp15 and Tp17 recombinant antigens for the detection of total antibodies specific of *Treponema pallidum*. This assay was run in our lab on our ADVIA Centaur XP system. Analyzer and assay are both from Siemens (Siemens Healthcare Diagnostics SAS, Saint-Denis, France).

Methods: 1074 patient samples from our routine workload were tested by our qualitative TPHA and RPR methods and few days after by the ADVIA Centaur SYPH assay. Our current routine algorithm is the following: reactive samples are tested by quantitative TPHA and RPR methods; strongly reactive samples with TPHA but negative with RPR are checked by dilutions with RPR to avoid any prozone effect with this method. Reactive patients with TPHA and RPR methods without previous results or with a significant increase of the titers are tested by immuno-fluorescence (IF) for specific IgM detection. In addition, any patient with a genital ulceration has a direct research of *Treponema* (darkfield microscope).

Results: The overall agreement between the ADVIA CentaurSYPH assay and our TPHA and RPR methods was 99.81% (1070/1072). All 57 reactive samples with both TPHA and RPR methods were reactive with the SYPH assay (observed clinical sensitivity=100% (57/57)). In addition, 100 reactive samples with TPHA but negative with RPR were all reactive with the SYPH assay. 915 negative samples with both TPHA and RPR were all negative with the SYPH assay except 2 samples; the 1st sample was a very recent infection sample (genital ulceration showing *Treponema* and specific IgM by IF) and the 2nd sample was considered as false-positive with the SYPH assay (observed clinical specificity=99.89% (913/914)).

Conclusion: The ADVIA CentaurSYPH assay has shown to be a highly specific and sensitive method for Syphilis screening including Primary, Secondary and Latent Syphilis infection. There is no correlation between the signals measured by the analyzer and titers obtained with TPHA and RPR methods and reactive samples should continue to be tested by quantitative TPHA and RPR methods.

338/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Dépistage de *Chlamydia trachomatis*/*Neisseria gonorrhoeae* en duplex : faut-il contrôler les résultats *N. gonorrhoeae* positifs ?

B. de Barbeyrac^{2,1}, C. Le Roy², M. Clerc², O. Peuchant², C. Bébéar²⁻¹
¹Hôpital Pellegrin ²Infections humaines à mycoplasmes et chlamydiae, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

Objet de l'étude : Dans un contexte de recrudescence des infections sexuellement transmissibles (IST), les industriels proposent des tests de détection simultanée de *Chlamydia trachomatis* (CT) et *Neisseria gonorrhoeae* (NG). CT reste la 1^{ère} cause d'IST en population générale avec une prévalence de 3,6% chez les femmes et 2,4% chez les hommes dans la tranche d'âge 18-24 ans (1). Dans les populations qui fréquentent les centres IST, les plannings familiaux et les centres d'orthogénie, la prévalence peut aller jusqu'à 15%. Pour NG, aucune donnée de dépistage en population générale n'est disponible en France sachant que NG touche essentiellement des sous groupes de population présentant des facteurs de risque. La question de la fiabilité d'un résultat positif se pose, liée à la faible valeur prédictive positive (VPP) des tests dans les populations à faible prévalence. L'objet de l'étude est donc de vérifier les résultats de PCR NG (+) obtenus avec l'automate Abbott m2000.

Méthodes : De juin 2011 à avril 2012, sur 6080 dossiers testés en CT/NG par l'automate Abbott m2000, 581 étaient positifs à CT (9,55%) et 138 à NG (2,26%). La prévalence de NG varie en fonction de l'origine du patient et du caractère symptomatique ou non de l'infection. Au centre de dépistage anonyme et gratuit (CDAG) et en centre d'orthogénie, la prévalence est de

0,78% (25/3201) et 2,4% (14/582) respectivement. Au centre de dépistage et d'information des IST (CIDDIST) et en service de gynécologie, la prévalence est de 5,6% (36/644) et 5,5% (29/527) respectivement. Au centre de planning familial, la prévalence est de 3% (11/363). Un total de 77 dossiers (échantillons pharyngés exclus) a pu être analysé rétrospectivement. Parmi eux, 33 étaient positifs en culture et 44 étaient culture non faite ou négative. Ces derniers ont été testés par deux autres techniques d'amplification génique, Roche 4800 CT/NG et Cepheid GeneXpert CT/NG, les deux tests présentant la particularité de cibler deux gènes de NG alors que le test Abbott n'en cible qu'un.

Résultats : Sur ces 44 dossiers, 31 étaient concordants positifs, 9 concordants négatifs et 4 discordants par les deux techniques supplémentaires. Un résultat était considéré vrai positif s'il était positif par au moins 2 tests sur 3. Globalement la VPP du test Abbott est de 87% et est comprise entre 68% au CDAG (prévalence 0,78%) et 95% au CIDDIST (prévalence 5,6%).

Conclusion : Quand on utilise un test ne ciblant qu'un seul gène de NG, il faut confirmer un test PCR NG (+) dans les populations à très faible prévalence (<1%). Dans la mesure où le dépistage de NG est associé à celui de CT dans des populations à prévalence variable, il conviendrait de privilégier les tests à deux cibles.

Références :

1. Goulet, V., B. de Barbeyrac, S. Raherison, M. Prudhomme, C. Semaille, and J. Warszawski. 2010. Prevalence of *Chlamydia trachomatis*: results from the first national population-based survey in France. Sex Transm Infect 86:263-70.

339/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Intérêts économiques et organisationnels de l'acquisition d'un automate (GeneXpert de Cepheid) de biologie moléculaire pour la réalisation de tests au coup par coup au laboratoire de biologie polyvalente d'un CH.

S. Machergui-Hammami, M.C. Cabasso, P. Delmas, F. Templier, B. Vaché
Service de Biologie Médicale, Gap, France

Nous avons acquis le système GeneXpert après la mise sur le marché de tests couplés CT/NG (*Chlamydia trachomatis* et *Neisseria gonorrhoeae*), en réponse aux besoins du médecin des Centres de dépistage des IST gérés par le Conseil Général du 04.

Avant l'acquisition, les prélèvements ou auto-prélèvements vaginaux et les urines étaient transmis à un laboratoire spécialisé pour les recherches par biologie moléculaire (rendu de résultat 4 à 10 jours) ou réalisé au laboratoire par des tests d'immuno-chromatographie pour la recherche d'antigène CT et mise en culture pour la recherche de NG. (sensibilité médiocre surtout en dépistage).

L'impact de l'automate a été :

Facilité de prélèvement : La sensibilité de détection et le contrôle de qualité de l'échantillon autorise l'auto-prélèvement vaginal, ainsi que les prélèvements urinaires.

Facilité de conservation pré-analytique : Les prélèvements une fois dans le milieu de transport peuvent être conservés plusieurs jours à température ambiante.

Facilité d'utilisation : Pas de nécessité de local technique dédié, formation facile et rapide de l'ensemble des techniciens, installation et maintenance réduites, cartouches de réactif unitaires.

Rapidité d'obtention des résultats : Le système est installé sur un des 2 sites du laboratoire; les délais de réponse de 2 heures une fois le prélèvement arrivé sur site permettent une mise en place rapide du traitement.

Sensibilité et spécificité : Meilleures performances comparées aux techniques précédentes.

Mutualisation : L'automate est installé sur le site de Sisteron et réalise des tests pour l'ensemble du CHICAS ainsi que pour des correspondants extérieurs.

L'acquisition du GeneXpert, avantageux pour le diagnostic de CT et NG a permis d'élargir son utilisation à d'autres diagnostics, à forte valeur médicale dans certaines situations cliniques telles que la recherche de la toxine de *C. difficile* et de la souche épidémique 027 ainsi que la recherche des Entérovirus dans le LCR des méningites lymphocytaires.

Cette acquisition s'est avérée rentable pour le dépistage des IST, mais aussi très utile de part sa simplicité d'installation, d'utilisation et sa rapidité, pour des diagnostics occasionnels mais urgents, améliorant le service médical rendu. Elle a aussi permis l'accession de notre équipe aux techniques de biologie moléculaire.

340/74A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Y-a-t-il une réelle augmentation des infections à *Chlamydia trachomatis* génito-urinaires en France ? Douze ans de données du réseau de surveillance sentinelle Rénachla, 2000-2011.

G. La Ruhe, V. Goulet, C. Semaille
Institut de veille sanitaire, Saint-Maurice, France

Objet de l'étude : Les infections urogénitales à chlamydia sont souvent asymptomatiques et le dépistage des personnes à risque est recommandé. Le nombre de cas de chlamydia détectés continue d'augmenter dans les pays européens. Notre étude a pour but de faire la distinction entre une

augmentation de l'incidence et un accroissement du dépistage.

Méthodes : Un réseau de laboratoires volontaires permet de suivre l'évolution des tendances des infections à chlamydia. Il comprend environ 75 laboratoires publics et privés qui représentent 3% des laboratoires susceptibles de diagnostiquer les infections à chlamydia. Les diagnostics sont réalisés par TAAN-PCR.

Résultats obtenus : 69% des cas cumulés ont été diagnostiqués chez les femmes qui sont plus jeunes que les hommes (âge médian en 2011: 22 vs 25 ans). Le nombre moyen de cas par laboratoire a augmenté chaque année à la fois chez les femmes et les hommes (de 15 à 137 cas par laboratoire entre 2000 et 2011 pour les femmes, de 8 à 56 cas par laboratoire entre 2000 et 2011 pour les hommes). Cette augmentation a concerné essentiellement les cas asymptomatiques, notamment chez les femmes, ce qui reflète l'accroissement du dépistage. L'augmentation a concerné les cas symptomatiques dans une bien moindre mesure. En outre, l'augmentation des cas est survenue principalement dans les centres de dépistage anonyme et gratuit (CDAG). Le taux de positivité (nombre d'infections à chlamydia divisé par nombre de tests) est passé de 2,9 à 6,5% pendant la période d'étude. Le taux de positivité élevé chez les personnes qui consultent dans les CDAG (>9% en 2011) reflète un dépistage ciblé des personnes les plus à risque, notamment les jeunes.

Conclusion : L'augmentation des infections à chlamydia reflète une légère augmentation de l'incidence mais surtout une augmentation des pratiques de dépistage. En France comme dans d'autres pays, le suivi les tendances séparant les cas symptomatiques et asymptomatiques est important pour distinguer une diffusion de la maladie d'un renforcement des programmes de dépistage.

341/75A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

La spectrométrie de masse (SM) MALDI-TOF, l'outil indispensable en bactériologie de la mucoviscidose (CF) ? Retour d'expérience bretonne sur les bacilles à Gram négatif non fermentaires (BGNNF) autres que *Pseudomonas aeruginosa* (Pa).

C. Beauvuelle², D. Tandé², F. Le Gall²⁻¹, F. Javaugue², M.F. Exbourse², M.F. Guèdes², B. Guisnel², G. Rault³, G. Héry-Arnaud²⁻¹

¹EA3882-LUBEM, SFR148 ScInBioS, Université de Brest ²Unité de Bactériologie, Pôle de Biologie-Pathologie, Hôpital La Cavale Blanche, CHRU de Brest, Brest ³Centre de Ressources et de Compétences de la Mucoviscidose (CRCM) mixte, Centre de Perharidy, Roscoff, France

Objectif : Évaluation de l'apport de la SM MALDI-TOF à l'identification des BGNNF (non Pa) isolés de prélèvements respiratoires de patients CF.

Méthodes : De février 2011 à juillet 2012, 95 isolats de BGNNF ont été isolés chez 79 patients CF (doublons exclus) et identifiés par SM sur l'automate Microflex (Bruker Daltonics) à l'aide du logiciel MALDI-Biotyper. L'identification d'espèce a été classée en 3 catégories (certaine, probable, non fiable) sur la base des scores obtenus et des propositions d'identification. Les identifications probables ou non fiables ont été vérifiées par séquençage de l'ADNr 16S.

Résultats : Parmi les 95 isolats étudiés, 25 espèces bactériennes ont été identifiées avec un score moyen (S) de 2,107±0,034: *Stenotrophomonas maltophilia* (n=41; S=2,1), *Achromobacter xylosoxidans* (n=15; S=2), *Burkholderia cenocepacia* (n=6; S=2,3), *Pseudomonas libanensis* (n=3; S=2,1), *P. putida* (n=2; S=2), *P. synxantha* (n=2; S=2), *B. multivorans* (n=2; S=2,1), *P. azotoformans* (n=2; S=2,2), *A. insolitus* (n=2; S=1,9), *Bordetella pertussis* (n=2; S<1,7), *Flavimonas orizyhabitanis* (n=2; S=1,8), *Sphingomonas paucimobilis* (n=2; S=2,3), *Inquilinus limosus* (n=2; S=2,2), *P. geniculata* (n=1; S=1,9), *P. fulva* (n=1; S=2,1), *B. gladiolii* (n=1; S=2,2), *B. fungorum* (n=1; S=2,1), *S. parapaucimobilis* (n=1; S=2,3), *S. melanis* (n=1; S=2,3), *Pandoraea pnomenusa* (n=1; S=2), *Elizabethkingia meningoseptica* (n=1; S=2,1), *E. miricola* (n=1; S=2,2), *Ralstonia mannitolilytica* (n=1; S=1,7), *R. pickettii* (n=1; S=1,7) et *Advenella incenata* (n=1; S<1,7). La SM a permis une identification certaine des isolats dans 86% des cas, probable dans 7% des cas et non fiable dans 7% des cas. Toutes les identifications probables en SM ont été confirmées par biologie moléculaire. Seules les espèces *B. pertussis* et *A. incenata* n'ont pas été identifiées avec la base de données Bruker v2.2.

Conclusion : Avec 97% d'identification correcte de BGNNF isolés en routine chez des patients CF, dont des espèces d'identification difficile mais primordiales pour la prise en charge dans les CRCM, la SM a considérablement allégé et fiabilisé l'analyse bactériologique dédiée aux patients CF. La diversité bactérienne retrouvée est importante. Cet outil est ainsi contributif pour l'épidémiologie bactérienne de la mucoviscidose.

342/75A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Comparaison de l'identification de bactéries anaérobies par spectromètre de masse type MALDI-TOF (VITEK MS[®]) à 2 méthodes phénotypiques (carte ANC-VITEK 2[®] et Rapid ID32A-MiniAPI[™]) et au séquençage partiel du gène *ADNr 23S*.

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

Objectif : La spectrométrie de masse de type MALDI-TOF est la dernière technologie développée en microbiologie pour l'identification rapide des bactéries et des levures. Le but de notre étude a été de comparer les résultats

obtenus par le VITEK MS[™] (spectrométrie de masse de type MALDI-TOF) à ceux obtenus par 2 méthodes phénotypiques en utilisant une technique de biologie moléculaire comme méthode de référence.

Matériel et Méthodes : La répartition des espèces de bactéries anaérobies issues du souchier du laboratoire est la suivante: seize bacilles à Gram positif (*Atopobium parvum*, *Clostridium difficile* (3), *C. perfringens* (3), *C. ramosum* (2), *C. sporogenes* (2) et *Propionibacterium acnes* (2)), 2 cocci à Gram positif (*Peptoniphilus asaccharolyticus* et *Peptostreptococcus anaerobius*), 21 bacilles à Gram négatif (*Bacteroides fragilis* (2), *B. nordii*, *B. ovatus* (3), *B. pyogenes* (2), *B. thetaiotaomicron*, *Fusobacterium necrophorum* (2), *Parabacteroides distasonis* (2), *Porphyromonas*, *Prevotella bivia* (3), *P. buccae*, *P. denticola*, *P. nanceiensis*) et 2 souches de cocci à Gram négatif (*Veillonella parvula*). Chacune des souches a été identifiée par le VITEK MS[™], par le VITEK 2[™] à l'aide des cartes ANC, par le miniAPI[™] à l'aide des galeries RapidID 32A et par séquençage d'un fragment interne au gène codant l'ADNr23S.

Résultats : Par rapport aux résultats du séquençage, une identification concordante au niveau de l'espèce a été obtenue pour 82,9% des souches avec le VITEK MS[™] contre 70,7% et 58,6% respectivement avec VITEK 2[™] et miniAPI[™]. Au niveau du genre, 87,8% des souches sont identifiées correctement contre 85,8% (VITEK 2[™]) et 78,0% (miniAPI[™]). Quatre (*A. parvum*, *B. pyogenes*, *B. nordii* et *P. nanceiensis*) des 7 espèces non identifiées n'appartenaient pas à la base de donnée VITEK MS[™].

Conclusion : Bien que le panel testé soit limité, tant en nombre qu'en diversité, le spectromètre de masse VITEK MS[™] apparaît dans notre étude comme une meilleure méthode d'identification des bactéries anaérobies communément isolées que le VITEK 2[™] ou le miniAPI[™].

343/75A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Identification bactérienne rapide à partir de flacons d'hémoculture sans charbon détectés positifs en utilisant une méthode de lyse-filtration à l'aide du Vitek MS[®], spectromètre de masse de type MALDI-TOF.

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

Objectif : La spectrométrie de masse de type MALDI-TOF est la dernière technologie d'identification rapide développée en microbiologie. Les bactériémies sont des urgences médicales qui nécessitent une prise en charge thérapeutique adaptée la plus rapide. Le diagnostic microbien est obtenu lors de la positivité de flacons d'hémoculture. Une identification directement à partir des flacons, sans subculture serait idéale. Nous décrivons ici l'étude d'une méthode rapide de lyse/filtration pour la préparation des cellules bactériennes directement à partir de flacons d'hémoculture exempts de charbon, pour une identification rapide par le Vitek MS[®], spectromètre de masse de type MALDI-TOF.

Matériel et Méthodes : Tout flacon d'hémoculture sans charbon détecté positif sur une période de trois semaines a été étudié. Deux ml de chaque flacon étaient ajoutés à 1 ml de tampon de lyse (0,6% de Brij-97, CAPS 0,4M, PH 11,7) puis vortexé pendant 5s et incubé à température ambiante pendant 2min. Le lysat obtenu était filtré (filtre de 0,45mm) via une rampe à filtration pendant 40s. Le résidu de filtration était lavé 3 fois avec du tampon de lavage (phosphate de Na 20mM, 0,05% Brij-97, 0,45% NaCl, PH 7,2). A l'aide d'une ôse, le résidu lavé était prélevé et déposé sur une cible, puis recouvert de la matrice et analysé par le Vitek MS[®]. Les résultats de cette détection rapide ont été comparés à ceux obtenus sur les subcultures des flacons par la même méthode d'identification.

Résultats : 33 flacons BacT/ALERT[®] SA ont été étudiés (9 entérobactéries, 2 *Pseudomonas aeruginosa*, 6 *Staphylococcus aureus*, 11 staphylocoques à coagulase négative, 4 streptocoques et 1 entérocoque). Par cette nouvelle méthode, une identification bactérienne rapide a été obtenue pour 26 flacons (78,8%). L'absence d'identification concernait 1 *E. coli*, 2 *S. aureus*, 1 *P. aeruginosa* et 3 streptocoques. Tous les résultats obtenus étaient concordants avec ceux obtenus à partir de la subculture du flacon.

Conclusion : Cette étude montre l'efficacité de la méthode de filtration/lavage pour l'identification bactérienne rapide à partir de flacons d'hémoculture positifs sans charbon. Cette méthode est rapide, environ 15 minutes. Il serait intéressant de la tester avec des flacons contenant des billes de résine.

344/75A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Identification de *Streptococcus pneumoniae* par le spectromètre de masse VITEK-MS.

P. Weber, M. Scottot
Microbiologie, Laboratoire de Biologie Médicale BIO-VSM LAB, Vaires-sur-Marne, France

Jusqu'à présent, *Streptococcus pneumoniae* (SP) est considéré dans la littérature comme l'une des rares espèces bactériennes pathogènes non ou mal identifiées par la spectrométrie de masse MALDI-TOF. Nous avons évalué la capacité du VITEK-MS (BioMérieux) à identifier un large panel de souches de SP de morphotypes et de sérotypes variés.

Méthodes : 310 souches de SP isolées d'infections respiratoires lors d'essais cliniques, conservées par congélation à -70°C, ont été étudiées. Les souches avaient été préalablement identifiées par méthodes conventionnelles: sensibilité à l'optochine et test de lyse par les sels biliaires. Leurs sérotypes ou groupes avaient été déterminés par agglutination de particules de latex

sensibilisées (Statens Serum Institut). L'identification des souches par le VITEK-MS - base de données MS-IVD V1.1 - a été réalisée selon la procédure recommandée par le fabricant, sans extraction préalable, à partir de colonies isolées sur gélose Columbia au sang ANC incubées 18-24h sous 5% de CO₂. En cas d'identifications discordantes avec les techniques conventionnelles, les souches ont été caractérisées par séquençage.

Résultats : Le VITEK-MS a fourni une identification pour 309 des 310 souches étudiées: SP (n=300), *S. pseudopneumoniae* (n=2), *S. mitis/oralis* (n=7). Les identifications discordantes ont été confirmées par le séquençage. Seule une souche de sérotype 3 et de morphotype très muqueux, dont l'identification a également été confirmée par séquençage, n'a pu être identifiée par le VITEK-MS. En comparaison avec les méthodes conventionnelles combinées au séquençage, le VITEK-MS a correctement identifié 300 (99,7%) des 301 souches de SP. Les indices de confiance fournis par le VITEK-MS étaient de 81,2 - 99,9% pour les souches de sérotype 3, toutes de morphotype muqueux, et de 99,9% pour tous les autres sérotypes ou groupes. Pour les souches de sérotypes 3, des indices de confiance de 99,9% étaient obtenus après incubation en anaérobiose.

Conclusion : Comparé aux techniques conventionnelles, le spectromètre de masse VITEK-MS est capable d'identifier de manière fiable, en seulement quelques minutes, les isolats cliniques de *Streptococcus pneumoniae*.

345/75A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Identification rapide à partir d'urines natives des bactéries responsables d'infections urinaires à l'aide du spectromètre de masse MALDI-TOF (Bruker Daltonics).

M.L. Tritten, R. Lienhard, S. Grandperrin, H.H. Siegrist
Admed Microbiologie, La Chaux-de-Fonds, Suisse

But : Notre objectif est d'identifier rapidement à partir des urines natives les bactéries pathogènes, dans l'optique de permettre au clinicien de débiter une antibiothérapie ciblée le jour même de la prise d'échantillon.

Matériel et méthode : Deux séries de 92 échantillons de 5 ml d'urine (total de 139 urines natives) montrant à l'examen direct des leucocytes et un seul type de bactérie ont été traitées. Deux protocoles d'extraction différents incluant l'élimination des cellules humaines et l'enrichissement en bactéries avant l'extraction des protéines ont été évalués. Le premier comprenait un lavage à l'eau dé-ionisée suivi d'une centrifugation rapide, le second une extraction à l'éthanol-acide formique sans lavage préalable suivi également d'une centrifugation rapide. Un µl de chaque culot et 1 µl de matrice ont été déposés sur la cible du MALDI-TOF puis analysés par l'appareil. Les identifications ont été comparées à celles obtenues le lendemain après culture traditionnelle sur géloses.

Résultats :

Méthode « lavage seul » : Sur 71 urines avec une culture significative (1 germe $\geq 10^4$ UFC/ml), 46 ont été bien identifiées (score ≥ 1.9) par le MALDI-TOF=65%. Deux identifications avec un score ≥ 1.9 n'ont pas été confirmées par la culture (2,8%). Dans cette série 58 urines contenaient des entérobactéries (78% identifiées) et 13 d'autres germes (8% identifiés).

Méthode « extraction seule » : Sur 71 urines significatives, 44 ont été bien identifiées (score ≥ 1.9) = 62%, 2 identifications incorrectes (2,8%). Dans cette série 59 urines contenaient des entérobactéries (68% identifiées) et 12 d'autres germes (33% identifiés).

Les 2 méthodes ont montré des performances identiques pour l'identification des entérobactéries dans un temps de 1h15 min.

Conclusion : Avec les deux méthodes les bactéries ont été soit identifiées avec un bon score soit pas du tout. Une identification fiable et rapide des bactéries dans les urines à l'aide du MALDI-TOF représente une option intéressante dans les cas où une antibiothérapie ciblée doit être instaurée rapidement et si un antibiogramme rapide (<6heures) peut être fait.

346/75A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Identification of *Streptococcus bovis* - *Streptococcus equinus* group endocarditis isolates by matrix-assisted laser desorption/ionization-time of flight mass spectrometry.

S. Spinali^{1,3,2}, C. Plainvert^{3,2}, M. Saada⁴, A. Billoët^{3,2}, G. Collobert^{3,2}, A. Bouvet^{3,2}, C. Alauzet¹, C. Poyart^{3,2}

¹CHU Nancy, Nancy ²Centre National de Référence des

Streptococcus ³Groupe Hospitalier Cochin Broca Hôtel-Dieu, Paris ⁴CH Perpignan, Perpignan, France

Objectives: The *Streptococcus bovis/equinus* complex, a heterogeneous group within the group D streptococci has undergone many taxonomic revisions in the previous years. It now includes *S. infantarius*, *S. lutetiensis*, *S. equinus*, *S. pasteurianus* (formerly *S. bovis* biotype 2), *S. gallolyticus*, *S. macedonicus* (also known as *S. waius*) and *S. salactolyticus*. In humans, *S. gallolyticus* has an important clinical relevance regarding infective endocarditis, sepsis and colon carcinoma. The taxonomic identification of species and sub-species of this complex by standard microbiological methods remains difficult. Here, we investigated the skill of a Bruker MALDI-TOF MS associated with our own "homemade" Reference Database for identification of 71 unrelated *S. bovis* - *S. equinus* strains isolated from infective endocarditis.

Methods: A total of 188 strains (10 type strains and 178 clinical isolates) obtained from the CNR-Strep were studied. All isolates were identified by *sodA*

genes-sequence-based analysis. 117 strains were used to constitute the "home-made CNR-Strep" database; the 71 remaining strains were isolated from infective endocarditis and processed similarly in order to assess the accuracy of MS identification by using our database.

Results: We built up a *S. bovis* - *S. equinus* group MALDI-TOF MS database enabling an accurate identification at the species and subspecies level of all strains responsible for endocarditis. Of the 55 *S. gallolyticus*, all of them were unambiguously identified with an average score of 2,52. All 6 *S. infantarius* isolates were correctly identified with an average score of 2,53. All 7 isolates of *S. pasteurianus* were clearly identified with an average score of 2,51. The 3 *S. lutetiensis* isolates were correctly identified by our database with an average score of 2,52.

Conclusion: MALDI-TOF MS is a powerful tool for quick and reliable identification of *S. bovis* - *S. equinus* group endocarditis isolates. Combined with blood cultures direct identification, MALDI-TOF MS, is as good as *sodA* sequence analysis. It therefore allows quick treatment adaptation and can also fasten search for malignant or premalignant lesions in the gastrointestinal tracts of patients.

347/75A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Andromas-Bruker : comparaison de deux MALDI-TOF-MS pour l'identification bactérienne en routine.

F. Compain¹, G. Géri¹, H. Rostane¹, M. Lavollay^{1,2}, S. Kerneis^{1,2}, E. Carbonnelle^{1,2}

¹Hôpital Européen Georges Pompidou, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris ²Université Paris Descartes, Sorbonne Paris Cité, Faculté de médecine, Paris, France

Objectif : Sur une période de 3 mois, nous avons comparé deux systèmes d'identification par spectrométrie de masse MALDI-TOF, Andromas et Bruker, pour l'identification bactérienne en routine.

Méthode : Les deux systèmes testés, comprenant: le spectromètre de masse (LT-2 Andromas et Microflex), la banque de donnée (Andromas database software et Biotyper), sont distribués par les sociétés Andromas et Bruker respectivement. Les identifications ont été réalisées directement sur colonies après culture des prélèvements cliniques de routine. Elles ont été menées en parallèle sur les deux systèmes selon les recommandations des constructeurs. En cas de discordance sur l'identification, la colonie était re-testée puis identifiée par biologie moléculaire le cas échéant.

Résultats : 1327 souches ont été étudiées (50 genres bactériens, 130 espèces).

Le tableau ci-dessous résume les résultats. A l'issue du premier passage, 92,8% des isolats étaient correctement identifiés par le système Andromas (score >70%) et 84,4% par Biotyper (score >2). L'identification des cocci à Gram positif est plus difficile avec Biotyper alors qu'il est plus performant sur les entérobactéries.

| 1 passage | Andromas | Bruker | p |
|-------------------|----------|--------|--------|
| Total des souches | 92.8% | 84.4% | <0.001 |
| Cocci positifs | 97.7% | 72.7% | <0.001 |
| Entérobactéries | 88.1% | 96.4% | <0.001 |

Conclusion : Les deux systèmes testés sont fiables pour l'identification bactérienne en routine. La différence constatée avec le système Andromas sur les entérobactéries s'explique en partie par l'absence de certaines espèces (ex *Raoultella sp.*) dans la banque de données Andromas, absence corrigée depuis.

*actionnaire chez Andromas

348/75A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Subtyping of *Legionella pneumophila* for epidemiological investigations by matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry.

J. Jung², B. Grosse², K. Weinert², T. Maier¹, M. Kostrzewa¹, S. Schubert²

¹Bruker Daltonik GmbH, Bremen ²Institut Max Pettenkofer, Munich, Allemagne

Objectives: *Legionella pneumophila*, the causative agent of legionellosis has its reservoir in natural and man made water networks. Through aerosol formation it can lead to sporadic and endemic infections mainly of immunocompromised patients. In an outbreak situation fast identification of the causing legionella strain is essential to identify and inactivate the source of infection as promptly as possible. Established methods for this purpose such as sequence-based typing (SBT), pulsed-field gel electrophoresis (PFGE) etc. or serotyping are either not discriminative or very time consuming and costly. Therefore we evaluated matrix-assisted laser desorption/ionisation time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF) as an alternative tool for rapid identification of *L. pneumophila* on subspecies level.

Methods: *Legionella* samples from patients and environmental sources were used to compare strain differentiation ability of molecular methods (SBT) and MALDI-TOF. MALDI-TOF spectra were analyzed within the range of 5000 m/z and 11000 m/z. The study was repeated in two independent laboratories and by different operators.

Results: MALDI-TOF analysis yielded 9 different groups in which the samples could be subdivided. These groups were matched to the results of sequence based typing according to the EWGLI scheme, as a standard typing method. In 88% the results of SBT and MALDI-TOF were identical. 3 strains showed minor genetic differences that were not represented in the analyzed MALDI-TOF peak profile.

Conclusion: We concluded that MALDI-TOF has the potential to identify *L. pneumophila* on subspecies level. This makes the technique an interesting candidate for reliable, fast and cost effective epidemiological investigations of *L. pneumophila*.

349/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Staphylococcus aureus ST398 sensibles à la métilcilline : comparaison du patrimoine génétique d'isolats responsables de portage nasal et d'infections ostéo-articulaires sur prothèse.

G.G. Aubin^{3,2}, C. Lasserre^{3,2}, N. Caroff³, D. Lepelletier^{3,2}, A. Reynaud^{3,2}, J.P. Lavigne¹, S. Corvec^{3,2}

¹INSERM U1047, Université de Montpellier 1 ²Service de Bactériologie-Hygiène, CHU de Nantes ³EA3826, Faculté de Médecine de Nantes, Nantes, France

Objet de l'étude : Le nombre d'infections humaines liées aux *S. aureus* appartenant au ST398 et associés aux animaux de rente, augmente dans différents pays. Le but de cette étude était d'évaluer, dans une région d'élevage, (i) le taux de *S. aureus* ST398 dans deux cohortes: l'une de portage nasal, l'autre d'infections ostéo-articulaires sur matériel (IOAM) et (ii) d'étudier leur patrimoine génétique.

Méthodes : 57 souches de *S. aureus* responsables d'IOAM ont été isolées entre 2007 et 2010 au CHU de Nantes. Parallèlement, la recherche d'un portage nasal de *S. aureus* a été réalisée chez 100 patients consultants en Orthopédie. Les STs ont été déterminés par MLST. Le patrimoine génétique a été étudié par puce à ADN (StaphyType, Alere[®]).

Résultats : Seule 1 souche, isolée 9 ans après la pose d'une prothèse totale de genou (PTG) chez une patiente de 81 ans, appartenait au ST398. Aucun contact avec du bétail n'a été documenté. 31% des patients dépistés portaient du *S. aureus* au niveau nasal, et 13% appartenaient au ST398. Tous les isolats ST398 étaient sensibles à la métilcilline (SASM) mais résistants à la tétracycline. Tous les *S. aureus* ST398 possédaient les gènes des protéines d'inhibition du chimiotactisme et d'inhibition du complément, suggérant une transmission interhumaine. Les gènes de la sialoprotéine osseuse, de la protéine liant le collagène et de l'opéron *icaABD* étaient présents chez toutes les souches. En revanche, peu de gènes étaient exclusivement présents chez la souche infectante. Ceux-ci codoient pour la résistance à l'érythromycine, pour les protéines liant le fibrinogène (*sdrC*), l'hème/transferrine (*isdA*) et pour des allèles particuliers des protéines 3 et 21 proches du superantigène staphylococcique.

Conclusion : Cette 1^{ère} description d'une infection sur PTG à SASM ST398 pourrait être liée à l'acquisition d'une adhésine ou d'un système de capture du fer particulier, ou d'un mécanisme d'échappement au système immunitaire. De plus, nous montrons une forte prévalence de portage nasal de *S. aureus* ST398 dans notre région, comparé aux données allemandes ou espagnoles (0,2 et 0,7% respectivement) mais les facteurs de virulences détectés suggèrent une dissémination interhumaine. Ce cas suggère un réel potentiel de virulence des SASM ST398.

350/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Analyse des bactériémies à Staphylococcus spp. dans un centre hospitalier général (CHG).

S. Nguven^{1,2}, O. Oddoux¹, S. Dekeyser¹, E. Beclin¹, F. Dufosse¹, D. Descamps¹

¹CH Germon et Gauthier, Béthune ²CH Tourcoing, Tourcoing, France

Objectif : Analyser les bactériémies consécutives à *Staphylococcus* spp sur une période de 3 ans et demi, en particulier déterminer les différences cliniques en fonction des espèces de *Staphylococcus*.

Méthode : Analyse réalisée à partir d'une base de données anonymisée (logiciel Epidata), recueillant de manière prospective des données cliniques, microbiologiques et d'antibiothérapie empirique (ATB) pour les bactériémies significatives survenues entre le 01/01/09 et le 30/06/2012 dans un CHG.

Résultats : Parmi les 1347 épisodes bactériémiques survenus pendant l'étude, on notait 252 épisodes à *S. aureus* (SA), et 63 à staphylocoque à coagulase négative (SCN) dont 50 *S. epidermidis*. Le taux de résistance à la métilcilline était plus bas pour SA (33%, dont 1 hétéro-GISA) que pour les SCN (71%). Dans le groupe SA, on retrouvait plus d'infections communautaires (46% vs 21%), avec moins d'infections sur cathéters (KT) (17% vs 48%) que dans le groupe SCN. Les patients du groupe SA avaient un âge moyen plus élevé (70 ans vs 64 ans), un taux d'immunodépression similaire (62% vs 70%; p=0,26), avec cependant moins de patients porteurs de néoplasie (21% vs 38%; p=0,004) que le groupe SCN. Le taux de décès à J7 était significativement plus élevé dans le groupe SA (54/252 [21%] vs 6/63 [10%]; p=0,0314), alors que l'ATB probabiliste était plus fréquemment efficace sur le germe (138/184 [75%] versus 25/45 [56%]; p=0,01) que pour les SCN. Dans le groupe SCN, les patients avec une [ATB inefficace ou non instaurée] n'avaient pas de mortalité plus élevée que les patients avec ATB efficace (2/38 [5%] versus 4/25 [16%]; p=0,20); contrairement au groupe SA (33/114 [29%]

versus 21/138 [15%]; p=0,008).

Conclusion : Les bactériémies à SCN concernent des patients plus jeunes, et souvent porteurs de néoplasie, et d'infection sur KT, avec un taux de mortalité significativement plus bas que les SA. L'instauration de l'ATB et son efficacité ne sont pas statistiquement associées au taux de décès pour les SCN, contrairement aux SA.

351/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Interest of Xpert MRSA/SA blood culture assay on the GeneXpert Dx system for the rapid detection of Staphylococcus and coagulase-negative staphylococci in patients with staphylococci bacteremia.

M. Biendo, H. Mammeri, E. Pluquet, H. Guillon, B. Canarelli, F. Rousseau, M. Belmekki, F. Eb

Laboratoire de Bactériologie, CHU, Amiens, France

The aim of this study was to evaluate the Xpert BC assay compared to current culture based results in every day practice and the clinical impact on the therapeutic approach.

The study was conducted between March 2012 and April 2012, at AmiensUniversityHospital (France). A total of 56 blood cultures, of whom 50 suspected patients with staphylococcal bacteremia and 6 patients presented blood culture inoculated of a biological fluid (4 synovial fluids and 2 peritoneal fluids) were prospectively examined for staphylococci using the real-time PCR of Xpert MRSA/SA BC assay on the GeneXpert Dx system. Antibiotic susceptibility was assessed directly using the blood culture broth by disk diffusion method and the susceptibility to methicillin/oxacillin by the same method.

Among 56 *Staphylococcus* species isolated from BC, 80.3% were coagulase negative staphylococci (CoNS) and 19.7% were *S. aureus*. The susceptibility to methicillin results showed that 77.8% of isolates were methicillin resistant coagulase-negative staphylococci (MRCoNS), and 22.2% of isolates were methicillin susceptible coagulase negative staphylococci (MSCoNS). Of 11 *S. aureus* isolates, 63.7% were methicillin susceptible *S. aureus* (MSSA) and 36.3% were methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA). Xpert MRSA/SA BC results showed that, genotypic results were in concordance with phenotypic results in 94.6% of cases against 5.4% of discrepancy cases of whom, one *S. aureus* isolate had phenotype MRSA and genotype SPA+mec+ SCC mec- and was interpreted as MRSA negative/SA positive by Xpert; A 2d *S. aureus* isolate was phenotypically MSSA and genotypically SPA+ mec+ SCC mec- and was interpreted as MRSA negative/SA positive by Xpert, and the 3d isolate, was *S. epidermidis* that was phenotypically CoN SSM and genotypically SPA- mec+ SCC mec- and was interpreted as MRSA negative/SA negative. In this study, among 56 studied patients 42 had clinically significant bacteremia. Of these, 27 had received inappropriate antibiotic therapy before notification of PCR result and 18 with β -lactam antibiotics in the methicillin-resistant staphylococci.

We found that the Xpert BC assay provides rapid and accurate identification of MRSA, MSSA and MRCoNS or MSCoNS.

352/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Intérêt du système GeneXpert[®] dans la détection de Staphylococcus aureus dans le nez et au niveau des plaies du pied chez le diabétique.

C. Courtais³, J.L. Richard⁵, C. Carrière¹, N. Jourdan⁴, S. Schuldiner⁵, A. Sultan², A. Sotto⁶, J.P. Lavigne³

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Arnaud de Villeneuve ²Service de Diabétologie, CHU Lapeyronie, Montpellier ³Laboratoire de Bactériologie ⁴Service de Maladies Métaboliques et Endocriniennes ⁵Service des Maladies de la Nutrition et Diabétologie ⁶Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Carêmeau, Nîmes, France

Objet de l'étude : Récemment deux tests de PCR automatisés et rapides ont été développés dans le but de détecter *Staphylococcus aureus* dans les plaies et le nez (Xpert MRSA/SA SSTI et Nasal). Le but de cette étude était d'évaluer l'utilité de ces tests au cours des plaies infectées du pied chez le diabétique afin d'optimiser l'antibiothérapie.

Méthodes : Des patients adultes diabétiques de type 1 et 2, ayant une plaie du pied (Grades 1-4; SPILF 2007) ont été inclus du 1/09/10 au 30/03/12 dans 3 centres spécialisés en France. Après préparation de la plaie, un prélèvement était réalisé par un double écouvillonnage de la plaie. Un double écouvillonnage nasal était également effectué. Chaque écouvillon était soit ensemencé sur milieux gélosés, soit testé sur le système GeneXpert[®]. L'identification et l'antibiogramme des souches isolées ont été réalisés sur le système Vitek 2[®] (bioMérieux). Les sensibilités (Se), spécificités (Sp), valeurs prédictives négatives (VPN) et positives (VPP) ont été évaluées avec la culture comme gold standard.

Résultats obtenus : 276 patients ont été inclus (72% d'hommes, âge médian: 68,5 ans (24-97)). Ils présentaient des plaies graves (Grade 3-4) dans 81,2% des cas. Au total, 462 bactéries ont été isolées chez les 276 patients soit 1,67 bactéries par prélèvement. La prévalence du portage de *S. aureus* était de 62,7% au niveau des plaies du pied et de 39,5% au niveau nasal. 101 (36,6%) patients étaient porteurs de la bactérie à la fois dans le nez et la plaie infectée du pied. La prévalence des SARM était de 17% au niveau des plaies et du nez. Pour la détection de *S. aureus* dans les plaies du pied par GeneXpert[®], la Se était de 100%, la Sp de 93,2%, et la VPN et la VPP de 100% et 95,8%, respectivement. Pour la détection de *S. aureus* dans le nez, la Se était de 100%, la Sp de 97,0%, et la VPN et la VPP de 100% et 95,6%,

respectivement. Aucune différence n'a été observée pour la détection des SARM.

Conclusion : Cette étude montre les performances analytiques du GeneXpert®. Dans cette population où la prévalence de *S. aureus* est élevée, un diagnostic rapide notamment concernant la multirésistance pourrait permettre une utilisation plus adaptée des antibiotiques.

353/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation de l'intérêt de la détection de la résistance à la méthicilline par PCR en temps réel (Xpert MRSA/SA-Cepheid®) dans les bactériémies à *S. aureus* (SA).

S. Dekeyser¹, D. Descamps¹, F. Dufosse¹, S. Nguyen^{1,2}

¹CH Germon et Gauthier, Béthune ²CH Tourcoing, Tourcoing, France

Objectif : Évaluer l'impact pronostique et économique de la mise en place de la détection de la résistance à la méthicilline par PCR en temps réel à partir des flacons d'hémocultures Bactec® (Becton Dickinson) dans les bactériémies à SA.

Matériel et méthode : Toutes les hémocultures positives à SA étaient téléphonées après confirmation de l'identification par un Gram et un test de coagulase positif, suivie d'une culture avec antibiogramme. La PCR n'était réalisée en complément qu'aux heures ouvrables, permettant de raccourcir le délai d'obtention de la résistance à la méthicilline à 1h, contre 24h pour le groupe sans PCR. Étaient exclus de l'analyse les patients (pts) en palliatif, et les pts décédés lors de l'appel de l'hémoculture à SA.

Résultats : Entre 04/2009 et 07/2011, 128 pts étaient inclus: 63 dans le groupe avec PCR (groupe A), et 65 dans le groupe sans PCR (groupe B). Le taux de SARM était similaire dans les 2 groupes (A=20/63 [32%], B=20/65 [31%], p=0,93), de même que la discordance résistance/situation (SARM pour infection communautaire, SASM pour infection nosocomiale ou facteur de risque de SARM): A=20/63 [32%], B=16/65 [25%], p=0,37. Le taux de pts sans ATB lors de l'appel du SA était similaire (A=21/63 [33%], B=20/65 [31%], p=0,73), et élevé, probablement majoré par la situation clinique (endocardite/ostéo-arthrite pour 6/21 pts du groupe A et 9/20 pts du groupe B) avec essai de documentation microbiologique. Parmi les pts sans ATB, tous les pts du groupe A ont eu une ATB adaptée après communication de la PCR, alors que 7 pts du groupe B n'ont pas eu d'ATB instaurée jusqu'à l'obtention de l'antibiogramme. La mortalité à J7 était comparable (A=18/63 [29%], B=16/65 [25%], p=0,61), de même que les durées de séjour (A=19,6j, B=20,2j). La valorisation T2A était similaire (A=12720 euros/pts, B=13692 euros/pts, p=0,63).

Conclusion : Notre étude à plusieurs limites: la taille de l'échantillon, le caractère monocentrique, et l'utilisation de la PCR aux heures ouvrables uniquement. Cependant, compte-tenu du taux élevé de discordance entre la résistance et la situation clinique dans notre établissement, la PCR reste intéressante pour optimiser le choix ATB des pts, elle permet aussi d'inciter les cliniciens à débiter plus rapidement l'ATB.

354/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Développement d'un test ouvert de PCR quadruplex entièrement automatisé sur la plateforme BD MAX pour la détection simultanée des gènes *nuc*, *mecA*, *mecC* et de la leucocidine de Panton-Valentine à partir de souches de *Staphylococcus aureus*.

P.O. Verhoeven^{4,2}, F. Grattard^{4,2}, A. Carricajo^{4,2}, E. Perbet-Chenevier², M. Bes¹, F. Vandenesch¹, P. Berthelot^{4,2,3}, B. Pozzetto^{4,2}, F. Laurent¹

¹Centre National de Référence des staphylocoques, Laboratoires de bactériologie, Inserm U851, Hospices Civils de Lyon, Lyon ²Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène ³Service de maladies infectieuses et tropicales, CHU de Saint-Etienne ⁴GIMAP EA 3064 (Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes), Université de Lyon, Saint-Etienne, France

Objet de l'étude : Le gène *mecC* (anciennement *mecA*_{LG251}) est un nouveau mécanisme de résistance à l'oxacilline identifié chez *S. aureus*, présentant moins de 70% d'homologie avec le gène *mecA* ce qui explique qu'il ne soit pas détecté par les PCR ciblant ce dernier. L'objectif de cette étude était de développer, sur la plateforme BD MAX, un test moléculaire multiplex rapide (<3h) et entièrement automatisé permettant de détecter simultanément ce nouveau mécanisme de résistance à la méthicilline et les gènes *nuc*, *mecA*, *lukS-PV* codant la toxine de Panton-Valentine (PVL).

Méthodes : Cent cinquante et une souches de SARM représentatives des grands clones de SARM circulants en Europe et portant les gènes *mecC* (n=112) ou *mecA* (n=39) et 10 souches de SASM ont été incluses. Au sein de ce panel, 26 souches portaient le gène *lukS-PV*. Cette collection a été analysée par une technique PCR quadruplex en temps réel développée à partir du protocole décrit par Pichon et al. (*J Antimicrobiol Chemother*, 2012) et permettant la détection simultanée des gènes *nuc* (utilisé comme contrôle interne de PCR), *mecA*, *mecC* et *lukS-PV*. Les étapes d'extraction et d'amplification ont été adaptées et entièrement automatisées sur la plateforme BD MAX en utilisant une suspension à 0,5 McF, la trousse d'extraction Exk DNA-1, le mastermix RealTime ready (Roche), 0,5 µM de chaque amorce, 0,3 µM de sondes *mecA* et *nuc* et 0,1 µM de sondes *mecC* et *lukS-PV*.

Résultats : L'ensemble des souches testées ont été détectées positives pour les gènes *nuc* (161/161), *mecC* (112/112), *mecA* (32/32) et *lukS-PV* (26/26) avec une spécificité de 100%. Pour une série de 24 échantillons, le délai moyen d'obtention des résultats a été de 175 min (temps technique: 30 min,

extraction: 90 min, amplification: 55 min).

Conclusion : La plateforme BD MAX offre la possibilité de développer des tests moléculaires multiplex ouverts entièrement automatisés et d'obtenir un résultat en moins de 3h sous forme de tests unitaires ou de séries jusqu'à 24 échantillons. Le protocole développé dans cette étude permet d'identifier très rapidement les souches *S. aureus* porteuses des gènes *mecA*, *mecC* et de la PVL dans le but de mettre en place plus rapidement un traitement antibiotique et des mesures d'hygiène adaptés.

355/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Épidémiologie moléculaire des souches de *Staphylococcus aureus* isolées des plaies du pied chez le diabétique en Algérie.

N. Djahmi⁵⁻¹, N. Messad⁵, J.L. Richard³, S. Nedjai¹, A. Moussaoui²,

D. Mazouz¹, A. Sotto⁵, J.P. Lavigne^{4,5}

¹Laboratoire de Microbiologie ²Service de Diabétologie, CHU Ibn Rochd, Annaba, Algérie ³Service des Maladies de la Nutrition et Diabétologie, Le Grau du Roi ⁴Laboratoire de Bactériologie, CHU Carémeau ⁵U1047, INSERM, Nîmes, France

Objet de l'étude : Aucune étude à ce jour n'a évalué les caractéristiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées de plaies du pied chez les patients diabétiques en Algérie. Le but de notre travail était de connaître l'épidémiologie moléculaire de souches de *S. aureus* isolées dans un CHU de l'est algérien.

Méthodes : Des patients adultes diabétiques de type 1 et 2, ayant une plaie infectée du pied (Grades 2-4; SPILF 2007) ont été inclus du 1/04/11 au 30/03/12 au CHU d'Annaba. Après préparation de la plaie, un prélèvement était réalisé soit par écouvillonnage pour les plaies superficielles, soit par ponction à l'aiguille fine ou biopsie osseuse pour les plaies profondes. Les prélèvements à *S. aureus* étaient conservés pour l'étude génotypique par des biopuces à ADN (StaphyType96®, Alere): détection de 333 gènes de virulence / résistance et assignation de l'origine clonale de la souche.

Résultats obtenus : 85 souches de *S. aureus* ont été isolées chez 85 patients (62% d'hommes, âge médian: 64 ans (23-83)). 69 souches provenaient d'une plaie profonde et 16 d'ostéites. La prévalence des SARM était de 86% (n=73). De hauts niveaux de résistance associée étaient à noter pour les aminosides (89%), les quinolones (78%), le cotrimoxazole (67%) et la tétracycline (91%). Toutes les souches étaient sensibles aux glycopeptides. Parmi les SARM, la majorité (n=60, 82%) appartenait au clone brésilien ST239. Dix souches (14%) correspondaient au clone communautaire ST80. Parmi les souches sensibles à la méthicilline, une plus grande diversité de clones a été détectée (7/12 souches) avec pour prédominance, les clones CC1 et CC15. De nombreux gènes de virulence étaient présents: hémolysines (*hlgV*, *hlgA*, *hla*) (100%), *cap8* (95%), entérotoxines (77%). Les gènes codant pour la toxine de Panton-Valentine (PVL) ont été détectés dans 12 souches (14%). Le suivi clinique des patients présentant ces souches a démontré de graves complications avec amputations dans les 12 cas.

Conclusion : Cette étude montre la très forte prévalence des SARM et l'importance des souches PVL+ dans les plaies du pied chez les diabétiques en Algérie. Elle démontre la circulation d'un clone ST239 et la virulence de ST80. Ce travail permet d'apporter des informations nouvelles concernant l'épidémiologie algérienne.

356/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Émergence du clone de SARM communautaire producteur de la leucocidine de Panton-Valentine, ST93 ou Queensland clone, en France : épidémie dans un camp scout.

T. Nhan^{6-7,5}, C. Bouveyron⁶⁻⁷, M. Bes^{6-7,5}, F. Laurent⁶⁻⁵, L. Toko², G. Julienne¹, J.M. Thiolet⁸, S. Tessier⁴, C. Tillier⁴, J. Baverel³, B. Conscience³, J. Etienne^{6-7,5}, F. Vandenesch^{6-7,5}, A. Tristan^{6-7,5}

¹Laboratoire de Microbiologie ²Service des Maladies Infectieuses, CH Belfort-Montbéliard, Belfort ³ARS Franche-Comté, Besançon ⁴InVS, Cire Bourgogne Franche-Comté, Dijon ⁵BP21, INSERM U851 ⁶CNR des staphylocoques, Centre de Biologie et de Pathologie Est ⁷Laboratoire de Bactériologie, CBPE, Hospices Civils de Lyon, Lyon ⁸Institut de veille sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France

Objet de l'étude : Les infections cutanées communautaires à *S. aureus* résistant à la méthicilline (SARM) et producteur de leucocidine de Panton Valentine (PVL) diffusent souvent selon un mode épidémique avec une distribution géographique spécifique selon les clones. En France, le clone ST80 est majoritaire tandis qu'en Australie, prédomine le clone ST93 ou Queensland clone particulièrement virulent. Nous décrivons la première épidémie française à SARM ST93, survenue en collectivité, et l'investigation menée par les autorités de santé.

Méthodes : En juillet 2012, 3 participants à un camp scout près de Belfort (un encadrant (cas 1) et 2 adolescents (cas 2 et 3)) ont présenté des lésions cutanées multiples à *S. aureus*. Deux d'entre eux ont été hospitalisés. Les souches ont été caractérisées par leur profil de résistance aux antibiotiques et leur profil toxinique par puce à ADN (Identibac *S. aureus* Genotyping®, Alere). Cette dernière technique permet l'affiliation à un clone.

Résultats : Les 3 souches étaient résistantes uniquement à la méthicilline et possédaient notamment les gènes codant la PVL et un allèle *agr* 3. Ces caractéristiques correspondent au clone ST93, témoignant d'un fort lien épidémiologique entre ces souches. Suite au signalement à l'ARS et à l'InVS,

des mesures d'hygiène renforcée ont été instaurées (solution hydro-alcoolique, usage individuel du linge de toilette et isolement des malades en tente individuelle).

Le cas 1 (cas index) avait voyagé en Papouasie-Nouvelle Guinée (contact avec la population locale) et fait escale à Singapour lors du retour. Durant l'intervalle de 10 jours entre l'arrivée en France et le camp, il a développé de multiples furoncles.

Le cas 2 a alors été en contact direct (peau à peau) avec le cas index.

Le cas 3 a partagé la même tente que le cas 2, suggérant une transmission croisée via des contacts physiques ou l'échange possible de linge de toilette.

Conclusion : Cette première observation française d'infections groupées à SARM ST93 souligne

- le potentiel épidémique de ce clone,
- le rôle des voyages comme facteur de dissémination de souches virulentes à l'échelle mondiale.

Il convient donc d'être particulièrement vigilant à la transmission de SARM PVL+ liée aux voyages.

357/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Staphylococcus aureus et produits laitiers : analyse moléculaire des souches à potentiel infectieux pour l'homme.

A. Kwasiowski¹, M. Haenni¹, J.A. Hennekine², A. Brisabois², S.A. Granier²
¹Laboratoire de Lyon, Lyon ²Laboratoire de Sécurité des Aliments, Anses, Maisons-Alfort, France

Staphylococcus aureus est un agent étiologique majeur dans des nombreuses infections chez l'Homme et les animaux. Sa capacité à produire des entérotoxines, le rend responsable de nombreuses toxi-infections alimentaires collectives (TIAC). L'objectif de cette étude était la caractérisation phénotypique et génotypique de souches de *S. aureus* entérotoxiques isolées de fromages issus de 15 départements français entre 2008 et 2012. Soixante souches de *S. aureus* ont été analysées par la méthode d'antibiogramme et par *spa*-typing. Une collection dédoublonnée de 46 souches de *S. aureus* a été retenue pour une analyse MLST. La résistance aux antibiotiques a été relativement faible à l'exception de la résistance à la pénicilline qui a été détectée dans 71% des isolats. Aucune souche SARM ou GISA n'a été détectée. Trois souches isolées de la filière ovine avaient un phénotype multi-résistant pour au moins trois familles d'antibiotiques. L'analyse génotypique a permis de répartir les souches de *S. aureus* dans 17 *spa*-types qui ont été assignés dans 5 complexes clonaux CC5 (t067, t837, t002, t045), les CC8 (t008, t2953, t5268), les CC133 (t7310, t5592, t1166, t2678, t10400), CC425 (t742, t4461) et CC30 (t1239). Nous avons observé que les souches de *S. aureus* ont tendance à se regrouper en fonction de leur biotype (avec quelques chevauchements), en indiquant la spécificité d'hôte de certains clones. Dans une prochaine étape, notre collection de souches de *S. aureus* entérotoxigènes isolées de fromages sera comparée avec celle associée aux infections mammaires (même région et même période de prélèvement).

358/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Evaluation of the first and unique commercial molecular assay able to identify *Staphylococcus aureus* harboring the new *mecC* gene as well as the classical *mecA* gene in cultures and clinical materials.

J. Tasse²⁻¹, A. Sapin²⁻¹, M. Bes²⁻¹, A. Tristan²⁻¹, F. Vandenesch²⁻¹, E. Laurent²⁻¹
¹Centre National de Référence des *Staphylococcus* ²Laboratoires de Bactériologie, Centre de Biologie Nord et Est, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

A new *mecA* variant, named *mecC* (formerly *mecA*-LGA251), has been recently described within methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates. The *mecC* gene shows less than 70% homology with the classical *mecA* gene. To date, none of the MRSA commercial molecular kits are able to detect *mecC*+ isolates because of primer mismatches. Here, we evaluated the first commercial assay designed to detect *mecA* as well as *mecC* positive isolates in cultures (isolates) and clinical samples (nasal swabs).

Methods: The MRSA/SA ELITE MGB[®] test (ELITech Molecular Diagnostics) is a qualitative triplex real-time amplification-based assay that targets

- a conserved region in a SA-specific gene,
- mecA* or *mecC* genes,
- an exogenous internal control to monitor reaction inhibition and reagent integrity. Presence of both first markers at the same relative quantity measured by a difference in cycle threshold (Ct) value is indicative of MRSA; different relative quantities or presence of only SA-specific gene marker is indicative of SA.

DNA extractions were performed using the NucliSENS[®] easyMAG[®]. A collection of 60 *mecA*-positive isolates representative of the 39 most common worldwide-spread MRSA clones and 115 *mecC*+ isolates including most of the European strains (UK, Denmark, France) was tested. Finally, a total of 3271 specimens were collected and tested prospectively for *mecA*+ SA screening. Performance of the assay was evaluated relative to broth culture followed by latex agglutination and cefoxitin susceptibility test results.

Results: Results indicated that the average limit of detection was 165 CFU/mL of a swab eluate. All MRSA isolates were detected successfully (112 *mecC* and 60 *mecA*). Compared to the reference culture method, MRSA/SA ELITE

MGB[®] identified 92% of the specimens testing positive for MRSA (n=222) and 95% of the negative specimens (n=2952). Compared to the reference culture method, the test identified 96% of the specimens testing positive for SA (n=768) and 95% of the negative specimens (n=2406).

Conclusion: The MRSA/SA ELITE MGB[®] demonstrates high sensitivity and specificity for screening of MRSA carriers. The new version of the test is the first and unique commercial molecular assay allowing identification and detection of *mecC*+ MRSA isolates.

359/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Prévalence de la résistance à la mupirocine chez les staphylocoques à coagulase négative et les SARM responsables d'infections invasives en France : émergence nationale d'un clone de SARM hébergeant *mupA*.

M. Desroches², J. Potier², A.S. Bourrel², F. Laurent³, F. Doucet-Populaire²⁻¹, J.W. Decousse², le Groupe Microbs

¹Faculté de Pharmacie, EA 4043, USC INRA, Université Paris-Sud, Chatenay Malabry ²Doctorants, Hôpital Antoine Béchère (AP-HP), Clamart ³Université de Lyon, INSERM U, CNR des Staphylocoques, Lyon, France

La prévention et le traitement de certaines staphylocoques font appel à la mupirocine (MUP), un antibiotique topique au mécanisme d'action unique. L'apparition et la diffusion de la résistance à la mupirocine pourraient compromettre ces stratégies.

Objet de l'étude : Étudier la prévalence nationale de la résistance à la MUP et son support génétique chez les staphylocoques à coagulase négative (SCN) et les SARM responsables d'infections invasives.

Méthode : Étude multicentrique prospective nationale avec centralisation des souches. Les CMI de la MUP ont été déterminées par microdilution en milieu liquide. Les gènes *mupA* et *mupB* ont été recherchés par PCR chez les souches résistantes selon les critères de l'EUCAST (CMI>1mg/L). La clonalité des SARM MUP-R a été étudiée par champs pulsés (PFGE).

Résultats obtenus : 367 SARM et 708 SCN ont été isolés de 37 centres répartis sur toute la France. Ces souches provenaient d'hémocultures (60%), de prélèvements ostéoarticulaires (29%) ou d'autres prélèvements invasifs (11%). Au sein des SARM, 2,4% (9/367) des isolats étaient MUP-R (range [0,03 ; 1024mg/L], CMI₅₀=0,25mg/L, CMI₉₀=0,25mg/L). Les 4 souches résistantes de haut niveau (CMI >256mg/L) et hébergeant *mupA* provenaient de 4 villes éloignées; 3 présentaient pourtant des profils en PFGE proches ou identiques. Parmi les 5 souches présentant une résistance de bas niveau (1mg/L<CMI<512mg/L), 2 provenaient de la même ville et avaient le même profil en PFGE. Parmi les SCN dont 85% étaient résistants à l'oxacilline, 10,3% (73/708) étaient MUP-R (range [0,03 ; 1024], CMI₅₀=0,25mg/L, CMI₉₀=4 mg/L); 95% des SCN MUP-R étaient des *S. epidermidis*, 55% (40/73) présentaient une résistance de haut niveau et 63% (46/73) hébergeaient *mupA*. La prévalence des SCN MUP-R porteur du gène *mupA* est donc de 6,5% (46/708). Aucune souche de SARM ni de SCN n'a été trouvée porteuse de *mupB*.

Conclusion : Ces premières données nationales concernant la résistance à la mupirocine des souches invasives de SARM et SCN soulignent

- l'apparition et la diffusion d'un clone de SARM résistant de haut niveau et porteur de *mupA*,
- l'importance du phénomène chez les SCN,
- la nécessité de maintenir une surveillance étroite et de promouvoir une juste utilisation de cet antibiotique.

360/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline et à staphylocoques à coagulase négative : épidémiologie nationale de la résistance aux antibiotiques en 2011-2012.

M. Desroches³⁻², J. Potier³, F. Jehl⁶, R. Leclercq¹, G. Lina⁴, Y. Rio⁵, F. Vandenesch⁴, J.W. Decousse³, E. Doucet-Populaire³⁻²

¹CHU, Caen ²EA4043, USC INRA, Université Paris Sud, Chatenay-Malabry ³Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béchère, Clamart ⁴CNR des Staphylocoques, Lyon ⁵CHR, Metz ⁶CHRU, Strasbourg, France

Les *S. aureus* résistants à la méticilline (SARM) et les staphylocoques à coagulase négative (SCN) constituent l'une des principales causes de bactériémies diagnostiquées à l'hôpital.

Objectif de l'étude : Décrire l'épidémiologie de la résistance des SARM et des SCN responsables de bactériémies hospitalières en France.

Méthode : Étude nationale prospective multicentrique (37 centres, octobre 2011-février 2012) avec centralisation des souches. Détermination des CMI par méthode de microdilution en milieu liquide et screening des hGISA (MH teicoplanine 5mg/L, BHI vancomycine 3mg/L Etest glycopeptides sur BHI). Chaque centre a inclus les 5^{èmes} souches de SARM et les 10^{èmes} de SCN isolées d'hémocultures cliniquement significatives (≥ 2 pour SCN). Cette étude exclue les *S. aureus* sensibles à la méticilline.

Résultats :

1- SARM: 197 souches incluses. Les principales origines des bactériémies sont les cathéters centraux (15,2%) et périphériques (11,2%). Le caractère nosocomial est retrouvé dans 73% des cas. La sensibilité aux antibiotiques est la suivante: acide fusidique 86,3%, gentamicine 86,8%, lévofloxacine 15,2%,

rifampicine 94,9%, tigécycline 100% ainsi que vancomycine 100%; teicoplanine 99,5%; linézolide 100%; daptomycine 100% dont les CMI (mg/L) sont détaillées ci-dessous:

| | Valeurs extrêmes | CMI ₅₀ | CMI ₉₀ |
|--------------|------------------|-------------------|-------------------|
| vancomycine | 0.5-2 | 1 | 1 |
| teicoplanine | 0.25-4 | 0,5 | 1 |
| linézolide | 0.25-4 | 2 | 4 |
| daptomycine | 0.25-1 | 0,5 | 0,5 |

Le caractère hGISA a été suspecté pour 20 SARM positifs par au moins une des 3 méthodes de screening.

2- SCN: 446 souches incluses (origine: cathéters centraux (65,9%) et périphériques (13,5%)). *S. epidermidis* représente 70,4% des SCN. Le pourcentage de résistance à la méticilline est de 77,8% (données centre). La sensibilité aux antibiotiques est la suivante: acide fusidique 42,4%; gentamicine 41,5%; lévofloxacine 37%; rifampicine 82,1%; tigécycline 99,3%, ainsi que vancomycine 96,4%; teicoplanine 74%; linézolide 98,4%; daptomycine 99,1% dont les CMI (mg/L) sont détaillées ci-dessous:

| | Valeurs extrêmes | CMI ₅₀ | CMI ₉₀ |
|--------------|------------------|-------------------|-------------------|
| vancomycine | 0.5-4 | 2 | 2 |
| teicoplanine | 0,12-64 | 4 | 8 |
| linézolide | 0,12-32 | 1 | 2 |
| daptomycine | 0,06-2 | 0,5 | 1 |

Conclusion : Ces données nationales doivent être prises en compte lors du choix des traitements empiriques.

361/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Staphylococcus aureus : déclin et retour à l'état sauvage en réanimation pédiatrique à Toulouse.

M.F. Prère², L. Cavalie², J.F. Laran¹, N. Marty², C. Casper³, M.C. Bloom³
¹Laboratoire, Clinique du Pont de Chaume, Montauban ²Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Purpan ³Service de Réanimation, Hôpital des Enfants, Toulouse, France

La surveillance épidémiologique des souches de *S.aureus* (SA) isolées chez les enfants du service de Réanimation (Réa) infantile de l'hôpital des enfants de Toulouse entre 1993 et 1996 a montré la progression de la prévalence des SA résistants à la méticilline (SAMR). Ainsi au cours de l'année 1996, 30% (150 /490) des enfants hospitalisés en Réa infantile étaient infectés par des SAMR. L'antibiotype SAMR sensible à la gentamicine et résistant à Tobramycine et Amikacine (GS, TAR) avait fait son apparition en 1995 et en 1996, 79,8% des SA étaient SAMR dont 88,6% GS, TAR. Cette année-là a connu l'émergence de l'antibiotype SAMR sensible aux aminosides : SAMR GS, TAS.

L'objectif de notre étude est l'évaluation de la situation en 2011 dans le même service: 851 enfants pris en charge, 7009 prélèvements adressés au laboratoire de bactériologie. Nous avons vérifié la sensibilité à la méticilline en recherchant la présence du gène *mecA* et de son variant *mecALGA251* par PCR dans toutes les souches de SAMS.

Les résultats sont les suivants: les SA ont été isolés chez 6,7% des enfants (56/851). Les antibiotypes déterminés pour 86 souches ont permis de distinguer trois catégories dans la résistance aux betalactamines: SAMR: 5,8% des souches, SAMS: 94,2% dont 15,2% sans pénicilline. Sur les 5 souches de SAMR, 2 possédaient l'antibiotype GS, TAR et 3 l'antibiotype GS, TAS. Aucun variant *mecA* n'a été détecté.

En conclusion, 15 ans après notre étude de 1996, nous observons un déclin des populations de SA tant au niveau du nombre de prélèvements concernés que du nombre de patients infectés. Nous constatons une inversion de prévalence entre le groupe des SAMS et celui des SAMR avec un retour des SA sensibles à la pénicilline, phénotypiquement sauvages.

362/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Antibiotic resistance and toxin genes of *Staphylococcus aureus* Isolated from Moroccan hemodialysis patients.

B. Oumokhtar², M. Elazhari¹, M. Timinouni¹, M. Mahmoud², T. Squalli H³
¹Laboratory of Medical and Molecular Bacteriology, Pasteur Institute, Casablanca ²Laboratory of Microbiology, Fez Medical School ³Nephrology Department, Hassan II University Hospital, Fez, Maroc

Aims: The purpose of this study is to determine the antimicrobial susceptibilities to various antibiotics and to characterize the virulence genes of nasal carriage isolates of *Staphylococcus aureus* from hemodialysis patients.

Materials and Methods: *Staphylococcus aureus* isolates (n=30) were obtained from nares of 70 patients on chronic hemodialysis. Pattern of antibacterial sensitivity was determined by using the disc diffusion method. The PCR assay was performed for the detection of the *nuc*, the *mec A* and 22 genes encoding staphylococcal toxins.

Results: Nasal screening identified 42.9% *S. aureus* carriers with only one (3.3%) methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) isolate confirmed by detection of *mecA* gene. The MRSA strain demonstrated resistance to penicillin, gentamicin, tobramycin, kanamycin, pefloxacin, tetracycline, erythromycin, trimethoprim/sulfamethoxazole. Most of Methicillin-susceptible *S. aureus* (MSSA) isolates (82%) were resistant to penicillin. Research of virulence

factors showed a high genetic diversity among the 30 *S. aureus* isolates. Twenty one (70%) of them had at least one virulence gene, of which 3.3% were Panton Valentine leukocidin (*lukS/F-PV*) genes. The MRSA isolate were positive for *sell*, *selm*, *selo*, and *ser* genes.

Conclusion: A very low prevalence of MRSA (3.3%) and high diversity of *S. aureus* virulence genes (70%) are detected in hemodialysis patients. The carriage of strains harboring these virulence determinants may increase the risk for subsequent invasive infections. Furthermore, setting up a bacterial surveillance system is one of the strategies to guide local antibiotic policy and prevent spread of antibiotic-resistant *S. aureus*.

363/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

The MRSA issue in the Urals.

L. Boronina, S.M. Samatova, E.V. Samatova, M.P. Kukushkina, S.S. Ustyugova

Laboratory diagnostics, Ural State Medical Academy, Yekaterinburg, Russie

Staphylococcus aureus is one of the major human pathogens and is a cause of a wide range of diseases from mild or moderate skin and soft tissue infections to mortal pneumonia, sepsis and toxic shock syndrome. Over the last years the emergence of infections caused by methicillin-resistant *S.aureus* (MRSA) of nosocomial as well as community-acquired origin is of great concern.

Purpose: To evaluate the prevalence of methicillin-resistant *S.aureus* (MRSA) of nosocomial and community-acquired origin in the Urals.

Materials and Methods: From March till September 2011 clinical specimens from hospital and ambulatory patients (children and adults) of «Regional children's clinical hospital № 1» with different diagnoses and also clinical specimens from pregnant women were tested for *S. aureus*. Identification of *S. aureus* was carried out with classical bacteriological methods or test systems for the following analyzers: semi-automatic ATB-Expression (BioMerieux, France) and automatic MicroScan WalkAway 96 (Siemens, Germany). The chromogenic medium CHROMagar™ MRSA (CHROMagar, France) was used for the isolation and differentiation of MRSA.

Results and discussion: In this study 352 *S. aureus* strains were tested for methicillin resistance (201 from nasopharynx, 98 from faeces and 53 from different fluids). MRSA was detected in 5,4% of samples. Furthermore 26,3% of the strains were isolated from ambulatory patients and 73,7% - from hospital patients. 84,2% MRSA strains did not show multiple resistance during the susceptibility tests to another antibiotics classes. In this case, methicillin resistance may be due to penicillinase hyperproduction or penicillin-binding proteins mutation. And only 15,8% of *S. aureus* strains were found to be methicillin resistant, as a product result of additional penicillin-binding protein, encoded by a chromosomal gene *mecA*. The true MRSA strain was isolated from a tracheal aspirate collected from a child with haemophilia diagnosis for three times.

Conclusions: The percentage of true MRSA among patients with confirmed infection – 0,9%, and methicillin resistance caused by others mechanisms – 4,5%. At the moment MRSA is not an urgent issue for the the Urals, but constant monitoring is necessary.

364/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Emergence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* European clone ST80-IV as cause of healthcare-associated infection in the Annaba teaching hospitals (Eastern Algeria).

M.A. Alioua^{3,1}, M. Dekhii², D. Gacemi-Kirane¹, M. Bertine³, A. Andreumont³, R. Ruimy²

¹Faculté des sciences, Département de biochimie, Université Badji

Mokhtar ²Service de microbiologie, CHU Ibn Rochd, Annaba, Algérie ³EA3964 Université Paris-Diderot, Hôpital Bichat-Claude Bernard, AP-HP, Paris, France

Background & Aims: Conversely to the developed countries, reports of nosocomial outbreaks of CA-MRSA from Africa are scanty. The aim of this study was to investigate the molecular epidemiology, the prevalence of both hospital- and community-acquired MRSA and to determinate the incidence of healthcare-associated infections (HAIs) caused by CA-MRSA in Annaba's teaching hospitals (eastern Algeria).

Methods: A total of 176 non-duplicated strains of *S. aureus* were collected between February 2, 2010 and October 21, 2010, from different pathology samples. Identification of strains was done by conventional methods and confirmed by using Maldi-tof MS. Antimicrobial susceptibilities were determined for 18 antibiotics with the disk diffusion method on Mueller-Hinton agar. The molecular identification of MRSA was performed by using a real-time triplex PCR. Molecular characterization of MRSA strains was studied using a variety of molecular methods including spa typing, MLST, SCCmec typing. The detection of Panton Valentine leukocidin genes was also performed.

Results: The study included 161 patients with a mean 38.65 years of age, and a male-to-female ratio of 1.55. Of the isolates examined 54% (95/176) were MRSA. Among the 95 MRSA isolates, 10.5% (n=10) were CA-MRSA. Twenty-two (23.1%) of MRSA isolates were found to carry the PVL genes, 12 (54.5%) were H-MRSA and 10 (45.5%) were CA-MRSA. The PVL genes were harbored by one clone: the European clone ST80-IV. In our study, ST80-IV was responsible of 14.1% (n=12) of HAIs related to MRSA. Skin and soft tissue infections (SSTIs) were found to be the most common infection (83.15%) caused by MRSA, 62.1% were Diabetes related SSTIs.

Conclusion: The emergence and the spread of the European CA-MRSA clone ST80 as a cause of HAIs in eastern Algeria hospitals, put a wide group of hospitalized patients, healthcare workers and their contacts in the community potentially at risk of infections associated with MRSA. It also exposes CA-MRSA strains to the selective pressure of antibiotic use in hospitals.

365/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Virulence des *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca, Maroc.

K. Faddane^{3,4}, K. Zeruali¹, A. Elmalki³, R. Saïle², M. Timinouni³, M. Elazhari³
¹Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Hassan II ²Faculté des Sciences Ben M'sik, Université Hassan II. ³Bactériologie médicale, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca ⁴Biologie, FST Settat, Université Hassan I, Settat, Maroc

L'objet de notre travail était d'évaluer la sensibilité aux antibiotiques des souches cliniques communautaires de *Staphylococcus aureus* isolées à Casablanca, définir leur système *agr* (accessory gene regulator) et déterminer leur habillage en gènes toxiques.

Matériel et méthodes : Les souches cliniques sont identifiées selon les techniques conventionnelles, elles ont été récoltées de 15 laboratoires d'analyses médicales, entre 2007 et 2008. La sensibilité à 16 antibiotiques a été faite selon les recommandations de la SFM-CA (2010) et la résistance à la méthicilline a été confirmée par l'amplification du gène *mecA*. Toutes les souches ont été soumises à une PCR multiplex pour définir le type de leur *agr*, et à d'autres PCR multiplex pour la recherche de treize gènes des toxines superantigéniques (*sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *seh*, *sek*, *sel*, *sem*, *seo*, *sep*, *seq*, *ser* et *tst*), trois gènes des toxines inhibitrices de la différenciation des cellules épidermiques (*edin A*, *B* et *C*), trois gènes d'exfoliatine (*eta*, *etb* et *etd*), deux gènes de leucotoxine (*lukM* et *lukPV*) et un gène d'hémolysine bêta (*hlyB*).

Résultat et discussion : Sur un total de 140 souches de *S. aureus* identifiées, le taux de résistance aux antibiotiques est variable en fonction des molécules considérées. La prévalence des souches résistantes à la méthicilline par possession du gène *mecA* est de 1,4%. Tous les gènes toxiques recherchés ont été identifiés, avec des fréquences allant de 0,7% (*luk-M*) à 53,6% (*selo*). D'autre part, les germes de notre travail, appartiennent en majorité au groupe d'*agr* de classe I (66/140). Mais, les souches qui possèdent l'*agr* du groupe III (42/140), véhiculent plus de gènes toxiques et prévoient l'existence des gènes *tst*, *seh*, *selk*, *selq* et *luk-PV* (P<0,05%).

Conclusion : Le taux de résistance de *S. aureus* à la méthicilline est bas (1,4%). Cependant, les souches bactériennes dont l'*agr* est du groupe III, hébergent plus de gènes toxiques que les souches des autres groupes.

Keywords : *S. aureus*, résistance, gènes toxiques, *agr* groupes.

366/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Portage nasal de *Staphylococcus aureus* : prévalence, étude de la résistance aux antibiotiques et de la virulence chez les patients et le personnel de quatre centres d'hémodialyse de Fès.

I. Diawara², K. Bekhti², M. Mustapha³, M. Timinouni¹, M. Elazhari¹
¹Bactériologie médicale, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca ²Faculté des sciences et techniques de Fès, Université Sidi Mohamed Ben Abdallah ³Laboratoire de bactériologie, Centre Hospitalier Universitaire Hassan II, Fès, Maroc

Le portage nasal de *Staphylococcus aureus* peut être responsable de certaines infections graves chez les patients hémodialysés.

Objectif : Le but de cette étude était de déterminer la prévalence du portage nasal de *S. aureus*, et les facteurs de risque associés, chez les patients et personnel médical de 4 centres d'hémodialyse de Fès (Maroc); et de définir la sensibilité aux antibiotiques de l'ensemble des souches de *S. aureus* identifiées et le portage des gènes toxiques des souches multirésistantes.

Méthodes : L'étude a été réalisée sur 175 prélèvements nasaux effectués entre janvier et mars 2012, de quatre centres hémodialyses de Fès. La sensibilité des souches aux antibiotiques a été déterminée en se basant sur les recommandations du CA-SFM (2010). La recherche du gène *mecA* a été réalisée sur toute souche exprimant un bas niveau de sensibilité à la céfoxitine. Tous les isolats résistants à au moins trois antibiotiques ont été investis pour la recherche par des PCR multiplex de treize gènes de toxine superantigénique: *sea*, *seb*, *sec*, *sed*, *seh*, *ser*, *selk*, *sell*, *slm*, *slo*, *selp* *selq* et *tst*, de trois gènes de toxine inhibitrices de la différenciation des cellules épidermiques: *edin A*, *edinB* et *edinC*; de trois gènes d'exfoliatine: *eta*, *atb* et *etd*; de deux gènes de leucotoxine: *lukM* et *lukPV* et d'un gène hémolysine Beta: *hlyB*.

Résultat : La prévalence du portage nasal de *S. aureus* est de 38,16% (50/131) chez les hémodialysés chroniques, 50% (6/12) chez les hémodialysés aigus et de 18,75% (6/32) chez le personnel des différents centres d'hémodialyse. L'âge a été le principal facteur de risque dans la colonisation de *S. aureus*. Le taux de résistance des souches de *S. aureus* isolés était variable en fonction des molécules considérées. Il était assez élevé pour les cyclines (16,13%) relativement faible pour le rifampicine, les aminosides, les macrolides et molécules apparentés ainsi qu'aux fluoroquinolones (<5%). La prévalence des souches résistantes à la méthicilline a été de 1,61% (une souche). L'étude de la virulence des germes multirésistants a révélé 11 gènes de toxine repartis en différents profils entre les souches.

Conclusion : Cette enquête nous a permis d'identifier les patients hémodialysés à risque, de manière à mettre en œuvre des règles d'hygiène individuelle et collective.

Mots clés : *Staphylococcus aureus*, hémodialysé, personnel, résistance, gènes toxiques, Fès.

367/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Sensibilité aux antibiotiques du *Staphylococcus aureus* communautaire à Casablanca (Maroc) : prévalence et caractérisation des souches résistantes à la méthicilline.

K. Faddane^{3,4}, N. Dersi³, K. Zerouali¹, R. Saïle², M. Timinouni³, M. Elazhari³
¹Faculté de Médecine et de Pharmacie, Université Hassan II ²Faculté des Sciences Ben M'sik, Université Hassan II ³Bactériologie médicale, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca ⁴Faculté des sciences et techniques de Settat, Université Hassan I, Settat, Maroc

Objectif : Le but de cette étude est d'évaluer la sensibilité *in vitro* des souches de *Staphylococcus aureus* communautaires à Casablanca envers des antibiotiques, et de définir la prévalence et la caractérisation moléculaire des souches résistantes à la méthicilline.

Méthodes : Du début janvier 2007 à la fin décembre 2008, 158 souches bactériennes sont récoltées du laboratoire de bactériologie médicale de l'institut Pasteur du Maroc et de 14 laboratoires privés situés à Casablanca. La sensibilité aux antibiotiques a été basée sur les recommandations de la SFM-CA (2009). La recherche du gène *mecA* est réalisée pour toute souche présentant une inhibition de moins de 27 mm autour de la céfoxitine; le typage du gène régulateur *agr* (accessory gene regulator) et de la cassette chromosomique SCC*mec* (*Staphylococcal Cassette Chromosome mec*) a été effectué si ces souches possèdent le gène *mecA*.

Résultat : Parmi douze souches (7,6%) qui ont exprimé une inhibition de moins de 27 mm vis-à-vis de la céfoxitine, trois (1,9%) possèdent le gène *mecA* et un *agr* de type I, ce sont des SARM. Deux parmi elles, isolées de pus ou d'urine, ont une zone d'inhibition de moins de 10 mm, une CMI de plus de 256 mg/l et possèdent le gène *mecA*; elles ont une SCC*mec* de type III sans gène de résistance au mercure ou une SCC*mec* de type I. La troisième souche, isolée de pus, a un diamètre de sensibilité de 16 mm, une CMI de 64 mg/l et possède également le gène *mecA* et une SCC*mec* de type I.

La deuxième catégorie, formée par 5 souches (3,2%); isolées de pus (2 souches), de crachat (1 souche) ou d'urine (2 souches). Elles expriment un diamètre de sensibilité compris entre 21 et 24 mm, une CMI de 12 à 16 mg/l et elles sont toutes dépourvues du gène *mecA*. Leur soumission à 4 bêta-lactamines supplémentaires (amoxicilline, amoxicilline+acide clavulanique, céfalotine et ceftazidime) montre qu'elles sont toutes BORSA.

Enfin la troisième catégorie, représentée par les 4 dernières souches ayant une zone d'inhibition de 25 ou 26 mm, une CMI comprise entre 4 et 8 mg/l et qui sont également dépourvues du gène *mecA*, sont classées comme des souches SARM.

Conclusion : La prévalence des souches résistantes à la méthicilline est de 5,1%, ces souches sont subdivisées en deux catégories: souches multirésistantes, classées comme des souches SARM-C (1,9%), elles sont pourvues du gène *mecA*; et souches dépourvues de ce gène, mais présentant une CMI à la céfoxitine comprise entre 12 et 16 mg/l, elles sont classées comme souches BORSA (3,2%).

Mots clés : Communautaire, résistance, méthicilline, *Staphylococcus aureus*, SARM, BORSA.

368/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Étude phénotypique de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées au CHU de Yopougon, Abidjan.

P. Monemo¹, C. Akoua-Koffi², S. Meité¹, C. Boni-Cissé¹, C. Yao¹, D. Zika¹, H. Faye-Ketté¹, M. Dosso¹

¹Laboratoire Bactériologie-Virologie, CHU de Yopougon ²UFR Sciences Médicales de Bouaké / CHU de Bouaké, Abidjan, Côte d'Ivoire

Introduction : Les bactéries du genre *Staphylococcus* germes pyogènes par excellence impliquées dans les infections communautaires et nosocomiales. L'hospitalisme infectieux, est un problème préoccupant, lié à la résistance acquise aux antibiotiques usuels par les bactéries multirésistantes notamment les souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méthicilline (SARM).

Objectif : Déterminer le niveau de résistance aux antibiotiques des souches de *Staphylococcus aureus* isolées au CHU de Yopougon de 2009 à 2011.

Méthodes : De juillet 2009 à janvier 2011, des prélèvements bactériologiques ont été effectués chez des patients hospitalisés au CHU de Yopougon dans différents services. L'isolement sur milieux de Chapman et l'identification ont été réalisés suivant les méthodes bactériologiques conventionnelles. L'étude de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques a été effectuée selon la méthode de diffusion en milieu gélosé (CA-SFM 2009).

Résultats : Cinquante-six patients dont 23 enfants d'âge moyen de 5ans ± 5,2 avec des extrêmes de J1 et 14 ans ont été inclus; 39,3% des patients provenaient des unités de soins obstétrico-néonato-pédiatriques suivi de 23,2% médicaux, 14,3% chirurgicaux et 8,9% réanimation. Au plan bactériologique, sur 56 prélèvements analysés, 38 souches de *Staphylococcus aureus* ont été isolés: 34,2% des pus ouverts, 26,3% d'hémocultures et 7,9%

de dispositifs intra vasculaires. Concernant les phénotypes de résistance, 13,6% des souches de *Staphylococcus aureus* étaient des SARM parmi lesquelles 18,2% présentant une résistance croisée aux aminosides (KTG). Le phénotype de résistances aux macrolides *MLSb* a été retrouvé dans 4,5% des cas, mais des taux de résistances variables ont été observés pour la fosfomycine (8%), l'acide fucidique (16%) la ciprofloxacine (36%) et le cotrimoxazole (56%). Cependant 95,5% des souches étaient sensibles à la vancomycine.

Conclusion : Le niveau de résistance des souches de *Staphylococcus aureus* aux antibiotiques usuels reste encore élevé dans les populations vulnérables (mère-enfants). La recherche du gène *mecA* des SARM isolées refléterait mieux la gravité de l'hospitalisme infectieux dans nos structures. Toutefois la contrainte de l'indication de la vancomycine mérite un consensus multidisciplinaire préalable.

Mots clef : *Staphylococcus aureus*, antibiotiques, Abidjan

369/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Infections ostéo-articulaires à *Staphylococcus aureus* porteurs du gène codant la leucocidine de Panton-Valentine au CHU Sahloul Sousse Tunisie.

C. Chaouch, O. Bouallegue, L. Tilouch, H. Mansour, J. Sahloul, N. Boujaafar
Laboratoire de bactériologie-virologie, CHU Sahloul Sousse, Monastir, Tunisie

Les infections ostéoarticulaires dues à des souches de *S.aureus* sécrétant la Leucocidine de Panton-Valentine (PVL) constituent une entité particulière au sein des infections osseuses.

L'objectif de notre étude est d'évaluer la fréquence des infections ostéo-articulaires et les infections des parties molles à *S.aureus* porteur du gène codant la PVL chez les patients ayant été admis au service d'orthopédie au CHU Sahloul, et d'étudier les caractéristiques de ces souches et des patients infectés.

Il s'agit d'une étude rétrospective de 79 isolats de *S. aureus*, identifiés au laboratoire de microbiologie à partir de prélèvements cliniques de patients hospitalisés au service d'orthopédie au CHU Sahloul, sur une période de cinq ans de 2006 à 2011. Les isolats de *S. aureus* ont fait l'objet d'un antibiogramme et d'une détection par PCR du gène *luk-PV* codant la PVL.

La toxine de Panton et Valentine est retrouvée dans 52% des cas, elle atteint surtout une population masculine, de tout âge et sans comorbidité. La prévalence de *S.aureus* PVL+ est plus importante au cours des infections des tissus mous (63%) qu'au cours des infections ostéo-articulaires (43%). La toxine de Panton et Valentine est produite essentiellement par des SAMS avec un taux de 41%. Ces souches constituent un réservoir de gènes PVL ce qui peut mener à l'émergence et la diffusion de clones de SARM-PVL+. Dans notre série, ces SARM PVL+ présentent 11% des *S.aureus* isolés et possèdent un profil de résistance aux antibiotiques du clone communautaire ST80 majoritaire en Europe.

Dans notre étude, la gravité des infections ostéo-articulaires semble être liée à la sécrétion de PVL et non à une éventuelle résistance et il apparaît nécessaire de détecter rapidement ce type de souches afin de mettre en œuvre des traitements spécifiques parmi lesquels: l'antibiothérapie qui doit comporter une molécule active sur la sécrétion de la toxine et la chirurgie.

Ces souches de *S. aureus* PVL+ ont un pouvoir de diffusion et une pathogénicité qui rendent souhaitable la détection en routine de la PVL au laboratoire afin de mettre en œuvre des traitements adéquats et surveiller de façon active l'épidémiologie de ces souches et d'entreprendre des mesures pour la prévention et la lutte contre les infections causées par ces souches.

370/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Y a-t-il une corrélation entre le type de staphylocoque et le patient ?

A. Berriche, R. Abdelmalek, B. Kilani, A. Ghoubantini, L. Ammari, F. Kanoun, H. Tiouiri Benaisa
Service des maladies infectieuses, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie, Société tunisienne de pathologies infectieuses (STPI), La Marsa, Tunisie

Introduction : Les infections à staphylocoque sont classiquement liées au terrain (les manipulations intraveineuses sont liées au staphylocoque à coagulase négative et les soins à la méthi-résistance).

Objectif : Nous avons tenté de vérifier la présence de ces associations classiquement acceptées.

Matériel et méthodes : Étude rétrospective menée au service des maladies infectieuses de la Rabta, sur une période de 8 ans (Juillet 2004- juin 2012). Nous avons inclus toutes les infections documentées à staphylocoque.

Résultats : Nous avons colligé 62 patients (sex-ratio: 1,58), âgés de 43,39 ans. Un ou plusieurs facteurs favorisant les infections à staphylocoque ont été retrouvés dans 38,7% (diabète: 20 cas, hospitalisation antérieure: 8 cas, toxicomanie intraveineuse: 6 cas, corps étranger: 5 cas, cathétérisme récent: 4 cas et hémodialyse: 2 cas). La septicémie était le tableau clinique prédominant (n=39) suivie de l'endocardite (n=10), des collections (n=7). Le staphylocoque a été isolé sur des hémocultures dans 37 cas, un prélèvement de pus dans 15 cas, un liquide de ponction dans 4 cas et sur plusieurs prélèvements dans le reste des cas. Il s'agissait d'un *Staphylococcus aureus* dans 84% des cas et d'un *Staphylococcus methicillin* sensible dans 87,1% des cas. Parmi les souches isolées, 14,5% présentaient une ou plusieurs résistances aux antibiotiques testés. L'analyse statistique n'a pas objectivé de corrélations entre le type de staphylocoque et le terrain (sexe, facteurs

prédisposants) ni entre le caractère résistant à la méthicilline et ces mêmes facteurs. Par contre, la résistance à la méthicilline est associée à la résistance aux autres familles d'antibiotiques (p: 0,05).

Conclusion : La résistance à la méthicilline reste modérée en Tunisie. C'est le facteur prédictif par excellence de la multirésistance du staphylocoque aux autres antibiotiques. Malheureusement, aucun facteur parmi ceux étudiés dans notre série, n'a permis de ressortir un facteurs prédictif de la méthi-résistance.

371/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

In vitro bactericidal activity of KPI-10, a next generation fluoroquinolone (FQ), against FQ-susceptible (FQ-S) and FQ-resistant (FQ-R) Gram-negative and Gram-positive isolates.

C. Jacqueline², C. Desessard¹, M. Davieau², A.F. Miègeville², G. Potel², J. Caillon²

¹Atlantgram ²UFR de Médecine, UPRES EA 3826, Nantes, France

Background: KPI-10 demonstrates potent broad-spectrum activity against key nosocomial pathogens, including FQ-R isolates. The aim of the study was to assess the *in vitro* activity of KPI-10 against selected FQ-S and FQ-R organisms.

Methods: The MIC was measured using standard CLSI methods. Time-kill curves were performed at 8 times the MIC using an inoculum of 5.10⁸ CFU/mL. Post-antibiotic effect (PAE) was determined as previously described (drug exposure, 1-2 hours). KPI-10 was evaluated in combination with vancomycin, daptomycin, and linezolid against gram-positive isolates and with amikacin, ceftazidime, meropenem, and tigecycline against gram-negative isolates.

Results: Bactericidal activity (>3-log₁₀) was achieved for KPI-10 against all gram-negative strains, except for a FQ-R *A. baumannii* strain exhibiting a decrease of 2.6-log₁₀ CFU/mL. KPI-10 exhibited bactericidal activity against all gram-positive isolates, including FQ-R MRSA strains. The PAEs were 1.6, 1.5, 1.1, 1.3, and >6 hours for *E. coli* FQ-R, *A. baumannii* FQ-R, *P. aeruginosa* FQ-S, MRSA FQ-R, and *S. pneumoniae* FQ-R. Additivity was the main interaction observed between KPI-10 and studied partner drugs; however, synergy was observed between KPI-10 and amikacin, meropenem, and tigecycline against gram-negative strains. Antagonism was detected between KPI-10 and linezolid (FIC >2) against gram-positive isolates, as described with other quinolones.

Conclusions: KPI-10 demonstrated broad-spectrum antibacterial coverage and excellent bactericidal activity against all pathogens tested, including FQ-R strains. KPI-10 showed moderate PAE against tested isolates except *S. pneumoniae*, which is similar to that observed with other FQs. Most antibiotic combinations showed additive effects, except KPI-10 plus amikacin, meropenem, and tigecycline showing synergy against gram-negative isolates. Considering these data, KPI-10 is a promising broad-spectrum bactericidal agent with desirable *in vitro* characteristics.

372/76A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Étude d'un système d'inoculation standardisé et d'un milieu de culture rapide pour l'antibiogramme de *Staphylococcus aureus*.

D. Levysse¹, S. Diaz³, P. Carretero³, C. Curel³, A.C. Jaouen¹, J.C. Ghnassia²
¹Laboratoire centre hospitalier Côte Basque, Bayonne ²Laboratoire centre hospitalier de Versailles, Le Chesnay ³Intelligence artificielle application, i2a, Pérols, France

La sensibilité aux antibiotiques de 64 souches cliniques de *S. aureus* (dont 15 souches de SARM) a été testée avec:

- 2 méthodes différentes de standardisation de l'inoculum: méthode de référence (suspension à 0,5 MacFarland diluée au 1/10) et méthode Inoclic (i2a, Montpellier, France)
- 2 milieux de culture différents: milieu Mueller Hinton « classique » et milieu rapide MHR-SIR (i2a, Montpellier, France).

Les résultats obtenus sur Mueller Hinton avec la méthode à 0,5 McF diluée au 1/10 et la méthode Inoclic sont comparables: pour les 2078 tests réalisés, nous avons observé 0,10% de différences mineures, 0,05% de différences majeures et 0,14% de différences très majeures, ce qui donne une concordance des résultats de 99,71%. Le coefficient de corrélation entre les deux méthodes était de 0,9534.

Avec le milieu MHR-SIR et le système Inoclic, après 6 heures d'incubation, nous avons observé 0,54% de différences mineures, 0,05% de différences majeures et 0,34% de différences très majeures, ce qui donnait une concordance des résultats de 99,07% par rapport aux résultats obtenus avec le milieu Mueller-Hinton classique et la suspension à 0,5 McF diluée au 1/10 après 18h d'incubation. Les 15 souches de SARM ont été détectées en 6 heures directement à la fois par le test de sensibilité de la Céfoxitine et celui du Moxalactam.

L'utilisation du système Inoclic pour la préparation et la standardisation de l'inoculum pour l'antibiogramme de *S. aureus* peut être recommandée en pratique quotidienne.

De plus, le milieu MHR-SIR réduit le temps d'obtention de l'antibiogramme des souches de *S. aureus* de 18 à 6 heures, y compris pour les SARM.

Émergence en France de souches de *Mycobacterium tuberculosis* présentant des discordances entre les résultats génotypiques et phénotypiques de la résistance à la rifampicine.

F. Breyse⁴, V. Jacomo³, V. Avrillon², E. Martin⁴, F. Ader¹, G. Lina⁴, M. Chomar⁴

¹Service des Maladies Infectieuses, CHU Lyon-Nord ²Service de Pneumologie, CHU Lyon-Sud ³Laboratoire Biomnis, Lyon ⁴Laboratoire de Microbiologie, CHU Lyon-Sud, Pierre-Bénite, France

Plus de 95 % des souches de *Mycobacterium tuberculosis* (MTB) résistantes à la rifampicine (RIF) présentent des mutations du gène *rpoB*. Dans notre laboratoire, depuis 1996, la recherche de ces mutations est faite systématiquement sur la centaine de souches isolées chaque année sans qu'aucune discordance n'ait été notée. Récemment, en un mois deux souches de MTB ayant une mutation connue pour entraîner une résistance à bas niveau à RIF ont été classées phénotypiquement (MGIT) sensibles à RIF.

Il s'agit d'un étudiant chinois de 26 ans traité en mars pour une tuberculose pulmonaire. Après deux mois de quadrithérapie classique, une bithérapie (isoniazide (INH) et RIF) a été débutée le 18 mai puis stoppée après huit jours devant la résistance à l'INH et à la streptomycine (antibiogramme MGIT Becton-Dickinson) obtenue d'un laboratoire extra-hospitalier. Le patient est alors hospitalisé, traité avec RIF, pyrazinamide et éthambutol. Le 30 mai, un test Xpert[®] MTB/RIF est réalisé sur un crachat BAAR positif, détectant une mutation du gène *rpoB* en faveur d'une résistance à RIF. Le patient est actuellement en cours de traitement (pyrazinamide, amiklin, myambutol, linézolide et PAS).

Le séquençage du gène *rpoB* met en évidence la mutation H526L décrite comme entraînant une résistance de bas niveau à RIF. Dix jours plus tard, l'antibiogramme montre que la souche est résistante à l'INH et sensible à RIF, pyrazinamide et éthambutol.

Les deux souches (mars et mai) étaient phénotypiquement sensibles à RIF, résistantes à l'INH mais avaient la même mutation H526L du gène *rpoB*.

Concomitamment, une souche d'une patiente roumaine ayant une mutation L533P sur le gène *rpoB* (Xpert[®] MTB/RIF et séquençage) était phénotypiquement sensible à RIF et résistante à l'INH. Ces deux souches avaient des spoligotypes différents, des mutations différentes du gène *rpoB* mais la même mutation du gène *katG*.

Ces discordances rapportées récemment posent le problème des concentrations de RIF utilisées dans l'antibiogramme car ces souches peuvent être responsables d'échecs cliniques, notamment chez des patients ayant des souches résistantes à haut niveau à l'INH.

L'antibiogramme seul peut être une technique insuffisante. En attente de modifications éventuelles des concentrations critiques, la recherche de mutations sur le gène *rpoB* devrait être faite systématiquement sur les souches résistantes à haut niveau à l'INH ou lors d'une évolution anormale de la maladie.

Étude de la résistance acquise à la clarithromycine chez des mutants de *Mycobacterium abscessus*.

F. Mougari²⁻³⁻⁴, F. Crockett³, F. Chau³, L. Raskine²⁻⁴, F. Bouziane¹, N. Vezeris², E. Cambau²⁻³⁻⁴

¹Université des sciences et de la technologie Houari Boumedienne, Alger, Algérie ²Centre National de Référence des Mycobactéries et Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux (CNR-MyRMA) ³EA 3964, Faculté Diderot-Paris7 ⁴Service de Bactériologie-Virologie, Groupe Hospitalier Lariboisière-Fernand Widal, AP-HP, Paris, France

Objet : *M. abscessus* est responsable d'infections respiratoires sévères et d'infections cutanéomuqueuses iatrogènes. Malgré un traitement bien mené reposant sur une combinaison d'antibiotiques dont la clarithromycine est la molécule clé, des échecs cliniques sont souvent observés. La découverte du gène *erm41*, codant une ARN méthylase responsable d'une résistance inducible à la clarithromycine, a émis l'hypothèse que cette résistance naturelle était responsable des échecs. Or des cas de résistance acquise par sélection de mutants résistants (mutation du gène *rrl* codant l'ARNr23S en positions 2058 ou 2059) ont aussi été rapportés comme cause d'échec. Nous avons montré que les 3 sous espèces de *M. abscessus* (*M. abscessus* sensu stricto, *M. bolletii* et *M. massiliense*) n'avaient pas le même phénotype et génotype de résistance naturelle à la clarithromycine avec 4 groupes: *M. abscessus* sequevar *erm41T28-ClaR*, *M. abscessus* sequevar *erm41C28-ClaS*, *M. bolletii* *erm41complet-ClaR*, et *M. massiliense* *erm41del278-ClaS*. Notre objectif était de caractériser les mécanismes de résistance acquise *in vitro* chez ces 4 groupes de *M. abscessus*.

Méthodes : Nous avons sélectionné des mutants résistants à la clarithromycine à partir d'une souche représentative de chacun des 4 groupes, étudié leur phénotype de résistance à la clarithromycine par mesure des CMI et caractérisé leur génotype par séquençage des gènes *rrl*, *erm41*, *rpIV* et *rpID* (codant les protéines ribosomales L22 et L4).

Résultats : Pour *M. abscessus* sequevar *erm41* C28 et chez *M. massiliense*, 100% et 97%, des mutants sélectionnés avaient une mutation du gène *rrl* en position 2058 ou 2059. Chez *M. abscessus* sequevar *erm41* T28 et chez *M. bolletii*, l'une de ces 2 positions du gène *rrl* n'était mutée que chez 30% et 52% des mutants. Parmi les mutants non mutés en 2058 ou 2059 du gène *rrl*, nous

avons découvert une insertion répétée de 18 paires de bases dans le gène *rpIV* chez un mutant de *M. massiliense*.

Conclusion : Nos résultats montrent que le principal mécanisme de résistance acquise à la clarithromycine chez *M. abscessus* sequevar *erm41* C28 et *M. massiliense* est une mutation du gène *rrl* en position 2058 ou 2059. Chez *M. abscessus* sequevar *erm41* T28 et *M. bolletii* moins de 50% de cette résistance est liée à une mutation du gène *rrl* en position 2058 ou 2059, l'autre moitié étant probablement liée à la résistance induite par l'ARN méthylase.

Tuberculose en Afrique de l'Est : prévalence élevée des souches multirésistantes à Djibouti.

G. Boyer-Cazajous², C. Dehan², M. Osman Hassan¹, M.C. Chenilleau-Vidal², C. Martinaud³, C. Solers³

¹Centre anti-tuberculeux Paul Faure ²HMC Bouffard, Djibouti ³HIA Percy, Clamart, France

Objet : L'OMS estime à 650000 cas le nombre de personnes infectées par des souches de tuberculose multirésistante (MDR). La république de Djibouti possédant un des taux d'incidence de la tuberculose les plus élevés au monde, nous avons souhaité évaluer la prévalence de souche MDR parmi les nouveaux cas diagnostiqués.

Méthodes : Nous avons mené une étude rétrospective sur les cas de tuberculose diagnostiqués sur un an (2010-11) à l'HMC Bouffard. Tous les prélèvements transmis au laboratoire de l'hôpital pour suspicion de tuberculose ont été inclus. La culture, l'identification et la détermination de la sensibilité aux anti-tuberculeux ont été réalisées dans l'unité de mycobactériologie de l'Hôpital Percy (Clamart, France).

Résultats : Sur cette période, 1274 prélèvements correspondant à 675 patients ont été transmis. La culture a permis d'isoler une mycobactérie dans 266 échantillons (21%) représentant 180 cas de mycobactérioses (pulmonaire= 163, extrapulmonaire=17). Deux cent quarante sept échantillons (101 patients) ont pu être analysés en France. L'âge moyen était de 32 ans [3-83], 57% étaient des hommes (n=58), majoritairement autochtone (94%). Quarante six pour cent (n=47) étaient hospitalisés dans notre hôpital, 10% (n=10) dans le centre antituberculeux national et 33,6% (n=34) étaient des malades ambulatoire. L'identification retrouvait 89% de *M. tuberculosis* (n=90), 6% de *M. canettii* (n=6) et 5% de mycobactéries non tuberculeuses (n=5). Une étude de la sensibilité aux antituberculeux a été possible chez 89 (98%) des 90 *M. tuberculosis*. Trente-trois souches (37%) étaient multisensibles, 5 présentaient une monorésistance (isoniazide, n=3) et 51 (57%) correspondaient au profil MDR. Aucune souche XDR n'a été isolée. L'analyse des antécédents de traitement était possible chez 44 patients. Au sein des souches MDR (n=24), 46% correspondaient à une résistance primaire.

Conclusion : Malgré les nombreuses limitations méthodologiques de notre étude, ces résultats représentatifs de l'activité du seul laboratoire évaluant la sensibilité des souches de *M. tuberculosis*, nous paraissent révélateur d'une situation très préoccupante dans cette région du monde. Une analyse génotypique de ces souches permettra de mieux apprécier le phénomène de diffusion des souches MDR.

Intérêt de la prescription ciblée pour le diagnostic moléculaire de la tuberculose et la détection de la multirésistance par le test GeneXpert MTB-RIF.

C. Verdet¹, J. Cadranet¹, F.X. Lescure, G. Arlet
¹Hôpital Tenon, Paris, France

Objet de l'étude : La détection moléculaire du bacille de la tuberculose (BK) par un test unitaire est appréciée des cliniciens parce qu'elle est adaptée au caractère urgent du diagnostic et de la prise en charge des patients contact, notamment en cas de suspicion de multirésistance. Il convient de positionner le test GeneXpert MTB-RIF (Cepheid) par rapport à l'examen microscopique direct (ED) et à la culture (C) dans le diagnostic bactériologique d'une mycobactériose (AP-HP, HUPE – site Tenon)

Méthodes : Dans notre établissement, le test n'est pas effectué pour toute suspicion de tuberculose contrairement aux recommandations du CDC. La recommandation locale est de prescrire le test MTB-RIF après discussion entre clinicien et biologiste :

- en cas de forte suspicion de tuberculose, notamment en cas d'ED négatif après la fibroscopie
- en cas de suspicion de résistance à la rifampicine
- pour éliminer une mycobactériose atypique en cas d'ED positif chez un patient VIH immunodéprimé.

L'objectif de ce travail est de vérifier la pertinence de cette approche.

Résultats obtenus : De janvier 2010 à mai 2012, 142 échantillons ainsi sélectionnés (1,3% du volume total) ont été testés par MTB-RIF en plus de l'ED et de la C. La sensibilité du test MTB-RIF est meilleure que celle de l'ED avec les 94 échantillons pulmonaires (91% au lieu de 73%) et les 48 échantillons extra-pulmonaires (85% au lieu de 31%) (gold standart = C). Si on exclut les patients récemment traités par les antituberculeux, la spécificité du test permet, en cas d'ED positif, de différencier le BK d'une mycobactérie atypique.

Pendant la période de l'étude, la résistance à la rifampicine a été caractérisée chez 5 souches (confirmation phénotypique). Les 5 échantillons correspondants ont tous été sélectionnés pour le test MTB-RIF qui a permis de détecter la résistance dans 3 cas. Par ailleurs, un faux positif (mutation silencieuse du gène *rpoB*) a été détecté ce qui conforte la nécessité de confirmer par un antibiogramme.

Conclusion : 60% des cas bactériologiquement documentés de tuberculose sont diagnostiqués par les cliniciens à Tenon sans le recours au test MTB-RIF. Cependant, ce test contribue au diagnostic précoce de la tuberculose dans les situations particulières proposées par nos recommandations locales.

377/77A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

MIRU-VNTR genotyping of human *Mycobacterium bovis* strains in Tunisia.

A. Ghariani², E. Mehiri², S. Sanakli², H. Draoui², L. Essalah², F. Messadi-Akrout¹, N.L. Slim-Said²

¹Microbiology Laboratory, Hédi Chaker Hospital, Sfax ²Hôpital de Pneumologie Abderahman Mami Ariana, Tunis, Tunisie

Introduction: Advances in molecular typing, particularly with the developing MIRU-VNTR technique, have improved the ability to distinguish among strains of *Mycobacterium bovis*.

Objective: The discriminatory power of MIRU-VNTR to typing based on the standardized 15 loci was assessed for 23 human strains of *M.bovis* collected at the laboratory of microbiology of the Pneumology Hospital of Tunis

Materials and Methods: From 2000 to 2010, 23 human *M.bovis* strains were isolated, 13 were isolated from extrapulmonary samples and 2 from sputa. Genotyping was performed using the 15 MIRU-VNTR set. PCR products were analyzed by gel electrophoresis. The allelic diversity (h) was calculated.

Results: Molecular evidence demonstrated that *M.bovis* isolates are not related even though between cases occurring in the same area and the same place. Only two of the 23 *M.bovis* strains were clustered. Allelic diversity was calculated (h) and we defined:

- 12 loci as highly discriminative ($h \geq 0,5$): MIRU 4, MIRU 10, Miru26, Miru 31, ETR C Mtub 21Mtub 4, QUB11b, ETR A, Mtub39 QUB 26 and QUB4156.

- 3 loci as moderately discriminative ($0,2 < h \leq 0,5$): MIRU 16, MIRU 40, Mtub39

With the 9 most polymorphic loci, we obtained the same initial result that with the 15. We consider that these 9 loci are distinctive enough for initial epidemiological studies and allow us to save time and minimize expenses.

Conclusion: Analysis of allelic diversity is a powerful tool to define a first line set that will be discriminative for *M.bovis* strains in Tunisia. Improved discrimination between isolates is needed for better tracing of epidemiological links and identifying the source of contamination.

378/77A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Genetic diversity and population structure of *Mycobacterium marinum*: new insights into host and environmental specificities.

V. Broutin⁶⁻¹⁰, A.L. Bañuls¹⁰, A. Aubry¹², N. Keck⁹, M. Choisy¹⁰, J.F. Bernardet³, C. Michel³, J.C. Raymond¹³, C. Libert¹¹, A. Barnaud⁴, P. Stragier¹, F. Portaels¹, D. Terru⁶, C. Bellon⁶⁻⁸, O. Dereure², C. Guttierrez¹⁴, M.L. Boschirol², P. Van De Perre⁶⁻⁸, E. Cambau¹², S. Godreuil⁶⁻⁸

¹Mycobacteriology Unit, Institute of Tropical Medicine Nationalestraat, Antwerpen, Belgique ²Anses, Laboratoire de Santé Animale de Maisons-Alfort, Unité des Zoonoses Bactériennes, Maisons-Alfort ³Unité de virologie et immunologie moléculaires, Institut National de la Recherche Agronomique, Jouy-en-Josas ⁴Le Gouessant Aquaculture, Lamballe ⁵Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier, Hôpital Arnaud de Villeneuve, Département de Bactériologie-Virologie ⁶Department of Dermatology, Hôpital Saint-Eloi ⁷INSERM U1058 "Infection by HIV and by agents with mucocutaneous tropism: from pathogenesis to prevention" ⁸Laboratoire Départemental Vétérinaire de l'Hérault ⁹MIVEGEC, UMR IRD 224-CNRS 5290-Universités Montpellier 1 et 2, Centre IRD ¹¹Parc zoologique Darwin, Montpellier ¹²Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance aux Antituberculeux ¹³Comité National des Pêches Maritimes et des Elevages Marins (CNPME), Paris, France ¹⁴Find, Geneva, Suisse

Mycobacterium marinum causes a systemic tuberculosis-like disease in fish, and skin infections in humans that might spread to deeper structures, resulting in tenosynovitis, arthritis and osteomyelitis. However, little information is available concerning: (i) the intraspecific genetic diversity of *M. marinum* isolated from humans and animals; (ii) the *M. marinum* genotype circulation in the different ecosystems and (iii) the link between *M. marinum* genetic diversity and hosts (humans and fish). Here, we conducted a genetic study on 89 *M. marinum* isolates from humans (n=68) and fish (n=21) by using Mycobacterial Interspersed Repetitive Units-Variable Number of Tandem Repeats (MIRU-VNTR) typing. The results show that the *M. marinum* population is genetically structured not only according to the host, but also to the ecosystem as well as to tissue tropism in humans. This suggests the existence of different genetic pools in function of the biological and ecological compartments. Moreover, the presence of only certain *M. marinum* genotypes in humans suggests a different zoonotic potential of the *M. marinum* genotypes. Considering, the infection linked to the aquarium activity, a significant genetic difference was also detected when the human tissue tropism of *M. marinum* was taken into consideration, with a higher genetic polymorphism in strains isolated from

patients with cutaneous forms than from individuals with deeper-structure infection. It appears that only few genotypes can produce deeper infections in humans, suggesting that the immune system might play a filtering role.

379/77A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Difficulté d'identification des mycobactéries du groupe *M. abscessus*.

F. Brossier, W. Sougakoff, C. Bernard, V. Jarlier, N. Veziris
CNR des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux, Groupe Hospitalier Universitaire Pitié-Salpêtrière-Charles-Foix, Paris, France

Objectifs : *Mycobacterium abscessus*, germe de l'environnement responsable d'infections respiratoires chez les patients atteints de pathologies respiratoires chroniques, est principalement traité par la clarithromycine. Il a été récemment redéfini comme un complexe séparé en sous-espèces (*M. abscessus* sensu stricto, *M. massiliense* et *M. bolletii*). Le gène *erm(41)*, responsable d'une résistance inductible à la clarithromycine, apparaît spécifique des sous-espèces du complexe *M. abscessus*. Les souches sauvages de *M. bolletii* présentent un phénotype résistant, les souches de *M. massiliense* un phénotype sensible (délétion dans le gène *erm(41)*), enfin les souches de *M. abscessus* sensu stricto présentent un phénotype variable selon le polymorphisme du gène *erm(41)*. Nous rapportons 3 souches du complexe *M. abscessus* d'identifications discordantes par les gènes cibles classiques et l'intérêt du gène *erm(41)* dans l'identification et le diagnostic de la résistance à la clarithromycine.

Méthodes : La sensibilité à la clarithromycine a été déterminée sur microplaque Sensititre RAPMYCO® (Biocentric) et la lecture a été réalisée au 3^{ème} et au 14^{ème} jour d'incubation. Le séquençage des gènes *rpoB* et *hsp65* a été utilisé pour l'identification (par comparaison à la base de données internationale BIBI) et celui du gène *erm(41)* pour la détection de la résistance inductible à la clarithromycine.

Résultats : Le séquençage des gènes *rpoB* et *hsp65* a donné des identifications discordantes pour les 3 souches du complexe *M. abscessus*: 100% *M. abscessus* et 99,4% *M. massiliense* pour une souche, 99,7-99,8% *M. bolletii* et 99,6-99,3% *M. massiliense* pour les 2 autres souches. L'antibiogramme phénotypique a montré une résistance inductible à la clarithromycine pour ces 3 souches. Le séquençage du gène *erm(41)* a identifié ces 3 souches comme *M. bolletii*.

Conclusion : Le séquençage des gènes *rpoB* et *hsp65* ne donne pas toujours une identification précise des mycobactéries du groupe *M. abscessus*. Le séquençage du gène *erm(41)* permet à la fois une identification précise de la sous-espèce et de la résistance inductible à la clarithromycine. Pour le laboratoire de mycobactériologie clinique nous proposons d'utiliser le séquençage du gène *erm(41)* en remplacement des autres techniques d'identification.

380/77A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Détection moléculaire de la résistance des mycobactéries du complexe *tuberculosis* à la rifampicine sur prélèvements respiratoires négatifs à l'examen microscopique (EM-) : comparaison des trousse MTBDR plus version 2 et XPERT MTB/RIF.

S. Trombert-Paolantoni¹, I. Gros², P. Figarella¹

¹Microbiologie, Laboratoire Cerba, Cergy-Pontoise ²Microbiologie, CHG Delafontaine, Saint-Denis, France

Objectif : Comparer les performances des 2 trousse pour la détection par amplification génique des mycobactéries du complexe *tuberculosis* et l'étude de la sensibilité à la rifampicine sur prélèvements respiratoires EM-, culture+.

Méthodes : Vingt-neuf prélèvements de 22 malades sont ensemencés pour culture (MGIT, Bactec 960) et antibiogramme en milieu liquide. L'identification de la souche est réalisée avec la trousse MTBC (Hain). Les tests moléculaires sont réalisés conformément aux recommandations des fournisseurs.

Résultats : Avec la trousse Xpert MTB/RIF, la détection de l'ADN de *M. tuberculosis* est positive dans 28 des 29 prélèvements testés. Les 6 souches résistantes à la rifampicine sur l'antibiogramme sont détectées résistantes sur les prélèvements par le GeneXpert. Vingt-quatre des 29 prélèvements donnent les résultats attendus avec la trousse MTBDR v2. Pour 4 échantillons de 3 malades, la trousse ne détecte pas l'ADN du complexe *tuberculosis* et pour un échantillon le profil montre une mutation du gène *rpoB* responsable d'une résistance génotypique à la rifampicine non confirmée à l'antibiogramme. Le test moléculaire réalisé sur la souche avec la trousse MTBDR v2 montre une sensibilité à la rifampicine.

Conclusion : Sur prélèvements respiratoires EM-, la trousse Xpert MTB/RIF donne des résultats mieux corrélés aux données phénotypiques que la trousse MTBDR v2, possiblement liés à une meilleure purification et concentration des acides nucléiques.

Evaluation of a new database for identification of mycobacteria by MALDI-TOF MS.A.B. Pranada¹, M. Timke¹, E. Witt², M. Kostrzewa¹¹Brüker Daltonik GmbH, Bremen ²MVZ Dr Eberhard and Partner, Dortmund, Allemagne

Introduction: Matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight (MALDI-TOF) mass spectrometry is widely used for identification of microorganisms in clinical diagnostics. However, some *Mycobacterium* species show low-quality spectra with standard preparation methods. This shortcoming was resolved using an optimized preparation technique based on zirconia/silica beads. *Mycobacterium* spp. strains from interlaboratory tests between 2000 and 2011 were analysed to evaluate the performance of the new preparation method and a corresponding newly developed database.

Material and Methods: Strains were cultivated in a BD BACTEC™ MGIT™ 320 system or on Löwenstein-Jensen medium (BD, Heidelberg), respectively. Biomass of positive MGIT cultures and Löwenstein-Jensen grown cultures was collected and stored at -18°C. Samples were processed using a zirconia/silica bead based method and mass spectra were recorded with a microflex LT. Eighteen strains belonging to 17 different species were tested. The acquired mass spectra were compared to Mycobacteria Library 1.0 reference spectra using MALDI Biotyper 3.1 software (Bruker Daltonik, Germany).

Results: MALDI Biotyper 3.1 and Mycobacteria Library 1.0 resulted in 16 (88.9%) identifications with log(score) values ≥ 2.0 corresponding to an identification at species level. This was achieved for the following species: *M. abscessus*, *M. avium*, *M. celatum*, *M. fortuitum*, *M. goodii*, *M. kansasii*, *M. malmoense*, *M. marinum*, *M. parascrofulaceum*, *M. phlei*, *M. scrofulaceum*, *M. shimodei*, *M. simiae*, *M. smegmatis*, and *M. xenopi*. Mass spectra of two (11.1%) strains (*M. bohemicum* and *M. szulgai*) yielded log(score) values of >1.7 and <2.0 . All identification results were correct at species level.

Discussion: A new mycobacterial protein extraction method was successfully used for interlaboratory test strains. In combination with Mycobacteria Library 1.0 all strains were correctly identified at species level, indicating the high potential of MALDI-TOF MS for fast and reliable identification of nontuberculous mycobacteria.

Le test QuantiFERON® : une zone d'incertitude est-elle justifiée pour l'interprétation des résultats ?A. Nzeumi Fanmi², L. Garnier², L. Denis², P. Rouzère²⁻¹, F. Bienvenu², J. Bienvenu²⁻¹¹Inserm U851 IFR128, Immunité Infection Vaccination, Lyon ²Laboratoire d'immunologie, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon, Pierre Bénite, France

Objet de l'étude : Le test QuantiFERON® (QFT) est un test diagnostique de tuberculose latente mesurant la sécrétion d'IFN- γ par les cellules mononucléées du patient stimulées en présence d'antigènes du complexe *Mycobacterium tuberculosis*. Selon les recommandations du fabricant (Cellestis), le seuil de positivité est fixé à 0,35 UI/mL. Nous avons défini au laboratoire une zone d'incertitude (de 0,3 à 0,6 UI/mL). Ainsi, un résultat $<0,3$ UI/mL est rendu négatif, compris entre 0,3 et 0,6 UI/mL douteux, et $>0,6$ UI/mL positif. En cas de résultat douteux, la réalisation d'un deuxième prélèvement est recommandée.

L'objectif de notre étude est de montrer l'intérêt de cette zone d'incertitude, en analysant les résultats des QFT reprélevés suite à un premier résultat douteux.

Méthodes : Une étude rétrospective a été réalisée sur une période de deux ans. 10391 QFT ont été recensés, incluant 480 (5%) résultats douteux, répartis selon deux profils : profil 1 (0,3 à 0,35 UI/mL) et profil 2 (0,35 à 0,6 UI/mL). Parmi ces 480 résultats douteux, 139 (29%) patients ont bénéficié d'un deuxième prélèvement dans les trois mois suivant le premier. Notre étude a consisté à comparer les résultats obtenus sur ce deuxième prélèvement (négatif, positif ou à nouveau douteux) au regard des deux profils établis.

Résultats obtenus : Parmi les 139 QFT douteux ayant fait l'objet d'un second prélèvement, 17 (12%) correspondent au profil 1 et 122 (88%) au profil 2. Parmi les 17 QFT douteux du profil 1, 14 sont devenus négatifs ($<0,3$ UI/mL) et 3 sont restés douteux (profil 2). Pour les 122 QFT douteux associés au profil 2, 50 (41%) sont retrouvés négatifs ($<0,3$ UI/mL), 37 (30%) positifs ($>0,6$ UI/mL) et 35 (29%) à nouveau douteux sur un second prélèvement dont 4 profil 1 et 31 profil 2.

Conclusion : Le contrôle des résultats douteux sur un nouveau prélèvement montre un fort pourcentage de patients discordants (41 %) entre les règles d'interprétation du fabricant et celles définies au laboratoire. Cette étude justifie l'intérêt de cette zone d'incertitude autour du seuil, car les conséquences d'un résultat rendu faussement positif ou négatif sont importantes en termes de décision thérapeutique et de prise en charge du patient.

Décroissance de la méningite tuberculeuse à culture positive en France de 1990 à 2007.I.V. Bui¹, V. Meyssonier¹, D. Che², D. Antoine², V. Jarlier¹, J. Robert¹¹Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux (CNR-MyRMA), Paris ²Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France

Objectif : Mesurer l'évolution de l'incidence de la méningite tuberculeuse (MTB) en France entre 1990 et 2007 et évaluer la qualité de la surveillance de cette maladie grave.

Méthode : Analyse rétrospective par capture-recapture des cas 2007 de tuberculose (TB) neuro-méningée à culture positive (C+) en utilisant 2 sources de données sur la TB en France (déclaration obligatoire -DO - gérée par l'InVS et réseau des laboratoires du CNR-MyRMA) puis comparaison aux données antérieures.

Résultats : En 2007, 85 cas de MTB ont été déclarés à l'InVS, dont 25 identifiés C+ et 60 exclus (15 pour données DO indisponibles, 5 perte de dossier clinique, 10 sans MTB, 28 à culture négative du LCR, 2 MTB de 2006). Le réseau du CNR-MyRMA a enregistré 27 MTB C+ en 2007. Après croisement, 20 cas communs aux 2 réseaux ont été identifiés, 5 cas signalés à l'InVS mais pas au CNR et 7 cas du CNR non connu de l'InVS. Le nombre total de cas de MTB C+ identifiés en 2007 était donc de 32, soit un taux d'incidence de 0,5 / million d'habitants.

Après capture-recapture il a été calculé que 2 cas ont été non déclarés aux deux réseaux ($7 \times 5 / 20 = 1.8$ cas). Le nombre corrigé de MTB en France en 2007 est donc de 34. L'exhaustivité de la DO pour surveiller la MTB était de 74% [(5+20)/34], celle du CNR de 79% (27/34) et celle des 2 réseaux combinés de 94% (IC à 95% : 82%-99%).

Une étude similaire menée sur les cas de 2000 a permis d'évaluer le nombre de MTB à 41 et l'exhaustivité du CNR à 76%. Le nombre de MTB C+ enregistrées avant correction par le CNR était de 70 en 1990 et 48 en 1995. Si l'exhaustivité du CNR au cours de ces 2 premières enquêtes était identique à celle de 2007 ou 2000, le nombre corrigé de cas varierait de 89 à 92 en 1990 et de 61 à 63 en 1995. Comparé au nombre de cas de 2007, la baisse représente plus de 60% en 17 ans.

Conclusion : En France, l'incidence actuelle de la MTB C+ est faible et a diminué significativement depuis 1990. Cette évolution favorable observée avant la modification de la politique vaccinale par le BCG devra être surveillée de près dans les années à venir. Pour cela, il sera important d'améliorer la qualité des 2 systèmes de surveillance dont l'exhaustivité a peu évolué depuis 2000.

La méningite tuberculeuse à culture positive en France chez les enfants de moins de 5 ans entre 2000 et 2010.I.V. Bui¹, V. Meyssonier¹, D. Che², D. Antoine², V. Jarlier¹, J. Robert¹¹Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux (CNR-MyRMA), Paris ²Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France

Objectif : La méningite tuberculeuse (MTB) chez les enfants de moins de 5 ans est un indicateur d'évaluation de la politique vaccinale par le BCG. L'objectif du travail est d'en mesurer précisément le nombre.

Méthode : Analyse par capture-recapture des cas de MTB à culture positive en France entre 2000 et 2010 en utilisant les cas recensés par la déclaration obligatoire (DO) gérée par l'InVS et par le réseau des laboratoires du CNR-MyRMA.

Résultats : Au total, 24 cas de MTB ont été déclarés à l'InVS dont 15 ont été exclus (1 pour données indisponibles à la DO, 3 pour dossier clinique perdu, 3 pour erreur de déclaration et 8 cas à culture négative du LCR). Pendant la même période, le CNR-MyRMA a enregistré 14 cas, dont 4 ont été exclus (1 pour dossier perdu, 2 pour méningite chez l'adulte et 1 pour culture négative). Au total, 11 cas ont été confirmés, soit de 0 à 2 cas par an et une incidence annuelle variant de 0 à 0,32 cas / 10⁷ habitants.

Après croisement des 2 bases et des 11 cas confirmés, 8 cas communs ont été identifiés, 1 cas a été signalé uniquement à l'InVS et 2 cas ont été enregistrés uniquement au CNR-MyRMA. L'analyse par capture-recapture a permis de calculer que 0 ou 1 cas à culture positive est inconnu des 2 systèmes (InVS et CNR). Le nombre corrigé de cas pendant la période est donc de 11 ou 12 au total, soit une exhaustivité de la surveillance par l'InVS de 75 à 82% et du CNR de 83 à 91% selon le nombre total de cas considéré, l'exhaustivité des 2 systèmes combinés variant de 92 à 100%.

Parmi les 11 cas confirmés, 5 (45,5%) étaient nés à l'étranger, 4 (36,4%) étaient vaccinés par le BCG et un contact avec patient tuberculeux a été trouvé chez 9 cas (81,8%). La plupart des cas (63,6%) étaient guéris mais avec des séquelles neurologiques et 2 cas sont décédés.

Conclusion : En France, l'incidence de la MTB reste très faible et stable depuis 2000, malgré l'arrêt de la vaccination systématique en 2007 par le BCG. La MTB chez les enfants ≤ 5 ans reste une maladie grave malgré les traitements antibiotiques et n'est pas l'apanage exclusif de personnes nées à l'étranger.

Tuberculose ostéoarticulaire : revue de cas, 2000-2011.A. Guillouzoic², D. Boutoille³, P. Lanotte⁴, G. Héry-Arnaud¹, A. Reynaud², P. Bémer²¹Service de Bactériologie-Hygiène, CHU de Brest, Brest ²Service de Bactériologie-Hygiène, CHU Nantes ³Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU de Nantes, Nantes ⁴Service de Bactériologie-Hygiène, CHRU de Tours, Tours, France**Objet de l'étude :** La tuberculose ostéoarticulaire (TOA) est la troisième localisation de la tuberculose.

Cette forme grave nécessite un traitement prolongé afin de prévenir la survenue de récurrences. L'objectif de ce travail était d'évaluer les caractéristiques cliniques et para-cliniques de la TOA.

Méthodes : Trente-quatre patients pris en charge pour une TOA entre 2000 et 2011 ont été inclus.**Résultats :** Il s'agit de spondylodiscites (SD, n=16), d'ostéo-arthrites (OA, n=16), ou de formes associées (SD+OA, n=2). Les patients, originaires d'Afrique et d'Asie dans 60% des cas, étaient répartis en 19 hommes et 15 femmes d'un âge moyen de 49 ans (19-89). Un traitement immunosuppresseur était en cours lors du diagnostic dans 12% des cas. Une forme pulmonaire était associée dans 9 cas.

Parmi les SD, l'atteinte était thoracique (n=7), lombaire (n=6), cervicale (n=2) ou thoraco-lombaire (n=1). Parmi les OA, l'articulation était le coude (n=4), la hanche (n=3), le genou (n=2), l'épaule (n=2), ou autre (n=5). Le délai diagnostique était en moyenne de 6 mois. La douleur était la manifestation clinique la plus fréquente (90%). Des signes de compression médullaire révélaient la SD dans 30% des cas. La CRP moyenne était de 57 mg/L (<3-145). L'imagerie (scanner et/ou IRM) visualisait un abcès para-vertébral dans 9 cas, épidual dans 5 cas. L'étude anatomopathologique identifiait des granulomes et/ou une nécrose caséuse dans 65% des cas.

Les prélèvements tissulaires ou osseux étaient positifs à l'examen direct dans 41% des cas et en culture dans tous les cas en 14 jours en moyenne à *M. tuberculosis* (n=31), *M. bovis* (n=2), *M. africanum* (n=1). La sensibilité aux antituberculeux était conservée dans 31 cas. Une polychimiothérapie était utilisée avec 1 fluoroquinolone (n=17), 1 corticoïde (n=6) pour 1 durée moyenne de 14 mois, en association à une chirurgie (n=15). L'évolution était favorable à l'arrêt du traitement dans 26 cas et fatale dans 1 cas de compression médullaire; 7 patients étaient perdus de vue.**Conclusion :** Dans cette série, les localisations extravertébrales représentent la moitié des TOA. Le délai diagnostique reste trop long. L'analyse bactériologique est une étape indispensable au diagnostic. L'évolution est souvent favorable après un traitement prolongé.**Évaluation du milieu de transport Copan SL solution combiné avec le système automatisé Innova (BD) pour l'ensemencement et l'isolement de pathogènes des échantillons respiratoires.**A. Strens, A. Simon, H. Rodriguez-Villalobos
Service de Microbiologie, Cliniques Universitaires Saint-Luc (UCL), Bruxelles, Belgique**Objet de l'étude :** La robotisation en bactériologie rend possible l'inoculation automatisée des échantillons. Cependant, les échantillons respiratoires sont problématiques vu leur nature visqueuse ou muqueuse. L'étude vise à valider la performance du tube Copan SL (Copan, Italie) contenant un agent mucolytique, commercialisé récemment, combinée avec le système d'ensemencement Innova (Becton Dickinson) pour l'isolement d'organismes responsables d'infections broncho-pulmonaires.**Méthodes :** 120 échantillons cliniques (50 expectorations, 51 aspirations endotrachéales et 19 lavages broncho-alvéolaires) récoltés auprès de 105 patients (24 avec mucoviscidose) ont été ensemencés en parallèle par le système Innova et manuellement. Le volume d'échantillon inoculé est de 30 µl dans les deux méthodes. Différents milieux de culture ont été utilisés (MacConkey, Chocolat-Bacitracine, Sang et Sang sélectif, Sabouraud, OFPBL). Chaque résultat a été apprécié de manière semi-quantitative et catégorisé en: Culture négative, flore pharyngée et présence de pathogène potentiel. 4 souches de référence (*S. pneumoniae*, *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *H. influenzae*) ont été utilisées pour vérifier la survie des pathogènes respiratoires et les interférences éventuelles de la solution SL (Copan).**Résultats obtenus :** Sur un total de 120 échantillons testés par la méthode INNOVA, on retrouve 61 cas (51%) de pathogène potentiel (PP), 9 (8%) de culture négative (CN) et 50 (42%) de flore pharyngée (FP). Dans la technique manuelle, on retrouve 58 cas de PP, soit 48% des échantillons, 52 de FP (43%) et 10 de CN (8%). 3 cas (2 *E. coli*, 1 *P. mirabilis* et 1 *S. aureus* isolés d'une expectoration, d'une AET et d'un LBA) considérés PP par la méthode Innova n'ont pas été décelés dans la méthode manuelle (p=0,74). La qualité de l'isolement et la quantité des colonies isolées sont supérieures dans l'ensemencement automatisé vs manuel.**Conclusions :** Les résultats montrent que :

- L'utilisation de l'agent mucolytique Copan SL est efficace dans la liquéfaction des prélèvements respiratoires (y compris mucoviscidose);
- Il n'y a pas d'interférences de la solution SL dans l'isolement des organismes de référence testés. Ce nouveau procédé permet donc l'automatisation de l'ensemencement des échantillons respiratoires.

Screening des échantillons d'urines par le cytomètre de flux UF500i : peut-on se permettre de ne pas ensemençer ?A. Bousquet, F. Janvier, H. Delacour, S. Larréché, R. Abi, A. Mérens
HIA Bégin, Saint-Mandé, France**Contexte :** En France, selon la NABM, l'ECBU comporte deux étapes : examen direct et culture semi-quantitative. Dans certains pays, l'ensemencement n'est pas systématique et des équipes ont rapporté que l'utilisation d'automate de screening permettait de diminuer le nombre d'échantillons à ensemençer.**Objet de l'étude :** Déterminer s'il existe un seuil de détection bactérienne par l'UF500i au dessous duquel l'ensemencement n'est pas nécessaire.**Méthodes :** Inclusion sur 3 mois de tous les ECBU reçus au laboratoire. Analyse sur le cytomètre de flux (UF500i, Sysmex®). Comparaison des paramètres Bactériurie et Leucocyturie de l'UF-500i et des résultats de la culture semi-quantitative. Exclusion des candiduries. Un ECBU est considéré comme « positif » dans les cas suivants :- chez la femme, culture $\geq 10^5$ UFC/mL d'*E. coli* ou *S. saprophyticus* associée à une leucocyturie > 20 GB/mm³.- dans les autres cas, culture $\geq 10^4$ UFC/mL avec au maximum 2 espèces bactériennes, associée à une leucocyturie > 20 GB/mm³ ou sans leucocyturie (ECBU effectué précocement, patients neutropéniques, colonisation).

Etablissement des tableaux de concordance en fonction des seuils de Bactériurie choisis sur l'automate puis en intégrant le paramètre Leucocyturie.

Résultats : Sur 2296 ECBU étudiés, 557 ont été considérés positifs par le biologiste et 1739 négatifs.

Les pourcentages de sensibilité, spécificité, VPN et VPP pour chaque seuil de bactériurie sont :

- seuil à 25 B/µL : 91.4%, 65.8%, 96%, 46.1%

- seuil à 50 B/µL : 87.6%, 74.3%, 94.9%, 52.2%

- seuil à 100 B/µL : 83.8%, 81.9%, 94.1%, 59.8%.

En ajoutant le critère « Leucocyturie

Conclusions : Au regard des performances de l'automate, l'abaissement actuel des seuils décisionnels pour le diagnostic d'infection urinaire (jusqu'à 10^3 dans certains contextes) entraîne une diminution de la VPN du screening. Le gain en charge de travail est net mais le non ensemençement des urines avec une leucocyturie significative et une bactériurie inférieure aux seuils fixés conduit à 3.1 – 4% de faux négatifs.**Performance de la CMI à l'ertapénème sur les plaques Siemens MicroScan® Combo (NUC 57) comme alerte pour la suspicion de la production de carbapénémases chez *Klebsiella pneumoniae* BLSE et OXA 48 lors d'une épidémie.**A. Raoult², D. Sansot³, G. Imbert³, M.H. Roy¹, P. Rallo¹, P. Bru¹¹Centre Hélios Marin ²Hôpital Marie José Treffot, Hyères ³Laboratoire CHITS, Toulon, France**Objet de l'étude :** En juin 2012, deux souches de *Klebsiella pneumoniae* (KP) OXA 48 productrices de carbapénémases et BLSE sont isolées au laboratoire du CH Marie José Treffot à Hyères chez deux patients la même semaine. Le signalement de ces deux cas au CCLIN Sud-est a entraîné la réalisation d'une recherche de portage digestif de BMR chez les patients contacts.**Méthodes :** La recherche de BMR a été effectuée sur des prélèvements rectaux sur des milieux BLSE (AES). Pour chaque souche suspecte, une identification et un antibiogramme ont été réalisés sur la plaque MicroScan® NUC57. Toutes les souches présentant une diminution de la sensibilité à l'ertapénème (CMI>0.5) ont été considérées comme suspectes d'être porteuses de carbapénémases.

Les investigations suivantes ont été réalisées pour chaque souche :

- La recherche de la présence d'une BLSE sur Muller-Hinton (Biorad). Le contrôle des diamètres de l'ertapénème et l'imipénème a été réalisé sur la même boîte.
- La détermination des CMI de l'ertapénème et de l'imipénème (Etest® Biomérieux);
- Les tests combinés (Kit disques ROSCO) et le test à la cloxacilline;
- La confirmation de la production de carbapénémases et l'étude moléculaire des souches ont été transmises au CNR associé aux résistances aux antibiotiques Carbapénémases Entérobactéries (Pr Nordmann CHU Bicêtre).

Résultats : La recherche de portage a concerné 217 patients soit 497 prélèvements dont 176 prélèvements montraient la présence d'une BMR. La majorité des BMR isolées étaient des KP BLSE (139).Toutes les souches suspectées sur une CMI>0.5 à l'Ertapénème, déterminée sur la plaque MicroScan® NUC57, ont été confirmées *Klebsiella pneumoniae* BLSE OXA 48 par le CNR (2 patients initiaux et 13 patients contacts).**Conclusion :** Notre démarche nous a permis de discriminer correctement les souches de KP BLSE OXA 48. Les souches que nous avions trouvées non productrices chez deux patients porteurs de souches différentes ont été confirmées non productrices par le CNR.

En raison des conséquences thérapeutiques, économiques et en matière d'hygiène, la détection précoce de ces souches est indispensable. La plaque MicroScan® NUC57 nous a permis de suspecter ces souches dès la réalisation de l'antibiogramme.

389/78A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Risque de contaminations croisées et contrôles microscopiques : que peut-on espérer du Sysmex UF 1000i ?

T. Gueudet, V. Cocquerelle, C. Rieder, J.M. Rousée
LBM Schuh BIO67, Strasbourg, France

Objet de l'étude : Comparer les taux de messages d'alerte du Sysmex UF-1000i et de contrôle microscopique des sédiments urinaires après les mesures correctives recommandées par bioMérieux. Estimer le risque de contamination croisée.

Méthodes : En juillet 2008, le taux de messages d'alerte déclenché par l'UF-1000i était de 32%. Suite à cette constatation, 4 mesures correctives ont été simultanément appliquées : mise à jour logiciel de l'UF-1000i, modification des seuils, création d'un algorithme décisionnel et perfectionnement de l'interprétation des graphes. En cas d'alerte, les graphes étaient analysés. A l'aide de l'algorithme, les résultats étaient validés ou un test complémentaire (bandelette urinaire ou examen microscopique) était réalisé. En septembre 2011, les alertes et leurs conséquences sur le flux de travail ont été analysées. En complément, une estimation de la contamination croisée a été réalisée. 25 échantillons urinaires et 15 suspensions de différentes espèces bactériennes contenant tous plus de 10⁵ UFC/ml ont été intercalés avec des tubes d'eau distillée. Ces tubes ont ensuite été ensemencés sur gélose au sang et incubés à 35°C pendant 18 heures.

Résultats obtenus : En septembre 2011, 5554 échantillons urinaires ont été analysés (patients hospitalisés 35% - ambulants 65%). Le Sysmex a déclenché 830 alertes (15% des urines) qui concernaient par fréquence décroissante : érythrocytes, levures, cristaux, cylindres et cellules rondes rénales. Si l'identification des cylindres, levures et cristaux nécessitait toujours une confirmation microscopique, les érythrocytes et les leucocytes pouvaient souvent être vérifiés uniquement par bandelette. Certains résultats pouvaient être directement validés en analysant les graphes. Les tests de contamination croisée ont montré la croissance d'au plus 5 UFC par gélose.

Conclusion : Les mesures correctives ont diminué le taux de messages d'alerte de 32 à 15%. De plus, toutes les alertes ne nécessitent plus systématiquement un contrôle microscopique. Les résultats des tests de contamination croisée démontrent l'efficacité des rinçages de l'UF-1000i après le passage d'échantillons contenant plus de 10⁶ UFC/ml et autorisent l'ensemencement après numération sur le Sysmex d'un même échantillon urinaire.

390/78A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation de l'automate de cytologie urinaire URISED.

E. Chanard, B. Mallet
Laboratoire du Parc, Lyon, France

Objet de l'étude : Dans le cadre d'un choix d'automate de cytologie urinaire du groupe NOVESCIA, notre laboratoire a évalué les performances analytiques de l'automate Urised (i2a, Montpellier) et les a comparées aux résultats de la microscopie manuelle en cellule de Kova.

L'Urised est un analyseur de sédiments urinaires, il détecte et identifie les particules présentes dans l'urine. Il traite l'échantillon de façon similaire à la méthode manuelle: Il effectue l'homogénéisation de l'urine puis injecte 200 µl dans une cuvette à usage unique; la cuvette est centrifugée dix secondes afin d'accélérer la sédimentation, puis positionnée sous un microscope qui prend quinze champs. Les images collectées sont digitalisées par une caméra haute définition, les particules sont alors reconnues et comptées en fonction de leur taille et forme, à l'aide d'un algorithme évolué de traitement d'images.

Méthodes : Une comparaison des deux méthodes a été réalisée sur un panel de 203 urines dont 94 (46%) étaient positives et 109 (54%) négatives. Le seuil de positivité de l'urine a été défini pour une numération de leucocytes supérieure ou égale à 10.000/ml.

Les paramètres étudiés ont été: les leucocytes, les hématies, les bactéries, les cristaux et les cellules épithéliales.

La sensibilité et la spécificité ont été étudiées pour les leucocytes et les hématies (seuil de positivité établi à 10000/ml pour chacun des paramètres), ainsi que la corrélation pour l'ensemble des paramètres.

Dans le cas d'une discordance automate/méthode manuelle, une vérification a été réalisée.

Les levures n'ont pas été comptées en méthode manuelle; les cylindres n'étaient pas significatifs (pas de prélèvement positif); l'évaluation n'a donc pas été réalisée pour ces deux analystes.

Nous avons également évalué la contamination croisée de l'automate suivant la norme 15189/ LAB GT 04 COFRAC.

Résultats obtenus : Après vérification des discordances, les performances observées de l'automate en comparaison avec la technique manuelle sont :

- leucocytes : 94,79% de sensibilité, 99,07% de spécificité, un coefficient de corrélation de 0,9077. Sur les 19 cas initiaux de discordance, Urised avait raison dans 14 cas (74%), la mesure manuelle dans 5 cas (26%);

- hématies : 87,72% de sensibilité, 98,63% de spécificité, un coefficient de corrélation de 0,8615. Sur les 17 cas initiaux de discordance, Urised avait raison dans 13 cas (76%), la mesure manuelle dans 4 cas (24%);

- cellules épithéliales: la corrélation s'élève à 98,52%; sur les 38 échantillons qui contenaient des cellules épithéliales (19% des échantillons), Urised en a détecté 37 (97,3%); 165 échantillons ne contenaient pas de cellules épithéliales (81%), Urised a répondu correctement dans 163 cas (98,8%). Sur les 28 cas initiaux de discordance, Urised avait raison 26 fois (93%) et la mesure manuelle 2 fois (7%);

- cristaux : la corrélation s'établit à 99,5%; 15 échantillons contenaient des cristaux (7,3% des échantillons), Urised en a détecté 14 (93,3%) ; 188 échantillons ne contenaient pas de cristaux (92,6%), Urised a répondu correctement dans tous les cas. Sur les 11 cas initiaux de discordance, Urised avait raison 8 fois (73%) et la mesure manuelle 3 fois (27%);

- pour les bactéries, les résultats de l'automate ont été comparés aux résultats de l'examen direct, avec une corrélation de 76%, et aux résultats de la culture avec une corrélation de 72%.

Contamination bactérienne: Un test de contamination bactérienne a été réalisé avec les trois souches E. coli, S; aureus, P. mirabilis, dans les trois cas aucune contamination n'a été observé en tenant compte des critères du LAB GT 04

Conclusion : L'automate Urised présente de très bonnes performances dans la numération et la reconnaissance des sédiments urinaires par rapport à la microscopie manuelle. L'absence de contamination croisée permet au laboratoire de réaliser l'ensemencement des échantillons après passage dans l'automate et donc de choisir les milieux les mieux adaptés pour les cultures.

391/78A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Validation de la mise en culture des expectorations sur le WASP® dans un laboratoire de microbiologie accrédité ISO 15189.

D. Fage, S. Lali, B. Marchetti, D. Govaerts
Microbiologie, CHU de Charleroi, Montigny Le Tilleuil, Belgique

Objet de l'étude : L'automatisation de l'ensemencement en microbiologie offre entre autres: traçabilité, reproductibilité et standardisation. Ces avantages sont un atout indéniable pour un laboratoire accrédité ISO 15189. Le but de ce travail est de valider l'ensemencement automatique des expectorations par le WASP® (Copan) grâce à l'emploi des tubes Copan SLsolution contenant une solution de dithiothréitol (DTT) permettant leurs liquéfactions.

Méthodes : Cette validation a été réalisée en trois temps :

- Évaluer la viabilité des germes dans les tubes SLsolution en ensemençant à différents temps :15, 60, 120, 180 et 360min (pas de différence significative si décroissance au cours du temps inférieure à 2 unités semi-quantitatives)
- Évaluer la capacité du WASP® à prélever les échantillons à différents temps d'incubation
- Comparer la qualité de l'ensemencement manuel à partir de l'expectoration à celui réalisé par le WASP® à partir du tube de SLsolution sur les différents milieux de culture requis (TSA, ANC, HAEM et Sabouraud si demandé)

Résultats obtenus : La viabilité des germes dans la SLsolution a été évalué sur 14 échantillons cliniques et 6 souches ATCC (*S. pneumoniae*; *H. influenzae*; *P. aeruginosa*; *E.coli*; *S. aureus*; *C. albicans*). Nous n'avons pas observé de décroissance significative pour ces 20 échantillons examinés.

La capacité de prélèvement du Wasp® a été évaluée à partir des expectorations préparées dans la SLsolution (n=10) à différents temps d'incubation (intervalle de 15 à 360min). L'automate a réussi à prélever et à ensemencher 100% des échantillons.

La comparaison des résultats de culture a porté sur 59 échantillons cliniques. Aucune différence cliniquement significative n'a été observée. Cependant, sur les 196 boîtes ensemençées, l'isolement obtenu par le WASP® est meilleur dans 42% des boîtes par rapport à 18% de supériorité pour la technique manuelle.

Conclusion : Les objectifs préalablement fixés étant atteints, ce protocole a été implémenté en routine.

Le lancement des prélèvements respiratoires sur le WASP® via les tubes Copan SLsolution a permis d'améliorer le workflow du laboratoire, de rendre les ensemençements davantage reproductibles et représentatifs de l'échantillon clinique et donc *in fine* d'améliorer la fiabilité du diagnostic.

392/78A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Prévalence des non conformités des hémocultures : impact des procédures de communication.

P. Guiet, C. Hervé, M.E. Diop, A. Delbreuve, M. Ruellé, J. Raynal, M. Chevrier, V. Gervaise
CH Sens, Sens, France

Objet de l'étude : Démontrer que l'amélioration des bonnes pratiques au travers d'un indicateur qualité tel que le bon remplissage des flacons d'hémoculture est intimement liée à la stratégie de communication employée.

Méthodes : Nous avons mesuré le volume de sang introduit par flacon d'hémoculture adulte lors de 6 campagnes de 2 semaines entre octobre 2007 et mai 2011. Les non conformités ont été définies selon les recommandations de la société Biomérieux (15 ml de sang).

La méthodologie a été affinée au cours des études. Les premières ont porté sur des flacons négatifs déchargés de l'automate d'hémoculture Bactalert avec mesure visuelle du volume sanguin à l'aide des graduations de leurs étiquettes. Puis, nous avons pesé les flacons ce qui nous a permis de définir des non conformités plus précises, particulièrement pour des volumes sanguins très faibles (moins de 2.5 ml de sang et même moins de 1 ml). Enfin, la dernière enquête a été réalisée par pesée des flacons avant leur chargement dans l'automate.

La communication des résultats a été lors de ces enquêtes à la fois variable et variée. Les résultats n'ont pas été communiqués systématiquement après chacune d'entre elles, ni obligatoirement dans un cadre institutionnel. De plus, les professionnels de santé ont été prévenus de l'imminence d'une enquête (dans les 3 mois) seulement deux fois sur six.

Résultats : Lors de nos 6 enquêtes, les résultats des non conformités globales pour l'hôpital ont considérablement varié.

La première enquête d'octobre 2007 a culminé à un taux de 49.5% de non conformités. En mars 2008, nous étions descendu à 27.2%. Puis nous sommes repartis à la hausse (37% en décembre 2008 et 44% en avril 2009). En août 2010, nous avons diminué notre taux à 38.5% et en mai 2011, nous avons retrouvé le niveau de mars 2008 avec un résultat de 27.8%.

A partir d'avril 2009, nous avons affiné nos mesures et défini des non conformités pour des volumes de sang plus faibles. En avril 2009, nous avons obtenu 16.8% de flacons contenant moins de 2.5 ml de sang et 4.3% contenant moins de 1 ml. En avril 2010, les taux ont baissé avec 6.8% pour moins de 2.5 ml de sang et 2.1% pour moins de 1 ml. Cette diminution a été confirmée par l'enquête de mai 2011 avec des taux respectifs de 3.7% pour les moins de 2.5 ml de sang et 0.9% pour les moins de 1 ml.

La communication des résultats a été systématique après chaque enquête sauf celle de décembre 2008, mais elle a été effectuée à chaque fois de manière différente : restitution dans les services pour octobre 2007, protocole qualité ou article dans le journal de la qualité de l'hôpital pour octobre 2007 et mars 2008, poster à la RICAI pour mars 2008, présentation dans les institutions (commission de soins, CLIN, CME) pour mars 2008 et mai 2011, courriel de restitution et d'alerte adressé à l'ensemble des cadres et des praticiens de l'hôpital pour avril 2009 et août 2010.

Les services hospitaliers ont été prévenus de l'imminence d'une enquête seulement avant celles de mars 2008 et mai 2011. De plus, pour celle de 2011, nous avons informé les médecins que chaque non conformité considérée comme à risque pour le patient (volume de sang inférieur à 2.5 ml) leur serait signalée en temps réel et tracée dans le compte-rendu de résultat.

Conclusion : La stratégie de communication est totalement corrélée à l'amélioration des bonnes pratiques mesurées par un indicateur qualité tel que le remplissage des flacons d'hémoculture.

La variabilité des modes de communication employés au cours de ces études a clairement mise en évidence :

- il est catastrophique de ne pas communiquer sur l'imminence d'une enquête et sur les résultats de cette dernière : l'absence de communication de décembre 2008 à avril 2009 a anéanti les bons résultats obtenus en mars 2008 avec une remontée de 27.2% à 44% des non conformités globales en avril 2009.
- il est primordial de susciter l'intérêt des praticiens : après l'enquête 2009, nous avons alerté les médecins du risque réel de ne pas diagnostiquer une bactériémie pour des volumes de sang très faibles de moins de 2.5 ml par flacon, avec comme résultat une diminution de 16.8% à 6.8% entre avril 2009 août 2010.
- il est indéniablement très efficace de réaliser une enquête prospective avec un objectif ciblé (prévenir le prescripteur en temps réel de toute non conformité considérée à risque pour le patient soit moins de 2.5 ml de sang par flacon) même si elle nécessite au laboratoire une organisation plus complexe et plus coûteuse en temps: en mai 2011, nous avons obtenu 27.8% de non conformités globales et surtout 3.7% de flacons avec moins de 2.5 ml de sang dont seulement 0.9% avec moins de 1 ml.

393/78A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Étude médico-économique pour la mise en place d'une plateforme de diagnostic moléculaire d'urgence des maladies infectieuses au CHU de Grenoble.

V. Suter², C. Recule², C. Morel-Baccard³, M.R. Mallaret⁵, P. Pavese⁴, J.P. Brion⁴, J. Fauconnier¹, I. Pelloux², J. Croizé², C. Casado⁶, M. Maurin²
¹Département de l'Information Médicale (DIM) ²Laboratoire de Bactériologie ³Laboratoire de Virologie ⁴Service de Médecine Infectieuse ⁵Unité d'Hygiène Hospitalière et Gestion des Risques (UMAGRIS), CHU de Grenoble, Grenoble ⁶Cepheid, Toulouse, France

La précocité du diagnostic des maladies infectieuses et la rapidité du dépistage du portage de certains agents pathogènes sont des éléments cruciaux pour une prise en charge optimale des patients infectés et de leur entourage. Les techniques de biologie moléculaire s'adaptent bien à ces exigences car elles permettent un diagnostic/dépistage en quelques heures là où les techniques traditionnelles (culture et sérologie) nécessitaient quelques jours à quelques semaines. Le GeneXpert (Cepheid) est un automate de PCR multiplexe en temps réel, permettant une détection aisée, rapide et au coup par coup de pathogènes ciblés. Notre étude décrit une évaluation médico-économique de l'utilisation en routine de cette technique au CHU de Grenoble pour les cinq pathogènes suivants : *M. tuberculosis*, *C. difficile*, *S. agalactiae*, *Enterococcus* de type VRE, Entérovirus. Ces tests ont été choisis après étude bibliographique, épidémiologique locale, et en concertation avec les médecins

de différentes disciplines.

L'intérêt médical de ces tests diagnostiques rapides est évident et concerne la précocité du diagnostic et du traitement curatif adapté, le dépistage rapide de résistances aux antibiotiques (1 cas de *M. tuberculosis* MDR), le dépistage rapide d'un portage permettant un isolement des patients infectieux plus rapide et mieux ciblé (isolement évité pour 33 patients-*C. difficile*), l'optimisation des traitements prophylactiques. Cette étude montre un surcoût important des analyses mises en place par rapport aux techniques utilisées précédemment. Cependant, ce dernier est globalement compensé par une meilleure gestion des hospitalisations et des isolements des patients infectieux, et un gain en facturation T2A. D'autre part, la possibilité de rendre un résultat en urgence a permis une diminution significative de certaines prescriptions (dépistage de *C. difficile*-30%), auparavant réalisées de façon plus systématique.

Notre expérience montre donc un impact favorable médical, financier et organisationnel de la mise en place de ces techniques de diagnostic rapide au CHU de Grenoble. Cette nouvelle stratégie facilite la mise en œuvre des recommandations actuelles concernant la maîtrise de la diffusion des maladies infectieuses et des pathogènes multi-résistants aux anti-infectieux.

394/78A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation de la technique rep-PCR semi-automatisée Diversilab pour le typage de souches de *Pseudomonas aeruginosa* responsables de pneumonie acquise sous ventilation mécanique en réanimation.

M. Micaelo¹, A. Aubry¹, C.E. Luyt³, Q. Lu², J. Chastre³, J.L. Trouillet³, A. Combes³, J.J. Rouby², V. Jarlier¹, F. Brossier¹

¹Laboratoire de Bactériologie-Hygiène ²Service d'anesthésie-réanimation ³Service de réanimation médicale, Groupe Hospitalier Universitaire Pitié-Salpêtrière-Charles-Foix, Paris, France

Objectif : La rep-PCR est une méthode rapide mais peu reproductible d'épidémiologie moléculaire bactérienne. Pour pallier ce manque de reproductibilité, un système de rep-PCR semi-automatisé, le Diversilab (DL) (bioMérieux), a été développé. L'objectif de notre étude était d'évaluer la rep-PCR DL pour le typage de souches de *Pseudomonas aeruginosa* responsables de pneumonie acquise sous ventilation mécanique (PAVM).

Méthodes : Une étude prospective multicentrique de patients avec PAVM à *P. aeruginosa* a été réalisée dans 3 unités de réanimation sur une durée de 31 mois. Toutes les souches de *P. aeruginosa* (n=203, soit 66 patients) isolées des patients ayant au moins 2 prélèvements respiratoires consécutifs distants de 72h ont été typées par rep-PCR DL, et 40 de ces souches correspondant à 20 patients ont également été typées par la méthode de référence, à savoir l'électrophorèse en champ pulsé (ECP-Spel).

Résultats : 185/203 souches (63 patients) ont montré des profils DL avec >95% d'index de similarité avec une autre souche. Les souches d'un même patient avec des profils indistinguables en ECP ont été classées dans le même cluster par la méthode DL (>95% d'index de similarité) (16 patients), excepté pour un patient. Les souches pour un patient qui étaient différentes en ECP étaient aussi différentes en DL. Trois clusters de 11 souches (6 patients) ont montré des profils rep-PCR >95% et des profils ECP reliés. Onze souches de *P. aeruginosa* (6 patients) assignées à un seul cluster en DL ont montré 6 profils différents en ECP-Spel. Deux souches de *P. aeruginosa* non typables en ECP du même patient ont pu être typées en DL.

Conclusions : L'ECP-Spel a un meilleur pouvoir discriminant que la rep-PCR DL pour le typage de nos souches de *P. aeruginosa*, mais des souches de *P. aeruginosa* non typables en ECP ont pu être typées en DL. Cependant, les performances du système de rep-PCR DL en font un outil de typage fiable pour l'investigation de première étape d'épidémies dues à *P. aeruginosa*.

395/79A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Détection de toxigène *Clostridium difficile* : comparaison of C. DIFF QUIK CHEK COMPLETE (Techlab) and Xpert C. difficile on GeneXpert Dx System (Cepheid).

M. Biendo, H. Mammeri, E. Pluquet, H. Guillon, M. Belmekki, B. Canarelli, F. Rousseau, F. Eb
Bactériologie, CHU d'Amiens, Amiens, France

A total of 111 stool samples from symptomatic patients were tested by a glutamate dehydrogenase (GDH) assay, a toxin A/B enzyme immunoassay (EIA) [DIFF QUIK CHEK COMPLETE] and the Xpert C. difficile assay. The results of these methods used individually were the following: 72 (64.8%) samples were positive for EIA toxin B, 111 (100%) samples were positive for toxin B gene, 18 (16.2%) were positive for binary toxin gene, and 2 (1.8%) samples were positive for presumptive toxigenic *C. difficile* 027. Combining the EIA toxin B and Xpert C. difficile assays, the following results were obtained: 51.3% (57/111) of samples were positive for EIA toxin B and toxin B gene; 34.3% (38/111) of samples were positive for toxin B gene; 11.7% (13/111) of samples were positive for EIA toxin B, toxin B gene and binary toxin gene; 0.9% (1/111) of sample was positive for EIA toxin B, toxin B gene, binary toxin gene and presumptive 027 strain; 0.9% (1/111) was positive for EIA toxin B, toxin B gene, binary toxin gene and presumptive 027 strain, and 0.9 (1/111) was positive for toxin B gene and binary toxin gene. All these stool samples were positive for GDH antigen and for *C. difficile* culture.

The use of Xpert C. difficile PCR allows us to provide accurate and rapid mostly same day results to the clinicians. The Xpert C. difficile contributes to the best diagnostic of CDI without recourse to coloscopy.

Détection du *Clostridium difficile* toxigène : rapidité et efficacité, 2 termes compatibles en 2012.

C. Rolin, C. de Leeuw, P. Vanckerhoven, A. Grimmelprez, P. Schatt
 Laboratoire de microbiologie, Clinique Notre-Dame de Grâce, Gosselies, Belgique

Objet de l'étude : Comparaison de milieux de culture et de tests permettant la détection de la Glutamate Déshydrogénase (GDH) et des toxines A et B du *Clostridium difficile* (CD).

Méthode : 193 selles ont été testées provenant de 154 patients (hospitalisés et externes). Tous les échantillons ont été ensemencés sur les milieux CLO (Biomérieux) et chromogène CDIF (Biomérieux), incubés en anaérobiose et lus à 24h (CDIF) et 48h (CDIF et CLO).

La GDH et les toxines ont ensuite été recherchées sur les selles. Le test Techlab (Alere), détectant GDH et toxines, a été réalisé sur les 193 selles, alors que la recherche de toxines par Vidas (Biomérieux) a été sur les selles en quantité suffisante (166/193). La recherche de GDH par Immunocard (Meridian) a été réalisée sur toutes les selles et en cas de positivité de celle-ci, le test d'amplification d'ADN Illumigene (Meridian) a été effectué.

Résultats : La sensibilité et la spécificité obtenues sont respectivement de 48% et 99%, pour les milieux CLO à 48h et CDIF à 24h et de 57% et 99% pour le milieu et CDIF à 48h d'incubation.

La détection de GDH par Techlab présente une sensibilité de 76% et une spécificité de 100%. Le test Immunocard ayant une sensibilité et une spécificité de 100%.

La technique Vidas donne 11 toxines positives, 123 négatives et 32 équivoques. Si les équivoques sont classées parmi les résultats négatifs, la sensibilité du test est de 36% et la spécificité de 95%. Si ces résultats sont considérés comme positifs, la sensibilité augmente à 56% pour une spécificité de 76%.

Les selles discordantes entre Techlab et Illumigene (9 dont 2 pour lesquelles la PCR fut non valide) ont été confirmées porteuses de CD toxigène par le Centre de Référence du CD de l'UCL (Bruxelles). Techlab obtient donc une sensibilité de 27% et une spécificité de 100%. Si les résultats non valides ne sont pas pris en considération, Illumigene obtient une sensibilité et une spécificité de 100%. Si on considère ces 2 échantillons négatifs, la sensibilité est de 87% pour une spécificité de 100%.

Conclusion : La technique Meridian (GDH par Immunocard et toxines par Illumigene) présente une meilleure sensibilité et spécificité que les autres techniques testées, permettant ainsi une détection plus rapide des patients porteurs de CD toxigène.

Sensibilité du codage CIM-10 pour le diagnostic des infections à *Clostridium difficile* : une étude multicentrique.

F. Barbut⁷, B. Coignard⁹, L. Cavalli¹⁰, D. Petiot¹⁰, L. Landraud⁵, Y. Gendreike⁵, F. Girard-Pipau⁵, H. Jean Pierre³, M. Lehmann³, A. le Monnier¹¹, B. Jourdan¹¹, G. Birgand⁶, J.C. Buzzi⁶, L. Souply¹, G. Frey¹, N. Khanafar², A. Bestion², F. Mory⁴, H. Tronel⁴, L. Lemée⁸, L. Froment⁸, C. Eckert⁷, H. Marchandini³
¹Hôpitaux Civils de Colmar, Colmar ²CHU Edouard Herriot, Lyon ³CHU Montpellier, Montpellier ⁴CHU Nancy, Nancy ⁵CHU Nice, Nice ⁶CHU Bichat-Claude Bernard ⁷PH, Hôpital Saint-Antoine, Paris ⁸CHU Rouen, Rouen ⁹Institut de Veille Sanitaire, Saint-Maurice ¹⁰CHU Toulouse, Toulouse ¹¹CHG Versailles, Versailles, France

Contexte : Le codage des ICD par la Classification Internationale des Maladies (CIM-10) est une méthode de surveillance intéressante pour suivre les tendances évolutives des infections à *Clostridium difficile* (ICD). Une étude rétrospective monocentrique a précédemment montré que la sensibilité du codage s'améliorait avec le temps, passant de 26% (2000-2005) à 39% (2006-2010) (Jones *et al.*, EID, 2012).

Objectifs : Évaluer et comparer dans plusieurs centres la sensibilité de la surveillance des ICD basée sur le codage par la CIM-10 par rapport à une surveillance réalisée à partir des données du laboratoire.

Méthodes : 10 centres hospitaliers (8 CHU et 2 CHG) ont participé à cette étude rétrospective (année 2010). Chaque centre a fourni ses données générales d'activité (nombre de journées d'hospitalisations (JH) et d'admissions, nombre de recherches de *C. difficile*), sa stratégie diagnostique des ICD utilisée au laboratoire, le nombre de séjours (hospitalisations complètes) mentionnant une ICD (code A04.7) en diagnostic principal ou associé (données issues des DIM) et le nombre d'ICD diagnostiquée au laboratoire. Les compte-rendus d'hospitalisation (CRH) des patients pour lesquels le codage et les résultats microbiologiques étaient discordants (CIM10+/Bact- ou CIM10-/Bact+) ont été relus pour étudier les discordances.

Résultats : Selon les données microbiologiques, l'incidence des ICD variait de 1,78 à 7,68 cas pour 10000 JH (médiane 4,55, IQR=2,98-6,24). La médiane de sensibilité du codage par le PMSI était 54,05 % (IQR: 43,6%-66,7%). La densité de prescription variait de 4,5 à 10,8 recherches de *C. difficile* pour 10000 JH et était corrélée à l'incidence ($R^2=0.75$). La fréquence avec laquelle l'ICD était mentionnée dans le CRH des cas Bact+/CIM- variait de 32% à 65% (défaut de codage). Sur les 106 dossiers CIM10+/Bact-, le codage était majoritairement lié à une erreur d'interprétation des résultats (souche non toxigène).

Conclusion : La sensibilité du codage des ICD est inférieure à celle retrouvée dans les études nord-américaines (71% à 78%). L'extrapolation de ces résultats aux 8033 séjours codés A04.7 dans la base de données nationale PMSI 2010 permet d'estimer à environ 14560 le nombre total de cas d'ICD hospitalisés en France.

Evaluation of a new glutamate dehydrogenase detection system and its implementation in a two-step algorithm for the diagnosis of *Clostridium difficile* infections.

J. Van Broeck, E.R. Icyeza, E. Ngyuvula Mantu, M. Delmée
 Microbiologie, Cliniques Universitaires Saint-Luc / UCL, Bruxelles, Belgique

Objective: *Clostridium difficile* associated diarrhea is a global health problem and new virulent strains are emerging. Toxigenic culture (TC) is well established as a gold standard for diagnosis but is very slow as compared with toxin immuno- or molecular- assays. Glutamate dehydrogenase (GDH) assays are rapid, highly sensitive but not specific. Due to their high negative predictive value (NPV), they have been proposed as a screening test in two-step algorithms. Here we evaluated a new GDH kit Immunocard C. Difficile GDH (IC GDH) from Meridian (Cincinnati, OH, USA). It is a rapid, qualitative, horizontal-flow immunoassay for detecting GDH in human stool.

Methods: The new GDH kit was evaluated with TC as gold standard. It was compared to the GDH assay component of the Quik Chek Complete (QC) from Techlab (Blacksburg, VA, USA) in a two-step algorithm as follows: all stools were screened by both GDH. All positive were tested by *illumigene* (Igene) from Meridian which is a loop-mediated isothermal amplification technique (LAMP) targeting the toxin A gene. Stools positive for both GDH and *illumigene* were diagnosed as CDI. Stools negative for GDH or positive for GDH and negative for *illumigene* were considered as negative if culture stayed negative.

Results: From Nov 2011 to Dec 2011, 385 routine diarrheal stool samples from our University Hospital St Luc, were tested. Culture was positive in 49 cases and toxigenic culture was positive in 32 cases (prevalence: 8.3%).

When evaluated against culture, sensitivity, specificity, positive predictive values (PPV) and NPV of Immunocard C. Difficile GDH and Quik Chek were respectively 95.9, 95.2, 74.6, 99.4% and 98, 97, 84.2, 99.7%.

When evaluated against TC in the two-step algorithm the results were as follows:

| N = 385 | TC + | TC - | N = 385 | TC + | TC - |
|--------------------|------|------|----------------|------|------|
| IC GDH + / Igene + | 28 | 1 | QC + / Igene + | 29 | 1 |
| IC GDH + / Igene - | 3 | 28 | QC + / Igene - | 3 | 24 |
| IC GDH - | 1 | 324 | QC - | 0 | 328 |

Values of sensitivity, specificity, PPV and NPV were respectively 87.5, 99.7, 96.6, 98.9% and 90.6, 99.7, 96.7, 99.2%.

Conclusion: The new Immunocard C. Difficile GDH assay is an excellent new test for the detection of *C. difficile* in stool samples. The use of the *illumigene* test on GDH positive samples allows a very sensitive detection of toxigenic strains in the stool within a few hours.

Évaluation des performances du Vidas® C. difficile GDH et du C. diff Quik Chek Complete® en comparaison avec la culture de *Clostridium difficile*.

C. Eckert¹⁻³, O. Said², N. Pocard², C. Rambaud¹⁻³, B. Burghoffer¹⁻³, V. Lalande²⁻³, F. Barbut¹⁻³

¹Laboratoire associé « *Clostridium difficile* », Hôpital Saint-Antoine, AP-HP ²Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Saint-Antoine, AP-HP ³UPMC Université Paris 06, GRC n°2, Epidiff, Paris, France

Objectif : L'utilisation d'algorithmes en 2 ou 3 étapes, basés sur la détection de la glutamate dehydrogénase (GDH) en première intention, est maintenant préconisée par les recommandations américaines et européennes pour le diagnostic d'infection à *Clostridium difficile* (ICD). La GDH est une enzyme produite par les souches de *C. difficile*. La détection de cette enzyme dans les selles permet de renseigner sur la présence de la bactérie. L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances du Vidas® C. difficile GDH (bioMérieux) et de la composante GDH du test C. diff Quik Chek Complete® (Alère) en comparaison avec la culture sur milieu sélectif.

Méthodes : L'étude a porté sur 408 selles diarrhéiques de patients suspects d'ICD hospitalisés dans les hôpitaux universitaires de l'est parisien. La culture a été réalisée par ensemencement des selles fraîches sur milieu TCCA (taurocholate, cyclosérine, céfoxitine). En parallèle, les tests Vidas® C. difficile GDH et C. diff Quik Chek Complete® étaient réalisés selon les recommandations des fabricants. Pour ce dernier, un deuxième test était réalisé en cas de résultat invalide ou équivoque.

Résultats : La prévalence des cultures positives pour *C. difficile* sur TCCA était de 13% (77,4% des souches étaient toxigènes et 22,6% non toxigènes). Comparées à la culture, la sensibilité, la spécificité, les valeurs prédictives positives et prédictives négatives du Vidas® C. difficile GDH et de la composante GDH du test C. diff Quik Chek Complete® étaient respectivement de 96,2%, 97,7%, 86,4% et 99,4% et de 92,5%, 98,9%, 92,5% et 98,9%. Cinq résultats (1,2%) étaient invalides ou équivoques en première détermination pour le test C. diff Quik Chek Complete®.

Conclusion : Le test Vidas® C. difficile GDH et la composante GDH du test C.

diff Quik Chek Complete® présentent une excellente valeur prédictive négative et peuvent être utilisés comme test de screening des ICD. De plus, le test Vidas® C. difficile GDH présente l'avantage d'être automatisé, éliminant toute ambiguïté de lecture et d'interprétation des résultats et permettant la traçabilité des résultats.

400/79A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Nouvelles méthodes et algorithme diagnostiques des infections à *Clostridium difficile* : recherche d'antigène, détection des toxines par PCR et culture.

C. Rousseau^{1,2}, M. Salmona¹, T. Chelala¹, P. Cruaud¹, I. Poilane¹, A. Collignon^{1,2}

¹Microbiologie, Hôpital Jean-Verdier AP-HP, Bondy ²EA4043 Faculté de Pharmacie Université Paris Sud 11, Châtenay-Malabry, France

Introduction : *Clostridium difficile* est le principal agent des diarrhées bactériennes nosocomiales et post-antibiotiques. L'émergence et la dispersion de souches hypervirulentes imposent aux laboratoires de microbiologie un diagnostic rapide des infections à *C. difficile* (ICD). Afin de mettre en place un algorithme diagnostique performant des ICD, nous avons testé plusieurs techniques actuellement disponibles.

Méthodes : 107 selles de patients symptomatiques hospitalisés au CHU Jean-Verdier ont été testées de façon prospective pour la détection immunoenzymatique de la GDH (Wampole® C.DIFF QUIK CHEK®) et la détection des gènes codant les toxines par PCR en temps réel (Cepheid Xpert® *C. difficile*). De plus, les performances du milieu de culture CLO (bioMérieux®) et du milieu chromogène ChromID *C. difficile* (bioMérieux®) ont été comparées sur 20 selles positives pour les tests GDH et/ou Xpert *C. difficile*.

Résultats : Sur les 107 selles testées, 26 étaient positives pour le test Xpert *C. difficile*. Le test GDH était toujours positif lorsque le test Xpert *C. difficile* était positif. Dans 8 cas, le test GDH était positif et le test Xpert *C. difficile* a permis d'écarter une ICD. Ainsi dans notre étude, 81 (75,7%) diagnostics d'ICD se sont avérés négatifs, dont 73 (68,2%) présentaient un test GDH négatif. La positivité du test GDH a été contrôlée sur les souches toxigènes les plus fréquemment isolées en France (PCR-ribotypes 014/020/077, 001, 078 et 027). La détection de *C. difficile* par culture a conduit à des résultats identiques avec les milieux CLO et ChromID *C. difficile* malgré la présence de taurocholate dans ce dernier.

Conclusions : Ce travail confirme l'excellente sensibilité du test GDH pour la détection de *C. difficile*. L'utilisation d'un algorithme faisant intervenir la détection de la GDH afin de cibler les selles pour lesquelles un test Xpert *C. difficile* devrait être réalisé (GDH+) permettrait de réduire le coût du diagnostic des ICD, tout en conservant une excellente sensibilité et spécificité pour des résultats rendus dans les meilleurs délais.

401/79A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Première évaluation prospective du milieu chromogénique ChromID® *Clostridium difficile* (BioMérieux) pour l'isolement et l'identification des *C. difficile*.

C. Pralong², B. Falquet¹, P.H. Boyer¹, C. Sobas², M. Reverdy¹, S. Tigaud², F. Vandenesch^{1,3,4}, A.M. Freyriere¹, O. Dauwalder^{1,3,4}, F. Laurent^{2,4}

¹Laboratoire de Bactériologie, Hospices Civils de Lyon - Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron ²Laboratoire de Bactériologie, Hospices Civils de Lyon - Centre de Biologie et de Pathologie Nord ³INSERM U851, IFR128 ⁴Centre National de Référence des Staphylocoques, Université Lyon 1, Lyon, France

Objectif : Comparer les performances du milieu chromogénique ChromID® *Clostridium difficile* (bioM)[CHROM] (colonies noires étoilées typiques (CNET)) avec la culture sur milieu conventionnel de routine CCFA (bioM) et deux tests immunochromatographiques ciblant la GDH [GDH-M (Mériidian)], GDH-A (Alere) pour la recherche de *Clostridium difficile* (CD) sur les selles.

Méthodes : Cent soixante seize selles ont été prospectivement i) ensemencées sur milieu CHROM et CCFA avec lecture respectivement à 24 et 72h, ii) testées avec GDH-M et GDH-A. L'ensemble des colonies noires typiques sur CHROM ont été identifiées par MALDI-TOF (VITEK MS, bioMérieux) [MALDI] et par agglutination [AGGLU] (Difficile Test Kit Oxoid).

Quarante selles ont été considérées comme positives à CD sur la base d'un « gold standard composite » incluant : la culture sur CCFA ou CHROM confirmée par MALDI-tof, ou l'obtention de deux tests GDH positifs, ou d'un test GDH et d'un test immunologique "toxines" positifs, ou un test immunologique "toxines" et une PCR "toxine" positive, ou deux PCR "toxine" positives.

Résultats : A 24h, les CNET sur CHROM ont toutes sauf une (*Clostridium biferrumtans*) été identifiées comme appartenant à l'espèce CD par MALDI et AGGLU (33/34), montrant des performances supérieures aux milieux classiques et aux IC-GDH sur selles. On notera que des colonies typiques étoilées mais blanches ont été identifiées pour deux selles (1,2%) de patients distincts, souches appartenant à l'espèce CD (agglutination+ et MALDI-tof+), dont une était toxigène.

| N=176 | CHROM (24h) | CCFA (72h) | GDH-M | GDH-A |
|-------|-------------|------------|-------|-------|
| Se | 84,6% | 71,8% | 74,4% | 82,1% |
| Sp | 99,3% | 100% | 100% | 100% |

| | | | | |
|-----|-------|-------|-------|-------|
| VPP | 97,1% | 100% | 100% | 100% |
| VPN | 95,8% | 92,6% | 93,2% | 95,1% |

Par rapport au référentiel défini, le CHROM montre des performances à 24h (d'ailleurs identiques à 48h (not shown)), bien supérieures aux tests CCFA et GDH. L'utilisation simple et rapide de MALDI ou AGGLU permet de confirmer rapidement l'appartenance à l'espèce CD des colonies noires avant de réaliser une recherche de toxines directement sur les colonies isolées.

Conclusions : Le CHROM permet un isolement et une identification présomptive des CD après seulement 24h d'incubation. La réalisation des recherches de toxines directement sur les colonies obtenues sur CHROM mériterait d'être validé sur une collection plus large de souches.

Remerciements : Teks conventionnelles CBN/CBE.

402/79A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation d'un nouveau test d'amplification FOCUS Simplexa® C.

difficile Universal Direct dans le diagnostic des infections à *Clostridium difficile* (ICD).

V. Lalande^{1,2,3}, L. Barrault¹, C. Eckert^{2,3}, F. Barbut^{1,2,3}

¹Bactériologie, Hôpital Saint-Antoine ²Laboratoire « *Clostridium difficile* » associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme ³UPMC, Université Paris 06, GRC n°2, Epidiff, Paris, France

Clostridium difficile est la principale cause de diarrhées nosocomiales. Un diagnostic fiable et rapide est indispensable pour une prise en charge optimale des patients infectés. Différents tests d'amplifications des gènes des toxines A et/ou B de *C. difficile* sont maintenant disponibles. Nous avons comparé un nouveau test de PCR avec deux méthodes de référence.

Matériel et Méthodes : Le test Simplexa® C difficile Universal Direct (SimplexaCDIFF) de FOCUS diagnostics, Eurobio, France est une méthode de PCR en temps-réel utilisant des sondes amorces fluorescente bidirectionnelles ayant pour cible une séquence conservée du gène de la toxine B (*tcdB*). L'extraction manuelle d'ADN à partir des selles est faite en tampon TE et par chauffage à 97±2°C pendant 10 minutes. Cette méthode a été comparée 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 toxigène de chaque isolat a été recherché directement à partir d'une suspension de colonies (=CT) par le test de cytotoxicité.

Résultats : L'étude a été réalisée sur 301 selles diarrhéiques (prenant la forme du pot) consécutives et non répétitives. Le CTA était positif pour 13 échantillons (4,3%) et la CT étaient positives dans 14,9% des cas (62,2% des souches étaient toxigènes et 37,8% non toxigènes). Pour quatre échantillons, le test SimplexaCDIFF était invalide après un premier test. En cas de discordance avec la CT, les échantillons étaient contrôlés soit par une culture enrichie, soit par un deuxième test d'amplification. Le test SimplexaCDIFF avant résolution des discordances a une sensibilité et une spécificité respectives de 100% et 96% par rapport au CTA et de 85% et 99% par rapport à la CT. Les VPN et VPP sont de 100% et 54% par rapport au CTA et de 98% et 95% par rapport à la CT.

Conclusion : Le test SimplexaCDIFF est un nouveau test d'amplification de *C. difficile* à partir des selles. Ces performances sont équivalentes aux tests d'amplification actuellement disponibles pour le diagnostic des ICD.

403/79A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Une année de diagnostic des infections à *Clostridium difficile* en milieu hospitalier selon un algorithme en deux temps.

V. Lalande¹, G. Denizaut¹, L. Surgers¹, C. Jost¹, F. Barbut^{1,2,3}

¹Bactériologie, Hôpital Saint-Antoine ²Laboratoire « *Clostridium difficile* » associé au CNR des bactéries anaérobies et du botulisme ³UPMC, Université Paris 06, GRC n°2, Epidiff, Paris, France

Actuellement, le diagnostic bactériologique des infections à *Clostridium difficile* (ICD) a pour objectif principal d'obtenir un résultat le jour du prélèvement pour une prise en charge optimale des patients infectés. Des algorithmes en 2 (voire 3) étapes sont préconisés selon les recommandations américaines et européennes : la première étape consistant à « screener » les selles à l'aide d'une méthode ayant une excellente valeur prédictive négative (VPN) et la seconde étape consistant à tester les échantillons positifs par une méthode spécifique de mise en évidence des toxines. Nous avons évalué cette stratégie appliquée en routine dans un laboratoire hospitalier.

Méthodes : Pendant 12 mois, nous avons comparé un algorithme diagnostique en deux temps aux techniques de référence. Le screening des selles diarrhéiques était réalisé par une technique unitaire immuno-enzymatique détectant la glutamate déshydrogénase (GDH) (C. DIFF Quik chek®, Alere), suivi en cas de résultat positif par une technique d'amplification de la toxine A (Illumigène®, Méridian). Deux méthodes de référence ont été réalisées : la recherche de toxine libre par l'étude de l'effet cytopathogène d'un filtrat de selles (ECP) et la culture toxigénique (CT) associant la culture sur milieu sélectif et la détermination du pouvoir toxigène des souches. En cas de discordance entre la primoculture et le résultat de la GDH, une culture enrichie était réalisée.

Résultats : 2346 selles diarrhéiques consécutives et non répétitives ont été testées selon les deux stratégies. L'ECP et la CT étaient positifs dans respectivement, 11 cas (5%) et 302 cas (12,9%) avec 66% des souches de CD toxigènes. La GDH était positive pour 302 échantillons (12,9%), parmi eux

169 étaient positifs par amplification de la toxine A (7,2%), sept résultats étaient invalides et 20 tests faussement négatifs. Pour onze échantillons positifs en culture, le test GDH était négatif, avec dans 9 cas des souches toxinogènes. Comparées à la CT, la sensibilité, la spécificité et les valeurs prédictives négatives et positives du test GDH et de l'algorithme en 2 temps étaient respectivement de 96% et 83%, de 99% et 100%, de valeur prédictive négative de 99% et 98% et de 96% et 98%.

Conclusion : Comme rapporté dans la littérature, le test GDH a une très bonne VPN (99%) permettant de l'employer comme un test unitaire rapide de screening. Dans notre étude, la stratégie en deux temps a une très bonne VPN (83%) et VPP (100%) permettant une prise en charge rapide des patients présentant une ICD. La sensibilité de la combinaison des deux tests par rapport à la CT est plus faible que dans la littérature. Pour ces cas, la charge bactérienne et la quantité de toxines libres sont faibles, l'interprétation sera faite en fonction des signes cliniques.

404/79A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation des performances de quatre tests moléculaires de détection des *Clostridium difficile* producteurs de toxines A et/ou B dans 174 selles.

P.H. Boyer¹, C. Pralong², B. Falquet¹, Y. Benito¹, H. Salord², S. Tigaud², F. Vandenesch^{1,3,4}, A.M. Freydiere¹, O. Dauwalder^{1,3,4}, F. Laurent^{2,3,4}

¹Laboratoire de Bactériologie, Hospices Civils de Lyon - Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron ²Laboratoire de Bactériologie, Hospices Civils de Lyon - Centre de Biologie et de Pathologie Nord ³INSERM U851, IFR128 ⁴Centre National de Référence des Staphylocoques, Université Lyon 1, Lyon, France

Objet de l'étude : Comparer les performances de 4 tests moléculaires de détection directe des *Clostridium difficile* producteurs de toxines A/B [TM] par rapport à un « gold standard composite » incluant : la culture de *C. difficile* sur milieu conventionnel [CCFA] ou chromogénique combinée à la détection des toxines A/B [TOX] par test immunochromatographique [ICT], et en cas de culture négative, la positivité de deux TM ou d'un test GDH combiné à un TM ou à un ICT TOX.

Méthodes : 176 selles adressées pour recherche de *C. difficile* toxinogènes ont été incluses. Les 4 TM ont été effectuées soit prospectivement: Illumigene[®] *C. difficile* (Mériidian) [ILLU]; soit rétrospectivement, après une seule congélation à -20°C: BD MAX[™] Cdiff (BD Diagnostics) [BD]; RIDA[®] GENE CD Toxin A/B (R-Biopharm) [RIDA] sur automate Smart Cycler (Cepheid) à partir d'extraits réalisés sur EasyMag[®] (bioMérieux) et Focus Simplex[®] *C. difficile* Universal Direct (Eurobio/3M) [FOCUS]. En cas de résultats invalides, les TM ont été répétées avec ou sans dilution au 1/10 selon les instructions des différents fabricants.

Résultats obtenus : Sur la base du « gold standard » décrit, 24 (13,6%) des 176 selles étaient positives. Le Tableau 1 résume les résultats des TM et de la culture toxinogénique conventionnelle [CTC] (CCFA et TOX par ICT sur souches de *C. difficile*).

| | CTC | ILLU* | BD | RIDA | FOCUS |
|----------------------------|-------|-------|-------|-------|-------|
| Sensibilité | 79,2% | 95,8% | 91,7% | 91,7% | 87,5% |
| Spécificité | 100% | 100% | 99,3% | 99,3% | 100% |
| Valeur Prédictive Positive | 100% | 100% | 95,7% | 95,7% | 100% |
| Valeur Prédictive Négative | 96,8% | 99,3% | 98,7% | 98,7% | 98% |

*: 3 selles sont restées invalides, les performances ont été calculées sur 173 selles.

Pour chacun des TM, certaines étapes requièrent spécifiquement une vigilance particulière (quantité de selles, extraction ou après l'ajout des amorces) pour éviter l'apparition d'invalides. Le choix entre ces différentes techniques doit faire intervenir praticabilité, prix des automates et des réactifs, délai d'obtention des résultats, technicité requise en fonction de la structure et la taille du laboratoire.

Conclusions : Les performances de ces 4 TM sont proches, et bien supérieures à la CTC. Du fait de leur rapidité et de leur performance, les TM de détection des *C. difficile* toxinogènes apparaissent comme des méthodes de choix pour de diagnostic des infections à *C. difficile*.

405/79A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation du nouveau test moléculaire automatisé BD MAX Cdiff marqué CE-IVD pour la recherche de *Clostridium difficile* toxigénique possédant le gène *tcdB* directement à partir d'échantillons cliniques de selles.

P.O. Verhoeven^{3,1}, A. Carricajo^{3,1}, S. Pillet^{3,1}, A. Ros¹, N. Fonsale¹, E. Botelho-Nevers^{3,2}, F. Lucht^{3,2}, P. Berthelot^{3,1,2}, B. Pozzetto^{3,1}, F. Grattard^{3,1}

¹Laboratoire de Bactériologie-Virologie-Hygiène ²Service de maladies infectieuses et tropicales, CHU de Saint-Etienne ³GIMAP EA 3064 (Groupe Immunité des Muqueuses et Agents Pathogènes), Université de Lyon, Saint-Etienne, France

Objet de l'étude : Le diagnostic de colite à *Clostridium difficile* reste un enjeu important pour les laboratoires de microbiologie médicale. Les tests

moléculaires offrent une sensibilité et une spécificité supérieures aux tests immuno-enzymatiques mais requièrent plus de temps technique. Les plateformes de biologie moléculaire incluant l'étape d'extraction telles que le BD MAX et le GeneXpert permettent de réduire considérablement le temps technique et le temps de rendu du résultat. L'objectif de cette étude était d'évaluer les performances de la nouvelle trousse BD MAX Cdiff.

Méthodes : Un panel de 100 échantillons de selles issues de patients hospitalisés au CHU de Saint-Etienne entre 2010 et 2011 a été sélectionné par technique immuno-enzymatique recherchant la glutamate déshydrogénase (GDH). La recherche du gène *tcdB* codant la toxine B a été effectuée par deux tests moléculaires incluant l'étape d'extraction actuellement commercialisés et marqués CE-IVD: Xpert *C. difficile* (Cepheid) et BD MAX Cdiff (Becton Dickinson), selon les recommandations des fabricants. Les échantillons discordants ont été vérifiés par chacune des deux techniques moléculaires.

Résultats : Parmi les 53 échantillons négatifs pour la GDH, un seul échantillon a été détecté positif à 33,7 cycles uniquement par le test Xpert *C. difficile*. Parmi les 43 échantillons positifs pour la recherche de la GDH, 42 échantillons (39 positifs et 3 négatifs) étaient concordants par les deux techniques moléculaires et un échantillon était négatif avec le test BD MAX Cdiff. Cet échantillon était aussi positif pour la recherche de toxines A et B par technique immuno-enzymatique. Au total, ces résultats montrent une excellente concordance entre les deux techniques moléculaires avec un coefficient kappa de 0,96 (IC95% [0,90-1,0]).

Conclusion : La flexibilité de la plateforme BD MAX permet de réaliser des tests moléculaires ouverts ou marqués CE-IVD par séries de 24 ou à l'unité avec un résultat disponible en moins de 2 h et nécessitant moins de 2 minutes de temps technique par échantillon. Les performances du test BD MAX Cdiff CE-IVD rendent cette solution diagnostique parfaitement adaptée à une utilisation en routine comme test de dépistage ou de confirmation des échantillons détectés positifs pour la GDH.

406/80A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation des pratiques d'antibioprophylaxie pour l'activité programmée de chirurgie orthopédique à l'hôpital Lariboisière (AP-HP).

M. Colomb², A. Dozol², C. Segouin², A.C. Hellmann², C. Rabuel¹, C. Paoletti¹

¹Département d'anesthésie et réanimation ²Service de Santé Publique et Économie de la Santé, Hôpital Lariboisière-F. Widal, AP-HP, Paris, France

Objet : En 2011, une évaluation des pratiques professionnelles sur l'antibioprophylaxie (ABP) en chirurgie orthopédique a été initiée à l'hôpital Lariboisière par le service d'anesthésie. Un premier audit a eu lieu en 2011, suivi d'actions correctives. L'audit réalisé en 2012 a permis d'évaluer le résultat de ces actions et d'identifier de nouvelles pistes d'amélioration.

Méthode : Un audit clinique ciblé a été réalisé sur un échantillon de dossiers tirés au sort sur une période de 3 mois fin 2010 (audit 2011) puis fin 2011 (audit 2012). Les séjours inclus présentaient tous un acte de chirurgie orthopédique. Les reprises de prothèses, urgences, pseudarthroses, abcès, ostéomyélites, anesthésies locales exclusives, ou avec une antibiothérapie en cours ont été exclus. Au total 49 dossiers de 2010 et 68 de 2011 ont été étudiés. Les paramètres évalués étaient les 11 critères du référentiel de pratiques professionnelles de la HAS sur l'ABP péri-opératoire.

Résultats : Le délai entre l'administration de l'antibiotique et l'incision n'était respecté que pour 65% des dossiers de 2010. Les actions correctives ont porté sur ce critère: séances de sensibilisation des équipes, affichage des résultats et rappel des recommandations dans les blocs opératoires et en salle de repos. Elles ont permis une amélioration du taux de conformité (77% pour les dossiers de 2011).

Le critère n°3 « ABP programmée en consultation pré-anesthésique » n'a été évalué que pour les dossiers de 2011. Il a permis d'identifier un défaut de traçabilité de l'ABP en consultation: l'information n'était retrouvée que pour un dossier.

Le taux de conformité globale (nombre dossier conforme pour tous les critères / nombre total de dossiers) a été calculé sans tenir compte du critère 3 afin de comparer les résultats 2010 et 2011. Ce taux était de 59% en 2010 et de 66% en 2011. Il était plus élevé pour les anesthésistes ayant une activité uniquement au bloc de chirurgie orthopédique, comparé à ceux ayant une activité au sein d'autres blocs opératoires.

Conclusion : Les actions correctrices mises en place à la suite du premier audit ont permis d'améliorer le taux de conformité globale. La traçabilité de l'ABP programmée en consultation pré anesthésique reste un critère à améliorer.

Évaluation des pratiques d'antibioprophylaxie chirurgicale (ABP) à l'hôpital Saint-Louis : éternelle problématique du moment d'injection, quelles solutions ?

T. Flais¹, M. Lafaurie, F. Bonnet, O. Marie, B. Eurin, S. Touratier
¹Pharmacie ²Hôpital Saint-Louis, Paris, France

Les infections du site opératoire sont un facteur important de morbidité postopératoire. A l'hôpital Saint-Louis, l'ABP fait l'objet de protocoles validés depuis 1998; 6 audits ont été menés depuis cette période mettant en exergue constamment une inadéquation du moment d'administration (MA) de l'ABP par rapport à l'incision

Objectifs : Évaluer l'évolution des critères de non-conformité (NC) de l'ABP entre les 2 derniers audits (2007/2011) et identifier les éléments contribuant à la NC du MA de l'ABP.

Méthodologie : Les interventions chirurgicales réalisées pendant 2 mois en 2007 et 3 mois en 2011 sont analysées sur dossier par les anesthésistes. Deux types d'évaluation sont menés en parallèle. Une étude suivant le référentiel HAS 2005 est complétée par une étude de la NC de l'indication, du choix de l'antibiotique (ATB), de la posologie, du MA, du rythme des ré-administrations et de la durée de l'ABP. Les protocoles locaux servent de base à ces 2 audits. Les raisons d'inadéquation du MA de l'ABP sont analysés auprès des anesthésistes en 2011, selon la méthode de Kawakita Jiro (KJ).

Résultats : 283 dossiers en 2007 et 355 en 2011 ont été étudiées. La conformité globale est de 53% en 2007 et de 58% en 2011; les ABP excessives étaient de 17% en 2007 et de 7% en 2011. Sur les 109 et 144 ABP recommandées respectivement en 2007 et 2011, les défauts de prescription (absence de prescription) d'ABP étaient de 18 et 12,5%. Les NC des ABP, par critère, sont respectivement en 2007 et 2011: 23 et 10,5% d'indications injustifiées, 17 et 7% de choix d'ATB NC, 65 et 51% de MA NC et les durées d'ABP NC à 12 et 1,5%. L'analyse des items HAS confirme que la NC du MA reste un élément majeur des NC de l'ABP. L'analyse du MA par KJ, menée auprès des anesthésistes en 2011, révèle 19 facteurs pouvant contribuer à l'inadéquation du MA. Les principaux facteurs cités sont: patients non perfusés à l'arrivée au bloc, induction anesthésique jugée prioritaire à l'ABP, pression de travail, oubli et ABP non prescrite en consultation

Conclusion : L'évaluation 2011 montre une évolution favorable de l'ensemble des critères. Le MA constitue un élément majeur des NC. L'analyse KJ sur le MA permet d'orienter les mesures correctives à mettre en place avec les anesthésistes.

Analyse du bon usage des glycopeptides dans un centre hospitalier général.

M. Philippe², B. Leroy², M. Bourdelin², S. Coursier², H. Bontemps², G. David¹
¹Service de médecine interne ²Service pharmacie, Hôpital Nord-Ouest, Villefranche sur Saône, France

La pertinence de la prescription des glycopeptides a été évaluée dans un centre hospitalier général, afin d'optimiser leur efficacité et limiter l'émergence de résistances. Cette étude fait suite à la publication des recommandations de bon usage des glycopeptides et lipoglycopeptides de mars 2012.

Cette enquête rétrospective s'est déroulée sur 3 mois et a pris en compte tous les traitements de vancomycine et teicoplanine instaurés dans toutes les unités de soins (hors soins intensifs). Les critères de jugement retenus sont la pertinence de l'indication, la posologie (doses de charge et d'entretien), le suivi pharmacologique et les adaptations posologiques.

Trente quatre traitements ont été évalués (22 vancomycine et 12 teicoplanine). L'âge moyen des patients était de 70 ans, avec une répartition homme/femme de 20/14. La clairance moyenne de la créatinine (formule de Cockcroft) était de 74,9 ml/min en début de traitement. Les indications retrouvées étaient 30 infections sévères documentées ou suspectées à *Staphylococcus* résistant à la méticilline, 3 antibioprophyaxies et 1 traitement par voie orale d'infection à *Clostridium difficile*. Les indications étaient justifiées dans 82% des cas, par la clinique (79%) et/ou la microbiologie (38%). Les modalités de traitement n'étaient pas satisfaisantes pour 20 patients : 41% de non-conformité pour les doses de charges, 6% les doses d'entretien et 6% le choix du glycopeptide. Le suivi pharmacologique n'est pas conforme dans 18% des cas. En revanche, lorsque celui-ci est effectué, 88% des adaptations posologiques nécessaires ont été faites. Le taux de non-conformité global est de 60% (11 vancomycine et 9 teicoplanine). Deux traitements ont été suspendus face à des problèmes de tolérance: une altération de la fonction rénale et une thrombopénie.

Les indications sont majoritairement conformes aux référentiels. Par contre, les modalités de prescription peuvent être améliorées, principalement pour les doses de charge et le suivi pharmacologique. Ces résultats seront présentés au comité des antibiotiques de l'établissement. Une diffusion des recommandations de bon usage et la création d'un protocole informatisé d'aide à la prescription vont être mis en place pour améliorer la prise en charge des patients sous glycopeptides.

Utilisation du linézolide au sein d'un CHU : analyse de 120 prescriptions.

R. Buzelé¹, X. Pourrat³, D. Garot⁶, G. Gras¹, P. Rosset², F. Lagarrigue⁴, L. Bernard¹

¹Médecine Interne et Maladies Infectieuses ²Chirurgie Orthopédique ³Pharmacie hospitalière CHRU ⁴Réanimation chirurgicale ⁵Réanimation Médicale, Tours, France

Objet de l'étude : Le linézolide, premier représentant des oxazolidinones est, du fait d'un large spectre antibactérien à GRAM positif et de sa biodisponibilité orale, une alternative de choix aux glycopeptides. Nous avons évalué son utilisation.

Méthodes : Étude rétrospective, descriptive au sein d'un CHU, de l'ensemble des prescriptions de Linézolide depuis 2005.

Résultats Obtenus : 120 prescriptions chez 108 patients ont été analysées (Age moyen=57.4 ans, ratio H/F=2.1). La durée moyenne de traitement était de 22.5j (Maximum=240 jours), 30j pour les infections ostéoarticulaires. L'indication était en accord avec l'AMM dans 17%, en relais dans 68% (82), principalement pour relais per os (54%) ou intolérance aux Glycopeptides (22%). Les principaux prescripteurs étaient: Maladies Infectieuses (35), Chirurgie Orthopédique (27), et Réanimation Chirurgicale (17). L'avis spécialisé était mentionné pour 47%. Les principales infections étaient ostéoarticulaires (49; 30 sur matériel), bactériémies (13; 10 sur matériel), pulmonaires (17), tissus mous (9). Les germes ciblés étaient: staphylocoques à coagulase négative (35; 33 méticilline-résistant), *S. aureus* (22; 18 SARM), entérocoques (9). 5 traitements prolongés ciblaient des mycobactéries (2), *Nocardia* (2) et *Listeria* (1). 17 infections n'étaient pas documentées. La sensibilité au Linézolide n'était testée que pour 65%. 16 échecs (13%) ont été observés, associés à la présence de matériel (62.5% vs 39%, p<0.05), et une insuffisance rénale (52% vs 21%, p<0.05). Le succès dans les infections sur matériel était associé à son retrait (99% versus 59%, p<0.05), notamment pour les infections osseuses (100% vs 71%). Un effet indésirable est survenu dans 36.7% (44), en moyenne au 16^{ème} jour, principalement des cytopénies (34), associés à l'âge (64 versus 51 ans), la durée de traitement (28,9 vs 18.8 jours) et des antécédents hématologiques (16.37% versus 6.6%, p<0.1).

Conclusion : L'utilisation du Linézolide était le plus souvent hors AMM, prolongée, avec un taux important d'effets indésirables et d'échecs, surtout en lien avec le maintien de matériel infecté. Sa prescription doit rester encadrée et la surveillance hématologique rapprochée. La gestion des infections sur matériel ne doit pas différer des indications habituelles.

Place de la colistine dans la prise en charge des infections à bactéries multi-résistantes.

L. Tounsi², M. Khrouf^{2,1}, M. Guerfali²

¹Département de Pharmacologie, Faculté de Pharmacie, Monastir ²Service de Pharmacie, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

Objet de l'étude : Cette étude a pour but l'évaluation de la prescription de colistine à l'hôpital La Rabta, Tunisie.

Méthodes : Il s'agit d'une étude prospective observationnelle allant du mois de Mai au mois d'Aout 2012 évaluant la prescription de la colistine à l'hôpital La Rabta chez 27 patients.

Les données biologiques et cliniques ont été collectées à l'aide d'une fiche de synthèse et traitées par le logiciel Excel.

Résultats obtenus : Les prescriptions de colistine provenaient dans 67% des cas du service de réanimation médicale. Le choix de la colistine, après un contrôle de la fonction rénale, était justifié par un antibiogramme dans 89% des cas. La colistine a été utilisée en association dans 92.6% des cas, où 56% étaient Colistine et Imipénème +/- Vancomycine ou Teicoplanine. Les posologies étaient de 6 MUI par jour dans 89% des cas et la durée moyenne de traitement était quinze jours avec des extrêmes allant de 7 jours à un mois. Les indications thérapeutiques de colistine, dont 26% sont hors AMM, étaient des infections à germes multi-résistants, essentiellement nosocomiales (82%). Les différentes indications étaient réparties entre pneumopathie (40.7%), septicémie (7.4%), pneumopathie compliquée par une septicémie (14.8%), otite (11.1%), infection urinaire (7.4%), pancypénie fébrile (7.4%) et autres (22.2%). Les germes identifiés étaient des BGN multi-résistants à savoir *Acinetobacter baumani* (44.4%), *Pseudomonas aeruginosa* (22.2%), *Escherichia coli* BLSE (18.5%). Toutefois, certaines prescriptions (11.1%) étaient probabilistes avec un examen microbiologique soit en cours, soit négatif probablement du au prélèvement effectué sous antibiotique. La surveillance biologique des patients traités par colistine a montré la non altération de leurs fonctions rénales. Sur le plan clinique, on a noté 78% de rémission dont 95% après une bi ou tri-antibiothérapie.

Conclusion : La colistine est une ancienne molécule délaissée pendant des années à raison de sa néphrotoxicité. Cependant, sa prescription en Tunisie a augmenté proportionnellement avec le recensement des résistances bactériennes incitant ainsi au bon usage de cet antibiotique tout en le réservant aux bactéries multi-résistantes afin de préserver son efficacité avec le minimum de risque de toxicité.

Recueil des consommations antibiotiques en établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) : résultat d'un premier état des lieux.A. Marquet¹, F. Ollivier¹, S. Thibaut¹, J. Caillon², F. Ballereau¹⁻²¹MedQual, CHU Nantes ²EA3826, UFR Médecine, Nantes, France

Objet de l'étude : Effectuer un premier état des lieux de la consommation antibiotique dans les établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) des Pays de La Loire disposant d'une pharmacie à usage intérieur (PUI).

Méthodes : Les données ont été recueillies auprès des PUI approvisionnant un ou plusieurs EHPAD à l'aide d'un tableau Excel[®] répondant aux recommandations du Ministère de la Santé et adapté en Région à un recueil rétrospectif annuel.

Résultats obtenus : 34 PUI ont répondu à ce recueil dont 32 établissements de santé et 2 groupements de coopération sanitaire. Les consommations antibiotique de 54 EHPAD ont été recueillies et analysées, représentant 60% des EHPAD disposant d'une PUI de la région. La consommation moyenne régionale est de 43,3 doses définies journalières (DDJ) pour 1000 journées d'hospitalisation (JH). Des variations entre les départements existent avec une moyenne inférieure de 36,5 et une moyenne supérieure de 54,4 DDJ/1000 JH. La médiane exprimée en DDJ/1000 JH pour chaque classe thérapeutique est respectivement de 25,7 pour les pénicillines, 4,58 pour les quinolones, 3,22 pour les macrolides / lincosamides / synergistines, 2,54 pour les céphalosporines, pénèmes et monobactams, 0,49 pour les sulfamides. La médiane pour les tétracyclines et les aminosides est de 0 avec une moyenne respectivement de 0,47 et 0,09. Pour l'ensemble des EHPAD, l'amoxicilline (AMX) par voie orale représente 60,1% de la consommation antibiotique dont 33,2% en association avec l'acide clavulanique (AMC). Les autres molécules observées représentent 8,4% pour les fluoroquinolones orales dont 4,5% pour la norfloxacine (NOR), 3,2% pour la ceftriaxone (CRO) et 2,1% pour le cotrimoxazole (SXT). L'ensemble de ces 6 antibiotiques particulièrement suivis (AMX, AMC, ofloxacine, NOR, CRO, SXT) représente 73,8% de la consommation totale.

Conclusion : Ce premier recueil permet d'avoir une visibilité des consommations antibiotique en EHPAD. Le projet est de mettre en corrélation ces résultats avec ceux de notre veille épidémiologique communautaire des résistances bactériennes afin de définir les messages clés à adresser aux médecins coordonnateurs et prescripteurs pour un bon usage des antibiotiques en EHPAD.

Consommation antibiotiques et densité d'incidence BMR.

H. Senechal, N. Garreau, M. Perennec, P. Angora, P. Jarno, M. Aupey

C. Clin Ouest, Rennes, France

Objectif : Les surveillances des BMR et des consommations d'antibiotiques sont des priorités nationales.

A partir des données inter régionales des surveillances, mettre en évidence un lien entre la consommation de certains antibiotiques et l'incidence des BMR acquises (SARM, BLSE).

Méthode : Constitution d'une cohorte d'établissements ayant effectué la surveillance BMR et la consommation d'antibiotiques entre 2008 et 2011 sur une année entière.

Les densités d'incidence (DI) pour 1000 jours d'hospitalisation (JH) de SARM acquis et BLSE et les consommations d'antibiotiques en Dose Définie Journalière ont été calculées pour chaque année.

Les analyses de tendance ont été effectuées par le test de Friedman sur échantillons appariés,

La recherche d'une corrélation a été faite en utilisant le test du coefficient r de Spearman (non paramétrique).

Résultats : La cohorte est constituée de 33 établissements (15 CH, 2 CLCC, 16 Clinique MCO, 3 PSY et 5 SSR).

La DI SARM acquis (0,17 à 0,12) et la DI BLSE (0,10 à 0,17) varie de façon significative entre 2008 et 2011.

Les consommations des fluoroquinolones, d'amoxicilline et d'amoxicilline + ac clavulanique ne varient pas de façon significative entre 2008 et 2011.

Seule la consommation des céphalosporines de 3^{ème} génération varie de façon significative entre 2008 et 2011 (18,51 DDJ à 23,56 DDJ).

On note une corrélation par année à partir de 2009 entre la DI SARM acquis et les fluoroquinolones ainsi qu'entre la DI BLSE et les fluoroquinolones, amoxicilline, amoxicilline + ac clavulanique et les céphalosporines de 3^{ème} génération.

La meilleure corrélation est trouvée entre la consommation de céphalosporines de 3^{ème} génération et DI BLSE (r²=0,70).

Conclusion : La résistance bactérienne est un problème de santé publique. Établir un lien entre DI SARM acquis et les consommations d'antibiotiques est utile pour proposer des pistes d'investigation et d'action pour une maîtrise de la consommation de certains antibiotiques.

Bon usage des anti-infectieux (AI) : évolution de 2 ans d'interventions pharmaceutiques (IP) au Centre Hospitalier de Seclin.J. Lemtiri², M. Ségard², A. Descamps², M. Delvallée¹, M. Dubus², B. Luyssaert²¹Infectiologie ²Pharmacie, Centre Hospitalier, Seclin, France

Dans notre établissement, les actions de contrôle et de promotion du bon usage des AI sont menées par l'équipe mobile d'infectiologie composée d'un microbiologiste, de cliniciens référents en antibiothérapie, de pharmaciens et, depuis fin 2010, d'un infectiologue. L'objectif est d'analyser les IP et d'évaluer l'évolution avec l'arrivée de l'infectiologue et la mise en place de la validation pharmaceutique des prescriptions informatisées.

Il s'agit d'une étude prospective comparant les IP en antibiothérapie sur une période de 9 semaines entre 2010 et 2012. Elle concerne les prescriptions d'AI à dispensation contrôlée de tous les services (C3G, fluoroquinolones, carbapénèmes,...).

99 IP sont retrouvées en 2010 pour 458 prises en charge AI validées (22%) vs 165 IP pour 569 prises en charge AI validées (29%) en 2012: la proportion d'IP est statistiquement supérieure en 2012 [p<0.005,α=0.05]. La majorité des IP sont secondaires à des non conformités aux consensus. On retrouve par exemple l'absence de réévaluation des traitements (12.7% en 2012 vs 9.9% en 2010) le mésusage et l'absence de monitoring des aminosides (10.9% en 2012 vs 9% en 2010), une pratique récente des urologues utilisant le céfixime dans le traitement des prostatites (2.4% en 2012), le mésusage de l'association ceftriaxone/levofloxacine (11% en 2012) dans les infections respiratoires non sévères. Le taux d'acceptation par les prescripteurs n'est pas significativement supérieur en 2012 (61% en 2012 vs 56% en 2010) [p<0.7, α=0.05].

Notre étude comparative met en évidence des axes de travail maîtrisés (restriction d'usage des fluoroquinolones, traitement des infections à SASM), des actions correctives à poursuivre (réévaluation des traitements à 48h, maîtrise de la consommation de bêta-lactamines, bon usage des aminosides), et de nouvelles actions à mener (travail avec les urgentistes sur la suppression de l'association levofloxacine/ceftriaxone dans les PAC non sévères, dispensation contrôlée du céfixime, mise en place d'un fichier partagé de suivi des bactériémies,...). La collaboration pharmacie/infectiologue est à l'origine de discussions pluridisciplinaires et finalement d'une pertinence améliorée des interventions pharmaceutiques autour d'axes prioritaires.

Interventions pharmaceutiques (IP) en infectiologie : où en est-on en 2012 ?J. Lemtiri², A. Descamps², M. Ségard², M. Delvallée¹, M. Dubus², B. Luyssaert²¹Infectiologie ²Pharmacie, Centre Hospitalier, Seclin, France

Dans notre établissement, les prescriptions des services de médecine (203/618 lits = 33%) sont informatisées et validées dans leur totalité par le pharmacien directement dans le service. La validation des anti-infectieux (AI) des autres services concerne uniquement les prescriptions d'AI à dispensation contrôlée (C3G, fluoroquinolones, carbapénèmes,...).

Une étude prospective des IP en infectiologie sur une période de 9 semaines est menée pour évaluer les divers thèmes à l'origine d'IP et leur répartition selon la validation de la prescription informatisée ou papier.

165 IP sont identifiées: 89 IP dans les services de médecine pour 269 prises en charge AI validées (33%) vs 76 IP pour 310 prises en charge AI validées (25%) les services non informatisés: la proportion d'IP est statistiquement supérieure dans les services de médecine [p<0.015,α=0.05]. La majorité des IP sont secondaires à des non conformités aux consensus: absence de réévaluation des traitements (21/165=13%: 14% services de médecine/ 12% autres services), mésusage du céfixime dans le traitement des prostatites (5/165=3%, urologie), mésusage et absence de monitoring des aminosides (18/165=11% dont 80% dans un des services de médecine) et mésusage de l'association ceftriaxone/levofloxacine dans les infections respiratoires non sévères (18/165=11% dont 80% dans les services de médecine). Dans les services informatisés, 11% des IP (10/89) concernent l'usage inapproprié de l'amoxicilline ± inhibiteur et 3IP sont relatives à des contre-indications AI/autre classe médicamenteuse. Le taux d'acceptation des IP par les prescripteurs n'est pas significativement différent selon le service (63% services de médecine vs 59%) [p<0.7,α=0.05]. Des actions correctives sont menées (services informatisés: fenêtre de renseignement de l'indication, du site et du type d'infection élargie à tous les AI et fenêtre pop-up pour la réévaluation; service non informatisé: ajout du céfixime sur la liste des AI à dispensation contrôlée,...).

Ce travail expose l'intérêt de l'informatisation généralisée qui garantit une validation pharmaceutique exhaustive de la prescription médicamenteuse et une proximité avec le service favorisant la communication avec les prescripteurs afin d'optimiser la prise en charge thérapeutique du patient.

Intérêt d'un outil informatique d'évaluation de la prescription antibiotique.

F. Bouchand¹, A. Dinh^{2,1}, A.L. Roux¹, F. El Sayed¹, C. Lawrence¹, M. Villart¹, J.L. Herrmann¹, A.C. Crémieux¹
¹CHU R. Poincaré ²SPILF, Garches, France

Objet de l'étude : Dans les centres hospitaliers le contrôle de la prescription antibiotique est fait selon des méthodologies diverses. Idéalement une équipe opérationnelle mobile, devrait assurer cette fonction. Devant les difficultés à formaliser cette organisation nous utilisons un tableur partagé entre un pharmacien, un microbiologiste et un infectiologue clinicien qui permet d'émettre une alerte pour les cas nécessitant une expertise clinique au lit du patient. Nous présentons les résultats de l'utilisation de cet outil après 5 mois de fonctionnement.

Méthode : Le tableur partagé est implémenté par la pharmacie lors de la prescription des antibiotiques « contrôlés » avec les caractéristiques permettant d'identifier le patient, ainsi que l'indication de l'antibiotique. Le laboratoire de microbiologie renseigne pour chacun des patients les différents prélèvements à visée diagnostique et évalue la justification de l'antibiothérapie initiale à l'aide de ses données. Une poursuite de traitement non justifiée après documentation microbiologique entraîne une alerte du référent clinicien pour une évaluation au lit du patient.

Résultats : Au total 209 prescriptions ont été recueillies pour 138 patients. Les prescriptions étaient majoritairement de la vancomycine (96/209), l'association pipéracilline/tazobactam (53/209) et les carbapénèmes (26/209).

La majorité (131/209) des traitements initiaux nécessitaient une adaptation après résultats microbiologiques. Cette adaptation a été réalisée par le prescripteur initial dans 104 cas (79%). Pour les 27 cas de poursuite, a priori, non justifiée, le référent est intervenu 23 fois: le traitement était finalement poursuivi dans 17 cas/23 (prélèvement positif à bactérie résistante réalisé dans un autre hôpital, allergie à la pénicilline, justification clinique ou épidémiologique...). Un arrêt ou une désescalade ont été préconisés dans 3 situations.

Conclusion : Dans notre établissement, 13% des ré-évaluations d'antibiothérapies contrôlées nécessitent l'intervention du référent. Une prescription informatisée, associée à un outil de type tableur partagé par la pharmacie, le laboratoire de microbiologie et un clinicien permet de faciliter les interventions au lit du patient avec une efficacité et une sécurité satisfaisante.

Réévaluation de l'antibiothérapie avant la 72^e heure : quelles traces dans les dossiers ? Une enquête régionale.

M. Lucas¹, J.M. Germain¹, F. Delahaye³, M. Etienne³, B. Gardrat³, V. Lehmann³, S. Leprêtre³, I. Quatresous³, S. Robaday-Voisin³, I. Tirit³, F. Caron³, P. Savary³, V. Merle², J. Doucet³, E. Remy³

¹Antenne Régionale de Lutte contre les Infections Nosocomiales de Haute-Normandie ²Département d'Epidémiologie et de Santé Publique, CHU-Hôpitaux de Rouen ³Groupe de travail anti-infectieux - Observatoire des Médicaments, des Dispositifs médicaux et des Innovations Thérapeutiques de Haute-Normandie, Rouen, France

Objectif : En établissement de santé (ES), la réévaluation de toute antibiothérapie (ATB) avant la 72^e heure est recommandée et valorisée dans l'indicateur composite de bon usage (ICATB), l'HAS exigeant sa traçabilité exhaustive dans le dossier du patient. L'objectif était d'évaluer cette traçabilité dans tous les ES d'une région à la faveur de l'enquête nationale de prévalence (ENP) des infections liées aux soins 2012.

Méthode : Un questionnaire sur la traçabilité de la réévaluation a été proposé aux ES de la région participant à l'ENP. Ont été inclus tous les patients recevant le jour de l'enquête depuis plus de 72h une ATB à visée curative instaurée par l'ES. Les enquêteurs de l'ENP recherchaient alors dans le dossier une trace de la réévaluation. En l'absence de définition officielle, des critères explicites ou implicites de la traçabilité ont été définis (cf. *infra*) et utilisés pour tous les ES.

Résultats : Sur les 52 ES concernés, 29 ES (de 26 à 2241 lits ; 82% des lits de la région) ont inclus au total 620 patients. La réévaluation était tracée dans 65,2% des cas, de façon explicite dans 50,2% des cas : commentaire sur la nécessité ou non d'adapter l'ATB sur des arguments cliniques (41,0% des cas) et/ou biologiques (33,0% des cas), terme "réévaluation ATB" (10,3% des cas), fiche dédiée à la réévaluation (4,7% des cas), ces critères pouvant être associés; dans 15,0% des cas, la réévaluation n'était qu'implicite: modification de l'ATB sans explication tracée ou commentaire clinique sans mention des conséquences pour l'ATB. Les 7 ES avec 100% de traçabilité avaient très peu de cas analysés: en moyenne 3 par ES (de 1 à 9) contre 30 (de 2 à 219) pour les 20 autres ES. Une meilleure traçabilité ($\geq 75\%$) (14 des 27 ES) n'était pas liée au nombre de lits de l'ES (418 lits vs. 408, $p=0,62$) ni à la proportion de lits avec informatisation de la prescription (39% vs. 27%, $p=0,89$), ni à la classe ICATB (7A/14 vs. 9A/13).

Conclusion : Même avec une définition large acceptant des éléments implicites, la trace d'une réévaluation de l'ATB n'a été retrouvée que dans deux dossiers sur trois. L'exigence de l'HAS d'un 100% semble très difficile à atteindre, *a fortiori* en année pleine, sauf pour les ES à très faible taux de prescription ou à informatisation complète.

Augmentation de la consommation de céphalosporines dans un service d'urgence : une étude sur 10 ans.

E. Montassier, S. Corvec, D. Navas, N. Goffinet, G. Potel, E. Batard
 EA3826, Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Nantes, France

Objectif : Les services d'urgence sont un lieu privilégié d'initiation de l'antibiothérapie des patients hospitalisés. L'objectif de cette étude est d'évaluer l'évolution des consommations d'antibiotiques dans un service d'urgences entre 2002 et 2011.

Méthodes : Les consommations mensuelles d'antibiotiques de l'unité adulte non traumatique et de l'unité pédiatrique des Urgences du CHU de Nantes ont été recueillies pour les années 2002 à 2011, converties en Doses Définies Journalières (DDJ), et rapportées au nombre mensuel de passages. L'évolution des consommations dans le temps a été testée par un modèle linéaire avec effets aléatoires.

Résultats : Aux urgences adultes non traumatiques, la consommation totale d'antibiotiques a diminué de 87.5 à 71.0 DDJ/1000 passages (-19%, $p<0.05$). En 2011, les principales classes d'antibiotiques consommées étaient les C3G, le co-amoxiclav, les fluoroquinolones non-antipneumococciques et les aminosides. Les consommations de céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération, de C3G (hors céphalosporines anti-pyocyaniques) et des carboxy- et uréido-pénicillines ont augmenté significativement sur la période 2002-2011, et les consommations d'amoxicilline, de co-amoxiclav, de céphalosporines anti-pyocyaniques, de pénicillines G et V, de glycopeptides, et de fluoroquinolones non antipneumococciques ont diminué significativement.

Aux urgences pédiatriques, la consommation totale d'antibiotiques a augmenté de 22.4 à 27.4 DDJ/1000 passages (+22%, $p<0.05$). Entre 2002 and 2011, les consommations d'aminosides, de céphalosporines anti-pyocyaniques et de carbapénems ont augmenté significativement. Les consommations de pénicillines G/V, de pénicillines M et de sulfamides ont diminué significativement.

Conclusion : La consommation de C3G augmente dans les services d'urgences adultes. Les raisons de cette augmentation doivent être déterminées.

EPIPA, analyse de la prescription des antibiotiques dans 334 EHPAD du Sud-Est de la France.

O. Baud⁹, N. Armand⁹, G. Gavazzi³, I. Attali¹⁰, C. Bernet⁸, F. Bertin-Hugault¹¹, M. Besson², M. Bonnard¹⁰, E. Boudot⁵, J.C. Delarozziere⁴, N. Khouider⁷, A. Lory⁴, C. Mourlan⁶, M. Patissier¹, C. Payet⁶, B. Richaud-Morel⁵, A. Savey⁷, A. Vincent⁷

¹EHPAD Michel Lamy, Anse ²Arlin, Clermont-Ferrand ³CHU, Grenoble ⁴Arlin, Marseille ⁵Arlin, Montpellier ⁶Arlin, Saint-Denis de la Réunion ⁷Arlin ⁸CCLIN Sud-Est, Saint-Genis Laval ⁹Centre Hospitalier de Valence, Valence ¹⁰EHPAD Les Althéas groupe ACCPA, Vaulx en Velin ¹¹Hôpital des Charpennes, Villeurbanne, France

La prescription des antibiotiques (ATB) en EHPAD est délicate en raison de difficultés diagnostic, d'une rare documentation microbiologique, du risque de sélection et de portage de bactéries multirésistantes. Cette étude analyse l'antibiothérapie en EHPAD.

Méthode : Enquête de prévalence un jour donné réalisée entre le 3/10/2011 et le 30/11/2011 recensant les infections urinaires (IU), cutanées (IC), respiratoires (IR) et les résidents avec un traitement ATB.

Résultats : Au total, 334 EHPAD représentant 28344 résidents ont participé dont 39,2% rattachés à un centre hospitalier (CH). Le nombre moyen de prescripteurs par EHPAD était de 10,8 (extrêmes 1-75). Plus de la moitié des EHPAD (54,5%) avait un protocole d'usage des ATB. Il s'agissait pour 58,8% (107/182) d'EHPAD rattachés à un CH. 1628 résidents (5,7%) avaient une ou plusieurs infections, 1821 infections étaient recensées. 64,7% des infections ont fait l'objet d'une prescription d'ATB. Il s'agissait dans 33,7% des cas d'IR, dans 28,0% des cas d'IU et d'IC dans 13,7% des cas. 10,1% des traitements étaient une antibioprophylaxie d'IU (6,6%), d'IC (1%) d'IP (0,6%) ou autre (1,7%). Les ATB les plus prescrits étaient les quinolones avant les pénicillines et les céphalosporines de troisième génération (C3G) (cf. tab). Les IU (330) étaient traitées par quinolones (39,7%), C3G (20,3% dont 64,2% injectables) et nitrofurantoïne (13,0%). Les bronchites (312) étaient traitées par C3G (29,2%), pénicilline (27,9%), pénicilline + inhibiteurs (24,7%) ou par macrolides (10,9%). Les pneumonies (85) étaient traitées par C3G (38,8%), amoxicilline + a clavulanique (23,5%), aminopénicilline (20,0%) et macrolides ou quinolones (7,1%). Les IC superficielles (102) étaient traitées par pristinamycine (29,4%), acide fusidique (23,5%) et pénicilline avec ou sans inhibiteurs (23,5%).

Conclusions : Ces résultats montrent un large usage des quinolones et des C3G et une possibilité de moindre usage des ATB. Ils appuient la nécessité de la mise à disposition de protocoles avec des critères diagnostics et des traitements adaptés aux personnes âgées pour les nombreux prescripteurs des EHPAD.

Tab : distribution des ATB prescrits (n=1246)

| Classe ATB | % |
|--------------------------|------|
| Quinolone | 18,1 |
| C3G | 17,4 |
| Pénicilline | 14,3 |
| Pénicilline + inhibiteur | 12,1 |
| Macrolide | 9,8 |
| Nitrofurantoïne | 5 |
| Autres | 23,5 |

419/81A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Étude des prescriptions de carbapénèmes dans un centre hospitalier général.

L. Billon², M. Ségard², P. Drancourt², C. Laffont², S. Nguyen¹

¹Infectiologie ²Service Pharmacie, CH Béthune, Béthune, France

Réaliser un état des lieux des prescriptions de carbapénèmes (CBP) afin d'en garantir leur bon usage.

Etude prospective de 30 dossiers consécutifs de prescription de CBP, réalisée sur l'ensemble des services durant 4 mois. Les fiches de recueil remplies à l'aide du dossier patient ont été revues et validées par l'infectiologue.

La population étudiée, d'un âge médian de 67 ans, provenait de réanimation (33%), médecine (60%) et chirurgie (7%). La fonction rénale était altérée (Cl<70mL/min) chez 63% des patients. Le CBP était principalement utilisé dans le cadre d'une infection pulmonaire (50%) ou urinaire (23%), majoritairement nosocomiale (60%). Il s'agissait d'une prescription probabiliste dans 77% des cas, une documentation bactériologique était recherchée dans l'ensemble des dossiers. Les BGN représentaient 90% des germes identifiés, avec une majorité d'entérobactéries (63%) et 4 germes producteurs de BLSE. L'imipénème (IMP) était prescrit dans l'ensemble des dossiers, l'ertapénème était retrouvé en relais dans deux dossiers. Le CBP était prescrit après une autre antibiothérapie dans 83% des cas (association piperacilline / tazobactam dans 33% des cas), et était utilisé dans 90% des cas en association (aminoside: 57%, fluoroquinolone: 33%). La durée moyenne de traitement était de 12,7 jours tous services confondus avec un traitement de plus de 7 jours dans 80% des cas. L'adaptation de posologie de l'IMP à la fonction rénale était plus fréquente lors de l'intervention de l'infectiologue (100% vs 44%, p=0,011). Les prescriptions probabilistes et documentées étaient respectivement conformes à un référentiel dans 96% et 57% des cas. Le motif de prescription était noté dans 81% des dossiers patient, la réévaluation à 48-72h dans 20 à 47% des dossiers selon le service, et le motif de poursuite après 72h dans 67% des cas.

Cette étude a permis de mettre en évidence les modalités de prescription à améliorer, à savoir, l'adaptation de posologie de l'IMP à la fonction rénale, la traçabilité de la prescription dans le dossier patient et la réévaluation des prescriptions à 48-72h; points qui ont ainsi pu faire l'objet d'une sensibilisation auprès des prescripteurs. Une évaluation de l'impact de cette sensibilisation est prévue.

420/81A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation des pratiques professionnelles (EPP) : pertinence des prescriptions d'aminosides.

M. Ségard², J. Lemtiri-Florek², S. Join², A. Descamps², M. Delvallée¹, M. Dubus², B. Luyssaert²

¹Infectiologie ²Pharmacie, CH Seclin, Seclin, France

Suite à la récente mise au point de l'AFSSAPS sur l'usage des aminosides, une EPP évaluant la qualité de leurs prescriptions est décidée dans notre hôpital (618 lits). A partir des prescriptions et des dossiers d'hospitalisation, des fiches de recueil validées préalablement par la CAI (Commission des Anti-Infectieux) sont remplies et analysées par le pharmacien, l'infectiologue et le biologiste. La conformité des prescriptions est évaluée par confrontation à ce référentiel selon 5 critères (indication, posologie, dosage, rythme d'administration, durée de traitement [ttt]). Le recueil prospectif de 58 prescriptions d'avril à mai 2011 est mené: 32 prescriptions de gentamicine et 26 d'amikacine. Le rythme d'administration en dose unique journalière est respecté (100%). Le site infectieux principal rencontré est respiratoire (n=26). Aucun aminoside n'est prescrit en monothérapie. 17 types d'associations sont relevés, notamment avec la piperacilline+tazobactam (n=20). La durée de ttt est de 3 jours en moyenne. Pour 32 patients, un dosage de la concentration plasmatique (pic et/ou creux) est réalisé. Dans 4 cas, le pic plasmatique n'est pas réalisé, ne respectant pas les recommandations. 15 patients insuffisants rénaux (IR) (sur 23) ont un dosage de la concentration résiduelle en aminoside (creux). Le dosage du creux chez l'IR avec un ttt de plus de 3 jours est respecté (100%). Les dosages ne sont pas pris en compte dans l'adaptation thérapeutique pour 3 patients sur 32. Au total, 15 dossiers sont non conformes: 4 cas sur l'indication ou le type d'association avec un autre antibiotique, 4 sur la posologie, 5 sur le suivi thérapeutique, 1 mêlant indication et suivi thérapeutique, et 1 mêlant posologie et suivi thérapeutique. Des critères secondaires sont évalués: réévaluation à 48-72h, traçabilité des dosages et durée de ttt. Le taux de conformité globale de 75% est très satisfaisant. Les recommandations sont rediffusées aux prescripteurs notamment sur la réalisation des dosages. Une réflexion sur l'intérêt du référencement de la tobramycine et de ses dosages est menée. Les interventions pharmaceutiques seront un indicateur de suivi de l'évolution des pratiques sur la prescription des aminosides.

421/81A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation de la prescription en anti-infectieux (AI) dans les services de chirurgie et de réanimation : enquête de prévalence.

J. Lemtiri², M. Ségard², M. Delvallée¹, A. Descamps², M. Dubus², B. Luyssaert²

¹Infectiologie ²Pharmacie, Centre Hospitalier, Seclin, France

Notre structure participe, comme en 2006, à l'enquête de prévalence (ENP) des infections nosocomiales (IN) et des traitements AI. Cette enquête est l'occasion d'évaluer en parallèle la pertinence et la qualité des prescriptions en AI dans les services de chirurgie (prescription non informatisée) et de réanimation (complexité clinique).

Une enquête de prévalence prospective multidisciplinaire (cliniciens, hygiénistes, anesthésistes, bactériologiste, pharmaciens) ciblant toutes les prescriptions d'AI dans ces services est menée. La conformité des prescriptions d'AI est évaluée en binôme (pharmacien/infectiologue) par confrontation aux référentiels locaux et nationaux et objectivée par 3 critères (indication, choix de la molécule et modalités d'administration).

Sur les 77 patients présents, 28 reçoivent au moins un antibiotique soit une prévalence de 36%. Les infections communautaires représentent la première indication de traitement (68%) suivies des IN (25%) et de l'antibioprophylaxie (7%) selon la répartition par site suivante: digestif (10), urinaire (9), respiratoire (5), osseux (2), ORL (1) et peau/tissu mou (1). Les prescriptions concernent majoritairement les bêta-lactamines (71%). L'évaluation des traitements antibiotiques a montré que 75% des antibiothérapies prescrites suivaient les recommandations. Les 8 non conformités relevées chez les 28 patients sont dues au choix de la molécule (n=5), à l'absence d'indication d'une antibiothérapie (n=2) et à une posologie inadaptée (n=1). Des critères secondaires ont également été évalués: durée d'antibiothérapie non mentionnée dans plus de la moitié des cas, réévaluation possible dans 4/28 cas et faite dans 50% des cas et visualisation des courriers de sortie identifiant le problème de relais per os par Céfixime pour 2/5 patients traités pour prostatite.

L'enquête de prévalence des traitements anti-infectieux est prédictive de l'usage de l'antibiothérapie dans un établissement. Elle permet d'identifier rapidement des points critiques de mésusage. Dans notre cas, le taux de conformité global de cette enquête est très satisfaisant. Cependant, un travail sur le traitement optimal de la prostatite est à poursuivre (diffusion des recommandations, ajout du céfixime sur la liste des ATB à dispensation contrôlée,...).

422/81A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

ECBU réalisés en laboratoire de ville : évaluation des pratiques et impact sur le bon usage des antibiotiques.

A. de Pontfarcy¹, G. Defrance¹, F. Raghu⁴, K. Jidar², C. Vinsonneau², R. Gauzit³, S. Diamantis²

¹Laboratoire Biofuture, Guigne ²Hôpital Marc Jacquet, Melun ³ARS ⁴DMG Paris 7, Paris, France

Objectif : Évaluer l'indication et la prise en charge des ECBU réalisés en ville pour définir des axes d'amélioration du bon usage des antibiotiques.

Méthodes : Audit prospectif des ECBU réalisés dans réseau de laboratoire de ville sur 15 jours par appel téléphonique des patients pour relever l'indication de l'ECBU, la symptomatologie clinique, les comorbidités, les durées et les molécules des antibiothérapies prescrites. L'indication de l'ECBU, les molécules et durée de traitement ont été évaluées.

Résultats : Sur 547 ECBU inclus, 315 ont été analysés concernant 303 patients. Les indications étaient: Infections urinaires hautes 22 (7%), Infections urinaires basses 31 (10%), bilan de diabète 17 (5%), suivi de grossesse 29 (9%), bilan préopératoire 36 (11%). L'indication est conforme pour 192 (61%). 70 (22%) ECBU sont positifs et 109 (34%) épisodes ont débouché sur une antibiothérapie dont 12 (36%) sont jugées adaptées. Une antibiothérapie non indiquée est prescrite dans 51 (48%) épisodes. Aucune antibiothérapie, en cas d'ECBU négatif, n'a été réévaluée. Sur l'ensemble des prescriptions d'antibiotiques, 538 (60%) DDJ auraient été évitables dans le cadre du respect des recommandations.

Conclusion : L'ECBU est souvent réalisé par excès et entraîne un excès de consommation d'antibiotiques. Aucune antibiothérapie initiée n'est réévaluée et des traitements sont poursuivis malgré une culture négative. Une précision dans les recommandations de bilan globale des maladies chroniques comprenant une BU et non un ECBU doit être précisée. Un appel systématique et un conseil écrit du biologiste pour le rendu de l'ECBU pourraient permettre une réévaluation des antibiothérapies probabilistes initiées.

423/81A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Prescriptions inadéquates et excessives d'antibiotiques en gynécologie obstétrique : enquête transversale.

M. Poupard, I. Gros, M.A. Khuong-Josses, A. Marmorat-Khuong, R. Gervais, C. Chaplain

Service de Maladies Infectieuses, Hôpital Delafontaine, Saint-Denis, France

Objet de l'étude : Évaluer les indications et modalités de prescriptions d'antibiotiques dans un service de gynécologie obstétrique d'un hôpital général.

Méthodes : Nous avons réalisé une enquête prospective exhaustive sur 6 semaines consécutives (Nov-Déc 2011) des prescriptions d'antibiotiques dans un service de gynécologie et obstétrique. Les données recueillies comprenaient l'âge, le diagnostic gynécologique ou obstétrical, l'indication, le type d'antibiotique, la dose, la voie, la durée, les examens microbiologiques effectués et leurs résultats.

Résultats : Soixante deux dossiers ont pu être analysés, dont 43 concernaient des femmes enceintes (69%).

Les infections gynécologiques hautes (salpingites) représentaient 50% des prescriptions antibiotiques en gynécologie. Pour les femmes enceintes, les antibiotiques étaient prescrits pour une prophylaxie (streptoB) ou une fièvre non documentée (tableau 1).

En obstétrique le germe retrouvé de façon prédominante reste l'*E.coli*, l'antibiotique le plus prescrit: l'association amoxicilline et acide clavulanique. En gynécologie, le colibacille et le StreptoB sont les germes les plus retrouvés et l'amoxicilline l'antibiotique majoritairement prescrit (tableau 2).

On note une faible adaptation de l'antibiothérapie aux sensibilités connues ou retrouvées sur antibiogramme du germe, moins de la moitié des traitements (40%) sont adaptés à l'antibiogramme.

Tableau 1

| | Infection Génitale Haute | Antibioprofylaxie | Infections urinaires | Abcès | Fièvre non documentée |
|--------------------------|--------------------------|-------------------|----------------------|---------|-----------------------|
| Obstétrique n (%) | 5 (12%) | 14 (35%) | 9 (21%) | 0 | 10 (23%) |
| Gynécologie n (%) | 9 (50%) | 0 | 0 | 4 (22%) | 2 (11%) |

Tableau 2

| | Documentation bactériologique | Germes retrouvés | Antibiotiques prescrits | Antibiothérapie adaptée |
|--------------------------|-------------------------------|---|--|-------------------------|
| Obstétrique n (%) | 19 (44%) | <i>E. coli</i> : 11 (58%) StreptoB : 4 (21%) Gardnerella : 2 (11%) | Amox-clav: 16 (84%) Amox: 1 (5%) C3G IV : 2 (10%) | 7 (36%) |
| Gynécologie n (%) | 6 (32%) | <i>E. coli</i> : 2 (33%) <i>Proteus</i> : 1 (17%) Streptocoque : 2 (33%) Gonocoque : 1 (17%) | Amox-clav: 8 (19%) C3G IV: 6 (14%) Amox: 27 (63%) C3G orale: 2 (5%) | 37 (40%) |

Conclusion : Dans notre étude, plus de la moitié des prescriptions antibiotiques ont lieu pour une fièvre sans documentation bactériologique. En cas de documentation, l'adaptation de l'antibiothérapie n'est réalisée que dans 40% des cas.

Proposer des protocoles validés pour la prescription des antibiotiques en gynécologie-obstétrique, réévaluer la prescription à 48-72h systématiquement et apporter une aide à la prescription par un référent antibiotique doit aider à un meilleur usage des antibiotiques dans cette spécialité.

424/81A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation des pratiques professionnelles (EPP) : évolution de la pertinence des prescriptions de fluoroquinolones en 2010 et 2011.

S. Join², M. Ségard², J. Lemtini², A. Descamps², M. Dubus²⁻¹, T. Galpérine¹, A. Trébuchet¹, B. Luyssaert²⁻¹

¹Centre Hospitalier, Commission des Anti-infectieux ²Centre Hospitalier, Service Pharmacie, Seclin, France

Suite à une augmentation de la consommation des FQ au sein de notre établissement, une EPP portant sur la pertinence de leur prescription a été menée en 2010 et 2011. Lors de chaque EPP, une analyse prospective pluridisciplinaire (pharmaciens, biologiste, infectiologue et cliniciens) a porté sur 36 prescriptions nominatives de FQ provenant soit des services de médecine, de gériatrie ou de réanimation. Une grille préalablement validée en Commission des Anti-Infectieux (CAI) était remplie, permettant de définir un indicateur de conformité globale (indication, voie d'administration, posologie, durée de traitement). L'analyse des principaux résultats révèlent pour 2011 par rapport à 2010: d'une part des améliorations comme une augmentation de la conformité des traitements par rapport à l'indication (72% contre 56%); une traçabilité de la réévaluation de l'antibiothérapie à 48-72h dans le dossier patient plus importante (62% contre 47%); un recours à la voie orale plus fréquent (75% contre 58%); une augmentation du renseignement des durées de traitements (92% contre 75%) en lien directement avec le déploiement de l'informatisation de la prescription. D'autre part, des non conformités ont été relevées: avec l'augmentation de l'usage des FQ en empirique (80% contre 69%), surtout dans le cadre d'infections respiratoires en associant la levofloxacine à la ceftriaxone (ici non conforme dans 62,5% des cas en 2011). Le pourcentage de prescriptions ayant une posologie adaptée à la fonction rénale est resté stable (92% contre 94%). Plusieurs messages clés ont été communiqués suite aux résultats de cette évaluation comme: le rappel de l'antibiothérapie en empirique respiratoire, notamment les indications validées justifiant l'association levofloxacine-ceftriaxone; et la limitation du recours en empirique des FQ notamment dans les infections urinaires. Dans notre établissement, la présence de la CAI, de staff réguliers en infectiologie et d'une équipe pluridisciplinaire en infectiologie permettent d'apporter une dynamique

et une évolution de nos pratiques professionnelles en antibiothérapie. Notre consommation de FQ a diminuée de 50% depuis 2009, pour atteindre 29DDJ/1000JH en 2011. Cette EPP ne sera pour l'instant plus reconduite, au profit du suivi d'indicateurs.

425/81A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation des pratiques professionnelles (EPP) : antibioprofylaxie (ABP) chirurgicale.

J. Lemtini², M. Delvallée¹, M. Ségard², A. Descamps², M. Dubus², B. Luyssaert²
¹Infectiologie ²Pharmacie, Centre Hospitalier, Seclin, France

Suite à l'absence d'évaluation de la pratique en ABP dans notre hôpital, une EPP est envisagée. Son objectif est de réaliser un premier état des lieux de cette pratique, de remettre à jour notre référentiel interne et de proposer, le cas échéant, des mesures correctives.

Il s'agit d'une étude rétrospective multidisciplinaire (hygiéniste, anesthésistes, cadre IBODE, pharmaciens, infectiologue) réalisée sur 198 dossiers d'anesthésie et de chirurgie, avec ou sans ABP, sur une période tirée au sort. Elle concerne des actes de chirurgie traumatologique, urologique et viscérale. La conformité des prescriptions est évaluée en binôme pharmacien / anesthésiste par confrontation au référentiel de la Société Française d'Anesthésie et de Réanimation de 2010 (ABP en chirurgie et médecine interventionnelle) et objectivée par 6 critères (indication, choix de molécule, posologie, durée, delta temps ABP/incision>30 minutes et réinjection).

Sont exclus 26 dossiers (18 traitements curatifs, 8 manque de données): analyse de 172 dossiers (98 ABP et 74 sans ABP). Les 98 dossiers correspondent à des classes d'Alteimer 1 ou 2 pour des patients avec un score ASA à 1-2 principalement (78%). Les prescriptions concernent majoritairement la Céfazoline (78%). 11% (11/98) des ABP prescrites correspondent aux recommandations: conformité d'indication dans 90% des cas, de posologie dans 99%, de durée dans 100%, de réinjection dans 73% des cas (5/6) et de delta temps ABP / incision dans 12% des cas. Des critères secondaires ont également été évalués: delta temps ABP/induction, delta temps ABP / garrot et indication posée ou non en consultation pré-anesthésique (CPA). La conformité d'indication d'absence d'ABP est de 95% (70/74).

La conformité globale décevante est principalement liée à un non respect du critère delta temps ABP/incision. Par contre, les résultats des autres critères sont encourageants, de même que le respect de la non mise en place d'ABP dans certaines indications. La restitution de ce travail en commissions d'établissement sera l'occasion de diffuser les recommandations internes actualisées (réinjection,...) et de mener une réflexion sur les mesures correctives à envisager (organisation des blocs: ABP au lit du patient, antibiothérapie curative connue lors de la CPA,...).

426/81A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation de la pertinence de prescription du linézolide dans un centre hospitalier.

Z. Benchikh¹, H. El Khaili³, L. Flandrin², S. Samaille²

¹Laboratoire de biologie médicale ²Service de pharmacie ³Service d'hygiène hospitalière, Centre hospitalier de la région de Saint-Omer, Helfaut, France

Le linézolide est indiqué dans le traitement des infections bactériennes à Gram positif: pneumopathies nosocomiales et communautaires et les infections compliquées de la peau et des tissus mous. Devant l'augmentation de la consommation de cet antibiotique et surtout de l'incidence du *Staphylococcus aureus* résistant à la métilicine (SARM) dans l'établissement; où celle-ci est deux fois plus importante que l'incidence régionale moyenne. Ainsi, l'incidence des SARM est de 0.91 et 5.12/1000 journées d'hospitalisation respectivement dans l'établissement et dans le service de réanimation. Ce double constat nous a amené à réaliser une évaluation des pratiques professionnelles (EPP) en vue d'évaluer la pertinence de l'utilisation du linézolide par rapport aux recommandations de son autorisation de mise sur le marché (AMM) et d'optimiser son suivi thérapeutique et microbiologique.

L'étude a été réalisée de façon rétrospective, selon la méthode d'audit clinique ciblé. Les sources d'informations utilisées sont : les dossiers patients et les ordonnances de distribution nominative des antibiotiques archivées au niveau de la pharmacie. L'analyse des données a été faite par le logiciel SPSS 19.0.

Sur une période de quatre mois, trente deux dossiers ont été analysés. La prescription est conforme, seulement dans 28% des cas et l'avis du référent antibiotique de l'établissement n'a été sollicité que pour 44% des prescriptions. Par ailleurs, l'antibiotique a été prescrit dans une indication probabiliste pour le quart des prescriptions. Les indications de prescription hors AMM, ont notamment concerné les septicémies et les infections urinaires dans 31% et 22% respectivement des indications. Enfin, la durée moyenne de prescription est de 5.5 jours et le coût moyen de traitement est de 640€. Par conséquent, le coût total des prescriptions, pendant la période d'étude est d'environ 20.000€.

En conclusion, une information à destination des médecins est prévue. En outre, une fiche de bon usage est en projet. Ces actions, doivent permettre d'abord, une réduction de la consommation de cet antibiotique et la sensibilisation des praticiens à une demande de l'aide du référent pour toute prescription d'antibiotique. Ce dernier point, est de nature à promouvoir son rôle et de confirmer cet acteur dans sa position. Le bénéfice attendu, étant la baisse de l'incidence des SARM et une économie sur la dépense non négligeable des antibiotiques.

Analyse des bactériémies dans un CH général : impact du suivi prospectif par un référent en antibiothérapie (ATB) sur la mortalité.S. Nguyen^{1,2}, M. Valette², F. Dufossez¹¹CH Germon et Gauthier, Béthune ²CH Tourcoing, Tourcoing, France

Évaluer les facteurs influant sur la mortalité précoce à J7 des bactériémies dans un CHG, en particulier l'impact du suivi prospectif des bactériémies par un référent en ATB. Le référent recueille quotidiennement les hémocultures à partir du laboratoire les jours ouvrés, et intervient en transversal dans les services: soit sur demande du clinicien, soit de manière active [sans demande du clinicien] en cas de prise en charge ATB empirique inadéquate pour négocier une modification du traitement avec le clinicien (ex: pas d'ATB instaurée, ou ATB inadaptée au germe...), ou en cas d'instabilité du patient, ou si nécessité de compléter le bilan paraclinique (ex: recherche d'endocardite, de greffe septique...). Il n'intervient pas si la prise en charge est adaptée ou s'il est absent.

Analyse réalisée à partir d'une base de données anonymisée (logiciel Epidata), ayant inclus en prospectif, en collaboration avec les microbiologistes, des données cliniques, microbiologiques et d'ATB des bactériémies significatives entre le 01/01/2009 et le 30/06/2012. Une analyse multivariée par régression logistique (logiciel STATA 7) des facteurs pouvant influencer la mortalité était effectuée.

Étaient recensés 1347 épisodes bactériémiques. L'âge moyen des patients (pts) était de 69±18 ans, le taux d'immunodépression (ID) était de 57%, on notait 162 décès (12%). Le référent était intervenu dans 615 (45%) dossiers. Une ATB empirique avait été instaurée pour 1066 pts (79%) et au moins 1 ATB était efficace sur le germe pour 843 pts (79%). Dans le groupe Décès, l'âge moyen était plus élevé (72ans vs 69 ans; p=0,006), l'ID était plus fréquente (67% vs 55%; p=0,006), la proportion de *S. aureus* était plus élevée (33% vs 17%; p<0,0001), l'intervention du référent était plus rare (17% vs 49%; p<0,0001) et l'ATB probabiliste était moins fréquemment efficace (71% vs 80%; p=0,025) que dans le groupe Survie. En analyse multivariée, les facteurs prédictifs de survie étaient l'intervention d'un référent en ATB (OR=0,16; p<0,0001) et l'efficacité de l'ATB empirique instaurée (OR=0,51; p<0,0001), alors que *S. aureus* (OR=3,40; p<0,0001) était associé à un sur-risque de mortalité.

Le référent en ATB, grâce à un suivi prospectif des bactériémies, peut avoir un impact positif sur la survie des pts à J7.

Évaluation pharmaco-économique de l'utilisation d'un générique de l'Imipénème (Bacquire®) dans la prise en charge des infections nosocomiales : expérience du SMIT (CHU de Treichville, Abidjan, Côte d'Ivoire).A. Akoubet^{1,2}, M. Amichia^{4,2}, E. Adouko¹, C. Mossou^{2,3}, S. Eholié^{2,3}, E. Bissagnéné^{2,3}¹Pharmacie Centrale ²Service des maladies infectieuses et Tropicales, CHU de Treichville ³Département de maladies infectieuses et de dermatologie ⁴Pharmacologie, Université de Cocody, Abidjan, Côte d'Ivoire

Introduction : Les infections nosocomiales (IN) sont en augmentation croissante en RCI, mais demeurent sous notifiées. Leur prise en charge repose sur des antibiotiques actifs sur les bactéries multi résistantes: les Carbapénèmes, dont la molécule disponible en Côte d'Ivoire est l'Imipénème. Utilisée au SMIT depuis 2000, son coût reste élevé et hors de portée pour la majorité des patients.

L'objectif était de rapporter l'expérience de l'utilisation d'un générique de l'Imipénème (Bacquire®) au SMIT, et d'évaluer les coûts additionnels occasionnés par la prise en charge des IN.

Méthodologie : Étude rétrospective menée au SMIT de Janvier 2007 à Mai 2012, incluant les malades hospitalisés, ayant reçu le Bacquire®. Données recueillies: nombre de cas d'infections bactériennes liées aux soins, nombre de prescriptions de Bacquire®, nombre de jours de traitement prescrits, nombre de jours de traitement reçus, durée d'hospitalisation, coûts directs et indirects des frais médicaux liés à l'IN.

Les critères de jugement étaient le Taux de pénétration (rapport du nombre de prescriptions de l'Imipénème sur le nombre d'IN bactériennes) et l'Indice de Satisfaction de la prescription (rapport du nombre de jours de traitement prescrits sur le nombre de jours de traitement reçus).

Résultats : Sur 3800 patients hospitalisés et ayant bénéficié d'une antibiothérapie à l'admission, 3.1% ont présenté une IN dont 1.7% d'origine bactérienne. Le taux de pénétration du Bacquire® était de 89%. L'apparition de l'IN entraînait un allongement du temps d'hospitalisation de sept jours à deux semaines, ainsi qu'une élévation des frais d'hospitalisation et de traitement liés à l'instauration du Bacquire®. Au total, on avait une majoration des frais d'un montant minimum de 300.000 FCFA.

La prescription était respectée chez 20% des patients, soit 80% de défaut de perfusion du traitement entraînant une forte probabilité d'échec thérapeutique et clinique et un risque accru de résistances bactériennes.

Conclusion : Les infections nosocomiales en milieu hospitalier sont croissantes. Leur traitement est basé sur l'utilisation de l'Imipénème associé principalement aux Aminosides. Cependant, leur survenue en cours d'hospitalisation pose un problème de prise en charge, du fait des coûts additionnels qu'ils génèrent, avec pour conséquence des risques d'aggravation

de l'état clinique du malade ainsi que des risques de résistance bactériennes, mettant en péril l'efficacité de la molécule. Il en ressort l'intérêt pour le comité thérapeutique de mettre en place un comité de lutte contre les infections nosocomiales, chargé de la prévention de ces infections et du contrôle de l'utilisation de l'Imipénème.

Les patients sous traitement ARV au Burkina Faso : analyse de la cohorte de l'année 2010 des patients sous traitement ARV.

I. Zabsonre, R. Cazal Gamelsi, M.J. Sanou

Ministère de la santé, Ouagadougou, Burkina Faso

Contexte : Le Burkina Faso est en situation d'épidémie généralisée du VIH avec une séroprévalence de 1,2% depuis 2009. Le taux de survie des cohortes de patients sous traitement ARV n'ont jamais été évalués par des études nationales. Nous nous sommes ainsi proposés d'établir dans toutes les structures de prise en charge du pays l'évolution et la survie de tous les patients pour l'année 2010 à la date du 30 septembre 2011.

Méthode : Les dossiers médicaux des patients et les fichiers de dispensation des ARV des 50 structures visitées ont servi de base à cette étude. Aussi, les échanges avec l'équipe soignante ont permis de collecter des informations supplémentaires sur l'issue du suivi des patients.

Résultats : Dans cette étude, 2705 inclusions sous traitements ARV ont été réalisées dans les 50 structures. 95 patients ont été transférés dans ces structures et 50 patients ont été transférés ailleurs. Notons que 59,63% soit 1613 patients sont restés sous le même traitement ARV 12 mois après leur initiation. 447 patients ont changé leur traitement mais sont restés sous la première ligne de traitement. Les patients qui sont passés en deuxième ligne de traitement sont au nombre de 17 soit 0,62%. 2053 patients étaient connus en vie 12 mois après leur inclusion sous traitement ARV soit une survie globale de 75,9%. 19 patients ont arrêté leur traitement pour des raisons inconnues. Nous avons notés 168 décès et 459 patients sont déclarés perdus de vue. L'ensemble des patients défaillant dans leur suivi étaient 578 soit 21,36%.

Conclusion : Le suivi de la survie des cohortes de patients sous traitement ARV est un bon indicateur de qualité des programmes de prise en charge des patients infectés par le VIH. Dans notre étude, seulement 75,9% des patients sont toujours connus en vie et suivis dans les différentes files actives. Des efforts méritent d'être consentis dans notre pays pour améliorer cet indicateur par des stratégies participatives.

Mots clés : ARV, cohorte, survie, Burkina Faso.

Dépistage tardif de l'infection VIH en Algérie : facteurs déterminants et conséquences.

M. Rais, A. Ouyahia, W. Guenifi, A. Gasmî, S. Mechakra, H. Boukhrissa,

A. Lacheheb

Maladies Infectieuses, Sétif, Algérie

Objectif : Le travail que nous avons réalisé a pour objectif principal d'évaluer le retard au diagnostic de l'infection par le VIH chez les patients hospitalisés à la clinique des maladies infectieuses du CHU de Sétif en Algérie. Il visait aussi à identifier les facteurs favorisant ce dépistage tardif.

Introduction et méthodologie : Le pronostic de l'infection par le VIH a été nettement amélioré par l'avènement de la trithérapie. Les bénéfices de ce traitement sont meilleurs lorsque les médicaments antirétroviraux sont introduits à temps dans l'histoire de la maladie, avant les stades tardifs.

En Algérie comme en Europe beaucoup de personnes atteintes par le VIH ne se présentent pour un dépistage et un traitement qu'au stade avancé de l'infection. Le dépistage et la prise en charge tardifs augmentent la morbidité et dégradent la qualité de vie de ces patients

Ce retard à la mise sous traitement est la principale cause des nombreux décès observés chez les sujets infectés par le VIH sous traitement antirétroviral dans notre service.

Nous avons réalisé chez les patients infectés par le VIH hospitalisés à la clinique des maladies infectieuses de Sétif entre 1999 et 2011: une étude descriptive des aspects épidémiologiques, évolutifs et des antécédents pathologiques récents.

Résultats : Deux cent vingt quatre patients ont été inclus, avec une moyenne d'âge de 42,7 ans et un sex-ratio de 1,08. La diarrhée chronique (100%) et/ou la candidose orale et ou œsophagienne (90%) ont été les principales circonstances de découverte. Le retard diagnostic était de 10±4, mois en moyenne.

Les principaux diagnostics retenus étaient la tuberculose (33 cas), les entérocolites infectieuses presque 100% des cas) et la pneumocystose pulmonaire. La majorité des patients (90%) étaient au stade de sida et 72,7% avaient un taux de CD4

Conclusion : Une politique d'éducation et de sensibilisation des populations devrait être instaurée pour une consultation plus précoce dans les structures sanitaires ou les centres de dépistage anonyme et volontaire.

Les tendances évolutives de la mortalité due à l'infection par le VIH dans l'ouest algérien.

N. Mouffok, A. Kouiad Belkadi, S. Abidi, F. Razik, A. Benabdellah
Maladies infectieuses, Centre de référence IST/VIH/SIDA, Centre Hospitalier Universitaire d'Oran, Oran, Algérie

Introduction : Notre étude montre les tendances évolutives de la mortalité due à l'infection par le VIH depuis l'émergence de cette épidémie dans notre région 1990.

Méthodologie : L'étude porte sur le VIH en tant que cause initiale de décès entre 1990 et 2011.

Résultats : La mortalité due à l'infection révèle trois importantes phases, dont la première entre 1990 et 1998 qui montre une mortalité de l'ordre de 66%, une deuxième phase entre 1998 à 2006 où on nota une nette décroissance des décès avec une meilleur qualité de vie des patients grâce à l'introduction des antirétroviraux dans notre hôpital. Une troisième phase de 2006 à 2011 où on nota une élévation du nombre de décès secondaire à la mauvaise observance et l'échec thérapeutique, les pénuries fréquentes des médicaments dans notre région et la fréquence encore de nos jours, des consultations à des stades tardifs de la maladie. Les décès surviennent en majorité chez les hommes cependant le nombre de décès chez les femmes est en progression. La mortalité intéresse surtout chez les 40-55 ans. A ce jour, notre file active de patients VIH (+) est de 2400 cas, nous avons eu 421 cas (18%) de décès et 93 (6%) de perdus de vue. Les décès notifiés liés à l'infection VIH sont principalement en rapport avec des maladies opportunistes. Dans 1/3 des cas d'autres causes sont impliquées comme: les tumeurs malignes, les maladies cardiovasculaires voire indéterminées.

Conclusion : La régression spectaculaire des décès chez les patients infectés par le VIH à partir de 1998 à l'ouest algérien est le résultat de l'introduction de la thérapie antirétrovirale dans notre région et de la chimioprophylaxie des infections opportunistes. Cette baisse s'est stabilisée jusqu'en 2006 puis une recrudescence des décès est apparue à cause de l'ampleur de l'épidémie actuelle, la mauvaise observance due à des problèmes socio-économiques voire l'éloignement du lieu de résidence, et la répétition des pénuries des médicaments durant cette période. Les causes de décès sont variées dominées par l'immunodépression et les infections opportunistes mais d'autres facteurs sont incriminés qu'il faut rechercher et prévenir.

Évolution à court et moyen terme des enfants infectés par le VIH en Algérie.

N. Mouffok, S. Abidi, A. Belkadi Kouiad, A. Benabdellah
Maladies infectieuses, CHU Oran, Oran, Algérie

L'infection à VIH a émergé en pédiatrie dans notre région à partir de l'an 1995, et depuis le nombre est en croissance. La pathologie demeure méconnue par les praticiens de ville et le diagnostic reste toujours tardif. Le pronostic a été amélioré ces dernières années par la thérapeutique antirétrovirale.

Objectifs Principal : Étudier le pronostic à court, moyen et long terme des enfants infectés par le VIH, décrire les différentes thérapeutiques; étudier la réponse clinique et biologique et leur insertion dans la vie normale.

Méthodologie : Cohorte prospective de 175 enfants dont 103 vivants et suivis à ce jour, les autres sont décédés et/ou perdus de vue. Les mamans n'ont pas connues leur séroposivité durant la conception mais bien après l'accouchement.

Les modalités du suivi: Tous les 3 mois, suivi clinique, biologique (hémogramme, charge virale)

Résultats : 76% avaient moins de cinq ans au moment du diagnostic (1 mois-10 ans, moy: 23 mois ± 6 mois), la sex ratio: 1.4 et la transmission verticale a été évoquée 94%, l'allaitement maternel a été noté dans 83%. La diarrhée chronique (61%), les infections pulmonaires (46%), la tuberculose dans toute ses formes (26%), le retard statur pondérale (42%), les adénopathies persistantes (61%), le molluscum contagiosum (34%), les candidoses orales (63%), la mauvaise dentition (43%), la fièvre inexplicable (23%), la pneumonie lymphoïde interstitielle (22%), la parotidite chronique (16%), l'otite purulente (51%), des manifestations neurologiques (9.1%), étaient les signes les plus évocateurs. Le traitement antirétroviral a été instauré chez 52% des enfants, (22%) sont décédés et (15%) ont été perdus de vue.

Conclusion : La transmission du virus est verticale dans la quasi-totalité des cas. Ces enfants n'ont pas fait l'objet de la PTME vu que les mamans n'ont pas été connues séropositives avant l'accouchement. Les enfants infectés deviennent symptomatiques dans une moyenne d'âge de 23 mois. Le retard statur pondéral, la lymphadénopathie généralisée, les signes respiratoires, ORL et digestifs chroniques étaient les signes les plus fréquents. La parotidite hypertrophique chronique, la pneumonie lymphoïde interstitielle, le *molluscum contagiosum* diffus et les caries dentaires multiples et précoces étaient des signes qui caractérisaient ces enfants. Devant une symptomatologie chronique chez l'enfant, ne pas se limiter à rechercher des pathologies classiques comme l'allergie respiratoire et la maladie cœliaque, et penser au dépistage. 22% d'entre eux sont décédés. Le pronostic de ces enfants a été nettement amélioré grâce à la thérapie antirétrovirale.

Troubles neurologiques associés au SIDA à Oran.

N. Mouffok, F.O. Zaoui, F. Oudrar, A. Benabdellah
AHU, Centre Hospitalier Universitaire d'Oran, Oran, Algérie

Introduction : Les manifestations neurologiques sont fréquentes dans le SIDA. Elles peuvent être révélatrices de l'infection à VIH surtout en phase avancée.

Objectifs : Décrire les complications neurologiques au cours du SIDA ainsi que leur évolution dans le service de Maladies infectieuses du CHU d'Oran.

Méthodologie : Étude descriptive prospective durant 20 mois (01 janvier 2011-31 août 2012) dans le service, de patients infectés par le VIH et présentant des troubles neurologiques. Des examens sont effectués chez ces patients comme la numération de formule sanguine, titrage de CD4, charge virale, sérologie toxoplasmique, le fond d'œil, ponction lombaire, scanner cérébral voire des examens électriques (EEG, EMG, PEV). Les patients ont été traités en fonction du diagnostic posé parfois en collaboration avec les neurologues. Leur évolution a été jugée cliniquement, radiologique et parfois électrique.

Résultats : 73 patients colligés, âgés de 36 ans en moyenne (±9 ans), dont 45 femmes et 28 hommes. Les troubles neurologiques constatés sont : 39 comas, des états psychiatriques dont 26 agitations, confusion mentale et 10 hallucinations, 11 syndromes méningés. Le taux de CD4 était en moyenne de 138/mm³. La sérologie toxoplasmique a été positive chez 12 patients en Ig M et 56 en Ig G. Le scanner cérébral a montré 7 cas de tumeur cérébrale, 18 cas de toxoplasmose cérébrale et 10 cas d'abcès cérébral. L'analyse du liquide céphalo-rachidien (LCR) a révélé dans 1 cas un liquide trouble. L'étude mycologique a retrouvé dans 18 cas des *Cryptocoques neoformans*. Les examens de fond d'œil ont révélé 12 cas d'œdème papillaire et dans un cas des tubercules de Bouchut. Les examens para-cliniques ont permis de poser un diagnostic : 7 tumeurs cérébrales, 3 méningites bactériennes, 12 méningites aseptiques de causes indéterminées, 18 toxoplasmoses cérébrales, 21 encéphalopathies sub-aiguës de diagnostic imprécis (tuberculose, listériose), 8 abcès cérébraux, 13 méningo-encéphalites tuberculeuses, 18 cryptococcoses neuro-méningées, 9 myélites, 3 mal de pott avec atteinte neurologique, 11 leuco-encéphalites multifocales. Ces patients ont été traités en fonction des diagnostics établis. Leur évolution a été marquée par amélioration complète chez 19 malades, 41 patients sont décédés et 13 sont perdus de vue.

Conclusion : Des manifestations neurologiques sont dues aux infections opportunistes, aux tumeurs, ou au virus lui-même. Les complications les plus fréquentes dans notre série sont la méningo-encéphalite subaiguë comateuse, la toxoplasmose et la cryptococose. Le diagnostic tardif de ces manifestations explique une prise en charge tardive et un pronostic réservé. Cela suggère un meilleur dépistage du VIH dans la population et une meilleure prise en charge enfin toute manifestation neurologique doit faire dépister le VIH.

Tuberculose et VIH : à propos de 87 cas.

F. Aissat, K. Aknouche, F. Lamara Mohamed, S. Khaled, A. Amrane
Maladies infectieuses, Établissement Hospitalier Spécialisé, Alger, Algérie

Introduction : La tuberculose est une des infections opportunistes révélatrice les plus fréquentes du sida.

But : Rapporter les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, radiologiques et évolutives des cas observés.

Matériels et méthodes : C'est une étude rétrospective de 87 cas de tuberculose sur infection à VIH hospitalisés entre le 01 Janvier 2007 et 31 décembre 2011. Le diagnostic a été retenu sur la conjonction d'éléments cliniques, biologiques, radiologiques, recherche de BAAR dans les crachats et l'histologie.

Résultats : Il s'agit de 87 patients adultes (73 hommes et 14 femmes) vivant avec le VIH1, avec un âge moyen de 38,9 ans. Le taux de CD4 pratiqué chez 63 patients était inférieur à 200 cellules/mm³ dans 59 cas. La symptomatologie était progressive dans tous les cas (1-5 mois). Dans les formes pulmonaires et disséminées les signes les plus fréquemment retrouvés sont l'amaigrissement (72 cas), la fièvre (65 cas), la toux (57 cas), les sueurs (14 cas), la dyspnée (11 cas) et l'hémoptysie (07 cas). L'exploration radiologique a retrouvé une atteinte pulmonaire dans 71 cas à type de miliaire, d'infiltrat interstitiel, alvéolaire et cavitaire. Les adénopathies profondes ont été retrouvées dans 36 cas. La tuberculose a été confirmée dans 56 cas à l'examen direct de crachats (22 cas), à la culture (22 cas) et à la cytoponction ganglionnaire (12 cas). Le traitement antituberculeux associant rifampicine, isoniazide, pyrazinamide et éthambutol (RHZE) a été prescrit chez tous nos patients pendant 02 mois suivi d'un traitement d'entretien par RH pendant 07 mois. Le traitement antirétroviral a été introduit après un délai variable de 15 jours à un mois. L'évolution a été fatale dans 16 cas de cause multifactorielle et favorable dans 71 cas avec un syndrome de restauration immunitaire dans 07 cas.

Conclusion : L'infection par le VIH est un facteur de risque important de tuberculose et le stade avancé d'immunodépression expose les patients à des formes atypiques et disséminées assombrissant le pronostic. La recherche de la tuberculose devrait être systématique devant toute infection à VIH et inversement.

La tuberculose au cours du syndrome inflammatoire de reconstitution immunitaire IRIS dans sa formes infectieuses : à propos de trois cas.M. Labdouni¹, A. Benabdellah^{1,2}, O.F. Zou^{1,2}¹Maladies infectieuses et tropicales ²Centre hospitalier universitaire, Service des maladies infectieuses et parasitaires, Oran, Algérie

Le traitement HAART a permis considérablement l'amélioration du pronostic des PVVIH avec une reconstitution au moins partielle des réponses immunes à l'origine d'une diminution de la fréquences des infections opportunistes cette reconstitution peut cependant être excessive et entraîner des manifestations pathologiques qui sont regroupées sous le terme d'IRIS avec trois types d'IRIS.

Forme paradoxale : C'est le déclenchement de réactions inflammatoires contre les antigènes de l'agent infectieux déjà traité.

Forme infectieuses : Après l'initiation des ARV chez un patient asymptomatique la reconstitution immunitaire dirigée contre un agent infectieux quiescent mais viable peut démasquer une infection latente.

Forme auto-immune : L'apparition ou l'exacerbation de maladies de système ou auto-immune.

Objectifs :

- Étudier les différents cas de l'IRIS
- Identifier les formes infectieuses de l'IRIS plus précisément les cas de tuberculoses
- Préciser les aspects cliniques de la tuberculose et son pronostic au cours de l'IRIS

Matériels et méthodes : Il s'agit d'une étude prospective et rétrospective de 300 dossiers de malades nouvellement diagnostiqués pour le VIH suivi au CHU Oran de 01/09/11 au 31/08/12 chez qui on a initié le trt antirétroviral et suivi pendant les trois mois qui ont suivis pour dépister les signe d'IRIS.

Résultats : Sur les 300 dossiers on a eu 03 cas d'IRIS dans sa forme infectieuses.

Première observation : S. A. âgé de 24 de sexe masculin connu depuis 04 mois pour une infection à VIH avec cachexie et mis sous ARV : efavirenz, lamivir, et zidovir.

Il revient deux mois après avec épistaxis répétées de grande abondance.

Ex clinique retrouve un patient fébrile état générale très altéré amaigrissement important.

NFS d'urgence montre une pancytopenie sévère avec 600 GB .ml⁻¹ anémie à 7, 5g.dl⁻¹ et thrombopénie à 10000 éléments.ml⁻¹, TP correcte, bilan hépatique correcte mis sous antibiothérapie à large spectre 10 jours après apparition d'une toux sèche, icterre conjonctivale persistance de la pancytopenie et du syndrome hémorragique malgré transfusions de culots plaquettaires.

TTX miliaire radiologique, moelle pauvre on a entamer une corticothérapie avec TRT anti tuberculeux RHZE et poursuite des ARV on note une disparition de la fièvre et des image radiologique régénération des différentes lignée sanguine GB 2500.ml⁻¹ Hb 10 g.dl⁻¹ Plaquette à 120000 éléments.ml⁻¹ cependant 2 semaine après le patient a fait pneumopathie nosocomiale à staphylocoque methi R évoluant dans un contexte de petite épidémie qu'il a emporté.

Deuxième observation : KK femme de 46 ans séropositive pour le VIH avec candidose à répétitions sous du trt antirétroviral a base de efavirenz zidovir et lamivir elle consulte 6 semaine après l'initiation des ARV pour fébricule sueur profuse et asthénie importante on a hospitalisé la patiente établie une courbe de T° bilan radio-biologique.

TTX miliaire radiologique TDM abdominale abcès du psoas à droite avec reins échogène.

NFS lymphopénie à 600 cytolysse légère à 3 fois la normale urée à 1 g et créatinine à 25 on a introduit le traitement antituberculeux a dose minimale efficace avec antibiothérapie à large spectre et discuter avec les chirurgiens pour un éventuel geste de drainage mais l'état de malade s'est dégradé avec état de choc irrécupérable malgré l'introduction des drogues vas actif la malade décède 24 h après.

Troisième observation : Patient B.A connu depuis pour une séropositivité initié au trt ARV par 2 mois après revient dans un tableau de polypnée fébrile avec toux sèche et douleur thoracique ayant commencé qq jrs au paravent.

Ttx miliaire radiologique à gros grain avec épanchement bilatérale de petite abondance ponction pleurale rivalta positif LDH à 562.

Trt antituberculeux avec corticothérapie bonne évolution.

Discussion : L'IRIS chez ces malades est de forme infectieuse puisque tout ces patient était asymptomatique lors de l'initiation du trt antirétroviral le délai d'apparition de ce syndrome été de 07 semaine en moyenne avec comme signe clinique la fièvre quasi constante l'altération de l'état générale qui était présente chez tout ces patient la lymphopénie qui précisait pour les trois patient on a pas pu faire la charge virale chez eux.

Tout ces patients présentent de multiples localisations constamment une atteinte pulmonaire qui suggère la porte d'entrée il s'agit d'un miliaire tuberculeuse pour les trois patients avec localisation hématopoïétique pour le premier patient et rénale avec abcès du psoas pour le deuxième patient et localisation pleurale bilatérale pour le troisième patient.

Conclusion : Le syndrome de restauration immunitaire est assez fréquent chez nos malades; la tuberculose demeure la première infection opportuniste qui apparait au décours de l'initiation du trt rétrovirale prenant l'allure de forme plus

grave que les tbc rencontrée en dehors de l'iris avec une mortalité nettement plus élevée.

Prise en charge hospitalière et libérale de l'infection par le VIH : analyse des données de la CPAM.C. Hassen-Khodja³, G. Gras², L. Grammatico-Guillon³, C. Dupuy⁴, J.F. Gomez⁴, L. Freslon⁴, L. Bernard², J.F. Dailloux¹, A. Soufflet¹¹Réseau Ville-Hôpital (RVH 37) ²Service de Médecine Interne et Maladies Infectieuses, CHRU Tours, université François Rabelais ³Service d'Information Médicale et d'Economie de la Santé (SIMEES), CHRU Tours, université François Rabelais ⁴Service médical de la Caisse Primaire d'Assurance Maladie (CPAM 37), Tours, France

Objectif : La prise en charge (PEC) du VIH a considérablement évolué au cours de la dernière décennie. Peu de données existent sur la réalité de la prise en charge extrahospitalière. L'objectif de l'étude était de décrire les différents types de prise en charge.

Méthode : Étude rétrospective menée entre mars 2009 et décembre 2010 des données CPAM d'un département après anonymisation. Les critères d'inclusion étaient: >18 ans, prescription d'un traitement antirétroviral. Les données relatives aux modalités de prise en charge (prescripteur, délivrance du traitement et bilans (CD4, charge virale)) ont été analysées.

Résultats : L'analyse a porté sur 662 patients (âge moyen: 44,3; sex ratio: 1,8). Le coût journalier moyen du traitement était de 30,4 euros (±9,3) et la fréquence annuelle de bilan de 2,1 (±1,6). Une PEC hospitalière stricte (prescription, délivrance, biologie) était notée pour 197 patients (29,8%), extrahospitalière stricte pour 19 (2,9%) et mixte pour 446 (67,4%). Pour les patients avec une PEC mixte, le prescripteur restait majoritairement hospitalier dans 71,5% (319/446) des cas. Des traitements antirétroviraux étaient délivrés en ville pour 91,9% des patients mixtes (410/446) et 41,3% (184/446) des patients mixtes effectuaient des bilans en extrahospitalier. Près d'un tiers des patients (138/446=30,7%) prenait exclusivement leur traitement en officine et leur bilan en libéral. On n'observait pas de différence entre les populations hospitalière et libérale pour: âge, sexe, coût et conformité des prescriptions. La fréquence d'un changement de traitement et la périodicité des examens biologiques des patients hospitaliers étaient supérieurs à ceux des patients libéraux (p<0,05).

Conclusion : Si la PEC de l'infection par le VIH semble se tourner vers le milieu extrahospitalier (traitement, biologie), le prescripteur reste majoritairement exclusivement hospitalier (516/662=77,9%). L'analyse des données de la CPAM permet, à grande échelle et de manière exhaustive, d'évaluer les modalités de PEC et les aspects médico-économiques.

Profil des patients découverts séropositifs au VIH en 2011 en Savoie.D. Boisseau, C. Matz, C. Gaudin, E. Forestier, O. Rogeaux
Centre hospitalier, Chambéry, France

Objectif : En Savoie et Haute-Savoie, le taux d'incidence du VIH est calculé 2,22 pour 100 000 habitants versus 7,77 pour 100 000 habitants en France. Nous avons voulu savoir si cette incidence était liée à une activité de dépistage moins performante qui se traduirait des découvertes plus tardives du VIH et quelles étaient les conditions de dépistage.

Méthodes : Les données concernent les nouveaux cas de VIH découverts dans les différents centres de Savoie et Haute-Savoie (6) au cours de l'année 2011. Les données issues de la déclaration obligatoire ont été vérifiées et complétées à partir des dossiers des patients. Une découverte tardive de séropositivité est définie par un taux de CD4 inférieur à 200 ou un événement classant SIDA. Les données nationales sont issues de l'InVS pour l'année 2008 (recueil complet le plus récent).

Résultats : Il y a eu 59 découvertes de séropositivité au VIH en Savoie et Haute Savoie dont 12 (7%) avec des taux de CD4 inférieur à 200 ou avec un événement classant SIDA. Il y a une différence significative avec les taux nationaux (906/4975 (18%)). Le profil des nouveaux patients retrouve un sex ratio homme/femme à 1,1 (1,9 au niveau national). Les femmes nouvellement découvertes séropositives sont dans la moitié des cas d'origine subsaharienne: 42% (12/27) (39,7% au niveau national). Les hommes sont homosexuels dans 77% (24/31) des cas contre 38,4%(1261/3267) au niveau national. Le dépistage a été effectué dans 2/3 des cas par le médecin traitant, 1/10 au CDAG et 1/3 à l'hôpital. Il a été proposé pour 1/3 des cas de manière systématique, 1/3 devant point d'appel clinique et 1/3 devant la découverte de séropositivité chez le partenaire.

Conclusions : Si seul 1.1% (59/4975) des nouveaux cas nationaux en 2011 sont savoyards, cette étude montre que le dépistage du VIH est pourtant appliqué avec la même efficacité loin des grandes métropoles, voire avec un dépistage plus précoce. Les médecins généralistes sont très impliqués dans le dépistage. Néanmoins, le faible taux de personnes hétérosexuelles découvertes séropositives par rapport aux taux nationaux, notamment chez les hommes laisse penser que le dépistage est encore trop ciblé sur les populations à risques. Il faudra accroître le taux de dépistage systématique de la population générale.

Impact de l'internalisation de *Staphylococcus aureus* sur la différenciation ostéoclastique.

S. Trouillet^{1,2}, M. Gallet³, P. Nauray³, J.P. Rasigade^{1,2}, P. Jurdic³, F. Laurent^{1,2}
¹Laboratoire de Bactériologie, HCL²Pathologie bactérienne et immunité innée, INSERM U851³École Normale Supérieure de Lyon, Institut de Génétique Fonctionnelle de Lyon, Lyon, France

L'ostéomyélite, principalement causée par *S. aureus*, est caractérisée par une destruction progressive du tissu osseux. Les interactions entre *S. aureus* (SA) et les ostéoblastes, responsables de l'ostéosynthèse, ont été bien étudiées: SA via la protéine liant la fibronectine (FnBP) est facilement internalisée. Toutefois, les interactions entre SA et les ostéoclastes (OC), cellules responsables de l'ostéolyse ont été peu documentées. L'objectif de cette étude a été d'étudier l'impact de l'infection à SA sur l'ostéoclastogénèse pendant les phases précoces et tardives de différenciation cellulaire.

Méthodes : Dans les phases précoces de différenciation cellulaire, les précurseurs ostéoclastiques (souris C57/Bl/6J), ont été infectés par la souche 8325-4 ou par son mutant isogénique DU5883 (FnBP-) à une MOI 50:1 en présence des facteurs de différenciation ostéoclastique (M-CSF et RANKL). Dans les phases tardives, les OC matures obtenus après trois jours de différenciation ont été infectés selon le même protocole.

Le niveau d'internalisation a été évalué par dénombrement des bactéries intracellulaires à H+2 post-infection par étalement sur gélose. L'impact sur la différenciation ostéoclastogénique a été évalué par identification (analyse d'image) et dénombrement des cellules multinucléées TRAP positives (3 expériences en duplicat).

Résultats : L'infection des précurseurs ostéoclastiques avec la souche 8325-4 ou DU5883 inhibe l'ostéoclastogénèse par rapport aux cellules non infectées (respectivement, 27±28, 22±25 et 713±184 cellules TRAP positives/puits). A l'inverse, aucune différence n'a été observée entre les OC matures infectées et non-infectées. Toutefois, un phénotype inhabituel (cellules géantes hautement multinucléées) a été observé chez 50% des OC infectés vs 8% des OC non infectés. Enfin, on note que les OC matures internalisent 60 fois plus de bactéries que les précurseurs, indépendamment de la présence de FnBP.

Conclusion : Nos résultats indiquent que l'infection par SA des précurseurs inhibe la différenciation ostéoclastique, tandis qu'elle provoque une augmentation des phénomènes de fusion des OC matures avec un mécanisme indépendant de FnBP. Les conséquences sur l'activité de résorption osseuse sont en cours d'évaluation.

Rôle de la protéine IQGAP1 dans l'infection à *Helicobacter pylori* et dans l'adénocarcinome gastrique.

E. Bessède^{1,2}, M. Tsuchiya^{1,2}, L. Chambonnier^{1,2}, P. Dubus³, A. Buissonnière^{1,2}, A. Giese³, F. Mégraud^{1,2}, C. Varon^{1,2}
¹INSERM, U853²Laboratoire de Bactériologie³Laboratoire Histologie et Pathologie Moléculaire des Tumeurs, Université de Bordeaux, Bordeaux, France

IQGAP1 est un membre de la famille IQGAP de protéines « d'échafaudage ». C'est un composant de la voie de signalisation par laquelle Cdc42 ou Rac1 modulant l'adhésion cellulaire due à la cadhérine. Cette protéine joue donc un rôle crucial dans l'adhésion cellulaire. Les adénocarcinomes gastriques sont classés en 2 types: le type intestinal, le plus fréquent, et le type diffus. Près de 30% des cancers de type diffus sont associés à une mutation du gène *cdh1* de l'E-cadhérine, mais l'origine des 70% autres n'est pas connue. Des mutations de l'IQGAP1 ont été détectées seulement dans le cancer diffus. Notre but a été d'étudier si IQGAP1 avait un rôle dans la genèse du cancer gastrique dans le contexte d'une infection à *Helicobacter pylori*.

Des souris (n=80) de type sauvage ou mutantes pour IQGAP1(+/-) ont été infectées par différentes souches d'*Helicobacter* (*Helicobacter felis*, *Helicobacter pylori* SS1 et HPARE). Les souris ont été sacrifiées après 6 mois et 1 an et leurs estomacs obtenus. Une analyse anatomopathologique a été réalisée: inflammation, hyperplasie, atrophie, métaplasie et dysplasie ont été évaluées pour chaque souris. Six mois après l'infection, les souris IQGAP1+/- avaient développé plus de métaplasie muqueuse que les souris de type sauvage, alors qu'il n'y avait pas de différence pour les autres critères étudiés, mais ils étaient tous supérieurs à ceux des souris infectées. Un an après l'infection, il existait une différence significative entre les souris sauvage et les souris IQGAP1+/- . Celles infectées par la souche de *H. pylori* HPARE avaient développé plus d'hyperplasie, d'atrophie, de métaplasie muqueuse et pseudo intestinale et de dysplasie.

Ces résultats sont en faveur d'un rôle de la protéine IQGAP1 dans l'adénocarcinome lié à l'infection à *H. pylori*.

La transition « épithélio-mésenchymateuse » induite par *Helicobacter pylori* génère des cellules présentant des propriétés des cellules souches cancéreuses.

E. Bessède^{3,1,2}, C. Staedel⁴, L. Chambonnier^{3,1}, F. Mégraud^{3,1,2}, C. Varon^{3,1}
¹INSERM, U853²CHU Pellegrin, Laboratoire de Bactériologie³Laboratoire de Bactériologie⁴Laboratoire RNA: Natural and Artificial Regulation (ARNA), Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

Helicobacter pylori est une bactérie associée à l'adénocarcinome gastrique. Cette bactérie possède plusieurs facteurs de pathogénicité dont la cytotoxine CagA qui est une protéine oncogène. CagA va induire sur des cellules épithéliales gastriques en culture, l'apparition d'un phénotype particulier dit « colibri » qui correspond à une elongation cellulaire évoquant la transition épithélio-mésenchymateuse (EMT). L'EMT est un phénomène bien décrit et impliqué dans la carcinogénèse. Au cours de notre étude, nous avons voulu confirmer que *H. pylori* induisait une EMT et nous avons voulu déterminer si cette EMT générerait des cellules souches cancéreuses.

Des cocultures avec différentes souches de *H. pylori* délétées ou non pour CagA ont été réalisées sur les cellules épithéliales gastriques de la lignée AGS. L'expression de différents marqueurs épithéliaux et mésenchymateux a été étudiée par RT-PCR, cytométrie en flux et immunofluorescence. Puis, les propriétés de migration et les capacités des cellules infectées par *H. pylori* à former des « tumorsphères » ont été évaluées. Enfin, des tris cellulaires ont été réalisés à partir d'un marqueur connu des cellules souches cancéreuses gastriques (CD44) sur des cellules infectées par *H. pylori* afin d'observer si *H. pylori* favorise l'émergence de cellules souches cancéreuses. Puis, les propriétés de migration et la capacité à former des « tumorsphères » des 2 fractions cellulaires obtenues ont été étudiées.

Au final, cette étude montre que *H. pylori* induit une augmentation de l'expression des marqueurs mésenchymateux (Snail1, ZEB1, Vimentine) évoquant une EMT ainsi qu'une augmentation de l'expression de CD44. Cette EMT engendre l'émergence de cellules ayant des propriétés de cellules souches cancéreuses. Des travaux d'évaluation de la capacité de ces cellules à former des tumeurs chez la souris sont actuellement en cours.

Modèle de lymphomagenèse gastrique chez la souris BALB/c thymectomisée à trois jours de vie et infectée par la bactérie *Helicobacter pylori*.

A. Hocès De La Guardia⁴, P. Dubus³, L. Chambonnier⁴, D. Crisment⁴, P. Costet⁵, B. Rousseau⁵, F. Mégraud^{4,1,2}, P. Lehours^{4,1,2}
¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Pellegrin²CNR des Campylobacters et des Hélicobacters³EA2406⁴INSERM U853⁵Animaleries A1 et A2, Université Bordeaux Segalen, Bordeaux, France

Le rôle causal de l'infection par la bactérie *Helicobacter pylori* dans le lymphome gastrique de type MALT (GML) est bien documenté. La stimulation antigénique exercée par *H. pylori* aboutit à une prolifération lymphocytaire monoclonale B organisée en follicules lymphoïdes au niveau de la muqueuse gastrique.

Une équipe Japonaise a décrit le modèle de souris BALB/c thymectomisées à trois jours de vie (d3Tx) et infectées par la souche de *H. pylori* TN2GF4. Ces souris développaient des lésions lymphomateuses à 12 mois post-infection. Ce modèle constituerait donc un outil d'étude du GML. Notre objectif était d'utiliser ce modèle de souris mais ici infectées par des souches spécifiquement associées à cette pathologie.

Des souris BALB/c d3Tx ont été générées au sein de nos animaleries. L'efficacité de la thymectomie a été vérifiée par cytométrie en flux. Seules les souris présentant une lymphopénie circulante (diminution du % de L_y CD3⁺ et TCRb⁺) ont été infectées par les souches de lymphome B38 et B47, mais aussi avec les souches témoins SS1, TN2GF4. Un groupe témoin non infecté a également été constitué. Lors des sacrifices à 12 mois post-infection, une partie des estomacs a été mise en culture afin de réisoler la souche, l'autre partie étant réservée à l'étude histologique.

H. pylori a été ré isolé dans 97,5% des souris. Une inflammation très importante était présente constituée soit d'un infiltrat mixte à polynucléaires neutrophiles et éosinophiles et de lymphocytes d'aspects normaux soit notamment, et ce dans 25 à 70% des souris infectées, de follicules lymphoïdes multiples à centre clair composés de lymphocytes de grande taille accompagnés de lésions lymphoépithéliales. Ces caractéristiques histologiques étaient particulièrement marquées pour les souris d3Tx infectées par la souche de lymphome B47. Les estomacs des souris non infectées étaient normaux.

La thymectomie des souris à 3 jours de vie crée probablement les conditions immunologiques favorables à l'induction par *H. pylori* d'un processus lymphomateux. Il reste à démontrer si cela est lié à une déplétion partielle en lymphocytes Treg et/ou signale une composante auto-immune dans cette pathologie. L'évolution histologique semble souche-spécifique et est particulièrement intense en présence de souches de lymphome.

Étude du rôle de la gamma-glutamyl transpeptidase de *Campylobacter jejuni* sur l'apoptose des cellules épithéliales et la prolifération lymphocytaire.P. Floch³, A. Hocès De La Guardia³, F. Mégraud^{3,2,1}, P. Lehours^{3,2,1}¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Pellegrin ²CNR des *Campylobacters* et des *Helicobacters* ³Université Bordeaux Segalen, INSERM U853, Bordeaux, France

15 à 20% des souches de *Campylobacter jejuni* produisent une gamma-glutamyl transpeptidase (GGT). La GGT de *C. jejuni* présente 75% d'homologie protéique avec celle de *Helicobacter pylori* suggérant une activité conservée. Contrairement à la GGT de *H. pylori* qui a fait l'objet de nombreuses études, la GGT de *C. jejuni* a été peu étudiée. Cette enzyme n'est pas indispensable à la bactérie, une délétion du gène *ggt* n'inhibant pas la croissance bactérienne, mais elle apporte un avantage dans la colonisation gastrique.

Notre objectif était d'évaluer, à l'image des données disponibles pour *H. pylori*, l'activité inhibitrice et éventuellement proapoptotique de la GGT de *C. jejuni*, sur des cellules épithéliales intestinales et des lymphocytes humains.

Pour cela, nous avons étudié l'activité de surnageants d'une souche de référence de *C. jejuni* GGT positive et de son mutant GGT-KO sur la prolifération des cellules AGS et Caco2 à l'aide d'un test basé sur l'utilisation du MTS tetrazolium. L'activité proapoptotique et son influence sur le cycle cellulaire des lymphocytes a été étudiée selon la méthode de Nicoletti basée sur l'utilisation d'iode de propidium. L'action inhibitrice de la GGT sur la prolifération lymphocytaire a été évaluée par incorporation de BrdU.

La GGT de *C. jejuni* inhibait la prolifération des cellules épithéliales des deux lignées testées mais sans lien avec une activité proapoptotique. La GGT de *C. jejuni* inhibait la prolifération lymphocytaire en provoquant un arrêt du cycle cellulaire en phase G0/1. Ces effets n'étaient pas observés avec les surnageants de la souche GGT-KO et étaient inhibés après inactivation enzymatique de l'enzyme ou en présence d'un inhibiteur pharmacologique spécifique de la GGT (acivicine).

L'activité de la GGT de *C. jejuni* est donc comparable à celle de *H. pylori* et de manière plus générale aux GGT des Epsilonprotéobactéries. Elle pourrait donc être considérée comme un facteur de pathogénicité et favoriser, grâce à l'inhibition de la prolifération lymphocytaire, la persistance de la bactérie. Ces observations vont également dans le sens d'un rôle de cette enzyme dans la physiopathologie de certaines infections chroniques à *C. jejuni*.

Identification of 5' terminally deleted enterovirus species B in cardiomyocytes of patients with idiopathic dilated cardiomyopathy.N. Lévêque^{4,2}, F. Renois^{4,2}, Y. N'guyen^{4,2}, A. Bouin^{4,2}, F. Lesaffre^{5,2}, C. Fichel^{3,2}, C. Boulagnon³, P. Bruneval¹, P. Fornès^{3,2}, L. Andréoletti^{1,2}¹Laboratoire d'anatomopathologie, Hôpital européen Georges Pompidou, Paris ²EA-4684 Cardiovir, SFR-CAP santé, Faculté de médecine ³Laboratoire d'anatomopathologie ⁴Laboratoire de virologie ⁵Service de Cardiologie, Hôpital Robert Debré, CHU de Reims, Reims, France

Background: EV RNA was detected in 8 of 24 (33%) patients suffering from idiopathic dilated cardiomyopathy. EV persistence in the heart tissue was characterized by low viral loads (from 127 to 3368 viral RNA copies/ μ g of total extracted RNA) and low positive- to negative-strand RNA ratios (from 2 to 20). These findings are consistent with the presence of previously described viral forms presenting with genomic 5' terminal deletions (TD).

Objectives: To genotype EV strains previously detected in explanted heart tissue samples and to determine sites and molecular mechanisms of EV persistence in human heart tissue from patients suffering from idiopathic DCM.

Patients: Formalin-fixed, paraffin-embedded explanted heart tissue samples from 8 idiopathic DCM adult patients previously tested positive for EV RNA detection.

Methods: *In situ* hybridization to determine EV RNA location in cardiac tissues. EV genotyping by RT-PCR and Electropray Ionization Mass Spectrometry (PLEX-ID, Abbott Ibis Biosciences). Amplification with stepped 5' terminal enterovirus-specific primers of the EV strains detected to assess the potential presence of TD EV strains.

Results: *In situ* hybridization assay and confocal microscopy analyses demonstrated that persistent enterovirus infected only clusters of cardiomyocytes in heart tissues samples. Amplification and sequence analysis of partial sequences of the 5' non-translated regions only identified enterovirus of the species B (4 CVB3, 1 CVB5, 1 CVB/ECHO, 2 unidentified). Amplification and sequencing of the 5' terminus showed deletions of 15 and 35 nucleotides in 2 and 4 patients, respectively, deleting part or all of stem a and stem-loops b in domain I. Wild-type EV strains were detected in two patients.

Conclusion: This study demonstrates, for the first time, the existence 5' terminally deleted EV-B populations in patients suffering from idiopathic DCM. Persistent replication in human cardiomyocytes of these deleted viral forms could be linked to the development of chronic cardiomyopathies.

Connaissances, attitudes et pratiques des médecins généralistes de Franche-Comté concernant le risque rabique.R. Jeanpetit², A.P. Bellanger¹, L. Millon¹, P. Marguet²¹Parasitologie-Mycologie, CHU de Besançon, Besançon ²Urgences Médicales, Centre Hospitalier Régional, Pontarlier, France

Introduction : La rage reste un problème de santé publique mondiale, fatale en l'absence d'une prise en charge spécialisée précoce. Une enquête a été réalisée afin d'évaluer les connaissances du risque rabique et de sa prise en charge chez les médecins généralistes en Franche Comté.

Méthode : 400 questionnaires ont été envoyés à des médecins généralistes installés en Franche Comté (tirage au sort). Les questionnaires comportaient 3 parties

1. recueil de données socio-démographiques et auto-évaluation,
2. QCM sur le type d'animal pouvant transmettre la rage, les critères de sévérité d'une morsure et les contre-indications au vaccin et,
3. 7 scénarios cliniques évaluant l'attitude des médecins face à des patients de tout âge exposés à des animaux domestiques ou sauvages avec griffures ou morsures.

Résultat : Le taux de réponse était de 38.5%. La majorité des médecins participants exerçait en zone rurale, 76% connaissait leur centre antirabique référent et 75% estimaient que leur connaissances sur la rage n'étaient plus à jour. Plus de 80% ont bien répondu concernant le type d'animaux vecteurs et les critères de sévérité d'une morsure. Seuls 11.69% savaient qu'il n'y avait pas de contre indication au vaccin après exposition. Les réponses aux 7 situations cliniques ont mis en évidence que le risque rabique est parfois mal évalué (39% y pensent pour un bébé exposé à un chauve souris et 55% pour un enfant dont le visage a été léché par un chien au Maroc). De forts % de non réponse ont mis en évidence une large méconnaissance des indications pour la vaccinotherapie-sérotherapie après exposition. La situation clinique 7 a également montré que 71% des généralistes ne pratiquent pas la vaccination antirabique préventive parce qu'ils pensent que ce geste relève d'un spécialiste.

Discussion/Conclusion : Il ressort de cette enquête que les généralistes présentent un niveau de connaissance théorique satisfaisant sur la rage. En revanche, le risque rabique semble être mal apprécié par la plupart des médecins généralistes en Franche Comté et les indications d'avis au centre antirabique et le traitement après une exposition potentielle au virus sont mal connus. Renforcer la formation médicale initiale et continue sur la rage semble nécessaire.

La rage humaine en Tunisie : on en est où en 2012 ?H. Harrabi², S. Samet², A. Essid², E. Turki¹, M. Ouertani²¹Service de Médecine Légale, Hôpital des Aghlabites ²Service de Médecine, Hôpital Ebn Eljazzar, Kairouan, Tunisie

Objet de l'étude : Malgré la présence d'un programme national de lutte contre la rage en Tunisie, de nouveaux cas de rage humaine sont rapportés chaque année. Le but de cette étude est d'en rapporter les cas survenus dans le gouvernorat de Kairouan en Tunisie et de chercher la cause de la persistance de cette encéphalite mortelle.

Méthodes : Les données épidémiologiques, cliniques et biologiques ont été recueillies sur dossier clinique des patients hospitalisés dans le service de Médecine pour rage humaine. La confirmation biologique de la rage a été effectuée à l'institut Pasteur de Tunis, après autopsie systématique, par technique d'immunofluorescence directe. La déclaration obligatoire a été faite dans tous les cas.

Résultats obtenus : Quatre cas de rage humaine ont été recueillis de 1996 à 2012 dans le gouvernorat de Kairouan. Ces cas étaient survenus suite à une morsure par des chiens errants en milieu rural. Il s'agissait de 2 femmes et 2 hommes d'âge moyen 50 (45- 64) ans. Le siège de la morsure était la face (2 cas) et le membre supérieur (2 cas). Le délai moyen de survenue de l'encéphalite par rapport à la morsure était de 54 jours (12- 90 jours). La présentation clinique était un état d'agitation avec hydrophobie dans tous les cas, une méningoencéphalite (2 cas). La vaccination antirabique était faite de façon complète avec sérothérapie (2 cas), incomplète (1 cas) et absente (1 cas). Le décès est survenu dans un état d'agitation dans tous les cas avec arrêt cardiorespiratoire. La confirmation biologique était faite après autopsie systématique. Aucun des chiens enragés n'était capturé.

Conclusion : La mortalité humaine a été fortement diminuée dès le début du programme national de lutte contre la rage en Tunisie. Cependant, l'éradication totale de la maladie animale reste difficile à atteindre. La négligence du risque de transmission de la rage suite à une morsure animale et par la suite le non recours à la vaccination sont les causes principales du décès. La lutte doit être plus proactive, ainsi que le rappel via les médias du risque rabique face à toute morsure.

Impact de deux interventions d'information en maternité sur la couverture vaccinale coqueluche des parents.

D. Pinquier², M. Valdigué⁵, G. Cardoso⁵, S. Roudaut², N. Mestre⁵,
G. Gremm Feger², J.F. Ferlet³, E. Caulin⁴, A. Gagneur¹

¹CHUS Fleurimont, Sherbrooke, Canada ²CHU Morvan, Brest ³RCTs ⁴Sanofi Pasteur MSD, Lyon ⁵Hôpital Charles Nicolle, Rouen ⁶Clinique Ambroise Paré, Toulouse, France

Objet de l'étude : L'objectif principal était d'évaluer l'impact de deux interventions en maternité sur la couverture vaccinale coqueluche des jeunes parents à l'aide d'une information standardisée sur l'importance de la vaccination coqueluche pour l'entourage du nourrisson associée ou non à une lettre d'information au médecin traitant et/ou au pédiatre de la famille.

Méthodes : Étude prospective, multicentrique conduite dans trois maternités (Brest, Rouen et Toulouse), entre septembre 2011 et février 2012.

Une première phase observationnelle (PO) était suivie d'une phase interventionnelle (PI) avec randomisation des couples non à jour (vaccination datant de plus de 10 ans) de leur vaccination (ou dont le statut était inconnu) entre les 2 groupes.

L'étude a été proposée à tous les parents majeurs, de façon consécutive. Les critères de non inclusion étaient le transfert du nourrisson en dehors de la maternité, son décès, l'absence de coordonnées téléphoniques valide, l'impossibilité de recueil du consentement écrit ou le refus de participation d'au moins un des deux parents.

Le critère principal de jugement était le statut vaccinal des parents, recueilli par un contact téléphonique 3 mois après la sortie de la maternité. La population principale d'analyse (PPA) était constituée de l'ensemble des sujets inclus, respectant les critères d'inclusion et de non inclusion, ayant pu être contacté à 3 mois.

Résultats obtenus : 453 sujets ont été inclus dont 414 (91,4%) dans la PPA (âge médian: mères 30 ans; pères 32 ans). A la maternité: 18,8% des mères, 19,7% des pères mais seulement 7% des couples étaient à jour de leur vaccination coqueluche. Pour les couples non à jour, respectivement 19,4% et 35,2% l'étaient 3 mois après la sortie de la maternité au décours des PO et PI, $p=0,003$ [mères 29,0% et 50,4%; pères 29,8% et 43,3% respectivement]. Il n'y avait pas de différence statistiquement significative entre les 2 interventions, $p=0,40$. La vaccination était initiée chez 92,5% des nourrissons (médiane 65j.), principalement avec un hexavalent (83,8% des cas).

Conclusion : Une information standardisée sur l'importance de la vaccination coqueluche pour l'entourage du nourrisson, lors du séjour en maternité, a un impact notable sur la couverture vaccinale des parents.

Évaluation de la couverture vaccinale diphtérie, tétanos, poliomyélite et coqueluche des adultes dans le département du Rhône.

D. Baratin³, C. Del Signore¹, J. Thierry², E. Caulin⁴, P. Vanhems³⁻¹

¹Équipe d'Épidémiologie et de Santé Publique, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, UMR CNRS 5558, Université Claude Bernard Lyon
²Groupement de laboratoires d'analyses médicales DYOMEDEA ³Hospices Civils de Lyon ⁴Sanofi Pasteur MSD, Lyon, France

Objet de l'étude : L'objectif principal était d'évaluer la couverture vaccinale (CV) diphtérie, tétanos, poliomyélite et coqueluche (dTPCa) des adultes en fonction de l'âge.

Méthode : Étude observationnelle et transversale réalisée dans 6 laboratoires d'analyses médicales (LAM) entre octobre 2010 et février 2011. Les LAM couvraient géographiquement la ville de Lyon et ses environs de manière homogène. Un questionnaire était administré par une assistante de recherche aux sujets adultes ≥ 20 ans se présentant pour effectuer un examen biologique. Les sujets ayant accepté de répondre au questionnaire et en possession d'un document preuve (DP) attestant de leur vaccination étaient incités à le rapporter. La vaccination était validée et considérée comme à jour si elle datait de 10 ans ou moins.

Résultats obtenus : Six cent quatre-vingts adultes ont répondu au questionnaire. Un document preuve a été rapporté par 225 sujets (33,1%): il s'agissait principalement de femmes (64%), de retraités (57%), la médiane d'âge était de 63 ans [min: 21- max: 87] et 81% pensaient être à jour de leurs vaccinations. Les CV à jour validées par le DP étaient de 57,8% pour la diphtérie, 78,7% pour le tétanos, 63,6% pour la poliomyélite et 10,7% pour la coqueluche. Il n'y avait pas de différence significative des CV entre les hommes et les femmes pour les 4 valences. La CV combinée dTP diminuait en fonction de l'âge ($p=0,01$): 73,5% pour les 20-40 ans, 65,6% pour les 41-60 ans, 51,4% pour les 61-80 ans et 36% pour les plus de 80 ans avec un pourcentage important d'administration du vaccin tétanique non combiné chez ces derniers (20%). Parmi les sujets qui pensaient être à jour de leur vaccination et qui avaient rapporté un document, respectivement 36,7% pour la diphtérie, 20,5% pour le tétanos, 30,4% pour la polio et 82% pour la coqueluche ne l'étaient pas. Aucune femme enceinte ($n=0/11$) n'était à jour de la vaccination coqueluche.

Conclusion : Les sujets inclus rapportant un document preuve étaient probablement mieux vaccinés que la population générale. Cependant, les résultats montrent que des efforts doivent encore être effectués pour améliorer la CV des adultes conformément aux recommandations et notamment pour la vaccination coqueluche.

La pneumonie varicelleuse de l'adulte : facteurs de pronostic.

L. Ammari, S. Aissa, A. Berriche, B. Kilani, A. Ghoubontini, H. Tiouiri Benaisa
Service des Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

La pneumonie varicelleuse représente la complication redoutable la plus fréquente de la varicelle. Elle est plus fréquente chez l'adulte que l'enfant. Le but de notre étude est de décrire les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques de la pneumonie varicelleuse (PV) afin de relever les facteurs de pronostic.

Patients et méthodes : Une étude rétrospective a été menée sur une période de 17 ans des adultes pris en charge pour pneumonies varicelleuses. Ont été inclus les patients atteints de varicelle compliquée de pneumonie varicelleuse en présence de signes respiratoires associés ou non à des anomalies radiologiques.

Résultats : 35 patients ont été hospitalisés pour varicelle. 10 cas (28,5%) de PV ont été colligés. L'âge moyen est de 35 ans et une prédominance masculine de 90% a été notée. Le tabagisme est retrouvé dans 60% des cas. Un état d'immunodépression a été objectivé chez une patiente. Autres complications viscérales de la varicelle ont été notées: une pancréatite (1 cas) et une myocardite (1 cas) La symptomatologie respiratoire est constituée de: Toux (60%), une dyspnée (70%) et une hémoptysie (2%). Un syndrome de détresse respiratoire aigüe a été notée chez 3 patients (30%). L'exploration radiologique du thorax a montré un syndrome interstitiel dans 60% des cas. Quant à la gazométrie artérielle, elle a révélée une alcalose respiratoire dans 50% des cas, une hypoxie sévère (Pa O2

Conclusion : La PV est une complication grave de la varicelle. Son diagnostic est difficile, nécessitant un ensemble de critères radio-cliniques chez un patient atteint de varicelle. Son pronostic est amélioré par la précocité du diagnostic et du traitement antiviral.

Épidémie de rubéole : année 2012, Alger.

A. Zertal

Hôpital el Kettar, Alger, Algérie

Introduction : Une épidémie de rubéole s'est déclarée dans toutes les régions de l'Algérie durant l'année 2012 sur une période de 6 mois selon les données nationales. Les cas recensés à l'EHS Laadi Flici ex El KETTAR Alger étaient en général des cas compliqués ou adressés dans un but de diagnostic étiologique de l'éruption.

La flambée de rubéole de 2012 a été marquée par la survenue avec une fréquence relativement importante de complications neurologiques de gravité variable.

Objectifs : Le but de cette étude est de rapporter l'épidémie avec ses particularités cliniques et ses complications; de souligner l'importance de la vaccination antirubéole qui n'est toujours pas obligatoire en Algérie.

Matériel et méthodes : 506 cas de fièvres éruptives suspectées de rubéole ont été enregistrés sur une période de 06 mois allant du 31 janvier 2012 au 31 juillet 2012.

Vu le contexte épidémique le diagnostic était plutôt clinique, cependant nous avons eu 50 patients confirmés sérologie positive IgM+ IgG+.

Résultats : Parmi les 506 cas colligés, 264 sont de sexe féminin dont 10 femmes enceintes. L'âge moyen est de 18 ans et chez les enfants, la tranche d'âge la plus touchée est 06 ans-12 ans. 100% des malades ont fait une éruption morbilliforme généralisée mais prédominant surtout au niveau du visage avec des adénopathies cervicales, les arthromyalgies et la conjonctivite bilatérale ont été retrouvées dans 30% des cas. La forme de l'adulte était floride et hautement fébrile. Nous avons noté des particularités cliniques chez plus de 40% de patients: persistance de l'éruption plus de 04 j (5-7j) avec notion de prurit et touchant les paumes et les plantes. 03 patients confirmés ont présenté des arthrites post rubéole: 02 femmes (17 ans-19 ans) et un homme de 25 ans qui après régression des signes cliniques, reprise de l'éruption avec arthrite des poignets et des chevilles spontanément résolutive. L'hospitalisation était motivée pour 07 patients qui ont présenté des méningo-encéphalites post rubéole confirmées à la sérologie dont 03 ont nécessité les soins intensifs. Aucun décès n'a été rapporté.

Conclusion : La rubéole reste un vrai danger pour la femme enceinte et son fœtus, la vaccination de toutes les femmes en âge de procréation permet de protéger les bébés lors de futures grossesses. Etant donné le nombre de jeunes femmes non immunisées et sachant que la fréquence habituelle des encéphalites durant les épidémies de rubéole varie de 1 pour 600 cas à 1 pour 1600 cas de rubéole la vaccination contre la rubéole doit être obligatoire dans notre pays et doit à l'avenir viser l'élimination de la rubéole en plus de la rubéole congénitale.

Plaies de guerre des blessés français sur les théâtres d'opérations en 2011-2012 : aspects microbiologiques (résultats préliminaires).

S. Larréché⁹, A. Bousquet⁹, C. Macnab², C. Soler², R. Haus Cheymol⁶, S. Ausset³, L. Bargues¹, S. Bonnet¹³, O. Chapuis⁷, S. de Rudnicki⁶, B. de Loynes⁴, S. Mèrat¹⁰, N. Mocolin⁵, D. Ollat¹², F. Pons⁵, M. Stevé¹¹, C. Rapp¹⁴, S. Rigal⁴, A. Mérens⁹

¹Centre de Traitement des Brûlés, HIA Percy ²Laboratoire de Biologie Médicale, HIA Percy ³Service d'Anesthésie-Réanimation, HIA Percy ⁴Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique, HIA Percy ⁵Service de Chirurgie Thoracique et Générale, HIA Percy, Clamart ⁶Service d'Anesthésie-Réanimation, HIA du Val-de-Grâce ⁷Service de Chirurgie Viscérale et Vasculaire, HIA du Val-de-Grâce, Paris ⁸Centre d'Epidémiologie et de Santé Publique des Armées ⁹Laboratoire de Biologie Médicale, HIA Bégin ¹⁰Service d'Anesthésie-Réanimation, HIA Bégin ¹¹Service de Chirurgie Maxillo-faciale, HIA Bégin ¹²Service de Chirurgie Orthopédique et Traumatologique, HIA Bégin ¹³Service de Chirurgie Viscérale et Vasculaire, HIA Bégin ¹⁴Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, HIA Bégin, Saint-mandé, France

La surinfection des plaies de guerre constitue la première cause de mortalité tardive chez le combattant. Une prévalence importante de bactéries multirésistantes (BMR), particulièrement d'*A. baumannii* a été rapportée par l'armée américaine.

Objectifs : Décrire l'écologie bactérienne des prélèvements microbiologiques à visée épidémiologique et diagnostique chez les militaires français rapatriés pour plaie de guerre.

Méthode : Inclusion des militaires français rapatriés pour plaie de guerre entre le 1er janvier 2011 et le 30 juin 2012 dans les 3 hôpitaux militaires parisiens. Analyse des dossiers cliniques et microbiologiques jusqu'au 15/08/2012.

Résultats : Sur les 127 blessés inclus (74% rapatriés d'Afghanistan), 99 ont bénéficié de prélèvements microbiologiques. Le dépistage de BMR à l'admission était positif dans 24% des cas: 1 *A. baumannii* résistant à l'imipénème (ABRI avec carbapénémase OXA-40, rapatriement d'Allemagne) et 23 entérobactéries productrices de BLSE, de type CTX-M exclusivement.

A l'admission, des prélèvements de plaies, os, tissus mous ont été réalisés chez 23 patients: 11 avaient au moins une culture positive, dont 1 avec une BMR (*E. coli* BLSE, en situation infectieuse). Les autres bactéries étaient: 2 *P. aeruginosa* sauvages et 1 *A. baumannii* sauvage, 2 SASM, 2 *E. faecium*, 10 entérobactéries, 2 divers. D'autres prélèvements à visée diagnostique (n=25: LBA, ECBU, hémocultures) ont été réalisés chez 22 blessés: 18/25 étaient positifs en culture. Deux bactéries sur 22 étaient des BMR (BLSE).

Au-delà de 48 heures après l'admission, des prélèvements péri-lésionnels ont été effectués chez 16 patients dont 15 avec au moins une culture positive: 4/34 souches étaient des BMR (1 SARM et 3 EBLSE). Les autres prélèvements tardifs (n=10) retrouvaient 11 bactéries (dont 1 *K. pneumoniae* BLSE et 1 ABRI).

Conclusion : Le faible taux de prélèvements à visée diagnostique à l'admission présentant une BMR (6%) contraste, particulièrement pour *A. baumannii*, avec les séries américaines et anglo-saxonnes. Dans l'Armée française, l'antibioprophylaxie des plaies de guerre repose sur des antibiotiques de spectre restreint sur une durée courte. L'étude des facteurs de risque d'infection de site opératoire et de BMR sera effectuée à la fin des 2 ans d'inclusion.

451/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE***Nocardia* isolées de patients atteints de mucoviscidose : caractéristiques cliniques, microbiologiques et moléculaires de 8 cas**
CHU de Montpellier.

P. Gomis³, H. Marchandin³⁻⁵, A.L. Michon³⁻⁵, R. Chiron², V. Rodriguez-Nava¹, S. Godreuil³⁻⁴

¹Université de Lyon, Observatoire Français des Nocardioses, Lyon ²Centre de Ressources et de Compétences pour la Mucoviscidose, Service de Pneumologie ³Département de Bactériologie-Virologie, Centre Hospitalier Régional Universitaire de Montpellier ⁴INSERM 1058 ⁵UMR 5119 ECOSYM, Equipe Pathogènes et Environnements, Université Montpellier 1, Montpellier, France

Objectifs : On observe dans la littérature l'émergence des cas d'isolement de *Nocardia* dans les prélèvements respiratoires de patients atteints de mucoviscidose (patients CF). Cependant, l'impact clinique (infection, colonisation), la diversité d'espèce ou encore la prise charge médiate chez ces patients restent encore peu documentés. L'objectif de cette étude est de décrire sur un plan clinique, microbiologique et moléculaire l'ensemble des cas de *Nocardia* isolé chez les patients CF au CHU de Montpellier.

Méthodes : Entre janvier 2000 et juin 2011, 8 cas de nocardiose pulmonaire chez des patients CF ont été mis en évidence au CHU de Montpellier. Pour chaque patient, les informations cliniques, épidémiologiques et bactériologiques (nombre de prélèvements positifs à *Nocardia*, sensibilité aux antibiotiques, pathogènes associés) ont été analysées. L'identification définitive d'espèce a été réalisée en utilisant l'amplification et du séquençage partiel des gènes codant pour l'ARNr 16S, et hsp65. Les séquences obtenues ont été comparées aux banques de données en utilisant le programme BLAST.

Résultats : Trois des 8 patients présentaient la mutation F508 homozygote

et deux patients une mutation F508 hétérozygote. Trois des 8 patients présentaient des symptômes, d'intensité variable (toux, dyspnée, rhinorrhée, bronchectasie). Cinq des 8 prélèvements étaient polymicrobiens, les pathogènes associés étant: *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* et *Haemophilus influenzae*. Des levures et des moisissures ont également été identifiées. Trois des 8 patients ont eu plusieurs prélèvements positifs à *Nocardia*, successifs ou non. Ils ont été traités soit de façon empirique soit suite à l'apparition d'une exacerbation voire d'une infection pulmonaire franche. Les traitements ont reposé sur l'utilisation d'antibiotiques en association ou non et pour une durée variable selon la gravité des symptômes (cotrimoxazole, β -lactamines, aminosides, linézolide, quinolones). Quatre espèces de *Nocardia* ont été identifiées: *N. transvalensis*, *N. abscessus*, *N. farcinica* et *N. cyriacigeorgica*.

Conclusions : L'isolement de *Nocardia* chez les patients souffrant de mucoviscidose semble en augmentation mais leur signification en termes de virulence, de pouvoir pathogène ainsi que de prise en charges thérapeutique restent encore mal connus. C'est pourquoi il serait nécessaire de développer des études clinique et épidémiologique à grande échelle ainsi que des modèles études expérimentaux afin de mieux comprendre l'implication de pathogènes chez ces patients CF.

452/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE**Des bactéries et des morts : pertinence des analyses microbiologiques lors des autopsies.**

M. Reverdy¹, A. Tristan¹, O. Dauwalder¹, T. Guinet², G. Maujean², L. Fanton², D. Malicier², F. Vandenesch¹

¹Hospices Civils de Lyon, Laboratoire de Microbiologie, Centre de Biologie et de Pathologie Est, Bron ²Institut Universitaire de Médecine Légale de Lyon, Université Claude-Bernard Lyon 1, Lyon, France

Objet de l'étude : Évaluation de la pertinence de l'analyse bactériologique des prélèvements per autopsiques dans la recherche d'une étiologie infectieuse.

Méthodes : Au cours de certaines autopsies, les médecins légistes jugent parfois nécessaire de compléter leurs investigations par des analyses microbiologiques. Selon le contexte du décès, les prélèvements bactériologiques effectués peuvent être des hémocultures, des biopsies hépatiques, spléniques, cardiaques, pulmonaires, du LCR, des urines ou des selles.

Nous avons analysés rétrospectivement les 123 dossiers confiés à notre laboratoire entre mars 2007 à juillet 2012. Ils concernaient 58 femmes et 65 hommes, âgés de quelques jours à 86 ans.

Résultats :

- Sur les 123 dossiers seulement 3 sont restés stériles.

- Nous avons pu relier de façon certaine le décès à un problème infectieux dans 33 cas en confrontant les résultats microbiologiques avec les observations des médecins légistes. Les germes en cause étaient: *Streptococcus pneumoniae* (12), *Staphylococcus aureus* (7), *Neisseria meningitidis* (4), *Escherichia coli* (3), *Fusobacterium* (2), *Yersinia enterocolitica* (1), *Streptococcus dysgalactiae* groupe G (1), *Streptococcus agalactiae* (2), et *Mycobacterium tuberculosis* (1).

- Du fait de cultures polymicrobiennes, dont font d'ailleurs partie des bactéries précédemment citées, les autres dossiers se sont révélés d'interprétation douteuse (flores commensales ou pathogènes) ou non contributifs.

Conclusions : Bien que les translocations digestives *ante* ou *post mortem* ou les souillures environnementales soient difficilement évitables dans ce contexte, ce travail montre que les analyses microbiologiques per autopsiques ont été d'interprétations faciles et très informatives dans 26,8% des cas, démontrant la pertinence de ces prélèvements.

Suite à ce travail, et si nous n'avons pas d'information précise du légiste à l'arrivée des prélèvements, nous effectuons une analyse microbiologique séquentielle: hémocultures, LCR, recherche d'antigène urinaire pneumococcique sont analysées dès réception du dossier tandis que, biopsies, qui sont polymicrobiennes dans la plupart des cas, sont conservées congelées et ne sont analysées qu'en seconde intention.

453/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE**Épidémie de syphilis : difficulté de prise en charge en médecine de ville.**

S. Weissenburger, A. Mothes, A. Pachart, A. Mahe, D. de Briel,

M. Mohseni-Zadeh, M. Martinot

Médecine E, Hôpital Pasteur, Colmar, France

Introduction : Depuis 2000 on note une recrudescence des infections sexuellement transmissibles (IST) notamment de la syphilis particulièrement dans la communauté homosexuelle.

Matériel Méthode : Nous avons analysés rétrospectivement les cas de syphilis vus au centre hospitalier de Colmar sur 36 mois (1 janvier 2009–31 décembre 2011). Les données ont été colligées à partir du PMSI, des dossiers de consultations et des données du laboratoire (1^{ère} détermination VDRL >¼). L'analyse de la consultation de médecine de ville avant prise en charge hospitalière a été systématiquement analysée.

Résultats : En 3 ans 35 cas de syphilis ont été diagnostiqués. Il s'agissait de 30 hommes et 5 femmes, d'âge moyen 45, 4 ans, 20 patients étaient

séropositifs VIH1. L'orientation sexuelle de 26 patients était connue: 16 patients homosexuels, 6 patients hétérosexuels et 4 patients bisexuels. La répartition des stades de la syphilis était la suivante : secondaire pour 17 patients (48.6%) dont 2 stade primo-secondaires et 4 cas associés (1 otosyphilis et 3 syphilis ophtalmiques), latent tardif pour 6 cas (17.2%), primaire dans 5 cas (14.3%) (dont un chancre amygdalien), neurosyphilis pour 4 patients (11.4%), latent précoce pour 3 patients (8.6%). Neuf patients avaient déjà présenté une syphilis dans leurs antécédents. La majorité des patients avaient consulté en médecine générale, 22 cas sur 35 soit 62.9% des cas. La syphilis n'avait été évoquée que pour 7 patients (31.8%). La survenue de formes à prédominance secondaire au sein de la communauté homosexuelle séropositive et l'impression au sein des médecins généralistes d'une infection « historique » semble être les 2 principales causes de mauvais diagnostique.

Conclusion : Ces données confirment la recrudescence récente de la syphilis déjà connue au niveau nationale. Elles soulignent l'importance de l'atteinte au sein de la communauté bi/homosexuelle séropositive avec une forte part de syphilis secondaires et latentes. Elle montre la nécessité d'un dépistage clinique et biologique régulier des patients séropositifs notamment homosexuels et bisexuels, l'importance d'actions de prévention au sein de cette communauté mais aussi l'importance d'actions de formation et de sensibilisation des médecins généralistes à cette pathologie ré-émergente.

454/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Diagnostic difficile de la tularémie : à propos de cinq cas.

F. Suv², M.F. Lutz², B. Payet², M. Boyer¹, F. Lucht³

¹Laboratoire de bactériologie sérologie hématologie ²Service de médecine interne et des maladies infectieuses et tropicales, Centre hospitalier général de Roanne, Roanne ³Service des maladies infectieuses et tropicales, Centre hospitalier universitaire de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

Objet de l'étude : La tularémie est une anthroponose rare des régions rurales françaises, à déclaration obligatoire, dont le diagnostic est difficile et souvent tardif en dehors des formes classiques ganglionnaires et ulcéro-ganglionnaires. Les manifestations cliniques sont en effet polymorphes, ce qui est favorisé par des voies de transmission multiples. L'objectif de notre étude est d'illustrer cette difficulté diagnostique par la présentation trompeuse des autres formes cliniques, avec iconographie à l'appui.

Méthode : Description de cinq cas inhabituels de tularémie diagnostiqués au centre hospitalier de Roanne (Loire) entre 2002 et 2010.

Résultats : Nous rapportons deux formes pulmonaires, une forme typhoïdique, une forme oculo-ganglionnaire et une forme oro-pharyngée. Les formes pulmonaires orientaient fortement vers une pathologie néoplasique initialement. En l'absence de spécificité clinique, le diagnostic a été effectué par culture, sérologie et examen anatomo-pathologique, à l'aide de l'interrogatoire, mais dans un cas sur cinq, aucun facteur de risque de tularémie n'a été identifié. Le retard diagnostique s'échelonnait de 14 à 70 jours. Le traitement antibiotique a été prolongé dans deux cas, avec régression lente de la symptomatologie.

Conclusion : Le diagnostic de tularémie reste basé en grande partie sur la connaissance d'un facteur de risque à l'interrogatoire, en particulier dans les présentations cliniques atypiques. Cependant, l'exposition au risque n'est pas toujours retrouvée. Le diagnostic est alors posé grâce à une recherche systématique de tularémie, dans une zone géographique où des cas ont été déclarés.

455/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Infections et grossesse, à propos de 61 patientes.

H. Bouchaib¹, M. Afiri¹, N. Achour¹, A. Ait Ameur²

¹Service des Maladies Infectieuses ²Service de Microbiologie, CHU Nedir Mohamed, Tizi-Ouzou, Algérie

Introduction : Les infections en cours de grossesse sont variées, l'épidémiologie des infections sévères est mal connue.

Objet de l'étude : Étude des caractéristiques épidémiologiques, cliniques et évolutives des infections en cours de grossesse.

Méthodes : Il s'agit d'un recueil rétrospectif de données à partir des dossiers de 61 femmes enceintes hospitalisées pour une infection dans notre service sur une période de 8 ans, du 1^{er} Janvier 2003 jusqu'au 31 Décembre 2011.

Résultats obtenus : Les patientes présentaient les caractéristiques suivantes exprimées en médiane: âge=29 ans (19-41), parité=2 (1-3), terme=17 semaines d'aménorrhée (9-26).

Les infections diagnostiquées ont été : Pyélonéphrite (n=18 dont 14 à *Escherichia coli* (*E.coli*) et 4 enterobacter), varicelle(n=14), grippe A(H1-N1) (n=9), chocs septiques à *E.coli*, méningo-encéphalite tuberculeuse, pneumopathie non documentées, dermo-hypodermite bactérienne, zona (n=2 pour chaque item), leptospirose ictéro-hémorragique confirmée, fièvre boutonneuse à rickettsia conorii, bactériémie à *Staphylococcus aureus*, méningo-encéphalite à pneumocoque, pleurésie tuberculeuse, cellulite faciale, miliaire tuberculeuse, rubéole, rougeole, hépatite B (n=1 pour chaque item).

Un transfert en réanimation a été nécessaire pour 7 femmes (11%), dont 3 sont décédées (choc septique, méningo-encéphalite tuberculeuse et grippe maligne). Les données de l'issue de la grossesse sont: accouchement à terme (n=56), fausse couche (n=3), mort fœtale in utero (n=1), naissance prématurée (n=1).

Conclusion : Dans notre série, les infections justifiant d'une hospitalisation en cours de grossesse sont variées, dominées par les pyélonéphrites et la varicelle. Le pronostic est engagé dans les infections sévères, notamment les méningo-encéphalites et les sepsis sévères.

456/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

La leptospirose : expérience tunisienne.

L. Ammar², M. Khalfaoui¹, B. Kilani², A. Ghoubtini², A. Berriche², R. Abdelmalek², H. Tiouiri Benaissa²

¹Service de Médecine interne, Mermzel Bourguiba ²Service des Maladies infectieuses et tropicales, Hôpital La Rabta, Tunis, Tunisie

La leptospirose est une anthroponose due à un spirochète du genre *Leptospira*. Sa présentation clinique est polymorphe pouvant aller du syndrome pseudogrippal à une atteinte multiviscérale sévère. Le but de ce travail est de décrire les caractéristiques épidémiologiques, cliniques et thérapeutiques de la leptospirose.

Patients et méthodes : Nous avons mené une étude rétrospective à partir de patients hospitalisés au service de maladies infectieuses de Tunis et de Menzel Bourguiba entre 200 et 2009. Les patients inclus présentent des signes cliniques compatibles avec une leptospirose associés ou non à une confirmation sérologique (IgM à 1/400(ELISA) et/ou le test de microagglutination de Martin et Petit à 1/100).

Résultats : 7 patients de sexe masculin ont été inclus. L'âge moyen est de 43 ans (32-73 ans). Une exposition aux rats a été notée dans 4 cas. Sur le plan clinique, le début est brutal dans 57% des cas. Cinq patients (71%) ont présenté un ictère cutanéomuqueux, associé à une hépatomégalie dans 14%. Des myalgies associées à une rhabdomyolyse ont été objectivées dans 71% des cas. Les localisations viscérales sont variables: une méningite à LCR clair normoglycorachique et hyperprotéinorachique (1 cas), une pneumopathie (4 cas), une insuffisance rénale aiguë (6 cas), une hépatite cytolitique (7 cas) et une cholestase ictérique (5 cas). Un syndrome hémorragique cutanéomuqueux a été observé chez 4 patients (57%). La sérologie de la leptospirose a été réalisée positive chez tous les patients, révélant un taux moyen d'Ig M par le technique ELISA(115 UI/ml) et un test de Martin et Petit est positif. Tous les patients ont bénéficié d'une antibiothérapie à base d'ampicilline (3 cas), doxycycline (3 cas, et céfotaxime (1 cas). La durée moyenne totale est de 17 jours (10-30 jours). Une épuration extra-rénale a été réalisée chez 2 patients. L'évolution a été favorable dans 85% des cas. Un patient est décédé suite à une défaillance multiviscérale.

Conclusion : La leptospirose est une maladie à grand polymorphisme clinique rendant son diagnostic difficile. Elle doit être évoquée devant un syndrome hépato-rénal fébrile, en particulier, chez des sujets exerçant une profession à risque. Sa meilleure prévention est basée sur la vaccination.

Ose est une anthroponose.

457/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Supraglottitis due to *Neisseria meningitidis* W135.

M.P. Otto, M. Touati, D. Rabar, P. Jérôme

HIA Desgenettes, Lyon, France

Case report: We report a French case of supraglottitis secondary to *Neisseria meningitidis* W135. Back from a 7-days journey in Senegal, a 54-year-old woman consulted at the emergency department on February 2012 with hyperthermia (38.6°C) and worsening symptoms of laryngeal pain, dysphagia, dysphonia, dyspnea. She also had swelling, erythema and painfulness of her anterior neck. Laboratory tests revealed: white blood count: 22x10⁹/L (92% neutrophils), C reactive protein: 380mg/l, procalcitonin: 6.35ng/ml. CT-scan showed laryngeal oedema. Prompt treatment comprised nebulised adrenaline, steroids and beta-adrenergic. Intravenous empiric antibiotics (ceftriaxone + ofloxacet) were introduced after one set of blood culture. Nasopharyngoscopy confirmed laryngeal oedema, showed glottis and epiglottis inflammation and pustular lesions. Blood culture grew *N. meningitidis* (1 tube/4). Antibiotic therapy was switched to ceftriaxone alone, public health officials informed, full precautions and prophylactic treatment initiated for those at risk. French National Reference Center of Meningococcus confirmed the identification of *N. meningitidis* W135 (serotype 2a:P1-5,2). The patient recovered fully and was discharged 7 days later. Results of a screening complement deficiency predisposing to *Neisseria* infections were normal.

Discussion-conclusion: French National Health Monitoring Institute reported an increase of invasive infections by *N. meningitidis* W135 on the first quarter 2012, partially concerning persons back from sub-saharian Africa where the epidemic of meningitidis was raging. Only 9 other cases of supraglottitis secondary to *N. meningitidis* (different serogroups) are reported worldwide but this bacterium may cause supraglottitis more frequently than is recognized. All cases concern adults with homogeneous symptoms, recovering well after adapted treatment. Meningococcal isolates from supraglottitis may have better epithelial invasiveness and decreased endothelial tropism resulting in a less disseminated but more locally aggressive and inflammatory disease. This case highlights the importance to consider *N. meningitidis* in the differential diagnoses of supraglottitis because of its public health implications and its potential for rapid progression to airway compromise.

458/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE**Les infections invasives à méningocoque à Casablanca, Maroc : sérogroupes et sensibilité aux antibiotiques.**H. Belabbes, K. Zerouali, S. Maazi, K. Taib, N. Elmdaghri
Microbiologie, CHU Ibn Rochd, Casablanca, Maroc**Introduction :** Au Maroc, les méningites à méningocoque viennent en tête des méningites bactériennes enregistrées.L'objectif de cette étude est de rapporter les données épidémiologiques des infections invasives à *Neisseria meningitidis* à Casablanca-Maroc, entre 2003 et 2010, pour connaître la répartition des sérogroupes et l'évolution de la sensibilité des souches.**Matériel et méthodes :** De 2003 à 2010, tous les isolats non dupliqués de *N. Meningitidis*, identifiés au laboratoire de Microbiologie du CHU Ibn Rochd de Casablanca, ont été inclus. Ils ont été isolés à partir du liquide céphalorachidien et/ou d'hémocultures.*N. meningitidis* a été isolé et identifié selon les techniques classiques de bactériologie. Le sérogroupage a été réalisé par agglutination sur lame par les immuns sérums spécifiques. Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés selon les recommandations du CLSI par méthode de diffusion et par détermination des CMI par E test.**Résultats :** Deux cent cinquante quatre souches de *N meningitidis* ont été isolées, 205 à partir du LCR et 49 à partir des hémocultures. 79.9% des isolats (n=203) provenaient d'enfants de moins de 14 ans.

La moyenne d'âge est de 8.4 ans.

L'isolement du *N meningitidis* varie en fonction des saisons. Nos données mettent en évidence une recrudescence significative au cours de la période hivernale (p<0.01).

Les sérogroupes se répartissent comme suit: 224 souches sont du séro groupe B (88%), 14 souches du séro groupe W135 (5%), 8 souches du séro groupe C (3%), une souche est du séro groupe A et 7 souches sont non groupables.

Le taux des souches de sensibilité diminuée à la Pénicilline G rapporté dans notre étude est 11%. CMI=0.125 (7 souches) et CMI=0.25 (4 souches)

Parmi les 98 souches testées à l'ampicilline 10% étaient de sensibilité diminuée à cet antibiotique.

Aucune résistance aux céphalosporines de troisième génération, au chloramphénicol n'a été notée.

Les souches de sensibilité intermédiaire à la rifampicine étaient rares: 2%.

Conclusion : Les variations épidémiologiques des sérogroupes et de la sensibilité des *N meningitidis* au cours des années soulignent l'importance d'une surveillance régulière surtout dans le but de la maîtrise de la politique vaccinale et aussi le besoin de nouveaux vaccins couvrant tous les sérotypes invasifs adaptés à notre contexte.**Mots clés :** N. meningitidis, Séro groupe, sensibilité Pénicilline G, Maroc**459/84A** 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE**Infections urinaires à *Enterococcus faecium*, une stratégie mal codifiée.**G. Mellon¹, B. Picard¹, F. Jauréguy¹, D. Morice¹, O. Bouchaud², F. Méchaï²¹Laboratoire de Bactériologie, Virologie, Hygiène ²Service des Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital Avicenne, Bobigny, France**Objectifs :** L'incidence des infections urinaires (IU) à entérocoques augmente chez les patients hospitalisés. Nous avons évalué les pratiques dans notre établissement face à un examen cytbactériologique des urines (ECBU) documentant un cocci Gram positif à l'examen direct puis un *E. faecium* à la culture.**Matériels et méthodes :** Analyse rétrospective clinique et microbiologique des ECBU sur la période janvier 2009 – juin 2011 dans un établissement hospitalo-universitaire de 517 lits.**Résultats :** 1082 ECBU étaient positifs à entérocoques dont 140 (13%) avec *E. faecium*. Le sex ratio H/F était de 45%. On dénombrait 20 infections (60% d'origine nosocomiale) dont 11 pyélonéphrites aiguës, 7 cystites, 2 prostatites et 78 colonisations. 94% des *E. faecium* étaient résistants à l'amoxicilline. Aucun entérocoque résistant à la vancomycine n'était retrouvé. L'antibiothérapie empirique après examen direct reposait souvent sur une céphalosporine de troisième génération (45%) et n'était adaptée que chez 6 patients (30%). Une réévaluation de l'antibiothérapie après identification du germe était effectuée dans 45% des cas avec comme stratégies proposées : glycopeptides (30%), linézolide (10%) et amoxicilline (5%). Trois patients ont bénéficié d'ECBU de contrôle. Les durées d'antibiothérapies étaient conformes aux recommandations 2008 de l'AFSSAPS.**Conclusion :** La prévalence d'*E faecium* résistant à l'amoxicilline dans notre population est plus importante que les données actuelles de la littérature (94% vs 60%). L'antibiothérapie empirique était fréquemment inadaptée (70%) conduisant à deux évolutions défavorables dont 1 décès. Les glycopeptides étaient privilégiés après antibiogramme. Peu de données existent dans la littérature sur les IU à *E. faecium*, en particulier les prostatites. Des études seraient nécessaires pour évaluer l'intérêt des molécules plus récentes tel que le linézolide ou la daptomycine dans cette indication.**460/84A** 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE***C. pseudodiphtheriticum* et *C. propinquum*, deux pathogènes opportunistes émergents ?**E. Farfour¹, B. Couzon¹, J.P. Bedos⁴, P. Petitprez³, B. Pignon¹, A. Greder-Belan², A. le Monnier¹¹Laboratoire de Microbiologie-Hygiène ²Service de Médecine interne - Maladies Infectieuses ³Service de Pneumologie ⁴Service de Réanimation Médicale et Chirurgicale, CH André Mignot, Le Chesnay, France*Corynebacterium pseudodiphtheriticum* (Cpse) et *C. propinquum* (Cpro) sont des bactéries commensales de l'oropharynx. Souvent considérées comme contaminants des prélèvements, leur rôle pathogène doit cependant être discuté car Cpse est fréquemment décrit comme responsable d'infections respiratoires tandis que Cpro dans les infections semble plus rare.

Dans une étude rétrospective, nous avons évalué les méthodes d'identification microbiologique de Cpro et Cpse et décrit les caractéristiques microbiologiques et cliniques des patients chez qui elles ont été isolées entre janvier 2007 et juin 2012 au CHV.

Cpse et Cpro ont été isolés chez 14 patients dans les contextes infectieux suivants :

- 11 infections respiratoires pour lesquelles les corynébactéries ont été isolées de 3 expectorations, 1 aspiration bronchique et 7 prélèvements distaux protégés. Dans tous les cas, les prélèvements étaient contributifs sur la base de critères microbiologiques d'infection (REMIC) et l'examen direct (ED) était toujours positif à bacilles Gram positif. Tous les patients présentaient une comorbidité associée ou un terrain prédisposant (BPCO, asthme, néoplasie, etc.), le plus souvent chez des patients de réanimation.
- 3 infections extra-respiratoires dont 2 otites moyennes aiguës (OMA) à Cpse chez des enfants de moins de 5 ans sujets à des OMA à répétition, l'un ayant fait une OMA bilatérale et l'autre une récidive au même germe à 1 an. L'ED était positif à chaque fois. Le 3^e cas est une infection sur prothèse de genou. Plusieurs ponctions articulaires pré-opératoire et prélèvements per-opératoires étaient positifs à l'ED et/ou en culture. Dans ces 3 cas, le traitement a tenu en compte la corynébactérie.

L'identification de Cpse et Cpro, génétiquement proches, étant parfois difficile par méthode conventionnelle, nous avons comparé plusieurs méthodes d'identification (Api Coryne, Vitek2, MALDI-TOF) à une méthode de référence d'identification par séquençage.

Bien que rare, Cpse et Cpro peuvent être isolés de prélèvements respiratoires et extra-respiratoires dans un contexte d'infection suggérant un rôle de pathogène opportuniste chez l'Homme. Des études complémentaires sont nécessaires afin de déterminer la prévalence de ces infections et de préciser le pouvoir pathogène de ces bactéries.

461/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE**Analyse d'un incident bactérien transmis par transfusion d'un concentré plaquettaire : identification du lien donneur-produit-receveur.**M. David², L. Lemée¹, I. Hervé³, P. Lenain², C. Gray², D. Bastit³, P. Rasongles³, A. Brunet³, M. Masse²¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Rouen ²CLCC Henri Becquerel ³EFS-Normandie, Rouen, France**Objet :** L'incident bactérien transmis par transfusion (IBTT) d'un produit sanguin labile (PSL) est un effet indésirable receveur (EIR) rare: en 2011, l'EFS a recensé 5 cas d'imputabilité probable ou certaine en France, dont 3 de grade 3 (menace vitale immédiate), sur plus de 3 millions de PSL administrés.Nous rapportons l'analyse d'un cas d'IBTT de grade 3 à type de choc septique à *Escherichia coli* transmis par transfusion d'un concentré plaquettaire (CPA) chez un patient allogreffé pour leucémie aiguë.**Méthodes :**

- 3 paires d'hémocultures aérobies et anaérobies (Bactec[®]) prélevées chez le receveur après arrêt de la transfusion, ensemencement de la poche de CPA en flacons d'hémocultures et sur géloses au sang en aérobiose et anaérobiose, ensemencement de l'ECBU du donneur sur gélose chromogène CPS (Biomérieux[®]).
- identifications biochimiques par galeries Api 20E (Biomérieux[®]) et antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé selon les recommandations du CA-SFM.
- typage moléculaire par REP-PCR et électrophorèse en gel d'agarose à 2%.

Résultats : Les cultures (hémocultures du receveur, poche de CPA, urine du donneur) sont toutes positives à *E. coli* présentant le même phénotype de sensibilité aux antibiotiques (sauvage). Le typage moléculaire montre que ces isolats sont identiques génétiquement, établissant ainsi l'imputabilité certaine de l'infection bactérienne à la transfusion du CPA.

Les PSL issus du même don sont bloqués par l'EFS dès la connaissance de la culture positive de la poche de CPA.

Le donneur n'avait aucun signe clinique lors de l'interrogatoire pré-don; ses examens biologiques effectués après l'incident transfusionnel montrent :

- ECBU positif (leucocyturie 10⁵/mL, culture à *E. coli* 10⁶/mL), sans symptomatologie urinaire
- taux de globules blancs limite à 11 G/L, CRP augmentée à 103 mg/L.

Conclusion : Événement rare et grave, cet IBTT met en lumière l'intérêt des techniques moléculaires pour réaliser l'enquête d'imputabilité et souligne l'importance de l'information rapide de l'EFS afin de bloquer la distribution des PSL issus du même don. La possibilité d'infection asymptomatique du donneur, prenant en défaut l'examen clinico-biologique systématique pré-don, pose la question de la détection et de l'inactivation des pathogènes pour les CPA.

462/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Prise en charge des infections compliquées peau et tissus mous en France : résultats de l'enquête REACH-aspect microbiologique.

J.P. Stah¹, J.L. Pourriat², J. Ostinelli³, E. Garcia³, C. Soufflet³

¹CHU, Grenoble ²Hôtel-Dieu, Paris ³AstraZeneca, Rueil-Malmaison, France

Introduction-Objectifs : Les données concernant la prise en charge en vie réelle des infections compliquées de la peau et des tissus mous (ICPTM) sont peu nombreuses. Une enquête observationnelle rétrospective (NCT01293435) a été mise en place dans 10 pays européens pour recueillir des données épidémiologiques. Au total 1996 patients ont été analysés. Nous rapportons ici les données françaises.

Matériel et méthodes : 19 services hospitaliers sélectionnés de manière à être représentatifs, ont inclus 213 patients hospitalisés pour ICPTM afin de connaître leurs modalités de prise en charge

Résultats : Parmi les patients hospitalisés, 61.5% étaient des hommes ; l'âge moyen était de 63.6 ± 19.6 ans ; les patients avaient reçu une antibiothérapie préalable dans 17.4% des cas. Les patients hospitalisés avec une ICPTM présentaient des co-morbidités dans 76.1% des cas (diabète 32.9%, maladie vasculaire périphérique 25.4%, maladie rénale dans 14.6%). Un diagnostic microbiologique était disponible pour 112 (52.6%) des patients. Un cocci G+ était retrouvé chez 88 patients (41.3%): *SASM*, *SARM* et *staph coag-* chez 28.6%, 11.6% et 9.8% des patients respectivement ; *Streptococcus* *β*hémolytique, *S pyogenes* et *S agalactiae* chez 9.8%, 9.8% et 5.4% patients respectivement. *Enterococcus faecalis* était présent chez 12 patients (10.7%). Parmi les patients avec bactériémies (27), un cocci G+ était retrouvé chez 77.8% d'entre eux. Les bacilles G- étaient retrouvés chez 32 patients (28.6%) et des anaérobies stricts chez 6 patients (5.4%). Les tests à visée diagnostique réalisés étaient les hémocultures (69.5%), les prélèvements par écouvillons/culture (41.3%), prélèvement chirurgical (24.4%) et une aspiration à l'aiguille (12.7%). Le traitement antibiotique était empirique dans 80% des cas, donné 12.4±12.4 jours. Les traitements initiaux les plus fréquents étaient l'amox/clav dans 40% des cas, la cloxa dans 7% des cas. Les modifications du traitement antibiotique initial ou le décès durant le traitement étaient de 35.5%. La durée moyenne du séjour hospitalier était de 15.4 (±18.5) jours et la mortalité globale de 3.8%. Un geste chirurgical curatif a été réalisé dans 32% des cas.

Conclusion : La prise en charge initiale par antibiothérapie des ICPTM en France est extrêmement variable. Les germes isolés sont ceux rencontrés classiquement dans cette pathologie. Les modifications du traitement antibiotique initial sont relativement importantes dans cette indication.

463/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

A propos de deux cas de sternite post-opératoire à *Gordonia bronchialis*.

S. Ray¹, M. Grare⁵, B. Dubourdiou², S. Malavaud⁴, P. Boiron¹, B. Guerin³, M. Alvarez⁷, B. Marcheix⁶, C. Cron⁶, M. Archambaud⁵, B. Marchou⁷

¹Observatoire Français des Nocardioses, Lyon ²Laboratoire de Biologie, Hôpital de Rodez ³Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, Hôpital de Rodez, Rodez ⁴Equipe Opérationnelle d'Hygiène, CHU Toulouse ⁵Laboratoire de Bactériologie-Hygiène, CHU Toulouse Purpan ⁶Service de Chirurgie Cardiovasculaire, CHU Toulouse ⁷Service de Maladies Infectieuses et Tropicales, CHU Toulouse, Toulouse, France

Objet de l'étude : *Gordonia* spp. est un bacille à Gram+, famille des Actinomycetes; rarement impliqué en clinique (septicémies sur cathéters sur terrain d'immunodépression). Nous décrivons 2 cas concomitants de sternite à *Gordonia bronchialis* survenus dans les suites d'une sternotomie pour pontage coronarien réalisé dans le même bloc opératoire. Il s'agit des 8^{ème} et 9^{ème} cas mondiaux après un cluster de 7 cas en 1991 aux USA.

Cas clinique : Les suites opératoires immédiates simples sont suivies d'une désunion de la cicatrice avec abcédation après 6 semaines. Les 2 patients n'avaient pas de facteur d'immunodépression. En primoculture, tous les prélèvements ont poussé en 5 à 10 j (48 h pour les repiquages). Les colonies étaient sèches, rose orangé, à bords irréguliers, aérobie strict. Au Gram, c'était bacilles à Gram+, courts ou branchés ; BAAR+ au Ziehl rapide. Les bactéries étaient catalase+, ONPG+, urée+ et CAMP test- avec *S. aureus*. Ces souches n'ont été identifiées ni par l'API Coryne, ni par le Vitek2. Les souches étaient sensibles à P, AMX, IMP, GM, TM, AN, VA et résistant à FOS, MY, PT, SXT. Ces caractères étaient proches du genre *Gordonia* ou *Rhodococcus* ou *Tsakamurella*. Les souches ont été identifiées *G. bronchialis* par séquençage de l'ARN 16S (CNR Nocardioses) et les 2 isolats étaient liés épidémiologiquement (analyse RAPD). Les fils d'acier de sternotomie ont été retirés et une antibiothérapie par amoxicilline ± acide clavulanique pendant 6-7 semaines après retrait du matériel a été instaurée. Ils étaient toujours en rémission clinique à 6 mois de l'arrêt des antibiotiques. L'enquête n'a pas permis de retrouver la source.

Conclusion : Aucun système commercial ne permet actuellement d'identifier

correctement *Gordonia bronchialis*, et il est très difficile avec la morphologie des colonies et des tests biochimiques simples de les distinguer des *Rhodococcus*. Dans la littérature sont décrites des fausses identifications en tant que *Rhodococcus* spp. avec API Coryne et en tant que *Corynebacterium* spp. sur les systèmes automatisés. Il est donc nécessaire de recourir à une identification moléculaire. Du fait de cette identification difficile et du délai de pose (5-10 j), l'importance en clinique de ces espèces est probablement sous-estimée.

464/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Épidémie de choléra à Abidjan en pleine crise sociopolitique et militaire : gestion des cas dans le service des maladies infectieuses et tropicales du CHU de Treichville.

G. Kouakou¹, E. Aoussi¹, E. Ehui¹, P. Diafouka-Kolia¹, A. Kacou-N'douba³, E. Bissagnéné¹, S. Eholié¹, E. Eboua²

¹Maladies infectieuses et tropicales, CHU de Treichville ²Santé publique, Institut national d'hygiène publique ³Microbiologie, Institut Pasteur de Côte d'Ivoire, Abidjan, Côte d'Ivoire

Objectif : Analyser les caractéristiques sociodémographiques, cliniques, thérapeutiques et pronostiques des patients hospitalisés pour choléra.

Méthodes : Étude prospective réalisée chez des patients hospitalisés pour diarrhée aiguë entre le 1^{er} janvier 2011 et le 31 janvier 2012 dans le service des maladies infectieuses du CHU de Treichville. Ont été inclus tous les cas de choléra confirmés par la mise en évidence de *Vibrio cholerae* par l'Institut Pasteur de Cocody.

Résultats : Entre le 1^{er} janvier et le 31 janvier 2012, nous avons hospitalisé 70 cas de choléra avec une incidence hospitalière mensuelle de 9,2% et un pic de 14 cas pendant le mois d'octobre (20%). La source de contamination était hydrique et alimentaire. L'âge moyen des patients était de 27,5 ans plus de 18 ans. Ils provenaient majoritairement de quartiers et sous quartiers précaires où l'insalubrité aggravée par la crise sociopolitique a profondément perturbé les conditions de vie des populations. En outre, l'intensification de la crise de mars à avril 2012 a entraîné une diminution de la notification des cas pendant cette période. Les comorbidités étaient le diabète (1 cas), le lymphome de Malt + la drépanocytose SS (1 cas), le paludisme simple à *Plasmodium falciparum* (1 cas), et l'infection à VIH (6 cas). Le tableau clinique était dominé par la présence de selles liquides, d'aspect fécal, eau de riz, des vomissements (77%), des douleurs abdominales (29%), une déshydratation sévère (87,1%), et une oligoanurie (87%). *Vibrio cholerae* O1 du biotype El Tor était la souche isolée des selles. Au cours du traitement basé sur la réhydratation et l'antibiothérapie par la ciprofloxacine (68,4%), la guérison et le décès ont respectivement été observés chez 97,1% et 2,9% des patients.

Conclusion : Le choléra reste une affection endémique avec des flambées épidémiques à Abidjan. L'épidémie de 2011 a été favorisée par la crise sociopolitique qui a créé une situation de précarité et une désorganisation du système sanitaire.

Mots-clés : Choléra, crise sociopolitique et militaire, *Vibrio cholerae* O1, Abidjan.

465/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

***Staphylococcus saprophyticus* et *Staphylococcus cohnii* : deux espèces méconnues et pouvant être confondues dans les infections urinaires de l'homme âgé.**

N. Frebourg, L. Lemée, M. Pestel-Caron
Laboratoire de Bactériologie, CHU, Rouen, France

Les staphylocoques à coagulase négative sont des bactéries potentiellement uropathogènes chez le patient hospitalisé ou immunodéprimé et représentent 10% des infections urinaires à l'hôpital. Les principales espèces isolées chez l'homme sont *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* et *S. hominis*.

Staphylococcus saprophyticus, principalement connu comme uropathogène chez la femme jeune et impliqué dans 5 à 15% des cystites communautaires, peut également être responsable chez l'homme d'infections urinaires symptomatiques, parfois associées à une atteinte rénale ou à une prostatite chronique. Nous rapportons le cas d'une pyélonéphrite sur obstacle chez un homme de 58 ans. L'ECBU objective une hématurie (5.10⁴ hématies/mm³), une leucocyturie (10⁵ leucocytes/mm³) et la culture à 10⁶/ml d'un staphylocoque coagulase négative. La résistance à la novobiocine et à la fosfomycine, ainsi que la réalisation d'une galerie RapiDEC Staph[®] (bioMérieux), suggèrent l'identification d'un *S. saprophyticus*, qui sera confirmée par séquençage de l'ADNr16S. La montée d'une sonde double J en urgence et l'antibiothérapie adaptée conduisent à la guérison clinique.

Staphylococcus cohnii a été exceptionnellement rapporté comme agent uropathogène, et ses caractères bactériologiques sont souvent méconnus. Nous rapportons les cas cliniques de deux octogénaires présentant des infections urinaires basses, la première révélée par une hématurie macroscopique, et la seconde par des troubles mictionnels sur une sonde à demeure motivée par un volumineux adénome prostatique. Ces infections impliquent chacune un staphylocoque à coagulase négative, initialement considéré comme un possible *S. saprophyticus* en raison de sa résistance à la novobiocine. La galerie RapiDEC[®] Staph identifie les deux souches comme *S. saprophyticus*, mais le séquençage de l'ADNr16S conclut qu'il s'agit de l'espèce *S. cohnii* dans chacun des deux cas, épidémiologiquement non reliés. Les patients évoluent favorablement, le premier sous antibiothérapie et le

second grâce au changement de sonde.

Conclusion : *S. saprophyticus* et *S. cohnii* sont des espèces potentiellement uropathogènes chez l'homme. La résistance à la novobiocine, exprimée par les deux espèces, ne suffit pas au diagnostic présomptif. En l'absence de confirmation phénotypique (spectrométrie de masse) ou moléculaire (séquençage), la résistance à la fosfomycine peut présumer de l'espèce *S. saprophyticus*. En revanche, les hémolysines spécifiquement produites par l'espèce *S. cohnii* ne sont pas détectables sur les géloses au sang.

466/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

High mortality rate in one year cohort study among patients with *Clostridium difficile* infection (CDI) in a large tertiary hospital.

N. Khanafar^{2,3}, M. Perraud², P. Vanhems^{2,3}

¹Hospices Civils of Lyon-Microbiology Laboratory, Bron ²Hospices Civils of Lyon-Infection Control Unit, Edouard Herriot Hospital ³University of Lyon-Laboratory of Epidemiology and Public Health, CNRS UMR 5558, Lyon, France

Context: *C. difficile* infection (CDI) has increased in frequency and severity over the past decade. In France, the CDI surveillance is based on the mandatory notification of severe cases or outbreaks of CDI and there is not enough data on mortality related to CDI.

Objective: To describe the prognosis of CDI.

Methods: A one year cohort study was conducted in a University Hospital. All hospitalized patients (>18 years) for more than 48 hours, suffering from CDI and accepted to participate were included. Patients were followed up to 60 days after CDI diagnosis. CDI case was defined in patient with a positive result of stool EIA-toxins assay or toxigenic culture. Collected data included patients' demographics, hospitalization information, exposure to known risk factors of CDI, clinical symptoms, results of microbiological diagnosis, and prognosis of CDI.

Results: Between January 2011 and January 2012, 66 episodes (62 patients) of CDI were identified (Toxins &/or culture were positive). Among them, 54 patients were included. The mean of age was 66.8 years and there were more men than women (55.5% vs 44.5%). Before the infection, patients had previous hospitalization in 69%, while exposure to PPIs and antibiotics were observed in 65.5% and 76.4% respectively. Most of episodes were hospital-acquired (n=45, 81.8%). The remaining cases were community-acquired (n=5, 9.1%) and unknown (n=5, 9.1%). Death was occurred in 10 patients (18.5%) during hospitalization and in 5 (9.3) after discharge. Two patients were transferred to ICU for complications. CDI was the primary cause of death for one patient and a contributing cause in 3 other patients. Death occurred in 10, 27 and 40 days respectively after the onset of diarrhea. The survival analysis of patients who were at the end of follow-up (60 days) showed that the death rate was 22% (11 over 50 patients) and the death was occurred in the first six days for 50% of cases.

Conclusions: We reported a high mortality rate among patients suffering from CDI. A comprehensive CDI control management and a communication network are recommended for each health care facility. It is only through the implementation of the new approaches to its diagnosis, therapy and prevention that we can help to reduce the associated morbidity and mortality.

467/84A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Augmentation de l'incidence des séjours hospitaliers pour infection ORL grave ? Analyse de la base PMSI nationale 2002-2010.

S. Maugat¹, L. Léon¹, S. Vaux¹, P. Choutet², B. Coignard¹

¹DMI, InVS, Saint-Maurice ²Faculté de médecine, Université François Rabelais, Tours, France

Il a été suggéré qu'une réduction des consommations antibiotiques (CATB), telle qu'observée depuis 2001 en France, pourrait conduire au retour de certaines infections ORL graves (IOG). Pour évaluer cet impact éventuel, l'évolution 2002-2010 de l'incidence annuelle des séjours hospitaliers (SH) pour IOG a été étudiée via la base PMSI nationale court-séjour.

Les SH ont été extraits selon les critères suivants : diagnostic principal de mastoïdite (MA, codes CIM10: H70.0, H70.8, H70.9), phlegmon de l'amygdale (PA: J36), adéno-phlegmon (AP: L04.0) ou abcès rétro-pharyngé (ARP: J39.0, J39.1); hospitalisation complétée 1 jour et 2 mois. Les incidences ont été standardisées sur l'âge et les tendances testées par régression binomiale négative.

De 2002 à 2010, 69 425 SH pour PA (71%), AP (13%), MA (7%) ou ARP (9%) ont été retenus. Aucune saisonnalité n'était observée. Les patients étaient en majorité (98%) admis depuis ou sortis vers leur domicile; 0,1% des SH conduisaient au décès. L'incidence annuelle des SH pour IOG augmentait de 9,7 (2002) à 13,7 (2010) p. 100 000 habitants (+4,4%/an en moyenne). L'augmentation concernait les PA (+4,6%/an), MA (+3,9%/an) et ARP (+9,1%/an). Elle était significative dans chaque classe d'âge, mais plus marquée chez les 0-5 ans (+6,4%/an), 16-20 ans et 21-65 ans (+3,3%/an), dans 13 des 22 régions de France métropolitaine et dans les départements d'Outre-Mer.

Potentiellement exposée aux biais induits par la T2A ou des modifications du recours aux soins, l'augmentation observée est confortée par les données du réseau Oscour[®]: la part des passages aux urgences pour IOG a augmenté de 2006 à 2011 (+4,0% par an). En revanche, une enquête qualitative conduite

par l'InVS en 2011 auprès de cliniciens ne soulignait pas leur inquiétude: le taux de réponse était <10% et seuls 29% des répondants rapportaient une telle augmentation au cours des 5 dernières années.

Ces résultats doivent être interprétés avec prudence et ne permettent pas de conclure à un lien avec la diminution des CATB observée en France. Des études spécifiques sont nécessaires pour confirmer cette évolution et identifier ses déterminants. Compte tenu des niveaux de CATB actuellement observés en France, leur réduction doit rester une priorité.

468/85A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Facteurs de risque d'acquisition des candidoses buccales : étude cas-témoin.

M. Soulias Levezuel, A. Alkahef, M.C. Pepin, C. Lemen, A. Morillon, L. Lafendi
Service Bactériologie Hygiène, Hôpital Montereau, Créteil, France

Les candidoses buccales sont des mycoses très fréquentes chez la personne âgée entre 26 et 38% selon la forme clinique. Chez le sujet âgé, cela peut conduire à décompenser un état de santé dont l'équilibre est précaire.

L'objectif de ce travail est d'identifier les facteurs de risque de survenue de candidoses buccales à partir d'une population de personnes âgées dans un centre hospitalier à orientation gériatrique (120 lits de Long séjour et EPHAD).

Une recherche des cas par diagnostic biologique a été réalisée depuis janvier 2012 puis une recherche de témoins par appariement sur l'âge et le sexe et le service a été conduite. Plusieurs facteurs de risques plus ou moins connus dans la littérature ont été recherchés (dénutrition, hygiène dentaire, prothèse, diabète, immunodépression, maladie parkinson, prise de neuroleptique et antibiothérapie avant la date de survenue de la candidose pour les cas)

Résultats : 28 cas et 28 témoins ont été analysés selon une analyse univariée. Seul l'hygiène dentaire ressort comme facteur de risque de façon significative (p<0.05). Une réflexion a été envisagée pour la constitution d'un groupe de travail afin de renforcer l'hygiène dentaire et la traçabilité à l'hôpital.

469/85A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Les mycoses oculaires et péri-oculaires, conduite diagnostique et thérapeutique, à propos de quelques cas.

S. Benaïssa, N. Mehri, R. Mansouri, Z. Bouchene
Parasitologie-Mycologie CHU Annaba, Algérie, Société algérienne de parasitologie mycologie médicale, Skikda, Algérie

Objet du travail : Les mycoses oculaires et péri oculaires sont des infections redoutables, de mauvais pronostic, favorisées par certains facteurs, particulièrement le port continu de lentilles de contact mal entretenues, avec notion de microtraumatismes de la cornée, les traumatismes par des corps étrangers tels que les végétaux, ainsi que la notion de Pathologie cornéenne sous jacente.

L'objectif principal est d'attirer l'attention sur l'importance du diagnostic mycologique rapide et précis pour une meilleure prise en charge thérapeutique.

Matériel et méthodes : Les malades inclus dans cette étude provenaient du service d'ophtalmologie, hospitalisés ou consultants à titre externe, présentant une lésion oculaire ou péri oculaire résistante aux antibiotiques. Différents types de prélèvements ont été réalisés. Une mise en culture sur milieu Sabouraud a été faite pour tous les prélèvements et les tubes ont été incubés à 27°C et/ou 37°C selon le type de prélèvement. L'identification des souches isolées était basée sur l'examen macroscopique et microscopique pour les souches filamenteuses, et l'Auxacolor pour les champignons levuriformes.

Résultats : 21 malades présentant différents tableaux cliniques pouvant évoquer une origine fongique, ont été inclus, 12 malades présentaient des abcès cornéens soit 57.15%, les kératites et les endophtalmies dans 11.3% et 9.5% des cas. Une origine fongique a été retenue chez 12 malades sur 21, soit 57.1%, dont 9 malades présentaient une atteintes endo oculaires, leurs fiches de renseignements ramènent les facteurs suivant: le port de lentilles de contact pour 03 malades, la notion de traumatisme oculaire pour 02 malades et la notion de surinfection post opératoire pour 03 autres, alors que pour le 9^{ème} cas, le facteur de risque n'a pas été précisé. 52% des souches étaient représentées par l'espèce *Candida albicans* suivie d'*Acremonium sp* qui représentait 18.5%, vient après *Aspergillus* avec un pourcentage de 14.5%, puis *Fusarium sp* et *Trichosporon sp* qui représentaient respectivement 7.4% et 3.7% des souches isolées, avec un cas d'herpes circiné péri oculaire à *Trichophyton rubrum*.

Conclusion : Les kératomycoses restent des affections oculaires sous estimées devant la méconnaissance des agents en cause, de mauvais pronostic visuel en l'absence d'une prise en charge rapide, aidée par un bon prélèvement permettant une meilleure prise en charge thérapeutique.

Étude de l'effet antifongique de l'alliage cuivreux laiton AB+ au sein d'un établissement de soins.A. Ruelle^{3,2,4}, H. Khorsi³, A. Leke^{1,3}, V. Bach³, A. Totet^{1,3}, C. Damiani^{1,3}¹CHU d'Amiens Picardie ²Institut d'Ingénierie de la Santé, Université de Picardie Jules Verne ³UFR de médecine, Université de Picardie Jules Verne, Laboratoire Peritox-Ineris, Amiens ⁴Société Favi Injection d'alliages cuivreux, Hallencourt, France

Objet de l'étude : La prévalence des infections liées aux soins constitue un réel enjeu de santé publique. L'utilisation en milieu hospitalier de surfaces antimicrobiennes en cuivre pourrait contribuer à maîtriser le risque de survenue de ces infections. En effet, l'agence américaine de protection de l'environnement (EPA) a approuvé l'homologation du cuivre et de ses alliages en tant qu'agent antimicrobien. Des expériences ont déjà été réalisées dans des conditions réelles. En France, l'hôpital de Rambouillet a été le premier à tester des équipements en cuivre. A notre connaissance, aucune étude testant l'efficacité antifongique d'un alliage cuivreux n'a été réalisée en milieu hospitalier.

Méthodes : L'objet du projet BioAB+ est d'évaluer *in situ* et sur plusieurs mois, le potentiel antifongique d'un alliage en laiton. Cet alliage développé par la société FAVI est sans plomb, sans nickel et de couleur « Champagne ». Lors de cette étude, 14 poignées tests composées de laiton AB+ et 14 poignées témoins en inox ont été installées dans des services de Pédiatrie du CHU d'Amiens.

Durant 5 mois, les 28 poignées ont été échantillonnées de façon périodique selon un protocole remplissant les exigences de la norme NF ISO 18593 : 2004. Les échantillons issus des campagnes de prélèvements ont étéensemencés sur des géloses SABOURAUD permettant le dénombrement et l'identification des champignons.

Résultats obtenus : Vingt-neuf espèces de champignons ont été identifiées sur les 280 prélèvements réalisés. Dix-neuf espèces ont été retrouvées sur les poignées témoins en inox et 10 sur les poignées en laiton AB+. Les résultats révèlent la présence d'un effet indicatif du matériau (laiton) sur la diminution du nombre de champignons ($p=0.07$). Il semblerait que certaines espèces (*Cladosporium*) soient moins sensibles aux effets antifongiques de l'alliage (retrouvé dans 50% des analyses).

Conclusion : Les poignées en laiton AB+ ont une tendance à diminuer le nombre de champignons par rapport aux poignées témoins en inox. La durée de l'étude est probablement insuffisante pour prouver l'effet antifongique sur le long terme.

Mots clés : Cuivre; laiton; antifongique; champignons; poignées; biocontaminations.

Facteurs de risque d'aspergillose cutanée dans un centre de traitement des brûlés.J. Schaal¹, T. Leclerc¹, P. Jault¹, C. Soler², L. Barges¹¹Centre de Traitement des Brûlés ²Service de Microbiologie, HIA Percy, Clamart, France

Objet de l'étude : Les infections fongiques sont de plus en plus fréquentes chez les patients brûlés[1]. Cette étude rétrospective passe en revue tous les patients brûlés admis dans notre centre entre 2000-et 2011, ayant un prélèvement cutané positif à *Aspergillus* sp. Le but de ce travail est d'identifier les facteurs de risque des aspergilloses dans un centre de traitement des brûlés (CTB).

Méthodes : Les aspergilloses (ASP) ont été séparées en trois catégories[2] :

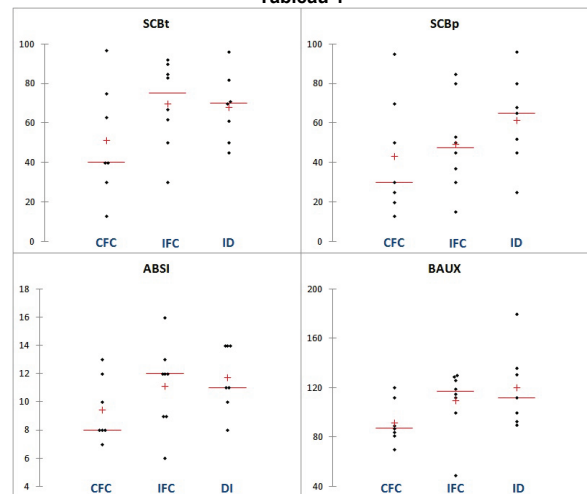
1. colonisation fongique cutanée (CFC)
2. infection fongique cutanée (IFC) définie par un prélèvement mycologique positif associé à un SIRS, un sepsis sévère ou des signes locaux d'infection cutanée
3. infection disséminée (ID) définie par IFC associée à une hémoculture positive, une antigénémie positive ou une localisation secondaire. Nous avons relevé les facteurs de risque aspergillaires habituels[3]. Les moyennes des surfaces cutanées brûlées totales (SCBt) et profondes (SCBp), score de BAUX et de l'ABSI ont été comparées en fonction du type d'atteinte aspergillaire (test de Kruskal-Wallis).

Résultats : Sur 1575 patients hospitalisés (SBCt moyenne 23±22%), 20 patients ont présenté une ASP (SCBt 65%, $p=0,02$, test de Wilcoxon): 5 CFC, 8 IFC et 7 ID. 1 patient sous corticothérapie (IFC) et 1 patient insuffisant respiratoire chronique (CFC) sont relevés. Il n'y a aucun patient diabétique, transplanté, sous traitement immunosuppresseur, neutropénique ($<1000/mm^3$) pendant l'hospitalisation, cirrhotique, atteint d'hémopathie maligne, de cancer ou d'infection par le VIH. Les moyennes des quatre variables (SCBt, SCBp, BAUX, ABSI) semblent plus élevées en cas d'IFI ou d'ID qu'en cas de CFC (figure 1); cependant les différences ne sont pas significatives (tableau 1)

Conclusion : La brûlure et sa sévérité semblent être les principaux facteurs de risque aspergillaires chez nos patients. Des études avec de plus grands effectifs sont nécessaires pour identifier des facteurs de risques spécifiques aux brûlés.

| Variables (moyenne ± écart type) | CFC | IFC | ID | P test de Kruskal-Wallis |
|----------------------------------|-------|--------|--------|--------------------------|
| SCBt | 51±29 | 70±22 | 68±18 | 0,36 |
| SCBp | 43±30 | 49±24 | 62±23 | 0,37 |
| BAUX | 92±18 | 110±26 | 120±32 | 0,07 |
| ABSI | 9±2 | 11±3 | 12±2 | 0,23 |

Tableau 1

**Références :**

1. Ballard J. J Burn Care Res. 2008
2. Greenhalgh DG. J Burn Care Res. 2007
3. Meersseman W. Clin Infect Dis. 2007

Infection à *Rhizopus microsporus* : à propos d'une forme invasive lors d'un purpura fulminans à *Streptococcus* A.C. Soler¹, P. Jault², T. Leclerc², J. Schaal², R.M. Blot², G. Appere¹, N. Donat², D. Garcia-Hermoso³, L. Barges²¹Biologie ²Centre traitement des brûlés, HIA Percy, Clamart ³CNRMA, Institut Pasteur, Paris, France

Rhizopus microsporus est un des agents de mucormycose rarement incriminé; les formes décrites surviennent essentiellement chez des patients en Hématologie pour lesquels les atteintes sont digestives, plus rarement rhinocérébrale. Les formes cutanées ou sous cutanées sont aussi l'apanage de l'immunodéprimé ou peuvent survenir lors de conditions locales propices.

Notre patiente est une femme âgée de 35 ans, qui développe un purpura fulminans des membres et un syndrome de détresse respiratoire au décours d'une angine qui motive son admission dans un service de réanimation polyvalente. Un *Streptococcus* du groupe A est retrouvé dans le lavage broncho-alvéolaire et devant une ischémie grave et une nécrose des 4 membres un transfert est envisagé vers le centre des brûlés de Percy 10 jours après son admission. A son arrivée la nécrose touche les 2 membres supérieurs ainsi que les 2 membres inférieurs jusqu'à mi-cuisse, la nécrose couvrant plus de 50% du corps avec des gangrènes sous les coudes et les genoux; sur le plan général la défaillance multi-viscérale est associée à des troubles graves de l'hémostase. Une chirurgie de sauvetage est réalisée par amputation des 2 membres inférieurs complétée pour cellulite fessière et saignement des sites opératoires. L'évolution des lésions cutanées des membres supérieurs est marquée par l'apparition de nécroses sèches et noires évolutives. Les biopsies quantitatives réalisées sur de multiples sites et lors de nouveaux prélèvements per opératoires sur les moignons de cuisse permettent l'isolement d'une mucorale. Les parages extrêmement profonds, les traitements par Algostéryl imprégné d'Amphotéricine B et l'Ambisome à dose adaptée se révèlent inefficace avec envahissement de toutes les plaies des membres inférieurs, des fesses et du bassin. Le décès survient à J18 dans un tableau d'inefficacité circulatoire. L'identification précise du *Rhizopus* sera apportée par la biologie moléculaire, la souche apparaissait uniquement sensible à l'amphotéricine B.

Cette infection disséminée à *Rhizopus microsporus* témoigne une fois de plus du caractère opportuniste de ces agents infectieux et des limites thérapeutiques antifongiques.

Fusarium equiseti : à propos du premier cas d'infection humaine chez un blessé de guerre.

C. Soler¹, J.L. Daban², C. Mac Nab¹, G. Appere¹, H. Poirier², P. Saint-Blancart¹, N. Sanmartin¹, B. Debien², B. Lenoir², C. Hennequin³
¹Biologie²Réanimation, HIA Percy, Clamart ³Biologie, Hôpital Saint-Antoine, Paris, France

Les *Fusarium* sont des phytopathogènes retrouvés dans le sol; quelques espèces sont responsables d'infections opportunistes chez l'immunodéprimé mais également d'onxyis. *Fusarium equiseti* n'a jamais été décrit comme responsable d'infection chez l'homme; nous rapportons la première observation survenue chez un militaire victime d'un poly criblage en Afghanistan.

Notre patient âgé de 34 ans est hospitalisé en réanimation suite à un polytraumatisme par explosion par suicide-bomber en Kapisa. La prise en charge initiale a été effectuée à Kaboul pour fracas et polycrissage des membres supérieurs, fracture ouverte du fémur gauche, polycrissage cervical, hémopneumothorax gauche, lésions du rachis. Les complications infectieuses initiales sont pulmonaires évoluant rapidement vers un SDRA avec isolement d'une *Klebsiella pneumoniae* avec Blse et d'un *Aspergillus flavus* également retrouvé en grande quantité sur plusieurs cathéters et dans des tissus nécrosés. Un traitement antifongique initial est initié par Vfend rapidement substitué par Ambisome suite à l'isolement d'un *Rhizomucor variabilis* au niveau de biopsies pratiquées sur des lésions multiples du bras gauche. En l'absence d'amélioration des lésions cutanées de nouvelles biopsies sont réalisées avec isolement d'un grand nombre de colonies de *Fusarium sp.* apparaissant uniquement sensible au Vfend qui est introduit en sus du premier antifongique. Les lésions du bras gauche s'amendent rapidement et le traitement spécifique est arrêté au bout d'une semaine. Des greffes cutanées seront réalisées sur le membre sans complication fongique. Le diagnostic de l'espèce sera apporté par la biologie moléculaire. *Fusarium equiseti* est connu comme phytopathogène de nombreuses plantes (fusariose de la pomme de terre) mais également comme protecteur vis-à-vis d'autres contre des bactéries ou des champignons par production de certaines mycotoxines.

Cette observation illustre le rôle opportuniste de certaines moisissures non réputées pathogènes ; la nature et la gravité des blessures initiales, la pression antibiotique, la prescription d'un antifongique non efficace ont sans doute favorisé l'apparition de cette fusariose. Le recours aux techniques moléculaires s'avère indispensable dans la précision de l'espèce.

Conservation des greffons cornéens : analyse rétrospective des contaminations fongiques observées à la Banque Française des yeux (2005-2010).

A. Paugam, F. Lesle
 Laboratoire de Mycologie, Hôpital Cochin, Paris, France

Objectif : Définir rétrospectivement l'incidence et les caractéristiques des contaminations fongiques des greffons adressés à la Banque Française des Yeux (BFY) sur une période de 6 ans.

Matériel et Méthode :

Milieux : Prélèvement et conservation: Cornea Prep II® et Cornea Max® (Eurobio, les Ulysses, France).

Culture : Gélose chocolat (GC), Bouillon Schaedler (BS), Sabouraud (S) (BioMérieux, Marcy l'Etoile, France).

Protocole : En moyenne 3 jours après l'arrivée du greffon à la BFY, le milieu de prélèvement est ensemencé sur 3 milieux (BS, GC et S) et le greffon est transféré en milieu de conservation. Entre J8 et J14, un ensemencement du milieu de conservation est réalisé (BS, GC). Parallèlement aux cultures, des contrôles visuels de stérilité des milieux sont effectués grâce à un indicateur de pH virant au rouge en cas de contamination. A partir de J12, les greffons sont proposés pour la greffe. Vingt-quatre heures avant la greffe, un deuxième contrôle du milieu de conservation est effectué (BS, GC et S). Ce dernier S et le milieu de conservation sont conservés jusqu'à J30 après la greffe. Les milieux contaminés sont adressés aux services de Bactériologie et Parasitologie-Mycologie du CHU Cochin-Hôtel-Dieu pour identification.

Résultats : Sur 5535 cornées adressées à la BFY de 2005 à 2010, 1,5% (n = 85) ont été contaminées par un champignon soit 16% (85/541) de l'ensemble des contaminations bactériennes et fongiques. Elles s'observent préférentiellement (84%) dans les 10 jours suivant le prélèvement. Les levures constituent 91% (98/107) des champignons isolés, avec une proportion de 79% (78/107) de *Candida* parmi les levures dont 41% (31/78) de *C. albicans*, 24% de *C. parapsilosis*, 22% de *C. glabrata* et 10% de *C. tropicalis*. Le filamentueux le plus souvent isolé est *Fusarium spp* 44% (4/9).

Conclusion : Les contaminations fongiques sont rares. Elles surviennent essentiellement dans les 10 jours suivant le prélèvement et impliquent principalement les *Candida*.

Bactériémie sur chambre à cathéter implantable à *Saccharomyces cerevisiae* : À propos d'un cas clinique.

S. Diamantis¹, A. de Pontfarcy¹, K. Jidar¹, M. Ovtachrenko¹, B. Jourdain¹, D. Bennegadi¹, A. Kara¹, C. Bonnal²
¹Hôpital Marc Jacquet, Melun ²Hôpital Bichat, Paris, France

Objet : Les infections fongiques associées à l'utilisation des chambres à cathéter implantable (CCI) sont peu fréquentes. La prise en charge de ces infections est bien codifiée lorsqu'il s'agit du genre *Candida* et nécessite, en association avec un traitement antifongique adapté, le retrait de la CCI. En revanche, lorsqu'il s'agit d'un champignon inhabituel ou rare tel que *Saccharomyces cerevisiae*, la prise en charge n'est pas codifiée et repose surtout sur l'étude de cas cliniques déjà publiés.

Méthode : L'infection sur CCI est définie par une hémoculture positive en périphérique associée à une hémoculture positive au même germe prélevée au même moment au niveau de la CCI.

Cas clinique : Il s'agit d'un patient de 66 ans en rechute d'un carcinome épidermoïde bronchique. Ce patient a présenté un état septique peu de temps après la mise en route de la perfusion de la 1^{ère} cure de chimiothérapie au niveau de la CCI. Ce dispositif n'avait pas été utilisé depuis 4 ans. Des hémocultures sont prélevées au moment du sepsis par voie périphérique et sur la CCI. Un traitement probabiliste par ceftriaxone IV est débuté.

Résultats : Les hémocultures prélevées simultanément sur CCI et par voie périphérique sont positives à *S cerevisiae*. La CCI est retirée au 7^{ème} jour de l'infection. La culture de la partie endoluminale du boîtier est positive à cette levure. Le Fluconazole puis Amphotéricine B liposomale sont introduits. La guérison est obtenue après un traitement de 14 jours.

Le bilan à la recherche de foyer profond est négatif. L'hypothèse d'une infection par inoculation exogène lors une manipulation de la CCI semble peu probable. L'interrogatoire du patient a été repris et a révélé la prise systématique de levure alimentaire au cours des repas comme complément alimentaire et condiment.

Conclusion : Le diagnostic retenu est celui d'une translocation digestive sur colonisation d'origine alimentaire ayant entraîné une fongémie responsable de la contamination secondaire de la CCI.

Ce mode de contamination a été bien documenté avec *S boulardii*, levure utilisée comme probiotique en traitement d'appoint des diarrhées. Ce cas clinique soulève donc la question de l'information du patient porteur de matériel étranger sur les risques liés à la consommation alimentaire de ces levures.

L'aspergillose pulmonaire chronique nécrosante : caractéristiques et facteurs de risque. Étude rétrospective incluant 35 patients hospitalisés atteints d'APCN (2002-2008).

C. Rouyer
 Maladies infectieuses, CH Tourcoing, France

Aspergillus fumigatus est un des premiers pathogènes fongiques à transmission aérienne et à tropisme pulmonaire responsable d'un spectre de pathologies variées selon le terrain du patient, ses facteurs d'immunodépression, sa ou ses pathologies pulmonaires sous jacentes. L'Aspergillose Pulmonaire Chronique Nécrosante (APCN) ou aspergillose semi invasive reste de diagnostic difficile et tardif.

Objectifs : Cette étude rétrospective vise à déterminer les caractéristiques et facteurs de risque de la sous population de patients atteints d'APCN comparée aux patients « séropositifs » avec sérodiagnostic aspergillaire positif sans pathologie aspergillaire évolutive.

Méthodes : Les patients étudiés sont recrutés en unité d'hospitalisation de pneumologie à partir du registre des sérodiagnostics aspergillaires positifs entre 2002 et 2008. Le diagnostic d'APCN est fait d'après les critères de Denning.

Résultats : Cent cinq patients ont été inclus dans l'étude. L'âge moyen était de 59 ans (+/- 16,4 ans) et 70 patients (67%) étaient des hommes. Trente cinq patients (33%) présentaient une APCN et quarante étaient « séropositifs » sans pathologie aspergillaire évolutive lors du suivi. Les patients atteints d'APCN présentaient plus fréquemment un antécédent de mycobactériose (p=0,047). Sur le plan clinique on retrouvait plus fréquemment une hémoptysie symptomatique (p=0,025). Sur le plan radiologique on notait une fréquence significativement plus élevée d'excavations, d'infiltrats et d'épanchements pleuraux. Enfin le sérodiagnostic aspergillaire en arcs était significativement plus élevé chez les patients avec APCN (p=0,001).

Mots clés : Aspergillose pulmonaire chronique nécrosante, sérodiagnostic aspergillaire.

Premier cas de fongémie à *Geotrichum capitatum* décrit en onc-hématologie à l'Hôpital Aziza Othmana, Tunis-Tunisie.S. Sammoud¹, H. Ben Nejj², B. Jemli³, Y. Ben Abdennebi², S. Hamdi¹, D. Ammouche¹, B. Meddeb², O. Bahri¹¹Laboratoire de Microbiologie-Biochimie ²Service d'Onco-Hématologie, Hôpital Aziza Othmana ³Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, Hôpital Militaire de Tunis, Tunis, Tunisie

Introduction : *Geotrichum capitatum* est un pathogène fongique opportuniste qui provoque une géotrichose systémique chez les patients immunodéprimés, en particulier atteints de leucémie aiguë et de neutropénie sévère.

Observation et méthodologie : Il s'agit d'un patient âgé de 36 ans suivi en onc-hématologie à l'Hôpital Aziza Othmana pour leucémie aiguë lymphoblastique proB non hyperleucocytaire non tumorale et sans atteinte méningée initiale. Au cours d'une rechute médullaire, une chimiothérapie de rattrapage a été instaurée. L'évolution était marquée par l'apparition d'une fièvre et de lésions cutanées papuleuses non prurigineuses. Cinq hémocultures ont été réalisées. Le diagnostic microbiologique a comporté un examen direct et un ensemencement sur géloses et milieu sabouraud-chloramphénicol à la recherche de bactéries et de levures. En cas de culture positive, l'identification a été faite grâce à des galeries miniaturisées.

Résultats : Les cinq hémocultures ont été positives à *Geotrichum capitatum*. L'identification de l'espèce a été faite par galerie miniaturisée Auxacolor TM 2[®] Biorad.

Évolution : Dès obtention des résultats microbiologiques, le patient a été mis sous amphotéricine B. Devant la persistance de la fièvre, la caspofungine a été introduite et une étude de la sensibilité aux antifongiques a été faite par anti-fongigramme (Fungitest[®] Sanofi Diagnostics Pasteur). Elle a montré une sensibilité au fluconazole et une résistance à l'amphotéricine B. La souche était intermédiaire à l'itraconazole, au miconazole, et au kétokonazole. La sensibilité au voriconazole a été testée par les la méthode de diffusion en milieu gélosé. Une adaptation du traitement antifongique a été faite par arrêt de l'amphotéricine B et remplacement de la caspofungine par le voriconazole. L'évolution clinico-biologique du patient a été favorable avec disparition de la fièvre et négativation des hémocultures.

Conclusion : Bien qu'elles soient rarement décrites, les infections fongiques invasives chez les patients immunodéprimés sont de mauvais pronostic et généralement mortelles. Cette évolution défavorable peut être évitée grâce à une prise en charge efficace des patients et un bon diagnostic biologique complet.

Spondylodiscite aspergillaire du patient immunocompétent secondaire à une otomycose.

A. Nicolle, J. Bonhomme, M. Hitier, M. Hamon, R. Leclercq, R. Verdon, A. de la Blanchardière

Unité des Maladies Infectieuses, CHU Côte de Nacre, Caen, France

Objet : Cas clinique et revue de la littérature consacrée aux spondylodiscites aspergillaires (SA) de l'immunocompétent (IC).

Méthode : Un patient diabétique de 65 ans, IC, a développé une otite maligne externe sans germe à la culture, qui a évolué sur 18 mois vers une mastoïdite, une ostéite de la base du crâne puis une spondylodiscite C2-C3, malgré une antibiothérapie probabiliste anti-*P.aeruginosa*. Une mastoïdectomie, une biopsie du sphénoïde et deux sérologies aspergillaires reviennent négatives avant qu'une 3^{ème} sérologie revienne discordante et qu'une biopsie prévertébrale retrouve *Aspergillus flavus*. L'évolution sera favorable sous voriconazole donné pendant 1 an. Une revue de la littérature consacrée aux SA de l'IC est réalisée à l'occasion.

Résultat : PubMed identifie, après exclusion des patients immunodéprimés, 44 cas de SA de l'IC avec notre patient. Il s'agit de patient de 48 ans en moyenne (6-76 ans), surtout masculins (68%) avec un facteur prédisposant (84%) souvent de type aspergillome pulmonaire (23%), procédure rachidienne (20%), antécédent de tuberculose pulmonaire (14%), toxicomanie IV (11%), diabète (11%). Parmi eux, la SA était acquise plus souvent par voie hématogène (62%) que par contiguïté (30%). La fièvre est rare (20%), mais la rachialgie habituelle (93%), de localisation le plus souvent lombaire (55%), rarement cervicale (7%). Un abcès épidual est fréquent (25%). La sérologie est inconstamment positive (5/7). Le diagnostic est fait par biopsie (60%) ou abord chirurgical (40%), et retrouve surtout *A.fumigatus* (74%) et *A.flavus* (12%). Le traitement antifongique est systématique, souvent combiné, avec une durée allant de 3 semaines à 14 mois, mais le voriconazole n'a été essayé que chez 7 patients. Le traitement n'a recouru à la chirurgie que dans 57% des cas. La guérison sans séquelles est fréquente (16% de décès, 11% de séquelles), sans influence du recours à la chirurgie, ni du choix de l'antifongique.

Conclusion : la SA reste rare chez l'IC, et difficile à évoquer en raison de la faible sensibilité de la sérologie en l'absence d'atteinte viscérale, et quand elle procède par contiguïté. Le diagnostic repose sur la biopsie, à savoir renouveler en cas de facteur favorisant, notamment de diabète; moyennant quoi le pronostic reste bon.

Surveillance des infections fongiques en réanimation pédiatrique à propos de cas d'aspergilloses.

Z. Benmansour

Mycologie, université de médecine, Oran, Algérie

La présence des moisissures en milieu hospitalier est devenue un sujet de préoccupation tant pour les professionnels de la santé que pour les usagers. En effet, malgré l'absence d'indicateurs permettant de mesurer leurs rôles dans la survenue des infections fongiques, il est établi que la bio contamination à l'hôpital constitue un risque majeur pour les patients fragilisés (Berche et al., 1988), de même pour certains lieux où sont pratiqués des soins ou actes invasifs. En effet, Les infections contractées en milieu hospitalier, constituent par leur gravité un vrai problème de Santé Publique. Ces infections viennent en premier rang de morbidité, de mortalité, de durée prolongée du séjour hospitalier et en coût additionnel (Golliot et al. 1998). Les causes d'infection sont souvent multiples: air, eau, blouses, travaux de rénovation sans prendre des précautions (normes). Des cas de contamination fongique ont été déclarés au cours de sérologies réalisés rentrant dans le cadre du suivie mycologique de la flore dans le service en question Réanimation Pédiatrique.

Matériel et méthode : Suite à l'alerte donnée par les médecins du service de réanimation pour des patients ne répondant aux protocoles habituels de traitements Antibiotiques il a été demandé de réaliser des prélèvements à visé fongique chez ces patients : prise de sang, sonde d'aspiration, hémocultures, cathéters.

Les prélèvements traités en examen direct et en culture sur milieux spécifiques dans le service de Parasitologie et Mycologie du CHU Oran revenaient positifs.

Nous avons entrepris en accord avec le médecin Chef de services une étude environnementale est réalisée (captage de la flore fongique environnementale dans les services respectifs) ainsi qu'un suivi des sérologies des patients.

Résultats : Les cinq patients en question ont bénéficiés d'une serologie Aspergillaire ELISA et d'un traitement antifongique (non disponible au niveau de la pharmacie centrale du CHU grâce à un approvisionnement par décharge faite au niveau d'un autre centre hospitalier) suivie de sérologie de surveillance.

Conclusion : L'infection fongique est toujours reléguée aux derniers rangs, par méconnaissance ou par absence de service compétant dans les centres de soins. Pourtant doit être prise en considération devant un échec thérapeutique aux antibiotiques dans de tels services (à risques).

Ostéomyélite à *Rhizopus microsporus* : à propos d'un cas.C. Soler¹, H. Poirier², C. Mac Nab¹, J.L. Daban², G. Appere¹, D. Garcia-Hermoso³, B. Debien²¹Biologie ²Réanimation, HIA Percy, Clamart ³CNRMA, Institut Pasteur, Paris, France

Rhizopus microsporus peut être responsable d'infections invasives; les cas décrits surviennent chez l'immunodéprimé. La localisation osseuse est exceptionnelle, nous rapportons une observation à la suite d'une inoculation lors d'un accident de la voie publique.

Le patient est un homme de 67 ans qui habite en Côte d'Ivoire victime d'un AVP; il est hospitalisé à Abidjan où il subit des amputations (jambe gauche, doigts), des parages et embrochages pour diverses fractures ouvertes dont une fracture luxation ouverte du coude gauche. L'évacuation sanitaire se fait en région parisienne et l'on constate une gangrène du moignon de la jambe gauche et un coude très inflammatoire, en sus de la reprise chirurgicale une antibiothérapie est instaurée et du Cancidas est prescrit pour un champignon non immédiatement identifié. Une semaine plus tard il est admis dans notre Hôpital pour prise en charge orthopédique et du choc septique. Au niveau du bras gauche la perte de substance permet de retrouver un humérus de couleur noirâtre qui évoque une nécrose. L'étendue des lésions nécessite une désarticulation complète de la hanche gauche, et le patient est régularisé à mi-bras au niveau des 2 membres supérieurs (présence de multiples fusées de nécrose). Les prélèvements centro-médullaires de l'humérus et les différentes biopsies permettent l'isolement de très nombreuses colonies d'un *Rhizopus* qui entraîne la prescription d'Ambisome. Lors du changement du pansement VAC on note un bel aspect au niveau des cicatrices des membres supérieurs avec amélioration des marqueurs de sepsis, le traitement sera poursuivi par le seul antifongique. Le patient est transféré en orthopédie après un séjour en réanimation de 3 semaines; l'identification précise de la mucorale sera obtenue par biologie moléculaire.

La prise en charge des infections à zygomycètes est une urgence thérapeutique même quand elles surviennent sur un terrain non immunodéprimé, l'isolement de l'agent responsable en l'absence d'un diagnostic précis doit conduire à la demande d'avis spécialisé au CNRMA.

Résultats intermédiaires d'une cohorte française de patients sous micafungine (MYRIADE).J.F. Timsit¹, B. Gachot¹, G. Leverger², N. Milpied³¹CHU Michallon, La Tronche ²CHU Trousseau, Paris ³CHU Haut-Lévêque, Pessac ⁴IGR, Villejuif, France

Introduction : La micafungine, disponible en France en 2009, a pour indication le traitement des candidoses invasives ou œsophagiennes et la prévention des infections à *Candida* en cas d'allogreffe de cellules souches hématopoïétiques ou de neutropénie attendue ≥10 jours (j). Une étude de cohorte prospective a été mise en place pour décrire l'utilisation de la micafungine en pratique courante.

Matériel et Méthodes : L'étude a débuté en janvier 2010 dans 108 centres français. A la demande de l'EMA, une analyse intermédiaire a été réalisée sur 236 patients.

Résultats : Cinquante-deux médecins ont inclus au moins un patient dans l'étude. Huit patients étaient âgés de moins d'un mois, 10 de 1 à 24 mois, 28 de 2 à 16 ans, 107 de 16 à 65 ans et 65 de plus de 65 ans, données manquantes = 18 (DM).

Dans 53% des cas (n=112), la micafungine était utilisée en traitement curatif et dans 41% des cas (n=87) en traitement prophylactique (DM=24).

A l'initiation du traitement, les résultats de 74 cultures étaient disponibles. Parmi elles 32 *C. albicans*, 27 *C. glabrata*, 5 *C. krusei* et 1 *C. parapsilosis*.

En curatif, les durées médianes de traitement étaient de 12j chez l'enfant et 9j chez l'adulte et de respectivement 16j et 14j en prophylaxie.

Au final le traitement a été jugé efficace pour 73% (n=136) des patients traités (objectif curatif ou prophylactique atteint, DM=49).

Seize patients sont décédés (aucun décès lié au traitement); 18 ont arrêté le traitement suite à un événement indésirable et un en raison d'une interaction médicamenteuse.

Les bilans hépatiques et rénaux des patients n'ont pas été modifiés de manière significative lors du traitement par micafungine.

Conclusion : Chez 236 patients en France, la micafungine a montré une efficacité antifongique ainsi qu'une tolérance clinique et biologique superposables à celles des autres échinocandines.

Trois cas de tuméfactions cutanées infiltrantes des extrémités, évocatrices de mycétome.G. Desoubreux², G. Baclé³, A. de Muret³, G. de Pinieux³, G. Faizon³,J. Chandenier³, P. Rosset, L. Bernard¹¹Maladies infectieuses et tropicales, CHRU Bretonneau ²CHU Bretonneau³CHU Trousseau, Tours, France

Nous rapportons trois cas de tuméfactions cutanées infiltrantes des extrémités, évocatrices de mycétome.

La première patiente est une femme de 29 ans, originaire de Guinée-Conakry vivant en France depuis 2002, qui s'est présentée pour une tumeur des parties molles en regard des 4^{ème} et 5^{ème} métatarso-phalangiennes du pied droit, évoluant depuis 12 mois. L'examen histopathologique de la pièce biopsiée par voie transcutanée avec un radioguidage révèle la présence de structure fongique organisée en mycétome. La culture sur milieu de Sabouraud met en évidence un champignon filamentueux pigmenté *Exophiala jeanselmei*. Sous traitement par voriconazole, l'évolution est favorable.

Le second patient, âgé de 67 ans et d'origine cambodgienne, a constaté l'apparition d'une tuméfaction au niveau de la première métatarso-phalangienne droite à type de bursite. L'analyse anatomo-pathologique, combinée à la mycologie, est en faveur d'une phaeohyphomycose à *Phaeoacremonium sp.* Dans les terrains favorisants, nous avons retrouvé la notion d'un diabète et d'une infection par le virus de l'hépatite B. Un traitement par voriconazole est instauré pour une durée de 6 mois. Malgré un surdosage initial en triazolol, l'évolution clinique est satisfaisante.

La dernière patiente, âgée de 47 ans, née au Sri Lanka, vit en France depuis 7 ans. L'évolution d'une tuméfaction non fébrile de l'éminence thénar de la main gauche il y a un an l'a amenée à consulter. Il n'y a jamais eu d'écoulement ni épisode fébrile. Une exérèse complète de la lésion a montré l'existence de filaments mycéliens épars. La culture a révélé la présence d'un champignon noir du genre *Phialemonium*. Ces arguments sont en faveur d'une phaeohyphomycose. L'examen clinique à distance est rassurant, la plaie est parfaitement cicatrisée, sans inflammation. Aucun traitement antifongique n'est introduit.

Ces cas cliniques originaux rappellent l'importance de rechercher des causes mycologiques exotiques chez des patients originaires des régions inter-tropicales présentant des lésions cutanées infiltrantes évoluant sur un mode chronique. Peu de données sur la prise en charge thérapeutique sont disponibles mais l'exérèse chirurgicale, associée à un traitement antifongique par voriconazole, a donné satisfaction dans notre série limitée.

Diagnostic biologique du paludisme au CHU de Nantes : bilan de la mise en place de deux indicateurs qualité.M. Leterrier^{1,2}, V. Plong¹, F. Morio^{1,2}, M. Miegville^{1,2}, P. Le Pape^{1,2}¹Laboratoire de Parasitologie-Mycologie, CHU de Nantes ²Département de Parasitologie et Mycologie Médicale, Université de Nantes, Nantes Atlantique Universités, EA1155 – IICiMed, Faculté de Pharmacie, Nantes, France

Objet de l'étude : Le diagnostic biologique du paludisme est un examen long, nécessitant une expertise biologique. Il s'agit d'un diagnostic réalisé en urgence, 24h/24 et 7j/7, dans notre laboratoire ou, en dehors des heures ouvrables, par l'interne de garde en biologie médicale. Les objectifs de ce travail étaient d'une part, de satisfaire aux exigences de la norme NF EN ISO 15189¹ et d'autre part, de s'assurer du respect des recommandations sur le délai de rendu, inférieur à 2 heures².

Méthodes : Sur la période d'étude (novembre 2011-août 2012), 2 indicateurs qualité ont été évalués:

- Conformité des résultats rendus (biologistes et internes), aux programmes d'évaluation interne et externe (UKNEQAS), jusqu'à l'identification d'espèce.
- Délai de rendu du résultat à partir de la réception du prélèvement.

Résultats obtenus : Concernant la conformité des résultats aux programmes d'évaluation de la qualité, une parfaite conformité (100%) a été notée dans le cadre de l'évaluation externe (n=7) et interne (n=5) au sein du laboratoire. Concernant l'évaluation des internes prenant des gardes sur le pôle Biologie, un niveau de conformité de 83% a été mesuré (3 non-conformités).

403 recherches de paludisme ont été réalisées sur la période d'étude (178 en période de garde). Concernant le délai de rendu du résultat, l'analyse a été conduite sur 232 demandes après exclusion des dons d'organes et contrôles post-traitement (n=115) ou délais non calculables (n=56). Le délai de rendu du résultat était inférieur à 2 heures pour 98% des demandes (n=228). Une très bonne conformité des identifications d'espèce avec le CNR Paludisme a été observée.

Discussion : Le suivi de ces indicateurs permet de s'assurer du respect des recommandations de la conférence de consensus et de satisfaire aux exigences de la norme NF EN ISO 15189. Cette étude a également permis de mettre en place une action corrective à travers une nouvelle séance de formation pour les internes suite à des résultats non conformes au programme d'évaluation interne de la qualité. Ce travail permet, au final, d'objectiver le rendu d'un résultat fiable, dans un délai acceptable.

Références :

1. Norme NF EN ISO 15189. AFNOR, 2007.
2. Prise en charge du paludisme d'importation à *P. falciparum*, conférence de consensus 1999 (rev. 2007).

La consultation avant un voyage en zone tropicale : évaluation des pratiques des médecins généralistes en Franche Comté en 2010.E. Piotte³, A.P. Bellanger¹, G. Piton², L. Millon¹, P. Marguet³¹Parasitologie-Mycologie ²Réanimation médicale, CHU Besançon,Besançon ³Urgences, CHR Pontarlier, Pontarlier, France

Introduction : Avec l'augmentation des échanges internationaux, les médecins généralistes sont en 1^{ère} ligne pour conseiller leurs patients avant un départ en zones tropicales. Les objectifs de cette étude prospective étaient

- i. de décrire l'activité de médecine des voyages chez les médecins généralistes de Franche Comté
- ii. d'évaluer leur connaissance en terme de conseils sanitaires, de vaccinations préventives et de chimio-prophylaxie antipaludique et
- iii. d'identifier les facteurs associés au niveau de connaissance des médecins généralistes.

Méthode : 400 questionnaires ont été envoyés à des médecins généralistes installés en Franche Comté (tirage au sort). Les questionnaires comportaient 2 parties

- i. recueil de données socio-démographiques et
- ii. 3 scénarios cliniques sous forme de QCM portant sur les conseils aux voyageurs, la vaccination préventive conseillée et la chimio-prophylaxie antipaludique (score pouvant aller de -7 à +18). Un score de motivation global a également été établi à partir de données socio-démographiques. Les résultats ont fait l'objet d'une analyse statistique multivariée.

Résultat : Le taux de réponse était de 37.5%. La majorité des médecins participants étaient des hommes (80%), de plus de 46 ans (76%), avec une répartition équilibrée entre les zones rurales (33%) et urbaines (41%), 48% en association et 42% seuls. La majorité a déclaré suivre une formation continue en médecine du voyage (85%) et 59% étaient eux-mêmes des voyageurs réguliers.

Les scores obtenus aux questionnaires allaient de 0 à 15, avec une médiane de 8. L'intervalle interquartile se situait entre 6 et 10. Après analyse statistique multivariée, 3 variables étaient associées à un meilleur score des médecins généralistes participants :

1. proximité à un centre de vaccination,
2. score de motivation global élevé

3. absence d'appel systématique à un expert pour le choix de la prophylaxie antipaludique.

Discussion/Conclusion : Les médecins généralistes qui ont le mieux répondu aux situations cliniques proposées étaient ceux qui avaient le plus d'intérêt dans la spécialité de médecine du voyage, qui ne demandent pas systématiquement d'avis à un expert pour prescrire une prophylaxie antipaludique et dont le cabinet est installé à proximité d'un centre de vaccination.

485/86A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Examen parasitologique des selles : comparaison des kits EasyPara® (Servibio) et Para-selles® (Fumouze).

A. Pauquam, F. Ngamada, H. Yera

Laboratoire de Parasitologie, Hôpital Cochin, Paris, France

Objectif : Comparer la sensibilité de deux kits commercialisés en étudiant les résultats obtenus à partir d'une gamme de dilutions d'une selle expérimentalement polyparasitée par des protozoaires et des helminthes.

Matériel et Méthode : A partir de selles formolées de patients une selle polyparasitée a été constituée. Elle contenait des protozoaires: kystes d'*Entamoeba histolytica/dispar*, kystes d'*E. coli*, kystes de *Giardia intestinalis* et des helminthes: œufs de *Tania* spp, œufs d'*Ascaris lumbricoides* et larves de *Strongyloides stercoralis*.

Avec du sérum physiologique quatre dilutions ont été réalisées. Pour chaque dilution deux types de concentrations ont été réalisés avec chaque kit : Bailanger, « Servisol » pour EasyPara® et Bailanger, MIF pour Para-Selles®.

Les kits ont été utilisés selon les recommandations des fournisseurs.

Le kit Easy Para® nécessite 1ml d'échantillon auquel est ajoutée 8ml d'acéto-acétique (Bailanger) ou de solution « Servisol ». Il utilise un dispositif comprenant un filtre.

Le kit ParaSelles® nécessite 3ml d'échantillon auquel est ajouté 20ml d'une solution d'acéto-acétique ou de MIF. Après sédimentation 3ml d'acétate d'éthyle est ajouté à 5ml de surnageant.

Pour les deux kits une centrifugation (200g pdt 5min) est nécessaire.

Pour chaque dilution la totalité des culots a été examiné (objectif x 40) et le nombre totaux de parasites comptabilisé.

Résultats : Les deux kits ont permis une concentration des parasites significative par rapport à l'examen direct. Les deux kits ont des seuils de détection équivalents (dernière dilution positive), toutefois le kit EasyPara® aurait un meilleur rendement pour la concentration des kystes de *G. intestinalis* et des larves de *S. strongyloides* (nombre d'éléments par culot).

Conclusion : Dans nos conditions d'utilisation les deux kits ont des performances qui apparaissent proches. Le kit EasyPara® est plus simple de réalisation, plus rapide que le kit ParaSelles® car il comporte moins d'étapes et de réactif mais la lecture des culots est plus longue qu'avec le kit Para-selles® en raison d'une plus grande présence de débris.

486/86A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Larva migrans cutanée autochtone, un piège diagnostique. à propos d'un cas pustuleux de localisation atypique.

A.L. Liégeois², A. Valois², Q. Bensa², A.C. Fougères², J.M. Puyhardy¹, Y. Véran²

¹Service de Biologie ²Service de Dermatologie, HIA Legouest, Metz, France

Introduction : La larva migrans cutanée est due à une nématodose intestinale animale. Deux espèces sont principalement impliquées: *Ancylostoma ceylanicum* et *Ancylostoma braziliensis*. La forme classique se présente comme un cordon serpiginéux érythémateux très prurigineux. Nous rapportons le cas d'une patiente présentant une forme serpiginéuse pustuleuse et érosive du sein associée à une folliculite.

Observation : Une patiente de 24 ans, consulte pour des érosions suintantes du sein gauche. L'examen montre un placard érosif, prurigineux, suintant, macéré, bordé par une folliculite et des lésions serpiginéuses pustuleuses évoluant en cordon purulent. Les prélèvements locaux microbiologiques sont négatifs. Les antiseptiques sont inefficaces.

Une hyperéosinophilie sanguine supérieure à 1000/MM est retrouvée. L'histologie est en faveur d'une folliculite pustuleuse à éosinophiles. L'interrogatoire ne retrouve qu'un contact prolongé avec un chaton qu'elle tenait au niveau de son sein. Le diagnostic de folliculite ankylostomienne est retenu. Un traitement par Ivermectine permet une diminution rapide de l'inflammation, des pustules et une normalisation du taux des éosinophiles, confirmant le diagnostic.

Discussion : La larva migrans cutanée est souvent contractée en zone tropicale. Les hôtes intermédiaires sont les chiens, mais les chats peuvent également être porteurs. La lésion cutanée est localisée au niveau des zones de contact avec le sol, et se présente principalement sous la forme de cordons serpiginéux très prurigineux. On assiste depuis quelques années à une émergence de cas Européens, mais toujours sous la forme classique. La forme à type de folliculite est plus rare et conduit souvent à une errance diagnostique. La folliculite est retrouvée seule ou en association avec les cordons serpiginéux inflammatoires. Le traitement est basé sur un antiparasitaire, l'ivermectine en traitement minuit qui est le traitement de référence. L'albendazole à 400mg par jour pendant 5 jours est une alternative.

Conclusion : Nous présentons un cas original de larva migrans cutanée de part sa localisation, sa transmission par un chat, les lésions serpiginéuses pustuleuses superficielles mimant une infection bactérienne et son caractère autochtone.

Références :

1. Veraldi S, J Eur Acad Dermatol Venereol, 2005 Sep; 19(5): 628-30
2. Caumes E, Br J Dermatol 2002 Feb; 146(2): 314-6
3. Tamminga N, Emerg Infect Dis 2009 Nov; 15(11): 1856-8

487/86A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Aspects épidémio-cliniques, thérapeutiques et évolutifs des cas de leishmaniose cutanée suivis au service des maladies infectieuses du CHU Sétif de 2005 à 2010.

A. Ouyahia^{2,1}, M. Rais¹, W. Guenifi^{1,2}, A. Gasmi¹, S. Mechakra¹, A. Lacheheb¹
¹Maladies infectieuses, Centre hospitalo universitaire ²Faculté de médecine, Sétif, Algérie

Les leishmanioses cutanées (LC) constituent un véritable problème de santé publique en Algérie comme dans la plupart des pays circum méditerranéens. Son incidence a augmenté en 2009 atteignant 35, 26 cas pour 100.000 habitants.

Objectif de l'étude : Préciser les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, diagnostiques, thérapeutiques et évolutives de la LC à travers les cas rapportés.

Méthodes : Nous avons effectué une étude rétrospective sur l'ensemble des dossiers de patients présentant une leishmaniose cutanée, traités en milieu hospitalier ou en ambulatoire, suivis au service des maladies infectieuses CHU Sétif de janvier 2005 à décembre 2010. Les critères d'hospitalisation sont la multiplicité des lésions et ou l'atteinte de la face. Les données recueillies ont été saisies et analysées avec le logiciel Epi Info version 3.5.3.

Résultats : 25 patients ont été suivis au service des maladies infectieuses de 2005 à 2010, 52% d'entre eux sont de sexe masculin; L'âge moyen est de 36,2 ans avec des extrêmes compris entre 14 et 72 ans. L'origine géographique des patients ou la notion de séjour dans une zone endémique justifie les lésions sauf dans deux cas originaires et demeurant à Sétif.

Le délai diagnostic dépasse 1 mois dans tous les cas; Les lésions sont ulcéro crouteuses dans 96% des cas, indolores et siègeant dans les parties découvertes chez 100% des patients, Le prélèvement cutané met en évidence le parasite dans tous les cas, aucune biopsie n'a été pratiquée. 44% des patients ont reçu de l'antimoniote de meglumine (glucantime) par voie générale en milieu hospitalier; aucun cas de stibio intolérance ou stibio intoxication n'est noté; l'évolution est favorable dans tous les cas au prix toutefois de cicatrices indélébiles.

Conclusion : Véritable problème de santé publique, La leishmaniose cutanée est en nette recrudescence en Algérie, et sévit sous deux formes nosologiques avec des distributions géographiques différentes, Son diagnostic est facile, l'antimoniote de meglumine reste le traitement de choix.

488/86A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Aspects cliniques et épidémiologiques des infections pédiatriques à Blastocystis hominis.

A. Empain², A. Dediste¹, O. Vandenberg^{1,2}, C. Moens¹, J. Levy^{1,2}, T. Van Gool^{3,2}

¹Laboratoire de Biologie clinique, CHU Saint-Pierre ²Faculté de médecine, Université libre de Bruxelles, Bruxelles, Belgique ³Laboratory of parasitology, Academic Medical Center, Amsterdam, Pays-Bas

Objet : *Blastocystis hominis* est un parasite entérique dont le rôle pathogène est encore controversé.

L'objectif de ce travail est de décrire l'épidémiologie et les manifestations cliniques de *Blastocystis hominis* en comparaison avec d'autres parasites unicellulaires au sein de la population pédiatrique fréquentant le CHU Saint-Pierre.

Méthode : Revue des résultats d'analyse de 4863 échantillons de selles de patients âgés de 0 à 16 ans pour lesquels un examen parasitologique des selles avait été réalisé en utilisant le set TFT (Triple Faeces Test) entre le 1^{er} Janvier 2007 et le 31 décembre 2011.

Afin d'évaluer l'impact clinique de *Blastocystis hominis*, tous les dossiers médicaux des patients infectés par celui-ci ainsi que par *Giardia lamblia*, *Dientamoeba fragilis* et *Cryptosporidium* sp. ont été étudiés de manière rétrospective.

Résultats : Nous avons examiné les selles de 2027 patients et trouvé des parasites dans 372 échantillons.

G. lamblia, *D. fragilis* et *Cryptosporidium* ont été retrouvés respectivement chez 3,8%, 5,7% et 0,7% des patients. *B. hominis* est le parasite le plus fréquemment rencontré avec une prévalence de 13,1%.

L'analyse des des dossiers cliniques montre que l'âge médian est supérieur pour les patients infectés par *Blastocystis* et *Dientamoeba* en comparaison avec *Cryptosporidium* et *Giardia*. Contrairement à *Cryptosporidium* et *Giardia*, l'infection à *Blastocystis* n'est que rarement précédée d'un séjour à l'étranger. Tout comme pour *D. fragilis*, la douleur abdominale est le symptôme le plus souvent rencontré (62,1%) chez les patients infectés par *Blastocystis*.

Conclusion : Nos observations confirment le rôle de *B. hominis* comme entéro-pathogène pédiatrique potentiel dont les aspects cliniques se rapprochent de ceux observés en cas de présence de *D. fragilis* dans les selles. L'utilisation de techniques de typage moléculaire nous permettra d'évaluer plus finement l'impact clinique et épidémiologique de cet entéro-pathogène émergent.

489/87A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Infections nosocomiales à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline chez les brûlés en réanimation.

A. Mokline², J. Haddad², H. Oueslati², L. Garsallah², B. Gasri², S. Tlaili², I. Harzallah¹, A.A. Messadi²

¹Laboratoire de Pharmacologie ²Service de Réanimation des brûlés, Centre de Traumatologie et des Grands Brûlés, Tunis, Tunisie

Introduction : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) est un pathogène majeur, responsable d'un nombre important d'infections chez les patients en réanimation. Les infections sévères liées au SARM sont associées à une augmentation de la morbi-mortalité, en comparaison aux infections liées aux souches sensibles à la méticilline.

But de l'étude : Évaluer le profil épidémiologique des infections nosocomiales à *Staphylococcus aureus* résistant (SARM) à la méticilline chez les brûlés et leur sensibilité aux antibiotiques, les facteurs de risque, la morbidité de ces infections et d'établir une démarche de prévention.

Matériel et méthode : Enquête rétrospective dans un service de réanimation des brûlés. Les patients ayant développé une infection à SARM entre Aout 2008 et Décembre 2010 ont été étudiés. Les critères du diagnostic positif de l'infection nosocomiale sont ceux recommandés par la Société Française d'Etude et de Traitement des Brûlures (SFETB) en 2006.

Résultats : Durant la période d'étude, 696 patients ont répondu aux critères d'inclusion. 57 parmi eux ayant développé une infection à SARM, dont 33 hommes (58%) et 24 femmes (42%). L'âge moyen de nos patients est de 39±20 ans. La surface cutanée brûlée moyenne (SCB) est de 36,8±16%. Dans notre population, 65 épisodes infectieux à *S.aureus* ont été notés : 90% sont des infections à *S.aureus* résistant à la méticilline (SARM) vs 10% à *S. aureus* sensible à la méticilline (SASM). Ces infections nosocomiales sont essentiellement des septicémies et des infections cutanées. Le délai moyen d'infection à SARM est en moyenne de 20 jours. L'étude de la sensibilité aux antibiotiques n'a montré aucune résistance du SARM vis à vis des glycopeptides. L'évolution était défavorable dans 24 cas (42%). L'analyse univariée a permis de dégager les facteurs prédictifs de décès suivants: l'étendue des lésions de brûlure avec une SCB ≥40%, le cathétérisme veineux central et la co-infection à des germes multi-résistants principalement *AcinetobacterBaumannii*.

Conclusion : Les infections à SARM liées aux soins demeurent fréquentes et induisent des coûts liés à l'antibiothérapie et à la durée de séjour. Des mesures de préventions devraient être mise en place : respecter les bonnes pratiques de soins en terme d'hygiène hospitalière de base (asepsie, port de gants, lavage des mains), privilégier la diminution de l'exposition au risque par une évaluation quotidienne de l'indication du maintien des dispositifs invasifs et suivre une politique de bon usage des antibiotiques.

490/87A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Prévention du risque infectieux dans un centre d'hémodialyse : eau de dialyse, surfaces et portage nasal à SARM.

B. Oumokhta², A. El Ouali L¹, M. Mahmoud², M. Arrayhani³, T. Squalli H³

¹Laboratoire de diagnostic épidémiologique et d'hygiène du milieu ²Laboratoire de microbiologie, faculté de médecine et de pharmacie ³Service de Néphrologie, CHU Hassan II, Fès, Maroc

Objectif : Dans le but de prévenir le risque infectieux autre que celui lié à l'accès vasculaire chez les patients en hémodialyse chronique. Nous avons choisi de cibler et de contrôler la qualité microbiologique au niveau de 3 axes:

1. l'eau de dialyse,
2. l'environnement proche du patient et,
3. le dépistage du portage nasal à SARM.

Matériels & méthodes : Les prélèvements ont concerné d'une part 21 échantillons de dialysat et d'autre part, des échantillons d'eau à différents points de la station de traitement et de distribution (n=33). La technique de filtration sur membrane a été utilisée pour le dénombrement de la flore hétérotrophe, avec mise en culture sur milieu PCA pendant 72 heures à 37 °C. Le dépistage du portage nasal a été réalisé par écouvillonnage des narines de 70 patients en HD chronique consentants. Les isolats ont été identifiés et un antibiogramme a été réalisé. Les prélèvements de surface (n=20) ont concerné les générateurs, les lits, les chariots et les poignées de porte.

Résultats : Tous les échantillons d'eau et de dialysat ont été conforme au standard de qualité (*Ochrobactrum anthropi* (34%), *Ralstonia pickettii* (22%), *Pseudomonas vesicularis* (10%) et *P. stutzeri* (10%). Concernant les surfaces, nous avons isolé *Pantoea agglomerans*, *Enterobacter cloacae*, *Providencia alcalcaligenes*, *Photobacterium damsela* et des staphylocoques à coagulase négative. La prévalence du portage nasal à *S. aureus* a été de 40,5% dont un seul isolat s'est révélé résistant à la méticilline (SARM 3,3%), mais aussi à la pénicilline, gentamicine, tobramycine, kanamycine, péfloxacin, tétracycline, érythromycine.

Conclusion : Dans un centre d'hémodialyse, la désinfection régulière des surfaces, des procédures de désinfection et de maintenance du système de traitement d'eau bien tenue et le dépistage du portage nasal à SARM sont des mesures tout aussi critiques que les précautions liées à l'accès vasculaire afin de garantir un niveau de sécurité sanitaire maximale pour les patients hémodialysés.

491/87A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Retour d'expérience sur la mise en place d'alerte informatique pour la surveillance des infections du site opératoire en chirurgie orthopédique.

E. Joseph³, V. Chartier³, J. Braden¹, L. Zangoli³, H. Chardon²

¹Chirurgie orthopédique ²Laboratoire Bactériologie ³Unité d'Hygiène

Hospitalière, Centre Hospitalier Intercommunal Aix Pertuis, Aix-en-Provence, France

Objet de l'étude : Le CHIAP participe annuellement à la surveillance des infections du site opératoire (ISO) via le réseau C.CLIN Sud-est. L'unité d'hygiène hospitalière (UHH) souhaitait garder cette veille tout au long de l'année pour les services de chirurgie orthopédique. Deux problèmes se posaient: Comment obtenir un signalement exhaustif des ISO en dehors des mois de suivi dans le cadre du réseau CCLIN Sud Est ? Comment maintenir une surveillance des opérations non retenues comme prioritaires dans les mois de suivi dans le cadre du réseau CCLIN Sud Est ?

Méthode : Il existait un suivi des infections nosocomiales pour les services volontaires via une alerte email émanant du laboratoire de bactériologie. Après une concertation pluri disciplinaire, les services de chirurgie orthopédique ont été intégrés dans cette surveillance. La critérisation de la nosocomialité des dossiers (1 dossier correspond à un germe isolé à un taux significatif pour le laboratoire) se fait sur un support de listings hebdomadaires des germes isolés dans les prélèvements puis envoyés à l'unité d'hygiène hospitalière pour analyse. La saisie des données et l'investigation sont effectuées par un praticien attaché de l'UHH. Elles sont dans un second temps, validées par les chirurgiens, s'il y a lieu.

Résultats obtenus : Au total 20 infections du site opératoire ont été révélées en plus de la surveillance ISO du réseau grâce à cette méthode sur l'année 2011. 10 sont apparues dans un délai supérieur à 1 mois, elles n'auraient pas été mises en évidence via le réseau du CCLIN Sud-est. En effet, la durée moyenne de survenue des ISO en chirurgie orthopédique est de 68,4 jours avec une médiane à 32 jours (7 jours à 323 jours).

Conclusion : La participation au réseau ISO du CCLIN Sud-est est un outil performant dans la surveillance des ISO. Mais il est doit être associé à suivi annuel sans sélection du type d'intervention. En effet, grâce à au système d'alerte bactériologique mis en place au CHIAP. L'UHH a une vision exhaustive des infections, bien au-delà du mois de suivi post opératoire. De plus, la méthodologie choisie est moins lourde que celle du réseau ISO. Il reste néanmoins que les infections du site opératoire non documentées bactériologiquement ne sont pas détectées.

492/87A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Infections invasives à *Streptococcus pyogenes* du post-partum. Quand une transmission croisée par un membre du personnel peut-être mise en évidence.

M. Aupee, H. Sénéchal, P.Y. Donnio

Clin Ouest, Rennes, France

Objet : Les infections invasives à *Streptococcus pyogenes* (SGA) du post-partum sont suivies avec un intérêt particulier au CCLIN Ouest où elles ont déjà fait l'objet de plusieurs travaux. Le signalement externe (SE) des infections nosocomiales permet de disposer d'un certain nombre de données, notamment concernant le caractère nosocomial de ces infections et la notion d'une éventuelle transmission croisée.

Méthode : Il s'agit d'une étude descriptive rétrospective des infections puerpérales à SGA réalisée à partir des fiches de SE des infections nosocomiales reçues au CCLIN Ouest du 01/08/2001 au 31/08/2012. Ont été inclus tous les signalements de cas groupés d'infections invasives à SGA survenues au décours d'un accouchement par voie basse ou césarienne.

Résultats : Parmi les 95 signalements enregistrés entre 2001 et 2012, 21 décrivait des cas groupés. Pour 9 SE, une infection nosocomiale liée à une transmission croisée a été évoquée et confirmée par le typage des souches.

Dans deux signalements, la même souche de *S. pyogenes* a été isolée chez une sage femme ayant procédé aux accouchements. Dans le premier SE, 4 patientes avaient fait une endométrite dont une associée à une bactériémie et une infection urinaire, mais 2 patientes n'avaient eu ni hémoculture, ni ECBU. Le dépistage réalisé chez le personnel a permis de mettre en évidence qu'une sage-femme était porteuse d'un SGA dont le profil génotypique était identique à celui des patientes.

Moins banal est le second signalement. Il concernait 2 endométrites associées à une bactériémie. La sage femme présentait un dépistage pharyngé négatif, mais un prélèvement vaginal positif... Le typage des souches montrait là encore une similitude des souches.

Un portage rectal ou vaginal a déjà été mis en évidence chez des personnels en l'absence de portage pharyngé ou cutané. Dans ce signalement aucun prélèvement cutané n'a été réalisé.

Conclusion : Mettre en évidence une transmission croisée lors des cas

groupés d'infections à SGA, n'est pas simple. Le dépistage pharyngé chez le personnel est souvent négatif, la transmission croisée en suites de couches est alors envisagée. La colonisation d'autres sites que le pharynx et la peau pourrait peut-être être envisagée dans certains cas où la transmission croisée semble évidente.

493/87A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

De l'importance de porter un masque lors de rachianesthésies !

F. Suy, P. Verhoeven, F. Lucht, F. Grattard, A. Carricajo, B. Pozzetto, P. Berthelot

CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

Objet de l'étude : Conduite d'une investigation épidémiologique destinée à rechercher l'origine d'une méningite nosocomiale survenue au décours d'une rachianesthésie chez un patient de 40 ans ayant bénéficié d'une chirurgie orthopédique.

Méthodes : Les étapes suivantes ont été suivies: (i) signalement interne par l'infectiologue ayant fait le diagnostic de méningite nosocomiale, (ii) contact avec le praticien hygiéniste de l'établissement d'origine du patient, (iii) signalement externe au CCLIN et à l'ARS, (iv) récupération de la souche de *Streptococcus salivarius* isolée par ponction lombaire et conservée par un laboratoire de ville, (v) rencontre avec l'anesthésiste en charge du patient pour recommandations d'hygiène et proposition sur la base du volontariat d'un prélèvement buccal, (vi) isolement dans ce prélèvement d'une souche de *S. salivarius* et analyse génotypique par AP-PCR des souches du patient, de l'anesthésiste et de 2 souches non reliées épidémiologiquement, (vii) restitution des résultats au soignant pour action corrective.

Résultats obtenus : Un syndrome méningé avec fièvre à 38,5°C a été observé 48 à 72h après la chirurgie. La ponction lombaire a ramené un liquide légèrement trouble comportant 405 globules blancs/mm³ dont 70% de polynucléaires. L'examen direct a montré de nombreux cocci à Gram positif et la culture a donné lieu à la croissance d'une souche de *S. salivarius*. La discussion entre pairs avec le professionnel de santé ayant pratiqué la rachianesthésie a permis la réalisation d'un prélèvement buccal pour culture microbiologique. La transmission croisée a été avérée par la mise en évidence de souches similaires de *S. salivarius* par typage moléculaire chez le patient et l'anesthésiste. Le patient a parfaitement guéri. Une rétro-information des résultats de l'investigation a été faite à l'anesthésiste et les recommandations d'hygiène en cas de rachianesthésie, incluant les indications du port de masque, lui ont été rappelées.

Conclusion : Même si la fréquence des méningites post rachianesthésie est faible (0,2-0,3‰ rachianesthésies), une part d'entre elles est évitable par le port approprié du masque chirurgical. Le présent cas clinique illustre l'importance de cette mesure barrière lors de gestes aseptiques.

494/87A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Étude de coût d'une épidémie d'entérocoque résistant aux glycopeptides dans deux services de soins.

C. Noel¹, A. Cabo², A. Girardot³, P. Picaud⁵, N. Guerrier⁴, A. Abache¹, S. Bache³, F. Garcia⁶, D. Lecoine⁷

¹Contrôle de gestion ²DIM ³Direction de la logistique ⁴Pôle de Soins de suite et de Réadaptation ⁵Pôle Médecine de Spécialités ⁶Pôle Santé publique ⁷UFHLLIN, Centre Hospitalier Sud Francilien, Corbeil Essonnes, France

Les Entérocoques Résistants aux Glycopeptides (ERG) diffusent de façon continue dans les hôpitaux français. L'impact sanitaire des épidémies d'ERG est connu mais leur impact économique en établissement de santé reste méconnu. Son estimation est partiellement possible grâce à la tarification à l'activité (T2A). Néanmoins, certains services de soins comme les soins de suite et de réadaptation ne sont pas soumis à la T2A. En 2011, le Centre Hospitalier Sud Francilien a connu une épidémie d'ERG. Le cas index a été dépisté dans le service de cardiologie conventionnelle et l'épidémie s'est étendue au service de réadaptation cardio-vasculaire. Le but de notre travail était d'estimer rétrospectivement l'impact économique de cette épidémie.

Les coûts directs et indirects, ainsi que les revenus liés à la gestion des cas infectés ou colonisés et des cas contact, ont été calculés *a posteriori*. Les coûts directs étaient représentés par l'augmentation du temps de travail du personnel hospitalier pour la gestion de l'épidémie et la mise en place du cohorting, les analyses de laboratoire et les consommables. Les coûts indirects étaient représentés par l'arrêt des admissions dans les secteurs de soins concernés par l'épidémie. Ceux-ci ont été calculés grâce à la T2A pour le service de cardiologie et grâce à la valeur du ticket modérateur pour le service de réadaptation cardio-vasculaire. Les revenus étaient liés au codage des précautions complémentaires contact (PCC), qui induit le reclassement du niveau d'hospitalisation du séjour de certains patients du niveau 1 au niveau 2.

Les coûts directs ont été évalués à 2049 euros (€) pour le personnel hospitalier, 34 € pour les activités de laboratoire et 904 € pour les consommables. Les coûts indirects représentaient 93 759 € pour le service de cardiologie. La perte d'activité du service de réadaptation cardio-vasculaire a été estimée à 46% correspondant à 15 965 €. Le total des dépenses s'élevait à 112 711 €. Le codage des PCC a engendré 59 942 € de revenus, réduisant l'impact financier de l'épidémie à 52 769 €. Les revenus représentaient 53,2% des dépenses.

La prise en compte dans la T2A des coûts réels liés aux ERG devrait

permettre aux tutelles de mieux aider les établissements de santé à gérer l'impact de telles épidémies.

495/87A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Facteurs de risque d'acquisition d'un clone épidémique de *Klebsiella pneumoniae* BLSE au Centre Hospitalier d'Avranches-Granville et analyse des coûts.

A. Gabard, M. Binet, R. Leservoiesier, N. Chevrier, G.C. Borderan, E. Piednoir
Centre Hospitalier Avranches, Granville, France

Objet de l'étude : Depuis 2009, une incidence croissante des prélèvements positifs à *Klebsiella pneumoniae* BLSE est observée dans notre établissement. Dans le but de cibler les personnes à risque d'acquiescence ce germe et d'améliorer leur prise en charge, nous avons décidé de réaliser une enquête cas-témoins et d'estimer l'impact économique de l'épidémie.

Méthode : L'étude rétrospective inclue 107 patients colonisés ou infectés par *Klebsiella pneumoniae* BLSE, sur une période de 33 mois. Un témoin est attribué pour un cas selon 4 critères d'appariement: le sexe, la date d'admission +/- 4 jours, le service, la date de diagnostic positif comprise dans l'hospitalisation.

Résultats obtenus : La provenance du patient ne diffère pas significativement chez les cas et les témoins (p=0,11). La durée moyenne de séjour est de 39,6 jours pour les cas et 20,1 jours pour les témoins (p<0,01). Dans 26% des cas, les patients sont issus du service de réanimation. Les souches de *K. pneumoniae* BLSE ont été isolées majoritairement dans des prélèvements réalisés à des fins diagnostiques (89,7%), dont 64,6% d'entre eux sont des urines. Les patients infectés représentent 44,9% des cas. Un motif d'hospitalisation infectieux (p=0,01), un passage en réanimation dans les 3 derniers mois (p<0,01), et le fait que le patient soit atteint d'un diabète (p=0,01) apparaissent en analyse multivariée comme facteurs de risque d'acquisition d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* BLSE. De plus, une exposition aux antibiotiques au cours des 6 mois précédents (p<0,01) est également un risque d'acquisition de la souche. Sont concernées les pénicillines (p=0,03) et d'autres familles d'antibiotiques telles que les carbapénèmes (p<0,01). Les C3G (p=0,16) et les quinolones (p=0,07) ne sont pas significatifs. Les surcoûts hospitaliers chez les cas par rapport aux témoins, sont estimés à 15800 euros par patient. La différence de coûts d'hospitalisation des cas infectés versus colonisés est de 6071,9 euros par patient.

Conclusion : Un motif d'hospitalisation infectieux, un passage en réanimation, une exposition aux antibiotiques, un diabète sont retrouvés comme facteurs de risque indépendants d'acquisition d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* BLSE.

496/87A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Où hospitaliser les patients porteurs de bactéries productrices de carbapénémase (BPC) ?

A. Blaise-Stevens¹, L. Escaut¹, A. Dinh³, N. Fortineau², C. Lawrence⁴, O. Derradji¹, C. Perronne³, D. Vittecoq¹

¹Infectiologie ²Microbiologie, GHU Paris Sud, Bicêtre ³Infectiologie ⁴Microbiologie, Hôpital Raymond Poincaré, Garches, France

Objectif : Évaluer les caractéristiques cliniques et bactériologiques des patients porteurs ou infectés par des BPC, les caractéristiques du séjour, la charge en soins et la transmission croisée au sein de 2 services de maladies infectieuses (SMIT) de la région parisienne.

Méthodes : Étude rétrospective de janvier 2011 à juin 2012 de données épidémiologiques et cliniques de ces patients, hospitalisés dans chacun des 2 services.

Résultats : Treize patients (12 hommes et 1 femme, âge médian 28 ans) ont été hospitalisés pour 7 ostéites, 2 AVC, 1 tétraplégie sur AVP, 1 pancréatite, 1 sepsis sévère avec IRA, 1 PRES syndrome. Quatre patients présentaient un antécédent (Crohn, lymphome, Lupus, BPCO). Onze avaient été hospitalisés à l'étranger dans l'année précédente. 22 BPC ont été isolées: entérobactéries (15), *A. baumannii* (7) soit 12 OXA 48, 6 OXA 23, 2 KPC, et 2 NDM1 (4 infections, 9 colonisations). Douze patients avaient besoin de pansements quotidiens et d'une kinésithérapie, 2 étaient dialysés, 7 ont nécessité un passage au bloc opératoire, 12 ont reçu une antibiothérapie. Le score AGGIR médian (échelle de dépendance de 1 à 6) était de 3. Leur durée moyenne de séjour était de 60j (23 à 297j, DMS habituelle 9j). Deux patients sont décédés sans lien avec la BPC. Il n'y a pas eu de cas secondaire au sein des services.

Conclusion : Les patients porteurs de BPC représentent une population hétérogène, nécessitant des soins lourds et spécialisés inhabituels en SMIT posant la question de la continuité des soins sans perte de chance en condition d'isolement. La dotation en personnel doit être respectée et la prise en charge coopérative entre plusieurs disciplines. En contre partie de cet effort, il n'y a pas eu de cas secondaire. La création de structures d'aval adaptées s'impose afin de limiter la durée de séjour. Si l'impact semble négatif sur la gestion économique du service par une perte de recettes (codification ne prenant pas en compte l'isolement hautement spécialisé), la concentration des patients sur un même site limite la perte de recettes pour l'établissement. Une telle prise en charge n'est réalisable qu'au prix d'une réflexion associant la direction de l'établissement, l'hygiène hospitalière et l'ensemble de la communauté médicale.

Pyo VIM en réanimation : une histoire pleine de leçons ...

V. Leflon-Guibout², S. Nérôme¹, S. Pease³, H. Bout³, I. Villard³, Y. Martin³, I. Garrigues¹, R. Metivier², C. Laymé², M.H. Nicolas-Chanoine²
¹Hygiène Hospitalière ²Microbiologie ³Réanimation Chirurgicale, Hôpital Beaujon, Clichy, France

Introduction : La chasse aux entérobactéries (E) productrices de carbapénémases est ouverte. Quid des bacilles pyocyaniques producteurs de carbapénémases de type VIM (PyoVIM) ?

Matériels et méthodes : Face à l'épidémie à PyoVIM (23 colonisations, 2 infections) entre janvier et août 2012 en réanimation (Réa: 17 lits) à l'hôpital Beaujon, des mesures de 4 types ont été appliquées, avec pour chacune des adaptations au cours du temps: (1) gestion des patients (a) en Réa: regroupements des cas avec personnel dédié, puis sectorisation des cas, des contacts et des « naifs » avec personnel dédié, puis arrêt des admissions jusqu'au départ du dernier cas et (b) dans les autres services après transfert des cas: précautions complémentaires contact renforcées, (2) prélèvements d'environnement (PE- eau, siphons, matériels), (3) surveillance hebdomadaire en Réa du portage du PyoVIM avec typage des PyoVIM et (4) en Réa, bionettoyage, détartrage, désinfection des points d'eau avec changements des siphons des chambres.

Résultats : La courbe épidémique a montré: de fin janvier à mi-février, 3 cas en Réa [ECBU, prélèvement distal protégé (PDP), bactériémie liée au cathéter (KT)] avec 1 PE positif (siphon dans 1 chambre-cas): en mars-avril, 3 autres cas (ECBU) dans 2 services après leur transfert de Réa avec 1 PE positif (siphon dans 1 chambre-cas) mais sans aucun cas secondaire: fin avril-mai 7 nouveaux cas en Réa [1 ECU, 1 KT, 1 PDP et 4 écouvillons rectaux (ER)] et un 14ème cas (infection du rachis) chez un patient transféré en orthopédie. La sectorisation mise en place fin mai en Réa des cas, des contacts et des «sains», puis l'arrêt des admissions n'ont pas empêché l'apparition de nouveaux cas en Réa y compris dans le secteur « naifs »: 2 (ECBU) en juin et 3 (2 ER et 1KT) en juillet. En dépit des mesures de nettoyage appliquées après le dernier cas et le transfert de tous les contacts, le PyoVIM est réapparu en Réa en août après 2 semaines d'accalmie chez 6 patients (ER et 5 ECU). L'analyse de l'environnement (vidoir positif à PyoVIM) et des pratiques a mis en évidence la probable circulation du PyoVIM via les bords de recueil des urines de sonde non décontaminés et d'attribution non personnelle.

Conclusion : PyoVIM et EBLSE même combat au regard des excréta.

Bactériémies à *Acinetobacter baumannii* en milieu de réanimation : profil de résistance et stratégie thérapeutique.

O. Boualleague, C. Chaouch, J. Khattali, H. Mansour, S. Ketata, F. Alaya, N. Boujaafar
 Laboratoire de bactériologie-virologie, CHU Sahloul Sousse, Monastir, Tunisie

Les infections nosocomiales constituent un problème majeur de santé publique. Parmi ces infections les bactériémies sont particulièrement préoccupante et sont responsable d'une morbidité et d'une mortalité significative surtout celles dues à des germes multirésistants dont les plus fréquemment rencontrés sont les BGN non fermentant dont *Acinetobacter baumannii*.

Nous avons mené une étude type cas- cas contrôle, étendue sur sept ans portant sur 100 patients hospitalisés en milieu de réanimation, qui avait pour objectif : Estimer la prévalence de bactériémie à *Acinetobacter baumannii* multi-résistant et étudier les facteurs de risques liés à cette bactériémie et les facteurs incriminés dans l'augmentation de la mortalité.

Notre population était répartie sur deux groupes souches résistantes (80%) et sensibles (20%). Tous les patients inclus dans notre étude étaient exposés à plusieurs facteurs favorisant la survenue de la bactériémie à *Acinetobacter baumannii*. L'exposition aux actes invasifs systématique en effet l'intubation était pratiquée chez 84%, sondage vésicale chez 98%, le cathéter centra chez 92% et le cathéter artériel chez 69%. L'intervention chirurgicale pratiquée chez 34% de la population ce qui fragilise d'avantage les patients et augmente le risque infectieux.

L'échelle de résistance des souches isolés était toute fois ces souches garde une certaine sensibilité pour quelques molécules comme la colistine avec un taux de résistance de 4%, le sulbactam (11%) et la rifampicine (42%).

L'étude de la génétique de résistance a montré que les oxacillinases à activité carbapénémases de la famille OXA 58 et OXA 23 sont prédominantes.

Ces bactériémies étaient responsables d'une mortalité élevée (57%). Plusieurs facteurs favorisaient cette mortalité: la durée de séjour en milieu de réanimation, la durée d'exposition à certains actes invasifs: tels que le cathéter central et le sondage vésicale, le motif traumatologique, la trachéotomie et le score de gravité simplifié.

Le traitement de ces états bactériémiques doit tenir compte des données de la littérature et aux nouvelles recommandations thérapeutiques ainsi que le respect des règles d'hygiène à fin d'éviter la diffusion de ce germe et la survenue des épidémies mortelles.

Le BEHCl : un système d'alerte et d'information pour la gestion et la prévention des infections respiratoires virales à l'hôpital.

J.S. Casalegno, F. Morfin, G. Billaud, E. Frobert, M. Bouscambert-Duchamp, M.C. Servais, Y. Mekki, M. Valette, B. Lina
 Virologie, Hospices Civils de Lyon, laboratoire de virologie, Bron, France

Introduction : Le suivi de la dynamique infections respiratoires virales saisonnières (Influenza, RSV, Rhinovirus) au sein de la population hospitalière est critique pour la mise en place des mesures barrières, la restriction des visites dans les services sensibles, la vigilance et l'adhésion du personnel aux mesures mises en place. Depuis 2009, est au HCL réalisé un monitoring des résultats obtenus par PCR sur l'ensemble des prélèvements respiratoires reçus au laboratoire de virologie. Les éléments pertinents de cette analyse sont ensuite transmis sous la forme d'un bulletin hebdomadaire (le BEHCl) en période hivernale à l'ensemble du personnel médical et non médical concerné.

Le système d'analyse : L'analyse de la base de données du laboratoire est réalisée de manière hebdomadaire avec le logiciel Epi Info (CDC). Elle porte sur les prélèvements respiratoires adressés au laboratoire de virologie (de 2 à 7 PCR réalisées sur 3000 à 4000 pvt respiratoires par an). Les données brutes et pourcentages par tranche d'âge et services sont comparés aux valeurs des années précédentes et représentés sous formes de graphique.

Le bulletin : Intitulé BEHCl, ce bulletin hebdomadaire présente sous forme de graphiques une synthèse des données du laboratoire mise à jour chaque semaine. Dans une première partie est exposé le nombre de prélèvements respiratoires, dans une deuxième partie est exposé les résultats obtenus en nombre absolus de virus isolé, et en taux de positivité et en taux de positivité par tranche d'âge pour les rhinovirus, H1N1pdm, VRS, Metapneumovirus. Le BEHCl est communiqué à plus de 600 personnes (médecins Hospitaliers de Lyon et hôpitaux périphérique, médecins libéraux, direction et service administratif, mairie de Lyon). Dans une enquête de satisfaction réalisée en 2012 l'appréciation globale du BEHCl est 8.7 de moyenne sur 10 (2-11). Il influence la pratique médicale dans 69% des cas.

Conclusions : Le BEHCl est un système de surveillance simple, peu coûteux, facile à mettre en place. Ce dernier permet de suivre la circulation des virus respiratoires dans la population hospitalière comme communautaire et de fournir en temps réel des données chiffrées à l'ensemble du personnel hospitalier comme libéral concerné.

Incidence et facteurs associés à la grippe nosocomiale dans un hôpital universitaire.

N. Guinko⁵, T. Bénét^{4,1}, C. Régis^{1,4}, B. Comte², B. Lina^{3,4}, P. Vanhems^{1,4}
¹Service d'Hygiène, Epidémiologie et Prévention ²Service de médecine gériatrique, Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot ³Laboratoire Virologie et Pathologie Humaine (VirPath), EMR 4610 – UCBL, Faculté de Médecine RTH Laennec, Université de Lyon ⁴Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive; Equipe Epidémiologie et Santé Publique, Université de Lyon; Université Lyon 1; CNRS UMR 5558 ⁵Laboratoire d'épidémiologie, Université Lyon 1, Lyon, France

Objet de l'étude : Décrire les taux d'incidences de la grippe nosocomiale et rechercher les facteurs associés à la survenue d'une grippe nosocomiale entre 2005 et 2011.

Méthode : Une étude prospective de surveillance a été menée au sein d'un hôpital universitaire à Lyon pendant 7 saisons hivernales, du 01/01/2005 au 31/03/2011. Tous les patients adultes hospitalisés, présentant des symptômes grippaux au sein des services participants ont été inclus. Un diagnostic virologique, à partir d'un prélèvement nasal, a été réalisé pour chaque patient symptomatique. Les données cliniques et démographiques ont été recueillies à l'aide d'un questionnaire standardisé. Le nombre de cas incident et les taux d'attaque des infections grippales ont été calculés par service et par année. Une régression logistique multivariée a été réalisée pour rechercher les facteurs associés à la grippe nosocomiale, définie comme une infection dont les symptômes ont débuté au moins 48hrs après la date d'admission à l'hôpital.

Résultats obtenus : Au total, 245 patients ont participé à l'étude dont 21,2% (n=52) avec une grippe confirmée et 5% (n=12) avec une grippe nosocomiale. Parmi les 52 cas de grippe, 21,2% (n=11) étaient vaccinés dont 2 parmi les cas nosocomiaux. Le taux d'attaque de la grippe nosocomiale était de 0,55/1 000 patients hospitalisés. Le service de gériatrie regroupait 66% (n=162) de la population symptomatique. Les symptômes les plus fréquemment retrouvés étaient la toux (80,4%) et la fièvre (87,8°C) (58,4%). Les pathologies médicales les plus fréquentes étaient les maladies cardiovasculaires (67,0%) et neurologiques (36,3%). Les facteurs indépendamment associés à la survenue d'une grippe nosocomiale étaient le fait d'être une femme (OR=2,68 IC 95% 1,21-5,96, p=0.01), et la présence d'une pathologie endocrinienne (OR=2,91, IC 95% 1,39-6,07, p=0,005). Les céphalées (OR=3,36 IC 1,53-7,37, p=0,003) et la fièvre (≥37,8°C) (OR=2,28 IC=1,10-4,73, p=0,03) ont également été associés à la survenue de la grippe nosocomiale.

Conclusion : Les patients les plus âgés, notamment les femmes ayant des maladies chroniques, sont les plus vulnérables à une infection grippale. En saison grippale, le risque nosocomial devrait faire l'objet d'une vigilance accrue, de la part des équipes de soins.

Évitabilité des infections en établissements d'hébergement pour personnes âgées dépendantes (EHPAD) : évaluation de l'impact d'une intervention multimodale par un essai randomisé en clusters (Étude Enlil).

K. Cham^{1,2}, G. Gavazzi², A. Bar-Hen⁴, F. Carrat³, B. de Wazières², B. Lejeune², N. Armand², M. Rainfray¹, J. Hajjar, F. Piette², M. Rothan-Tondeur^{5,2,3}

¹Université Victor Segalen, Bordeaux ²ORIG (Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière Charles-Foix), Ivry-sur-Seine ³Hôpital Saint-Antoine, INSERM UMR-S 707 ⁴MAP5, Université Paris Descartes, Paris ⁵École des Hautes Études en Santé Publique, Paris - Rennes, France

La première enquête nationale de prévalence (2006-2007) réalisée par l'Observatoire du Risque Infectieux en Gériatrie (ORIG) sur 44 869 résidents a estimé le taux de prévalence total des infections à 11.23% (intervalle de confiance (IC) à 95% 10.50-11.97). Des recommandations de prévention des infections adaptées ont été rédigées après organisation d'un consensus formalisé d'experts (CFE) en collaboration avec des sociétés savantes.

Objectif : Évaluer l'impact d'un programme de prévention des infections sur la diminution des taux d'infections (urinaires, respiratoires et gastro-intestinales) de 5% chez des résidents en EHPAD, sur une période de 5 mois.

Méthodes : Un essai interventionnel randomisé en cluster (#NCT01069497) a été mis en place, incluant 50 EHPAD situés au Nord-Ouest de la France et n'ayant pas mis en place au préalable un programme de prévention. Les résidents présents à baseline ont été inclus. Suite à une randomisation stratifiée, en blocs, 2 groupes ont été constitués : un groupe témoin (25 EHPAD) qui a gardé ses habitudes d'hygiène de routine, et un groupe interventionnel (25 EHPAD) qui a bénéficié de l'implantation d'un programme de prévention. Ce programme était basé sur les recommandations issues du CFE, avec formation des soignants, posters, reminders et attribution de moyens pour l'hygiène des mains, de l'environnement et l'hygiène bucco-dentaire des résidents. Le critère de jugement principal est le taux total d'infections (urinaires, respiratoires et gastro-intestinales), évalué en post-intervention, après 5 mois de suivi. L'analyse statistique a été réalisée en intention-de-traiter, avec prise en compte de l'effet cluster.

Résultats : Au total, 47 EHPAD (4 515 résidents) ont été inclus et suivis. Le taux d'incidence des infections dans le groupe interventionnel était de 2.11 pour 1000 résidents-jours et de 2.15 pour 1000 résidents-jours dans le groupe témoin; la différence n'était pas significativement différente entre les deux groupes dans le modèle marginal de Cox brut (Hazard ratio (HR)=1,005 [0,893-1,131]; P=0,933) ou ajusté (HR=0,989 [0,873-1,120]; P=0,857).

Conclusion : L'implantation des recommandations requiert du temps et un accompagnement, ainsi que des moyens en termes de budget alloué, de compétences et de personnel.

Étude de l'effet antimicrobien du lait AB+ : pour une maîtrise des biocontaminations des équipements hospitaliers et la prévention des infections nosocomiales.

A. Ruelle^{3,2,4}, C. Segard¹, A. Leka^{1,3}, M. Biendo¹, V. Bach³, H. Khorsi³

¹CHU d'Amiens Picardie ²Institut d'Ingénierie de la Santé, Université de Picardie Jules Verne ³UFR de médecine, Université de Picardie Jules Verne, Laboratoire Peritox-Ineris, Amiens ⁴Société Favi Injection d'alliages cuivreux, Hallencourt, France

Objet de l'étude : Les infections nosocomiales, réel problème de santé publique, concernent 750 000 patients par an en France. Elles se transmettent entre patients, par le personnel ou les visiteurs mais également de façon indirecte via des surfaces contaminées par des microorganismes. Des études ont montré que l'utilisation de surfaces antimicrobiennes en cuivre permet de réduire des biocontaminations. Le cuivre et certains alliages cuivreux sont reconnus depuis 2006 officiellement par l'EPA (agence de protection de l'environnement Américaine) pour leurs propriétés antimicrobiennes.

Méthodes : Afin de valider les aptitudes antimicrobiennes de l'alliage AB+, développé par la société FAVI, une étude *in situ* a été réalisée dans deux services de pédiatrie du CHU d'Amiens en comparant le potentiel antimicrobien de 14 poignées en lait AB+ avec celui de 14 poignées témoins en inox.

Durant 5 mois, des prélèvements (hebdomadaires puis mensuels) ont été réalisés sur les poignées pour la recherche de bactéries et virus par la méthode d'écouvillonnage selon la norme NF ISO 18593: 2004. Les bactéries (aérobies totales, les staphylocoques, les entérocoques et les streptocoques) ont été prélevées, dénombrées et identifiées sur les poignées tests et témoins. En ce qui concerne la virologie, ont été utilisées la culture cellulaire et la technique de RT-PCR.

Résultats obtenus : Les résultats préliminaires concernant la bactériologie révèlent une diminution significative du nombre de bactéries sur les poignées tests en lait par rapport aux poignées en inox (flore aérobie totale: p=0,030, staphylocoques p=0,036, streptocoques et entérocoques: p=0,0030). Les résultats de culture cellulaire et de biologie moléculaire ont mis en évidence l'absence d'entérovirus aussi bien sur les poignées en lait AB+ que celles en inox.

Conclusion : Les propriétés bactéricides du lait AB+ ont donc été mises en

évidence comme en témoignent les diminutions du nombre de bactéries. La recherche de virus à partir d'un prélèvement de surface est innovante. Cependant, nous n'avons pas mis en évidence d'entérovirus ni sur le lait ni sur l'inox. Ceci peut s'expliquer par la sensibilité des techniques utilisées et les prélèvements hors périodes des pics épidémiques.

Mots clés : Cuivre; lait; antimicrobien; bactéries; entérovirus; poignées; écouvillonnage; infections nosocomiales.

Efficacité anti-bactérienne de différents dérivés cellulose associés à de la polyvidone iodée sur des souches hospitalières comparée à celles de l'Institut Pasteur : application dans la prévention des infections de site opératoire en chirurgie.

H. Khorsi³, M. Barry², G. Touati², M. Belmekki¹, C. Joly³, L. Fournot², M. Biendo¹

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Nord d'Amiens Picardie ²Service de Chirurgie Cardiaque, Hôpital Sud CHU Amiens ³UFR de médecine, Université de Picardie Jules Verne, Laboratoire Peritox-Ineris, Amiens, France

Objet de l'étude : L'incidence des Infections de Sites Opératoires (ISO), constitue un bon indice de la qualité des soins et reste une préoccupation constante des équipes médicales. Elle se situe entre 2% et 5% selon les équipes et les types de chirurgies (chirurgie cardiaque, digestive, orthopédique...). Cependant, malgré le respect scrupuleux (désinfection chirurgicale des mains, préparation soigneuse de l'opéré, protection du champ opératoire et qualité de l'air) et une mise en place de draps adhésifs cutanés iodés, les ISO persistent et prédominent chez les sujets à haut risque.

Objectifs : (i) Evaluation du pouvoir antibactérien de différents dérivés cellulose seuls ou associés à de la polyvidone iodée (PVI) sur des souches bactériennes pathogènes hospitalières (SH) en comparaison à des souches de références de Collection de l'Institut Pasteur (CIP); (ii) Efficacité de l'effet synergique de l'association de ces différents dérivés cellulose et de la PVI.

Méthodes : 5 échantillons de tissus ont été testés seuls, sans PVI à 10% ou associé à 100µl de PVI (Comresse Inerte; Patch 282; Patch 294, CarboxyMethylCellulose pré-iodée et Cellulose Oxydée Régénérée). Deux types de souches bactériennes d'origine différentes ont été testées (5 CIP et 7 SH). Toutes les souches hospitalières ont été sélectionnées sur la base de leur phénotype de résistance. 12 souches bactériennes ont été testées dans les 10 conditions (5 tissus sans PVI à 10% et 5 avec PVI à 10%). Après dépôt sur *Tryptone caséine soja agar* et incubation 24h à 37°C, l'évaluation repose sur l'absence ou la présence de croissance bactérienne dans la zone de contact entre gélose et tissu, et sur la mesure du diamètre d'inhibition autour du tissu testé.

Résultats : Le calcul de la largeur du diamètre d'inhibition autour du tissu testé (sans ou avec PVI à 10%) est plus important pour les souches CIP en comparaison aux SH (p<0,001). Les mêmes résultats sont observés lorsqu'on compare les deux types de souches que se soit en association avec PVI (p<0,05) ou sans (p<0,001).

Conclusion : Nos résultats *in vitro*, montrent d'une part l'efficacité indiscutable de la CMC sur les différentes souches et d'autre part un effet synergique vrai lorsqu'elle est associée à la PVI. Cependant, l'étude du comportement des souches bactériennes retrouvées en clinique humaine, montre qu'elles ont développé une résistance environnementale hospitalière par rapport aux souches de références CIP. Il semble donc souhaitable d'en tenir compte dans l'analyse critique et dans la prévention des infections post opératoire en Chirurgie.

Le suivi des « bactériémies à *Staphylococcus aureus* méticilline résistant » n'est pas un bon indicateur des actions en hygiène : analyse sur 5 ans des données d'un centre hospitalo-universitaire.

A. Marcuccilli, P. Verhoeven, J. Gagnaire, F. Grattard, A. Nunes Claro,

A. Viallon, B. Pozzetto, P. Berthelot
CHU de Saint-Etienne, Saint-Etienne, France

Objet de l'étude : Décrire l'épidémiologie des bactériémies à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) de 2005 à 2009, au CHU de Saint-Etienne et leurs facteurs de risques.

Méthodes : Analyse rétrospective à partir des données du laboratoire de microbiologie et des dossiers cliniques des patients. Des données descriptives incluant la provenance des patients et le caractère acquis ou importé de la bactériémie et son origine ont été recueillies ainsi que les facteurs de risque de colonisation et d'infection à *S. aureus*. Une analyse univariée comparant les bactériémies à SARM selon leur caractère acquis ou importé a été réalisée.

Résultats obtenus : De 2005 à 2009, 139 bactériémies à SARM ont été documentées au CHU de Saint-Etienne. Leur incidence annuelle a été respectivement de 0,05, 0,07, 0,04, 0,08, et 0,04/1000 jours patient. De façon globale, 73 bactériémies ont été jugées comme acquises dans l'établissement, 54 comme importées et il n'a pas été possible de statuer pour 12 cas. Cinquante-quatre patients sont décédés, dont 37 (26,6%) en lien avec la bactériémie à SARM, et 35 patients (25,2%) ont été admis via le service des urgences. La bactériémie a été jugée primaire dans 74 cas, secondaire dans 52 cas et indéterminée dans 13 cas. A partir de 122 bactériémies comparées

selon leur caractère acquis ou importé, les facteurs statistiquement différents ($P < 0,05$) étaient les suivants: une personne de l'entourage travaillant en milieu de soins, une hospitalisation antérieure, une durée d'hospitalisation plus importante et le type de bactériémie (primaire vs secondaire). La grande fluctuation au cours des années des bactériémies à SARM par rapport à celles à *S. aureus* sensibles à la méticilline (SAMS) est illustrée sur la Figure 1.

Conclusion : Dans notre étude, la part des bactériémies importées, hospitalisées notamment via les urgences est importante. Bien que les bactériémies à SARM soit un indicateur de résultats utilisé en Angleterre, son utilisation à l'échelle de notre établissement est sujette à de trop grandes variations, notamment du fait des bactériémies importées, pour permettre d'estimer l'efficacité des mesures de prévention.

505/88A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation du test de détection génomique Adenovirus ELITe MGB™ en comparaison d'une PCR temps réel « maison ».

O. Barre, C. Bressollette, B.M. Imbert-Marcille, M. Coste-Burel
Virologie, CHU Nantes, Nantes, France

Objectif de l'étude : L'incidence et la gravité des infections à adénovirus (ADV) chez les sujets immunodéprimés, notamment après allogreffe de cellules souches hématopoïétiques, impose à tout laboratoire de virologie de disposer d'une technique de détection moléculaire quantitative performante pour ces virus. Nous avons évalué le réactif commercialisé récemment par la société ELITech, ADENOVIRUS ELITe MGB™, face à notre PCR temps réel « maison ».

Méthodes : L'évaluation a été réalisée sur 173 extraits de sang total; 71 en rétrospectif, connus positifs et stockés à -20°C et 102 en prospectif. Le panel de contrôles de qualité QCMD 2010 (8 échantillons) a également été analysé.

La PCR temps réel « maison » quantitative amplifie un fragment de 127 pb dans le gène codant pour l'hexon avec une hybridation par sonde Taqman. Un contrôle interne d'inhibition est introduit dans chaque réaction. Le coffret ADENOVIRUS ELITe MGB™ contient 4 tubes de mélange réactionnel prêt à l'emploi permettant l'amplification conjointe dans la même réaction d'une cible spécifique de l'ADV située dans le gène codant pour l'hexon et d'une région du génome humain codant pour la β -globine (contrôle interne d'inhibition). Les sondes incluses dans les kits ELITe MGB™ ne sont pas hydrolysables. Ce sont des sondes d'hybridations comprenant: la molécule brevetée "MGB™" (Minor Groove Binder), les "Superbases™" et le "Eclipse™ Dark Quencher". Les 2 techniques utilisent une gamme plasmidique pour la quantification.

Les amplifications des 2 techniques ont été effectuées sur Rotorgen®.

Résultats : L'analyse des résultats qualitatifs montrent une excellente concordance entre les 2 techniques (96%; kappa=0.90). Les résultats quantitatifs analysés selon la méthode de Bland-altman montre une moyenne des différences de 0.3log copies/ml. Les échantillons du QCMD 2010 ont tous été détectés correctement avec des quantifications se situant à moins de 2 écart-types de la cible. Les résultats séquentiels de 2 patients sur plus de 12 échantillons avec les 2 techniques montrent un parallélisme des cinétiques.

Conclusion : Le test ADENOVIRUS ELITe MGB™ répond aux exigences de facilité d'utilisation et de qualité de résultats pour tout laboratoire désireux s'équiper en test moléculaire de détection et de quantification des adénovirus dans le sang total.

506/88A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Qualification initiale du LIAISON XL®, automate de sérologie virale : exemple du marqueur EBV IgG anti-EBNA.

F. Kanyilamz, C. Giraudeau, M. Coste-Burel, T. Marquant, E. André-Garnier
Virologie, CHU Nantes, Nantes, France

Objectif : Dans le cadre de l'accréditation (norme ISO 15189), la qualification de tout nouvel automate est obligatoire afin d'évaluer objectivement ses performances techniques (vérifier l'adéquation avec les données du fournisseur: portée A).

Nous présentons ici la validation d'un couple automate LIAISON XL® Diasorin/réactif.

Matériel et Méthodes : Le LIAISON XL® est un analyseur à chimiluminescence, entièrement automatisé, qui exécute le traitement complet des examens à partir d'un tube primaire centrifugé. Les critères de vérification choisis (SH GTA 04) pour cette technique semi-quantitative sont: la répétabilité et reproductibilité (20 contrôles positifs fournisseur, 10 Accurun® contrôle de qualité interne externalisés), la contamination inter-échantillons (n=15) et la comparaison avec la méthode actuelle (Liaison® 1ère génération) réalisée sur 22 échantillons de patients.

Résultats : Pour la répétabilité sur le contrôle positif, le CV obtenu est de 2% égal à celui du fournisseur (2%) et inférieur à celui fixé par le laboratoire de virologie (8%). Le résultat est conforme. En ce qui concerne la reproductibilité, le CV est de 7,9% égal à celui du fournisseur (7,9%) et inférieur à celui fixé du laboratoire (10%). Il rentre dans les critères de performances attendus. La reproductibilité (n=10) réalisée sur l'échantillon Accurun® permet de déterminer l'intervalle d'acceptabilité de ce CQI: [51.55; 86.07] U/mL qui sera utilisé comme contrôle journalier par la suite et CQI externalisé. La contamination inter-échantillon est inexistant. La corrélation entre le Liaison et le XL est validée R=0,9548. L'interprétation pour les deux méthodes semi-quantitatives est identique. Pour les autres marqueurs évalués, IgG anti-VCA, IgM anti-VCA,

les résultats sont également conformes à ceux attendus.

Conclusion : La vérification de la conformité des techniques aux limites d'acceptabilités fixées est validée.

Les tests de qualification réalisés permettent de valider ce nouvel automate LIAISON XL® pour une utilisation en routine au laboratoire de virologie après habilitation du personnel. La validation de méthode se poursuivra lors de l'utilisation en routine.

507/88A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation d'une nouvelle méthode de purification et de concentration du HHV-6 utilisant le Nycodenz®.

A.N. Godet¹⁻³, E. Abrao¹⁻³, P. Bonnafous¹⁻³, N. Désiré¹⁻³, A. Milovanovitch¹⁻³, H. Agut¹⁻³, A. Gautheret-Dejean^{1-3,2}

¹Service de Virologie, AP-HP, Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière ²Laboratoire de Microbiologie, UPRES EA 4065, Université Paris Descartes, Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques ³Laboratoire de Virologie, ER1DETIV, Université Pierre et Marie Curie, Paris, France

Objet de l'étude : Le sixième herpesvirus humain (HHV-6), divisé en deux espèces (A et B), appartient à la sous-famille des *Betaherpesvirinae*. La culture s'effectue sur cellules mononucléées de sang périphérique (PBMCs) ou de sang de cordon avec de faibles rendements. De rares isolats ont pu être adaptés sur lignée cellulaire. Or, pour effectuer des études *in cellulo*, la production de stocks viraux très concentrés est nécessaire. Nous avons mis au point une nouvelle technique simplifiée de purification/concentration sur une solution filtrante de Nycodenz® (iohexol).

Méthodes : L'amplification de HHV-6A (U1102) et HHV-6B (HST) a été effectuée jusqu'à l'obtention de 500 à 700 millions de cellules infectées à 50-70% (identification par immunofluorescence). Les stocks viraux clarifiés ont été concentrés et purifiés par ultracentrifugation à travers une solution d'iohexol à 10% couplée à un coussin à 70% et parallèlement par ultracentrifugation sans iohexol. Sur chaque fraction (clarifiée, ultracentrifugée avec et sans iohexol), la présence de particules virales infectieuses a été déterminée par titrage exprimé en TCID₅₀/mL, et la quantification d'ADN de HHV-6 a été effectuée par PCR en temps réel.

Résultats obtenus : L'utilisation du Nycodenz® a permis de repérer visuellement la fraction virale purifiée située à l'interface entre les couches d'iohexol à 10% et 70%, simplifiant le processus de récupération des particules virales par rapport à un gradient en continu. Le rapport d'infectiosité était de 3 à 7 par rapport à la clarification et de 2 par rapport à l'ultracentrifugation sans iohexol. Cette méthode permet également de diminuer la proportion d'ADN libre contaminant.

Conclusion : Cette méthode simple et rapide permet, par rapport à une ultracentrifugation sans iohexol, de purifier les particules virales des débris cellulaires et d'ADN résiduels, augmentant l'infectiosité du stock viral. Les stocks viraux purifiés permettront d'employer des multiplicités d'infection importantes pour la mise au point de nouveaux modèles *in cellulo*.

508/88A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Comparaison de trois techniques de détection des anticorps anti-parvovirus B19.

R. Guiheneuf, S. Belmiloudi, N. Bonnet, V. Descamps, A. Dewilde
Virologie, CHU de Lille, Lille, France

L'infection à Parvovirus B19 responsable du mégalythème épidémique peut, de part son tropisme pour les précurseurs de la lignée érythrocytaire, provoquer des pathologies beaucoup plus sévères chez les patients porteurs d'anémies constitutionnelles et le fœtus, allant jusqu'à l'anasarque fœto-placentaire et/ou un avortement spontané. Son diagnostic repose principalement sur la sérologie et notamment sur la détection précoce des IgM, qui constitue le pivot du diagnostic virologique en plus des IgG qui apparaissent de manière presque contemporaine.

Objectifs : La mise récente sur le marché de nouvelles tousses de détection des anticorps anti-Parvovirus B19 nous a conduit à comparer trois techniques: deux techniques ELISA réalisées sur microplaque: Novagnost (Siemens) et Biotrin (DiaSorin) et une technique chimioluminescente, la technique Liaison (DiaSorin).

Méthodes : 249 échantillons, composés de 185 sérums tout venant et 64 sérums de la sérothèque sélectionnés sur la base d'IgM positives ont été testés sur les trois techniques et comparés. En cas de discordance le diagnostic d'infection à Parvovirus B19 a été retenu quand la détection d'ADN de Parvovirus B19 (trousse artus Parvo B19 LC PCR de Qiagen) était positive et exclu quand elle était négative ou que la recherche d'IgM était négative par au moins 3 techniques.

Résultats : Concernant les IgG la technique Liaison semble la moins sensible, conduisant à un résultat positif pour 184 sérums. Les techniques Novagnost et Biotrin présentent la même sensibilité avec 193 sérums positifs.

Pour la détection des IgM les 3 techniques ont une sensibilité de 100% ainsi qu'une VPN de 100%. La technique Biotrin présente les meilleures performances avec une spécificité de 95,8%, une VPP de 72,7%. La technique Liaison arrive en deuxième position avec une spécificité et une VPP de 95,3% et 70,6% respectivement et la technique Novagnost en troisième position avec une spécificité de 94,4% et une VPP de 66,7%.

Conclusions : Les meilleures performances en termes de sensibilité,

spécificité, VPP et VPN sont obtenues avec la technique Biotrin. La technique Liaison est la plus proche de la technique Biotrin avec une spécificité supérieure à 95% et une VPP supérieure à 70% pour le diagnostic de primo-infection. La technique Novagost a des performances proches bien qu'un peu moins bonnes avec une spécificité de 94% et une VPP de 67%.

509/88A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Evaluation of the versant HBV DNA 1.0 assay (kPCR).

A. Lachaud³, E. Méteau³, S. Tronchet³, J. Turczyn², J. Chen², L. Fisher², V. Nguyen¹, J. Surtihadi¹, M. Hennig¹

¹Molecular and Microbiology ²Siemens Clinical Laboratory, Siemens Healthcare Diagnostics, Berkeley, Etats-Unis ³Sample library and reagent trials, Biomnis Specialised Medical Pathology, Lyon, France

Objectives: The VERSANT[®] HBV DNA 1.0 Assay (kPCR)* is a kinetic polymerase chain reaction (kPCR) method for quantifying hepatitis B virus (HBV) DNA in human plasma and serum, using the VERSANT[®] kPCR Molecular System¹. This system combines a fully automated sample preparation module and a fully automated amplification and detection module. This study evaluated the reproducibility of the VERSANT assay and a method comparison against Roche COBAS AmpliPrep/COBAS TaqMan HBV Test, v.2 (COBAS assay), a CE-marked method.

Materials & Methods: Assay reproducibility (precision) was evaluated at two laboratory sites using two assay reagent lots and four VERSANT kPCR Molecular Systems. Reproducibility was assessed using a 10-member panel prepared by diluting high-titer HBV DNA viral stock (genotype A) in human plasma and serum to five HBV DNA concentrations. The concentrations of the plasma and serum members ranged from 171 to 21,365,955 IU/mL and from 196 to 24,558,927 IU/mL, respectively. The VERSANT and COBAS assays were compared using 209 paired HBV DNA-positive clinical samples across the quantification range, with HBV genotypes A to H represented.

Results: Using this panel, the VERSANT assay showed good reproducibility (total log SD range: 0.11 to 0.15). Deming regression analysis of log quantitative results obtained from the VERSANT assay versus the COBAS assay showed good correlation (Y=0.09 + 1.01X; R=0.97). On average, the VERSANT assay quantified 0.14 log IU/mL higher than the COBAS assay, with 95% of the differences falling within the range of -0.72 to 1.00 log IU/mL.

Conclusion: The VERSANT HBV DNA 1.0 Assay (kPCR) using the VERSANT kPCR Molecular System is a reliable and accurate assay for the quantification of HBV DNA in plasma and serum from HBV-infected individuals.

*Currently not commercially available

[†]Not available for sale in the U.S.

This study was sponsored by Siemens and received IRB approval from Western Institutional Review Board.

510/88A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation du réactif Affigene[®] HBV trender de quantification de l'ADN de l'hépatite B sur l'automate ouvert de PCR en temps réel versant kPCR Siemens.

C. Chaplain, S. Mene, I. Gros

Service de Microbiologie, Hôpital Delafontaine, Saint-Denis, France

Objectifs : Évaluer la possibilité d'adapter la technique de quantification de l'ADN du virus de l'hépatite B affigene, sur un automate d'extraction et d'amplification en PCR en temps réel, utilisé en routine pour la quantification de la charge virale HIV1. Détermination de la limite de détection (LOD)

Matériels et méthodes : L'évaluation de la trousse affigene[®] HBV trender a été réalisée après extraction d'une prise d'essai plasmatique de 500µl, à l'aide des réactifs sample prep siemens[®], avec l'automate kPCR.

La répétabilité et la détermination de la LOD ont été réalisées à partir d'une gamme préparée par dilution du WHO HBV dans du plasma négatif.

Résultats : Nous avons testé des dilutions du WHO HBV allant de 10⁵ à 10 IU/mL

Le tableau ci-dessous montre les résultats obtenus, lors de la détermination de la LOD.

| QT UI/ML | % détecté | Nb détecté |
|----------|-----------|------------|
| 100000 | 100 | 17/17 |
| 40 | 100 | 17/17 |
| 24 | 87 | 7/8 |
| 23 | 71 | 5/7 |
| 22 | 60 | 6/10 |
| 19 | 20 | 2/10 |

La limite de détection calculée par la méthode régression linéaire est de 35,85 UI/mL

Conclusion : Nous avons pu facilement adapter la technique de quantification de l'ADN de l'hépatite B, sur l'appareil ouvert versant kPCR. Cette technique nous est apparue robuste et reproductible. Nous l'utilisons en routine depuis 18 mois.

511/88A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation des tests Cobas[®] e 601 HCV et Cobas[®] e 601 HCV II dans le dépistage sérologique de l'hépatite virale C.

L. El Yaacoubi², B. Belefquih², T. Doblali², M.R. Tagajid², F.Z. Farissi², H. El Annaz², H. Kabbaj¹, S. Mrani²

¹Service de virologie, Hôpital des spécialités de Rabat ²Service de virologie, Hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat, Maroc

Background et Objectifs : Le dépistage de l'infection au virus de l'hépatite C (HCV) est basé sur le diagnostic sérologique par la détection des anticorps anti-HCV et/ou de l'Ag HCV. Les techniques d'électro-chimiluminescence (ECLIA) ont permis un gain en sensibilité, spécificité et rapidité par rapport aux techniques immunoenzymatiques (ELISA). Cependant le problème des faux positifs reste toujours posé.

Matériel et méthodes : Nous avons comparé quatre tests anti-HCV: deux techniques ECLIA (Cobas[®] e 601 HCV et Cobas[®] e 601 HCV II); une technique ELISA (monalisa ultra Ac/Ag HCV[®] Biorad) et une technique chromatographique.

Résultats : Après élimination des faux positifs, le taux de séropositivité de l'HCV sur 2481 sérums était de 0,03%. Les taux de faux-positifs pour le Cobas[®] e 601 HCV, Cobas[®] e 601 HCV II et monalisa ultra Ac/Ag HCV[®] Biorad et pour le test rapide étaient respectivement de 0.012%, 0.005%, 0.001% and 0.01%.

Conclusion : La nouvelle génération du test Cobas[®] e 601 HCV II apporte un gain en spécificité. Cependant l'élimination des faux positives nécessiterait l'utilisation de deux techniques différentes pour le dépistage sérologique.

512/88A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Intérêt de la prescription par le microbiologiste de la PCR entérovirus dans le LCR.

L. Djamdjian, N. Fortineau, A. Potron, G. Cuzon, P. Nordmann

Service de bactériologie-virologie-hygiène-parasitologie, CHU de Bicêtre, Le Kremlin-Bicêtre, France

Les entérovirus sont la première cause de méningites à liquides clairs des patients non immunodéprimés. L'évolution des méningites à entérovirus est généralement bénigne, mais leur présentation clinique variée ne permet souvent pas d'éliminer formellement des causes plus graves bactériennes ou à Herpes simplex virus. Une antibiothérapie probabiliste et/ou un traitement antihépatite sont alors souvent instaurés et le patient hospitalisé dans l'attente d'un diagnostic de certitude. Dans ce contexte où la suspicion d'une origine bactérienne est faible, mais ne peut être écartée, la conférence de consensus de la SPILF recommande de réaliser une PCR à la recherche d'entérovirus dans le LCR.

Nous avons évalué la pertinence d'une prescription par le microbiologiste de la PCR Xpert Entérovirus sur l'année 2011 au sein du laboratoire de bactériologie du CHU de Bicêtre. Le test Xpert Entérovirus (Cepheid) est une RT-PCR en temps réel totalement automatisée d'une durée de 2h30, qui permet une utilisation à la demande. L'ajout de cet examen a été décidé dans un contexte de syndrome méningé en fonction des résultats d'examen direct et de culture du LCR et en concertation avec les cliniciens.

Cette étude a concerné 89 patients âgés de 0 à 73 ans. Les résultats ont montré 47% de tests positifs, 48% de tests négatifs et 5% de tests ininterprétables. 83% des résultats ont été rendus en moins de 48h (à J1 du prélèvement) et même 26% en moins de 24h (à J0). Parmi les 42 patients positifs, l'âge médian était de 6 ans et majoritairement de sexe masculin (60%). L'analyse de la numération des LCR positifs a indiqué 7% de résultats 3, 57% entre 11 et 100/mm³ et 33% >100/mm³. La cytologie était très variable avec 24% de formules à majorité lymphocytaire, 31% à majorité de polynucléaires neutrophiles et 21% de formules panachées.

Ainsi, nous avons pu montrer l'intérêt de la prescription par le microbiologiste de cette technique lors d'une méningite à liquide clair. En effet, la rapidité de la mise en œuvre de la technique et du résultat obtenu a permis un diagnostic de certitude dans presque 1 cas sur 2. Cela présente également un intérêt en terme d'économie de la santé en permettant de raccourcir la durée d'hospitalisation et d'arrêter les thérapeutiques inutiles.

513/88A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Validation d'une méthode de charge virale VIH-1 selon les recommandations de la norme COFRAC 15189 : limites et avantages.

M. Gueudin, E. Alessandri, X. Agapit, J.C. Plantier

Laboratoire Associé au Centre National de Référence du VIH, Hôpital Charles Nicolle, CHU de Rouen, GRAM, Équipe d'Accueil 2656, Université de Rouen, Faculté de Médecine-Pharmacie, Rouen, France

Objectifs : Les laboratoires de biologie médicale doivent valider leurs méthodes selon les référentiels du COFRAC pour obtenir l'accréditation selon la norme NF EN ISO 15189. Ces recommandations sont elle applicables à la virologie moléculaire et notamment à la charge virale ARN VIH-1 ?

Méthodes : La trousse utilisée est la charge virale Abbott RealTime HIV sur automates m2000SP et m2000RT.

Fidélité : La répétabilité a été déterminée sur 10 points et la fidélité intermédiaire a été calculée en utilisant les contrôles de trousse comme

contrôle qualité interne (CQI). Pour l'interprétation de ces résultats, le COFRAC recommande d'utiliser le Coefficient de Variation acceptable (CVA) du fournisseur, qui n'annonce qu'un écart type (ET) max de 0,25 Log copies/ml. A partir de cet ET, un CVA a été calculé.

Justesse : En l'absence de biais limite connu, nous avons comparé nos résultats à ceux du CNQ 2010 (contrôle national qualité), 38 participants : échantillon faible CV=4,7%, fort : CV=2,3%

Estimation de l'incertitude : Elle a été calculée par la méthode CQI/EEQ sur 2 niveaux de concentration (niveau 1 de 1,69 à 3 Log, niveau 2 supérieur à 3 Log).

Résultats : Calcul des Cva : à 5 Log CVA=5% et à 2,5 Log CVA=10%.

Répétabilité : échantillons fort (m=4,95 Log; ET=0,04; CV=0,88%) et faible (m=2,83 Log; ET=0,10; CV=3,48%) => conformes

Fidélité intermédiaire : CQI Bas (m= 2,90 Log; ET=0,13; CV= 4,33%) et CQI haut (m= 4,84 Log; ET=0,07; CV=1,46%) => conformes

Justesse : Nos CV de fidélité intermédiaire sont inférieurs aux CV du CNQ 2010 => conforme.

Estimation de l'incertitude élargie : 0,34 Log copies/ml pour le niveau 1 et 0,17 Log pour le niveau 2. => conforme à l'incertitude habituellement utilisée de 0,5 Log.

Conclusions : Compte tenu du coût des réactifs, il est impossible de calculer la répétabilité sur 30 points, d'utiliser un CQI indépendant et lors d'un changement de lot du CQI, il est impossible de réaliser une période probatoire suffisante avec chevauchement des CQI. L'interprétation des CQI selon les règles de Westgard est de ce fait très difficile. L'estimation de l'incertitude n'était pas réalisée jusqu'alors, elle permettra de mieux répondre aux cliniciens. Les nouvelles données générées permettront d'affiner l'interprétation des charges virales.

514/88A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Symptom-guided, two-step diagnostic algorithm for the assessment of children presenting with acute viral respiratory infections.

T. Bodmer²⁻¹, K. Schmid², M. Ritzler¹, M. Risch²⁻¹, W. Bär²

¹Labormedizinisches Zentrum Dr Risch, Schaan, Liechtenstein ²Kantonsspital Graubünden, Chur, Suisse

Background: Acute viral respiratory tract infection is the leading cause of hospitalisation for infants and young children in developed countries. In clinical practice, a specific virus is often not identified due to the lack of sensitive tests and/or the presence of as-yet-unknown pathogens. During the last influenza season we studied the effect of complementing traditional antigen detection with multiplex PCR assays in a symptom-guided, two-step diagnostic algorithm.

Methods: From January 12 to April 22, 2012 the nasopharyngeal secretions of children presenting with acute viral respiratory tract infections were systematically tested for the presence of RSV and influenza virus antigens (Binax NOW, Alere GmbH, Germany). In addition, antigen-negative specimens of children in respiratory distress (e.g. requiring oxygen), in need of intensive care or mechanical ventilation or who had additional risks or co-morbidities were tested by molecular assays: GeneXpert FLU A/B (Cepheid Inc., USA) and/or RV15 One Step ACE Detection Kit (Seegene Inc., Korea).

Results: A total of 137 specimens from 133 children (m: f=1.24; median age, 2.0 years) were tested. Of these, 53 (38.7%) were antigen test-positive (RSV, n=41; Flu A/B, n=12). Molecular testing of 47 (34.3%) antigen test-negative specimens from severely ill patients revealed an additional 15 RSV and 2 influenza virus infections, respectively. Nine (19.1%) specimens yielded multiple viral agents.

Discussion: During the last influenza season RSV (40.9%) was the most important viral pathogen for hospitalisation in our paediatric population, followed by influenza virus (10.2%). Our symptom-guided, two-step diagnostic algorithm revealed that 15 (31.9%) severely ill children suffered from RSV infections that were not detected by the initial antigen testing, i. e. a total of 26.8% RSV infections were missed by this assay. Accurate and timely aetiological diagnosis is prerequisite of modern patient management that includes contact isolation procedures and the restrictive use of antibiotics in order to prevent nosocomial transmission and the emergence of bacterial drug resistance, respectively. Antigen tests are inaccurate and, therefore, should be replaced, particularly when caring for severely ill patients.

515/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Genotypic and phenotypic characterization of herpes simplex virus type 2 (HSV-2) Among HIV-1-infected patients.

S. Burrel¹⁻², E. Abrao¹, N. Désiré¹, P. Bonnafous¹, A. Godet¹, H. Agut¹⁻², D. Boutolleau¹⁻²

¹ER1 DETIV, Pierre et Marie Curie University ²Virology department, Pitié-Salpêtrière University Hospital, AP-HP, Paris, France

Objectives: Herpes simplex virus type 2 (HSV-2) is the most common cause of genital ulcer disease worldwide. In co-infected individuals, HSV-2 infection has complex interactions with HIV-1 infection. Both viruses are responsible for long term infections and are generally considered to behave as two synergistic copathogens. Numerous studies have been performed to understand better the interactions between both viruses. In particular, the effect of HSV-2 on the

transmission and the course of HIV infection has been well described. In comparison, less attention has been paid to the impact of HIV infection on the variability and the pathophysiology of HSV-2 infection. Indeed, the natural history of HSV-2 infection could be altered in HIV-infected individuals. The goal of the present study was to perform the genotypic and phenotypic characterization of HSV-2 strains among HIV-1-infected adults and to compare it with that of HIV-negative subjects.

Methods: HSV-2 strains isolated from 12 HIV-1-positive and 12 HIV-negative patients were included in this study. The full-length sequences from the following HSV-2 genes, encoding glycoproteins involved in viral entry and host immune response, were determined: gB (UL27), gD (US6), and gG (US4). Thymidine kinase (TK, UL23) and DNA polymerase (UL30) genes were also analyzed. Nucleotide and amino acid sequences were compared with that of HG52 reference strain (GenBank accession no. Z86099) using SeqScape v2.5 software. Phylogenetic trees were constructed by neighbor-joining method using ClustalW program. The analysis of the fitness of all HSV-2 strains was carried out by the infection of Vero cells (MOI of 0.001) and the viral genome quantification using real-time PCR.

Results: At the nucleotide level, the interstrain identity of the 3 full-length glycoprotein genes (gB, gC, and gG) ranged from 99.2% to 100% among the 24 HSV-2 strains investigated. The level of variability was identical at the amino acid level. No significant difference was evidenced when comparing HSV-2 strains isolated from HIV-1-positive and HIV-negative patients. This latter point was strengthened by the phylogenetic analysis showing no cluster of HSV-2 strains according to the HIV status of the patients. The genetic variability of the 3 viral glycoproteins was similar to the one observed for the 2 highly conserved functional proteins TK and DNA polymerase (98.9% to 100%). The genetic analysis of TK evidenced mutations related to acyclovir-resistance for 2 HSV-2 strains. Regarding the phenotypic characterization, no significant difference in terms of viral fitness was found among HSV-2 strains isolated from HIV-1-positive and HIV-negative patients.

Conclusion: In this study, no difference in terms of genetic variability of 3 different glycoproteins or fitness could be evidenced for HSV-2 strains according to the HIV status of the patients. These results, if confirmed on a larger cohort of patients, could suggest that the natural history of HSV-2 infection may not (or little) be influenced by HIV-1 infection among co-infected patients.

Acknowledgements: E.P.A. received a post-doctoral fellowship from CAPES (Brazilian Federal Agency for the Improvement of Higher Education).

516/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Microsatellite polymorphism of herpes simplex virus type 2.

S. Burrel³⁻⁴, Z. Ait-Arkoub⁴, D. Voujon⁴, C. Debacq¹⁻², H. Agut³⁻⁴, D. Boutolleau³⁻⁴

¹INSERM UMR-S 996 ²Microbiology and Immunology Department, Antoine Béclère University Hospital, AP-HP, Clamart ³ER1 DETIV, Pierre et Marie Curie University ⁴Virology Department, Pitié-Salpêtrière University Hospital, AP-HP, Paris, France

Objectives: The complete 154-kbp linear double-stranded genomic DNA sequence of herpes simplex virus type 2 (HSV-2), consisting of two extended regions of unique sequence (U_L and U_S) bounded by a pair of inverted repeat elements (TR_L-IR_L and IR_S-TR_S), was published in 1998 and since then has been widely employed in a great range of research. The HSV-2 genome is scattered with microsatellites also referred to as short tandem repeats of 1- to 6-nucleotide motifs. Microsatellites are considered as a reliable marker for genetic mapping as differentiating herpesvirus strains. The aim of this work was to characterize the microsatellites within HSV-2 genome and to confirm that microsatellite polymorphism analysis is an accurate tool for studying the epidemiology of HSV-2 infections.

Methods: Microsatellite identification within HSV-2 whole genome was performed using MsatFinder program. PCR-amplified DNA fragments obtained by 19 different PCR systems encompassing reiterated regions were used to investigate a first set of 13 HSV-2 clinical isolates and 2 laboratory strains (gHSV-2 and MS). Sequence analysis allowed the identification of 16 polymorphic and 7 monomorphic microsatellites among 23 microsatellites characterized. Length polymorphism analysis was performed using 3 multiplex PCR systems that amplified 12 polymorphic microsatellites for the rapid genetic characterization of HSV-2 strains. The haplotype was defined as the combination of the 9 PCR product lengths obtained from the multiplex PCR assays. The haplotype characteristics were used to differentiate HSV-2 strains. For finest epidemiological studies in connection with the recurrence of herpes lesions or resistance to antivirals, microsatellite haplotypes were investigated for 20 additional HSV-2 isolates. All HSV-2 strains studied were isolated in cell culture from mucocutaneous samples or bronchoalveolar lavages recovered from immunocompetent patients or human immunodeficiency virus-infected patients.

Results: *In silico* analysis allowed the identification of 150 different microsatellites (mono-, di-, and tri-nucleotide repeats) predominantly located within noncoding regions of HSV-2 genome. Indeed, 129 were found to be distributed in intergenic or noncoding inverted repeat regions, whereas 21 were localized in open reading frames. For the first 13 isolates and the 2 laboratory strains studied, the number of size variants ranged from 5 to 14 repeats (mean 8.1) for the 12 microsatellites studied with multiplex PCR systems. Each HSV-2 strain was characterized by its own microsatellite haplotype. For patients with multiple localizations of herpes lesions, all isolates had the same haplotype. When possible, the multiplex PCR method was performed on sensitive and resistant isolates sequentially obtained during recurrent episodes of HSV-2

infection. Overall, haplotypes remained stable over time. However, slight differences appeared for specific microsatellites whereof antiviral susceptibility varies over time.

Conclusion: Microsatellite analysis using multiplex assay turns out to be a reliable and highly discriminative method. In theory, this strategy allows the identification of at least 10^5 - 10^7 different haplotypes. This relevant tool can be used to evidence potential nosocomial HSV-2 infections and to demonstrate multiple recurrent infections or exogenous reinfection. Our results are promising and should have implications for further epidemiological studies.

517/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Fréquence et persistance de l'HPV53. Apport du test InnoLiPA HPV.

J. Petitjean Lecherbonnier¹, R. Joffray¹, C. Vaugeois², J.P. Bilhault², M. Turck², A. Vabret¹

¹Laboratoire Virologie ²Service Gynécologie, CHU, Caen, France

Objectifs : Par l'étude rétrospective de nos résultats entre 2003 et 2012:

- établir la fréquence de détection d'HPV au sein de notre population ciblée et préciser la prévalence des différents génotypes identifiés
- établir la relation entre le génotype HPV53 classé probable HR (PHR), l'âge, le type de lésions cervicales et la persistance.

Matériel et méthodes : Entre 2003 et 2012, la recherche d'HPV a été réalisée à la demande de gynécologues dans un cadre de triage des lésions ASCUS et bas grade (BG) avant colposcopie ou dans le cadre de surveillance de traitement post-conisation. Les prélèvements cervico-vaginaux ont été réalisés à l'aide d'une cytobrosse déchargée dans un milieu PBS stérile.

198 recherches ont été effectuées de 2003 à 2008 par la technique HPV Consensus, Argène (HPVC) et 125 recherches de 2009 à 2012 par la technique InnoLiPA, Innogenetics (HPVLIIP).

Durant ces 10 ans, 38 femmes ont eu un suivi sur des périodes allant de 6 mois à 4 ans. Une reprise des prélèvements antérieurs au moyen de la trousse HPVLIIP a été réalisée rétrospectivement pour les femmes HPV53 positives.

Résultats :

- de 2003 et 2008, le taux de détection d'HPV est de 40,9% avec la trousse HPVC: 75,3% HPV-HR, 4,9% HPV-BR, 19,8% HPV non typables et 3,5% de résultats ininterprétables.
- de 2009 à juillet 2012, le taux de détection d'HPV est de 55,2% avec la trousse HPVLIIP: 84% HPV-HR/PHR, 10,1% HPV-BR, 4,3% HPV non typables et 1,4% HPV non classés. Les infections multiples à HPV sont présentes dans un tiers des cas. Le génotypage a permis l'identification de 19 génotypes différents et de 20 infections mixtes. Les génotypes les plus fréquemment détectés sont HPV53 (14,9%), HPV16 (13,8%), HPV31 (11,5%), HPV51 (9,2%), HPV52 (8%) et HPV39 (6,9%)
- parmi les 12 prélèvements HPV53 positif: 8 correspondent à des infections mixtes (HPV53+HPV-HR ou PHR), 8 correspondent à des patientes présentant des lésions persistantes (suivi de 2 à 4 ans), 4 sont associés à une biopsie classée CIN2, 6 ont conduit à une conisation. Deux jeunes patientes ont été vaccinées (Gardasil)

Conclusion : L'évolution dans le choix de nos outils diagnostiques nous a permis d'améliorer le suivi de femmes HPV positive. La fréquence et la persistance de l'HPV53 avec l'existence de lésions haut grade doit inciter à la mise en place de surveillance accrue chez les femmes positives.

518/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Limite des trouses de diagnostic des infections par les papillomavirus humains oncogènes.

M. Favre^{1,3}, M. Falguères¹, M.C. Demazoin¹, L. Arowas¹, I. Heard^{1,2}

¹Institut Pasteur, Centre national de référence des papillomavirus ²Groupe hospitalier Pitié-Salpêtrière, Université Pierre et Marie Curie ³Institut Pasteur, Unité de Génétique, Papillomavirus et Cancer Humain, Paris, France

Objectifs : L'infection par les papillomavirus humains à haut risque (HPV HR) est responsable de cancers ano génitaux et de cancers de l'oropharynx. Plusieurs méthodes diagnostiques des infections par les HPV HR sont commercialement disponibles. L'une des missions du CNR HPV est de définir les avantages et les inconvénients des différentes méthodes utilisées en France pour la détection des lésions précancéreuses.

Méthodes : Les caractéristiques des principales trouses de détection / génotypage employées ont été analysées.

Résultats : Treize trouses commerciales sont utilisées en France correspondant à sept méthodes de détection et six méthodes de génotypage des HPV. Elles sont basées sur la détection des ADN ou des ARN viraux. Toutes ces méthodes font appel à la détection d'hybrides formés entre les séquences virales et des sondes spécifiques. La plupart des méthodes nécessitent l'amplification des séquences virales par PCR. Seules deux méthodes de détection sont basées sur l'amplification du signal d'hybridation.

Les méthodes impliquant une PCR peuvent conduire à des faux négatifs, notamment dans le cas de lésions de haut grade et de cancers. En effet, l'intégration des séquences virales au génome cellulaire est très souvent observée au cours de la transformation maligne des lésions. Cette intégration peut s'accompagner de délétions dans les gènes E1, E2, L2 ou L1. La plupart des amorces PCR étant localisées dans les gènes E1 ou L1, des résultats

faussement négatifs peuvent être générés. Cette éventualité sera illustrée avec les résultats obtenus au CNR HPV pour la détection et le génotypage des HPV dans des lésions cervicales intraépithéliales de haut grade. Les méthodes mettant en jeu une amplification du signal d'hybridation peuvent, quant à elles, conduire à des résultats faussement positifs en raison de l'hybridation croisée de certaines sondes avec des HPV non oncogènes.

Conclusions : Toutes les trouses diagnostiques d'infection par les HPV ont leurs avantages et inconvénients et une méthode idéale n'est pas présente sur le marché. Dans l'optique d'un dépistage primaire du cancer du col de l'utérus, le choix devra se porter sur une trousse fiable et robuste pour éviter au maximum des résultats erronés et une mauvaise prise en charge des patientes.

519/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Utilisation de la technique CLART[®] HPV2 (Genomica) dans la résolution des échecs de typage de papillomavirus humains : application à une série continue de 856 frottis cervico-utérins de type ASCUS.

C. Gaudy-Graffin², A. Gillette², I. de Pinieux¹, F. Dubois², H. Marret³, A. Goudeau²

¹Laboratoire de Cytopathologie, Institut Inter Régional pour la Santé, La Riche ²Service de Bactériologie-Virologie, Hôpital Bretonneau, CHRU ³Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Bretonneau, CHRU, Tours, France

Les *Papillomavirus* (HPV) à haut risque oncogène (HR) sont les agents responsables du cancer du col de l'utérus. Le génotypage est utilisé dans le cadre de l'épidémiologie moléculaire et nécessite encore une validation tant sur le plan analytique que clinique.

L'objectif était d'identifier le génotype de *Papillomavirus* dont l'identification avait échoué avec une technique d'hybridation inverse. La recherche d'HPV a été réalisée sur une série continue de 856 frottis cervico-utérins de type ASCUS. La technique utilisée (hybridation inverse) permettait d'identifier 18 HPV à haut risque oncogène «HR», 7 HPV à bas risque oncogène «LR» et 3 génotypes non définis pour leur risque oncogène. En cas d'échec de typage, la technique CLART[®] HPV2 a été utilisée (35 types détectés). En parallèle, une amplification de la région L1 a été réalisée avec les amorces MY09/MY11/HMB01, suivi d'un séquençage.

Au total, 441 des 856 échantillons contenaient de l'ADN d'HPV. La technique d'hybridation inverse a permis le génotypage des HPV présents dans 85% des cas. Néanmoins, le génotype n'a pu être déterminé pour 66 prélèvements. 62 d'entre-eux étaient disponibles pour la réalisation d'un typage avec les deux techniques alternatives citées précédemment. La présence d'ADN d'HPV n'a pas été confirmée dans 30 de ces prélèvements (48%) avec la technique CLART[®] HPV2, ce qui était concordant avec l'absence d'amplification de la région L1 en PCR, excepté pour un cas. Dans 26 prélèvements, le génotype a pu être déterminé sans ambiguïté avec la technique CLART[®] HPV2. Quatre mono-infections par un HPV HR et 5 infections multiples incluant un HPV HR ont pu être ainsi diagnostiquées. Les résultats étaient strictement similaires avec ceux obtenus après amplification et séquençage. Parmi les 6 prélèvements restants, 3 HPV HR et 3 HPV LR ont pu être identifiés, alors que l'amplification de L1 avait échoué.

Les performances en matière de typage de la technique CLART[®] HPV2 constitue un atout dans son application à des études épidémiologiques visant à décrire la distribution des différents génotypes d'HPV.

520/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Prévalence et quantification des génomes de virus cardiotropes dans des cas de mort subite cardiaque chez l'adulte en France.

D. Giusti¹, F. Tissier¹, N. Lévêque^{1,3}, Y. N'guyen^{1,3}, F. Renois³, C. Boulagnon², P. Fornès², L. Andréoletti^{1,3}

¹Laboratoire de Virologie médicale et moléculaire, Centre hospitalier universitaire de Reims ²Pathologie médicale, Faculté de médecine, Université de Reims Champagne Ardennes ³EA-4684 Cardiovir, Faculté de médecine, Université de Reims Champagne-Ardenne, Reims, France

Objectifs : Certains virus pourraient jouer le rôle d'agent étiologique ou de cofacteur dans le processus de la mort subite cardiaque (MSC) de l'adulte jeune. Les objectifs de notre travail étaient de préciser la prévalence de détection des virus cardiotropes communs et de déterminer leurs niveaux de charge virale cardiaque normalisée dans des cas de MSC.

Patients et méthodes : La détection génomique de 11 virus cardiotropes a été rétrospectivement réalisée dans 197 échantillons cardiaques autoptiques congelés (-80°C), recueillis au CHU de Reims entre 2008 et 2012 et provenant de 24 cas de MSC diagnostiqués chez des adultes jeunes (âge moyen 34 ans (13; 16-62)) au cours d'autopsies médico-légales. Le groupe des témoins était constitué de 14 sujets adultes (âge moyen 57 ans (15,41-63)) décédés de mort violente sans lésions histologiques cardiaques ni cardiomyopathies connues et pour lesquels des prélèvements ventriculaires cardiaques avaient été réalisés. Des techniques de RT-PCR et PCR en temps réel classiques ont été réalisées pour la détection et la quantification des génomes des entérovirus humains, CMV, EBV, HHV1 à HHV6, adénovirus et PVB19 dans les échantillons cardiaques.

Résultats : Dans le groupe des MSC une infection virale cardiaque simple ou multiple a été identifiée chez 19 (79%) des 24 cas de MSC: 47.4% étaient des infections à PVB19, 21% des infections à PVB19-HHV6, 15.8% des infections à HHV6, 5.2% à EBV, 5.2% à EBV-PVB19, 5.2% des infections à EBV-PVB19-

HHV6. La médiane des charges virales de PVB19 était de 197 UI/µg d'acides nucléiques extraits; la médiane des charges virales d'HHV6 était de 28 copies d'ADN génomiques/µg d'acides nucléiques extraits. Un seul des 14 sujets contrôlé (7%) a été détecté positif pour une infection cardiaque à PVB19 (79 vs. 7%, $P < 10^{-3}$).

Conclusions : Ces résultats montrent une prévalence de détection élevée des génomes de PVB19 et d'HHV6 chez des sujets jeunes décédés de MSC par comparaison aux sujets contrôlés décédés de mort violente accidentelle. Les charges virales cardiaques de ces virus étaient faibles et compatibles avec des infections chroniques latentes ou persistantes. Des investigations complémentaires sont nécessaires afin de préciser le rôle potentiel des ces virus dans la MSC de l'adulte jeune.

521/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Hépatites chroniques B : résultats à 30 mois de traitement d'une cohorte de patients sous Entécavir.

M.L. Meghadecha, A. Mammeri, M. Laouar
Service des maladies Infectieuses, CHU Annaba, Annaba, Algérie

Contexte : Actuellement 03 médicaments sont utilisés en première intention dans le traitement de l'hépatite B chronique (Peginterferon alpha 2a, Ténofovir, Entécavir).

But : Déterminer les réponses biochimique, sérologique et virologique et le profil de sécurité de l'utilisation de l'Entécavir dans le traitement de l'Hépatite B chronique.

Méthodes : Étude prospective, période rapporté du 01/01/ 2010 au 31/06/2012 d'un total de 22 patients atteints d'Hépatite B chronique traités par Entécavir en continue. 14 patients naïfs d'Analogues sous Entécavir 0.5 mg/j et 08 patients expérimentés aux analogues sous Entécavir 1 mg/j.

Les taux cumulatives de normalisations des ALAT, disparation avec ou sans séroconversion de l'Ag HBe et HBs, la négativation de l'ADN du VHB sont rapportés ainsi que les effets secondaires constatés.

Résultats : Age moyen des patients est de 47 ans, 73% de sexe masculin, 95% sont AgHBe négatif, 91% ont une charge virale faible LSN avant le début du traitement.

Sous Entécavir on n'a pas constaté de non réponse primaire et la réponse virologique et biochimique était à 100% après 48 semaines de traitement, un patient a perdue l'Ag HBe et l'Ag HBs avec apparition des anticorps respectives après 15 mois de traitement.

A 24 mois et à 30 mois de traitement la réponse est resté à 100% (respectivement n=12, n=04) sans échappement ni résistance.

On n'a pas constaté d'effets secondaires majeurs pour l'ensemble des malades.

Discussion : Seto et al et Lampertico et al retrouve respectivement 81%, 87% de réponse virologique après 48 semaines de traitement, de plus 84% des malades selon Seto ont eu une réponse biochimique à 48 semaines de traitement.

Conclusion : Le traitement de l'hépatite chronique B par les analogues nucléot(s)idiques a le mérite d'obtenir une négativation rapide de la charge virale et il est sans effets indésirables majeurs, reste la surveillance des résistances et des effets secondaires à long terme.

522/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Efficacité-tolérance du Bocéprévir en pratique clinique.

A. Rognon¹, A. Darque¹, R. Gerolami², G. Obrador², S. Gensollen¹
¹Pharmacie, CHU Conception ²Service d'hépatogastro-entérologie, CHU Conception, Marseille, France

Le bocéprévir associé à la bithérapie interféron-ribavirine, augmente son efficacité mais aussi ses effets indésirables (EI). Nous avons évalué ces deux aspects en pratique clinique.

Chez des patients mono-infectés par le VHC en échec de bithérapie et traités par trithérapie, nous avons recueilli les charges virales (CV) à S0, S4, S8, S12, S16 et S24 classées en 3 catégories: ≥ 100 UI/ml, < 100 UI/ml, et indétectable. La baisse de la CV a été relevée à S4.

La tolérance est répartie en 3 classes: bonne, acceptable et inacceptable.

La population étudiée comporte 3 femmes et 13 hommes, de 34 à 65 ans.

A S4, 6% des patients ont une CV indétectable et 43% ont une baisse de CV supérieure à 1-log_{10} . La CV est indétectable pour 40%, 57%, 83%, et 83% des patients à S8, S12, S16, et S24, respectivement.

A S12, un patient a une CV > 100 UI/ml imposant l'arrêt du traitement, et 5 l'ont continué malgré leur CV détectable, conformément à l'AMM. Parmi ces 5 patients, 3 deviennent indétectables à S24. Un patient arrête la trithérapie à S24 suite à une mutation du gène N53.

La proportion de patients ayant une tolérance acceptable est de 27%, 71%, 92%, 82%, et 83% à S4, S8, S12, S16 et S24, respectivement.

À S4, la fatigue est l'EI le plus précoce et le plus fréquent (94%).

A S8, les EI les plus fréquents sont fatigue (100%), dyspnée (60%) et troubles psychiques (50%).

Les EI à S12 sont identiques mais plus intenses. 3 patients ont arrêté le traitement pour cause d'intolérance (2 à S16 et 1 à S24).

L'efficacité du bocéprévir retrouvée dans notre étude est globalement différente de celle décrite dans la littérature.

La baisse de CV $> 1\text{-log}_{10}$ est prédictive de la réponse virologique prolongée, seuls 43% de nos patients l'ont obtenue contre 72% dans l'essai Respond 2. Le fait que 3 patients aient une CV indétectable seulement à S24, souligne le bénéfice de la poursuite du traitement à S12, alors que cette pratique était exclue dans Respond 2.

Les EI sont préoccupants puisque 19% des patients ont cessé le traitement pour intolérance contre 12% dans Respond 2.

Près d'un tiers de notre effectif a cessé le traitement avec bocéprévir dans les 24 premières semaines, toutes causes confondues. Chez les patients co-infectés VIH, les résultats pourraient être encore différents.

523/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Impact des hémoglobinopathies dans la prise en charge de l'hépatite C : terrain ou comorbidité.

A. Mammeri^{1,2}, M. Laouar^{1,2}
¹Médecine ²Service des Maladies Infectieuses, CHU Annaba, Annaba, Algérie

Introduction : La prévalence de l'hépatite chronique C dans le monde est de 1 à 3%, en Algérie, il existe un gradient décroissant d'Est en Ouest (selon des études locales dont celle de l'institut Pasteur d'Alger). C'est une pathologie avec plusieurs populations à risque (usagers de drogues IV, polytransfusés,...). La bithérapie pégylée garde encore dans notre pays une place primordiale dans la prise en charge de l'hépatite C et la réponse virologique soutenue (R.V.S.) varie entre 40 à 55% (tout génotype confondu selon les études).

Une fréquence élevée des patients avec hémoglobinopathie est notée dans l'extrême Est Algérien, d'ailleurs, au niveau de notre consultation des hépatites, chez 1 malade sur 5 on retrouve une hémoglobinopathie associée; dans plus de 90% des cas, il s'agit de syndrome drépanocytaire majeur et dans moins de 3% des cas, c'est un syndrome thalassémique.

Objectif principal : Étudier l'impact des hémoglobinopathies sur la prise en charge thérapeutique de l'hépatite C

Objectifs secondaires :

- Evaluer la séroprévalence de ces hémoglobinopathies;
- Mesurer l'influence des hémoglobinopathies sur la RVS;
- Déterminer les particularités de PEC de ce type de terrain.

Matériel et méthodes : Étude prospective portant sur une file active de 103 malades;

Critères d'inclusion : Patients naïfs au traitement et mis sous bithérapie pégylée pendant 24 ou 48 semaines;

Série de 103 patients traités: 19 cas (18.4%) d'hémoglobinopathie.

Résultats :

- Les rares études de séroprévalence sur les patients avec hépatite C associée à une hémoglobinopathie retrouvent des chiffres plus élevés par rapport à la population générale variant de 10 à 40% (selon les études) et les Facteurs de risque retrouvés sont les transfusions +/- les multiples hospitalisations;
- Pas de différence significative sur le plan de R.V.S. dans cette population 52.6 vs 61.9 ($p=0.62$);
- Une surveillance plus étroite du taux d'hémoglobine est indispensable car le seuil de tolérance de l'anémie est beaucoup plus bas que chez le reste des patients (sans hémoglobinopathie).

Conclusion :

- La prise en charge de l'hépatite chronique C en présence d'hémoglobinopathie doit être optimale et multidisciplinaire;
- L'**hémoglobinopathie** ne semble pas influencer de façon significative sur la RVS;

Intérêt d'études pilotes pour connaître l'impact réel de cette pathologie sur la PEC de l'hépatite chronique C.

524/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Résistances primaires aux traitements antirétroviraux : analyse des patients diagnostiqués séropositifs au VIH à Strasbourg en 2009 et 2010.

J. Ott², S. Fafi-Kremer¹, A.C. Géroux², M. Partisani³, C. Cheneau³, C. Bernard-Henry³, M. Priester³, E. de Mautort³, M.L. Batard, M.P. Schmitt¹, F. Stoll-Keller¹, B. Gourieux², D. Rey³
¹Laboratoire de virologie ²Service Pharmacie - Stérilisation ³Trait d'Union, Hôpitaux Universitaires de Strasbourg, Strasbourg, France

Objectif : Estimation de la prévalence des souches de virus de l'immunodéficience humaine (VIH) pharmacorésistantes chez des patients naïfs de traitement antirétroviral (ARV), nouvellement diagnostiqués séropositifs au VIH à Strasbourg en 2009 et 2010.

Méthodes : Extraction des données des patients nouvellement découverts séropositifs au VIH au cours de l'année 2009 et 2010 (n=101) à partir de Nadis®, logiciel de prise en charge des patients infectés par le VIH. La pharmacorésistance est détectée par un test génotypique qui détermine les

mutations par séquençage des gènes d'intérêt (méthode de Sanger, Applied Biosystems). Les mutations ont été recensées selon la liste de surveillance génotypique de la transmission de résistance aux ARV (Shafer et al Plos One 2009).

Résultats : Une séropositivité VIH-1 a été découverte en 2009 chez 48 patients (38 hommes, âge médian de 39 ans [19-59], médiane des CD4 à 404/mm³ [26-1140], médiane de charge virale à 4,4 log [1,7-7]), et en 2010 chez 53 patients (39 hommes, âge médian de 34 ans [20-65], médiane des CD4 à 376/mm³ [6-1304], médiane de charge virale à 4,5 log [1,7-6,5]). Le sous-type B est prédominant: 60,4% (29) en 2009 et 45,3% (24) en 2010, suivi du CRF02-AG: 14,6% (7) en 2009 et 17% (9) en 2010. La recherche de mutations de résistance a été réalisée chez 43 patients en 2009 et 48 patients en 2010. La prévalence des mutations de résistance aux inhibiteurs nucléosidiques et non nucléosidiques de la transcriptase inverse (INTI et INNTI) et aux inhibiteurs de protéase (IP) est indiquée dans le tableau ci-dessous. La recherche de mutations de résistance sur l'intégrase n'a pas été systématique. Un patient portait des mutations pour les 3 classes d'ARV. Les résistances étaient plus fréquentes chez les patients infectés par le sous-type B que les non-B (8,9% vs 2,0% $p=0,05$) et chez les patients contaminés par le mode de contamination homosexuel (10,1% vs 2,2% $p=0,05$).

| Résistance | INTI | INNTI | IP | Total |
|------------|----------|---------|---------|----------|
| 2009 | 11,6%(5) | 4,7%(2) | 0% | 16,3%(7) |
| 2010 | 6,3%(3) | 4,2%(2) | 2,1%(1) | 8%(4) |

Conclusion : La prévalence des variants résistants aux ARV chez les patients naïfs de traitement a diminué entre 2009 et 2010 (16,3% vs 8%). Les variants résistants étaient significativement plus fréquents chez les patients homosexuels et/ou infectés par le sous-type B.

525/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Genotypic linkage of VP7, VP4 and NSP4 genes of rotaviruses circulating among Tunisian children from 2006 to 2008.

M. Ben Hadj Fredj², I. Fodha², M. Zeller¹, E. Heylen¹, A. Chouikha², M. Van Ranst¹, J. Matthijnsens¹, A. Trabelsi²

¹Laboratory of Clinical and Epidemiological Virology, Rega Institute for Medical Research, University of Leuven, Leuven, Belgique ²UR06SP20 - Laboratoire de Microbiologie, CHU Sahloul, Sousse, Tunisie

Background: Group A rotaviruses (RVs) are one of the major causes of severe gastroenteritis in young children in both developed and developing countries. The RV genome consists of 11 segments of double-stranded RNA, with 6 genome segments coding for structural proteins (VP1-4, VP6 and VP7) and 5 segments coding for 6 non-structural proteins (NSP1-6). The two outer-layer proteins VP7 and VP4 form the basis of the current dual classification system of group A rotaviruses into G and P genotypes. Recently, a new classification system for rotaviruses based on the sequences of all segments of the RV genome was proposed. Concerning NSP4 encoding gene, genotypes are currently designated as E (for Enterotoxin) genotypes. To date, at least 27 G-, 35 P- and 14 E-genotypes have been identified globally. The aim of the present study was to characterize the genotypic linkage of G, P and E genotypes by analyses of the VP7, VP4 and NSP4 encoding genes, respectively.

Methods: In the present study, VP7, VP4 and NSP4-encoding genes of 186 human RV strains circulating from 2006 to 2008 were analyzed using semi-nested reverse transcriptase-polymerase chain reactions.

Results: Fourteen different G/P genotype combinations were detected with predominance of G3P[8] (54 strains, 29%), G2P[4] (53 strains, 28%) and G1P[8] (39 strains, 21%). Concerning the NSP4 genotyping, two different genotypes could be detected: genotype E1 was identified in 130 samples (70%) and genotype E2 in 56 samples (30%). The Tunisian G1P[8], G1P[6], G1P[4], G3P[8], G3P[6], G3P[4], G4P[8], G4P[6], G4P[4], G9P[6] and G2P[8] RV strains were found in combination with genotype E1, whereas G2P[4], G2P[6] and G6P[9] RV strains were linked to genotype E2.

Conclusion: The linkages between G/P and E- genotypes observed in the present study were in concordance with previous data describing that G2 and non-G2 (G1, G3, G4 and G9) RV strains usually correlate with NSP4 genotypes E2 and E1, respectively. These findings provide the overall picture of genotypic linkage data of rotavirus strains circulating in Tunisia.

526/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Molecular detection of enteric viruses in children with acute gastroenteritis in Casablanca, Morocco.

J. Nouril^{2,1}, H. Amdouini², L. Benabbes², W. Gueddari³, H. Amarouch¹, M. Hassar²

¹Laboratory of Microbiology, Pharmacology Biotechnology and Environment, Faculty of Sciences, Ain chock, University Hassan II ²Medical Virology and BSL-3 Laboratory, Institut Pasteur du Maroc ³Paediatric Emergency Unit-Casablanca Children's Hospital, Casablanca, Maroc

Paediatric gastroenteritis is one of the most common diseases children and continues to be a leading cause of morbidity and mortality worldwide. Enteric viruses [rotavirus (RV), adenovirus (AdV), norovirus (NoV), astrovirus (AstV)] are the most important etiologic agents.

In Morocco, and in our knowledge, no reports have been published on the epidemiology of the above mentioned enteric viruses. The aim of our study was to assess the prevalence and types of enteric virus infections in children aged

During 2010 and 2011, 104 diarrheal stool specimens were obtained and tested by polymerase chain reaction genotyping and nucleotide sequencing targeting different regions of virus genome: RV (VP4-VP7), AdV (Hexon), EVs (VP1), NoV and AstV (ORF2).

At least one viral agent was detected in 43/104 (41.3%) of the specimens. Rotavirus was the most frequent virus identified in 29 out of 104 samples (27,9%), adenovirus in 10 (9,6%), norovirus in 5 (4,8%), astrovirus in 4 (3,8%) and enterovirus in 4 (3,8%) samples. Rotavirus and adenovirus were characterized by sequencing analysis. These sequences are deposited in GenBank (accession number HM641816-20 and HQ228549-58).

This is the first molecular screening for the circulation of RV, AdV, EVs, NoV and AstV in Morocco. Our data suggest an evident circulation of viruses involved in gastroenteritis with a higher prevalence of rotavirus. After introduction of rotavirus vaccines in Morocco (october 2010), the surveillance of rotavirus becomes very important to monitor the emergence and spread of novel rotavirus strains.

527/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Caractérisation moléculaire et étude clinique des infections au virus Aichi détecté chez les enfants atteints de gastroentérite en Tunisie : combinaison avec l'étude de la séroprévalence.

K. Sdiri-Loulizi^{2,1}, S. Ayouni^{2,1}, J.B. Bour¹, M. Aouni², M.N. Guediche³, P. Pothier¹, K. Ambert-Balay¹

¹Centre National de Référence des virus entériques, CHU de Dijon, Dijon, France ²Laboratoire des Maladies Transmissibles et Substances Biologiquement Actives, Faculté de Pharmacie, Université de Monastir ³Service de Pédiatrie, CHU Fatouma Bourguiba de Monastir, Monastir, Tunisie

Objet de l'étude : Les gastroentérites aiguës virales constituent un problème de santé publique mondial avec une morbidité et une mortalité importantes chez le jeune enfant, principalement dans les pays en voie de développement. Les objectifs de cette étude étaient de préciser la fréquence du virus Aichi chez les enfants souffrant de gastroentérite en Tunisie, déterminer l'épidémiologie moléculaire et l'aspect clinique de la diarrhée infantile associée à ce virus émergent et établir la corrélation entre ces données et l'étude de la séroprévalence du virus Aichi dans la population tunisienne.

Méthodes : Une étude prospective a été menée entre janvier 2003 et avril 2007 chez 788 enfants de moins de 12 ans consultant ou hospitalisés au CHU de Monastir pour une gastroentérite aiguë. Le virus Aichi a été identifié et caractérisé par RT-PCR suivi d'étude phylogénétique.

Pour l'étude de la séroprévalence, les sérums de 1000 patients (6 mois à 89 ans) ont été collectés et analysés par ELISA pour rechercher les IgG spécifiques anti-virus Aichi. La prévalence (IgG) et l'intensité du signal (titre des sérums) ont été analysées dans les sérums positifs.

Résultats : Parmi les 788 selles d'enfants atteints de gastroentérites, le virus Aichi a été détecté dans 32 (4,1%) échantillons dont 25 cas sont des mono-infections. Les 32 souches du virus Aichi sont de génotype A. Le virus Aichi ($P=0,04$) était significativement plus fréquent chez les enfants hospitalisés (4,4%) que chez les externes (1,8%). La comparaison des signes de gravité entre les infections dues au rotavirus et celles dues au virus Aichi ainsi que les autres virus ne montre pas de différence significative ($P>0,05$). L'étude de la séroprévalence a montré que les anticorps (IgG) spécifiques anti-virus Aichi augmentent avec l'âge : de 68,8% chez les enfants de moins de 10 ans jusqu'à 100% chez les personnes âgées de plus de 60 ans. Le titre d'anticorps augmente significativement avec l'âge des patients.

Conclusion : La corrélation entre la séroprévalence très élevée et la forte fréquence du virus Aichi montre que les infections par ce virus sont importantes et répétées, ce qui reflète l'importance et le caractère émergent du virus Aichi dans l'étiologie virale des gastroentérites infantiles.

528/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Surveillance nationale de l'épidémiologie moléculaire des infections à rotavirus du groupe A en Tunisie sur une période de 15 ans (1995-2009).

I. Fodha², M. Ben Hadj Fredj², A. Chouikha², N. Boujaafar², A. Trabelsi², A.D. Steele¹

¹Fondations Bill and Melinda Gates, Seattle, Etats-Unis ²UR06SP20 - Laboratoire de Microbiologie, Sousse, Tunisie

Introduction : Les Rotavirus (RV) du groupe A constituent le principal agent étiologique des gastroentérites infantiles. Le caractère segmenté du génome viral favorise les réassortiments et explique la variabilité génétique de ces virus. L'objectif du présent travail était de réaliser une surveillance moléculaire des souches de RV du groupe A en circulation en Tunisie sur une période de 15 ans (1995-2009).

Méthodes : L'enquête a porté sur 2808 échantillons de selles provenant d'enfants de moins de 5 ans consultants ou hospitalisés en service de pédiatrie pour diarrhée. La détection des RV a été réalisée par technique immunoenzymatique. Le typage moléculaire VP7/VP4 des souches de rotavirus a été effectué au moyen d'une technique de RT-PCR semi-nichée

multiplex.

Résultats : Le RV a été retrouvé dans 596 échantillons de selles parmi 2808 (21%). Sur les 596 selles positives en ELISA, 526 (88.3%) ont pu être typées en VP7, 488 (82%) en VP4, et au total, 452 (75.8%) ont été génotypées simultanément en VP7 et VP4, permettant la mise en évidence de 19 associations distinctes, ainsi qu'un taux considérable d'infections mixtes.

Conclusions : La présente étude a permis de mettre en évidence une évolution très dynamique des génotypes G de RV au cours des années. L'association G1P[8] était prédominante entre 1995 et 2004. En 2005, G1P[8] a cédé la place aux associations G3P[8], puis aux souches G2P[4] en 2006-2007, et enfin à nouveau aux souches G3P[8] en 2007-2008. Par ailleurs, nous avons pu mettre en évidence la circulation de souches de RV présentant des associations VP7/VP4 non communes, telles que G1P[4], G2P[8], G3P[4] et G4P[4]. De plus, la proportion des infections mixtes, phénomène connu pour favoriser l'émergence de nouvelles souches réassortantes, était considérable (14%). Enfin, l'émergence récente des souches G9P[8] en Tunisie confirme que de telles souches sont en cours d'extension au niveau mondial. Tous ces résultats soulignent l'importance d'assurer une surveillance régulière des souches de RV en circulation au niveau mondial, afin notamment de détecter d'éventuelles souches émergentes avant et après l'introduction des vaccins anti-RV dans un pays.

529/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Epidémiologie clinique et moléculaire de l'infection par le virus de l'hépatite A (VHA) en Tunisie.

S. Gargouri², L. Feki-Berrajeh², I. Ayadi¹, H. Karray-Hakim², A. Hammami²

¹Centre de biotechnologie de Sfax ²Laboratoire de microbiologie, Sfax, Tunisie

Introduction et objectifs : L'infection par le virus de l'hépatite A est une affection endémo-épidémique en Tunisie. La séroprévalence de l'hépatite A a nettement diminué ces dernières années conduisant à un net recul dans l'âge de la primo-infection et à une augmentation de l'incidence de l'infection aigüe chez l'adulte. Ce changement d'épidémiologie a conduit à l'écllosion de véritables épidémies avec la survenue de formes symptomatiques voire même sévères. Le but de notre travail a été d'étudier les caractéristiques épidémiocliniques de patients, originaires du gouvernorat de Sfax (sud tunisien), infectés par le VHA durant la période allant de janvier 2007 jusqu'à décembre 2009 et de caractériser génétiquement les souches de VHA circulantes de manière sporadique ou épidémique durant cette période.

Matériel et méthodes : L'étude des caractéristiques épidémiocliniques a porté sur 140 patients présentant une hépatite aigüe A. Le diagnostic virologique de l'infection a été réalisé au laboratoire de microbiologie du CHU Habib Bourguiba de Sfax par la détection des anticorps spécifiques anti-VHA de type IgM (ELISA de type immunocapture, DiaSorin, Italie). L'étude moléculaire a été faite pour 90 souches de VHA détectées chez 90 parmi les 140 patients étudiés, grâce à un séquençage automatisé réalisé au niveau de la région VP1/2A du génome viral. L'analyse phylogénétique des souches virales a été effectuée à l'aide du programme PHYLIP en utilisant l'algorithme Neighbor-joining. La reproductibilité de l'arbre a été estimée avec un bootstrapping de 1000 fois.

Résultats : L'âge moyen des patients a été de 12.33 ans (extrêmes d'âge: 1-30 ans). La tranche d'âge de 11-20 ans a été particulièrement touchée (50% des cas). Le sex-ratio a été de 0.9 (52.1% de sexe féminin versus 47.9% de sexe masculin). Deux cas d'hépatite fulminante ont été observés chez 2 patients âgés respectivement de 4 et de 15 ans dont un décédé par insuffisance hépatocellulaire. L'évolution mensuelle du nombre de cas d'hépatite A a montré une augmentation importante durant les mois d'octobre 2007 à mars 2008, d'octobre 2008 à février 2009 et de juillet 2009 jusqu'à la fin de l'année. En effet, 89% des cas d'hépatite A étudiés ont été diagnostiqués durant ces 3 périodes épidémiques. Toutes les souches circulantes qu'elles soient épidémiques ou sporadiques ont appartenu au sous génotype IA. Néanmoins, une hétérogénéité génétique a été observée au sein de ce même génotype. Des souches ayant 100% d'identité ont été isolées notamment à partir de foyers épidémiques.

Conclusion : L'analyse de séquences des souches de VHA isolées dans la région du sud tunisien a montré qu'elles sont étroitement liées, suggérant une circulation endémique des mêmes souches de VHA dans cette région. L'incidence élevée des cas aigus observés parmi les adolescents et les adultes jeunes illustre bien le recul dans l'âge de la primo-infection. Ce changement dans l'épidémiologie expose le pays à la survenue de formes sévères, voire à l'apparition d'épidémies.

530/89A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Antiviral properties of the mulberry plant extracts on human coronavirus 229E and poliovirus type 1.

M. Varbanov¹, I. Thabti², S. Fontaney¹, A. Ferchichi², R.E. Duval¹

¹SRSMC, UMR 7565, Faculté de Pharmacie, Université de Lorraine – CNRS, Nancy, France ²Laboratoire d'Aridoculture et Cultures Oasiennes, Institut des Régions Arides de Médenine, Route el Djorf Médenine 4119, Médenine, Tunisie

Objective: Plants have always been used in traditional medical practices, worldwide, in different cultures and civilizations. Here we focused on the antiviral properties of the mulberry tree (*Morus spp.*). The mulberry is found in wide range of climatic conditions, cultivated in Europe, America, Asia and several parts of Africa. Different plant parts of the mulberry are used

pharmacologically in the world, valued for its multiple biological activities, including antimicrobial properties. Our objective was to screen the antiviral activity of the mulberry plant extracts on two different types of model viruses – human coronavirus (HCoV 229E), and poliovirus type 1 Sabin strain (PV1). In spite of their apparent differences, in terms of morphology, cell entry and replication cycle, both viruses are representing viral families (*Coronaviridae* and *Picornaviridae*, respectively) well known for their capacity to induce diverse diseases in humans.

Methods: We examined the water and the water: methanol extracts of leaves and stem bark of three different species of mulberry from southern Tunisia - *Morus alba* var. *alba*, *Morus alba* var. *rosa* and *Morus rubra*, which are amongst the most commonly grown *Morus* species. First, we performed cytotoxicity tests in order to determine the minimal non-toxic concentration of each extract. Next, we screened all the extracts for their influence on the cytopathogenic effect (CPE) of each of the viruses and hence on the viral titer (CCID₅₀). Cell morphology and density were also evaluated.

Results: Our results show an important antiviral activity of *Morus spp.* plant extracts on HCoV 229E, with a titer reduction greater than 3 log₁₀. Curiously, our data indicate that generally only one of the plant parts showed an antiviral activity. Interestingly, the PV1 proved to be quite resistant to the antiviral action of the mulberry extracts.

Conclusion: Taken together, these findings suggest that mulberry extracts are an excellent candidate for therapeutic development. The further investigation of these bioactive components is an exciting opportunity not only to better understand the anti-infectious properties of the mulberry plant, but also to further explore the world of the interaction between the host cell and the virus.

531/90A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Incidence des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique à *Pseudomonas aeruginosa* en réanimation, de 2003 à 2011.

F. Bétend¹, S. Cronenberger¹, T. Bénét^{1,4}, P. Vanhems^{1,4}, Service de réanimation des Hospices Civils De Lyon², Unités d'hygiène des Hospices Civils De Lyon³

¹Hospices Civils de Lyon, Hôpital Edouard Herriot, Service d'Hygiène, Epidémiologie et Prévention ²Services de réanimation des Hospices Civils de Lyon ³Unités d'Hygiène des Hospices Civils de Lyon ⁴Université de Lyon; université Lyon 1; CNRS UMR 5558, Laboratoire de Biométrie et Biologie Evolutive; Equipe Epidémiologie et Santé Publique, Lyon, France

Objet de l'étude : Les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) sont la première cause d'infections nosocomiales (IN) chez les patients hospitalisés en réanimation. *Pseudomonas aeruginosa* est un des microorganismes les plus fréquemment retrouvé en cas de PAVM. L'objectif était de décrire les tendances d'incidence des PAVM à *P. aeruginosa* en réanimation entre 2003 et 2011.

Méthodes : Les données ont été prospectivement collectées dans le cadre de la surveillance des IN dans les services de réanimation des Hospices Civils de Lyon. Tous les patients hospitalisés 48 heures entre 2003 et 2011 ont été inclus. Le caractère nosocomial était retenu lorsque les infections survenaient au moins 48 heures après le début d'hospitalisation. Seule la première PAVM a été considérée et les co-infections ont été rapportées. Une régression de Poisson a permis d'analyser la tendance d'incidence.

Résultats obtenus : L'analyse a porté sur 20828 patients hospitalisés en service de réanimation, dont 2104 (10,1%) ont présenté une PAVM et parmi lesquels 523 (24,9%) étaient dues à *P. aeruginosa*. 387 (74%) des PAVM à *P. aeruginosa* étaient unimicrobiennes, 136 (26%) étaient des co-infections à *P. aeruginosa* et un autre germe. Parmi les patients atteints de PAVM à *P. aeruginosa*, 160 (30,6%) étaient des femmes d'âge médian de 65,0 ans. 57 (10,9%) patients étaient admis pour motifs traumatologiques, 100 (19,4%) étaient immunodéprimés et 392 (75%) bénéficiant d'un traitement antibiotique à l'admission. Le taux d'incidence des PAVM à *P. aeruginosa* était de 3,8 en 2003 et de 5,4 en 2011 pour 1000 jours d'intubations à risque ($p = 0,09$). L'incidence est stable sur la période (ratio d'incidence brut = 1,00; IC 95% 0,97-1,03, $p = 0,97$). La mortalité hospitalière des patients atteints de PAVM à *P. aeruginosa* est de 39,6% ($n=207$). Par ailleurs, 130 (24,9%) des souches de *P. aeruginosa* étaient résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G). La proportion des souches résistantes aux C3G variait sur la période ($p = 0,002$), sans tendance linéaire. En 2011, 12 (21,8%) des souches étaient résistantes à l'imipénème.

Conclusion : Les PAVM à *P. aeruginosa* restent des infections fréquentes et graves. La résistance à l'imipénème semble émerger et pourrait poser des problèmes thérapeutiques.

532/90A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation prospective de 4 milieux gélosés commerciaux pour l'isolement de *Legionella* à partir de prélèvements respiratoires.

G. Descours, P. Cassier, F. Forey, J. Etienne, G. Lina, S. Jarraud Hospices Civils de Lyon, Centre National de Référence des Légionelles, Bron, France

Objet de l'étude : L'isolement de *Legionella* à partir de prélèvements respiratoires est indispensable pour réaliser les enquêtes épidémiologiques. Cet isolement est obtenu dans seulement 22% des cas de légionellose (données InVS, 2011). Le choix des milieux de culture est donc un point critique pour les laboratoires réalisant la culture de *Legionella*. L'objectif de

cette étude était de comparer les performances de 4 milieux commerciaux pour l'isolement de *Legionella* à partir de prélèvements respiratoires.

Méthodes : Cette étude prospective a inclus 328 patients pour lesquels une légionellose était suspectée entre septembre 2010 et juin 2012. Un cas de légionellose était défini par la positivité de l'antigène urinaire, de la culture, de la coculture ambienne ou de la PCR. Les prélèvements respiratoires (100µL) (crachat, aspiration trachéo-bronchique, LBA) étaient ensemencés sur 5 géloses : BCYE (Oxoid), GVPC (BioMérieux), BMPA (Oxoid) (en double) et MWY (Oxoid). Les géloses étaient incubées 10 jours à 35°C sous atmosphère aérobie (BCYE et BMPA) ou sous 2,5% de CO₂ (BMPA, GVPC et MWY).

Résultats : Parmi les 328 patients, 183 cas de légionellose ont été diagnostiqués. La culture était positive pour 96 patients, soit une sensibilité de 52,5%. Les milieux ensemencés montraient des différences significatives en terme de sensibilité ($p < 0,0001$, test X²): BCYE 21,3%; GVPC sous CO₂ 25,7%; BMPA 37,7%; BMPA sous CO₂ 41%; MWY sous CO₂ 40,4%. L'association des géloses BMPA et MWY incubées sous CO₂ permettait d'atteindre une sensibilité de 48,1%. Ces deux géloses présentaient également une contamination moindre par la flore oro-pharyngée. L'ajout d'une gélose BCYE permettait d'atteindre une sensibilité de 49,2%. A l'inverse, la sensibilité de l'association BCYE/GVPC était limitée à 30,6%.

Conclusion : Parmi les 4 milieux testés, les milieux BMPA et MWY (Oxoid) sont les plus performants pour isoler *Legionella* à partir de prélèvements respiratoires. Sur la base de ces observations, l'ensemencement des prélèvements respiratoires peut être limité à ces 2 géloses incubées sous 2,5% de CO₂. Cependant, les antibiotiques contenus dans ces milieux sélectifs peuvent inhiber la croissance de certaines souches de *Legionella* non *pneumophila*, suggérant un éventuel ajout d'une gélose BCYE.

533/90A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Suite de l'étude collaborative entre les laboratoires de microbiologie du RENACOQ, de laboratoires d'analyses médicales et le CNR de la coqueluche et autres bordetelloses, afin d'évaluer la PCR en temps réel pour la détection du matériel génétique de *Bordetella*.

S. Guillot, N. Guiso

Institut Pasteur, Unité PTMMH, Centre National de Référence de la Coqueluche et autres bordetelloses, Paris, France

Introduction : Une des missions primordiales du CNR est la surveillance des bordetelloses. Cette surveillance se fait à l'aide des bactériologistes hospitaliers du réseau Renacoq et de quelques laboratoires d'analyses médicales qui utilisent la PCR en temps réel comme outil de diagnostic moléculaire direct de la coqueluche. En 2010, le CNR avait organisé un contrôle qualité car c'est un des moyens de s'assurer de la qualité des données. Le CNR a renouvelé cette expérience en 2012 afin d'évaluer l'impact du précédent contrôle qualité auprès des laboratoires participants.

Objet de l'étude : D'une part, évaluer la sensibilité de la technique de PCR utilisée par les 32 laboratoires intéressés de participer en 2012 à ce suivi d'étude pour la détection du matériel génétique de *Bordetella* et d'autre part, comparer ces données avec celles de 2010. Pour cela de nouveaux contrôles qualités ont été préparés par le CNR. Un questionnaire a aussi été élaboré afin de pouvoir faire un point sur un éventuel changement de méthode d'extraction ou/et d'amplification, de cible, de réactif ou/et d'équipement.

Méthodes : Six tubes contenant de l'ADN ou non de *Bordetella* ont été préparés et validés par le CNR puis distribués aux 32 laboratoires participants avec le questionnaire.

Résultats/Conclusion : Comme en 2010, la plupart des 32 laboratoires participants ont obtenu un résultat très satisfaisant ou satisfaisant. L'étude faite en 2010 avait mis en avant la nécessité d'une harmonisation dans le rendu des résultats. En effet, la plupart des laboratoires, qui utilisent l'IS481 comme cible, concluaient à la détection d'ADN de *Bordetella pertussis* lorsque la PCR est positive. Or il a été montré que l'IS481 peut aussi être détectée dans d'autres espèces comme *Bordetella holmesii*. Le suivi de cette étude collaborative nous a permis d'évaluer l'impact positif de la sensibilisation des laboratoires participants sur l'importance du rendu de conclusion aux cliniciens.

534/90A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Diagnostic biologique de la coqueluche par PCR en temps réel.

N. Benamrouche, M. Lazri, H. Tali-Maamar, S. Hasnaoui, O. Lafer, K. Rahal
Bactériologie Médicale, Institut Pasteur d'Algérie, Alger, Algérie

Introduction : La coqueluche est une toxo-infection broncho-pulmonaire très contagieuse causée par *Bordetella pertussis* et *Bordetella parapertussis*. Malgré la couverture vaccinale élevée, la coqueluche reste un problème de santé publique en Algérie. Elle est grave chez les nouveau-nés et les nourrissons très souvent contaminés par les adolescents et les adultes. Le but de ce travail a été d'évaluer l'apport de la PCR en temps réel dans le diagnostic biologique de la coqueluche.

Matériels et méthodes : De février 2006 à août 2012, 117 aspirations nasopharyngées (ANP) ont été collectées chez des nourrissons (n=88) présentant une symptomatologie évocant la coqueluche et chez des adultes (n=29), contaminateurs suspects. Toutes les ANP ont été ensemencées sur milieu de Bordet-Gengou. L'identification des souches a été effectuée par le système Api 20F. L'antibiogramme a été réalisé sur milieu Mueller-Hinton additionné de 10% de sang de cheval. L'extraction de l'ADN et la détection par PCR en temps réel de la séquence d'insertion IS481spécifique de *B. pertussis*, *B.*

bronchiseptica et *B. holmesii*, ont été effectuées pour toutes les ANP.

Résultats : Durant la période d'étude, la culture a été positive dans deux cas (1,71%) alors que la détection de la séquence d'insertion IS481 a été détectée dans 74 cas (63,25%). Dans 22 cas (18,8%), détection de la séquence d'insertion chez des nourrissons de moins de 3 mois, donc avant l'âge de la vaccination. Parmi les 29 contaminateurs suspects étudiés, 14 étaient positifs en IS481.

Conclusion : La PCR en temps réel est un outil incontournable dans le diagnostic biologique de la coqueluche. Ces données montrent la circulation de la bactérie en Algérie. Comme décrits dans d'autres pays, les adultes sont les contaminateurs principaux des nourrissons. Il n'existe pas de rappel de vaccination anti-coquelucheuse chez les adolescents et adultes en Algérie.

535/90A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Nouvelle méthode de typage haut-débit de *Legionella pneumophila* appliquée aux dernières épidémies de légionellose dans le réseau d'eau chaude sanitaire de la ville de Rennes.

D. Sobral²⁻⁶⁻⁷, P. Le Cann⁸, A. Gérard⁸, S. Jarraud⁵⁻³⁻⁴, J. Gardès², B. Lebeau², F. Loisy-Hamon², G. Vergnaud⁵⁻⁷⁻¹, C. Pourcel⁵⁻⁷

¹DGA/Mission pour la Recherche et l'Innovation Scientifique,

Bagneux²Ceeram, La Chapelle Sur Erdre³Hospices Civiles de Lyon⁴U851,

INSERM⁵Centre National de Référence des *Legionella*, Université de Lyon,

Lyon⁶CNRS⁷Institut de Génétique et Microbiologie, UMR 8621, Université

Paris-Sud, Orsay⁸École des Hautes Études en Santé Publique, Laboratoire

d'Étude et de Recherche en Environnement et en Santé, Rennes, France

La méthode de référence pour typer des souches de *Legionella pneumophila* reste actuellement l'électrophorèse en champ pulsé ou Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE). La PFGE consiste en la digestion enzymatique de l'intégralité du génome d'une souche pour établir un profil de bandes de restriction. Mais malgré un fort pouvoir discriminant, la PFGE est une méthode longue et laborieuse et n'est donc pas adaptée à une utilisation haut-débit. Elle requiert de l'ADN de grande qualité et l'analyse des profils de bandes dont elle dépend réduit sa reproductibilité et sa portabilité.

Pour résoudre ces inconvénients, nous avons automatisé le typage du polymorphisme de répétitions en tandem (VNTRs pour Variable Number of Tandem Repeats) pour *L. pneumophila*. L'amplification par PCR de plusieurs VNTRs et la mesure de leur taille permet de produire un génotypage. Nous avons multiplexé cette technique dite MLVA (Multi-Loci VNTR Analysis) pour détecter 12 marqueurs VNTRs par échantillon en une seule étape de PCR. Ceci permet d'obtenir un excellent niveau de discrimination tout en diminuant le nombre et le temps de manipulation. La technique est disponible sous la forme d'un kit commercial, *typelegio@ceeramTools*TM. Ainsi à partir d'ADN purifié et d'un appareil à 4 capillaires, 217 isolats environnementaux collectés entre 2000 et 2009 et 5 isolats cliniques recueillis lors des épidémies de 2000 et 2006 à Rennes ont été analysés en quelques jours.

Les résultats ont révélé 15 génotypes distincts. Un groupe majeur de souches, isolées exclusivement à partir des réseaux d'eau chaude sanitaire, représente 77% des isolats étudiés. Bien que ces isolats présentent un profil MLVA souvent impliqué dans des épidémies européennes, ce groupe n'est pas responsable des cas cliniques épidémiques répertoriés à Rennes. Les isolats cliniques ont un génotype identique à celui des isolats contaminant une tour de refroidissement d'un centre commercial. Cette étude suggère que des facteurs génétiques et environnementaux inconnus contribuent à la pathogénicité de certaines souches.

En conclusion, ce travail illustre le potentiel haut-débit du MLVA pour déterminer l'origine d'une épidémie en permettant le typage systématique de nouveau isolat et l'ajout des résultats au sein de base de données partagées.

536/90A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Nouvelles méthodes haut-débits et discriminantes pour le typage des espèces *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*.

D. Sobral²⁻³⁻⁴, J. Gardès², B. Lebeau², F. Loisy-Hamon², G. Vergnaud³⁻¹⁻⁴, C. Pourcel³⁻⁴

¹DGA/Mission pour la Recherche et l'Innovation Scientifique,

Bagneux²Ceeram, La Chapelle Sur Erdre³CNRS⁴Université Paris-Sud,

Orsay, France

La méthode de référence pour typer des souches bactériennes reste actuellement l'électrophorèse en champ pulsé ou Pulse Field Gel Electrophoresis (PFGE). La PFGE consiste en la digestion enzymatique du génome d'une souche pour établir un profil de bandes de restriction. Mais malgré un fort pouvoir discriminant, la PFGE est une méthode longue et laborieuse et n'est donc pas adaptée à une utilisation haut-débit. En outre, elle requiert de l'ADN de grande qualité et l'analyse des profils de bandes dont elle dépend réduit sa reproductibilité et sa portabilité.

Pour résoudre ces inconvénients, nous avons automatisé le typage du polymorphisme de répétitions en tandem (VNTRs pour Variable Number of Tandem Repeats) pour 3 espèces : *Legionella pneumophila*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Staphylococcus aureus*. L'amplification par PCR de plusieurs VNTRs et la mesure de leur taille permet de produire un génotypage. Nous avons multiplexé cette technique dite MLVA (Multi-Loci VNTR Analysis) pour détecter de 12 à 16 marqueurs VNTRs par échantillon en une ou deux étapes

de PCR selon l'espèce. Ceci permet d'obtenir un excellent niveau de discrimination tout en diminuant le nombre et le temps de manipulation. La technique, disponible sous la forme de kits commerciaux ceeramTools™, offre la possibilité de typer une centaine de souches en 48H.

Nos méthodes ont été appliquées à 145 isolats de *S. aureus* issus de diverses origines, à une enquête épidémiologique sur *P. aeruginosa* chez des patients atteints de mucoviscidose, et une étude sur la colonisation par des souches de *L. pneumophila* du réseau d'eau de la ville de Rennes. Ces analyses ont permis de montrer que le même génotype de *P. aeruginosa* persiste pendant huit ans au cours des divers épisodes infectieux d'un patient, et que les cas cliniques épidémiques de Légionellose observés à Rennes entre 2000 et 2006 proviennent d'une tour aérofrigorifère d'un centre commercial de la ville. La comparaison avec la PFGE montre une congruence des deux méthodes, le MLVA fournissant, dans certains cas, des informations supplémentaires.

En conclusion, ces travaux illustrent le potentiel haut-débit et la rapidité de la méthode de typage par MLVA pour déterminer l'origine d'une épidémie en permettant le typage systématique de nouveau isolat.

537/90A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE
Évaluation du réactif TRU Legionella (MERIDIAN) pour la recherche d'antigènes urinaires de Legionella pneumophila.

A.M. Freydiere, G. Descours, J. Etienne, F. Vandenesch, G. Lina, S. Jarraud
Centre National de Référence des Légionelles, Hospices Civils de Lyon -
Centre de Biologie et de Pathologie Est - Laboratoire de Bactériologie, Bron,
France

Objectif : Évaluation du réactif immunochromatographique TRU *Legionella* (MERIDIAN) pour la détection de l'antigène *Legionella pneumophila* sérotype 1 dans l'urine en comparaison avec le test NOW *Legionella* (ALERE).

Matériels et Méthodes : Les performances du test ont été évaluées (i) en prospectif sur 183 urines reçues pour recherche d'antigène urinaire *Legionella* et testées négatives avec le réactif NOW (ii) sur 38 urines positives avec le réactif NOW *Legionella* et correspondant à des patients atteints de légionellose (34 urines conservées à -20°C et 4 urines fraîches). Les urines étaient testées non-concentrées (UNC) et concentrées (UC) par centrifugation/ultrafiltration à l'aide de membrane Amicon (Amicon Ultra-4; Millipore). Toutes les urines donnant un résultat discordant entre les 2 méthodes étaient retestées après chauffage 5min à 100°C et centrifugation à 1000 rpm, puis analysées par la méthode ELISA Bartels (Trinity Biotech).

Résultats obtenus : Sur les 183 urines testées en prospectif, 181 UNC et 182 UC ont donné un résultat négatif concordant entre les 2 méthodes. Une UNC et 2 UC ont donné un résultat positif uniquement avec le réactif TRU *Legionella* se négativant après chauffage et non confirmé par le test ELISA Bartels (Trinity Biotech).

Sur les 38 urines de patients atteints de légionellose, 36 UC et 33 UNC ont donné un résultat positif concordant avec le NOW *Legionella*. Les 2 UC et 2 des 5 UNC donnant un résultat négatif avec le test TRU correspondent à des patients pour lesquels des souches Mab 3/1 (*L. pneumophila* 1 sous-groupe Oida et Bellingham) ont été isolées. La faible sensibilité des tests urinaires pour ces souches est décrite dans la littérature. Les 3 UNC discordantes supplémentaires auraient été considérées comme négatives avec le TRU *Legionella* si elles n'avaient pas été testées concentrées.

Conclusion : Le test TRU *Legionella* montre donc en comparaison avec le test Now *Legionella*, une sensibilité de 86,8% avec les UNC et 94,7% avec les UC et une spécificité de 98,9% qui monte à 100% si le chauffage des urines est effectué. Cette étude montre que la concentration des urines augmente la sensibilité du test et que la confirmation de tout test positif après chauffage des urines (recommandations européennes) est utile pour augmenter la spécificité.

538/90A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE
Épidémiologie des pneumopathies polymicrobiennes acquises sous ventilation mécanique en réanimation au CHU de Lyon, 2003-2010.

J. James³, P. Vanhems³⁻¹, M.C. Nicolle³, L. Argaud⁴, C. Guérin², J.J. Lehot⁵, T. Béné³⁻¹

¹Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, Équipe Épidémiologie et Santé Publique, CNRS UMR 5558, Université Lyon 1 ²Services de réanimation, Hôpital de la Croix-Rousse, Hospices Civils de Lyon ³Service d'hygiène, épidémiologie et prévention ⁴Services de réanimation médicale, Hôpital Edouard Herriot, Hospices Civils de Lyon ⁵Services de réanimation, Hôpital Louis Pradel, Hospices Civils de Lyon ⁶Unités d'hygiène hospitalière, Hospices Civils de Lyon, Lyon, France

Objet de l'étude : Bien que l'épidémiologie microbienne des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) en réanimation soit bien décrite, celle des PAVM polymicrobiennes est moins connue. L'objectif était de décrire les patients atteints de PAVM polymicrobiennes et les espèces de micro-organismes (MO) responsables de celles-ci.

Méthodes : Une étude descriptive de données provenant de la surveillance épidémiologique des infections nosocomiales (IN) a été réalisée dans les services de réanimation des Hospices Civils de Lyon entre 2003 et 2010. La surveillance des IN et la définition des PAVM étaient basées sur le protocole du C.Clin Sud-Est. Les patients hospitalisés ≥48 heures en réanimation et intubés durant leur séjour ont été inclus. Le taux d'attaque (TA) de la première

PAVM a été décrit et exprimé pour cent patients intubés. Les tests du Chi deux et de Kruskal-Wallis ont été réalisés afin de comparer les variables catégorielles et continues respectivement.

Résultats obtenus : Au total, 12 416 patients sous ventilation mécanique, comptant pour 99 827 jours d'intubation à risque ont été inclus. Durant leur séjour, 1 475 (11,9%) patients ont développé une PAVM; parmi-eux, 1 073 (72,7%) PAVM étaient dues à un seul MO et 402 (27,3%) à deux MO. *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *E. coli*, *C. albicans* et *Haemophilus spp* apparaissaient comme les cinq espèces les plus fréquentes dans l'ensemble des PAVM. Parmi les PAVM polymicrobiennes, les associations *S. aureus* - *E. coli* (n=18, TA=0,14%), *E. coli* - *P. aeruginosa* (n=17, TA=0,14%), *S. aureus* - *P. aeruginosa* (n=15, TA=0,12%), *C. albicans* - *P. aeruginosa* (n=15, TA=0,12%), et *S. aureus* - *Haemophilus spp* (n=14, TA=0,11%) étaient les plus souvent identifiées, la mortalité toutes causes était respectivement de 33%, 65%, 40%, 53% et 7% (p=0,02). Les caractéristiques de la population selon le couple de germes responsable de la PAVM polymicrobienne différaient selon l'âge (p=0,001), l'existence d'un trauma (p=0,01) ou d'une antibiothérapie à l'admission (p=0,04).

Conclusion : Les PAVM polymicrobiennes sont fréquentes, différents profils de patients ont pu être dégagés selon le couple de MO en cause. Les interactions entre l'hôte et les microorganismes en cause dans les IN polymicrobiennes nécessitent des analyses complémentaires.

539/90A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Description des flores bactériennes pulmonaires associées à la présence de Pseudomonas aeruginosa chez des patients atteints de mucoviscidose.

L. Pagès^{4,2}, S. Yahi⁴, F. Bolinde⁴, C. Bardel⁵, M. Perrouse-de-Montclos⁷, G. Bellon¹, I. Durieu⁶, F. Vandenesch²⁻³, J. Freney^{2,4}, B. Courmoyer⁴, A. Doléans-Jordheim²⁻⁴

¹Centre de ressources et Compétences (CRCM) enfant, Hôpital Femme Mère Enfant, Hospices Civils de Lyon ²Laboratoire de Bactériologie, Centre de Biologie et Pathologie Est, Hospices Civils de Lyon (HCL), Bron ³INSERM U851, équipe Pathogénie des Staphylocoques ⁴UMR 5557 Ecologie Microbienne CNRS-UCBL-VetAgroSup ⁵Université Lyon 1, UMR CNRS 5558, INRA, INRIA, Laboratoire de Biométrie et Biologie Évolutive, ISPB, Lyon ⁶Centre de ressources et de compétences (CRCM) adulte, Centre Hospitalier Lyon Sud, Hospices Civils de Lyon ⁷Laboratoire de Bactériologie, Centre hospitalier Lyon Sud des HCL, Saint-Genis-Javal, France

Objectif : La mucoviscidose ou *cystic fibrosis* (CF) est une maladie génétique qui se traduit au niveau pulmonaire, par une augmentation de la viscosité du mucus altérant l'élimination des micro-organismes. Ce phénomène associé à une inflammation et une dysrégulation du système immunitaire, entraîne des infections pulmonaires graves (80 % de décès chez les patients CF). Parmi les bactéries responsables de ces infections, *P. aeruginosa* est l'un des pathogènes majeurs. Les flores pulmonaires des patients CF représentent des communautés structurées et dynamiques, composées de nombreux micro-organismes (pathogènes, commensaux et/ou dont la pathogénie n'est pas établie) qui interagissent entre eux. Ces interactions synergiques ou antagonistes seraient impliquées dans l'implantation ou non des pathogènes majeurs dont *P. aeruginosa*. Il en résulterait donc des flores bactériennes plus ou moins associées à ce micro-organisme.

Méthode : La description de flores bactériennes pulmonaires de patients CF a été effectuée en fonction de la présence ou non de *P. aeruginosa* grâce à la culture, la méthode d'empreintes moléculaires par RISA-EC (Ribosomal intergenic spacer analysis-électrophorèse capillaire) et la métagénomique.

Résultats : Les résultats culturels (analyse de 264 expectorations) et RISA-EC (analyse de 104 expectorations) ont présenté une diminution de la richesse bactérienne en présence de *P. aeruginosa*. Cependant, la diversité des flores (indice de Simpson) en présence ou en absence de cette bactérie est apparue identique. Aucune flore spécifiquement associée à *P. aeruginosa* n'a été mise en évidence, mais 3 groupes de flores ont cependant été décrits, suggérant l'existence d'autres forces structurant ces flores. Les résultats de métagénomique comparant deux regroupements de flores contenant ou non *P. aeruginosa* ont présenté des variations des genres bactériens identifiés.

Conclusion : Une connaissance approfondie des micro-organismes constituant les flores pulmonaires des patients CF est nécessaire pour mieux appréhender la structuration et de l'évolution de ces communautés microbiennes et ainsi prévenir l'implantation des bactéries pathogènes. Cette étape optimiserait la prise en charge diagnostique et thérapeutique des patients atteints de mucoviscidose.

Global transcriptome analysis by RNA-seq of the mucoid strain *Pseudomonas aeruginosa* 2192 in physiopathological conditions (cystic fibrosis environment).

V. Cattoir^{1,6,2}, G. Narasimhan⁵, D. Skurnik³, H. Achard¹, D. Roux³, R. Ramphal⁴, J. Jyot⁴, S. Lory²

¹Department of Epidemiology, Harvard School of Public Health ²Department of Microbiology and Immunobiology, Harvard Medical School ³Division of Infectious Diseases, Department of Medicine, Brigham and Women's Hospital, Harvard Medical School, Boston ⁴Department of Medicine and Infectious Diseases, University of Florida, Gainesville ⁵School of Computing and Information Sciences, College Engineering, Florida International University, Miami, Etats-Unis ⁶EA4655, Faculté de Médecine, Université de Caen Basse-Normandie, Caen, France

Objectives: Analyze the whole transcriptome of a host-adapted alginate overproducing ('mucoid') *Pseudomonas aeruginosa* strain, isolated from a patient suffering from cystic fibrosis (CF).

Methods: The global transcriptome of *P. aeruginosa* 2192 was determined by strand-specific RNA-seq (Helicos technology) following growth of bacteria on solid M63 minimal medium and the same medium containing 50% human CF mucus. The reliability of RNA-seq was validated by qRT-PCR, and phenotypic assays (i.e. functional tests, Western-blot analysis) were also performed for several virulence genes. Northern-blot analysis was carried out to confirm the existence of small RNAs differentially expressed in the presence of mucus.

Results: Analysis of the RNA-seq data revealed that in bacteria grown in respiratory mucus, 656 genes (ca. 10% of the total number of genes) had altered transcript levels, with 378 genes showing an increase and 278 genes decrease. Among these changes, several significant and unexpected discoveries were made: (i) although the alginate overproduction was caused by a stable mutation, a mucus-derived signal caused reduction in the transcription of alginate biosynthetic genes (*algD* operon), which was confirmed phenotypically; (ii) mucus activated the expression of the type VI secretion system (T6SS), a mechanism for killing of other bacteria in a mixed population whereas overproduction of the major T6SS component, Hcp1, was confirmed by Western-blot analysis; (iii) mucus also induced the production of the three katalases (KatA, KatB, and KatE) and additional peroxide-detoxifying enzymes (AhpC, AhpF) and that of chitinase (ChiC) and chitin-binding protein (CbpD) as well as caused reorganizing of pathways of energy generation. Finally, several small regulatory RNAs were also identified by bioinformatic analysis and confirmed by Northern-blot analysis, some of which being significantly regulated by the mucus.

Conclusion: This study provides a snapshot of regulatory mechanisms in a human-adapted pathogen through assimilation of signals from host tissues to optimize its long-term survival potential during chronic colonization.

Évaluation de la valeur prédictive positive d'un test rapide de détection immunochromatographique des *Campylobacter* dans les selles.

P. Floch¹, J. Goret¹, E. Bessède^{1,2}, P. Lehours^{1,2}, F. Mégraud^{1,2}

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Pellegrin ²Université Bordeaux Segalen, CNR des *Campylobacter* et des *Helicobacter*, Bordeaux, France

Les *Campylobacter*, en particulier *Campylobacter jejuni* et *Campylobacter coli* constituent la cause principale des infections entériques bactériennes à travers le monde. La prévalence des infections à *Campylobacter* est sous-estimée du fait d'une recherche non-systématique en laboratoire d'analyses médicales et d'une faible sensibilité de la culture utilisée en routine.

Des méthodes rapides de détection basées sur une réaction immunochromatographique ont été développées mais leur spécificité semble insuffisante.

Notre but a été d'évaluer la valeur prédictive positive (VPP) du kit ImmunoCard STAT! Campy (Méristan Bioscience) par rapport à une référence constituée soit par une culture positive et en cas de culture négative par la positivité à la fois d'un ELISA (Ridascreen *Campylobacter*, r-Biopharm) et d'une PCR en temps réel spécifique de *C. jejuni* et *C. coli*.

Le test rapide a été appliqué sur toutes les selles reçues au laboratoire dans le contexte d'une infection entérique communautaire. En cas de test rapide positif, 3 méthodes de culture ont été réalisées: ensemencement sur milieu de Karmali (Oxoid), sur gélose au sang après filtration et enrichissement en milieu de Preston repiqué sur milieu Karmali. En cas de test rapide négatif une culture standard sur milieu de Karmali était pratiquée.

Durant une période de 3 mois (août-octobre 2011) 609 selles ont été testées et 31 ont été positives avec le test rapide ImmunoCard STAT! Campy (moyenne d'âge 34 ans). De ces 31 cas, 25 ont été confirmés comme de vrais positifs (19 par culture et 6 par PCR + ELISA) (VPP: 80,6%). Toutes les selles positives par culture l'ont également été par PCR + ELISA. L'ELISA a eu une corrélation parfaite avec la PCR.

Dans cette étude comme dans d'autres, le test ImmunoCard STAT! Campy utilisé a montré une VPP insuffisante. L'utilisation de plusieurs méthodes de culture notamment la filtration ne nous a pas permis de mettre en évidence des *Campylobacter* d'espèces plus rares qui pourraient avoir une antigénicité croisée avec *C. jejuni/coli*. La recherche d'une réponse anticorps contre ces bactéries n'a pas été possible dans cette étude.

Du fait d'une VPP limitée, le test rapide ne peut être envisagé que pour un screening des selles qui en cas de positivité doivent être contrôlées par une autre méthode.

Comparaison des facteurs de risque des infections à *Campylobacter jejuni*, *Campylobacter coli* et *Campylobacter fetus* survenant en France.

E. Bessède^{2,1}, P. Lehours^{2,1}, L. Labadi¹, S. Bakiri², F. Mégraud^{2,1}

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Pellegrin ²Université Bordeaux Segalen, CNR des *Campylobacter* et des *Helicobacter*, Bordeaux, France

Les *Campylobacter* sont reconnus comme la principale cause d'infection entérique bactérienne mais les facteurs de risque spécifiques aux deux principales espèces rencontrées, *C. jejuni* et *C. coli*, ont été peu étudiés.

Notre laboratoire, qui est le Centre National de Référence en France, reçoit des isolats d'un réseau national de laboratoires. Les données épidémiologiques obtenues entre 2003 et 2011 ont été utilisées pour comparer les caractéristiques de ces infections. Durant cette période, tous les isolats ont été identifiés en utilisant à la fois une méthode moléculaire (PCR en temps réel ou séquençage) et une méthode phénotypique standard sauf en 2010 et 2011 où la spectrométrie de masse MALDI-TOF a été utilisée. Une analyse univariée et multivariée des données recueillies a été réalisée avec le logiciel SPSSV11.5.

Au total, 28 305 isolats ont été identifiés. La répartition des principales espèces rencontrées était: *C. jejuni* (22 582, 79,8%), *C. coli* (4 311, 16%) et *C. fetus* (1 002, 3,5%). Huit autres espèces ont représenté 1,4% des isolats. Globalement, l'infection à *Campylobacter* a un sex-ratio de 1,2, est observée à tous les âges mais prédomine chez les enfants de 0 à 10 ans, et est plus fréquente durant l'été. En ce qui concerne les *Campylobacter* thermotolérants, les résultats de l'analyse multivariée ont montré que la survenue de *C. jejuni* était associée à la saison estivale (mai-septembre), que *C. coli* était rencontré plus souvent chez des malades plus âgés (âge moyen de 7 ans plus élevé) et avec un voyage à l'étranger (p<0,01). Par rapport aux *Campylobacter* thermotolérants, *C. fetus* survenait chez des malades beaucoup plus âgés dans des prélèvements autres que les selles et conduisait plus souvent à une hospitalisation.

La comparaison des caractéristiques des infections à *C. jejuni* et *C. coli* sur un nombre important de souches nous a permis de montrer que l'épidémiologie de ces 2 entéropathogènes proches n'était pas strictement superposable et les caractéristiques connues de l'infection à *C. fetus* ont été retrouvées.

Évaluation comparative des performances de deux tests immunochromatographiques [ICT] pour la détection des *Campylobacter* sp. dans des selles pédiatriques.

B. Falquet², P.H. Boyer², L. Benejat¹, L. Hees³, F. Mégraud¹, O. Dauwalder², F. Vandenesch², A.M. Freydière²

¹Centre National de Référence des *Campylobacter* et *Helicobacter*, Université Bordeaux Segalen et Hôpital Pellegrin, Bordeaux ²Laboratoire de Bactériologie - Institut de Microbiologie - Centre de Biologie et de Pathologie Est - Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon ³Service des urgences pédiatriques de l'Hôpital-Femme-Mère-Enfant (HFME), Groupement Hospitalier Est - Hospices Civils de Lyon, Bron, France

Objet de l'étude : Comparer les performances de deux tests rapides immunochromatographiques [ICT] de détection des *Campylobacter* par rapport au référentiel associant: la culture conventionnelle et, en cas de négativité, la positivité à la fois par une technique « Enzyme Linked ImmunoSorbent Assay » [ELISA] et une technique moléculaire [PCR].

Méthodes : 180 selles provenant exclusivement de services pédiatriques ont été testées prospectivement à l'aide de 2 ICT: RidaQuick *Campylobacter*® (R-Biopharm) [ICT-RIDA] et ImmunoCard Stat! *CAMPY*® [ICT-CAMPY] (Méristan). Les résultats ont été comparés à ceux de la culture réalisée sur milieu Karmali (Oxoid) et identifié par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Saramis, BioMérieux), de 2 tests ELISA: Ridascreen *Campylobacter*® [ELISA-RIDA] (R-Biopharm) et Premier *Campy*® [ELISA-CAMPY] (Méristan) et une PCR ciblant le gène *gyrA* de *C. jejuni* et *C. coli*.

Résultats obtenus : Sur les 180 selles testées, 20 souches de *Campylobacter* sp. (18 *C. jejuni*; 2 *C. coli*) ont été isolées par culture. Un cas supplémentaire a été détecté positif par ELISA et PCR. Les résultats des ICT et ELISA figurent dans le Tableau 1.

Tableau 1 : Performances des différents tests.

| Référentiel | ICT-RIDA | | ICT-CAMPY | | ELISA-RIDA | | ELISA-CAMPY | | Culture | | PCR | |
|--------------------------------|----------|-----|-----------|-----|------------|-----|-------------|-----|---------|-----|------|-----|
| | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - | + | - |
| + | 21 | 0 | 17 | 4 | 20 | 1 | 21 | 0 | 20 | 1 | 20 | 1 |
| - | 9 | 150 | 9 | 150 | 0 | 159 | 5 | 154 | 0 | 159 | 0 | 159 |
| Total | 30 | 150 | 26 | 154 | 20 | 160 | 26 | 154 | 20 | 160 | 20 | 160 |
| Sensibilité (%) | 100 | | 81 | | 95,2 | | 100 | | 95,2 | | 95,2 | |
| Spécificité (%) | 94,3 | | 94,3 | | 100 | | 96,9 | | 100 | | 100 | |
| Valeur Prédictive Positive (%) | 70 | | 65,4 | | 100 | | 80,8 | | 100 | | 100 | |
| Valeur Prédictive Négative (%) | 100 | | 97,4 | | 99,4 | | 100 | | 99,4 | | 99,4 | |

A l'inverse d'autres études, la culture présente de très bons résultats, probablement en raison de la facilité/rapidité d'identification de toute colonie suspecte par spectrométrie de masse MALDI-TOF. Le test ICT-RIDA

nouvellement commercialisé montre une très bonne sensibilité, en revanche, comme le test ICT-CAMPY, il montre un défaut de spécificité et donc, une valeur prédictive positive relativement faible.

Conclusion : Ces résultats sont en faveur d'une stratégie de screening des selles par ICT pour la recherche des Campylobacters en ne mettant en culture que les selles à ICT positif. Cette étude est poursuivie et sera complétée par une étude médico-économique évaluant l'intérêt des ICT sur la prise en charge des patients diarrhéiques des urgences pédiatriques.

544/91A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Caractérisation génotypique de l'*Helicobacter pylori* associée aux différentes pathologies gastriques chez une population marocaine adulte.

S. Alaoui^{3,2}, D. Benajah⁵, M. El Abkari⁵, A. Ibrahim⁵, M. Mahmoud⁶, A. Amarti⁴, A. Soulaymani², K. El Rhazi¹, C. Nejjar¹, B. Bennani³

¹Laboratoire d'épidémiologie et de recherche clinique CHU Hassan

II ²Laboratoire de biotechnologie Faculté des sciences D.M ³Laboratoire de

microbiologie et de biologie moléculaire, Faculté de Médecine et de

pharmacie ⁴Service d'anatomie pathologique CHU Hassan II ⁵Service d'hépat

gastro-entérologie CHU Hassan II ⁶Service de bactériologie CHU Hassan II,

Fès, Maroc

Helicobacter pylori (*H. pylori*) est associée à certaines pathologies gastriques, notamment, la gastrite chronique, l'ulcère et le cancer gastrique. Cette bactérie est connue par sa grande variabilité génétique touchant surtout le gène *Vac A*. Le but de cette étude était d'identifier les génotypes d'*H.pylori* prédominant chez une population marocaine adulte consultant au CHU Hassan II de Fès au Maroc et de les corrélés aux différentes pathologies.

Méthode : Une étude prospective randomisée a été réalisée au service de gastroentérologie du CHU Hassan II de Fez du mois de Mai 2009 au mois de Janvier 2012. Un CRF a été rempli pour tous les patients consentants. Ces patients ont bénéficié d'une fibroscopie au cours de laquelle des biopsies gastriques ont été obtenues. Ces biopsies ont été analysées par polymérase Chain Réaction (PCR) pour la détection du gène *glmM* de l'*H. pylori* et un génotypage a été réalisé dans les cas *H. pylori* positifs. La caractérisation génotypique consistait en la détermination des sous-types *Vac A* et du statut *Cag A* par PCR. Les différentes corrélations ont été réalisées en utilisant le logiciel Epi-info, les p en été calculés en utilisant le test Kruskal-Wallis.

Résultats : Au cours de cette étude, 605 patients ont été recrutés. La moyenne d'âge des participants était de 49 ans. Les données cliniques montrent que 65%, 12.9%, 10.6% et 6.9% des patients souffrent d'une gastrite, ulcère duodénal, ulcère gastrique et cancer gastrique respectivement, tandis que 3.7% des participants présentaient une muqueuse normale à l'endoscopie. Les résultats de la PCR montrent que l'infection à *H. pylori* est de l'ordre de 61.5%. L'analyse génotypique des 372 PCR positives montre que le gène *cag A* a été retrouvé dans 55.1% des cas. Les génotypes *Vac A* s1 et s2 ont été détectés dans 36.2% et 41.1% des cas étudiés respectivement. Le *vac A* m1 a été détecté dans 27% des cas versus 43.8% pour m2. Toutes les combinaisons du sous-type *vac A* ont été retrouvées avec une prédominance du *vac A* m2-s2 (30.9%) alors que le *vac A* m1-s2 (génotype rare) a été retrouvé dans notre population à un taux de 1.3%. Une infection multiple a été détectée dans 9.0% des cas *H.pylori* positifs. L'analyse statistique a montré que le sous-type m1s1 est le plus lié au *cagA*+ (31%). Parmi les 23 patients présentant une endoscopie normale, 12 étaient *H.pylori* positifs. Le cancer gastrique (55.6%) et l'ulcère (50%) étaient significativement liés au génotype *vacA* m1s1, tandis que la gastrite (63.1%) était liée au sous-type m2s2 du *vacA* (p<0.01). Aucune association significative entre le statut *cag* et les pathologies n'a pu être trouvée.

Conclusion : Les résultats préliminaires de notre étude montrent que le sous-type *vacA* m2-s2 est le plus prédominant dans notre série. Certaines associations significatives entre les génotypes d'*H.pylori* et les pathologies ont pu être trouvées dans notre région.

545/91A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évolution de la résistance aux antibiotiques des Campylobacters thermophiles en France (1986-2011).

P. Lehours^{1,2}, E. Sifré¹, C. Camou, E. Bessède^{1,2}, F. Mégraud^{1,2}

¹Université Bordeaux Segalen, CNR des Campylobacters et des

Hélicobacters ²CHU Pellegrin, Laboratoire de Bactériologie, Bordeaux, France

Les Campylobacters constituent la première cause d'infection entérique bactérienne et sont parfois responsables de complications infectieuses sévères. Il est important de surveiller l'évolution de leur résistance aux antibiotiques. Notre but a été de surveiller les tendances évolutives de cette résistance.

Un réseau de laboratoires hospitaliers coordonné par notre laboratoire a été constitué en 1986. Il a été conforté en 2003 par d'autres laboratoires hospitaliers ainsi que par un réseau de laboratoires de ville. La méthode de détermination de la sensibilité aux antibiotiques a été la méthode de diffusion utilisant des disques selon les critères du CA-SFM.

Les résultats des laboratoires hospitaliers sont rapportés. La résistance aux macrolides, est restée faible et stable: *C. jejuni*, proche de 15% pour *C. coli*. La résistance à l'ampicilline, proche pour les 2 espèces a en revanche significativement diminué depuis 15 ans (proche de 25%). La résistance à la doxycycline a elle régulièrement et significativement augmenté pour les 2

espèces: *C. jejuni* (34,4%) et surtout pour *C. coli* (66,7%). La résistance à l'acide nalidixique a également significativement augmenté, pour *C. jejuni* de 5% à 49,1% et pour *C. coli* de 6% à 72%. La ciprofloxacine est testée depuis 2000 et corrèle avec la résistance à l'acide nalidixique avec quelques exceptions dans les 2 sens. La cause de cette résistance est surtout à mettre sur le compte des traitements donnés en médecine vétérinaire (volailles, porcs) plutôt qu'en médecine humaine, car le taux de résistance est comparable chez les adultes et les enfants. Les Campylobacters sont restés sensibles à d'autres antibiotiques testés car utiles pour les infections systémiques: gentamicine, amoxicilline-acide clavulanique et imipénème, avec quelques rares exceptions. Le nombre de souches cumulant plus de 2 résistances à des classes d'antibiotiques différentes est en augmentation.

En conclusion, l'augmentation de la résistance des Campylobacters aux quinolones est constante malgré les mesures prises. Ces antibiotiques ne peuvent plus être utilisés pour orienter le diagnostic bactériologique et nécessitent d'être testés avant leur prescription. La résistance aux tétracyclines est également en augmentation alors que l'évolution de la résistance est faible ou nulle pour les autres antibiotiques.

546/91A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Résistance de l'*Helicobacter pylori* à la clarithromycine : étude chez des patients au centre nord du Maroc.

S. Alaoui^{3,2}, M. Mahmoud⁷, J. Raymond¹, A. Amarti⁴, D. Benajah⁶, M. El Abkari⁶, A. Ibrahim⁶, A. Soulaymani², K. El Rhazi⁵, C. Nejjar⁵, B. Bennani³

¹Service de bactériologie de l'hôpital Cochin, Paris, France ²Laboratoire de biotechnologie Faculté des sciences D.M ³Laboratoire de microbiologie et de biologie moléculaire, Faculté de Médecine et de pharmacie ⁴Service d'anatomie pathologique CHU Hassan II ⁵Service d'épidémiologie et de recherche clinique CHU Hassan II ⁶Service d'hépat gastro-entérologie CHU Hassan II ⁷Service de bactériologie CHU Hassan II, Fès, Maroc

L'infection à *Helicobacter pylori* (*H.pylori*) est incriminée dans la plupart des pathologies gastroduodénales chez l'homme, notamment la gastrite chronique, l'ulcère gastrique et duodénal, le cancer gastrique et le lymphome de MALT. L'une des raisons d'échec d'éradication de l'infection est liée à la résistance de cette bactérie aux antibiotiques utilisés.

Dans notre pays, aucune donnée concernant les profils de résistance de l'*H. pylori* aux antibiotiques n'est disponible. Ainsi, nous nous sommes fixés comme objectif la détermination du profil de résistance à la Clarithromycine des souches isolés chez des patients marocains.

Méthode : Une étude prospective randomisée incluant des patients adultes (n=605) consultants au service de gastro-entérologie du CHU Hassan II de Fès a été menée. Les patients consentant ont bénéficié d'une Fibroscopie œsogastroduodénale. La recherche de l'*H. pylori* a été réalisée par PCR en point final et aussi par mise en culture à partir des biopsies gastriques collectées. Les souches isolées ont été testées pour leur résistance à la clarithromycine par la technique de diffusion sur gélose. Une PCR en temps réel a été réalisée sur 41 biopsies, choisies au hasard, pour confirmer les résultats obtenus (détection et sensibilité à la clarithromycine séparément).

Résultats : Le taux d'infection à l'*H.pylori* déterminé par PCR est de 61.5%. Sur les 144 cultures positives obtenues, 25% présentaient une résistance à la clarithromycine en utilisant la technique de diffusion sur agar. Sur les 41 biopsies testées, seules celles positives par PCR en point final l'ont été aussi par PCR en temps réel, soit (36/41). Les 5 prélèvements négatifs par PCR étaient positifs par examen histologique et/ou au Test rapide à l'urée. Les résultats obtenus par PCR en temps réel pour déterminer le comportement des isolats vis-à-vis de la clarithromycine concordent et confirment les résultats obtenus par les antibiogrammes.

Conclusion : Le taux de résistance à la clarithromycine (25%) est comparable aux taux obtenus en France (26%) mais reste plus élevée que celui obtenu en Tunisie (14.6%). Cependant, ce taux doit être confirmé par PCR en temps réel sur le reste des prélèvements surtout ceux pour lesquels une culture n'a pu être obtenue.

547/91A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

***Helicobacter pylori* et maladies inflammatoires chroniques de l'intestin.**

H. Battikh Maaouia², M. Serghini¹, S. Karoui¹, M. Zribi², A. Filali¹, C. Fendri²

¹CHU La Rabta, Service de Gastroentérologie A ²CHU La Rabta, Service de

Microbiologie, Tunis, Tunisie

Les maladies inflammatoires chroniques (MIC) sont des affections qui résultent de l'inflammation chronique, intermittente ou continue, d'une partie de la paroi intestinale chez des sujets souvent jeunes. Les espèces du genre *Helicobacter* sont de bons candidats en tant que facteur environnemental associé à la prédisposition génétique de l'hôte pour conduire à une MICI. En Tunisie, peu d'études épidémiologiques sur les MICI ont été effectuées. Notre travail est le premier à s'intéresser à la colonisation des MICI par *H. pylori*, et aux souches isolées (phénotypes de résistance aux antibiotiques et clonalité des souches antrales et fundiques).

Chez 60 patients atteints de MICI et 59 contrôles, la séroprévalence a été déterminée par la recherche des IgG anti-*H. pylori* dans le sérum des patients par le test immunoenzymatique Platelia® *H. pylori* IgG de BioRad®. Les souches des patients *H. pylori* positifs ont été isolées par culture (sur milieu Skirrow) de biopsies gastriques. Un antibiogramme des souches a été réalisé

par la technique standard du CA-SFM et une PCR-RAPD a été utilisée sur 42 colonies isolées de 5 patients afin de comparer les souches fundiques et antrales et détecter des multicolonisations chez un même patient.

La séroprévalence de *H. pylori* dans le groupe des MICI était de 53,3% et celle du groupe contrôle de 98%. Dans le groupe des MICI *H. pylori* positif, une répartition bimodale de l'âge a été notée: 21 et 29 ans alors que dans le groupe *H. pylori* négatif, un seul pic a été noté entre 30 et 49 ans.

Les souches isolées étaient toutes sensibles à l'amoxicilline et à la clarithromycine et résistantes au métronidazole dans 20% des cas et à la ciprofloxacine dans 16% des cas. La PCR-RAPD a montré un profil identique des souches antrales et fundiques chez 4 patients et une discordance des 2 profils chez le 5^e patient. Ceci pourrait faire penser à une colonisation simultanée par des souches ou des clones différents.

Une comparaison de nos résultats avec les données de la littérature a permis de dégager certaines similitudes (la faible prévalence de *H. pylori* dans les MICI par exemple) mais aussi quelques différences (absence de corrélation entre infection à *H. pylori* et la prise d'antibiotiques ou de salazopyrine).

548/92A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Host and bacterial characteristics during *Escherichia coli* bacteremia in children.

C. Burdet^{5-9,3}, S. Bonacorsi¹⁻⁷, O. Clermont⁶⁻¹⁰, C. Laouénan³⁻⁵⁻⁹, E. Bingen¹⁻⁷, Y. Aujard⁴⁻⁷, A. Lefort²⁻⁸, E. Denamur⁶⁻¹⁰

¹AP-HP, Hôpital Robert-Debré, Laboratoire de Microbiologie ²AP-HP, Hôpital Beaujon, Service de Médecine Interne ³AP-HP, Hôpital Bichat, Service de Biostatistique ⁴AP-HP, Hôpital Robert Debré, Service de Néonatalogie ⁵INSERM, UMR 738 ⁶INSERM, UMR-S 722 ⁷EA 3105 ⁸EA 3964 ⁹UMR 738 ¹⁰UMR-S 722, Faculté de Médecine, Site Xavier Bichat, Université Paris Diderot, Sorbonne Paris Cité, Paris, France

Objective: To identify risk factors of death and/or transfer to intensive care unit (ICU) during *E. coli* bacteremia in children.

Methods: We used data of children *E. coli* bacteremia. Six pathogenicity-associated islands (PAIs) were deduced from the presence of 18 virulence factors (VF). We studied associations between host (age, sex, portal of entry [PoE], comorbidities) and bacterial characteristics (antibiotic resistance, phylogenetic group, O-group, PAIs, VF) with the composite severity criterion of death and/or transfer to ICU.

Results: Among 84 children included in analysis, 43 (51%) were *E. coli* strains belonged to the phylogenetic group B2 (63%), and to the O6 and O1 O-groups (21% and 19% respectively). *E. coli* strains were mostly resistant to amoxicillin (63%). Three strains were resistant to 3rd generation cephalosporins (4%), and 3 (4%) to fluoroquinolones.

Multivariate analysis retained 2 factors independently associated with severity: being among

We compared community-acquired USB between 45 children and 513 adults from the same cohort. Among children, bacteremia was more frequent in males ($p < 10^{-4}$) and less frequently severe ($p = 0.01$). *E. coli* strains were more resistant to antibiotics ($p = 0.04$) and had a higher PAI score ($p < 10^{-4}$). Among the 18 VF tested, the following were significantly more frequent in children: sat, iha, pap, aer, while hra was less frequent.

Conclusion: The severity of bacteremia is not related to any of the bacterial characteristics tested. *E. coli* involved in children USB are more virulent and more resistant than in adults.

549/92A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Investigation d'une épidémie d'infections ostéo-articulaires à *Kingella kingae* au sein d'une crèche.

E. Collin³, P. Bidet², R. Basmaçı³, C. Courroux³, E. Lafeuille³, F. Garnier¹, E. Bingen³, V. Dufour², V. Prisse², M. Ighmouracene², E. Grimprel⁴, S. Bonacorsi³

¹Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Limoges, Limoges ²Direction de la Famille et de la Petite Enfance ³Service de Bactériologie, Hôpital Robert Debré ⁴Service de Pédiatrie Générale, Hôpital Trousseau, Paris, France

K. kingae est le principal germe responsable d'infections ostéo-articulaires (IOA) chez le nourrisson. Les IOA à *K. kingae* sont le plus souvent sporadiques mais des épidémies au sein de collectivités ont été rapportées. Nous décrivons la 1^{ère} épidémie en France d'IOA à *K. kingae* survenue au sein d'une crèche.

5 cas d'IOA (1 cas d'arthrite documentée à *K. kingae* et 4 cas d'ostéomyélites non documentées) chez des nourrissons âgés de 8 à 16 mois sont survenus dans deux sections (24 enfants) d'une crèche entre le 6/10/11 et le 5/11/11. L'hypothèse d'une épidémie d'infections à *K. kingae* a été émise. Des prélèvements de gorge ont été réalisés chez tous les enfants afin de rechercher par culture et PCR un portage de *K. kingae*. Les isolats ont été caractérisés par MLST, électrophorèse en champ pulsé (ECP) et rep-PCR. Dans le but de prévenir d'autres infections invasives à *K. kingae*, une prophylaxie basée sur l'administration de rifampicine pendant 2 jours a été prescrite et une 2^{ème} série de prélèvements de gorge a été réalisée 15j après.

Lors de la 1^{ère} série de prélèvements de gorge, 46% des enfants avaient une culture positive à *K. kingae*, tandis que la PCR était positive dans 85% des

cas. Après antibioprophyllaxie, le taux de portage n'a pas été significativement modifié, un seul enfant s'étant négativé. Toutes les souches isolées en portage et la souche responsable de l'arthrite appartenaient au même Séquence Type 25 (ST25), qui est un des ST majeurs en France. Toutefois les autres techniques de typage n'ont pas permis de discriminer les souches épidémiques des souches ST25 non reliées à l'épidémie.

En conclusion, dans l'étude du portage de *K. kingae* la réalisation d'une culture seule peut sous estimer la prévalence de ce pathogène et la PCR apparaît comme une technique complémentaire utile. Le portage de *K. kingae* au sein d'une collectivité de jeunes nourrissons peut être proche de 100%. L'épidémie d'IOA investiguée est probablement liée à une souche de *K. kingae* appartenant au clone ST25. Le ST25 apparaît hautement clonal et les méthodes génotypiques utilisées (ECP, rep-PCR) n'ont pas permis d'affirmer qu'une seule souche ST25 était impliquée. L'antibioprophyllaxie de type «anti-méningococcique» a été inefficace dans l'éradication du portage de *K. kingae*.

550/92A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Leptotrichia amnionii, a newly reported cause of early onset neonatal meningitis.

V. Decroix¹, S. Goudjil²⁻³, G. Kongolo²⁻³, H. Mammeri¹⁻⁴

¹Service de Bactériologie ²Service de Réanimation pédiatrique, CHU Amiens ³Inserm U 1105 ⁴UFR de Médecine, Université de Picardie Jules Verne, Amiens, France

Leptotrichia amnionii is a fastidious underestimated inhabitant of the vaginal flora that can cause upper genital tract infections when predisposing factors are present. We describe here the first early onset meningitis due to *L. amnionii* in a neonate with intrauterine growth retardation.

Case report: A 23-year-old primigravida woman with gestational hypertension was admitted to the teaching hospital of Amiens (Amiens, France) for preterm labor (PTL) at 29 weeks of gestation and intrauterine growth retardation. PTL was treated with nifedipine as a tocolytic. At 37 weeks' gestation, a 1,630-g live-born girl was delivered by spontaneous vaginal delivery with Apgar scores of 2 (1 min), 6 (5 min), and 8 (10 min). After an uneventful observation period, the baby deteriorated at day 6 being febrile (39.1°C) and hypotonic. Lumbar puncture revealed cloudy cerebrospinal fluid (CSF) with 1,450 white cells mm⁻³ (98% polymorphonuclear leukocytes), elevated protein level (247 mg dl⁻¹), low glucose concentration (<0.1 mmol l⁻¹), and Gram negative bacilli on direct examination. Cefotaxime was started for 21 days combined with netilmicin for the first five days. She made good progress thereafter.

Microbiology: Spinal fluid was cultured on sheep blood-supplemented (5%) and chocolate-polyvitex agar plates at 37°C in aerobic and 5% CO₂ atmospheres, respectively. After 5 days, grey convex colonies (1 mm) were seen on the chocolate-polyvitex agar plate. Subculture yielded growth only on chocolate-polyvitex agar plates incubated under anaerobic conditions or in 5% CO₂ atmosphere.

Identification using biochemical strips and MALDI-TOF failed. Bacterial 16S rRNA gene was amplified using the primers 8BF (5'-AGAGTTTGATCMTGGCTCAG-3') and U1406R (5'-ACGGCGGTGTGTRC-3'). The 1,300-bp DNA fragment amplified was subsequently sequenced. BLAST analysis identified *L. amnionii* with a maximal identity of 100% for *L. amnionii* strain CCUG 51846. MICs determination showed that the isolate was susceptible to β -lactams and metronidazole.

Conclusion: *L. amnionii* emerges as a causative agent of fetal and neonatal infections. To improve its isolation in the CSF from neonates, we recommend to use chocolate-polyvitex agar plates incubated under anaerobic conditions during at least 7 days.

551/92A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Importation simultanée de plusieurs bactéries multirésistantes à l'admission d'un enfant brûlé venant d'Algérie.

D. Moissenet², P. Richard⁴, M. Granados⁴, A. Mérens⁵, D. Fournier¹, M. Fines-Guyon², H. Vu-Thien³

¹CNR Résistance aux Antibiotiques (*Pseudomonas*), CHRU, Besançon ²CNR Résistance aux Antibiotiques (*Entérocoques-Streptocoques*), CHU, Caen ³Unité de Bactériologie ⁴Unité de Réanimation Brûlés, Hôpital Trousseau, Paris ⁵Laboratoire de Biologie, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint-Mandé, France

Objet de l'étude: Enfant gravement brûlé venant d'Algérie, infectée et colonisée par plusieurs bactéries multirésistantes (BMR) à l'arrivée en France.

Méthodes: Observation clinique et caractérisation des souches de BMR (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* et *Enterococcus faecium*).

Résultats: Fillette âgée de 5 ans, victime d'un accident de feu le 2 juin 2012, hospitalisée à Alger jusqu'à son transfert à Paris le 6 juin 2012. Brûlée au 3^{ème} degré sur 78% de sa surface cutanée, l'enfant était traitée par imipénème et vancomycine à l'arrivée. Après les prélèvements à l'admission, le protocole habituel de désinfection locale par chlorhexidine toutes les 2h a été mis en place ainsi qu'un changement de l'antibiothérapie: pipéracilline-tazobactam et amikacine. L'enfant est décédée en moins de 24 heures. La culture des prélèvements de brûlures a donné 3 souches résistantes aux β -lactamines et aux aminosides: *P. aeruginosa* de sérotype O11, *A. baumannii* et *K. pneumoniae*, cette dernière sensible à l'imipénème. Deux hémocultures étaient

également positives à *P. aeruginosa* O11 et *A. baumannii*. La souche de *P. aeruginosa* montraît une métallo-β-lactamase VIM-4 associée à une oxacilline OXA-10, la souche d'*A. baumannii* une carbapénémase OXA-23 et la souche de *K. pneumoniae* une β-lactamase à spectre élargi du groupe CTX-M-1. Au total, seule la ciprofloxacine restait active sur les 3 souches de bactéries à gram négatif, non utilisée vu la très rapide évolution fatale. L'écouvillonnage rectal effectué à l'admission était positif à *E. faecium*, souche résistante aux glycopeptides (CMI vancomycine >256mg/l, CMI teicoplanine 32mg/l) avec une résistance *VanA*.

Conclusion : Des infections à BMR ont été observées chez quelques enfants venant du Maghreb précédemment admis à l'unité des brûlés, cependant la détection de 4 BMR chez un même patient est exceptionnelle. Alors que l'étendue des surfaces infectées constituait une source majeure de dissémination, le strict isolement technique et géographique mis en place dès l'admission ainsi que la brièveté du séjour de l'enfant ont permis de ne détecter aucun autre patient contaminé dans les semaines suivantes.

552/92A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Méningites à pneumocoque chez les enfants de moins de 2 ans : impact des vaccins pneumococciques conjugués.

C. Levy^{5,3}, E. Varon^{2,3}, E. Bingen^{4,3}, S. Béchet⁵, R. Cohen^{5-1,3}, GPIIP. Groupe des Pédiatres et Microbiologistes de l'observatoire des Méningites
¹CHI Créteil, ²CHNRP AP-HP HEGP ³GPIIP ⁴Service de Microbiologie Hôpital Robert Debré, Paris ⁵ACTIV, Saint-Maur-des-Fossés, France

Objectifs : Les données de l'Observatoire National des Méningites Bactériennes de l'enfant du GPIIP/ACTIV permettent d'analyser, depuis 2001, les caractéristiques cliniques et biologiques des méningites à pneumocoque (MP) avant et après l'introduction du vaccin pneumococcique conjugué heptvalent (PCV7). En Juin 2010, le vaccin pneumococcique conjugué 13 valents (PCV13) a été recommandé chez les enfants de moins de 2 ans et la couverture vaccinale (≥1 dose) est actuellement >90%.

Méthodes : 239 services de pédiatrie et 168 services de microbiologie ont inclus depuis 11 ans tous les patients de moins de 18 ans, ayant une MP documentée. Les facteurs de risque, les signes et symptômes, le statut vaccinal, l'analyse du LCR (dont le sérotypage des souches de pneumocoque), les traitements et la mortalité ont été colligés.

Résultats : De 2001 à 2011, 838 MP ont été enregistrées (moyenne d'âge 8,2 mois). En 2011, parmi les enfants vaccinés par le PCV13, 5 cas étaient dus au sérotype (ST) 19A, (3 après 1 injection et 2 après 2 doses) et 1 cas était dû au ST 19F. Les principaux ST non vaccinaux retrouvés étaient les ST 10A, 12F, 15A et 33F.

Conclusion : La diminution du nombre de MP observée avec l'utilisation du PCV7 a été contrebalancée par l'augmentation des ST de remplacement, 19A et 7F notamment. Actuellement, la diminution des ST contenus dans le PCV13 suggère un impact de ce vaccin.

| Nombre de MP/an | 2001 | 2002 | 2003 | 2004 | 2005 | 2006 | 2007 | 2008 | 2009 | 2010 | 2011 |
|-------------------------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|------|
| | n=89 | n=97 | n=75 | n=86 | n=69 | n=60 | n=73 | n=66 | n=85 | n=79 | n=59 |
| Sérotypes (%) | | | | | | | | | | | |
| PCV7 | 65.2 | 76.8 | 55.8 | 47.2 | 41.2 | 17.4 | 13.9 | 8.2 | 2.7 | 9.4 | 6.1 |
| PCV13 | 87.0 | 94.6 | 84.6 | 73.6 | 76.5 | 56.5 | 56.9 | 68.9 | 59.5 | 57.8 | 24.5 |
| 19A | 11.6 | 3.6 | 9.6 | 11.3 | 17.7 | 8.7 | 21.5 | 31.2 | 27.0 | 23.5 | 16.3 |
| 6A | 5.8 | 7.1 | 3.9 | 7.6 | 3.9 | 2.2 | 6.2 | 0 | 0 | 0 | 0 |
| 7F | 1.5 | 5.4 | 7.7 | 1.9 | 5.9 | 17.4 | 7.7 | 21.3 | 24.3 | 15.6 | 2.0 |
| 3 | 2.9 | 1.8 | 7.7 | 3.8 | 0 | 4.4 | 1.5 | 3.3 | 1.4 | 3.1 | 0 |
| 1 | 0 | 0 | 0 | 1.9 | 5.9 | 6.5 | 6.2 | 3.3 | 4.1 | 6.3 | 0 |
| 5 | 0 | 0 | 0 | 0 | 2.0 | 0 | 0 | 1.6 | 0 | 0 | 0 |
| 8C | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 0 | 1.6 | 2.0 |
| Autres ST non vaccinaux | 13.0 | 5.4 | 15.4 | 26.4 | 23.5 | 43.5 | 43.1 | 31.1 | 40.5 | 40.6 | 73.5 |

553/92A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Les complications neurologiques chez les enfants infectés par le VIH.

F. Razik, F. Bensadoun, S.A. Belkadi Kouied, S. Abidi, N. Mouffok
 Service des maladies infectieuses, CHUO, Oran, Algérie

Introduction : Les complications neurologiques chez les enfants infectés par le VIH sont multiples et graves. Elles peuvent inaugurer le tableau clinique ou bien apparaître au cours de l'évolution de la maladie au stade du syndrome d'immunodéficience acquise.

Objectif : Rapporter les manifestations neurologiques répertoriées chez les enfants infectés par le VIH et les difficultés de leur prise en charge liées aux insuffisances du plateau technique diagnostique.

Matériels et Méthodes : Étude rétrospective allant de janvier 1997 au 31 décembre 2011 concernant les dossiers des enfants infectés par le VIH, pris en charge dans le service des maladies infectieuses du CHUO pour manifestations neurologiques liées au virus lui-même et ou au déficit immunitaire.

Résultats : Parmi les 110 dossiers étudiés, nous avons notifié 24 cas de complications neurologiques soit 22.72%, dont 8 cas d'encéphalopathie rétrovirale, 4 cas de polyradiculonévrite rétrovirale, 3 cas de cryptococcose neuro-méningée, 2 cas de toxoplasmose cérébrale, 3 cas de méningo-encéphalite virale (varicelle Zona, herpes), 2 cas de méningite à pneumocoque et 2 cas de méningo-encéphalite tuberculeuse. L'âge moyen des enfants était de 3, 5 ans avec des extrêmes allant de 1 mois à 15 ans et un sex ratio =1.08.

Les manifestations neurologiques ont été révélatrices de l'infection à VIH dans 45% des cas. Seize cas avaient le taux des lymphocytes totaux inférieurs à 600 cellules/mm³. Onze patients (46%) ont survécu dont 4 avec des séquelles neurologiques, l'issue était fatale pour 13 patients (54%).

Conclusion : Les manifestations neurologiques au cours de l'infection à VIH sont fréquentes et graves notamment à un stade avancé de l'immunodépression. Leur pronostic est réservé et dépend de l'étiologie et de la rapidité de leur prise en charge diagnostique et thérapeutique.

554/92A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Hypersignaux de la substance blanche chez le patient infecté par le VIH : quand évoquer une leucoencéphalopathie multifocale progressive ?

S. Sunder, X. Cazals, H. Chaussade, A. Chaillon, F. Bastides, L. Bernard, J.P. Cottier
 CHRU de Tours, Tours, France

Objectif : Décrire les caractéristiques cliniques, immunovirologiques et les aspects IRM orientant vers le diagnostic de LEMP chez les patients infectés par le VIH et présentant des hypersignaux de la substance blanche.

Méthodes : Analyse descriptive rétrospective de 19 patients infectés par un VIH-1 ayant eu un diagnostic de Leucoencéphalopathie Multifocale Progressive (LEMP) confirmée virologiquement ou d'Encéphalopathie VIH (EVIH) entre 2005 et 2011.

Résultats : Sept patients ont eu une LEMP confirmée par une PCR polyomavirus positive dans le LCR (n=5) ou sur biopsie cérébrale (n=2). Les 12 autres patients ont été étiquetés comme EVIH, avec pour 6 patients une possible autre cause associée (vasculaire=3, VHC, EBV et CMV). La médiane de CD4 était 20/mm³ pour les LEMP et 58/mm³ pour les EVIH. La charge virale (CV) plasmatique était supérieure à 5 log dans 5/7 cas de LEMP et 5/11 cas d'EVIH (NS). La CV dans le LCR était supérieure à la CV plasmatique dans 0/7 LEMP et 3/12 EVIH (NS). Les symptômes étaient aigus (<1 mois) dans 4/7 LEMP et 6/12 EVIH (NS). Les manifestations cliniques n'étaient pas différentes dans les 2 groupes. En IRM, une atteinte des fibres en U en T2 était présente dans 5/7 LEMP et 2/12 EVIH (p=0,04) et un aspect de couronne en séquence de diffusion était retrouvé dans 6/7 LEMP et 0/11 EVIH (p<0,01). Un hypersignal périventriculaire en T2 était retrouvé dans 3/7 LEMP et dans 10/12 EVIH (p=0,12).

Conclusion : Dans notre étude, les caractéristiques cliniques et immunovirologiques des patients atteints de leucopathies cérébrales ne permettaient pas de prédire la pathologie responsable. En IRM, l'atteinte des fibres en U en T2 était significativement plus fréquente dans les LEMP mais n'était pas spécifique. La présence d'une couronne en séquence de diffusion était significativement associée à une LEMP et n'était jamais retrouvée chez les autres patients présentant des hypersignaux de la substance blanche. Cet aspect en IRM semble donc un bon critère pour orienter le diagnostic vers une LEMP, notamment quand la recherche de virus JC est négative dans le LCR.

555/93A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Paralysies spastiques révélatrices de brucellose.

N. Tabet-Derraz, S. Bestaoui, F. Benlazar
 CHU de Sidi-Bel-Abbès, Sidi-Bel-Abbès, Algérie

Introduction objectifs : La neurobrucellose est une complication rare de la brucellose. L'objectif de ce travail était de décrire l'aspect épidémiologique, clinique et biologique des atteintes neurologiques atypiques au cours de la brucellose dans une zone endémique.

Méthode : Étude rétrospective portant sur 04 cas de paralysies spastiques hospitalisées entre Janvier 2009 et Décembre 2011 au service des Maladies Infectieuses de Sidi Bel abbès; région pastorale de forte endémicité en brucellose. La notion de contact avec le bétail ou consommation de lait cru était retrouvée. Le diagnostic était posé par une sérologie de Wright supérieure ou égale à 1/80, l'imagerie par résonance magnétique (IRM) a été réalisée dans chaque cas.

Résultat : Il s'agissait de 02 hommes et de 02 femmes. Une moyenne d'âge de 40 ans. Tous avaient consommé du lait de vache cru. Le début de la symptomatologie était d'une durée moyenne de 60 jours. Une para parésie spastique des deux membres inférieurs s'était installée insidieusement suite à des lombalgies fébriles. L'examen neurologique retrouvait chez deux patients une poly radiculoneuropathie sensitive et motrice avec une para parésie spastique et une méningo-encéphalopathie avec polyradiculomyélite dans les deux autres cas. L'incontinence urinaire était retrouvée dans deux cas, une rétention urinaire dans un cas. L'IRM médullaire retrouvait pour les quatre patients une myélite d'origine infectieuse. Le scanner cérébral était sans particularité. La ponction lombaire avait retrouvé une méningite à liquide clair dans deux cas. La sérologie de Wright était de 1/640 dans un cas et de 1/1280 dans 03 cas. Le traitement avait combiné les cyclines et la rifampicine pendant une durée de neuf mois. L'évolution était faite par la reprise de la marche sans séquelles pour les quatre cas au bout d'une durée moyenne de trois mois.

Conclusion : En zone endémique de brucellose, les formes neurologiques atypiques doivent faire rechercher une neurobrucellose dont le pronostic reste bon sous traitement.

Aspects épidémiologiques et cliniques de 1 884 cas de brucellose humaine.

N. Tabet-Derraz, S. Bestaoui

CHU de Sidi-Bel-Abbés, Sidi-Bel-Abbés, Algérie

Introduction : La brucellose est une anthrozoose qui pose un problème de santé publique dans les pays du bassin méditerranéen. Quelques régions pastorales en Algérie connaissent de véritables épidémies. Le but de ce travail était de décrire l'évolution de la brucellose sur 30 ans dans une région de l'ouest algérien.

Matériels : Étude rétrospective sur dossiers de malades hospitalisés au niveau du service des maladies infectieuses du Centre hospitalier universitaire de Sidi Bel Abbés couvrant une zone d'élevage sur une période de 30 ans de Janvier 1980 à Décembre 2010. Le diagnostic était évoqué devant une fièvre, la notion de contact avec le bétail ou de consommation de lait cru. La confirmation était obtenue par une sérologie de Wright à 1/80 dans tous les cas. Les rechutes et récidives ont été exclues dans cette étude. Les données étaient traitées par le logiciel SPSS 17.

Résultats : Sur les trente années, 1884 cas ont été colligés dont 1212 étaient de sexe masculin soit (64,5%). La moyenne d'âge était de 36 ans. La profession d'éleveur et contact direct était retrouvé chez 1630 cas soit (86%). La contamination par consommation de lait de chèvre retrouvée dans 160 cas (08%) et celle par le lait de vache 60 cas (03%). On a noté une ascension des cas à chaque décennie, de 68 cas de 1980 à 1989 soit (03%) à 816 cas de 1990 à 1999 (43,3%) et atteinte de 1000 cas (53,07%) dans la dernière décennie 2000 à 2010. Les cas similaires dans les familles étaient retrouvés chez 345 cas (18%). Le début de la symptomatologie était en moyenne de 28 jours (minimum de 03j maximum 180j). Les symptômes les plus retrouvés étaient fièvre, sueurs et céphalées dans 455 cas (24%), fièvre et sueurs dans 365 cas (19,5%), fièvre, arthralgies, myalgies dans 504 cas (13,5%), les spondylodiscites dans 100 cas (18,8%).

Conclusion : La brucellose est une infection qui évolue depuis trente ans dans notre région avec une véritable flambée ces dix dernières années. La surveillance, la déclaration de la maladie ainsi que l'établissement d'un programme de lutte se révèlent indispensables actuellement vu son impact économique et social.

Haematogenous disseminated cutaneous *Mycobacterium abscessus* infection following catheter-borne bacteraemia.N. Kramkime^{1,6}, N. Franck⁶, F. Brossier², S. Coignard^{3,3}, B. Heym^{9,1}, A. Carloti⁵, A. Schmitt⁷, J.L. Gaillard^{9,1}, B. Dousset^{8,4}, N. Dupin^{8,6}, C. Poyart^{8,3-7}, P. Morand^{8,3-7}

¹Microbiologie, Hôpital Ambroise Paré, AP-HP, Boulogne-Billancourt ²Centre National de Référence des Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux ³Bactériologie ⁴Chirurgie Digestive, Hépatobiliaire et Endocrinienne ⁵Service d'Anatomopathologie ⁶Service de Dermato-Vénérologie, GH Cochin Broca Hôtel-Dieu, AP-HP ⁷INSERM U1016, CNRS UMR8104, Institut Cochin ⁸Faculté de Médecine, Université Paris Descartes ⁹Faculté de Médecine, Université Versailles Saint-Quentin en Yvelines, Paris, France

Mycobacterium abscessus is an ubiquitous nontuberculous mycobacteria that may cause infection, mainly as pulmonary or skin disease. Although most skin infections result from local replication of trauma-inoculated bacteria, *M. abscessus* disseminated skin infections present with multiple cutaneous lesions, mainly located on lower extremities. The presumed haematogenous dissemination of *M. abscessus* thus appears as an essential step of pathogenesis that is often poorly documented. We report the case of a non-immunocompromised patient who presented with disseminated cutaneous lesions after an episode of catheter-borne *M. abscessus* bacteraemia.

Case report: A 59 year-old patient was admitted with disseminated skin lesions on both legs. Two months before, the patient had undergone surgical management of a pseudo pancreatic cyst and had presented with fever after two weeks. Five blood samples taken over 3 days and a central venous catheter yielded growth of a Gram-positive rod-shaped bacterium that was eventually identified as *M. abscessus*. Fever and local symptoms promptly regressed after catheter removal. No specific antimycobacterial therapy was administered at the time of catheter-borne bacteraemia but it was started more than two months later, after *M. abscessus* skin infection was diagnosed. A positive clinical response to antibiotic treatment rapidly occurred, with sharp and stable regression of cutaneous lesions after several months. All *M. abscessus* isolates obtained from blood samples and catheter were compared to the one obtained from a leg skin biopsy and showed identical PFGE profile and multi locus sequence typing.

Discussion: Direct evidence for haematogenous dissemination of *M. abscessus* in the first steps of disseminated cutaneous infection was rarely reported and this case sheds light on conditions that allowed *M. abscessus* pathogenesis: prolonged (> 3 days) bacteraemia, presence of a reservoir (colonised catheter), delay for the apparition of cutaneous lesions (> one month). However, several questions remain unanswered: (i) particular tropism for lower limbs and absence of lesion at the site of reservoir (catheter), (ii) origin of catheter inoculation with *M. abscessus* (endogenous origin or nosocomial contamination).

Tuberculose ORL extraganglionnaire.

A. Berriche, L. Ammari, R. Abdelmalek, A. Ghoubantini, S. Aissa, F. Kanoun, B. Kilani, H. Tiouiri Benaissa

Service des maladies infectieuses, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

Introduction : La tuberculose est une maladie endémique en Tunisie. La localisation ganglionnaire est la plus fréquente des formes extra-pulmonaires et elle est le plus souvent cervicale. Cependant, le reste de la sphère ORL est plus rarement atteint.

Objectif : Ressortir les caractéristiques épidémiologiques, cliniques, diagnostiques, thérapeutiques et évolutives de la tuberculose ORL extraganglionnaire.

Patients et méthodes : Étude rétrospective menée au service des maladies infectieuses de la rabta, Tunis, sur une période de 10 (Janvier 2002 - Décembre 2011). Nous avons inclus tous les patients présentant une tuberculose ORL extraganglionnaire confirmée histologiquement.

Résultats : Nous avons colligé 21 cas; 3 hommes et 18 femmes, âgés en moyenne de 37 ans (14-62 ans). Un contage tuberculeux a été retrouvé dans 3 cas. Les principaux signes fonctionnels sont: l'anorexie (52,4%), l'amaigrissement (47,6%), la fièvre (38%) et l'odynophagie (24%). Tous les patients ont bénéficié d'un examen ORL; 12 patients avaient des adénopathies cervicales, 4 avaient une masse bourgeoennante à l'examen du cavum et 3 avaient un goitre. L'IDR à la tuberculine, pratiquée dans 14 cas, était positive dans 93% des cas. La tuberculose a été confirmée par l'histologie dans tous les cas. Il s'agissait d'une atteinte du cavum dans 14 cas, thyroïdienne dans 4 cas, parotidienne, amygdalienne et nasale dans 1 cas chacune. Une atteinte ganglionnaire cervicale était associée dans 85,7% des cas. D'autres atteintes extra-ORL ont été notées: osseuse (n=3), cutanée (n=3), pulmonaire (n=2) et pleurale (n=1). Tous les patients ont reçu une antibiothérapie antituberculeuse pour une durée moyenne de 15 mois. L'évolution était favorable dans 90,5% des cas. Deux patients ont été perdus de vue.

Conclusion : La tuberculose ORL extra-ganglionnaire est une localisation rare. Elle doit être recherchée systématiquement par un examen ORL complet et minutieux, essentiellement dans le cadre de l'enquête étiologique d'adénopathies cervicales mais aussi devant le moindre signe d'appel ORL d'évolution traînante.

Tuberculose surrénalienne : à propos d'un cas.

M. Maalej

Maladies infectieuses, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Introduction : La tuberculose surrénalienne est rare; elle représente 6% des tuberculoses actives et entre 1 à 2% des étiologies des masses surrénaliennes dites incidentalomes. Le diagnostic de cette atteinte extra pulmonaire est difficile, particulièrement quand elle se manifeste par une tumeur surrénalienne unilatérale.

Observation : Il s'agit de patient G.H, âgé de 68 ans, diabétique depuis 20 ans insulino nécessitant au stade de complications dégénératives, qui consulte pour douleur lombaire gauche dans un contexte fébrile. Une échographie et un uro scanner ont objectivé une hydronéphrose gauche en amont d'un calcul de l'uretère iliaque gauche avec des adénopathies rétro péritonéal nécrosées associées à une masse surrénalienne droite. Il a eu une urétéro lithotomie, avec suites opératoires simple. Le dosage hormonal était normal. Un IRM centré sur les surrénales a montré une de masse de 4 cm hyper vascularisé avec nécrose centrale avec hypersignal T1 qui évoquerait un phéochromocytome. Une surrénalectomie droite à été proposée, les suites opératoires étaient simples. L'examen anatopathologie était en faveur d'une tuberculose surrénalienne. L'IDR était positive à 17mm, la recherche des bacilles de Koch dans les urines et crachats étaient négatives, l'UIV a montré un rein gauche muet avec absence de l'opacification de l'uretère gauche qui évoquerait une tuberculose urogénitale gauche. Notre patient était mis sous traitement anti tuberculeux pendant 9 mois avec apparition d'une insuffisance surrénalienne à 1 mois de traitement et une évolution ultérieure favorable.

Conclusion : Même en zones d'endémie la tuberculose surrénalienne reste très rare, mais il faut l'évoquer devant toute image d'incidentalome. Le diagnostic étiologique n'est fait qu'après examen anatomopathologique des biopsies scannoguidée ou de la pièce opératoire en cas de chirurgie.

Tuberculose monorésistante à la rifampicine : incidence et évaluation de la prise en charge en France.V. Meyssonier¹, T.V. Bui¹, N. Veziris^{1,2}, C. Bernard^{1,2}, V. Jarlier^{1,2}, J. Robert^{1,2}
¹Bactériologie-Hygiène, EA 1541 / ER 5, Université Pierre et Marie Curie, Site Pitié-Salpêtrière, Paris, France ²Centre National de Référence de Mycobactéries et de la Résistance des Mycobactéries aux Antituberculeux, Bactériologie-Hygiène, CHU Pitié-Salpêtrière, AP-HP, Paris, France

Objet de l'étude : Évaluer l'incidence, les caractéristiques, et la prise en charge thérapeutique des cas de tuberculose (TB) mono-résistante à la rifampicine (mono-RMP-R) diagnostiqués en France entre 2005 et 2010.

Méthode : Analyse rétrospective des caractéristiques et du devenir de tous les

cas de TB mono-RMP-R enregistrés par le réseau national de laboratoires du CNR-MyRMA entre 2005 et 2010.

Résultats : Au total, 39 cas de TB mono-RMP-R, soit 0.12% des cas de TB à culture positive, provenant de 27 laboratoires et de 11 régions françaises, ont été enregistrés entre 2005 et 2010. La moitié était de sexe masculin, la moyenne d'âge était de 43 ans, 18 (46%) étaient nés à l'étranger, et 20 (51%) n'avaient jamais reçus de traitement antituberculeux. Quatorze (36%) patients vivaient en collectivité ou avaient une situation sociale précaire, 9 (23%) étaient co-infectés par le VIH et 9 (23%) déclaraient un alcoolisme chronique. Ces deux dernières particularités étaient plus fréquentes chez les patients avec une résistance secondaire que chez ceux jamais traités (37% vs 10%, $p=0.04$ et 37% vs 10%, $p=0.01$, respectivement). Parmi les 39 cas, 24 (62%) avaient une TB pulmonaire, 20% une TB extra-pulmonaire, 18% une atteinte mixte, et 24 (62%) un examen microscopique positif.

Six patients ont été perdus de vue (PDV) et 3 sont morts avant réception de l'antibiogramme. Sur les 30 patients suivis, 3 ont été traités par rifampicine pendant 9 mois (2 guérisons), 21 (67%) ont reçu une fluoroquinolone, et 12 (38%) un aminoside, dont 8 en association avec une fluoroquinolone. Au total, 4 patients ont été traités moins de 6 mois (1 PDV, 2 décès et 1 rechute) et 26 (87%) ≥ 6 mois, dont 13 (44%) de 9 à 12 mois et 11 (37%) plus de 12 mois. Parmi ces 26 traités ≥ 6 mois, l'évolution a été favorable (délai médian de suivi de 18 mois) pour 20 patients (soit 67% des traités mais 51% du total) et défavorable pour les 6 autres (2 PDV, 1 décès et 3 rechutes dont 1 MDR).

Conclusion : L'incidence de la TB mono-RMP-R est très faible en France. Sa prise en charge est hétérogène et son devenir peu satisfaisant. Une réflexion identique à celle qui a eu lieu pour les cas multirésistants doit avoir lieu pour améliorer le devenir de ces patients.

561/93A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Particularités de l'uvéïte tuberculeuse : à propos de 4 cas.

Y. Aydi, F. Frikha, M. Soussi, N. Saidi, Z. Bahloul
Médecine interne, CHU Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Introduction : L'uvéïte tuberculeuse est la plus fréquente des localisations intraoculaires de la tuberculose. Elle est surtout rencontrée dans les pays en voie de développement, exceptionnellement inaugurale de la maladie. L'objectif de ce travail est d'étudier les particularités cliniques, évolutives de l'uvéïte tuberculeuse et d'en déduire la conduite thérapeutique.

Patients et méthodes : Ce travail est rétrospectif, mené dans un service de médecine interne de 2007 à 2011.

Résultats : Il s'agit de 4 patients, âgés respectivement de 50, 51, 53 et 54 ans, ayant consulté pour une baisse de l'acuité visuelle d'aggravation progressive. Le délai moyen de consultation était de 2 mois. Des antécédents de tuberculose ont été notés dans 2 cas. L'acuité visuelle était de 4/10 en moyenne. L'atteinte était bilatérale dans 2 cas. Les lésions touchaient tous les segments de l'uvéïte (panuvéïte) dans 2 cas. Ailleurs, il s'agissait d'une uvéïte postérieure dans 1 cas et d'une uvéïte antérieure étendue au segment intermédiaire dans l'autre cas. L'angiographie a objectivé une uvéïte granulomateuse avec un dépôt de précipités en grappe de mouton dans 3 cas. Le test tuberculique était fortement positif dans 3 cas. L'origine tuberculeuse a été retenue devant les antécédents de tuberculose, la positivité de l'intradermoréaction, les constatations angiographiques, et ce, après exclusion des autres diagnostics différentiels. Tous les patients ont reçu un traitement antituberculeux pour une durée moyenne de 7 mois, associé à une corticothérapie. L'évolution était favorable dans 3 cas avec récupération partielle de l'acuité visuelle et régression des signes inflammatoires ophthalmiques. Une bilatéralisation de l'uvéïte était notée dans 1 cas.

Conclusion : L'uvéïte tuberculeuse est une pathologie rare, de diagnostic souvent difficile. Cependant le dosage de l'interféron gamma pourrait révolutionner l'approche diagnostique dans ces pathologies.

562/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Description d'une nouvelle BLSE TEM-187 de détection difficile chez une souche clinique de *Proteus mirabilis*.

S. Corvec^{3,4}, R. Beyrouthy^{1,2}, L. Crémet^{3,4}, G.G. Aubin^{3,4}, F. Robin^{1,2}, R. Bonnet^{1,2}, A. Reynaud^{3,4}

¹Centre de Biologie, Laboratoire de Bactériologie Clinique, CHU de Clermont-Ferrand ²Évolution des bactéries pathogènes et susceptibilité génétique de l'hôte, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand ³Service de Bactériologie-Hygiène Hospitalière, CHU de Nantes ⁴EA3826 Thérapeutiques cliniques et expérimentales des infections, Université de Nantes, Nantes, France

Objet de l'étude : Lors d'une épidémie à *Proteus mirabilis* TEM-24 dans un service de réadaptation, une autre souche de *P. mirabilis* 7001324 de pulsoype différente a été isolée. Cet isolat présentait un phénotype de pénicillinase de bas niveau sans co-résistance. L'étude du gène *bla*_{TEM} a révélé des mutations conférant un profil de BLSE, retrouvé phénotypiquement en éloignant les disques d'inhibiteurs et de C3G.

Méthodes : Après détermination en milieu liquide automatisée, les CMI de la souche ont été confirmées par Etest. β -lactamase de la souche a été caractérisée par PCR et séquençage. Le support génétique de ce gène de résistance *bla*_{TEM-187} a été caractérisé par conjugaison bactérienne avec un *Escherichia coli* J53-2 résistant à la rifampicine. Le plasmide extrait par technique de Kieser a été transféré par électroporation chez *E. coli* TOP10. L'enzyme TEM-187 a été purifiée et ses constantes catalytiques mesurées par

une technique de microacidimétrie.

Résultats : *P. mirabilis* 7001324 était résistant aux amino et carboxypénicillines uniquement par techniques automatisées Vitek2[®] (bioMérieux) ou Phoenix[®] (Becton-Dickinson) avec une CMI à la ceftazidime de 0,5 mg/L et au céfotaxime de 0,06 mg/L. Les PCR ont permis de mettre en évidence un gène *bla*_{TEM}. Le séquençage a montré qu'il s'agissait d'un nouveau variant avec 4 substitutions Leu21Phe, Arg164His, Ala184Val, Thr265Met par rapport à TEM-1. TEM-187 possède une activité catalytique vis-à-vis des pénicillines proches de TEM-1. Par contre, cette enzyme présente une activité hydrolytique plus prononcée vis-à-vis du céfotaxime. TEM-187 est porté sur un plasmide de 75 kb non conjuguatif. Son électroporation chez un *E. coli* TOP-10 a permis de confirmer le phénotype de BLSE. Le promoteur du gène *bla*_{TEM} est de type Pa/Pb.

Conclusions : TEM-187 est une nouvelle BLSE peu exprimée chez *P. mirabilis* et non détectée par les systèmes automatisés en raison des caractéristiques catalytiques de l'enzyme et des faibles CMI des C3G. La découverte de ce nouveau variant souligne la nécessité pour les microbiologistes, d'être vigilants notamment chez cette espèce, y compris en l'absence de co-résistances.

563/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Prévalence des mécanismes de résistance plasmidique aux quinolones chez les souches BLSE isolées au CHU de Clermont-Ferrand.

R.N. Tan^{1,2}, B. Mottet-Ausel¹, L. Gibold^{1,3}, R. Bonnet^{1,2,3}, F. Robin^{1,2,3}

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Clermont-Ferrand ²Laboratoire associé BLSE/Céphalosporinase, CNR Résistance aux Antibiotiques ³INSERM U1071 INRA USC2018, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Objet de l'étude : Chez les entérobactéries, il existe 3 mécanismes de résistance plasmidique aux fluoroquinolones (FQ). Par ordre de fréquence, le premier fait intervenir une enzyme mutée AAC(6)-Ib-cr qui modifie à la fois les aminosides (AS) et les FQ. Le deuxième est une protection de la cible par des 5 familles de protéines de QnrA à QnrS. Le dernier est un efflux actif par des pompes telles que QepA (spécifique des FQ) ou OqxAB (non spécifique). Le but de ce travail est d'étudier la prévalence de ces 3 mécanismes chez les entérobactéries produisant une β -lactamase à spectre étendu (EBLSE) au sein du CHU de Clermont-Ferrand.

Méthodes : 68 souches présentant une BLSE et une résistance aux FQ ont été sélectionnées depuis des prélèvements à visée diagnostique sur la période de janvier à mars 2012 au CHU de Clermont-Ferrand. La recherche des gènes *aac(6)-Ib*, *qnrA*, *qnrB*, *qnrS*, *qepA* et *oqxAB* est réalisée par PCR. Les gènes *aac(6)-Ib* ont été séquencés pour rechercher la mutation touchant les FQ.

Résultats obtenus : Sur 104 souches isolées produisant une BLSE, 68 présentent une résistance aux quinolones.

Au niveau des mécanismes retrouvés :

- 38 des 68 souches montrent aussi une résistance associée aux AS. Par PCR et séquençage, 16/38 (42%) possèdent un gène *aac(6)-Ib-cr*. L'identification des BLSE associées montre que 14/16 (88%) des souches possèdent également une CTX-M-15 et 2 une SHV-12.
- 6/68 (9%) présente une résistance de type *qnrB* par PCR dont 4/6 (67%) sont associés à une SHV-12 et 2/6 à une CTX-M-15 (33%).
- Aucune souche testée ne présente un gène *qepA* ou *oqxAB* (hormis chez *Klebsiella sp.* où le gène *oqxAB* est présent naturellement).

Conclusion : L'association de la CTX-M-15 et de l'AAC(6)-Ib-cr est très fréquente et a été retrouvée dans 12/18 (67%) des souches. Les autres associations CTX-M-15/AAC(6)-Ib-cr/QnrB, SHV-12/AAC(6)-Ib-cr/QnrB et SHV-12/QnrB ont été retrouvées à la fréquence de 11%.

26% (18/68) des souches présentant une résistance aux FQ possède un mécanisme plasmidique et transférable. Cela correspond à 17% (18/104) des EBLSE isolées au CHU de Clermont-Ferrand.

Cette étude montre une forte dissémination de la résistance plasmidique aux FQ au sein de notre CHU.

564/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Comparaison des recommandations CA-SFM et EUCAST pour l'interprétation de l'antibiogramme de souches productrices de BLSE.

R.N. Tan^{1,2}, B. Mottet-Ausel¹, L. Gibold^{1,3}, R. Bonnet^{1,2,3}, F. Robin^{1,2,3}

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU Clermont-Ferrand ²Laboratoire associé BLSE/Céphalosporinase, CNR Résistance aux Antibiotiques ³INSERM U1071 INRA USC2018, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Les recommandations du CA-SFM et de l'EUCAST diffèrent pour les antibiogrammes par diffusion au niveau de la méthodologie (ensemencement, charge des disques) et des diamètres critiques. L'objectif de cette étude était de comparer les résultats obtenus par ces 2 référentiels, en particulier pour la ceftazidime (CAZ), sur des souches d'entérobactéries productrices de BLSE détectées sensibles ou intermédiaires par l'automate Vitek2.

70 souches BLSE sensibles ou intermédiaires à la CAZ isolées au CHU de Clermont-Ferrand entre janvier et mars 2012 ont été étudiées. Les antibiogrammes par diffusion en milieu gélosé ont été réalisés et interprétés selon les recommandations du CA-SFM et l'EUCAST. La CMI de la CAZ a été

déterminée par microdilution en milieu liquide et interprétée suivant les recommandations EUCAST. Le taux de concordance est le nombre de souches identifiées de manière identique (sensibles, intermédiaires ou résistantes) par les 2 techniques comparées rapporté au nombre total de souches testées.

Le taux de concordance entre le CA-SFM et l'EUCAST était supérieur à 90% pour les pénicillines seules, les carbapénèmes, les aminosides (T, G, A), les fluoroquinolones (OFX, CIP), le cotrimoxazole et le chloramphénicol. En revanche, pour les pénicillines en association avec les inhibiteurs ce taux variait entre 50 et 77%. Pour les C3G, la concordance était excellente pour le céfotaxime (99%, la majorité des souches produisant des CTX-M), mais médiocre pour la CAZ et le céfépime (69% et 43%). Pour la CAZ, les taux de concordance entre les résultats CA-SFM, EUCAST ou Vitek2 et les CMI étaient comparables (57%, 52% et 48%). Enfin, le taux de souches faussement rendues sensibles était élevé pour les différentes techniques variant de 23 à 36%.

Les résultats CA-SFM et EUCAST semblent être concordants entre eux sur la majorité des antibiotiques sauf pour certaines -lactamines. En ce qui concerne la CAZ, les 2 méthodes de diffusion ont des performances comparables par rapport aux CMI sur notre échantillon de souches BLSE. Cependant, le taux important de souches faussement détectées sensibles confirme la nécessité de déterminer la CMI, notamment dans le cas d'infections profondes.

565/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Molecular epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in Tunisia and characterization of their virulence factors.

B. Mni^{1,2}, H. Harhour², J. Jdidi³, F. Mahjoubi², N. Genel¹, G. Arlet¹, A. Hammami²

¹Laboratoire de Bactériologie, Université Pierre et Marie Curie-Paris-6, Faculté de Médecine, Site Saint-Antoine, Paris, France ²CHU Habib Bourguiba ³Service de médecine préventive, Hôpital Hédi Chaker, Sfax, Tunisie

Objective: To characterize a collection of 163 ESBL-producing *Escherichia coli* collected in Tunisia, their ESBL-encoding plasmids and their virulence factors.

Methods: The collection comprised 163 ESBL producers collected from two university hospitals of Sfax between 1989 and 2009. The isolates were typed by PFGE and MLST. The ESBLs, 17 virulence genes and phylogenetic groups were identified by PCR or sequencing. The ESBL-encoding plasmids were transferred by conjugation or electroporation and their incompatibility groups were characterized by PCR replicon-typing method.

Results: 118 isolates produced *bla*_{CTX-M} gene (101 *bla*_{CTX-M-15} gene and 17 *bla*_{CTX-M-14} gene). 49 isolates carried *bla*_{SHV-12} gene, 9 *bla*_{SHV-2a} gene and only 3 *bla*_{TEM-26} gene. 16 isolates produced both CTX-M and SHV-12. The 163 ESBL-producing *E. coli* isolates divided among all four major phylogenetic groups: B2 (n=61), A (n=54), D (n=24) and B1 (n=24). 52 of the 61 group B2 isolates were CTX-M-15 producers (p<0.005). 39% of the group B2 isolates (24/61) belonged to clonal complex ST131. Group B2 and D isolates had averages of 8.6 and 5.2 virulence factor genes each, respectively, compared with 3 and 3.9, respectively, for groups A and B1 isolates. The group B2 isolates were significantly more positive for the adhesins *iha*, *sfa/foc* and *papG II* and the toxins *sat*, *hlyA* and *cnf1* (p<0.001). Surprisingly, B2 isolates especially those carrying CTX-M had a high frequency of *hlyA* (42.6%) and *cnf1* (24.5%). PFGE typing revealed a high genetic diversity of the isolates with 93 different pulsotypes among the 148 PFGE patterns obtained. 68 isolates corresponded to non-genetic-related isolates, whereas 90 isolates were assigned to 25 minor clonal groups. 144 ESBL determinants were transferable mostly by conjugation. The majority of plasmid carrying *bla*_{CTX-M-15} genes (72/88) were assigned to IncF replicons, 49 on a single FII rep type and, 24 on multiple IncF replicons, occurring in 4 different combinations of IncFII, IncFIA, and/or IncFIB replicons, but FII-FIA-FIB (n=15) being most frequent.

Conclusion: Our study demonstrates that the dissemination of CTX-M-15 producing *E. coli* in our setting was due to the spread of various IncF-type plasmids into related clones with high frequency of virulence determinants.

566/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Antibiotiques impliqués dans l'occurrence des bactéries résistantes aux antibiotiques : une étude nationale multiniveau suggère des différences au sein des classes d'antibiotiques.

H. Gbaguidi-Haore^{1,2}, C. Dumartin^{3,4}, F. L'héritier⁵, M. Péfau³, D. Hocquet^{1,2}, A.M. Rogues^{3,4}, X. Bertrand^{1,2}

¹Service d'Hygiène Hospitalière, CHU de Besançon ²UMR CNRS 6249 Chrono-environnement, Université de Franche-Comté, Besançon ³CCLIN Sud-Ouest, CHU de Bordeaux ⁴INSERM U657 / Université de Bordeaux, Bordeaux ⁵CCLIN Paris-Nord, Paris, France

Objectif : Identifier les antibiotiques (ATB) potentiellement les plus impliqués dans l'occurrence des bactéries résistantes aux ATB (BR) dans les établissements de santé (ES) en France, à partir d'une perspective écologique.

Méthodes : Cette étude reposait sur les données du réseau national de surveillance des consommations d'ATB dans les ES (ATB-RAISIN, 2007 à 2009). Ces consommations étaient exprimées en doses définies

journalières/1000 jours d'hospitalisation. Les cas de BR surveillées (sept couples bactérie-ATB) ont été pris en compte en termes de taux d'incidence (cas / 1000 jours d'hospitalisation): *Escherichia coli* résistant aux céphalosporines de 3^{ème} génération (*E. coli* C3G-R) et à la ciprofloxacine (*E. coli* CIP-R), *Enterobacter cloacae* résistant à la céfotaxime (*E. cloacae* CTX-R), *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM), *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime (*Pa* CAZ-R), à l'imipénème (*Pa* IMP-R) et à la ciprofloxacine (*Pa* CIP-R). Les relations consommations d'ATB/taux d'incidence des BR ont été évaluées par des modèles multiniveaux de régression binomiale négative permettant de tenir compte de la structure hiérarchique des données : niveau 1 (mesures répétées chaque année : taux d'incidence, temps et ATB), niveau 2 (ES : type et taille) et niveau 3 (régions : inter-région).

Résultats : Un total de 701 ES issus de 20 régions et jusqu'à 1339 ES-années ont été analysés. La consommation de ceftriaxone, mais pas celle de céfotaxime, était positivement corrélée aux taux d'incidence de *E. coli* C3G-R et de *E. coli* CIP-R. En revanche, les consommations de ces deux C3G étaient positivement corrélées aux taux d'incidence de *E. cloacae* CTX-R. Des consommations élevées de ciprofloxacine et/ou d'ofloxacine, mais pas de lévofloxacine, étaient associées à des taux d'incidence élevés de *E. coli* C3G-R, de *E. coli* CIP-R, de *E. cloacae* CTX-R, de SARM, de *Pa* CAZ-R et de *Pa* CIP-R.

Conclusion : Notre étude suggère des différences entre les ATB d'une même classe dans leur capacité à favoriser l'occurrence des BR. De plus, la ceftriaxone, l'ofloxacine et la ciprofloxacine pourraient être ciblées en priorité dans les stratégies de santé publique visant à réduire l'usage des ATB et les BR dans les ES en France.

567/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Fréquence et épidémiologie des entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (EBLSE) sensibles aux céphalosporines de 3^e génération (C3G) et/ou à l'aztréonam (ATM).

F. Bert, S. Bialek-Davenet, V. Leflon-Guibout, L. Noussair,

M.H. Nicolas-Chanoine

Hôpital Beaujon, Clichy, France

Objet de l'étude : Depuis 2011, le CASFM recommande de ne plus catégoriser systématiquement intermédiaires (I) aux C3G et à l'ATM les souches d'EBLSE. Le but de ce travail a été d'évaluer la fréquence et les caractéristiques épidémiologiques des EBLSE sensibles (S) aux C3G et/ou à l'ATM depuis la mise en place de cette recommandation dans le service de Microbiologie de l'hôpital Beaujon.

Méthodes : Du 1^{er} novembre 2011 au 15 août 2012, la CMI du céfotaxime (CTX), de la ceftazidime (CAZ), du céfépime (FEP) et de l'ATM ont été mesurées par E-test pour toute souche d'EBLSE présentant une sensibilité à ces antibiotiques par la méthode de diffusion en milieu gélosé. Les caractéristiques épidémiologiques des souches S à au moins l'un de ces antibiotiques et des souches I ou résistantes (R) à ces 4 antibiotiques ont été comparées.

Résultats : Durant la période d'étude, 400 souches d'EBLSE (après dédoublement) ont été isolées. Le nombre de souches catégorisées S selon le diamètre et la CMI était respectivement de 10 et 9 pour CTX, 54 et 51 pour CAZ, 96 et 74 pour FEP, et 57 et 27 pour ATM. Au total, 109 (27,3%) des 400 souches présentaient une sensibilité (confirmée par la CMI) à au moins l'un des 4 antibiotiques. Les phénotypes les plus fréquents étaient CTX^R CAZ^R FEP^S ATM^R (n=45), CTX^R CAZ^S FEP^R ATM^R (n=30) et CTX^R CAZ^S FEP^S ATM^S (n=14). Par rapport aux 291 souches I ou R, les 109 souches S étaient plus souvent importées (53% vs 36%, p=0,06), moins fréquentes dans les prélèvements cliniques (46% vs 62%, p=0,004), en particulier dans les ECU (23% vs 43%, p=0,006), appartenant plus souvent à l'espèce *Escherichia coli* (61% vs 51%, p=0,06) et elles étaient plus souvent S à l'amoxicilline-acide clavulanique (42% vs 14%, p<0,001), la pipéracilline-tazobactam (88% vs 64%, p<0,001), la gentamicine (61% vs 37%, p<0,001), la tétracycline (54% vs 26%, p<0,001) et la ciprofloxacine (42% vs 17%, p<0,001).

Conclusion : Un nombre important (27% dans notre expérience) de souches d'EBLSE sont S à au moins une C3G et/ou à l'ATM. En raison de fréquentes discordances entre la catégorisation par le diamètre et la CMI pour l'ATM et le FEP, la détermination de la CMI est requise en cas d'utilisation thérapeutique de ces molécules.

568/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Bactériémie à entérobactérie et BLSE : associations et évolution récente.

C. Neulier³, L. Armand-Lefèvre¹, G. Birgand³, I. Lolom³, Y. Yazdanpanah²,

J.C. Lucet³, A. Andreumont¹

¹Bactériologie ²Infectiologie ³UHLIN, GH Bichat - Cl. Bernard, AP-HP, Paris, France

Introduction : L'augmentation de la prévalence des entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (EBLSE) dans la population générale et hospitalière représente un enjeu pour l'antibiothérapie des infections graves, notamment pour définir la place des carbapénèmes en première intention.

Objectif : Analyser les associations entre bactériémie à entérobactérie (BactEb) et portage de BLSE en 10 ans dans un CHU de 950 lits.

Matériel et Méthode : Analyse rétrospective d'un recueil prospectif entre

07/01 et 06/11 avec fusion de deux bases: 1/ BactEb et 2/ base informatisée des patients (Pts) porteurs de BLSE. Un seul épisode de BactEb par Pt et par hospitalisation a été conservé. Les facteurs associés à une Bact à EBLSE ont été recherchés en analyse univariée.

Résultats : 2355 BactEb ont été identifiées, dont 135 (5,7%) à EBLSE (2001-05: 1,4%, 2006-09: 7,6%, 2010-11: 14,2%). Une Bact à EBLSE a été identifiée chez 52 des 88 Pts (59%) connus porteurs d'EBLSE et 83/2267 (3,7%) des Pts non connus porteurs. Les facteurs associés à une Bact à EBLSE chez les 2267 Pts non connus porteurs étaient le sexe masculin (4,8%, OR=2,06, IC95% [1,30-3,34]), l'hospitalisation en réanimation (5,6%, 2,83 [1,46-5,57]) ou service de médecine/chirurgie (4,1%, 2,05 [1,18-3,75]), la période (2006-09, 4,35 [2,36-8,66] ; 2010-11, 8,50 [4,32-17,68] par rapport à 2001-05) et les antécédents de BactEb (9%, 2,77 [1,20-5,61]). Les facteurs associés à une Bact à EBLSE en 2010-11 étaient le statut porteur (65,5%, 19,22 [8,27-47,33] vs 9,0% chez les non porteurs), l'hospitalisation en réanimation (19,3%, 3,21 [1,19-9,24]) ou en médecine/chirurgie (17,4%, 2,83 [1,24-7,31]) par rapport au SAU (6,9%), le sexe masculin (17,4%, 2,59 [1,32-5,43]) et le caractère nosocomial (19,8%, 2,69 [1,38-5,52]).

Conclusion : En cas de BactEb, les Pts connus porteurs d'EBLSE développent une Bact à EBLSE dans plus de la moitié des cas, imposant l'utilisation probabiliste de carbapénème. La très grande majorité des BactEb (96,3%) survient chez des Pts non connus porteurs, avec une prévalence globale de BLSE de 3,7%. En 2010-11, la prévalence élevée chez les non connus porteurs rend nécessaire d'identifier les facteurs de risque afin d'adapter l'antibiothérapie probabiliste.

569/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Surveillance régionale de la résistance bactérienne d'*E. coli* et de la consommation d'antibiotiques en milieu communautaire.

S. Thibaut-Jovelin¹, A. Marquet¹, M. Coppry¹, A. Laude¹, J. Pivette², P. Donny², E. Michaud², G. Grandjean¹, J. Caillon^{1,3}, F. Ballereau^{1,3}, MedQual, Réseau de laboratoires de biologie médicale¹

¹Centre MedQual ²Direction Régionale du Service Médical de l'Assurance Maladie (DRSM), Région Pays de la Loire ³EA 3826, Université de Nantes, Nantes, France

Objectif : MedQual, depuis 2004, suit l'évolution de la résistance aux antibiotiques (ATB) des souches d' *E. coli* isolées en milieu communautaire de la région Pays de la Loire (PDL). Par ailleurs, la DRSM nous fournit les données de consommation des ATB en ville à partir du SNIIR-AM (système d'information interrégimes de l'assurance maladie).

Méthode : Les données de consommation d'ATB en ville sont exprimées en nombre de boîtes vendues par spécialité (code CIP) et sont converties par nos soins en DDJ pour 1000 ha/jour. En parallèle, MedQual effectue un recueil mensuel des antibiogrammes des souches d' *E. coli* isolées en ville.

Résultats : L'évolution comparée de la consommation des ATB les plus couramment utilisés et de la résistance bactérienne en ville au sein de la région PDL sont présentés dans ce tableau.

| ATB | 2009 | | | | 2010 | | | |
|------------------------|-------------------|-------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|-------------------------------------|------------------------------------|
| | Moyenne régionale | Min. Max. | Moyenne régionale | Min. Max. | Moyenne régionale | Min. Max. | Moyenne régionale | Min. Max. |
| Tous ATB confondus | 23,6 | 22,7 Maine et Loire 25,6 Moyenne | 22,7 Maine et Loire 25,6 Moyenne | 22,6 | 21,6 Maine et Loire 24,0 Moyenne | 22,6 | 21,6 Maine et Loire 24,0 Moyenne | 22,6 |
| Quinolones | 1,6 | 1,4 Moyenne 1,7 Vendée | 9,6 (ciprofloxacine) | 6,5 Moyenne 10,9 Maine et Loire | 1,5 | 1,4 Moyenne 1,7 Sarthe | 9,4 (ciprofloxacine) | 6,0 Moyenne 10,9 Maine et Loire |
| Amoxic-ac clavulanique | 5,1 | 4,4 Maine et Loire 5,5 Vendée | 28,6 | 22,9 Maine et Loire 33,3 Sarthe | 5,2 | 4,4 Maine et Loire 5,5 Vendée | 27,7 | 20,9 Vendée 33,0 Sarthe |
| Ceftriaxone | 0,4 | 0,4 Vendée 0,6 Sarthe | 4,0 | 2,6 Vendée 6,8 Moyenne | 0,4 | 0,4 Loire Atlantique 0,6 Sarthe | 3,9 | 2,6 Vendée 4,2 Loire Atlantique |

On observe sur ces deux années une tendance à la diminution des consommations d'ATB et de la résistance bactérienne. Des variations inter-départementales sont observées, le taux de résistance bactérienne suivant en règle générale la même tendance que celle de la consommation d'ATB. Une analyse en continu doit être poursuivie afin de tenter d'identifier les déterminants qui entrent en compte mais aussi pour évaluer dans quelle mesure une diminution de consommation d'antibiotiques impacte la diminution de la résistance bactérienne dans le temps.

Conclusion : Cette connaissance détaillée de la consommation d'ATB en ville s'inscrit dans les objectifs du plan antibiotique 2011-2016 qui fixe une réduction de 25% pour 2016. La région PDL est l'une des deux régions françaises les moins consommatrices d'ATB. Notre collaboration avec la DRSM nous permet d'offrir annuellement aux prescripteurs des données actualisées de consommations d'ATB en ville et d'évolution de l'écologie bactérienne dans leur lieu d'exercice, leur permettant d'ajuster leurs prescriptions d'ATB à l'écologie bactérienne locale.

570/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Analyse des bactériémies à *E. coli* sur une période de 3 ans dans un centre hospitalier général (CHG).

S. Nguyen^{1,2}, O. Oddoux¹, S. Dekeyser¹, E. Beclin¹, F. Dufosse¹, D. Descamps¹

¹CH Germon et Gauthier, Bèthune ²CH Tourcoing, Tourcoing, France

Objectif : Analyser les bactériémies à *E. coli* sur une période de 3 ans, en particulier déterminer les différences liées au caractère BLSE ou non des souches.

Méthode : Analyse réalisée à partir d'une base de données anonymisée (logiciel Epidata), recueillant de manière prospective des données cliniques,

microbiologiques et d'antibiothérapie (ATB) pour les bactériémies significatives survenues entre le 01/01/09 et le 31/12/2011 dans un CHG.

Résultats : Parmi les 1182 épisodes bactériémies survenus pendant l'étude, on notait 414 épisodes à *E. coli* dont 35 *E. coli* BLSE (8,4%). Les patients avaient un âge moyen de 71±16 ans, 53% étaient immunodéprimés, le taux de décès à J7 était de 8% (33/414) et non statistiquement différent selon l'efficacité ou non de l'antibiothérapie (ATB) (23/287 vs 8/69; p=0,34). Les portes d'entrée principales étaient urinaires (n=250), digestives (n=90), et pulmonaires (n=44).

L'âge, le taux d'immunodépression, le taux de décès à J7 (2/35 vs 31/379, p=0,68), et les portes d'entrées étaient similaires pour les souches BLSE et non BLSE. Pour les infections d'origine urinaires, les souches BLSE étaient plus fréquemment associées à un sondage vésical (SV) dans les 7j que les souches non BLSE : 10/22 (45%) vs 40/228 (18%), p=0,002.

Le taux de BLSE était plus bas pour les infections communautaires (13/309 [4%]) que pour les infections associées aux soins (IAS) (22/104 [21%]). L'augmentation du taux de BLSE au sein de l'espèce était plus marquée pour les IAS que pour les infections communautaires : ainsi parmi les IAS, le taux de BLSE au sein des *E. coli* est passé de 16% (7/44) en 2009, puis 25% en 2010 (soit 9/36) et 2011 (soit 6/24); parmi les infections communautaires, le taux de BLSE au sein des *E. coli* est passé de 3% (3/94) en 2009 à 5% (5/104) en 2010, puis 4% (5/111) en 2011.

Conclusion : Les bactériémies à *E. coli* étaient majoritairement d'origine urinaire, avec une mortalité non liée à l'efficacité de l'ATB. Les souches BLSE étaient plus fréquemment associées à un SV, et leur proportion au sein de l'espèce est en augmentation dans les IAS entre 2009 et 2011.

571/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Bactéries multi-résistantes dans les établissements français hébergeant des personnes âgées.

C. Arpin, L. Coulange-Mayonnove, P. Ramirez, C. André, C. Quentin, Les membres du Réseau Epiville-France

CNRS UMR 5234, Université de Bordeaux 2, Bordeaux, France

En 2010, le Réseau Epiville-France a effectué pendant 3 mois une enquête sur les infections bactériennes dans les établissements hébergeant des personnes âgées (EHPA). Les bactéries multi-résistantes (BMR) représentaient 20% des antibiogrammes analysés et concernaient 54% des EHPA. Le but de la présente étude était de caractériser ces souches au plan moléculaire.

Les gènes codant pour les β-lactamases à spectre élargi (BLSE) et les céphalosporinases (Case) plasmidiques, *mecA* et *van* ont été recherchés par PCR et séquencés (*bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}). Le groupe phylogénétique des *Escherichia coli* a été déterminé par PCR, et les souches similaires ont été comparées par RAPD. Le type des cassettes SCCmec a été déterminé par PCR multiplex ; le gène *spa* a été amplifié et, pour des *Staphylococcus aureus* résistants à la méthicilline (SARM) représentatifs, séquencé.

Parmi les Gram négatif, 75 entérobactéries (12%, incluant 61 *E. coli*) étaient productrices de 76 BLSE (45 CTX-M-1-like, 23 CTX-M-9-like, 4 SHV-12, 3 TEM-24, 1 TEM-3). Les *E. coli* CTX-M-1-like (n=39) appartaient généralement au groupe B2 (n=35) dont la plupart présentait un profil RAPD similaire. Les *E. coli* CTX-M-9-like (n=20) et CTX-M-1/CTX-M-9-like (n=1) étaient majoritairement de groupe D (n=15) dont la moitié avec le même profil. De plus, 23 souches étaient hyperproductrices de Case chromosomique et 2 de la Case plasmidique *DHA-1*. Parmi les *Pseudomonas aeruginosa* résistants à la ceftazidime (15%), 1 produisait une BLSE de type VEB, les autres exprimaient leur Case à haut niveau. Aucune souche sécrétrice de carbapénémase n'a été mise en évidence. Parmi les Gram positif, les 49 SARM étudiés (67%) possédaient généralement une cassette SCCmec de type IV (n=44) principalement associée à un gène *spa* de type t008 (n=14) ou t777 (n=11). Les seuls entérocoques de sensibilité diminuée aux glycopeptides (4%) étaient 2 *Enterococcus gallinarum*.

Cette étude confirme que les EHPA sont un réservoir de BMR. Le typage des entérobactéries BLSE+ et des SARM a montré qu'un même EHPA peut héberger des souches différentes. Cependant, des souches identiques sont trouvées dans certains établissements et aussi dans des EHPA éloignés. Des infections croisées coexistent probablement avec une circulation des souches et des résidents.

572/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Épidémiologie moléculaire des souches d'*Enterobacter cloacae* productrices de β-lactamases à spectre élargi dans les hôpitaux de la ville d'Annaba (Algérie).

S. Nedjai², D. Barguigua³, M. Timinouni³, M. Dekhil¹

¹Département de pharmacie, Faculté de médecine d'Annaba ²Microbiologie, Société algérienne de microbiologie, Annaba, Algérie ³Département de recherches, Institut Pasteur du Maroc, Casablanca, Maroc

But du travail : La caractérisation et le typage moléculaire de 63 souches d'*Enterobacter cloacae* productrices de β-lactamases à spectre élargi (EcBLSE) ainsi que l'épidémiologie des patients infectés par ces souches provenant de quatre hôpitaux de la ville d'Annaba en Algérie durant une période de six mois.

Matériel et méthodes : L'antibiogramme a été effectué par la méthode de diffusion sur milieu Muller Hinton, les CMI ont été déterminées par la méthode

des dilutions, la caractérisation des gènes BLSE TEM, SHV, CTX-M, et les céphalosporinase plasmidique (DHA-1) a été effectuée par PCR, la relation épidémiologique entre les souches a été réalisée par électrophorèse en champ pulsé, les données microbiologiques et cliniques ont été analysées par le logiciel Épi-info.

Résultats : La fréquence globale de production de BLSE était de 47,6%. Les bêta-lactamases de type CTX-M-15 sont prédominantes (76,66) suivies de TEM-1 (70%) et de SHV-12 (10%). Dix huit souches exprimaient au moins deux gènes *bla* (60%). La céphalosporinase de type DHA-1 était retrouvée chez cinq souches d'*cloacae*, les CMI ont révélé un haut niveau de résistance au céfotaxime, ceftazidime, et au céfépime, le typage moléculaire a révélé la dissémination clonale épidémique des souches d'EcBLSE, avec plusieurs facteurs de risque d'infection. Les expériences de conjugaison ont montré que *bla*_{CTX-M-15}, *bla*_{TEM-1} et *bla*_{SHV-12} sont portés par des plasmides conjuguatifs de haut poids moléculaire (≥ 125 kb).

Conclusion : Cette étude a révélé un taux élevé d'Ec BLSE dans les hôpitaux de la ville d'Annaba résultant d'une dissémination clonale épidémique des gènes BLSE, la mise en place d'une politique active de maîtrise des bactéries multi résistantes permettra de réduire leur incidence.

573/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Caractérisation moléculaire des souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE (Tlemcen-Algérie).

Z. Baba Ahmed-Kazi Tanj¹, D. Decré^{4,3}, N. Genel⁴, Z. Bouchérit-Otmani¹, M. Drissi¹, G. Arlet^{4,2}

¹Laboratoire « Antibiotiques Antifongiques : physico-chimie, synthèse et activité biologique », Département de Biologie, Université Abou Bekr Belkaid, Tlemcen, Algérie ²Service de Bactériologie, Hôpital Tenon, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris ³Service de Microbiologie, Hôpital Saint-Antoine, Assistance Publique-Hôpitaux de Paris ⁴Université Pierre et Marie Curie, Paris 6, Faculté de Médecine, Département de Bactériologie, Paris, France

Objet de l'étude : Sur une période de deux ans, 50 souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* productrices de β -lactamases à spectre étendu ont été collectées au Centre hospitalo-universitaire de Tlemcen (Nord-ouest Algérie). Les objectifs de notre travail étaient de caractériser les β -lactamases, les gènes de virulence et d'établir s'il s'agissait d'un même clone bactérien.

Méthodes : Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été réalisés par les méthodes de diffusion et de dilution sur gélose Mueller-Hinton selon les recommandations du CA-SFM. La caractérisation des β -lactamases a été réalisée par PCR et séquençage. La recherche des gènes de virulence a également été effectuée par PCR. Le typage des souches a été fait par les méthodes d'amplifications ERIC et rep-PCR puis par la méthode MLST (Multi-locus-typing) en utilisant les 7 gènes de ménage.

Résultats obtenus : Toutes les souches présentaient de haut niveaux de résistance à la ticarcilline (CMI >512 μ g/ml), à la pipéracilline (CMI =512 μ g/ml), au céfotaxime (64 à >512 μ g/ml) et à la ceftazidime (8 à 128 μ g/ml). Les β -lactamases identifiées étaient: CTX-M-15 (n= 50), TEM-1 (n=33) et OXA-1 (n= 33). Le gène OXA-48 n'a pas été trouvé. Le génotypage a permis d'individualiser 12 clones parmi les 50 souches de *k. pneumoniae* étudiées. Deux clones étaient prédominants: CKp1 (n=11) et CKp5 (n=25). Ces clones ont été par la suite identifiés par MLST en tant que ST931 (CKp1) et ST15 (CKp5). Les gènes de virulence identifiés étaient les adhésines (*ycfM*, *mrkD*) et l'entérobactine (*entB*). Seul le clone ST15 exprimé également le gène yersiniabactine (*ybtS*).

Conclusion : Cette étude nous a permis de mettre en évidence l'émergence et la dissémination du clone épidémique ST15 au niveau de notre hôpital. Elle montre que le gène CTX-M-15 était la seule BLSE exprimée par les souches de *k. pneumoniae* étudiées.

574/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Sensibilité d'*Escherichia coli* aux quinolones et aux céphalosporines de troisième génération dans les infections urinaires communautaires : étude AFORCOPI-BIO 2011.

D. de Mouy², F. Janvier³, A. Mérens³, J.P. Arzouni¹, J.P. Bouilloux¹, N. Dinnat-Courtiols¹, A. Dubouix-Bourandy¹, R. Fabre¹, P. Gontier¹, N. Grillet¹, C. Noël¹, G. Payro¹, J. Pfeffer¹, J. Thierry¹

¹Groupe AFORCOPI-BIO ²LABM Claude Bernard, Paris ³Service de bactériologie, HIA Bégin, Saint-Mandé, France

Objectifs : Étude de l'évolution de la résistance d'*Escherichia coli* aux quinolones et céphalosporines de troisième génération (C3G) dans les infections urinaires communautaires (IUC) en 2011 et comparaison aux études précédentes.

Méthodologie : Enquête prospective multicentrique menée au sein de 12 laboratoires de ville de l'AFORCOPI-BIO, réseau fédéré au sein de l'ONERBA. Inclusion par centre de 50 souches d'*E. coli* consécutives non redondantes isolées d'IUC. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques par chaque centre. Envoi des souches intermédiaires ou résistantes à l'acide nalidixique (NAL) et/ou aux C3G à un centre coordinateur pour vérification de l'antibiogramme par diffusion en gélose et détermination des CMI par microdilution.

Résultats : En 2011, 600 souches d'*E. coli* isolées d'IUC ont été incluses. La moyenne d'âge des patients était de 56,6 ans avec un sex ratio H/F de 76/524.

Le taux de sensibilité à l'acide nalidixique était de 83,7% en 2011, à comparer à 79% en 2010, 80% en 2009, 86% en 2008, 82,4% en 2007 et 91% en 2000. Le taux de sensibilité à la ciprofloxacine était de 91% en 2011, à comparer à 84,7% en 2010, 84,8% en 2009, 88,2% en 2008, 90% en 2007, 95,8% en 2000. Parmi les souches résistantes à l'acide nalidixique, seule la fosfomycine conserve un taux de sensibilité excellent (96,9%). Comme lors des études précédentes, la sensibilité à la ciprofloxacine était plus basse chez les femmes de plus de 65 ans (86% en 2011), mais en augmentation par rapport aux années précédentes (79,1% en 2010). Chez la femme de 15-65 ans, la sensibilité à la ciprofloxacine est de 94,4%, à comparer aux chiffres inquiétants de 2010 et 2009 (91% et 90,9% respectivement). Le taux de sensibilité aux C3G était de 96,2% en 2011, à comparer à 96,5% en 2010 et 96,2% en 2009. La fréquence des BLSE au sein des *E. coli* isolées d'IUC était de 3% en 2011, à comparer à 2,34% en 2010, 1,83 % en 2009, 0,98% en 2008 et 0% en 2000.

Conclusion : La résistance de *E. coli* à la ciprofloxacine dans les IU communautaires atteint 9 % en France en 2011 et semble enfin diminuer sur l'ensemble des classes d'âge. A l'inverse, la prévalence des BLSE au sein des *E. coli* isolés d'IUC continue à augmenter progressivement et atteint maintenant 3%.

575/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Identification moléculaire des β -lactamases à spectre étendu des entérobactéries chez des porteurs asymptomatiques en milieu communautaire tunisien.

S. Rachid, C. Harchay, A.B. Othman, H. Battikh Maouia, M. Zribi, A. Masmoudi, C. Fendri

Microbiologie, Hôpital la Rabta, Tunis, Tunisie

Objectif de l'étude : Physiologiquement, la flore digestive résidente peut jouer le rôle d'un lieu de transfert des gènes de résistance aux antibiotiques entre bactéries commensales et pathogènes, responsables d'infections aussi bien nosocomiales que communautaires. Notre étude avait pour but l'évaluation du portage digestif d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (ou EBLSE) chez des sujets asymptomatiques non hospitalisés et d'étudier les principaux mécanismes moléculaires impliqués.

Méthodes : Trois cent échantillons de selles collectés entre Mars 2010 et Avril 2011 ont été dilués dans de l'eau physiologique stérile et cultivés sur gélose MacConkey supplémentée de 2 g/l de céfotaxime. Les colonies ont été criblées par le test de double synergie à la recherche d'isolats producteurs de BLSE. La caractérisation moléculaire des gènes codant les β -lactamases a été réalisée par PCR ciblant les gènes *bla*_{CTX-M}, *bla*_{CTX-M-1}, *bla*_{CTX-M-9}, *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} et *bla*_{CMY-2} suivie d'un séquençage.

Résultats : 15 sujets sur 300 (soit 5%) ont révélé la présence d'entérobactéries productrices de BLSE.

E. coli étant l'espèce majoritaire 93,3% (14 sur 15). L'analyse moléculaire par PCR et séquençage a noté que les 15 souches d'entérobactéries produisaient des BLSE de type CTX-M-1 (46,66%), CTX-M-15 (20%), CTX-M-14 (6,66%), SHV-11 (6,66%), SHV-12 (13,33%) et CMY-2 (6,66%). Un cas de portage simultané de deux souches d'*E. coli* BLSE produisant des BLSE de deux types différents, CTX-M-14 et CTX-M-1, a été noté. Un autre cas avait un portage simultané d'*E. coli* hébergeant le gène *bla*_{CTX-M-1} et de *k. pneumoniae* coexprimant les gènes *bla*_{CTX-M-15} et *bla*_{SHV-11}. Le gène *bla*_{TEM-1} codant pour des bêta-lactamases à spectre étroit, a été détecté en association avec le gène *bla*_{CTX-M-1} chez trois souches.

Conclusion : Cette étude montre une large dissémination en milieu communautaire d'*E. coli* producteurs d'enzymes de type CTX-M de grand intérêt clinique au niveau de la flore intestinale en Tunisie. La diversité génétique des BLSE ne peut que souligner le rôle important du tractus intestinal en tant que réservoir de bactéries résistantes et de gènes de résistance aux antibiotiques.

576/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

EBLSE en EHPAD : épidémiologie moléculaire de 17 cas groupés.

G. Manquat¹, F. Robin², D. Luu Duc¹, L. Pour¹

¹FéMÉRIS, Chambéry ²Laboratoire associé BLSE/Céphalosporinases, Centre national de référence de la résistance aux antibiotiques, Clermont-Ferrand, France

Les données d'épidémiologie moléculaire concernant les EBLSE isolées dans des structures d'accueil des personnes âgées dépendantes sont peu nombreuses dans la littérature. Nous décrivons 17 cas de portage rectal d'*Escherichia coli* productrices de bêta lactamase à spectre étendu ont été identifiées en 2012 dans l'EHPAD d'un hôpital local comportant 18 chambres dont 14 chambres doubles. Le taux d'attaque de portage EBLSE était de 53% des résidents présents. Les souches d'*E. coli* BLSE ont été analysées par le Centre national de référence de la résistance aux Antibiotiques pour permettre une identification des BLSE produite et une étude de la clonalité par PFGE. Les résultats principaux sont :

- parmi les 18 souches 10 clones différents d'*E. coli* BLSE ont été identifiés
- 4 clones étaient communs à plusieurs patients
- 1 patient était porteur de 2 clones différents
- 7 clones étaient présents chez un seul patient
- plusieurs types de BLSE ont été identifiées: CTX-M-1 (2 cas), CTX-M-2 (1

cas), CTX-M-14 (3 cas), CTX-M-15 (4 cas).

La description de ces cas groupés montre l'importance de la diffusion de ce mécanisme de résistance dans des collectivités de personnes âgées. D'autre part concernant les mécanismes ayant conduit à ce nombre importants de cas groupés, la diffusion par transmission croisée au sein de l'établissement a certainement coexisté avec la colonisation endogène du tube digestif des résidents porteurs d'un clone unique. Enfin l'existence d'un grand nombre de cas au sein d'une population de résidents âgés et dépendants rend particulièrement difficile l'application des mesures connues de prévention de la transmission croisée. L'épidémiologie de ce mécanisme de résistance dans la population âgée dépendante mériterait d'être étudiée sur un nombre d'établissements plus important pour permettre d'adapter les méthodes de prévention de la transmission croisée et en particulier préciser la place du dépistage.

577/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Infections à entérobactéries productrices d'une bêta-lactamase à spectre étendu dans un hôpital pédiatrique à Marrakech (Maroc).

N. Soraa¹, M.F. Maouainine², N. Slitine², Y. Mouaffak³, S. Younous³, A. Aboussaad², L. Chabaa¹

¹Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Mère Enfant, CHU Mohamed VI Marrakech, Faculté de Médecine et de Pharmacie de Marrakech ²Hôpital Mère Enfant, CHU Marrakech, Service de néonatalogie ³Hôpital Mère Enfant, CHU Marrakech, Service de Réanimation pédiatrique, Marrakech, Maroc

Objectif : Décrire l'épidémiologie locale des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) isolées chez l'enfant au niveau de la région de Marrakech.

Patients et Méthodes : Étude descriptive effectuée sur une période de 24 mois (Janvier 2010-Décembre 2011) au niveau du laboratoire de bactériologie du pôle Mère enfant du CHU de Marrakech et incluant toutes les souches non répétitives d'entérobactéries productrices d'une BLSE isolées chez les enfants hospitalisés au niveau de cette formation.

Résultats : Les entérobactéries productrices d'une BLSE ont représenté 49,3% de l'ensemble des isolats d'entérobactéries et 61,5% de l'ensemble des BMR identifiées durant cette période. Ces entérobactéries productrices de BLSE ont été isolées des hémocultures dans 58,6% (n=149) des cas et dans 14,9% des cas à partir des cathéters. *Klebsiella pneumoniae* a dominé le profil épidémiologique avec 73,2% (n=186) de l'ensemble des isolats, suivie par *Escherichia coli* 12,6% et *Enterobacter cloacae* 11,1%. Douze souches avaient une sensibilité diminuée aux carbapénèmes. Une Corésistance élevée aux fluoroquinolones, à la gentamicine et au cotrimoxazole a été observée avec respectivement 72,0%, 73,4% et 84,2% de taux de résistance.

Conclusion : Ce profil épidémiologique laisse supposer une origine intra-hospitalière de l'infection et impose la mise en place d'une stratégie de prévention de la transmission croisée de ces bactéries multi résistantes aux antibiotiques.

578/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Bactéries multi-résistantes au CHU de Tizi-Ouzou en 2011 et leur évolution de 2006 à 2011.

A. Azzam, D. Haouchine, Y. Chenafi, N. Achir, A. Belkacem, K. Harcheb, F. Younes, A. Ait-Ameur

Microbiologie-parasitologie, CHU de Tizi-Ouzou, Tizi-Ouzou, Algérie

Objet de l'étude : Nous nous sommes proposés dans cette étude d'évaluer les Bactéries Multi Résistantes (BMR) aux antibiotiques dans notre hôpital en 2011, en incluant les Entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (BLSE+), les *Staphylococcus aureus* métilicillino-résistant (SARM), *Pseudomonas aeruginosa* résistant à l'imipenem (Pae IMP R) et *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipenem (Aba IMP R), notre second objectif étant de comparer leur évolution de 2006 à 2011.

Matériel et méthodes : Les BMR sont isolées à partir de tout prélèvement de patients hospitalisés, l'identification bactérienne est faite à l'aide de galeries API E, NE ou classique, l'antibiogramme standardisé est réalisé et interprété selon les normes CLSI. Les BLSE sont détectées directement sur l'antibiogramme.

Résultats : Les BMR représentent 16%: Entérobactéries BLSE+ 58%: dominées par *Klebsiella pneumoniae* (kpn) 26%, SARM 26%, Aba IMP R: 8% et Pae IMP R 7%.

Répartition des BMR par spécialités cliniques: les spécialités chirurgicales 34%, les spécialités médicales 25%, les urgences 19%, soins intensifs 16% et pédiatrie 5%. Ces BMR se répartissent comme suit : Les BLSE+ dominant dans toutes les spécialités surtout en soins intensifs avec 31% des souches, l'espèce kpn est la BLSE dominante et sévit de manière épidémique, elle représente plus du tiers des BLSE+ (voir 60% en chirurgie). Les SARM dominant aux urgences à 29%, Aba IMP R domine en soins intensifs à 34%, Pae IMP R domine dans les spécialités chirurgicales à 17%.

Évolution des BMR de 2006 à 2011 les BLSE+ les plus fréquentes en 2006 étaient les *Enterobacter* sp, en 2009 kpn a pris le dessus avec 39% et domine encore en 2011 constituant avec les SARM les BMR les plus fréquentes, les SARM ayant dominé à 39% en 2006. Pae IMP R en 2006 était à 10% des BMR contre 7% en 2011, Aba IMP R était à 0% en 2006, contre 8% en 2011.

Conclusion : L'évolution alarmante de Kpn BLSE+ sous forme épidémique

dans notre hôpital nous fait craindre, son évolution vers une résistance à L'imipenem, et extension de cette résistance à toutes les entérobactéries, de même la résistance d'Aba à l'imipenem progressive, nous fait craindre l'évolution vers l'impasse thérapeutique, inévitable si la chaîne de transmission de ces BMR n'est pas rompue.

579/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Épidémiologie des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre élargi (EBLSE) au CHU de Batna (Algérie), 2009-2012.

A. Kassah-Laouar

Microbiologie, CHU - Faculté de médecine de Batna, Batna, Algérie

Introduction : L'incidence des EBLSE a vu ces dernières années une nette augmentation, elles ont franchi le seuil des hôpitaux pour émerger en ville. La dissémination de même la prise en charge thérapeutique pose un problème sérieux de santé publique.

Matériel et méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective réalisée sur une période de 04 années (2009-2012). L'identification des souches a été réalisée par les techniques bactériologiques conventionnelles.

La sensibilité aux antibiotiques a été réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosée Mueller-Hinton et l'interprétation en catégorie clinique (SIR) a été faite selon les recommandations du CLSI.

Résultats : Sur la période d'étude 671 souches EBLSE ont été isolées. *Klebsiella* spp. est l'espèce par excellence qui produit le plus d'enzyme BLSE (48.3%) suivi d'*Escherichia coli* (27.76%), *Enterobacter* spp. (16.24%). La prévalence la plus élevée était observée dans les services de soins intensifs (29%), malades externes (11.77%), services de Chirurgie (10.87%) et Brûlés (10.73%).

La moyenne de production de BLSE par les entérobactéries isolées durant cette période était de 24.8%.

La résistance associée aux aminosides et aux quinolones était respectivement de 18.2% pour l'amikacine, 56.7% pour la gentamicine et de 26.5% pour les fluoroquinolones.

Conclusion : Les EBLSE sont en constante augmentation dans notre CHU, quelque soit l'âge, le sexe ou le service. *Klebsiella* spp. est la bactérie par excellence qui produit le plus de BLSE. Ceci incite à renforcer les mesures préventives afin de limiter la dissémination des EBLSE à l'hôpital de même qu'en ville.

580/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évolution des pratiques de dépistage des bactéries multi-résistantes (BMR) au sein des hôpitaux : comparaison des enquêtes de 2001 et 2011.

O. Bellon^{1,2}, R. Sanchez³, Collège de Bactériologie, Virologie, Hygiène Des Hôpitaux (COLBVH)

¹Bactériologie, Centre hospitalier du pays d'Aix, Aix-en-Provence ²Brignoles ³Centre hospitalier, Périgueux, France

En 2001 le COLBVH avait initié une étude concernant les pratiques de dépistage de BMR dans les structures de santé; les résultats avaient été présentés lors de la réunion annuelle à Paris en 2002. Il nous a semblé intéressant de voir, 10 ans plus tard, et après publication de nombreuses recommandations et textes officiels, si les pratiques avaient évolué et dans quels sens.

Un questionnaire a été envoyé en 2012, à tous les membres du collège: 129 structures (soit 63%) ont répondu dans les délais. Les caractéristiques, en termes de services de soins des structures ont été précisées.

75% des structures possèdent un document interne définissant la politique de dépistage de l'établissement versus 46% en 2001. 78% des structures pratiquent des dépistages systématiques pour au moins un germe et un service (70% en 2001).

Lorsqu'un dépistage est planifié dans la structure il est protocolisé: pour l'admission dans 94% des cas, en cours d'hospitalisation dans 77% des cas et en fin d'hospitalisation dans 14% des cas.

Les critères de mise en place d'un dépistage en cours d'hospitalisation sont très variables et ont parfois changé au fil des ans: inchangés pour la gériatrie (7% comme en 2001), en diminution pour les services d'orthopédie (11% versus 15%) et en augmentation pour les patients dont le portage est connu (42% versus 27%) et pour l'admission en réanimation (74% versus 62%).

Dans le peloton de tête des germes dépistés on retrouve les *Staphylococcus* dorés résistants à la métilcilline et les entérobactéries (EB) exprimant une bêta-lactamase à spectre étendu suivi de près par les entérocoques résistants à la vancomycine et les EB produisant une carbapénémase, épidémies obligent.

Les milieux utilisés pour les recherches de ces germes sont généralement des milieux spécifiques (80%), lorsqu'ils existent. Cependant les biologistes utilisent des tests de confirmation dans 53 à 88% des cas.

L'adaptation des protocoles et leur adéquation aux recommandations et aux épidémies est un gage de qualité pour nos patients.

BLSE animales : première description chez *Proteus mirabilis*.

S. Dahmen¹, J. Madec, M. Haenni
Bactériologie, Anses, Lyon, France

Objectif : *Proteus mirabilis* est un agent nosocomial majeur isolé dans les infections urinaires humaines. Les souches sauvages de *P. mirabilis* sont sensibles aux β-lactamines, mais les résistances acquises (BLSE, AmpC ou métallo-β-lactamases) sont de plus en plus fréquemment identifiées chez l'homme. Par contre, *P. mirabilis* est un pathogène rarement isolé en médecine vétérinaire, et aucune souche productrice de BLSE n'a été décrite à ce jour.

Méthode : Une souche de *P. mirabilis* a été isolée en 2011 des fèces d'un macaque dans le cadre du Resapath, le réseau de surveillance de la résistance chez les pathogènes vétérinaires. La sensibilité aux antibiotiques a été testée par diffusion. Les gènes *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CTX-M} et *bla*_{SHV} ont été recherchés par PCR puis séquencés. Le plasmide responsable a été transféré par conjugaison dans une souche d'*E. coli* résistante à la rifampicine, puis caractérisé en détail (replicon typing, sous-typage, restriction plasmidique et Southern blot, S1-PFGE).

Résultats : Dix jours après son arrivée du Vietnam en France, le primate a présenté une diarrhée sévère non résolue malgré un traitement par colistine et fluoroquinolones. Une souche de *P. mirabilis* a été isolée des fèces, qui présentait de multiples résistances (streptomycine, chloramphénicol, triméthoprime, acide nalidixique, enrofloxacin) et un phénotype BLSE dû à la présence du gène *bla*_{CTX-M-55/57}. Ce gène était porté par un plasmide IncFII/F2: A-: B- de 97 kb. Le profil RFLP de ce plasmide (*EcoRI* et *PstI*) s'est avéré identique à celui d'un plasmide F2:A-:B- porteur du gène *bla*_{CTX-M-14} isolé d'une souche de *Klebsiella pneumoniae* ayant causé une mammite bovine en France en 2011.

Conclusion : Les données épidémiologiques, ainsi que la nature du gène *bla*_{CTX-M-55/57} (décrit presque exclusivement en Asie), suggèrent fortement que le primate était porteur de la souche de *P. mirabilis* à son arrivée du Vietnam. Il s'agit de la première description d'une souche de *P. mirabilis* productrice de BLSE chez l'animal. Toutefois, ce cas montre aussi que les plasmides IncFII/F2: A-: B- sont des vecteurs majeurs de la dissémination des gènes BLSE chez l'animal, tant au regard de la diversité des entérobactéries que des espèces animales concernées.

BLSE animales : première description à partir d'une mammite bovine en Tunisie.

R. Grami¹, S. Dahmen¹, W. Mansour², M. Haenni¹, M. Aouni², J. Madec¹
¹Bactériologie, Anses, Lyon, France ²Laboratoire des Maladies Transmissibles et Substances Biologiquement Actives, Faculté de Pharmacie, Monastir, Tunisie

Objectif : La résistance aux céphalosporines de dernière génération chez les entérobactéries animales est souvent associée à la présence d'une β-lactamase à spectre élargi (BLSE) de type CTX-M. Chez les souches d'*E. coli* animales, l'enzyme CTX-M-1 est l'une des BLSE les plus prévalentes. En Tunisie, quelques études ont décrit ces enzymes dans différentes sources alimentaires, mais aucune souche BLSE n'a été isolée d'infection animale. Le but de cette étude est de caractériser la première souche d'*E. coli* productrice d'une BLSE isolée d'une mammite bovine en Tunisie, et de caractériser le support génétique de la résistance aux β-lactamines.

Méthode : En 2011, 75 souches d'entérobactéries animales ont été isolées (*E. coli*, *Salmonella enterica*), principalement responsables d'infections chez la volaille mais également chez des bovins. La souche *E. coli* 1088 a été isolée à partir d'un prélèvement de lait d'une vache atteinte de mammite clinique. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par diffusion et les CMI par E-test. Les gènes *bla*_{TEM}, *bla*_{OXA}, *bla*_{CTX-M} et *bla*_{SHV} ont été analysés par PCR puis séquencés. La transférabilité de la résistance a été testée par conjugaison et la taille des plasmides estimée par S1-PFGE. La localisation du gène *bla*_{CTX-M} a été démontrée par Southern blot, et le type plasmidique caractérisé par PBRT et pMLST. Le groupe clonal a été déterminé par MLST.

Résultats : La souche *E. coli* 1088 est la seule parmi les 75 étudiées à présenter le phénotype BLSE. Elle présente plusieurs co-résistances (tétracycline, gentamicine, tobramycine). Le phénotype BLSE est conféré par le gène *bla*_{CTX-M-15} porté par un plasmide conjugalif de 65 kb de type IncFII/F2: A-: B-. La souche appartient au clone ST10.

Conclusion : Il s'agit de la première description d'une souche d'entérobactérie productrice de BLSE isolée d'une infection animale en Tunisie. Le même plasmide *bla*_{CTX-M-15} IncFII/F2: A-: B- a également été décrit récemment chez un veau en France, mais hébergé par un clone différent (Madec *et al.*, JAC 2012). Ce plasmide est également abondamment décrit chez l'homme. Nos résultats suggèrent le rôle majeur de certains plasmides dans la dissémination internationale des gènes BLSE, à la fois chez l'animal, mais également possiblement entre animal et homme.

Caractérisation moléculaire de souches d'*E. coli* aviaires productrices de BLSE, isolées de la région Centre d'Algérie.

N. Meguenni¹, L. Le Devendec¹, E. Jouy², S. Bounar-Kechih³, R. Bakour¹, I. Kempf⁴

¹Laboratoire de Biologie Cellulaire et Moléculaire, Université des Sciences et de la Technologie Houari Boumediene, Bab-Ezzouar, Alger ²Département de Biochimie Microbiologie faculté des Sciences biologiques et Agronomiques, Université Mouloud Mammeri, Tizi Ouzou ³Laboratoire vétérinaire régional de Draa Ben Khedda, Wilaya De Tizi Ouzou, Algérie ⁴Unité Mycoplasmaologie - Bactériologie, Anses, laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Ploufragan, France

En Algérie, les BLSE issues des souches animales ont jusqu'à présent très peu été décrites. Ce travail a consisté en la caractérisation moléculaire de onze souches d'*E. coli* productrices de BLSE, isolées de lésions de colibacillose aviaire dans différents élevages de la région Centre Algérien. Le test de sensibilité aux antibiotiques a été effectué par la méthode de diffusion sur gélose selon les recommandations du CA-SFM. La présence de BLSE a été observée par la présence d'images de synergie entre le disque d'amoxicilline-acide clavulanique et les disques de céfotaxime, céftazidime et céfépime. De plus, les souches présentaient des résistances vis-à-vis de la tétracycline, du cotrimoxazole, de la néomycine et de la ciprofloxacine.

Les essais de conjugaison vers différentes souches réceptrices *E. coli* J5, K12 et UA 6190 n'ont pas permis d'observer le transfert du caractère BLSE ou de la résistance aux fluoroquinolones. En revanche, la recherche par PCR du gène *bla*_{CTX-M} a révélé, la présence sur l'ensemble des souches analysées de bandes de 415 pb, correspondant au groupe *bla*_{CTX-M1}. Ce résultat a été confirmé par l'analyse de nos souches par puces ADN (Check-MDR CT101, Biocentric). Un séquençage partiel sur 2 souches a mis en évidence une séquence identique à 100% de 771pb du gène CTX-M15.

Par ailleurs, l'analyse par PCR a permis de montrer que toutes les souches appartenaient au groupe phylogénétique D et présentaient un profil identique par électrophorèse en champ pulsé. L'ensemble des souches étudiées a également présenté des profils plasmidiques identiques dont le typage par replicon typing a fait ressortir leur appartenance aux groupes F et FIB.

Cette étude a permis de mettre en évidence une probable dissémination dans la région centre Algérien d'un même clone d'*E. coli* pathogène aviaire producteur de BLSE et résistant aux fluoroquinolones.

Évolution de l'antibiorésistance chez les *E. coli* isolés d'infections chez la volaille - RESAPATH.

E. Jouy², C. Chauvin², L. Le Devendec², O. Balan², E. Gay¹, J.Y. Madec¹, I. Kempf²

¹Anses - Laboratoire de Lyon, Lyon ²Anses - Laboratoire de Ploufragan-Plouzané, Ploufragan, France

En France, la surveillance de l'antibiorésistance des bactéries pathogènes pour les animaux est assurée par le Résapath (fédéré à l'Onerba) qui collige les résultats d'antibiogrammes des laboratoires d'analyses vétérinaires adhérent à ce réseau.

Entre 2003 et 2011, 33439 antibiogrammes relatifs à la volaille ont été enregistrés par l'Anses. Ils ont été transmis par 59 laboratoires, dont dix représentaient 93% des données. Parmi la volaille, le groupe des poules pondeuses et des poulets de chair (*Gallus gallus*) ainsi que la dinde représentaient la majorité des antibiogrammes réalisés avec respectivement 40% et 38% des données.

Chez ces espèces animales, *E. coli* a fait l'objet de la majorité des antibiogrammes: 79% chez *Gallus gallus* et 80% chez la dinde. L'analyse de l'évolution de l'antibiorésistance de cette bactérie a été réalisée pour les antibiotiques les plus fréquemment testés: l'amoxicilline, le ceftiofur, la néomycine (N), la gentamicine (GM), l'acide oxolinique, la fluméquine, l'enrofloxacin, la tétracycline (TE) et l'association triméthoprime-sulfamide (SXT).

Entre 2003 et 2010, les analyses statistiques (Chi-2 de tendance, p<0,05) ont mis en évidence une diminution de la proportion des *E. coli* sensibles à l'ensemble de ces antibiotiques, à l'exception de GM pour *Gallus gallus*, de TE pour la dinde et, pour ces deux espèces, de N et SXT. Cette diminution était particulièrement marquée pour le ceftiofur (céphalosporine de 3^{ème} génération) chez *Gallus gallus*: de 94% en 2008 (n=793) à 88% 2009 (n=1612) puis 78% en 2010 (n=1890). Parmi 92 souches non sensibles au ceftiofur analysées à l'Anses, 82% présentaient une BLSE CTX-M du groupe 1.

L'année 2011 a été caractérisée par une stabilisation des proportions des *E. coli* sensibles en comparaison à 2010, pour l'ensemble des antibiotiques étudiés, à l'exception du ceftiofur chez la dinde: 98% en 2010 (n=791) à 95% en 2011 (n=903). Chez *Gallus gallus*, 79% des *E. coli* (n=2205) étaient sensibles au ceftiofur en 2011.

Cette stabilisation reste à être confirmée par les données 2012. Elle devrait être confortée par la mise en place récente (fin 2011) du plan "écoantibio2017" de la Direction Générale de l'Alimentation dédié à la préservation de l'activité des antibiotiques en médecine vétérinaire.

585/94A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Caractérisation des souches de *Escherichia coli* productrices des β -lactamases à spectre étendu dans les effluents communautaires et hospitaliers.C. Bréchet, J. Plantin, M. Thouverez, P. Cholley, D. Hocquet, X. Bertrand
Laboratoire d'Hygiène hospitalière, Hôpital Jean Minjot, Besançon, France

Objet de l'étude : Explorer le rôle potentiel de la filière eaux usées dans la dissémination des *Escherichia coli* productrices de β -lactamases à spectre étendu (ECBLSE) en recherchant et quantifiant les souches de ECBLSE tout au long de la filière « eaux usées » de l'agglomération de Besançon.

Méthodes : Onze points du réseau d'assainissement (3 effluents communautaires, 2 effluents hospitaliers, 4 prélèvements au niveau de la station d'épuration (STEP), rivière en amont et en aval de la STEP) ont fait l'objet de 10 prélèvements hebdomadaires sur 3 mois. Les *E. coli* totaux ont été quantifiés selon la norme AFNOR, tandis que les ECBLSE ont été recherchés et quantifiés par culture. Le typage moléculaire a été réalisé par deux approches complémentaires : électrophorèse en champ pulsé (PFGE) et Multi-Locus Sequence Typing (MLST). Les BLSE ont été identifiées par PCR.

Résultats : Les concentrations en *E. coli* totaux étaient moins élevées dans les effluents hospitaliers que dans les effluents communautaires. Des souches de ECBLSE ont été retrouvées dans 95,5% des prélèvements avec une proportion relative très variable en fonction des sites (0-61%) et du temps, et une nette prédominance dans les effluents hospitaliers par rapport aux communautaires. Le pourcentage d'épuration entre les eaux brutes et les sorties de la STEP était de 97,5% pour les *E. coli* totaux et de 94,4% pour les ECBLSE.

L'analyse génotypique réalisée sur 244 souches montrait une grande diversité clonale avec 144 clones (107 pulsotypes uniques, 37 pulsotypes multiples). L'analyse par MLST portant sur 165 souches a permis d'identifier 79 Sequence Type (ST), dont 42 uniques et 4 récurrentes (ST 361, ST 38, ST 10, et ST 88).

L'identification des BLSE est actuellement en cours.

Conclusion : Cette étude montre que 0,3% des souches de *E. coli* détectées à l'entrée de la STEP sont des ECBLSE. Les processus de traitement au niveau de la STEP ne permettent pas une réduction importante des ECBLSE. Chaque jour, 6. 10¹¹ ECBLSE sont rejetées dans le Doubs. Il est probable que la filière « eaux usées » participe à la chaîne épidémiologique de dissémination des ECBLSE.

586/95A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Épidémiologie des β -lactamases à spectre élargi (BLSE) et des carbapénémases chez *Pseudomonas aeruginosa* sur l'île de la Réunion.K. Jeannot¹, O. Belmonte², D. Fournier¹, R. Robert-Nicoud¹, E. Müller¹, P. Plésiat¹¹Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques, CHRU de Besançon, Besançon ²CHU de la Réunion site Félix Guyon, Laboratoire de Microbiologie, Saint-Denis de La Réunion, France

Objet de l'étude : Chez *P. aeruginosa*, la résistance à la ceftazidime (Caz) et au céfépime (Fep) est essentiellement due à des mutations entraînant la surproduction constitutive de la céphalosporinase naturelle AmpC. Toutefois, un nombre croissant de souches exprimant des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et/ou des carbapénémases de type métallo- β -lactamase (MBL) est rapporté en France métropolitaine. Ce travail décrit, pour la première fois, l'épidémiologie des mécanismes de résistance de souches isolées sur l'île de la Réunion.

Matériel et Méthodes : La présence de BLSE et de MBLa été recherchée, d'une part, par des méthodes phénotypiques (antibiogramme \pm cloxacilline 1000 μ g/mL, tests de synergie Caz-acide clavulanique [Amc], Fep-Amc, Fep-imipénème [Ipm], Caz-EDTA, Imp-EDTA) et, d'autre part, par des techniques de biologie moléculaire (amplification et séquençage des gènes *bla* par PCR). Les intégrons et les plasmides ont été mis en évidence et caractérisés par des protocoles standards.

Enfin, les souches ont été comparées génotypiquement par électrophorèse en champ pulsé après macrorestriction de l'ADN total par l'enzyme *DraI*.

Résultats : 19 souches de *P. aeruginosa* productrices de carbapénémase ou de BLSE, isolées entre janvier 2010 et juin 2012 à Saint-Denis de la Réunion, ont été analysées par le CNR de la Résistance aux Antibiotiques. Quatorze d'entre elles renfermaient des BLSE de classe A (classification de Ambler): 12 VEB-1a, 1 GES-9 et 1 SHV-2a. Quatre produisaient une MBL (classe B): 3 VIM-2 et 1 VIM-6. Enfin, une souche exprimait une nouvelle BLSE de type OXA (classe D), OXA-221. L'analyse génotypique a démontré la clonalité des souches VEB-1a (sérotype O:11) à l'origine d'une épidémie à l'Hôpital Félix Guyon dans le service des grands brûlés. Les autres souches étaient sporadiques.

Conclusion : Cette étude montre que l'île de la Réunion n'est pas épargnée par l'émergence des BLSE et de MBL chez *P. aeruginosa* et que la nature des β -lactamases retrouvée localement reflète en partie l'épidémiologie de l'Océan indien et de l'Asie (VEB-1a, VIM-6).

587/95A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Infections à *Pseudomonas aeruginosa* producteur de β -lactamase à spectre étendu SHV-2a.D. Moissenet¹, G. Leverger³, C. Pourcel², A. Mérens⁵, D. Fournier¹, K. Jeannot¹, H. Vu-Thien⁴¹CNR Résistance aux Antibiotiques, CHRU, Besançon ²Université Paris Sud Institut de génétique et microbiologie, Orsay ³Service d'Onco-Hématologie ⁴Unité de Bactériologie, Hôpital Trousseau, Paris ⁵Laboratoire de Biologie, Hôpital d'Instruction des Armées Bégin, Saint-mandé, France

Objet de l'étude : Trois cas d'infections et 6 cas de colonisations à *Pseudomonas aeruginosa* producteur de β -lactamase à spectre étendu (β LSE) dans un service d'onco-hématologie pédiatrique.

Méthodes : Neuf isolats cliniques et 1 isolat environnemental de *P. aeruginosa*: CMI par microdilution en milieu liquide, caractérisation de la β LSE, génotypage par random-PCR (RAPD) et par multiple-locus variable-number of tandem-repeats analysis (MLVA).

Résultats : Entre juillet 2011 et Août 2012, *P. aeruginosa* de sérotype O11 a été isolé chez 9 patients: 3 bactériémies et 6 portages génitoux ou digestifs. Les 3 patients bactériémiques (une leucémie, un neuroblastome et un patient VIH+) ont été traités par l'association ceftazidime à forte dose (200 mg/kg/j) et amikacine (15 mg/kg/j pendant 48h) avec une évolution favorable. Les 3 souches présentaient des CMI (mg/l) élevées: ticarcilline >1024, ticarcilline et acide clavulanique 128, ceftazidime 16, aztréonam 64, imipénème 32, méropénème 32, amikacine 64, et ciprofloxacine 64. Elles produisaient une β -lactamase à spectre élargi SHV-2a, une surproduction de la céphalosporinase naturelle AmpC et présentaient une altération de la porine OprD.

À la suite des 2 premiers cas de bactériémies, la recherche de *P. aeruginosa* β LSE (colonies beige-brun sur la gélose Chromid ESBL, bioMérieux) a été effectuée systématiquement sur les selles des enfants hospitalisés dans le service, permettant de détecter 6 patients colonisés. Tous les patients ont séjourné plus ou moins longtemps dans une chambre au sein de laquelle *P. aeruginosa* O11 a été isolé une fois dans le siphon de la baignoire. Les génotypes RAPD et MLVA des 9 isolats cliniques et de l'isolat du siphon étaient identiques, prouvant un clone épidémique. Par ailleurs, le génotype MLVA a permis de le rattacher au complexe clonal CC235, souvent de sérotype O11 et multirésistant: β LSE PER, OXA, GES, VIM, IMP déjà décrites mais pas de SHV rapportée à ce jour.

Conclusion : Peu de cas groupés d'infections à *P. aeruginosa* SHV-2a ont été rapportés à ce jour depuis 1999. Comme le dépistage digestif pratiqué en routine est focalisé sur les entérobactéries β LSE, ce sont les bactériémies à *P. aeruginosa* β LSE qui ont suscité la recherche de *P. aeruginosa* β LSE dans les selles des autres patients, avec un certain délai car la seconde bactériémie a été observée plusieurs mois après le cas index.

588/95A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

First characterization in Tunisia of a GES-11, extended-spectrum β -lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* isolate.H. Chihri¹, A. Bourouis², S. Mahrouki², E. Miro¹, M. Ben Moussa³, F. Barguelli³, P. Coll¹, F. Navarro¹, O. Bel Hadj²¹Service de Microbiologie, Hôpital de Santa Creu i Sant Pau, Département de Génétique et de Microbiologie, Université Autònoma, Barcelone, Espagne ²Laboratoire de Biochimie et de Technobiologie, Faculté des Sciences de Tunis ³Service de Bactériologie, Hôpital Militaire, Tunis, Tunisie

Objectives: In this study we analyse the molecular analysis of *Acinetobacter baumannii* isolates recovered from tracheal aspiration of patient hospitalized in the intensive care unit in Tunisia. Extended spectrum β -lactamase GES-11 was detected.

Methods: The strain of *A.baumannii* AB4037 was isolated in 2006 from a tracheal aspiration of a woman hospitalized in an adult intensive care unit (ICU) at the Military Hospital in Tunis, Tunisia. Identifications were performed with the Vitek 2 system (bio-Mérieux, Marcy l'Etoile, France). Antibiograms were determined by the disc diffusion method and MICs were determined by broth microdilution agents in cation-adjusted Muller-Hinton broth (Diagnostic Pasteur, France), according to the comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. To detect the presence of the most common carbapenemases, PCR was performed with specific primer targeting *bla*_{OXA-51-like}, *bla*_{OXA-23-like}, *bla*_{OXA-24-like}, and *bla*_{OXA-58-like} carbapenemases. PCR screening for the detection of class A β -lactamase genes: *bla* GES, *bla* VEB, and *bla* PER was also performed. Plasmid profiles were determined by PFGE of S1 nuclease digested genomic DNA.

Results: *A.baumannii* 4037 was isolated from the tracheal aspiration of a 49-year-old woman hospitalized in 2006 at the Military hospital in Tunis, Tunisia. Disk diffusion essay with Mueller-Hinton agar (Bio Rad, France) and MICs indicated that the strain was highly resistant to all β -lactams and exhibited a broad spectrum of resistance to with decreased susceptibility to imipenem (MIC_{imipenem}=4 μ g/ml). *A. baumannii* AB4037 harbored *bla*_{OXA-23}, *bla*_{OXA-51} and *bla*_{GES}-type genes, whereas the transformants carried only the *bla*_{GES}-type gene. Plasmids, considered as *bla*_{GES} hybridization bands, was ~90kb. 5'CS has touched the *bla*_{GES-11}. The nucleotide sequence data reported in this work have been deposited in the GenBank nucleotide database under accession number: JQ764759.

Conclusion: This study identified a class A β -lactamase in *Acinetobacter baumannii* clinical strain, the *bla*_{GES-11} gene in *A.baumannii* was the first

description in a Tunisian hospital, suggesting the worldwide spread of this enzyme. The enzyme conferred resistance to all β -Lactams and was susceptible to carbapenems. The *bla*_{GES-11} gene was located into a class 1 integron structure and located onto a ca 90-kb self-transferable plasmid. GES-type β -lactamases have not been reported previously in *A. baumannii* in Tunisia.

Key words: *Acinetobacter baumannii*, bla_{GES-11}, Tunis, Tunisia.

589/95A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Surveillance de la résistance bactérienne aux antibiotiques dans les bactériémies dans le nouveau centre de traumatologie et grands brûlés en Tunisie.

L. Thabet

Bactériologie, Laboratoire de biologie clinique, centre de traumatologie et grands brûlés Ben Arous, Tunis, Tunisie

Introduction : Les bactériémies nosocomiales reflètent la partie grave des infections nosocomiales pouvant être pourvoyeuses de décès. Parmi les facteurs pronostiques, la résistance aux antibiotiques des germes impliqués joue un rôle important dans l'évolution et la prise en charge de ces infections.

Objectif : Le but de ce travail est d'étudier l'évolution de la résistance des bactéries isolées dans les bactériémies afin de guider l'antibiothérapie probabiliste et orienter les mesures préventives.

Matériels et Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective sur une période de 3 ans de Juillet 2008 à Juin 2011 menée dans le laboratoire de Biologie clinique du Centre de Traumatologie et Grands brûlés de Ben Arous. 1911 germes ont été isolés dans les hémocultures. Le diagnostic bactériologique des bactériémies a été effectué par système automatisé (Bactec, medibio). L'identification bactérienne a été réalisée par les méthodes conventionnelles et l'étude de la sensibilité aux antibiotiques réalisée par la méthode de diffusion en milieu gélosé selon les normes de la Société Française de Microbiologie. L'analyse des données a été réalisée par le logiciel Whonet 5.3.

Résultats : Les quatre espèces prédominantes dans les bactériémies ont été *Staphylococcus aureus* (21,6%) suivi de *Acinetobacter baumannii* (10%), *Klebsiella pneumoniae* (8,5%) et *Pseudomonas aeruginosa* (7,5%). La fréquence de la résistance à la méthicilline était en moyenne de 49,5%. Par ailleurs, aucune résistance aux glycopeptides n'a été observée parmi les SARM. Concernant *P.aeruginosa* 33% des souches étaient résistantes à la ceftazidime et 46,3% à l'imipénème. *A. baumannii* a constitué l'espèce la plus résistante aux antibiotiques: 87% des souches étaient résistantes à la ceftazidime, 80% à l'imipénème.

La résistance aux céphalosporines de troisième génération a concerné 86,3% des souches de *P.stuartii* (par production d'une céphalosporinase *apm c* plasmidique), 51% des *K. pneumoniae* (par production de BLSE). Aucune résistance à l'imipénème n'a été observée parmi les entérobactéries.

La résistance aux antibiotiques a varié selon les services, les services les plus concernés par la résistance sont en premier lieu le service de réanimation des brûlés suivi par le service d'anesthésie réanimation.

L'évolution de la résistance n'a pas montré de variation significative concernant le taux global de SARM et d'*A. baumannii* résistant à la ceftazidime et l'imipénème au cours de la période d'étude. Par contre une diminution globale de la résistance aux céphalosporines de troisième génération parmi les entérobactéries a été observée en 2010 par rapport à l'année 2009 ou un pic de multirésistance a été observé notamment chez *Providencia stuartii*.

Conclusion : La résistance aux antibiotiques pose un problème dans notre centre. Les services les plus concernés sont le service de réanimation de brûlés et le service d'anesthésie réanimation. Les mesures de prévention doivent être entreprises en urgence: renforcement du lavage des mains, dépistage des bactéries multirésistantes (BMR), éducation du personnel soignant et usage rationnel des antibiotiques.

590/95A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Impact de l'ajout d'azithromycine au traitement par ciprofloxacine d'une infection en biofilm à *Pseudomonas aeruginosa*.

E. Fiaux^{3,2}, M. Pestel-Caron^{3,1}, F. Caron^{3,2}, M. Etienne^{3,2}

¹Service de Bactériologie ²Service des Maladies Infectieuses, CHU Charles Nicolle ³Laboratoire GRAM, EA2656, Faculté de Médecine, Rouen, France

Objectifs de l'étude : L'infection urinaire (IU) à *Pseudomonas aeruginosa* (PA) sur cathéter (CU) est un modèle de persistance bactérienne: de fortes doses de ciprofloxacine (CIP) échouent à stériliser le CU et des souches de PA sensibles survivent. Par analogie avec les modalités de traitement de la mucoviscidose, l'objectif de l'étude était de déterminer *in vitro* l'impact de l'ajout d'azithromycine (AZM) sur la réduction bactérienne et l'expression par les bactéries planctoniques (P) ou en biofilm (B) de gènes associés à la persistance.

Méthodes : Une infection en B de 48h à PA (souche PA14) sur CU en milieu Mueller-Hinton® a été reproduite *in vitro*. Les concentrations bactériennes P ou en B et l'expression de gènes impliqués dans la persistance (Quorum Sensing: *lasI*, *rhlI*, *PQS*; autolyse: *lrg*; facteurs sigma: *rpoS* et *rpoN*; réponse stringente: *dksA*) ont été mesurés en présence de différentes concentrations de CIP +/- AZM.

Résultats obtenus : En l'absence d'antibiotiques les concentrations P et en B étaient respectivement 9 et 8,2 log₁₀ UFC/ml. L'AZM à 2 mg/L (CMI AZM pour

PA14=128 mg/L) réduisait de 2,1 log₁₀ UFC/mL les concentrations P mais était sans effet sur le B. La CIP $\geq 0,125$ mg/L réduisait respectivement de 2,7 et 1,8 log₁₀ UFC/mL les concentrations P et en B. L'association AZM (2 mg/L)+CIP (0,125 mg/L) ne permettait de réduction bactérienne significative ni en P ni en B et s'avérait moins efficace que la monothérapie par CIP. Les bactéries survivantes P et en B restaient sensibles à la CIP. Le niveau d'expression par les bactéries P de tous les gènes étudiés était augmenté par rapport au témoin, multiplié par 3 à 8 en présence d'AZM ou de CIP et jusqu'à 18 pour *rpoS* et *rpoN* avec l'association CIP+AZM. La technique employée ne permettait pas de quantifier l'expression des gènes d'intérêt au sein du B en présence d'AZM+CIP.

Conclusion : Dans ce modèle de persistance bactérienne en B *in vitro*, l'ajout d'AZM au traitement par CIP d'une infection sur CU à PA ne permettait de réduction bactérienne ni P ni en B et induisait une surexpression par les bactéries P des gènes impliqués dans la persistance. Les étapes suivantes sont de quantifier l'expression de ces gènes d'intérêt en B et dans un modèle animal d'IU.

591/95A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Mutations ribosomales, résistance et virulence chez

***Pseudomonas aeruginosa*.**

C. Muller¹, P. Plésiat¹, M. Robert-Nicoud¹, E. Muller¹, I. Attrée², K. Jeanno¹

¹Laboratoire de Bactériologie, Université de Franche-Comté, EA4266,

Besançon ²Biologie du cancer et de l'infection, RTSV-CEA, Grenoble, France

Objet de l'étude : La surproduction constitutive du système d'efflux MexXY/OprM est fréquente chez les isolats cliniques de *P. aeruginosa*. Elle conduit à une augmentation de la résistance aux aminosides (AGs), aux fluoroquinolones (FQs) et au céfépime (FEP). Chez les mutants appelés *agrZ*, cette surexpression résulte de l'altération d'un gène (*mexZ*) codant pour un répresseur de l'opéron *mexXY*. Ce travail décrit un nouveau type de mutants, appelés *AgrW1*, affectant l'ARN ribosomal 23S.

Méthodes : A partir de la souche de référence PAO1, deux mutants spontanés, PAOW1 et KJD9, ont été sélectionnés sur un milieu contenant respectivement de l'amikacine et de la dihydrostreptomycine. Les profils transcriptomiques et le séquençage complet des génomes de la souche parentale et de ses mutants ont été effectués avec les technologies Affymetrix® et Illumina®. Les expériences d'inactivation génique, de clonage, de RT-qPCR, de cytotoxicité et de mesure de la sensibilité aux antibiotiques ont été réalisées selon des protocoles standard.

Résultats : La comparaison des génomes de PAO1 et de ses mutants résistants a révélée la présence de mutations (C₁₂₈₂G chez PAOW1, C₂₁₂₁A chez KJD9) dans un des 4 allèles codant la sous-unité ribosomale 23S chez cette espèce. Ces mutations étaient associées à une augmentation de 4 à 8 fois de la résistance aux AGs (amikacine, CMI=16 µg/mL), aux FQs (ciprofloxacine CMI=0,5 µg/mL) et au FEP (CMI=8 µg/mL) en raison de la surproduction de la pompe MexXY/OprM, et à un accroissement de la cytotoxicité vis-à-vis d'une lignée macrophagique due à la surproduction du système de sécrétion de type III et de ses toxines (ExoS). La suppression de l'allèle muté chez les deux mutants a permis une restauration du phénotype sauvage et de la sensibilité aux antibiotiques.

Conclusions : Ce travail démontre, pour la première fois, que des mutations affectant une copie de l'ARN ribosomal 23S peuvent aboutir à une augmentation de la résistance aux antibiotiques et de la virulence chez une espèce bactérienne. Des mutants de type *AgrW1* ont été récemment identifiés par notre laboratoire parmi les souches cliniques de *P. aeruginosa*.

592/95A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évolution de la résistance aux antibiotiques de *P. aeruginosa* de 2001 à 2011.

C. Slekovec¹, D. Hocquet¹, J. Robert⁵, D. Trystram⁵, J.M. Delarbre³,

A. Mérens⁶, Y. Costa², J. Caillon⁴, P. Plésiat¹, X. Bertrand¹

¹CHU Besançon, Besançon ²CH Lagny, Lagny ³CH Mulhouse, Mulhouse ⁴CHU Nantes, Nantes ⁵CHU Pitié-Salpêtrière, Paris ⁶HIA Begin, St-Mandé, France

Objet de l'étude : Décrire l'évolution de la résistance aux antibiotiques des souches cliniques de *P. aeruginosa* au cours des 11 dernières années dans 5 hôpitaux français.

Matériels et méthodes : La sensibilité de *P. aeruginosa* à 11 antibiotiques anti-pyocyaniques, répartis en 6 familles (pénicillines, céphalosporines, monobactames, carbapénèmes, aminosides et fluoroquinolones), ainsi que les données d'activité ont été recueillies pour la période 2001-2011 auprès de 5 hôpitaux français. Les souches résistantes et intermédiaires ont été définies comme non-sensibles aux antibiotiques considérés, puis classées en phénotypes sauvage, résistants, multi-résistants, ultra-résistants, selon les recommandations de l'ECDC. Enfin, elles ont été dédoublonnées afin de ne conserver qu'un profil de résistance par patient et par an.

Résultats : Nous montrons une augmentation de la prévalence et de la densité d'incidence des souches sauvages (p<0,001), ainsi qu'une diminution de ces mêmes paramètres pour les profils résistants (p=0,003 et p=0,001). La densité d'incidence des souches multi- et ultra-résistantes reste stable tout au long de la période d'étude (p=0,063 et p=0,077)

L'évolution de la résistance variait en fonction des familles d'antibiotiques anti-pyocyaniques considérées. En effet, nous avons observé une diminution de la proportion de souches résistantes aux monobactams (p=0,019), aux

aminosides ($p < 0,001$), ainsi qu'aux fluoroquinolones ($p < 0,001$), alors que la résistance aux pénicillines et céphalosporines restait stable, et que la proportion de souches résistantes aux carbapénèmes était en augmentation ($p = 0,003$).

Conclusion : Nos données montrent une stabilisation de la densité d'incidence des souches de *P. aeruginosa* ultra-résistantes aux antibiotiques, mais également une réduction de la proportion de souches de *P. aeruginosa* résistantes aux antibiotiques, se traduisant par un « remplacement » des souches résistantes par des souches sauvages. D'autres études basées sur l'évolution des mécanismes de résistance sont nécessaires afin d'identifier les causes de ces changements.

593/95A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Bactéries multirésistantes émergentes chez les blessés libyens du Benghazi Medical Center et chez ceux transférés dans les hôpitaux français à l'occasion du conflit armé de 2011 en Libye.

L. Epelboin^{3,1}, F. Bastides^{4,1}, J. Shakhli⁵, S. Fayrouz⁵, S. Renard-Dubois², B. Leroux¹, F. Bricaire³

¹Établissement de Préparation et de Réponse aux Urgences Sanitaires (EPRUS), La Plaine Saint-Denis ²Agence régionale de Santé d'Ile-de-France ³Maladies Infectieuses et Tropicales, Groupe Hospitalier Pitié-Salpêtrière - AP/HP, Paris ⁴Centre Hospitalier Régional Universitaire Bretonneau, Tours, France ⁵Benghazi Medical Center, Benghazi, Libye

Objet de l'étude : Les bactéries multirésistantes (BMR) émergentes ont posé un problème médical et épidémiologique majeur chez les blessés de guerre libyens hospitalisés au Benghazi Medical Center (BMC) pendant crise en Libye en 2011 mais aussi parmi ceux qui ont été transférés vers les hôpitaux Français.

Méthodes : Une étude rétrospective descriptive a réuni les données concernant le portage de BMR des patients libyens pris en charge en France de février à octobre 2011. Parallèlement, une enquête a été menée en Libye en octobre 2011 au BMC afin de rechercher les facteurs d'émergence des BMR.

Résultats obtenus : Dix-huit patients libyens ont été pris en charge dans 5 hôpitaux d'Ile-de-France. Parmi eux, 16 (88,8%) étaient porteurs d'au moins une BMR dite émergente : entérocoque résistant à la vancomycine, *Acinetobacter baumannii* (*Ab*) résistant à l'imipénème et entérobactéries productrices de carbapénémase. Les autres patients étaient au moins porteurs d'une BMR usuelle.

L'étude menée au BMC a montré la disparition des pratiques élémentaires d'hygiène et d'isolement des malades à l'occasion du conflit armé et du départ du personnel paramédical étranger. Des prélèvements systématiques, aléatoires et non ciblés des plaies entraînaient une consommation excessive et inappropriée d'antibiotiques. Les données disponibles au laboratoire du BMC montraient que la proportion d'*Ab* dans les prélèvements tout-venants avait augmenté de 2-4% à 12-17% avant et après le début du conflit en février 2011. Aux mois d'août et septembre 2011, la fréquence de la résistance à l'imipénème parmi les *Ab* était respectivement d'environ 66,7% et 35,7% et de 23% parmi les autres entérobactéries.

Conclusion : L'absence d'application des principes élémentaires de l'hygiène hospitalière et de la bonne pratique en microbiologie et le un mésusage des antibiotiques ont entraîné une augmentation majeure de la prévalence des BMR parmi les blessés de guerre hospitalisés au BMC, hôpital pourtant moderne et bien achalandé en matériel médical et antibiotiques récents. Ce phénomène épidémique n'est pas resté localisé puisque de nombreux blessés libyens colonisés ou infectés par ces germes résistants et à fort potentiel de dissémination ont été transférés vers des hôpitaux de d'Europe et du Proche-Orient.

594/95A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

***Acinetobacter baumannii* : évolution, répartition et résistance aux antibiotiques des souches isolées de 2007 à juin 2012.**

M. Benredouane, A. Belloui, W. Amhis

Laboratoire central de biologie, Hôpital Bologhine Ibn Ziri, Alger, Algérie

Introduction : Durant cette dernière décennie, *Acinetobacter baumannii* 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 en réanimation. Par ailleurs, des infections invasives à type de bactériémies sont également rapportées.

Objectifs : Évaluer l'évolution, la fréquence, la répartition ainsi que la résistance aux antibiotiques d'*Acinetobacter baumannii* dans notre hôpital de 2007 à juin 2012.

Matériel et Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective du 1er Janvier 2007 au 30 Juin 2012 et concernant tous les prélèvements (respiratoires, sang, pus, liquides d'épanchement, cathéters...) émanant des patients hospitalisés et externes ayant consultés à l'hôpital. Après isolements sur milieux standards, les souches sont identifiées à l'aide de galeries API NE et l'antibiogramme est effectué selon la technique CLSI. Les antibiotiques testés sont: Ticarcilline, Piperacilline, Ticarcilline associée à l'acide clavulanique, Ceftazidime, Imipénème, Gentamicine, Amikacine, Tobramycine, Ofloxacine, Cipfloxacin, Colistine.

Résultats : Au total, 132 souches d'*Acinetobacter baumannii* ont été isolées durant notre période d'étude. Les femmes sont plus infectées ou colonisées que les hommes. Le sexe ratio est de 0.62.

Le service de réanimation arrive largement en tête avec 43.93%, suivi de loin par la chirurgie avec 21.21%.

Les prélèvements respiratoires occupent le premier rang avec 31.81% des isolats, suivis par les suppurations avec 28.78%, les bactériémies quant à elles représentent 16.66%.

La répartition par saison montre que les saisons chaudes sont un facteur favorisant la diffusion d'*Acinetobacter baumannii*. Le taux passe de 18% en automne à plus de 32% en été.

La résistance aux antibiotiques des souches isolées dans notre hôpital est élevée. Elle dépasse les 50% pour les pénicillines (ticarcilline, pipéracilline et ticarcilline- acide clavulanique), et les céphalosporines (ceftazidime). l'imipénème reste plus ou moins actif mais les résistances commencent à s'élever vis-à-vis de cet antibiotique.

Parmi les aminosides, l'amikacine reste la plus active. Les fluoroquinolones demeurent actives malgré leur large utilisation en réanimation.

Conclusion : L'*Acinetobacter baumannii* fréquemment isolé dans notre hôpital existe à l'état endémique avec des bouffées épidémiques. Cette bactérie est isolée essentiellement des services de réanimation et de chirurgie mais elle se propage progressivement vers les autres services. Son incrimination dans des infections invasives (bactériémies) et les pneumonies en réanimation ainsi que sa résistance élevée aux antibiotiques fait craindre des échecs thérapeutiques. Un renforcement des mesures préventives par l'hygiène des mains et de l'environnement est donc nécessaire pour limiter la diffusion de cette bactérie.

595/96A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Apport de la PCR *vanA/vanB* sur GeneXpert® (Cepheid) dans le suivi des cas contacts d'un patient porteur d'*Enterococcus faecium vanA*.

A. Scanvic¹, B. Lefalher², S. Grandin², F. Leman²

¹Bactériologie ²EOHA, CH V. Dupouy, Argenteuil, France

Contexte : Le test unitaire *vanA/vanB* sur GeneXpert permet la détection en moins d'une heure des gènes de résistances *vanA* et *vanB* à partir d'écouvillons rectaux par PCR en temps réel. Il ne dispense pas de la recherche d'entérocoque résistant aux glycopeptides (ERG) par culture pour l'identification de la souche, le phénotype de résistance et le typage épidémiologique. Nous avons évalué le positionnement de ce test par rapport à la culture classique dans la gestion des cas contacts d'un patient porteur d'un ERG.

Méthodes : La découverte d'une patiente porteuse d'*E. faecium vanA* (cas importé) dans le service de médecine polyvalente a entraîné un dépistage rectal hebdomadaire systématique de tous les patients présents dans l'unité selon les recommandations nationales et durant toute la période où la patiente porteuse d'ERG était présente dans l'unité. Les admissions et transferts ont été suspendus, les retours à domicile favorisés avec un courrier d'information pour le patient et son médecin traitant. La PCR *vanA/vanB* a été proposée de façon ciblée en complément de la culture pour les patients potentiellement transférables (long séjour, maison de retraite, soins de suite...) ayant eu au moins deux dépistages négatifs à une semaine d'intervalle. L'objectif était de vider une aile du service puis envisager sa réouverture après bionettoyage complet des chambres et instituer des équipes dédiés à chaque aile. Dans l'autre aile restaient hospitalisés la patiente porteuse d'ERG et les patients contacts nécessitant une hospitalisation prolongée.

Résultats : 114 dépistages rectaux pour recherche d'ERG par culture sur une période de 5 semaines ont été effectués sur 35 patients contacts. 23 PCR *vanA/vanB* ont été réalisées en parallèle de la culture après écouvillonnage rectal. 15 PCR étaient négatives: les patients ont été transférés dans d'autre service de l'hôpital ou des institutions extérieur sans attendre la confirmation de la culture. Une PCR était ininterprétable et 7 gènes *vanB* étaient positifs: le transfert des patients a attendu 48 heures après le résultat des cultures. Sur les 114 dépistages rectaux: aucune culture n'était positive. Une aile du service a été réouverte 3 semaines après la découverte du cas.

Conclusion : La PCR *vanA/vanB* ne diagnostique pas les ERG mais uniquement les gènes de résistance *vanA* et *vanB*: elle ne dispense donc pas des cultures traditionnelles. En cas de positivité *vanA* ou *vanB*, ce test doit être absolument confirmé par la culture car ces gènes de résistances ne sont pas spécifiques des entérocoques. Par contre, elle présente une bonne valeur prédictive négative et a permis lors du troisième dépistage le transfert anticipé des patients sans attendre confirmation de la culture.

596/96A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

***Streptococcus pyogenes* meningitis in adults: report of 42 cases occurred in France.**

N. Maataoui², C. Plainvert¹⁻³⁻⁴⁻², A. Doloy¹, N. Dmytruk¹, G. Touak¹, G. Collobert¹, J. Loubinou¹⁻³, P. Trieu-Cuot⁵, A. Bouvet¹⁻³, C. Poyart¹⁻⁴⁻²⁻³⁻⁵

¹Centre National de Référence des Streptocoques (CNR-Strrep), Groupe Hospitalier Cochin Hôtel-Dieu Broca, Assistance Publique Hôpitaux de Paris ²CNRS, UMR 8104 ³Faculté de Médecine, Université Paris Descartes ⁴INSERM 1016, Institut Cochin ⁵Institut Pasteur, Paris, France

Background: *Streptococcus pyogenes* (group A streptococci, GAS) is responsible for various clinical manifestations ranging from superficial infections to severe invasive infections. Meningitis is rarely observed in

invasive group A streptococcal (iGAS) disease.

Objective: To characterize GAS strains responsible for meningitis in adults.

Methods: Clinical informations were obtained from forms sent on a voluntary basis with GAS isolates at the French National Reference Center for Streptococci (CNR-Strep). The diagnosis of meningitis was made regarding clinical manifestations reported, data from scanner and bacteriological results. GAS strains were characterized by *emm* sequence typing, detection of genes encoding SpeA, SpeB, SpeC, Ssa and SmeZ pyrogenic exotoxins or superantigens. Antibiotic susceptibility was determined by disk diffusion method. Macrolides or tetracycline resistances were confirmed by detection of the resistance genes. The genetic background of strains was analyzed by multi locus sequence typing (MLST).

Results: Forty-two cases of GAS meningitis have been reported in adult to the CNR-Strep between 1999 and 2011 representing 1% of all iGAS. The median age and the sex ratio M/F of patients were 52 years (range: 19-83) and 1, respectively. Forty out of 42 cases were community acquired. A focus infection of the middle ear, or the tonsille or sinusitis, was found in 10 cases. Mortality rate was high 40% (17/42) and a STSS complicated 40% of cases. Strains were isolated from cerebrospinal fluid (n=27, 64.3%), blood (n=17, 33.3%) or sinus (n=1, 2.4%).

The 42 strains belonged to 11 different *emm* genotypes. *emm1* (n=16, 38.1%), *emm28* (n=7, 16.7%) and *emm3* (n=5, 11.9%) were the more prevalent. All strains but one were susceptible to all antibiotics. The resistant strain (*emm28*) presented a high level resistance to kanamycin associated with a macrolides resistance due to the presence of *erm(B)*. The MLSTyping of these 42 GAS strains identified 11 different ST which correlated to the *emm* type.

Conclusion: GAS meningitis is an unusual manifestation of invasive GAS disease. It usually occurs with other focus infections remains severe associated with high level mortality.

597/96A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation d'une nouvelle technique de dépistage rapide du streptocoque B en perpartum.

B. Mottet-Auselo¹, S. Curinier², R. Bonnet¹⁻³, D. Gallo¹, L. Gibold¹⁻³

¹Laboratoire de Bactériologie ²Service de Gynécologie Obstétrique, CHU Clermont-Ferrand ³INSERM U1071 INRA USC2018, Université d'Auvergne, Clermont-Ferrand, France

Objectif : L'infection à Streptocoque B (SB) restant la première cause de mortalité néonatale infectieuse en France, le dépistage de cette bactérie en perpartum est un enjeu majeur de santé publique. Les tests actuellement disponibles en perpartum utilisent des méthodes de biologie moléculaire onéreuses et difficilement délocalisables dans les salles de travail. Nous avons donc évalué les performances d'un nouveau test immunochromatographique (DIMA[®] Strep B Rapid Test Device, Biosynex) par rapport à la culture habituellement pratiquée dans notre laboratoire.

Méthode : L'étude portait sur toutes les femmes admises en salle d'accouchement au CHU de Clermont Ferrand après 37 semaines d'aménorrhée (SA) ayant réalisé un dépistage anticipé entre 34 et 38 SA. Deux écouvillons ont été prélevés simultanément. Le premier a été ensemencé sur deux géloses successives: une gélose au sang incubée sous CO₂ et une gélose GRANADA[®] (Biomérieux) incubée en anaérobiose, pendant 48h. Le deuxième écouvillon a permis la recherche immunochromatographique d'antigène de SB dans les 24h suivant le prélèvement selon les recommandations du fabricant. Les tests étaient considérés comme positif devant toute apparition concomitante d'une bande test et contrôle.

Résultats : Au total 192 femmes ont été incluses, avec un âge moyen de 29 ans et une incidence de portage de SB de 15% (n=28), contre 9% (n=17) à l'issue du dépistage anticipé. Les tests et les cultures sont concordants dans 79% des cas (n=152: 16 positifs, 136 négatifs), et discordants dans 21% des cas (n=40: 28 faux positifs, 12 faux négatifs pour le test rapide). La sensibilité du test est de 57% (valeur prédictive positive de 36%) et sa spécificité de 83% (valeur prédictive négative de 92%).

Conclusion : Le caractère intermittent du portage vaginal du SB et la difficulté à disposer des résultats du dépistage anticipé le jour de l'accouchement montrent l'intérêt majeur que représente un test rapide délocalisé, fiable et peu coûteux. Cependant la faible sensibilité (57%) ainsi que la faible valeur prédictive positive (36%) du DIMA[®] Strep B Rapid Test Device ne permettent pas actuellement de remplacer les méthodes recommandées pour la recherche du portage de SB.

598/96A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évaluation du test Xpert[®] GBS pour la détection rapide de *Streptococcus agalactiae* chez les femmes enceintes présentant une rupture prématurée des membranes à terme.

N. Bourgeois-Nicolaos², A.G. Cordier³, C. Guillet-Caruba², A. Benachi³, F. Casanova², F. Doucet-Populaire²⁻¹

¹EA4043, USC INRA, Université Paris Sud, Chatenay-Malabry ²Bactériologie-Hygiène, Hôpital Antoine Béchère, HUPS, AP-HP ³Service de Gynécologie-Obstétrique, Hôpital Antoine-Béchère, Clamart, France

Objectif de l'étude : *Streptococcus agalactiae* ou streptocoque du groupe B (SGB) est la principale cause d'infection néonatale bactérienne et de chorioamniotite. La rupture prématurée des membranes (RPM) est associée à un risque accru de ces infections. Les SGB sont présents dans le vagin d'environ 10-30% des femmes enceintes mais l'antibioprophylaxie per-partum réduit de manière significative le taux de colonisation néonatale et l'incidence des infections néonatales précoces. Récemment le test Xpert[®] GBS (Cepheid), réalisé sur l'automate GeneXpert, a démontré sa sensibilité et sa facilité d'utilisation pour détecter l'ADN du SGB dans les prélèvements vaginaux. Notre objectif était d'évaluer ce test de PCR en temps réel directement sur des échantillons de liquide amniotique (LA) recueillis auprès de femmes enceintes avec RPM à terme en absence de travail.

Matériel et Méthodes : Le test Xpert GBS a été adapté aux LA. Il a été effectué sur 139 échantillons de LA provenant de 139 femmes enceintes atteintes de RPM après 37 semaines d'aménorrhées. Les résultats du test de PCR en temps réel ont été comparés aux résultats de la culture bactérienne du LA (100µl) et au dépistage ante-partum du SGB.

Résultats : Un résultat interprétable a été obtenu pour 100% des échantillons. Sur ces 139 LA, 12 (8,6%) ont été trouvés positifs par PCR (CT [27,1-39,3]). Parmi ces 12 LA, deux échantillons étaient positifs en PCR (Ct: 39,3) mais négatifs en culture; 126 échantillons ont été trouvés négatifs en PCR et en culture. Un échantillon a présenté une PCR négative, mais une culture positive (10² UFC/mL de SGB). Par rapport à la culture du LA, la sensibilité et la spécificité du test Xpert GBS étaient respectivement de 90,9% et 98,4%. Sur les 12 patientes positives par Xpert GBS, seulement 5 avaient un dépistage de SGB ante-partum positif. Aucune infection invasive à SGB n'a été observée pendant la période de l'étude.

Conclusion : La PCR Xpert GBS est une méthode rapide et fiable pour la détection des SGB dans les échantillons de LA. Les infections ascendantes étant impliquées en cas de RPM, cette détection du SGB dans le LA apporte une aide aux cliniciens dans la prise en charge du risque infectieux chez les femmes présentant une RPM à terme mais aussi préterme.

599/96A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* (SP) en Ile-de-France-Est sur 10 ans.

M.C. Demachy¹, F. Faibis¹, E. Varon³, Groupe des Microbiologistes de l'ORP Ile-de-France Est²

¹Laboratoire de microbiologie, CH Meaux ²ORP IDF Est, Meaux ³CNR des pneumocoques, HEGP, Paris, France

Historique : Depuis 2001 l'Observatoire Régional Ile-de-France Est surveille l'évolution de la résistance de SP aux antibiotiques.

Méthodes : Durant 6 années 2001, 2003, 2005, 2007, 2009 et 2011 ont été étudiées respectivement 609, 598, 515, 440, 432 et 266 souches de SP non redondantes isolées d'hémocultures, de LCR, et de pus d'oreille chez l'enfant et chez l'adulte dans 29 laboratoires de Microbiologie. Les CMI de la pénicilline G (PEN), de l'amoxicilline (AMX) et du cefotaxime (CTX) ont été déterminées par le centre coordinateur sur toutes les souches par la méthode de dilution en gélose. L'activité de l'érythromycine (ERY), du cotrimoxazole (SXT), et du chloramphenicol (CHL) a été étudiée par la méthode de diffusion en gélose ou la galerie ATB-pneumo (bioMérieux). Les résultats ont été interprétés selon les recommandations du CA-SFM 2007 afin de permettre les comparaisons entre les différentes années.

Résultats : Entre 2001 et 2009 le taux global de SP de sensibilité diminuée à PEN a diminué régulièrement de 61,7 % à 30,1% (p<0.001), en 2011 on note une stagnation à 30,2%. Le pourcentage de souches de CMI > 1 mg/l est passé de 21,8 % à 5,9 % en 2007 et a légèrement augmenté en 2009 et en 2011 à 11,3 % et 18,4 % en particulier dans les souches de pus d'oreille de l'enfant. L'augmentation des souches de sensibilité diminuée à l'AMX chez l'enfant dans les pus d'oreille se confirme en 2011.

Taux de résistance selon l'âge et le type de prélèvement :

| Année | 2001 | 2003 | 2005 | 2007 | 2009 | 2011 | 2001 | 2003 | 2005 | 2007 | 2009 | 2011 |
|--------------------------|-------------------|-------|-------|------|-------|-------|--------|-------|------|-------|-------|-------|
| | ENFANT (< 16 ans) | | | | | | ADULTE | | | | | |
| Hémocultures (n) | 63 | 61 | 62 | 62 | 60 | 35 | 284 | 328 | 271 | 234 | 271 | 174 |
| PEN (% IR) | 35/21 | 29/21 | 34/5 | 29/9 | 28/10 | 5/14 | 31/19 | 21/17 | 25/9 | 28/5 | 14/10 | 12/13 |
| AMX (% IR) | 33/1 | 29/2 | 16/2 | 13/0 | 15/0 | 11/3 | 32/1 | 28/1 | 21/3 | 18/0 | 14/1 | 8/0 |
| CTX (% IR) | 16/1 | 23/0 | 8/0 | 5/0 | 11/0 | 14/0 | 15/0 | 10/0 | 10/0 | 6/0 | 9/0 | 3/0 |
| ERY (% IR) | 5/5 | 5/5 | 3/7 | 4/2 | 4/1 | 2/3 | 5/1 | 4/5 | 4/0 | 3/5 | 4/6 | 3/3 |
| CHL (% IR) | 2/5 | 2/4 | 7/7 | 7/7 | 11/11 | 16/16 | 26/26 | 22/9 | 9/8 | 10/10 | 1/1 | 1/1 |
| SXT (% IR) | 4/8 | 4/5 | 3/2 | 2/5 | 5/1 | 2/3 | 4/1 | 3/6 | 3/3 | 2/1 | 3/0 | 1/6 |
| Pus d'oreille (n) | 252 | 175 | 142 | 121 | 63 | 21 | | | | | | |
| PEN (% IR) | 51/25 | 36/27 | 53/10 | 45/5 | 33/22 | 14/47 | | | | | | |
| AMX (% IR) | 40/4 | 37/6 | 33/1 | 19/1 | 36/1 | 36/5 | | | | | | |
| CTX (% IR) | 21/1 | 24/0 | 18/0 | 7/0 | 12/0 | 24/0 | | | | | | |
| ERY (% IR) | 7/9 | 7/1 | 6/5 | 4/5 | 5/7 | 5/7 | | | | | | |
| CHL (% IR) | 2/1 | 1/3 | 8/8 | 8/8 | 6/6 | 6/6 | | | | | | |
| SXT (% IR) | 5/5 | 4/0 | 3/7 | 2/2 | 4/3 | 9/9 | | | | | | |

Conclusion : La diminution régulière de la résistance aux antibiotiques de *SP* observée depuis 2001 montre une stagnation en 2011.

600/96A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Epidémiologie des types *emm* de *Streptococcus pyogenes* dans les pathologies invasives et non invasives de l'enfant par PCR HRM (High Resolution Melting) et actualisation des données de la résistance aux macrolides.

C. D'humières², P. Bidet², C. Levy³, S. Béchet³, S. Bonacorsi², S. Liguori², R. Cohen¹, E. Bingen²

¹Microbiologie, Centre Hospitalier de Créteil, Créteil ²Microbiologie, Hôpital Robert Debré, Paris ³Association Clinique et Thérapeutique du Val-de-Marne (ACTIV), Saint-Maur-des-Fossés, France

Objectifs : Cette étude mise en place grâce à une technologie innovante et rapide associant PCR multiplex en temps réel et analyse des amplifiats par courbe de fusion de haute résolution (HRM) a pour objectif d'analyser l'épidémiologie des sérotypes de *Streptococcus* du Groupe A (SGA) responsables d'infections invasives et non invasives chez l'enfant en France. L'objectif secondaire est l'actualisation du taux de résistance des SGA aux macrolides.

Méthodes : Nous avons analysé 585 souches de SGA isolées d'angine (groupe 1), 125 de pathologies invasives (groupe 2), 32 d'enfants porteurs sains (groupe 3) et 66 de patients atteints d'autres pathologies non invasives (panaris, anite...) (groupe 4). Le sérotypage des souches a été réalisé par une nouvelle technique rapide mise au point au laboratoire (HRM), afin de détecter les 14 types *emm* majeurs (*emm* 1, 4, 11, 89, 3, 6, 12, 28, 2, 22, 75, 77, 87 et 102). La PCR multiplex en temps réel est couplée à la méthode d'analyse HRM donnant des courbes de fusion de haute résolution spécifique de chaque séquence *emm* amplifiée. La sensibilité aux macrolides a été étudiée et les mécanismes de résistance ont été analysés par PCR.

Résultats : De Septembre 2009 à Mai 2011, 805 souches ont pu être sérotypées. La répartition des types *emm* majeurs était significativement différente entre les 4 groupes cliniques ($p=0.001$). Les SGA *emm* 1 étaient plus souvent retrouvés dans les infections invasives que dans les angines ($p<0.0001$) et les SGA *emm* 4 et 89 étaient plus fréquents dans les angines que dans les infections invasives ($p=0.001$ et $p=0.006$). Le taux de résistance global à l'érythromycine était de 3% (53% *erm* (B), 32% *mef* (A) et 15% *erm* (A)) : 3.2% dans le groupe 1 (19/585) et aussi dans le groupe 2 (4/125). Sur l'ensemble des SGA isolés, le vaccin 26 valences avait une couverture de 82% alors que le vaccin 30 valences incluant le type *emm* 4 avait une couverture de 98%.

Conclusion : La méthode HRM que nous avons mis au point permet d'analyser rapidement le sérotype d'un grand nombre de souches de SGA. A l'image d'autres pays européens, la résistance à l'érythromycine des SGA en France décroît passant de 12% en 2006 à 3.2% en 2011.

601/96A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

***Streptococcus pyogenes emm89* : investigation d'un cluster de bactériémies diagnostiquées en Indre-et-Loire.**

E. Haguenoer³, F. Deperrois², V. Morange⁶, B. Cattier¹, P. Laudat⁴, V. Salaun³, N. Girard⁵, N. Van Der Mee-Marquet^{5,6}

¹Amboise ²Centre Hospitalier, Chinon ³Clinique St-Gatien ⁴Laboratoire d'Analyses Médicales ⁵Réseau des Hygiénistes du Centre, Centre Hospitalier Universitaire ⁶Service de Bactériologie et Hygiène, Centre Hospitalier Universitaire, Tours, France

Objet de l'étude : Cinq bactériémies associées à *S. pyogenes emm89* ont été identifiées en Indre-et-Loire au 1^{er} trimestre 2012 dans 4 établissements de santé différents. Nous rapportons la description des cas et les résultats de l'investigation menée à la recherche d'une éventuelle source de contamination commune.

Méthode :

1. La surveillance régionale des bactériémies est menée chaque année dans l'ensemble des établissements de >50 lits MCO. Les données d'incidence sont complétées par le recueil de données cliniques et des facteurs de risque, et par l'analyse des souches (*S. pyogenes*, *S. aureus*, EBLSE)
2. La détection du cluster a été faite par PFGE. La caractérisation du clone (*emm89 SpeB SpeC Smez*) a été faite par le CNR (Pr C Poyart).
3. L'investigation a comporté l'analyse des 5 cas, et la recherche d'une contamination commune aux 5 patients.

Résultats obtenus : 1334 bactériémies (693 communautaires, 641 associées aux soins) ont été étudiées pendant l'enquête, parmi lesquelles 24 associées à *S. pyogenes* (1.7%) (19 communautaires, 5 associées aux soins ; incidence 0.03/1000 JH). La porte d'entrée a été cutanée dans 15 cas (62%), ORL dans 8 cas (33%), non retrouvée dans 1 cas. Les souches de *S. pyogenes* ont été étudiées pour 16 des 24 cas. La diversité génétique des souches a été relative (6 pulsotypes), 3 clones réunissant 12 souches. La distribution géographique des clones a été régionale sauf pour le clone *emm89*, de distribution limitée (Tours et proximité).

Les cinq bactériémies associées au clone *emm89* (4 communautaires et 1 associée aux soins) ont été diagnostiquées chez 2 hommes et 3 femmes entre le 17 janvier et le 26 mars 2012 dans 5 établissements différents. L'âge des patients a varié de 57 à 91 ans (moy 81). La bactériémie a été associée à une

porte d'entrée cutanée dans les 5 cas (100%).

L'investigation, en cours, sera présentée en détail lors du congrès.

Conclusions : Nos résultats documentent la diffusion actuelle d'un clone de *S. pyogenes* virulent en Indre-et-Loire, et montrent l'intérêt de la surveillance annuelle des bactériémies pour détecter les phénomènes épidémiques à *S. pyogenes*.

602/96A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Expression particulière de la résistance constitutive aux macrolides chez les souches cliniques de *Streptococcus agalactiae* possédant le gène *erm*(A).

S. Dahyot², H. Chardon¹, A. Broyelle², N. Brieu¹, R. Leclercq²

¹CH du Pays d'Aix, Aix-en-Provence ²CHU de Caen, Caen, France

Objectif de l'étude : 38% de 123 souches de *S. agalactiae* isolées au CHU de Caen entre octobre 2011 et avril 2012 étaient résistantes à l'érythromycine (E). L'objectif de cette étude est d'analyser les mécanismes de résistance aux macrolides. Une de ces souches, *S. agalactiae* UCN83, et la souche *S. agalactiae* MAR reçue du CH du Pays d'Aix contenant le gène *erm*(A) ont été particulièrement étudiées.

Méthodes : Les gènes *erm*(A), *erm*(B), *erm*(C) et *mef*(A) ont été cherchés par PCR chez 38 souches résistantes à E, ainsi que les mutations ribosomales par séquençage des gènes *rrl*, *rplD*, *rplV* chez *S. agalactiae* MAR. Le mode d'expression de la résistance à la lincomycine (L) a été recherché à l'aide des courbes de croissance en présence de L avec et sans induction par E chez *S. agalactiae* UCN83 et MAR. Le gène *erm*(A) et sa région régulatrice ont été séquencés chez MAR et UCN83.

Résultats : *erm*(B) *erm*(A) *erm*(C) et *mef*(A) étaient présents chez respectivement 56,8%, 24,3%, 0%, et 13,5% des souches. Les souches possédant le gène *erm*(B) étaient toutes, sauf une, résistantes de haut niveau à E, spiramycine (S), clindamycine (C) et L. Les souches possédant le gène *erm*(A) présentaient un phénotype inducible (résistance de bas niveau à E, sensibilité à C et L, et test d'induction positif), sauf *S. agalactiae* UCN83 et MAR, résistantes à haut niveau à C et L (CMI > 256 mg/L), à bas niveau à E (CMI=4 mg/L) et S, mais sensibles à la téliothromycine. Le test d'induction est négatif et ces souches expriment constitutivement la résistance à L en courbes de croissance. Le séquençage a mis en évidence chez UCN83 une mutation A137C au sein du second peptide leader (LP2) de la région régulatrice et chez MAR une insertion d'une IS1381 entre LP2 et le gène *erm*(A). Les modifications prédisent un effet des mutations sur la conformation des structures secondaires impliquées dans l'induction.

Conclusion : La fréquence de la résistance à E est élevée dans notre CHU. *erm*(B) et *erm*(A) sont les gènes les plus fréquemment en cause. Le phénotype constitutif de MAR et UCN83 est particulier car il se traduit par un bas niveau de résistance à E et haut niveau à C. Il est conféré par des mutations dans l'extrémité 3' de la régulation du gène *erm*(A). Des expériences sont en cours pour expliquer cette expression singulière.

603/96A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Broad host range transferable high-level gentamicin resistance in group B *Streptococcus*.

A. Tazi^{1,2,3}, A. Firon⁴, H. Réglie-Poupet^{1,2}, N. Dmytuck^{1,2}, M. Longo^{3,1}, P. Trieu-Cuot⁴, C. Poyart^{3,1,2,4}

¹Centre National de référence des *Streptococcus* ²Groupe Hospitalier Cochin, Faculté de Médecine René Descartes, Université Paris 5 ³INSERM, U1016 ⁴Institut Pasteur, Paris, France

Objectives: A screening for Group B *Streptococcus* (GBS) highly resistant to gentamicin (HGR) collected by the National Reference Centre for *Streptococci* between 2007 and 2011 retrieved 3 unrelated clinical isolates. The aim of our study was to confirm and to characterize the genetic support of HGR of these GBS strains.

Methods: Gentamicin resistance was determined using disk diffusion and minimal inhibitory concentrations (MICs) were measured by E-test. Sequencing of PCR products as well as direct chromosomal sequencing were performed to identify the *aac(6)-aph(2'')* gene and to determine its genetic environment. Intra- and inter-species resistance transferability was assessed by conjugation experiments.

Results: Three unrelated GBS isolates of capsular serotype II, III, and V were recovered. Two of these strains were responsible for invasive infection (neonatal n=1, adult n=1) whereas the remaining was a vaginal colonizing strain. All strains were highly resistant to gentamicin with MIC > 128 mg/L and the presence of the *aac(6)-aph(2'')* gene encoding the bifunctional aminoglycoside-inactivating enzyme was confirmed by PCR and sequencing. This analysis revealed that the resistance determinants were carried by a classical Tn4001 transposon in one isolate and by truncated Tn4001-like transposons in the remaining two. Resistance of the strains carrying the truncated transposons was intra- and inter-species transferable at a high (10⁻⁷) and a low (10⁻⁷) frequency, respectively, for one strain and intra-species transferable at a low frequency (10⁻⁶) for the other one.

Conclusion: We described chromosomally HGR mediated by Tn4001-like transposons in three unrelated GBS isolates. Such resistance has already been reported in other *Streptococcus* species. Yet, to our knowledge, this is only the second report of HGR in GBS, stressing that it is still very rare.

However, we characterize one strain displaying a broad host range of conjugal transfer, a feature which might favour the spreading of the *aac(6)-aph(2'')* gene to other bacteria, as already observed with other antibiotic resistance genes. Thus, continuous surveillance of gentamicin susceptibility in GBS remains necessary.

| | | | | | | |
|---------|-------|-------|-------|-------|-------|-------|
| 6A / 6B | 9,0% | 8,4% | 6,7% | 4,9% | 2,2% | 2,1% |
| 1 | 2,7% | 2,8% | 3,7% | 3,5% | 2,4% | 2,0% |
| 3 | 8,6% | 7,9% | 9,8% | 8,7% | 8,2% | 7,1% |
| 5 | 0,4% | 0,1% | 0,0% | 0,1% | 0,1% | 0,0% |
| 7F | 2,4% | 5,9% | 7,5% | 6,5% | 5,1% | 2,7% |
| 19A | 7,9% | 12,2% | 12,3% | 14,0% | 12,8% | 11,0% |
| Total | 63,2% | 62,6% | 60,2% | 52,7% | 41,5% | 34,2% |

604/97A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Diminution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées d'infections invasives en France entre 2005 et 2011 : résultats des Observatoires régionaux du pneumocoque (ORP).

M. Kempf^{1,2}, A. Gravel^{3,2}, R. Baraduc², M. Brun², H. Chardon², J. Cremonier², J. Croizé², F. Dalmay², M.C. Demachy², F. Eb², T. Fosse², C. Grelot², T. Hadou², P. Lanotte², S. Luce², S. Mermond², I. Patry², A. Péchinot², J. Raymond², A. Ros², C. Segonds², B. Soullié², D. Tandé², M. Vergnaud², V. Vernet Garnier², F. Wallet², A. Lepoutre⁵, L. Gutmann⁴, E. Varon⁴, M.C. Ploy²

¹Laboratoire de Bactériologie, CHU d'Angers, Angers ²Observatoires Régionaux du Pneumocoque, CHU de Limoges, Limoges ³Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Emile Muller, Mulhouse ⁴Centre National de Référence du Pneumocoque (CNRP), AP-HP HEGP, Paris ⁵Institut de Veille Sanitaire (InVS), Saint-Maurice, France

Historique : Depuis 1995, les observatoires régionaux du pneumocoque (ORP) surveillent l'évolution de la résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques, en partenariat avec le CNRP et l'InVS.

Méthode : Durant la période allant de 2005 à 2011, 1575 souches isolées de LCR et 14362 souches isolées d'hémoculture ont été étudiées. Les CMI de la pénicilline G (PEN), de l'amoxicilline (AMX) et du céfotaxime (CTX) ont été déterminées par diffusion en milieu gélosé (CA-SFM). Les activités inhibitrices de l'érythromycine (ERY) et du cotrimoxazole (SXT) ont été appréciées par la méthode de diffusion en milieu gélosé ou à l'aide de galeries ATB-Pneumo[®] ou de cartes VITEK²[®] (bioMérieux). L'interprétation a été faite selon les recommandations du CA SFM 2007 afin de permettre les comparaisons entre les différentes années. Le test du Chi-deux a été utilisé (p<0,05).

Résultats : Chaque année, entre 3000 et 4000 souches isolées d'infections invasives ont été recueillies dont 400 à 500 chez l'enfant. Les principaux résultats sont présentés dans le tableau I.

| | 2005 | 2007 | 2009 | 2011 |
|-------------------------|----------------|----------------|----------------|----------------|
| Nb de souches (E/A/E+A) | 501/3429/3930 | 465/3230/3695 | 575/3697/4272 | 426/3620/4046 |
| PEN % I+R (E/A/E+A) | 36,1/37,6/37,5 | 29,0/32,7/32,5 | 24,7/27,1/26,8 | 22,1/25,9/25,5 |
| AMX % I+R (E/A/E+A) | 17,0/22,0/21,3 | 13,1/17,1/16,6 | 12,5/13,4/13,3 | 8,2/10,1/9,9 |
| CTX % I+R (E/A/E+A) | 10,4/12,8/12,5 | 7,3/9,2/8,9 | 8,0/7,1/7,2 | 5,4/5,1/5,1 |
| ERY % I+R (E/A/E+A) | 37,1/41,2/40,7 | 31,4/35,0/34,5 | 36,3/39,8/39,4 | 29,5/31,7/31,4 |
| SXT % I+R (E/A/E+A) | 29,1/27,7/27,9 | 24,3/23,7/23,7 | 28,5/25,5/25,9 | 21,8/18,5/18,8 |

Tableau I : Evolution entre 2005 et 2011 chez l'enfant (E), chez l'adulte (A) et chez l'enfant + l'adulte (E+A), de la sensibilité aux antibiotiques des souches de pneumocoque isolées d'infections invasives (LCR + hémocultures).

Conclusion : Entre 2005 et 2011, le pourcentage de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline isolés d'infections invasives a significativement baissé (p<0,001), à la fois chez l'adulte et l'enfant. Une diminution de la résistance aux autres antibiotiques (p<0,001 pour tous les antibiotiques) a également été observée durant cette période. Ces résultats confirment un retour à une plus grande sensibilité aux antibiotiques des pneumocoques en France. Cette surveillance doit être poursuivie dans les années à venir.

605/97A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

L'évolution des sérotypes vaccinaux (PCV-7, PCV-13) de souches de *Streptococcus pneumoniae* isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine.

H. Drugeon¹, A. Michaud-Nerard¹, N. Marty²

¹Drug R&D, Beaucauze ²Institut Fédératif de Biologie, Toulouse, France

Objectif : Présenter l'évolution des sérotypes vaccinaux des pneumocoques isolés au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine: comparaison 2006/2007, 2007/2008, 2008/2009, 2009/2010 et 2010/2011.

Méthodes : Le réseau de suivi des résistances du pneumocoque évalue annuellement la sensibilité aux antibiotiques des souches de pneumocoque isolées d'infections respiratoires chez l'adulte par 36 à 42 laboratoires hospitaliers. Depuis la campagne 2006/2007, les sérotypes sont systématiquement déterminés par une méthode PCR qui permet d'identifier 30 sérotypes différents. L'analyse porte sur un collectif de 5861 souches.

Résultats :

| Sérotypes PCV7/PCV13 | Campagnes | | | | |
|----------------------|-----------|-----------|-----------|-----------|-----------|
| | 2006-2007 | 2007-2008 | 2008-2009 | 2009-2010 | 2010-2011 |
| 4 | 2,3% | 1,6% | 1,7% | 0,8% | 1,5% |
| 9V | 4,8% | 4,6% | 2,9% | 2,5% | 0,6% |
| 14 | 9,7% | 6,0% | 5,2% | 2,4% | 1,3% |
| 18C | 1,6% | 1,9% | 2,5% | 1,2% | 1,0% |
| 19F | 7,9% | 7,4% | 4,8% | 6,0% | 4,0% |
| 23F | 5,9% | 3,6% | 3,0% | 2,1% | 1,4% |

La fréquence des sérotypes du vaccin PCV-13 diminuent constamment passant de 63,2% en 2006/2007 à 34,2% en 2011-2012. Les principaux sérotypes concernés par cette diminution appartiennent au précédent vaccin PCV 7: le 14 passe de 9,7% à 1,3%, le 23F de 5,9% à 1,4%, le 19F de 7,9% à 3,8% et le 9V de 4,8% à 0,6%. Durant la dernière campagne 2011-2012, la fréquence des nouveaux sérotypes vaccinaux du PCV13, le 3, le 7F et le 19 A diminue. Les sérotypes vaccinaux 6A, 6B sont en nette diminution et sont progressivement remplacés par les sérotypes 6C, 6D : le groupe 6 reste stable à 6,7%.

Conclusion : L'introduction du vaccin PCV13 chez l'enfant commence à se répercuter sur la fréquence des nouveaux sérotypes vaccinaux dans les infections respiratoires de l'adulte en France métropolitaine.

606/97A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Sensibilité aux β-lactamines invasives de *Streptococcus pneumoniae* (SP) et de souches de pus d'otite d'enfant (OMA) isolées de 1995 à 2011 dans l'ORP Picardie.

F. Hamdad², G. Laurans², M.T. Albertini², Z. Benchikh², M. Bouquigney², A. Brocard², M. Demange², J.P. Emond², A.S. Goetgheluck², J. Heurte², P. Lemaître², J.P. Thellier², J.L. Régnier², A. Sueur², E. Varon¹

¹CNRP, Paris ²ORP, Picardie, France

Le suivi de la résistance aux β-lactamines de SP isolé au cours des infections invasives (méningites et bactériémies de l'adulte et de l'enfant) ainsi que dans les pus d'otite de l'enfant (OMA) est réalisé dans le cadre des Observatoires Régionaux de Pneumocoque (ORP) tous les 2 ans depuis 1995.

L'activité des β-lactamines particulièrement de l'oxacilline, a été étudiée par diffusion en gélose selon les recommandations du CA-SFM, et les CMI des β-lactamines ont été déterminées par les laboratoires participants par galerie ATB-pneumo[®], E-test[®], MICE[®] test ou par Vitek. La CMI par la méthode de référence a été réalisée sur toutes les souches par le centre coordinateur.

Le sérotypage a été réalisé, de 1995 à 1999, sur les souches de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP). Depuis 2001, toutes les souches invasives et les souches d'OMA sont sérotypées.

Le nombre de SP isolé est resté globalement constant chez l'adulte alors que chez l'enfant le nombre diminue dans les LCR et OMA.

Dans les hémocultures de l'adulte, le pourcentage de PSDP augmente jusqu'en 2001 puis diminue progressivement. Depuis 2005, les souches Penicilline (Péni) R ont diminué alors que les Péni I ont augmenté, les souches Amoxicilline (AMX) R ont augmenté mais, restent rares et les souches Céfotaxime (CTX) I ont diminué. Aucune souche CTX R n'a été isolée.

Depuis 1997 et parmi les PSDP, le sérotype 14 était le plus fréquent. Depuis 2009, le sérotype 19 est le plus fréquent avec une émergence du sérotype 1.

Dans les hémocultures de l'enfant, de 1997 à 2005, près de 50% des souches isolées étaient un PSDP (5/17, 6/11, 5/10, 7/15, 8/17, 8/17). Depuis 2009, ces souches diminuent (3/13, 4/15).

Le nombre de méningites à pneumocoque de l'adulte était constant jusqu'en 2007, un pic a été observé en 2009. Le nombre de PSDP varie en fonction des années (4/17, 2/11, 4/10, 3/11, 5/9, 4/11, 5/8, 1/20, 4/8). Chez l'enfant, depuis 2001 le nombre de méningite à SP tend à diminuer voir à disparaître ainsi que les PSDP (2/7, 3/8, 3/5, 1/2, 2/3, 0/2, 1/3, 0/1, 0/0). Aucune souche isolée dans les LCR n'avait une résistance à l'AMX ni à CTX.

Dans les OMA, le pourcentage de PSDP est important (40.5%, 70.7%, 60.6%, 69.2%, 64.5%, 54%, 48.2%, 71%, 46.6%). Des souches résistantes à l'AMX et au CTX ont été isolées mais restent rares.

Dans la région Picardie, le nombre de souches de SP et de PSDP a diminué, essentiellement, dans les infections invasives de l'enfant.

607/97A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Significant increase in penicillin resistance in Belgian non-invasive clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae*. Survey of antimicrobial resistance rates in isolates collected during winter 2011-2012.

R. Vanhooft¹, S. Bertrand¹, F. Fux¹, J. Van Eldere², J. Verhaegen², The Belgian Sp Study Group¹

¹Bactériologie, Institute of Public Health, Bruxelles ²Microbiologie, University Hospital Gasthuisberg KUL, Leuven, Belgique

A total of 351 *Streptococcus pneumoniae* isolates collected by 15 laboratories were tested for susceptibility following CLSI recommendations. Resistance rates were determined by EUCAST breakpoints. The following antibiotics were tested: penicillin G (PG), ampicillin (AP), amoxicillin (+/-clavulanic acid) (AM/AC), cefuroxime (CX), cefaclor (CF), cefotaxime (CT), ceftazidime (CZ), cefepime (CP), imipenem (IM), ciprofloxacin (CI), levofloxacin (LE), moxifloxacin (MO), ofloxacin (OF), erythromycin (ER), azithromycin (AZ),

tellithromycin (TL), clindamycin (CL) and tetracycline (TT).

Non-susceptibility rates (IR%) were as follows: PG 14.5 [0.8 %R], AP 11.1 [2.8], AM/AC 7.1 [0.3], CF 97.4 (27.0), CX 12.5 [11.9], CX-axetil (oral CX) 17.7 (12.6), CT 3.1 [0.3], CP 2.8 [0.3], IM 0 [0], CI 99.7 [8.0], LE 3.1 [3.1], MO 0.3 [0.3], OF 100 [1.4], ER/AZ 31.6 [30.7], TL 1.1 [0.3], CL 15.1 [15.1], TT 29.3 [26.2].

Compared to the 2010 survey, IR rates for PG (9.2%/14.5%), AP (6.2%/11.1%) and AM (3.5%/7.4%) increased significantly ($P < 0.05$). Highest PG-IR levels were found in the provinces of Liège (24.3%) and Hainaut (23.2%). 56.9% of the PG-IR strains belonged to the PCVaccin-13 (19A: 35.3%; 14: 9.0%; 6A: 5.9%; 19F: 3.9%; 6B: 2.0%) which were more present in adults (79.3%). PCV13 isolates had significant higher MIC (1.207 vs 0.622).

Rates were significantly higher in children than in adults for PG (25.7%/13.3%) and TT (44.2%/ 27.3%) ($P < 0.05$). We noticed a significant decrease in the proportion of children from 2006 (25.6%) to 2012 (12.3%). In the same period the presence of adults ≥ 60 y increased from 49.7% to 59.3% (mean age from 47.9y vs. 57y). Children were significantly more present in S (17.1%) and B (26.9%) than in N (5.0%).

Significant difference in IR between the South (S) and the North (N) were found for ER (39.0%/24.8%; $P < 0.01$) and overall IR (45.1%/34.2%; $P < 0.05$), and were due to S/N differences in adults. LE-IR was significantly higher in N (6.2%) than in S (0.6%) ($P < 0.05$). PG- (21.8%/11.8%; $P < 0.02$) and TT-IR (37.6%/26.4%; $P < 0.05$) were higher in ambulatory than in hospitalized patients.

Conclusion: the significant increase in PG-IR needs follow-up. The presence of vaccinal PG-IR isolates in adults demands a further evaluation. IM, MO and TL are the most active compounds.

608/97A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Observatoire régional du pneumocoque en Nord-Pas de Calais : résistance de *Streptococcus pneumoniae* en 2011.

A. Charlet¹, B. Dumoulard², D. Descamps², C. Cattoen², A. Vachée², A. Verhaeghe², S. Samaille², A. Decoster², J.G. Paul², M.N. Nouillard², M. Menouar², P. Patoz², S. Hendricx², M. Vasseur², J.M. Pannecouck², C. Rolland², R. Courcol¹, E. Wallet¹

¹Service de Bactériologie, Institut de Microbiologie, Centre de Biologie Pathologie, Lille ²Biologistes des Hôpitaux Généraux, Nord Pas De Calais, France

Objet de l'étude : Présenter les données de la résistance de Sp aux antibiotiques en Nord Pas de Calais à partir de souches isolées dans les infections invasives et les otites moyennes aiguës (OMA) chez l'adulte (A) et l'enfant (E).

Méthodes : En 2011, 422 souches de Sp isolées d'hémocultures (215A/111E), de LCR (24A/8E), de liquides pleuraux (6A/4E) et d'OMA (6A/65E) ont été recueillies. Les CMI de la pénicilline, de l'amoxicilline (AMX) et du céfotaxime (CTX) ont été déterminées par la méthode de référence selon les recommandations du CA-SFM. La sensibilité à l'érythromycine (ERY), au triméthoprim-sulfaméthoxazole (SXT), tetracycline (TET) et norfloxacine (NOR) ont été étudiées par diffusion en gélose, ATB pneumo ou VITEK 2. Le sérogroupage a été déterminé par agglutination latex (Lab CHU Poitiers)

Résultats : Le pourcentage de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) en 2011 est de 33% (35% en 2009). Les souches I+R à AMX et CTX sont de 15,4% et 6% respectivement (19% et 11% en 2009). Peu de souches sont totalement R à AMX (2%) et CTX (0,2%). L'OMA représente le site avec le taux de PSDP le plus élevé égal à 62% (73% en 2009). Les hémocultures présentent un taux de PSDP de 26% (29% en 2009) avec un pourcentage de I+R à AMX et CTX de 10% et 3,5% respectivement. La résistance à ERY, SXT, TET et NOR est de 41%, 17,5%, 26% et 6,4% respectivement versus 39%, 17%, 24% et 5,4% en 2009. Les sérogroupes les plus souvent retrouvés dans les hémocultures et les OMA sont le 19, 3 et 1.

Conclusion : La diminution du taux de PSDP aux bêta-lactamines se poursuit en Nord Pas de Calais. Cependant ce taux reste supérieur à la moyenne nationale (28%). Les autres antibiotiques restent à un niveau stable de résistance entre 2009 et 2011. La poursuite de la surveillance reste donc d'actualité.

609/97A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Observatoire régional du pneumocoque en région Pays de la Loire : résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en 2011.

M. Kempf^{1,2}, G. Auger^{1,2}, V. Cassisa^{1,2}, P. Andorin², G. Bonnaudet², S. Bourdon², G. Cheviet², J.Y. Darreau², G. de Gastines², D. Jan², E. Jaouen², M.E. Juvin², F. Joubert², M. Langedard², C. Le Brun², J.Y. Le Reste², B. Lureau², E. Mir², P. Morvan², M. Mozas², C. Varache², M. Eveillard^{1,2}, M.L. Joly-Guillou^{1,2}

¹Bactériologie, Laboratoire de Bactériologie, Angers ²Observatoire Régional du Pneumocoque, Région Des Pays De La Loire, France

Objectif : Décrire la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* dans l'Observatoire Régional du Pneumocoque (ORP) Pays de la Loire en 2011.

Méthode : En 2011 ont été étudiées 372 souches de pneumocoques isolées de liquides céphalo-rachidiens (LCR), d'hémocultures (HEM), de liquides pleuraux

(LPL) et de pus d'otite (OMA) chez l'adulte et l'enfant. Les CMI de la pénicilline (P), de l'amoxicilline (AMX) et du céfotaxime (CTX) ont été mesurées par le centre coordinateur, par la méthode de dilution en milieu gélosé. L'activité inhibitrice de l'érythromycine (E) et du cotrimoxazole (SXT) a été déterminée localement par méthode de diffusion en gélose, galerie ATB-Pneumo[®] ou carte VITEK2[®] (bioMérieux). Les résultats ont été interprétés selon les critères du CA-SFM 2008 pour permettre une comparaison avec les années précédentes.

Résultats : Les taux de résistance (I+R) étaient: P (27%), AMX (8%), CTX (7%), E (32%), SXT (22%). La résistance de haut niveau ne concernait que 4% des souches pour P (CMI>1 mg/L), 0,3% pour AMX et aucune pour CTX (CMI>2 mg/L). Les pneumocoques de sensibilité diminuée à P (PSDP-CMI>0,064mg/L) étaient fréquemment résistants à E (84%). Chez l'adulte, 309 souches ont été isolées, dont 90% d'HEM. La résistance à P était 24% (I=19%, R=3%), AMX 6% (I=5,6%, R=0,4%), CTX 5% (I=5%, R=0%). Concernant les LCR, 18 souches ont été isolées parmi lesquelles 5 étaient des PSDP (aucune souche résistante à la P). Toutes les souches étaient sensibles à l'AMX et au CTX. Chez l'enfant, 63 souches ont été isolées dont 30% d'HEM et 60% d'OMA. Les taux de résistance (I+R) dans les OMA étaient significativement plus élevés que dans les HEM, pour P, AMX et E (OMA: P=61%, AMX=29%, CTX=26%, E=66% - HEM: P=19%, AMX=11%, CTX=5%, E=21%). Enfin, 4 souches ont été isolées de LCR chez l'enfant, elles étaient toutes sensibles aux bêta-lactamines.

Conclusion : Dans l'ORP Pays de la Loire, la diminution de la résistance de Sp aux antibiotiques amorcée en 2003 (2003: 55% de PSDP, 2005: 49%, 2007: 39%, 2009: 28%) se confirme en 2011 (27% de PSDP, $p < 0.001$). Une diminution de la résistance aux autres antibiotiques a également été observée durant cette période. La surveillance de la résistance de Sp aux antibiotiques doit toutefois être poursuivie.

610/97A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Observatoire régional du pneumocoque en région Centre : évolution de la résistance aux antibiotiques en 2011.

E. Baticle¹⁴, A.L. Toyer¹⁴, P. Amirault¹⁵, M.N. Bachelier³, L. Bret¹⁰, B. Cattier¹, C. Chandresris⁹, V. Chieux⁴, G. Courrouble⁶, A.S. Domelier¹³, J.L. Graveron⁸, J. Guinard¹⁰, E. Haguenoer¹², P. Harriau¹¹, A. Holstein¹², C. Hombrouck-Alet², M.J. Kourta⁵, M.F. Lartigue¹³, A. Secher⁷, A. Goudeau¹⁴, P. Lanotte¹⁴

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

Objet de l'étude : Analyser les données de résistance de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques en région Centre en 2011.

Méthodes : Les souches isolées d'hémoculture, de liquides céphalo-rachidiens (LCR), de liquides pleuraux et de pus d'oreille moyenne collectées par 15 laboratoires publics et privés de la région Centre participants à l'Observatoire Régional du Pneumocoque (ORP) sont transmises au centre coordonnateur qui enregistre les données de sensibilité aux antibiotiques, et détermine les CMI en milieu gélosé pour la pénicilline, l'amoxicilline et le céfotaxime ainsi que les sérogroupes.

Résultats : Pour 2011, les souches provenant de 207 patients ont été analysées. Elles provenaient de 168 adultes (A) et de 39 enfants de moins de 16 ans (E). Il s'agissait de 151 hémocultures (A: 139/ E: 12), 24 pus d'oreille moyenne (A: 2/ E: 22), 26 LCR (A: 23/ E: 3), et 6 liquides pleuraux (A: 4/ E: 2). La proportion de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G (PSDP) (CMI> 0,064 mg/L) est de 28,5% pour l'ensemble des souches (PSDP enfant : 41% et PSDP adulte 25,6%). Les souches de sensibilité diminuée à l'amoxicilline et au céfotaxime (CMI> 0,5 mg/L) représentent respectivement 19,3% et 14% des souches. Les souches résistantes à l'amoxicilline (CMI> 2 mg/L) correspondent à 0,5% des souches. Aucune souche n'était résistante au céfotaxime. Parmi les souches isolées dans un contexte d'otite moyenne aiguë chez l'enfant, 40,9% sont des PSDP. Le nombre de souches présentant une CMI > à 0,5 mg/L est 2 mg/L parmi les 26 isolées de LCR étaient respectivement de 5 pour l'amoxicilline et de 2 pour le céfotaxime. Le séro groupe 19 est nettement majoritaire et devance les sérogroupes 1 et 3 tant chez l'adulte que chez l'enfant.

Conclusion : Le retour à une plus grande sensibilité des souches de pneumocoque aux bêta-lactamines, déjà observé depuis 2001 (56,8% en 2001, 46,7% en 2003, 45,5% en 2005, 39,6% en 2007, 34,5% en 2009 de PSDP respectivement) est confirmé pour l'année 2011. La poursuite de la surveillance apparaît indispensable du fait de la variation rapide des sérogroupes/sérotypes impliqués et de l'évolution des résistances associées en particulier depuis l'introduction en 2010 en France du vaccin Prevenar-13[®].

Évolution de la sensibilité de *Streptococcus pneumoniae* aux antibiotiques : résultats de l'Observatoire régional du pneumocoque Alsace-Année 2011.

G. Camdessoencs-Miehé⁶, A.R. Peluso⁶, L. Walther⁸, P. Barrand⁹, A. Boullenc⁹, S. Cron⁶, D. de Briel¹, J.M. Delarbre³, J.L. Flipo⁶, I. Glatz⁴, I. Grawey¹, T. Guedet⁷, A. Heidt², V. Herzig⁹, F. Jehl¹⁰, C. Lemble⁵, I. Mahoudeau⁷, V. Murbach¹⁰, C. Rieder⁷, M. Soller¹⁰, F. Tytgat⁴, A. Grave⁸
¹CH Colmar ²CH Haguenau ³CH Mulhouse ⁴CH Saverne ⁵CH Sélestat ⁶CH Wissembourg ⁷LABM, Colmar ⁸Centre Coordinateur ORP Alsace, Laboratoire de Microbiologie, Hôpital Emile Muller, Mulhouse ⁹LABM ¹⁰Laboratoire de Bactériologie, CHRU, Strasbourg, France

Depuis 1997 l'observatoire Régional du Pneumocoque Alsace participe au réseau de surveillance de l'évolution de la résistance aux antibiotiques des souches de *Streptococcus pneumoniae* et des sérogroupes en partenariat avec le CNR des Pneumocoques et l'InVS. En 2011, les 7 laboratoires hospitaliers et 3 groupements de laboratoires privés alsaciens participants ont isolé 169 *S. pneumoniae* de 144 hémocultures (HEM), 18 liquides céphalo-rachidiens (LCR), 3 liquides pleuraux (LPL) et 4 pus d'otites moyennes aiguës (OMA) chez 146 adultes et 23 enfants. Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la pénicilline G (P), de l'amoxicilline (AMX), du céfotaxime (CTX) et du ceftriaxone (CRO) ont été déterminées par dilution en agar, selon les recommandations du CA-SFM. L'interprétation s'est faite selon les recommandations du CA SFM 2007. La sensibilité des souches a été testée pour l'érythromycine, le cotrimoxazole, la tétracycline, la pristinamycine, la rifampicine, chloramphénicol, la fosfomycine et la vancomycine par diffusion en milieu gélosé. Le sérogroupage a été réalisé par agglutination latex (Laboratoire du CHU de Limoges).

Le tableau 1 présente les pourcentages des souches intermédiaires ou résistante à la PEN.

| | 2003 | 2005 | 2007 | 2009 | 2011 | Khi2 2009/2011 |
|------------------------------------|----------|----------|----------|----------|----------|-------------------|
| Ensemble des souches (% I+R/Total) | 43,7/190 | 34,1/208 | 29,0/176 | 29,1/185 | 23,1/169 | 0,041 |
| Adultes (% I+R/Total) | 40,6/128 | 31,4/159 | 28,0/150 | 27,2/151 | 19,9/146 | 0,046 |
| Enfants (% I+R/Total) | 50,0/62 | 43,8/48 | 34,6/26 | 38,2/34 | 43,5/23 | 0,053 |
| Hémocultures (% I+R/Total) | 40,0/125 | 31,1/151 | 26,0/146 | 25,8/151 | 20,1/144 | 0,104 |
| LCR (% I+R/Total) | 37,5/16 | 27,3/11 | 66,7/6 | 32,0/16 | 38,9/18 | NS |
| OMA (% I+R/Total) | 55,1/49 | 47,4/38 | 44,4/18 | 56,3/16 | 75,0/4 | NS |

Le pourcentage des pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G (PSDP) a globalement diminué de façon significative entre 2009 et 2011. Le pourcentage de PSDP isolés d'hémocultures diminue mais de façon non significative. Les prélèvements d'OMA ont fortement baissé, cette baisse a amplifié la diminution des chiffres globaux de PSDP et est probablement liée à une diminution de l'indication de ce type de prélèvement (échec thérapeutique). Le pourcentage des souches I+R à AMX; CTX et CRO était respectivement de 8,6; 6,2 et 5,6% versus 12,4; 7,5 et 4,8% en 2009. Les sérogroupes observés étaient par ordre de fréquence: 19, 7, 1, 6, 15, 3, 23 et 9, représentant 60,4% des isolats, 18,9% n'étaient pas agglutinables avec les panels utilisés.

En conclusion, le pourcentage des PSDP continue à baisser en Alsace depuis 2003, et reste toujours parmi les plus bas observés en France. Les souches de haut niveau de résistance restent rares.

Évolution de la résistance du pneumocoque aux antibiotiques en Limousin. Résultats de l'Observatoire régional du pneumocoque.

C. Grelaud⁸, C. Aupetit⁹, X. Balavoine⁷, O. Barraud⁸, F. Colas¹¹, D. Chagnaud¹⁰, P. Chambon³, J. Darrey⁴, F. Garnier⁸, P.Y. Guillot⁹, N. Hidri⁸, I. Lacherade⁹, C. Lemaire⁹, C. Martin⁹, T. Menard⁷, D. Merino³, D. Pressac¹², C. Rebeyrotte¹, O. Sevin⁵, A. Sommabere², M. Trazit¹³, F. Denis⁸, M.C. Ploy⁸
¹Bourgneuf ²CH Brive ³LABM, Couzeix ⁴CH Guéret ⁵LABM, La Souterraine ⁶Bactériologie, CHU ⁷Limoges ⁸St Julien ⁹LABM, St Yrieix La Perche ¹⁰CH, Tulle ¹¹LABM, Ussel, France

Les Observatoires Régionaux du Pneumocoque (ORP) étudient depuis plus de 15 ans l'évolution de la résistance aux antibiotiques et des sérogroupes du pneumocoque. L'ORP du Limousin est constitué de 1 CHU, 4 CHG et 10 laboratoires privés répartis sur les 3 départements (Corrèze, Creuse et Haute-Vienne). Tous les deux ans, cet ORP étudie l'ensemble des pneumocoques isolés dans ces laboratoires. Les CMI à la pénicilline (PEN), l'amoxicilline (AMX) et le céfotaxime (CTX) sont réalisées par la méthode de référence selon les recommandations du CA-SFM. La sensibilité aux autres antibiotiques, érythromycine (ERY), norfloxacine, triméthoprime-sulfaméthoxazole et rifampicine a été étudiée par diffusion en gélose. Le sérogroupage est déterminé par agglutination avec des particules de latex sensibilisées avec des antisérums spécifiques des sérogroupes 1, 3, 4, 5, 6, 8, 9, 14, 15, 18, 19 et 23 (Statens serum institut).

Le nombre de souches isolées en Limousin est à chaque période d'étude d'environ 400 souches (375 en 2011). En revanche, l'analyse par type de prélèvement montre qu'en 2011 le pourcentage de souches isolées de pus d'oreille (PUO) a beaucoup diminué (16,5% en 2011 vs 36,9% en 2009) alors que celui des souches isolées d'hémocultures (HEM) a augmenté (72,8% vs

47,2%). Le taux de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) en 2011 continue de diminuer dans les PUO (35,3% vs 38,9% en 2009) et les prélèvements respiratoires (RESP) (49,3% vs 52,4% en 2009) mais est en augmentation dans les HEM (37,3% vs 28,6%). Les résistances aux autres antibiotiques montrent une augmentation de souches I+R à l'ERY, quelle que soit la nature du prélèvement. Dans les RESP, les PSDP diminuent par rapport à 2009 mais ils restent plus élevés qu'en 2007 où on avait observé une baisse significative des résistances aux ATB.

En Limousin, la diminution de la résistance aux bêta-lactamines amorcée en 2007 continue en 2011. Les souches résistantes à l'AMX et au CTX ont presque disparu. Par contre, l'augmentation de la résistance à l'ERY est à surveiller. Les sérogroupes 4, 9, 14 et 18 contenus dans le vaccin Prévenar 7 continuent à diminuer mais les 6, le 19 et le 23 sont toujours présents. Ceci est peut-être du aux sérotypes 6A et 19A qui sont contenus maintenant dans le Prévenar 13.

Évolution de la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* en Champagne-Ardenne : 10 ans de suivi de 2001 à 2011.

V. Vernet Garnier⁶, J. Madoux⁶, T. Guillard⁶, L. Brasme⁶, O. Bajolet⁶, C. Alba³, C. Auvray², I. Baudinat¹, P. Bineau⁵, J.M. Garnier⁷, C. Lafaurie⁴, D. Simeon⁹, M. Thouvenin⁹, C. de Champs⁶
¹CH Chalons en Champagne, Chalons en Champagne ²CH Charleville-Mézières et Sedan, Charleville-Mézières ³CH Chaumont, Chaumont ⁴CH Epernay, Epernay ⁵CH Langres, Langres ⁶CHU Robert Debré ⁷LABM Gillard, Reims ⁸CH Saint-Dizier, Saint-Dizier ⁹CH Troyes, Troyes, France

Objectif : Étude de l'évolution de la résistance aux antibiotiques de *Streptococcus pneumoniae* (SP) en Champagne-Ardenne (CA) de 2001 à 2011.

Matériels et méthodes : Les souches dédoublonnées, isolées en situation pathogène, de SP ont été collectées sur 6 années: 2001, 2003, 2005, 2007, 2009 et 2011 dans 9 centres hospitaliers et un laboratoire privé formant l'Observatoire Régional du Pneumocoque de CA. Les souches ont été isolées, chez l'adulte et l'enfant, au niveau d'hémoculture (HEM), de liquide céphalo-rachidien (LCR), de pus d'oreille (OMA) et depuis 2009 de liquide pleural (LPL). La sensibilité aux différents ATB a été évaluée soit par la méthode de diffusion en gélose, soit par galeries ATB-pneumo ou cartes VITEK2[®] (bioMérieux). Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la pénicilline G (PEN), de l'amoxicilline (AMX) et du céfotaxime (CTX) ont été contrôlées, par le centre coordinateur, par la méthode de référence en milieu gélosé selon le CA-SFM.

Résultats : Au total, 897 souches de SP ont été isolées majoritairement d'HEM (77, 76, 82, 74, 70, 80%), puis d'OMA (17, 16, 13, 16, 10, 7%), de LCR (6, 8, 5, 8, 13, 8%) et de LPL (7,3% en 2009 et 4,8% en 2011)

Données du début à la fin de notre étude :

| Origine | Nombre de souches | | % de résistance (I+R) | | | | | | | | |
|---------|-------------------|------|-----------------------|------|--------|--------------|------|---------|------------|------|-------|
| | 2001 | 2011 | Pénicilline G | | | Amoxicilline | | | Céfotaxime | | |
| | | | 2001 | 2011 | p | 2001 | 2011 | p | 2001 | 2011 | p |
| Global | 164 | 145 | 53,8 | 26,4 | 10,6 | 21,8 | 5,6 | 0,00004 | 9,6 | 2,4 | 0,005 |
| Adultes | 116 | 119 | 46,9 | 23,2 | 0,0002 | 16,2 | 5,1 | 0,0005 | 9 | 2 | 0,02 |
| Enfants | 48 | 26 | 72,7 | 38,5 | 0,004 | 36,4 | 7,2 | 0,01 | 11,4 | 3,8 | NS |
| HEM | 126 | 100 | 49,2 | 25 | 0,0002 | 18,9 | 5 | 0,002 | 9,8 | 2 | 0,02 |
| OMA | 28 | 9 | 75 | 67 | NS | 35,7 | 11 | NS | 10,7 | 0 | NS |
| LCR | 10 | 10 | 50 | 10 | NS | 20 | 10 | NS | 0 | 10 | NS |

% de résistance aux autres ATB (I+R) pour l'ensemble des souches :

| Antibiotiques | 2001 | 2011 | p |
|-----------------|------|------|------------------|
| Erythromycine | 57,1 | 39,2 | 0,002 |
| Tétracycline | 35,9 | 21,3 | 0,01 |
| Cotrimoxazole | 42,7 | 15,2 | 10 ⁻⁷ |
| Chloramphénicol | 16,9 | 1,2 | 10 ⁻⁵ |

Entre 2001 et 2011, les souches de haut niveau de résistance à l'AMX ont évolué de 1,3 à 0,8% et de 0 à 0,8% pour le CTX (0% chez l'enfant et 0% chez l'adulte sauf 1% dans les HEM)

Conclusion : Cette étude a permis d'évaluer l'impact des recommandations de « bon usage des antibiotiques » mises en place fin 2002. On constate une diminution significative du % de pneumocoque de sensibilité diminuée à tous les ATB à l'exception du CTX, montrant l'intérêt de suivre les consommations de ceftriaxone en médecine de ville.

614/97A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Résistance aux antibiotiques et sérotypie du pneumocoque de 1995 à 2011 dans l'Observatoire régional du pneumocoque Provence (ORPP).

N. Brieu¹, E. Lagier¹, C. Pachetti¹, J. Gallou¹, N. Azas⁸, A. Benkemoun⁸, T. Bensaïd², C. Bosi³, P. Brisou¹⁸, P. Brunet¹², I. Butin⁹, S. Camiade¹³, M.C. de Barbentane⁴, J.M. Ferry¹³, M. Fullet⁶, T. Gaillard¹⁸, E. Garnotel¹¹, G. Imbert¹⁷, A. Merabet¹⁰, A. Michel¹², V. Negre¹⁵, C. Payen⁵, J. Perretti⁹, A. Raoult⁷, P. Rousselier¹⁶, D. Sansot¹⁷, P. Stoldi³, A. Toro¹⁵, L. Zangoli¹⁴, H. Chardon¹

¹CH du pays d'Aix ²LABM Tonin, Aix-en-Provence ³CH d'Aubagne, Aubagne ⁴CH d'Avignon, Avignon ⁵CH de Brignoles, Brignoles ⁶CH de Cavaillon, Cavaillon ⁷CH de Hyères, Hyères ⁸CH la Ciotat, La Ciotat ⁹LABM Manosque, Manosque ¹⁰Clinique Clairval ¹¹HIA de Laveran ¹²Hôpital Saint-Joseph ¹³LABM Alpha-bio ¹⁴LABM Langlais, Marseille ¹⁵CH de Martigues, Martigues ¹⁶CH de Salon de Provence, Salon de Provence ¹⁷CH de la Musse ¹⁸HIA de Toulon, Toulon, France

Au sein de l'ORPP, un suivi des sérotypes et des résistances aux antibiotiques des souches de pneumocoque isolées de patients ayant des infections invasives ou des otites moyennes aiguës, est organisé tous les deux ans.

De 1995 à 2011, toutes les souches de pneumocoques isolées dans le réseau, issues de liquides céphalorachidiens, d'hémocultures, de liquides pleuraux et de prélèvements d'oreille, sont transmises au centre coordinateur d'Aix-en-Provence. Dans ce centre, les CMI pour la pénicilline (PEN), l'amoxicilline (AMX) et le céfotaxime (CTX) sont déterminées par la méthode de dilution en gélose. Les sensibilités à l'érythromycine (E), aux fluoroquinolones, au cotrimoxazole (C), au chloramphénicol (Ch), et à la tétracycline (T) sont étudiées par diffusion en gélose. Un sérogroupage est effectué et complété par le Centre National de Référence.

Le nombre de souches incluses est stable. On note une légère diminution entre 2009 et 2011 (246 vs 196), due essentiellement à une diminution du nombre de prélèvements de paracentèse. Le pourcentage de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSPD) a progressé de 1995 à 2001 (36-55%) pour ensuite diminuer significativement de 2003 à 2007 (53-37%). En 2009, une recrudescence des PSPD a été observée dans notre bassin de population (39 vs 37% en 2007) pour reculer en 2011 (35%). Le taux de souches I+R à AMX et CTX a également diminué de 2001 à 2007, puis augmenté en 2009 (15% vs 29% pour AMX, 10 vs 13% pour CTX), pour revenir à un taux faible en 2011 (18% d'I+R à l'AMX, 6% pour CTX). Les résistances aux autres classes d'antibiotiques ont diminué de 2003 à 2007 (E: 58 vs 40%, C: 41 vs 30%, Ch: 15 vs 4% et T: 32 vs 30%) dans notre région comme au niveau national. Après une augmentation en 2009, on note une diminution des résistances en 2011 (E: 46 vs 36%, C: 34 vs 22%, Ch: 8 vs 4%) ou une stabilité (T: 32 vs 32%). On observe une modification des sérogroupes en circulation localement comme au niveau national.

Après une diminution des résistances aux antibiotiques jusqu'en 2007, et une légère augmentation des résistances aux β-lactamines et aux autres antibiotiques en 2009, nous montrons une nouvelle inversion de la tendance en 2011 avec une décroissance des résistances des souches de pneumocoques.

615/97A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

Activité in vitro des antibiotiques vis-à-vis de souches de Streptococcus pneumoniae (SP) isolées au cours d'infections respiratoires chez l'adulte en France métropolitaine en 2011/2012 : analyses globale et régionale.

H. Drugeon¹, A. Michaud-Nerard¹, N. Marty²

¹Drug R&D, Beaucouze ²Institut Fédératif de Biologie, Toulouse, 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 37 laboratoires de microbiologie hospitaliers français répartis en 8 régions administratives.

Méthodes : Les CMI des souches sont réalisées par un laboratoire central (Drug R&D, Beaucouze), par microdilution à pénicilline (PEN), amoxicilline (AMX), céfuroxime (CXM), céfepodoxime (CPD), érythromycine (ERY), télicycline (TEL), pristinamycine (PRI) et lévofloxacine (LVX). Les taux de souches sensibles (S), intermédiaires (I) et résistantes (R) ont été calculés conformément aux recommandations 2012 du CA-SFM.

Résultats : Parmi les 927 souches de SP isolées d'octobre 2011 à mars 2012, 44,9% sont de sensibilité diminuée à PEN (PSPD) dont 8,5 % sont résistantes et 41% possèdent un mécanisme de résistance à ERY. Concernant AMX, 3,3 % des souches sont résistantes avec une CMI > 2mg/L. La co-résistance PEN et ERY est présente dans 34,9% des souches.

Les pourcentages de S/R nationaux et selon la région administrative sont :

| | PEN | AMX | CFM | CPD | ERY | TEL | PRI | LVX |
|-----------------------------|-----------|----------|-----------|-----------|-----------|----------|----------|----------|
| Total (n=927) | 55,1/8,5 | 73,8/3,3 | 59,3/37,2 | 62,4/34,5 | 58,6/41,0 | 96,2/1,3 | 99,9/0,1 | 99,5/0,5 |
| IDF (n=181) | 55,8/7,7 | 75,7/5,5 | 60,2/36,5 | 63,5/33,1 | 60,8/39,2 | 95,6/1,1 | 100/0 | 99,4/0,6 |
| Est (n=154) | 57,8/5,2 | 74,0/3,2 | 60,4/34,4 | 64,3/32,5 | 60,4/39,6 | 95,5/1,3 | 100/0 | 100/0 |
| Rhône-Alpes-Auvergne (n=89) | 59,6/9,0 | 74,2/2,2 | 64,0/33,7 | 68,5/31,5 | 67,4/32,6 | 97,8/1,1 | 100/0 | 97,8/2,2 |
| Méditerranée (n=105) | 55,2/6,7 | 73,3/4,8 | 61,0/38,1 | 59,0/35,2 | 53,3/43,8 | 97,1/1,0 | 100/0 | 99,0/1,0 |
| Nord-Normandie (n=132) | 55,3/14,4 | 74,2/2,3 | 58,3/36,4 | 59,1/36,4 | 53,8/46,2 | 96,2/1,5 | 100/0 | 100/0 |
| Ouest (n=82) | 48,8/17,1 | 67,1/2,4 | 54,9/45,1 | 57,3/42,7 | 61,0/39,0 | 96,3/3,7 | 98,8/1,2 | 100/0 |
| Centre (n=99) | 52,5/5,1 | 73,7/2,0 | 58,6/38,4 | 62,6/33,3 | 56,6/42,4 | 94,9/1,0 | 100/0 | 100/0 |
| Sud-Ouest (n=85) | 52,9/4,7 | 75,3/2,4 | 55,3/38,8 | 63,5/34,1 | 55,3/44,7 | 97,6/0 | 100/0 | 98,8/1,2 |

Conclusion : Le taux de PSPD atteint 44,9% dont 8,5% de souches résistantes (variations interrégionales de 4,7% à 17,1%). La résistance à haut niveau à AMX reste faible (3,3 %). Le CFM et le CPD ont une activité similaire (59,3% et 62,4% de souches sensibles, respectivement). La résistance à ERY est de 41%. TEL, PRI et LVX conservent une très bonne activité sur SP.

616/97A 22 et 23 novembre 2012 - HALL PIERRE CURIE

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 depuis 2002.

H. Drugeon¹, A. Michaud-Nerard¹, N. Marty²

¹Drug R&D, Beaucouze ²Institut Fédératif de Biologie, Toulouse, France

Objectif : Depuis 2002, 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 des laboratoires de microbiologie hospitaliers français (36 à 42).

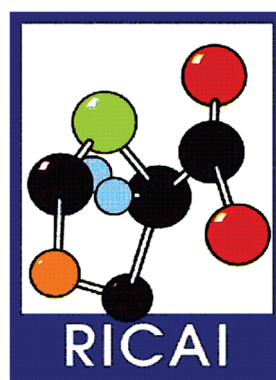
Méthodes : Pour chaque campagne, les laboratoires doivent isoler mensuellement 5 souches de SP d'octobre à mars. Les CMI des souches sont réalisées par un laboratoire central (Drug R&D, Beaucouze), selon la technique de microdilution vis-à-vis des antibiotiques suivants : pénicilline (PEN), érythromycine (ERY), amoxicilline (AMX), pristinamycine (PRI) et lévofloxacine (LVX). Les taux de souches sensibles (S) et résistantes (R) ont été calculés conformément aux recommandations 2012 du CA-SFM.

Résultats : 9878 souches ont été étudiées. Les pourcentages de I+R et/ou de R sont les suivants:

| Campagne (nombre d'isolats) | PEN | | AMX | | ERY | LVX | PRI |
|-----------------------------|------|-----|------|-----|------|-----|-----|
| | I+R | R | I+R | R | | | |
| Interprétation | | | | | | | |
| 2002-2003 (n=991) | 53,9 | 3,8 | 36,6 | 3,6 | 53,4 | 1,4 | 0 |
| 2003-2004 (n=1003) | 50,5 | 6,7 | 32,7 | 3,0 | 51,8 | 1,0 | 0 |
| 2004-2005 (n=1022) | 49,6 | 1,2 | 30,6 | 2,5 | 50,2 | 0,9 | 0,4 |
| 2005-2006 (n=1027) | 42,1 | 7,2 | 27,2 | 4,5 | 42,7 | 0,9 | 0,1 |
| 2006-2007 (n=1027) | 44,2 | 5,6 | 31,7 | 2,8 | 45,3 | 1,1 | 0,1 |
| 2007-2008 (n=1025) | 41,4 | 5,4 | 27,2 | 2,5 | 42,3 | 0,5 | 0,2 |
| 2008-2009 (n=979) | 42,3 | 4,2 | 25,5 | 3,1 | 35,1 | 0,4 | 0,1 |
| 2009-2010 (n=931) | 41,5 | 6,0 | 24,6 | 2,6 | 38,2 | 0,5 | 0,3 |
| 2010-2011 (n=946) | 42,6 | 6,9 | 22,8 | 1,6 | 36,2 | 0,3 | 0 |
| 2011-2012 (n=927) | 44,9 | 8,5 | 26,2 | 3,3 | 41,0 | 0,5 | 0,1 |

Conclusion : Le taux de pneumocoque de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSPD) a augmenté lors de la campagne 2011-2012 à 44,9%. La résistance de haut niveau à PEN augmente légèrement depuis 2008-2009 et atteint 8,5%. La résistance à AMX a augmenté lors de la dernière campagne pour atteindre 26,2% de souches I+R et 3,3% de souches R. La résistance aux macrolides relativement stable depuis 2008-2009 a augmenté en 2011-2012. La résistance à LVX est stable, actuellement de 0,5%. PRI conserve une bonne activité: les souches R restent anecdotiques.

INDEX DES AUTEURS
AUTHORS INDEX



| A | | Auteur/Co-Auteur | | | |
|----------------------|--|---|-------------------------|-------------------------------------|------------------|
| Abache A. | | 494/87A | Arsac F. | | 321/72A |
| Abbassi M.S. | | 219/53o | Arzouni J.P. | | 574/94A |
| Abdelmalek R. | 370/76A, 456/84A, 558/93A | 152/36o | Asehnoune K. | | 52/12o |
| Abgueguen P. | | 63/15o, 387/78A | Aslangul E. | 139/33o, 140/33o, | 274/67A |
| Abi R. | | 431/82A, 432/82A, 553/92A | Asselin I. | | 336/74A |
| Abidi S. | | 46/10o | Asselineau J. | | 334/74A |
| Abiteboul D. | | 577/94A | Assouline-Azogui C. | | 178/44o |
| Abousaad A. | | 127/31o | Astagenau P. | | 202/49SEP |
| About F. | | 507/88A, 515/89A | Attali I. | | 418/80A |
| Abrao E. | | 540/90A | Attrée I. | | 591/95A |
| Achard H. | | 578/94A | Aubert J.P. | | 125/31o |
| Achir N. | | 323/73A, 327/73A, 455/84A | Aubin G.G. | 138/33o, 288/68A, 349/76A, | 562/94A |
| Adda L. | | 133/32o | Aubry A. | 53/12o, 278/67A, 378/77A, | 394/78A |
| Ader F. | | 102/26o, 373/77A | Auger G. | | 609/97A |
| Adouko E. | | 428/81A | Aujard Y. | | 548/92A |
| Afiri M. | | 323/73A, 327/73A, 455/84A | Aupee M. | | 412/80A, 492/87A |
| Agapit X. | | 513/88A | Aupetit C. | | 612/97A |
| Agut H. | 186/45o, 189/45o, 507/88A, 515/89A, 516/89A | 186/45o | Ausset S. | | 450/84A |
| Aimé C. | | 448/84A, 558/93A | Auvray C. | | 613/97A |
| Aissa S. | | 434/82A | Avrillon V. | | 373/77A |
| Aissat F. | | 327/73A, 455/84A, 578/94A | Ayadi I. | | 529/89A |
| Ait Ameer A. | | 186/45o, 516/89A | Aydi Y. | | 561/93A |
| Ait-Arkoub Z. | | 434/82A | Ayouni S. | | 527/89A |
| Aknouche K. | | 368/76A | Azas N. | | 614/97A |
| Akoua-Koffi C. | | 428/81A | Azzam A. | | 578/94A |
| Akoubet A. | | 151/36o | | | |
| Alain S. | | 544/91A, 546/91A | B | Auteur/Co-Auteur | |
| Alaoui S. | | 346/75A | Baba Ahmed-Kazi Tani Z. | | 573/94A |
| Alauzet C. | | 498/87A | Bach V. | 470/85A, | 502/87A |
| Alaya F. | | 613/97A | Bache S. | | 494/87A |
| Alba C. | | 606/97A | Bachelier M.N. | | 610/97A |
| Albertini M.T. | | 513/88A | Bacle G. | | 482/85A |
| Alessandri E. | | 302/69A | Badell E. | | 14/3o |
| Alidjinou K. | | 364/76A | Baghdikian B. | | 165/39o |
| Alioua M.A. | | 468/85A | Bahloul Z. | | 561/93A |
| Alkahef A. | | 6/1o | Bahri O. | 289/68A, 298/69A, | 477/85A |
| Almirante-Gragera B. | | 463/84A | Bajolet O. | | 613/97A |
| Alvarez M. | | 141/33o, 142/33o | Bakiri S. | | 542/91A |
| Amador G. | | 526/89A | Bakour R. | | 583/94A |
| Amarouch H. | | 544/91A, 546/91A | Balan O. | | 584/94A |
| Amarti A. | | 247/60s, 527/89A | Balavoine X. | | 612/97A |
| Amdiouni H. | | 526/89A | Balayn D. | | 112/28o |
| Amhis W. | | 594/95A | Ballereau F. | 295/68A, 411/80A, | 569/94A |
| Amichia M. | | 428/81A | Bancourt T. | | 318/72A |
| Amirault P. | | 610/97A | Bañuls A.L. | | 378/77A |
| Ammari L. | 370/76A, 448/84A, 456/84A, 558/93A | 610/97A | Bär W. | | 514/88A |
| Ammouche D. | | 289/68A, 298/69A, 477/85A | Baraduc R. | | 604/97A |
| Amrane A. | | 434/82A | Baratin D. | | 447/84A |
| Andorin P. | | 609/97A | Barbier F. | | 12/2o |
| Andre N. | | 116/28o | Barbut F. | 38/9SR, 85/21DP, 397/79A, 399/79A, | 402/79A, 403/79A |
| André C. | | 297/69A, 571/94A | Bardel C. | | 539/90A |
| André-Garnier E. | | 506/88A | Barguelli F. | | 588/95A |
| Andrejak C. | | 155/37s | Bargues L. | 25/6o, 238/58DP, 450/84A, 471/85A, | 472/85A |
| Andremont A. | 42/10o, 55/12o, 65/15o, 198/48o, 199/48o, 201/48o, 220/54s, 282/67A, 331/74A, 364/76A, 568/94A | 610/97A | Barguigua D. | | 572/94A |
| Andréoletti L. | 83/21DP, 110/27o, 147/36o, 149/36o, 443/83A, 520/89A | 65/15o | Bar-Hen A. | | 501/87A |
| Angebault C. | | 412/80A | Barnaud A. | | 378/77A |
| Angora P. | | 71/16o | Barnaud G. | | 312/71A |
| Annereau M. | | 107/27o | Barnier J.P. | | 24/6o |
| Ansart I. | | 183/44o | Barrand P. | | 611/97A |
| Ansart S. | | 71/16o | Barraud O. | 342/75A, 343/75A, | 612/97A |
| Antignac M. | | 383/77A, 384/77A | Barrault L. | | 402/79A |
| Antoine D. | | 332/74A | Barre O. | | 505/88A |
| Aoun R. | | 527/89A, 582/94A | Barrey C. | | 102/26o |
| Aouni M. | | 464/84A | Barry M. | | 503/87A |
| Aoussi E. | | 472/85A, 473/85A, 480/85A | Baruchel A. | | 69/16o |
| Appere G. | | 463/84A | Basmaci R. | | 549/92A |
| Archambaud M. | | 308/70A | Bastides F. | | 554/92A, 593/95A |
| Archambeau D. | | 132/32o, 538/90A | Bastit D. | | 461/84A |
| Argaud L. | | 218/53o, 281/67A, 376/77A, 565/94A, 573/94A | Batalla A.S. | | 310/70A |
| Ariet G. | | 418/80A, 501/87A | Batard E. | 130/31o, 286/68A, | 417/80A |
| Armand N. | | 65/15o, 198/48o, 199/48o, 201/48o, | Batard M.L. | | 524/89A |
| Armand-Lefèvre L. | | 331/74A, 568/94A | Baticle E. | | 610/97A |
| Arnaud I. | | 204/49SEP | Battikh Maaouia H. | | 547/91A, 575/94A |
| Arnould J.F. | | 82/21DP | Baud O. | | 418/80A |
| Arowas L. | | 518/89A | Baudet H. | | 128/31o |
| Arpin C. | | 297/69A, 571/94A | Baudinat I. | | 613/97A |
| Arrayhani M. | | 490/87A | Baverel J. | | 356/76A |
| | | | Beauruelle C. | | 341/75A |
| | | | Beausir A. | | 318/72A |
| | | | Bébéar C. | 261/64s, 266/65s, 267/65s, 330/74A, | 334/74A, |
| | | | | | 338/74A |
| | | | Béchet S. | 136/32o, 552/92A, | 600/96A |

| | | | |
|---------------------|---|---------------------|---|
| Beclin E. | 350/76A, 570/94A | Besbes S. | 313/71A |
| Bedos J.P. | 133/32o, 460/84A | Bessanane K.N.S. | 257/63o |
| Bekhti K. | 366/76A | Bessède E. | 439/83A, 440/83A, 541/91A, 542/91A, 545/91A |
| Bel Hadj O. | 588/95A | Besson M. | 418/80A |
| Belabbes H. | 259/63o, 458/84A | Bestaoui S. | 555/93A, 556/93A |
| Belefquih B. | 511/88A | Bestion A. | 397/79A |
| Belghiti J. | 10/2o, 68/16o | Bétend F. | 531/90A |
| Belhiba M. | 107/27o | Beyrouthy R. | 562/94A |
| Belkacem A. | 578/94A | Bialek-Davenet S. | 287/68A, 567/94A |
| Belkadi Kouiad A. | 432/82A | Bidet P. | 549/92A, 600/96A |
| Belkadi Kouied S.A. | 553/92A | Biendo M. | 351/76A, 395/79A, 502/87A, 503/87A |
| Bellais S. | 13/3o | Bienvenu F. | 382/77A |
| Bellanger A.P. | 444/84A, 484/86A | Bienvenu J. | 382/77A |
| Bellasoued W. | 289/68A | Biering V. | 28/6o |
| Bellon C. | 378/77A | Bigaillon C. | 166/39o |
| Bellon G. | 539/90A | Bihan K. | 236/58DP |
| Bellon O. | 41/10o, 301/69A, 580/94A | Bilhaut J.P. | 517/89A |
| Belloui A. | 594/95A | Billard-Pomares T. | 312/71A |
| Belmekki M. | 351/76A, 395/79A, 503/87A | Billaud G. | 233/58DP, 499/87A |
| Belmiloudi S. | 508/88A | Billoët A. | 333/74A, 346/75A |
| Belmonte O. | 586/95A | Billon L. | 419/81A |
| Belorgey S. | 42/10o, 199/48o, 201/48o | Bineau P. | 613/97A |
| Belotti P.T. | 297/69A | Binet M. | 495/87A |
| Beltzer N. | 27/6o | Bingen E. | 136/32o, 548/92A, 549/92A, 552/92A, 600/96A |
| Bémer P. | 385/77A | Birgand G. | 42/10o, 198/48o, 199/48o, 201/48o, 397/79A, 568/94A |
| Ben Abdennebi Y. | 298/69A, 477/85A | Bissagné E. | 428/81A, 464/84A |
| Ben Amor R. | 298/69A | Blaise-Stevens A. | 496/87A |
| Ben Fathallah M. | 289/68A | Blanchard H. | 26/6o |
| Ben Hadj Fredj M. | 525/89A, 528/89A | Blanche S. | 72/16o |
| Ben Jemaa M. | 322/73A, 322/73A | Blanchet B. | 308/70A |
| Ben Jemaa R. | 313/71A | Blandin E. | 282/67A |
| Ben Kahla I. | 244/59o | Bleibtreu A. | 11/2o, 54/12o, 315/71A |
| Ben Khelifa S. | 289/68A | Bloom M.C. | 361/76A |
| Ben Lamine Y. | 313/71A | Blot R.M. | 472/85A |
| Ben Lasfar N. | 3/1o | Bodmer T. | 514/88A |
| Ben Moussa M. | 588/95A | Bogaerts P. | 240/59o, 256/63o |
| Ben Neji H. | 298/69A, 477/85A | Boibieux A. | 101/26o, 102/26o, 103/26o |
| Ben Saïd M. | 16/3o | Boiron P. | 463/84A |
| Benabbes L. | 526/89A | Boisseau D. | 437/82A |
| Benabdellah A. | 431/82A, 432/82A, 433/82A, 435/82A | Boisset S. | 120/29s, 314/71A |
| Benachi A. | 598/96A | Boisson M. | 113/28o |
| Benaïssa S. | 469/85A | Boivin G. | 188/45o |
| Benajah D. | 544/91A, 546/91A | Bolinde F. | 539/90A |
| Benamrouche N. | 534/90A | Bonacorsi S. | 548/92A, 549/92A, 600/96A |
| Benchikh A. | 3/1o | Bonhomme J. | 478/85A |
| Benchikh Z. | 426/81A, 606/97A | Boni-Cissé C. | 368/76A |
| Bendjelloul G. | 200/48o | Bonnafous P. | 189/45o, 507/88A, 515/89A |
| Benejat L. | 147/36o, 543/91A | Bonnal C. | 475/85A |
| Bénet T. | 132/32o, 500/87A, 531/90A, 538/90A | Bonnand M. | 418/80A |
| Benito Y. | 404/79A | Bonnaudet G. | 609/97A |
| Benkemoun A. | 614/97A | Bonnaure-Mallet M. | 296/68A |
| Benlazar F. | 555/93A | Bonnet F. | 407/80A |
| Benmansour Z. | 479/85A | Bonnet N. | 508/88A |
| Bennani B. | 544/91A, 546/91A | Bonnet R. | 35/8SEP, 277/67A, 284/67A, 562/94A, 563/94A, 564/94A, 597/96A |
| Bennegadi D. | 475/85A | Bonnet S. | 450/84A |
| Benredouane M. | 594/95A | Bonnin R. | 214/53o, 216/53o, 283/67A |
| Bensa Q. | 486/86A | Bonomo R. | 214/53o |
| Bensadoun F. | 553/92A | Bontemps H. | 408/80A |
| Bensaid T. | 614/97A | Boo N. | 335/74A |
| Beraud G. | 230/57ss | Borderan G.C. | 495/87A |
| Berdougo B. | 127/31o | Boronina L. | 363/76A |
| Beretti J.L. | 235/58DP | Boruchowicz A. | 2/1o |
| Berger P. | 77/19sR | Boschiroli M.L. | 378/77A |
| Bergeron A. | 108/27o | Bosi C. | 614/97A |
| Berhin C. | 280/67A | Botelho-Nevers E. | 405/79A |
| Bernard C. | 278/67A, 379/77A, 560/93A | Botterel F. | 23/6o, 24/6o |
| Bernard L. | 329/73A, 409/80A, 436/82A, 482/85A, 554/92A | Bouallegue O. | 324/73A, 369/76A, 498/87A |
| Bernardet J.F. | 378/77A | Bouaziz A. | 101/26o |
| Bernard-Henry C. | 524/89A | Bouchaib H. | 323/73A, 327/73A, 455/84A |
| Bernet C. | 26/6o, 418/80A | Bouchand F. | 415/80A |
| Berrebi A. | 178/44o | Bouchaud O. | 459/84A |
| Berriche A. | 370/76A, 448/84A, 456/84A, 558/93A | Bouchene Z. | 469/85A |
| Berruchon J. | 262/64s | Boucherit-Otmani Z. | 573/94A |
| Bert F. | 10/2o, 68/16o, 567/94A | Bouchrif B. | 259/63o |
| Bertaiola L. | 279/67A | Boudot E. | 418/80A |
| Berthélé C. | 196/48o | Bouharrou A. | 64/15o |
| Berthelot P. | 354/76A, 405/79A, 493/87A, 504/87A | Bouilloux J.P. | 574/94A |
| Bertine M. | 364/76A | Bouin A. | 83/21DP, 149/36o, 443/83A |
| Bertin-Hugault F. | 418/80A | Boujaafar N. | 324/73A, 369/76A, 498/87A, 528/89A |
| Bertrand S. | 607/97A | Boukadida J. | 244/59o |
| Bertrand X. | 45/10o, 566/94A, 585/94A, 592/95A | Boukhrissa H. | 430/82A |
| Bes M. | 16/3o, 252/61o, 354/76A, 356/76A, 358/76A | | |

| | | C | Auteur/Co-Auteur |
|------------------------|---|------------------------|---|
| Boulagnon C. | 83/21DP, 443/83A, 520/89A | Cabanes E. | 125/31o |
| Boulamery A. | 114/28o, 116/28o | Cabaret O. | 24/6o |
| Bouler J.M. | 141/33o | Cabasso M.C. | 339/74A |
| Boullenc A. | 611/97A | Cabo A. | 494/87A |
| Bounaadja L. | 188/45o | Cadière A. | 311/71A |
| Boumar-Kechih S. | 583/94A | Cadranel J. | 376/77A |
| Bouquigny M. | 606/97A | Caillon J. | 52/12o, 130/31o, 141/33o, 142/33o, 250/61o, 285/68A, 295/68A, 309/70A, 371/76A, 411/80A, 569/94A, 592/95A |
| Bour J.B. | 527/89A | Cambau E. | 87/21DP, 215/53o, 218/53o, 374/77A, 378/77A |
| Bourdalin M. | 408/80A | Camdessoucens-Miehé G. | 611/97A |
| Bourdon S. | 609/97A | Camiade S. | 614/97A |
| Bourgault-Villada I. | 229/56s | Camou C. | 545/91A |
| Bourgeois-Nicolaos N. | 139/33o, 140/33o, 274/67A, 598/96A | Camou F. | 5/1o, 70/16o, 321/72A |
| Bourguignon M.P. | 273/67A | Canarelli B. | 326/73A, 351/76A, 395/79A |
| Bourhy H. | 49/11s | Canis F. | 2/1o, 302/69A |
| Bournazeau J.A. | 332/74A | Carbonnelle E. | 7/2o, 347/75A |
| Bourouis A. | 588/95A | Carcelain G. | 46/10o |
| Bourrel A.S. | 359/76A | Cardoso G. | 446/84A |
| Bouscambert-Duchamp M. | 22/5SEP, 499/87A | Carlier R. | 329/73A |
| Bousquet A. | 63/15o, 66/15o, 166/39o, 387/78A, 450/84A | Carlotti A. | 557/93A |
| Bout H. | 497/87A | Caroff N. | 138/33o, 250/61o, 286/68A, 349/76A |
| Boutet Dubois A. | 61/15o, 299/69A | Caron F. | 36/8SEP, 416/80A, 590/95A |
| Boutoille D. | 385/77A | Carrat F. | 501/87A |
| Boutolleau D. | 186/45o, 515/89A, 516/89A | Carretero P. | 372/76A |
| Bouvet A. | 4/1o, 346/75A, 596/96A | Carricajo A. | 354/76A, 405/79A, 493/87A |
| Bouvet E. | 3/1o, 331/74A | Carrière C. | 352/76A |
| Bouveyron C. | 356/76A | Cartier C. | 215/53o |
| Bouziane F. | 374/77A | Casado C. | 393/78A |
| Boyer M. | 454/84A | Casalegno J.S. | 109/27o, 187/45o, 233/58DP, 499/87A |
| Boyer P.H. | 235/58DP, 401/79A, 404/79A, 543/91A | Casanova F. | 598/96A |
| Boyer-Cazajous G. | 375/77A | Casper C. | 361/76A |
| Boyer-Chamard T. | 125/31o | Cassier P. | 532/90A |
| Braden J. | 491/87A | Cassisa V. | 609/97A |
| Branger C. | 312/71A | Castellain S. | 151/36o |
| Brasme L. | 613/97A | Catherinot E. | 150/36o |
| Bréchet C. | 585/94A | Catry B. | 256/63o |
| Bressollette C. | 505/88A | Cattier B. | 601/96A, 610/97A |
| Bret L. | 610/97A | Cattoen C. | 302/69A, 608/97A |
| Bretagne S. | 26/6o | Cattoir V. | 54/12o, 169/40s, 540/90A |
| Breyse F. | 255/63o, 373/77A | Caulin E. | 446/84A, 447/84A |
| Bricaire F. | 593/95A | Cavalié L. | 178/44o, 361/76A, 397/79A |
| Brière M. | 234/58DP | Cayrol G. | 189/45o |
| Brieu N. | 9/2o, 61/15o, 602/96A, 614/97A | Cazal Gamelsi R. | 429/82A |
| Briolant S. | 164/39o | Cazals X. | 554/92A |
| Brion J.P. | 393/78A | Cerf C. | 307/70A |
| Brisabois A. | 357/76A | Chabaa L. | 577/94A |
| Brisou P. | 614/97A | Chabé M. | 23/6o |
| Brisse S. | 26/6o | Chabrol. A. | 150/36o |
| Brocard A. | 606/97A | Chachaty E. | 55/12o |
| Broquet A.H. | 52/12o | Chagnaud D. | 612/97A |
| Brossier F. | 53/12o, 278/67A, 379/77A, 394/78A, 557/93A | Chaillon A. | 554/92A |
| Brouard B. | 308/70A | Chaine F.X. | 28/6o |
| Broutin V. | 378/77A | Chambon P. | 612/97A |
| Broyelle A. | 602/96A | Chambonnier L. | 439/83A, 440/83A, 441/83A |
| Broyon J. | 337/74A | Chami K. | 501/87A |
| Bru P. | 388/78A | Chanard E. | 390/78A |
| Bruce K. | 24/6o | Chandenier J. | 482/85A |
| Bruguerolle B. | 114/28o | Chandesris C. | 610/97A |
| Brun M. | 604/97A | Chaouch C. | 324/73A, 369/76A, 498/87A |
| Brun Buisson C. | 127/31o, 197/48o | Chaplain C. | 423/81A, 510/88A |
| Brunet A. | 461/84A | Chapron J. | 94/23SEP |
| Brunet P. | 114/28o, 614/97A | Chapuis O. | 450/84A |
| Bruneval P. | 83/21DP, 110/27o, 443/83A | Chapus C. | 165/39o |
| Brunschweiler B. | 326/73A | Chardon H. | 9/2o, 252/61o, 491/87A, 602/96A, 604/97A, 614/97A |
| Buffet Delmas P. | 116/28o | Charlet A. | 608/97A |
| Buffet-Bataillon S. | 296/68A | Charlier-Woerther C. | 171/41s |
| Bugier S. | 238/58DP | Charlois-Ou C. | 335/77A |
| Bui T.V. | 383/77A, 384/77A, 560/93A | Chartier V. | 491/87A |
| Buissonnière A. | 56/12o, 439/83A | Chastre J. | 394/78A |
| Büke C. | 65/15o | Chatron N. | 255/63o |
| Bun S.S. | 163/39o | Chau F. | 11/2o, 54/12o, 87/21DP, 374/77A |
| Burdet C. | 3/1o, 11/2o, 548/92A | Chauffour A. | 53/12o |
| Burduniuc O. | 65/15o | Chaussade H. | 554/92A |
| Burgard M. | 128/31o | Chauvet A. | 172/41s |
| Burghoffer B. | 399/79A | Chauvin C. | 584/94A |
| Burrel S. | 186/45o, 515/89A, 516/89A | Chavanet P. | 139/33o |
| Burucoa C. | 44/10o, 95/23SEP | Che D. | 383/77A, 384/77A |
| Butel M.J. | 140/33o, 274/67A | Chelala T. | 400/79A |
| Butin I. | 614/97A | Chen J. | 509/88A |
| Buzelé R. | 409/80A | Chenafi Y. | 578/94A |
| Buzzi J.C. | 397/79A | Chêne G. | 267/65s, 334/74A |

| | | | |
|-----------------------|---|--------------------------|---|
| Cheneau C. | 524/89A | Crockett F. | 374/77A |
| Chenilleau-Vidal M.C. | 375/77A | Croisier-Bertin D. | 139/33o, 140/33o |
| Chennebault J. | 152/36o | Croizé J. | 182/44o, 393/78A, 604/97A |
| Cheret A. | 193/47SEP | Cron C. | 463/84A |
| Cherot J. | 106/27o | Cron S. | 611/97A |
| Cheviet G. | 609/97A | Cronenberger S. | 531/90A |
| Chevret S. | 69/16o | Cruaud P. | 400/79A |
| Chevrie N. | 495/87A | Cua E. | 320/72A |
| Chevrier M. | 392/78A | Curel C. | 372/76A |
| Chiboub E. | 303/69A | Curinier S. | 597/96A |
| Chidiac C. | 75/19SR, 101/26o, 102/26o, 103/26o, 123/30s | Curis E. | 308/70A |
| Chieux V. | 610/97A | Cuzon G. | 253/61o, 512/88A |
| Chignon E. | 153/37s | | |
| Chihi H. | 588/95A | D | Auteur/Co-Auteur |
| Chiron R. | 451/84A | Da Silva S. | 139/33o |
| Choisy M. | 378/77A | Daban J.L. | 473/85A, 480/85A |
| Chollet-Martins S. | 46/10o | Dahmen S. | 249/61o, 581/94A, 582/94A |
| Cholley P. | 251/61o, 254/61o, 585/94A | Dahyot S. | 602/96A |
| Chomarar M. | 255/63o, 373/77A | Daikos G. | 70/16o |
| Chopin M.C. | 2/1o | Dailloux J.F. | 436/82A |
| Chosidow O. | 72/16o | Dallay D. | 334/74A |
| Chouaki T. | 28/6o | Dalle J.H. | 69/16o |
| Choudat L. | 3/1o | Dallen C. | 240/59o |
| Chouikha A. | 525/89A, 528/89A | Dallenne-Redgosz C. | 281/67A |
| Choutet P. | 467/84A | Dalmay F. | 604/97A |
| Chrisment D. | 321/72A | Damiani C. | 470/85A |
| Christian B. | 111/27o | Danis M. | 162/39o |
| Cirrode A. | 238/58DP | Darque A. | 522/89A |
| Claeys G. | 290/68A | Darreau J.Y. | 609/97A |
| Claris O. | 16/3o | Darreye J. | 612/97A |
| Clerc M. | 338/74A | Daull E. | 17/3o |
| Clermont O. | 315/71A, 548/92A | Daurel C. | 179/44o |
| Cloekaert A. | 217/53o | Dauwalder O. | 252/61o, 401/79A, 404/79A, 452/84A, 543/91A |
| Cocquerelle V. | 389/78A | David G. | 408/80A |
| Cohen R. | 136/32o, 272/66s, 552/92A, 600/96A | David M. | 461/84A |
| Coignard B. | 26/6o, 85/21DP, 397/79A, 467/84A | David S. | 317/72A |
| Coignard S. | 557/93A | Davido B. | 100/26o, 104/26o, 117/28o, 305/69A, 325/73A |
| Cojocar R. | 65/15o | Davieau M. | 52/12o, 285/68A, 371/76A |
| Colas F. | 612/97A | Davin Regli A. | 61/15o |
| Colboc H. | 333/74A | de Barbentane M.C. | 614/97A |
| Collignon A. | 37/9SR, 400/79A | de Barbeyrac B. | 261/64s, 267/65s, 334/74A, 338/74A |
| Collin E. | 549/92A | de Briel D. | 126/31o, 453/84A, 611/97A |
| Collobert G. | 333/74A, 346/75A, 596/96A | de Champs C. | 87/21DP, 147/36o, 215/53o, 613/97A |
| Colomb M. | 406/80A | de Farcy A. | 127/31o |
| Combes A. | 394/78A | de Gastines G. | 609/97A |
| Comets E. | 112/28o | de Gunzburg J. | 55/12o |
| Compain F. | 347/75A | de la Blanchardière A. | 478/85A |
| Comte B. | 500/87A | de Lapasse C. | 332/74A |
| Conscience B. | 356/76A | de Lastours V. | 11/2o, 12/2o |
| Coppy M. | 569/94A | de Leeuw C. | 396/79A |
| Corbi P. | 44/10o | de Loynes B. | 450/84A |
| Cordier A.G. | 598/96A | de Mautort E. | 524/89A |
| Cornu M. | 28/6o | De Montclos M. | 255/63o |
| Corvec S. | 138/33o, 250/61o, 286/68A, 288/68A, 349/76A, 417/80A, 562/94A | de Mouy D. | 574/94A |
| | | de Muret A. | 482/85A |
| Costa Y. | 592/95A | de Pinieux G. | 482/85A |
| Coste J.F. | 147/36o | de Pinieux I. | 519/89A |
| Coste-Burel M. | 505/88A, 506/88A | de Pontfarcy A. | 125/31o, 422/81A, 475/85A |
| Costet P. | 441/83A | de Rougemont A. | 147/36o, 246/60s |
| Cottard-Boulle B. | 200/48o | de Rudnicki S. | 450/84A |
| Cottier J.P. | 554/92A | de Salvador-Guillouet F. | 320/72A |
| Couderc L.J. | 150/36o | de Truchis P. | 100/26o |
| Coudrais S. | 134/32o | de Wazières B. | 501/87A |
| Couet W. | 112/28o, 113/28o, 175/43s, 307/70A | Deback C. | 516/89A |
| Coulange-Mayonnove L. | 297/69A, 571/94A | Debien B. | 473/85A, 480/85A |
| Courbière E. | 273/67A | Debrumetz A. | 147/36o |
| Courbil R. | 26/6o | Decool V. | 302/69A |
| Courcol R. | 235/58DP, 608/97A | Decoster A. | 608/97A |
| Coureuil M. | 51/12o | Decousser J.W. | 24/6o, 293/68A, 359/76A, 360/76A |
| Cournoyer B. | 539/90A | Decré D. | 573/94A |
| Courouble G. | 610/97A | Decroix V. | 550/92A |
| Courroux C. | 549/92A | Dediste A. | 488/86A |
| Coursier S. | 408/80A | Defrance G. | 422/81A |
| Courtais C. | 352/76A | Dehan C. | 375/77A |
| Courvalin P. | 282/67A | Dei-Cas E. | 23/6o |
| Cousin P.Y. | 282/67A | Deighton M. | 16/3o |
| Couturier E. | 97/24s | Dekeyser S. | 350/76A, 353/76A, 570/94A |
| Couzon B. | 460/84A | Dekhil M. | 364/76A, 572/94A |
| Crémet L. | 250/61o, 562/94A | Del Bano J.N. | 291/68A |
| Crémieux A.C. | 79/20ss, 104/26o, 117/28o, 305/69A, 325/73A, 415/80A | Del Signore C. | 447/84A |
| Cremniter J. | 604/97A | Delacour H. | 62/15o, 387/78A |
| Crisment D. | 441/83A | Delage A. | 148/36o |

| | | | |
|---------------------|---|-------------------------|---|
| Delahaye F. | 416/80A | Donnio P.Y. | 211/52s, 492/87A |
| Delamare C. | 111/27o | Donny P. | 295/68A, 569/94A |
| Delamare M. | 331/74A | Dormoi J. | 164/39o |
| Delarbre J.M. | 592/95A, 611/97A | Dortet L. | 212/52s, 239/59o, 241/59o |
| Delaroziere J.C. | 418/80A | Dos Santos S. | 304/69A |
| Delaune D. | 63/15o | Dosso M. | 368/76A |
| Delbreuve A. | 392/78A | Doublet B. | 217/53o |
| Delhaes L. | 23/6o, 24/6o | Doucet J. | 416/80A |
| Delmas C. | 178/44o | Doucet- Populaire F. | 90/22SEP, 140/33o, 274/67A, 359/76A, 360/76A, 598/96A |
| Delmas P. | 339/74A | Doufair M. | 281/67A |
| Delmée M. | 398/79A | Dousset B. | 557/93A |
| Delory T. | 127/31o | Dozol A. | 406/80A |
| Delpeyroux F. | 96/24s | Drancourt P. | 419/81A |
| Delvallée M. | 413/80A, 414/80A, 420/81A, 421/81A, 425/81A | Draoui H. | 377/77A |
| Demachy M.C. | 599/96A, 604/97A | Drissi M. | 573/94A |
| Demange M. | 606/97A | Droguet J. | 134/32o |
| Demazoin M.C. | 518/89A | Dromer F. | 26/6o |
| Demesmay K. | 126/31o | Drugeon H. | 605/97A, 615/97A, 616/97A |
| Demey G. | 314/71A | Drusch S. | 106/27o |
| Denamur E. | 11/2o, 315/71A, 548/92A | Dualé C. | 135/32o |
| Denis D. | 319/72A | Dubois F. | 519/89A |
| Denis E. | 320/72A | Dubos F. | 180/44o |
| Denis F. | 612/97A | Duboux-Bourandy A. | 332/74A, 574/94A |
| Denis L. | 382/77A | Dubourdieu B. | 463/84A |
| Denis O. | 16/3o, 290/68A | Dubrou S. | 153/37s |
| Deniziaut G. | 403/79A | Dubus M. | 413/80A, 414/80A, 420/81A, 421/81A, 424/81A, 425/81A |
| Deperrois F. | 601/96A | Dubus P. | 439/83A, 441/83A |
| Dereure O. | 378/77A | Ducancelle A. | 151/36o, 152/36o |
| Derkx V. | 136/32o | Ducastelle-Lepretre S. | 187/45o |
| Derradji O. | 496/87A | Duchene E. | 130/31o |
| Dersi N. | 367/76A | Ducrot N. | 55/12o |
| Desbordes M. | 185/45o | Dufosse F. | 350/76A, 353/76A, 427/81A, 570/94A |
| Descamps A. | 413/80A, 414/80A, 420/81A, 421/81A, 424/81A, 425/81A | Dufour V. | 549/92A |
| Descamps D. | 350/76A, 353/76A, 570/94A, 608/97A | Dumartin C. | 566/94A |
| Descamps V. | 508/88A | Dumitrescu O. | 18/3o, 57/14s, 210/52s, 255/63o |
| Descours G. | 532/90A, 537/90A | Dumoulaud B. | 608/97A |
| Desessard C. | 141/33o, 285/68A, 309/70A, 371/76A | Dunyach Remy C. | 311/71A |
| Desgrouas C. | 163/39o, 165/39o | Dupin N. | 333/74A, 557/93A |
| Désiré N. | 507/88A, 515/89A | Dupont H. | 28/6o |
| Desjardins S. | 267/65s | Dupuy C. | 436/82A |
| Desmonet M. | 189/45o | Durand F. | 10/2o, 68/16o |
| Desnos-Ollivier M. | 26/6o | Durand G. | 179/44o, 235/58DP, 275/67A |
| Desoubeaux G. | 482/85A | Durand R. | 162/39o |
| Desplaces N. | 105/26o | Durieu I. | 539/90A |
| Desroches M. | 359/76A, 360/76A | Durrieu M.C. | 142/33o |
| Desvaux C. | 334/74A | Duval R.E. | 530/89A |
| Devigne L. | 273/67A | Duval X. | 135/32o, 146/35s |
| Devigne Barbaux L. | 243/59o | | |
| Devriese M. | 140/33o | | |
| Dewilde A. | 172/41s, 508/88A | E | Auteur/Co-Auteur |
| Dewulf G. | 302/69A | Eb F. | 351/76A, 395/79A, 604/97A |
| Dhifalli R. | 219/53o | Eboua E. | 464/84A |
| Dhotte P. | 335/74A | Eckert C. | 39/9SR, 397/79A, 399/79A, 402/79A |
| D'humières C. | 600/96A | Edukondala Rao D. | 111/27o |
| Diafouka-Kolia P. | 464/84A | Eholié S. | 428/81A, 464/84A |
| Diallo A. | 129/31o | Ehui E. | 464/84A |
| Diamantis S. | 125/31o, 422/81A, 475/85A | El Abkari M. | 544/91A, 546/91A |
| Diawara I. | 366/76A | El Amri N. | 64/15o |
| Diaz S. | 372/76A | El Anbassi S. | 253/61o |
| Diep B.A. | 137/33o | El Annaz H. | 511/88A |
| Dijos M. | 321/72A | El Assali A. | 42/10o |
| Dinh A. | 100/26o, 104/26o, 305/69A, 325/73A, 329/73A, 415/80A, 496/87A | El Ghachtouli N. | 64/15o |
| | | El Khaili H. | 426/81A |
| Dinnat-Courtiols N. | 574/94A | El Mniai A. | 65/15o |
| Dinu S. | 14/3o | El Ouali L.A. | 490/87A |
| Diop M.E. | 392/78A | El Rhazi K. | 544/91A, 546/91A |
| Djahmi N. | 355/76A | El Samad Y. | 326/73A |
| Djamdjian L. | 512/88A | El Sayed F. | 415/80A |
| Djuikoué I. | 65/15o | El Yaacoubi I. | 511/88A |
| Dmytruk N. | 596/96A | Elazhari M. | 362/76A, 365/76A, 366/76A, 367/76A |
| Dmytuck N. | 603/96A | Elleuch E. | 322/73A |
| Doblali T. | 511/88A | Elmalki A. | 365/76A |
| Dohmen P. | 5/1o | Elmdaghri N. | 259/63o, 458/84A |
| Doléans-Jordheim A. | 539/90A | Emirian A. | 8/2o, 115/28o, 127/31o |
| Doloy A. | 596/96A | Emond J.P. | 606/97A |
| Domain F. | 282/67A | Empain A. | 488/86A |
| Dombret H. | 218/53o | Epaulard O. | 72/16o |
| Domelier A.S. | 610/97A | Epelboin L. | 593/95A |
| Donat N. | 472/85A | Escaut L. | 496/87A |
| Donay J.L. | 218/53o | Escuret V. | 109/27o |
| Dondero F. | 68/16o | Essalah L. | 377/77A |
| Donnat N. | 238/58DP | Essayede R. | 259/63o |

| | | | |
|---------------|--|---------------------|---|
| Essid A. | 445/84A | Freslon L. | 436/82A |
| Estellat C. | 46/10O | Frey G. | 397/79A |
| Etienne J. | 16/3O, 18/3O, 252/61O, 356/76A, 532/90A, 537/90A | Freydiere A.M. | 235/58DP, 401/79A, 404/79A, 537/90A, 543/91A |
| Etienne M. | 416/80A , 590/95A | Frikha F. | 561/93A |
| Ettahar N. | 2/1O | Frobert E. | 187/45O, 233/58DP, 499/87A |
| Eurin B. | 407/80A | Froment L. | 397/79A |
| Eveillard M. | 609/97A | Fuillet M. | 614/97A |
| Exbourse M.F. | 341/75A | Funck-Brentano C. | 236/58DP |
| Eyrolle L. | 308/70A | Furio L. | 51/12O |
| | | Furustrand Tafin U. | 288/68A |
| | | Fux F. | 607/97A |

F Auteur/Co-Auteur

| | |
|------------------|--|
| Fabre R. | 574/94A |
| Faddane K. | 365/76A , 367/76A |
| Fafi-Kremer S. | 524/89A |
| Fage D. | 391/78A |
| Fahd M. | 69/16O |
| Faibis F. | 599/96A |
| Faizon G. | 482/85A |
| Falguières M. | 518/89A |
| Falquet B. | 401/79A, 404/79A, 543/91A |
| Fanello S. | 152/36O |
| Fantin B. | 11/2O, 12/2O, 54/12O, 87/21DP |
| Fanton L. | 452/84A |
| Farfour E. | 14/3O , 460/84A |
| Farissi F.Z. | 511/88A |
| Fauconnier J. | 393/78A |
| Favre M. | 518/89A |
| Favrin S. | 332/74A |
| Faye-Ketté H. | 368/76A |
| Fayon M. | 267/65s |
| Fayrouz S. | 593/95A |
| Feghoul L. | 69/16O , 108/27O |
| Feki-Berrajeh L. | 529/89A |
| Fendri C. | 258/63O, 547/91A, 575/94A |
| Ferchichi A. | 530/89A |
| Ferjani A. | 244/59O |
| Ferlet J.F. | 446/84A |
| Ferroni A. | 235/58DP |
| Ferry T. | 84/21DP, 101/26O, 102/26O, 103/26O, 137/33O, 314/71A |
| Ferryn J.M. | 614/97A |
| Fialaire P. | 152/36O |
| Fiaux E. | 590/95A |
| Fichel C. | 83/21DP, 443/83A |
| Ficko C. | 166/39O |
| Fievet M.H. | 236/58DP |
| Figarella P. | 380/77A |
| Fihman V. | 312/71A |
| Filali A. | 547/91A |
| Fillion A. | 53/12O |
| Fines-Guyon M. | 551/92A |
| Firon A. | 603/96A |
| Fisher L. | 509/88A |
| Flais T. | 407/80A |
| Flandrin L. | 426/81A |
| Flipo J.L. | 611/97A |
| Flobinus A. | 185/45O |
| Floch P. | 442/83A, 541/91A |
| Floret D. | 225/55SEP , 268/65s |
| Floriot C. | 6/1O |
| Fodha I. | 525/89A , 528/89A |
| Foissaud V. | 66/15O, 238/58DP |
| Fonsale N. | 405/79A |
| Fontanet A. | 195/47SEP |
| Fontaney S. | 530/89A |
| Forestier E. | 437/82A |
| Forey F. | 532/90A |
| Fornès P. | 83/21DP, 110/27O, 443/83A, 520/89A |
| Fortineau N. | 319/72A, 496/87A, 512/88A |
| Fosse T. | 237/58DP, 604/97A |
| Fouet A. | 13/3O |
| Fougerousse A.C. | 486/86A |
| Fourn E. | 319/72A |
| Fournier D. | 251/61O, 254/61O, 551/92A, 586/95A, 587/95A |
| Fournier P.E. | 144/35s |
| Fournier S. | 1/1O, 196/48O, 197/48O , 200/48O |
| Fournot L. | 503/87A |
| Fraitag S. | 51/12O |
| Franck N. | 557/93A |
| Frebourg N. | 465/84A |
| Fredenucci I. | 255/63O |
| Frenay J. | 539/90A |
| Freni S. | 104/26O |

G Auteur/Co-Auteur

| | |
|--------------------------|------------------------------------|
| Gabard A. | 495/87A |
| Gacemi-Kirane D. | 364/76A |
| Gachot B. | 481/85A |
| Gagnaire J. | 132/32O , 504/87A |
| Gagneur A. | 446/84A |
| Gagnieu M.C. | 103/26O |
| Gaillard J.L. | 153/37s, 557/93A |
| Gaillard T. | 614/97A |
| Galah S. | 281/67A |
| Gallet M. | 438/83A |
| Gallon O. | 293/68A |
| Gallot D. | 597/96A |
| Gallou J. | 9/2O, 614/97A |
| Galpérine T. | 424/81A |
| Galtier F. | 135/32O |
| Gandois J.M. | 332/74A |
| Gantzer C. | 99/24s |
| Garbarg-Chenon A. | 107/27O |
| Garcia C. | 63/15O, 166/39O |
| Garcia E. | 462/84A |
| Garcia F. | 494/87A |
| Garcia De La Maria C. | 117/28O |
| Garcia-Hermoso D. | 472/85A, 480/85A |
| Gardes S. | 134/32O, 255/63O |
| Gardès J. | 535/90A , 536/90A |
| Gardrat B. | 416/80A |
| Gargalianos-Kakolyris P. | 5/1O, 6/1O |
| Gargouri S. | 529/89A |
| Garnier F. | 342/75A, 343/75A, 549/92A, 612/97A |
| Garnier J.M. | 613/97A |
| Garnier L. | 382/77A |
| Garnotel E. | 614/97A |
| Garot D. | 409/80A |
| Garraffo R. | 269/66s |
| Garreau N. | 412/80A |
| Garrigues I. | 497/87A |
| Garsallah L. | 489/87A |
| Gaschet A. | 61/15O, 299/69A |
| Gasmi A. | 430/82A, 487/86A |
| Gasri B. | 489/87A |
| Gaudin C. | 437/82A |
| Gaudy-Graffin C. | 519/89A |
| Gault E. | 150/36O |
| Gautheret-Dejean A. | 189/45O, 507/88A |
| Gautier H. | 141/33O |
| Gauzit R. | 271/66s , 422/81A |
| Gavazzi G. | 418/80A, 501/87A |
| Gay E. | 584/94A |
| Gbaguidi-Haore H. | 45/10O, 566/94A |
| Geha S. | 131/32O |
| Gendreike Y. | 397/79A |
| Genel N. | 281/67A, 565/94A, 573/94A |
| Gensollen S. | 522/89A |
| Geraci A. | 243/59O |
| Gérard A. | 535/90A |
| Géri G. | 347/75A |
| Germain J.M. | 4/1O, 416/80A |
| Gerolami R. | 522/89A |
| Gérôme P. | 457/84A |
| Géroul A.C. | 524/89A |
| Gervais R. | 423/81A |
| Gervaise V. | 392/78A |
| Gessain A. | 194/47SEP |
| Ghariani A. | 377/77A |
| Ghirardi S. | 243/59O, 273/67A |
| Ghnassia J.C. | 372/76A |
| Ghoubantini A. | 370/76A, 558/93A |
| Ghoubontini A. | 448/84A, 456/84A |
| Ghouila A. | 324/73A |

| | | | | |
|-----------------------|---|------------------|------------------------|---|
| Ghout I. | | 117/28o | Guérin C. | 132/32o, 538/90A |
| Gibold L. | 277/67A, 284/67A, 563/94A, 564/94A, 597/96A | | Guérin F. | 336/74A |
| Giese A. | | 439/83A | Guerrier N. | 494/87A |
| Gillette A. | | 519/89A | Guet-Revillet H. | 8/2o, 115/28o |
| Girard N. | | 601/96A | Gueudet T. | 389/78A, 611/97A |
| Girard R. | 134/32o, 255/63o | | Gueudin M. | 513/88A |
| Girardot A. | | 494/87A | Guidicelli L. | 153/37s |
| Girard-Pipau F. | | 397/79A | Guiet P. | 392/78A |
| Giraudeau C. | 250/61o, 506/88A | | Guiheneuf R. | 508/88A |
| Girlich D. | | 242/59o | Guilhaumou R. | 116/28o |
| Girodet P.O. | | 267/65s | Guillard T. | 87/21DP, 215/53o, 613/97A |
| Giusti D. | | 520/89A | Guillet-Caruba C. | 598/96A |
| Glaser P. | | 13/3o | Guillon H. | 351/76A, 395/79A |
| Glatz I. | | 611/97A | Guillot P.Y. | 612/97A |
| Glodt J. | | 315/71A | Guillot S. | 14/3o, 533/90A |
| Glupczynski Y. | 240/59o, 256/63o, 280/67A, 290/68A | | Guillouzuic A. | 385/77A |
| Gobin P. | | 112/28o, 307/70A | Guinard J. | 610/97A |
| Godet A. | | 515/89A | Guinet T. | 452/84A |
| Godet A.N. | | 189/45o, 507/88A | Guinko N. | 500/87A |
| Godreuil S. | | 378/77A, 451/84A | Guisnel B. | 341/75A |
| Goehringer F. | | 310/70A | Guiso N. | 14/3o, 533/90A |
| Goering R. | | 16/3o | Guisset A. | 256/63o |
| Goetgheluck A.S. | | 606/97A | Gutmann L. | 7/2o, 604/97A |
| Goffinet N. | | 417/80A | Gutierrez C. | 378/77A |
| Gohier H. | | 151/36o | | |
| Gomez J.F. | | 436/82A | H | Auteur/Co-Auteur |
| Gomis P. | | 451/84A | Hachicha T. | 322/73A |
| Goncalves D. | | 233/58DP | Haddad J. | 489/87A |
| Gontier P. | | 574/94A | Hadou T. | 604/97A |
| Goossens M. | | 256/63o | Haenni M. | 217/53o, 249/61o, 357/76A, 581/94A, 582/94A |
| Gordien E. | | 151/36o | Haguenoer E. | 601/96A, 610/97A |
| Goret J. | | 541/91A | Haj Kacem R. | 303/69A |
| Goubard A. | 292/68A, 337/74A | | Hajjar J. | 501/87A |
| Goudeau A. | 519/89A, 610/97A | | Halimi D. | 275/67A |
| Goudjil S. | | 550/92A | Hamdad F. | 606/97A |
| Gouiaa S. | | 303/69A | Hamdi S. | 289/68A, 298/69A, 477/85A |
| Goulet V. | | 340/74A | Hamdoun M. | 298/69A |
| Gourieux B. | | 524/89A | Hamel A. | 142/33o |
| Govaerts D. | | 391/78A | Hammami A. | 303/69A, 529/89A, 565/94A |
| Goyette N. | | 188/45o | Hammoudi D. | 300/69A |
| Grall N. | | 55/12o | Hamon M. | 478/85A |
| Grami R. | | 582/94A | Haouchine D. | 578/94A |
| Grammatico-Guillon L. | | 436/82A | Harchay C. | 258/63o, 575/94A |
| Granados M. | | 551/92A | Harcheb K. | 578/94A |
| Grandin S. | | 595/96A | Harhour H. | 565/94A |
| Grandjean G. | 295/68A, 569/94A | | Harrabi H. | 445/84A |
| Grandperrin S. | | 345/75A | Harriau P. | 610/97A |
| Grangeot-Keros L. | | 170/41s | Harzallah I. | 489/87A |
| Granier S.A. | | 357/76A | Hasnaoui S. | 534/90A |
| Grare M. | | 463/84A | Hassar M. | 526/89A |
| Gras G. | | 409/80A, 436/82A | Hassen-Khodja C. | 436/82A |
| Grattard F. | 354/76A, 405/79A, 493/87A, 504/87A | | Hattet S. | 148/36o |
| Graveron J.L. | | 610/97A | Haus Cheymol R. | 450/84A |
| Gravet A. | | 604/97A, 611/97A | Hayez D. | 139/33o |
| Grawey I. | | 611/97A | Heard I. | 518/89A |
| Gray C. | | 461/84A | Hees L. | 543/91A |
| Greder-Belan A. | | 460/84A | Heidt A. | 611/97A |
| Grégoire N. | 112/28o, 113/28o, 176/43s, 307/70A | | Hellmann A.C. | 406/80A |
| Greib C. | | 321/72A | Hendricx S. | 608/97A |
| Grelaud C. | | 612/97A | Hennekine J.A. | 357/76A |
| Grelot C. | | 604/97A | Hennequin C. | 71/16o, 473/85A |
| Gremmo Feger G. | | 446/84A | Hennig M. | 509/88A |
| Grenet D. | | 307/70A | Héno P. | 317/72A |
| Greub G. | | 119/29s | Hentzien M. | 310/70A |
| Grillet N. | | 574/94A | Herbrecht R. | 307/7s |
| Grillon A. | | 215/53o | Hermet L. | 186/45o |
| Grimmelprez A. | | 396/79A | Heroguez V. | 142/33o |
| Grimprel E. | 226/55SEP, 549/92A | | Herrmann J.L. | 305/69A, 325/73A, 329/73A, 415/80A |
| Grise G. | | 4/1o | Hervé C. | 392/78A |
| Groh M. | | 128/31o | Hervé I. | 461/84A |
| Grohs P. | | 7/2o | Héry-Arnaud G. | 341/75A, 385/77A |
| Gros I. | 380/77A, 423/81A, 510/88A | | Herzig V. | 611/97A |
| Gros P.A. | | 315/71A | Heurte J. | 606/97A |
| Grosse B. | | 348/75A | Heylen E. | 525/89A |
| Grundmann H. | | 252/61o | Heym B. | 153/37s, 557/93A |
| Gueddari W. | | 526/89A | Hidri N. | 342/75A, 343/75A, 612/97A |
| Guèdes M.F. | | 341/75A | Hill R. | 16/3o |
| Guediche M.N. | | 527/89A | Hitier M. | 478/85A |
| Guenifi W. | 430/82A, 487/86A | | Hober D. | 172/41s |
| Guerfali M. | | 410/80A | Hocès De La Guardia A. | 441/83A, 442/83A |
| Guerfeli M. | | 328/73A | Hochard H. | 111/27o |
| Guerin B. | | 463/84A | Hocquet D. | 45/10o, 566/94A, 585/94A, 592/95A |

| | | | |
|-------------------|------------------------|------------------|-------------------------|
| Hoffman C. | 238/58DP | Jyot J. | 540/90A |
| Hoffmeyer P. | 101/260 | | |
| Holstein A. | 610/97A | K | Auteur/Co-Auteur |
| Hombrouck-Alet C. | 610/97A | Kabbaj H. | 511/88A |
| Horovitz J. | 334/74A | Kacou-N'douba A. | 464/84A |
| Houhou N. | 201/480 | Kanoun F. | 370/76A, 558/93A |
| Houzé P. | 162/390 | Kanyilamz F. | 506/88A |
| Houzé S. | 162/390 | Kara A. | 475/85A |
| Huang D. | 240/590 | Karam Sarkis D. | 300/69A |
| Huang M. | 1/10, 196/480, 200/480 | Karoui S. | 547/91A |
| Huang T.D. | 280/67A | Karray-Hakim H. | 529/89A |
| Hubert V. | 162/390 | Karsenty J. | 102/260 |
| Hulin A. | 129/310 | Kassah-Laouar A. | 257/630, 579/94A |
| Hulot J.S. | 236/58DP | Kearns A. | 16/30 |
| Husson M.O. | 235/58DP | Keck N. | 378/77A |

| | |
|----------------------|-------------------------|
| I | Auteur/Co-Auteur |
| Ibrahimi A. | 544/91A, 546/91A |
| Icyeza E.R. | 398/79A |
| Ieven M. | 290/68A |
| Ighmouracene M. | 549/92A |
| Igualada I. | 107/270 |
| Imbert G. | 388/78A, 614/97A |
| Imbert-Marcille B.M. | 505/88A |
| Isnard F. | 71/160 |
| Ivanoff S. | 326/73A |

| | |
|--------------------|--|
| J | Auteur/Co-Auteur |
| Jacomo V. | 373/77A |
| Jacqueline C. | 52/120, 80/20ss, 141/330, 142/330, 285/68A, 309/70A, 371/76A |
| Jacquier H. | 218/530 |
| James J. | 538/90A |
| Jan D. | 609/97A |
| Jan E. | 321/72A |
| Jans B. | 256/630 |
| Janvier F. | 62/150, 63/150, 166/390, 387/78A, 574/94A |
| Jaouen A.C. | 372/76A |
| Jaouen E. | 609/97A |
| Jarlier V. | 1/10, 53/120, 58/14s, 86/21DP, 89/22SEP, 157/38SEP, 196/480, 197/480, 200/480, 252/610, 278/67A, 379/77A, 383/77A, 384/77A, 394/78A, 560/93A |
| Jarno P. | 205/49SEP, 412/80A |
| Jarraud S. | 134/320, 182/440, 263/64s, 532/90A, 535/90A, 537/90A |
| Jaubert D. | 114/280 |
| Jaulhac B. | 17/30, 260/64s |
| Jault P. | 25/60, 238/58DP, 471/85A, 472/85A |
| Jauréguy F. | 459/84A |
| Javaugue F. | 341/75A |
| Jayle C. | 44/100 |
| Jdidi J. | 565/94A |
| Jean Pierre H. | 299/69A, 397/79A |
| Jeannot K. | 213/52s, 251/610, 254/610, 586/95A, 587/95A, 591/95A |
| Jeanpetit R. | 444/84A |
| Jeddi R. | 298/69A |
| Jehl F. | 33/8SEP, 231/57ss, 270/66s, 360/76A, 611/97A |
| Jeljli M. | 289/68A |
| Jemli B. | 477/85A |
| Jidar K. | 125/310, 422/81A, 475/85A |
| Joffray R. | 517/89A |
| Join S. | 420/81A, 424/81A |
| Join-Lambert O. | 8/20, 51/120, 115/280, 192/46SEP, 206/50s |
| Jolivet-Gougeon A. | 296/68A |
| Joly C. | 503/87A |
| Joly V. | 3/10 |
| Joly-Guillou M.L. | 609/97A |
| Jonet A. | 163/390 |
| Joseph E. | 491/87A |
| Jost C. | 403/79A |
| Jouble F. | 609/97A |
| Jourdain B. | 475/85A |
| Jourdan B. | 397/79A |
| Jourdan N. | 352/76A |
| Jouy E. | 583/94A, 584/94A |
| Joyeux M. | 153/37s |
| Judet T. | 104/260, 325/73A |
| Julienne G. | 356/76A |
| Jullien V. | 8/20, 115/280 |
| Jung J. | 348/75A |
| Jurdic P. | 438/83A |
| Juvin M. | 281/67A |
| Juvin M.E. | 609/97A |

| | |
|--------------------|------------------------------------|
| Kempf I. | 583/94A, 584/94A |
| Kempf M. | 604/97A, 609/97A |
| Kendjo E. | 162/390 |
| Kerneis S. | 7/20, 347/75A |
| Keskes H. | 322/73A |
| Kesteman T. | 65/150, 282/67A |
| Ketata S. | 324/73A, 498/87A |
| Kezzal K. | 294/68A |
| Khaled S. | 434/82A |
| Khalifaoui M. | 456/84A |
| Khanafer N. | 181/440, 397/79A, 466/84A |
| Khattali J. | 498/87A |
| Khorsi H. | 470/85A, 502/87A, 503/87A |
| Khouider N. | 418/80A |
| Khrouf M. | 328/73A, 410/80A |
| Khuong-Josses M.A. | 423/81A |
| Kilani B. | 370/76A, 448/84A, 456/84A, 558/93A |
| Kilani H. | 219/530 |
| Kongolo G. | 550/92A |
| Konjek J. | 153/37s |
| Konopacki J. | 66/150 |
| Kostrzewa M. | 348/75A, 381/77A |
| Kouakou G. | 464/84A |
| Koubi H. | 189/450 |
| Kouiad Belkadi A. | 431/82A |
| Kourta M.J. | 610/97A |
| Kramkimel N. | 557/93A |
| Kremer L. | 154/37s |
| Krivine A. | 135/320 |
| Kukushkina M.P. | 363/76A |
| Kwasiborski A. | 357/76A |

| | |
|-------------------|---------------------------|
| L | Auteur/Co-Auteur |
| La Ruche G. | 27/60, 292/68A, 340/74A |
| Labadi L. | 542/91A |
| Labbe J.P. | 317/72A |
| Labdouni M. | 435/82A |
| Labrousse D. | 139/330 |
| Lachaud A. | 509/88A |
| Lacheheb A. | 430/82A, 487/86A |
| Lacherade I. | 612/97A |
| Lachhab S. | 313/71A |
| Lacombe K. | 228/56s |
| Lafaurie C. | 613/97A |
| Lafaurie M. | 407/80A |
| Lafendi L. | 468/85A |
| Lafer O. | 534/90A |
| Lafeuille E. | 549/92A |
| Laffont C. | 419/81A |
| Lagarrigue F. | 409/80A |
| Lagier E. | 9/20, 614/97A |
| Lalande V. | 399/79A, 402/79A, 403/79A |
| Lali S. | 391/78A |
| Lamara Mohamed F. | 434/82A |
| Lambert J. | 85/21DP |
| Lambotte O. | 319/72A |
| Lamy B. | 293/68A |
| Landraud L. | 320/72A, 397/79A |
| Langeard M. | 609/97A |
| Langlais A. | 56/120 |
| Lanotte P. | 385/77A, 604/97A, 610/97A |
| Lanternier F. | 31/7s |
| Laouar M. | 521/89A, 523/89A |
| Laouénan C. | 3/10, 11/20, 548/92A |
| Laran J.F. | 361/76A |
| Larrat S. | 151/360 |

| | | | |
|-------------------|--|------------------|---|
| Larréché S. | 62/15o, 63/15o, 166/39o, 387/78A, 450/84A | Leroy C. | 334/74A |
| Larroque B. | 10/2o, 68/16o | Leroy S. | 23/6o |
| Lartigue M.F. | 610/97A | Lesaffre F. | 83/21DP, 443/83A |
| Lasserre C. | 138/33o, 349/76A | Lescure F.X. | 376/77A |
| Laterre P.F. | 208/50s | Leservoisier R. | 495/87A |
| Laudat P. | 601/96A | Lesle F. | 474/85A |
| Laude A. | 569/94A | Lesprit P. | 127/31o, 129/31o, 221/54s |
| Launay O. | 67/16o, 135/32o | Letenneur L. | 56/12o |
| Laurans G. | 606/97A | Leterrier M. | 483/86A |
| Laurent F. | 16/3o, 84/21DP, 101/26o, 103/26o, 117/28o, 137/33o, 167/40s, 243/59o, 252/61o, 276/67A, 314/71A, 354/76A, 356/76A, 358/76A, 359/76A, 401/79A, 404/79A, 438/83A | Leto J. | 235/58DP |
| Laurent T. | 240/59o | Letort M.J. | 97/24s |
| Laurichesse H. | 135/32o | Leturmier G. | 148/36o |
| Lavigne J.P. | 15/3o, 61/15o, 138/33o, 139/33o, 160/38SEP, 234/58DP, 299/69A, 311/71A, 349/76A, 352/76A, 355/76A | Lévêque N. | 83/21DP, 110/27o, 147/36o, 248/60s, 443/83A, 520/89A |
| Lavollay M. | 7/2o, 347/75A | Leverger G. | 481/85A, 587/95A |
| Lawrence C. | 104/26o, 305/69A, 325/73A, 415/80A, 496/87A | Levert M. | 291/68A |
| Layme C. | 497/87A | Levy C. | 136/32o, 552/92A, 600/96A |
| Lazaro E. | 321/72A | Levy J. | 488/86A |
| Lazri M. | 534/90A | Lew D. | 101/26o |
| Le Bras J. | 162/39o | Leyssene D. | 372/76A |
| Le Brun C. | 609/97A | L'héritier F. | 566/94A |
| Le Cann P. | 535/90A | Lhotellier L. | 105/26o |
| Le Devendec L. | 583/94A, 584/94A | Libert C. | 378/77A |
| Le Du D. | 100/26o, 104/26o, 305/69A | Liégeon A.L. | 486/86A |
| Le Floch R. | 82/21DP | Lienhard R. | 279/67A, 345/75A |
| Le Gal J. | 180/44o | Liguori S. | 600/96A |
| Le Gall F. | 341/75A | Lina B. | 19/5SEP, 22/5SEP, 109/27o, 187/45o, 233/58DP, 499/87A, 500/87A |
| Le Gall-David S. | 296/68A | Lina G. | 15/3o, 18/3o, 84/21DP, 118/29s, 134/32o, 137/33o, 255/63o, 360/76A, 373/77A, 532/90A, 537/90A |
| Le Goff J. | 69/16o, 106/27o, 108/27o, 184/45o | Lixandru B. | 65/15o |
| Le Gouil M. | 48/11s | Loisy F. | 148/36o |
| Le Jeune A. | 296/68A | Loisy-Hamon F. | 535/90A, 536/90A |
| Le Mabecq V. | 141/33o, 309/70A | Lolom I. | 42/10o, 198/48o, 199/48o, 201/48o, 568/94A |
| Le Moing V. | 143/35s | Longo M. | 13/3o, 603/96A |
| le Monnier A. | 133/32o, 397/79A, 460/84A | Lortholary O. | 26/6o, 32/7s, 72/16o |
| Le Nagard H. | 315/71A | Lory A. | 418/80A |
| Le Pape P. | 483/86A | Lory S. | 540/90A |
| Le Reste J.Y. | 609/97A | Loubinoux J. | 333/74A, 596/96A |
| Le Roy C. | 338/74A | Louhaichi A. | 328/73A |
| Le Strat V. | 325/73A | Loulergue P. | 135/32o |
| Lebeau B. | 148/36o, 535/90A, 536/90A | Lu Q. | 394/78A |
| Lebrun G. | 114/28o | Lucas M. | 416/80A |
| Leccia M.T. | 72/16o | Luce S. | 604/97A |
| Leclerc T. | 25/6o, 238/58DP, 471/85A, 472/85A | Lucet J.C. | 42/10o, 46/10o, 190/46SEP, 198/48o, 199/48o, 201/48o, 568/94A |
| Leclercq R. | 34/8SEP, 179/44o, 360/76A, 478/85A, 602/96A | Lucht F. | 135/32o, 405/79A, 454/84A, 493/87A |
| Lecoindre D. | 494/87A | Lunel-Fabiani F. | 151/36o, 152/36o |
| Lecso-Bornet M. | 86/21DP | Lureau B. | 609/97A |
| Lecuit M. | 173/41s | Lustig S. | 101/26o, 314/71A |
| Lécuyer H. | 51/12o | Lutz M.F. | 454/84A |
| Lefalher B. | 595/96A | Luu Duc D. | 576/94A |
| Lefebvre M. | 286/68A | Luyssaert B. | 413/80A, 414/80A, 420/81A, 421/81A, 424/81A, 425/81A |
| Lefleche A. | 317/72A | Luyt C.E. | 209/50s, 394/78A |
| Leflon-Guibout V. | 287/68A, 497/87A, 567/94A | | |
| Lefort A. | 54/12o, 145/35s, 548/92A | | |
| Legout L. | 6/1o | M | Auteur/Co-Auteur |
| Lehmann M. | 397/79A | Maalej M. | 559/93A |
| Lehmann V. | 416/80A | Maataoui N. | 596/96A |
| Lehot J.J. | 132/32o, 538/90A | Maazi S. | 458/84A |
| Lehours P. | 441/83A, 442/83A, 541/91A, 542/91A, 545/91A | Mabrouki F. | 165/39o |
| Lejeune B. | 501/87A | Mac | 66/15o, 238/58DP, 317/72A, 473/85A, 480/85A |
| Leke A. | 470/85A, 502/87A | Nab C. | |
| Lelièvre L. | 51/12o | Macheras E. | 153/37s |
| Lemaire C. | 612/97A | Machergui | 339/74A |
| Lemaitre P. | 606/97A | Hammami S. | 151/36o |
| Leman F. | 595/96A | Mackiewicz V. | 450/84A |
| Lemble C. | 611/97A | Macnab C. | 217/53o, 249/61o, 581/94A, 582/94A |
| Lemée L. | 397/79A, 461/84A, 465/84A | Madec J. | 60/14s, 584/94A |
| Lemen C. | 468/85A | Madec J.Y. | 215/53o, 613/97A |
| Lemtiri J. | 413/80A, 414/80A, 421/81A, 424/81A, 425/81A | Madoux J. | 312/71A |
| Lemtiri-Florek J. | 420/81A | Magdoud F. | 453/84A |
| Lenain P. | 461/84A | Mahe A. | 303/69A, 565/94A |
| Lengliz H. | 258/63o | Mahjoubi F. | 362/76A, 490/87A, 544/91A, 546/91A |
| Lenoir B. | 473/85A | Mahoudeau I. | 611/97A |
| Lenzi N. | 135/32o | Mahrouki S. | 588/95A |
| Léon L. | 467/84A | Maier T. | 348/75A |
| Lepainteur M. | 1/1o, 196/48o, 197/48o, 200/48o | Mainardi J.L. | 7/2o, 156/37s |
| Lepelletier D. | 138/33o, 349/76A | Malavaud S. | 463/84A |
| Lepoutre A. | 604/97A | Maldonado C. | 334/74A |
| Leprêtre S. | 416/80A | Malfuson J.V. | 66/15o |
| Leroux B. | 593/95A | Malicier D. | 452/84A |
| Leroy B. | 408/80A | Mallaret M.R. | 393/78A |

| | | | |
|----------------------|---|---------------------|---|
| Mallet B. | 390/78A | Mérat S. | 450/84A |
| Mammeri A. | 521/89A, 523/89A | Merceron S. | 133/32O |
| Mammeri H. | 351/76A, 395/79A, 550/92A | Mercier-Delarue S. | 108/27O |
| Mamoudy P. | 105/26O | Mérens A. | 62/15O, 63/15O, 124/30S, 166/39O, 317/72A, 387/78A, 450/84A, 551/92A, 574/94A, 587/95A, 592/95A |
| Mamzer-Bruneel M.F. | 72/16O | Merino D. | 612/97A |
| Manceron V. | 312/71A | Merle C. | 135/32O |
| Manquat G. | 576/94A | Merle V. | 416/80A |
| Mansour H. | 369/76A, 498/87A | Mermond S. | 604/97A |
| Mansour W. | 582/94A | Mesples B. | 312/71A |
| Mansouri R. | 219/53O, 469/85A | Messad N. | 15/3O, 234/58DP, 355/76A |
| Maouainine M.F. | 577/94A | Messadi A.A. | 489/87A |
| Maouia H. | 258/63O | Messadi-Akrout F. | 377/77A |
| Marcadé G. | 218/53O | Mestre N. | 446/84A |
| Marcel C. | 65/15O, 282/67A | Métayer V. | 217/53O |
| Marchand S. | 113/28O | Méteau E. | 509/88A |
| Marchandin H. | 61/15O, 299/69A, 397/79A, 451/84A | Metivier R. | 497/87A |
| Marcheix B. | 463/84A | Metz C. | 236/58DP |
| Marchetti B. | 391/78A | Meugnier H. | 16/3O, 252/61O |
| Marchou B. | 463/84A | Meybeck A. | 3/1O |
| Marcon E. | 287/68A | Meyer G. | 7/2O |
| Marcuccilli A. | 504/87A | Meyohas M.C. | 71/16O |
| Marcy Y. | 282/67A | Meyssonier V. | 383/77A, 384/77A, 560/93A |
| Margat E. | 179/44O | Mezghani S. | 303/69A |
| Marguet P. | 444/84A, 484/86A | Mhadhebi D. | 313/71A |
| Mariani-Kurkdjian P. | 93/23SEP | Mialhes P. | 228/56S |
| Marianneau P. | 47/11S | Micaelo M. | 394/78A |
| Marie J.P. | 71/16O | Michaud E. | 295/68A, 569/94A |
| Marie O. | 407/80A | Michaud-Nerard A. | 605/97A, 615/97A, 616/97A |
| Marinho V. | 107/27O | Michel A. | 614/97A |
| Marmor S. | 105/26O | Michel C. | 378/77A |
| Marmorat-Khuong A. | 423/81A | Michel Y. | 107/27O |
| Marquant F. | 267/65S | Michon A.L. | 451/84A |
| Marquant T. | 506/88A | Michon J. | 179/44O |
| Marquet A. | 295/68A, 411/80A, 569/94A | Michot J.M. | 319/72A |
| Marret H. | 519/89A | Miegeville M. | 483/86A |
| Marsot A. | 114/28O, 116/28O | Miègeville A.F. | 141/33O, 285/68A, 309/70A, 371/76A |
| Martelin R. | 275/67A | Miller F. | 51/12O |
| Martin C. | 342/75A, 343/75A, 612/97A | Millon L. | 444/84A, 484/86A |
| Martin E. | 4/1O, 18/3O, 255/63O, 373/77A | Milovanovitch A. | 507/88A |
| Martin F. | 131/32O | Milpied N. | 481/85A |
| Martin Y. | 497/87A | Mimoz O. | 112/28O, 113/28O, 307/70A |
| Martinaud C. | 66/15O, 375/77A | Mir E. | 609/97A |
| Martinot M. | 126/31O, 453/84A | Miro E. | 588/95A |
| Marty N. | 178/44O, 361/76A, 605/97A, 615/97A, 616/97A | Miró J.M. | 117/28O |
| Marzouk F. | 189/45O | Mnif B. | 303/69A, 565/94A |
| Marzouk M. | 244/59O | Mnif Z. | 322/73A |
| Mas R. | 85/21DP | Mocellin N. | 450/84A |
| Masmoudi A. | 575/94A | Moens C. | 488/86A |
| Masmoudi F. | 303/69A | Mohseni-Zadeh M. | 126/31O, 453/84A |
| Masse M. | 461/84A | Moissenet D. | 551/92A, 587/95A |
| Massias L. | 55/12O, 87/21DP, 117/28O | Mokline A. | 489/87A |
| Matthijssens J. | 525/89A | Monchy S. | 23/6O |
| Matz C. | 437/82A | Monemo P. | 368/76A |
| Maugat S. | 467/84A | Monfort L. | 337/74A |
| Maujean G. | 452/84A | Monneret G. | 207/50S |
| Maulin L. | 9/2O | Montassier E. | 130/31O, 286/68A, 417/80A |
| Mauranne C. | 255/63O | Monteil C. | 1/1O, 196/48O, 200/48O |
| Maurin M. | 182/44O, 291/68A, 393/78A | Morand P. | 557/93A |
| Maylin S. | 151/36O | Morange V. | 601/96A |
| Mazars E. | 302/69A | Moreau C. | 331/74A |
| Mazeron M.C. | 184/45O, 185/45O | Moreau R. | 287/68A |
| Mazouz D. | 355/76A | Morel-Baccard C. | 393/78A |
| Méchai F. | 459/84A | Morfin F. | 187/45O, 233/58DP, 499/87A |
| Mechakra S. | 430/82A, 487/86A | Morice D. | 459/84A |
| Meddeb B. | 298/69A, 477/85A | Morillon A. | 468/85A |
| Megarbane B. | 112/28O | Morio F. | 82/21DP, 483/86A |
| Meghadecha M.L. | 521/89A | Mortier-Deswarte C. | 2/1O |
| Mégraud F. | 56/12O, 261/64S, 439/83A, 440/83A, 441/83A, 442/83A, 541/91A, 542/91A, 543/91A, 545/91A | Morvan P. | 609/97A |
| Meguenni N. | 583/94A | Mory F. | 397/79A |
| Mehiri E. | 377/77A | Mossou C. | 428/81A |
| Mehri N. | 469/85A | Mothes A. | 126/31O, 453/84A |
| Mehri W. | 219/53O | Mottet-Auselo B. | 277/67A, 284/67A, 563/94A, 564/94A, 597/96A |
| Meité S. | 368/76A | Mouaffak Y. | 577/94A |
| Mekki Y. | 499/87A | Moubareck C. | 300/69A |
| Melin P. | 290/68A | Mouffok N. | 431/82A, 432/82A, 433/82A, 553/92A |
| Mellon G. | 459/84A | Mougari F. | 374/77A |
| Menard T. | 612/97A | Mourlian C. | 418/80A |
| Mene S. | 510/88A | Mourvillier B. | 5/1O |
| Menotti J. | 108/27O | Moussa K. | 318/72A |
| Menouar M. | 608/97A | Moussaoui A. | 355/76A |
| Merabet A. | 614/97A | Moutou F. | 50/11S |

| | | | |
|-------------------------|--|----------------------------|---|
| Mozas M. | 609/97A | Pachetti C. | 9/2o, 614/97A |
| Mrani S. | 511/88A | Pagès L. | 539/90A |
| Mukagatare I. | 111/27o | Pangon B. | 133/32o, 460/84A |
| Muller C. | 591/95A | Pannecouck J.M. | 608/97A |
| Muller E. | 251/61o, 591/95A | Pantel A. | 61/15o, 299/69A |
| Müller E. | 254/61o, 586/95A | Paoletti C. | 406/80A |
| Mullié C. | 163/39o | Paramythiotou E. | 65/15o |
| Munier A. | 12/2o | Parent du Châtelet I. | 223/55SEP |
| Murbach V. | 611/97A | Paris A. | 334/74A |
| Mustapha M. | 366/76A | Paris E. | 111/27o |
| M'zali F. | 297/69A | Parisot F. | 237/58DP |
| N | | Parquin F. | 307/70A |
| Auteur/Co-Auteur | | Partisani M. | 524/89A |
| Naas T. | 168/40s, 214/53o | Parzy D. | 161/39o, 162/39o, 165/39o |
| Nacinovich F. | 6/1o | Patissier M. | 418/80A |
| Nacka F. | 267/65s | Patoz P. | 608/97A |
| Naimi F.Z. | 313/71A | Patry I. | 604/97A |
| Napoly L. | 129/31o | Paugam A. | 474/85A, 485/86A |
| Narasimhan G. | 540/90A | Paugam-Burtz C. | 10/2o, 68/16o |
| Nassif X. | 51/12o, 235/58DP | Paul J.G. | 608/97A |
| Nauroy P. | 438/83A | Pavese P. | 393/78A |
| Naux E. | 82/21DP | Payen C. | 614/97A |
| Navarro F. | 588/95A | Payet B. | 454/84A |
| Navas D. | 417/80A | Payet C. | 418/80A |
| Nebbad B. | 8/2o, 115/28o | Payro G. | 574/94A |
| Nedjai S. | 355/76A, 572/94A | Pease S. | 497/87A |
| Negre V. | 614/97A | Péchinot A. | 604/97A |
| Nejjari C. | 544/91A, 546/91A | Pedrono G. | 27/6o |
| Neri D. | 237/58DP | Péfau M. | 566/94A |
| Nérôme S. | 200/48o, 497/87A | Pelissier P. | 51/12o |
| Neulier C. | 568/94A | Pellegrin J.L. | 321/72A |
| Neut C. | 234/58DP | Pelloux I. | 182/44o, 393/78A |
| Neyret P. | 101/26o, 314/71A | Peluso A.R. | 611/97A |
| Ngamada F. | 485/86A | Pepin M.C. | 468/85A |
| Nguyen S. | 3/1o, 350/76A, 353/76A, 419/81A, 427/81A, 570/94A | Perbet-Chenevier E. | 354/76A |
| Nguyen T.T. | 55/12o | Perennec M. | 412/80A |
| Nguyen V. | 509/88A | Pereyre S. | 265/65s, 267/65s |
| N'guyen Y. | 83/21DP, 110/27o, 310/70A, 443/83A, 520/89A | Perez X. | 28/6o |
| Ngyuvula Mantu E. | 398/79A | Périchon B. | 282/67A |
| Nhan T. | 252/61o, 356/76A | Périn-Dureau F. | 307/70A |
| Nicolas-Chanoine M.H. | 10/2o, 68/16o, 159/38SEP, 287/68A, 497/87A, 567/94A | Perpoint T. | 102/26o, 103/26o |
| Nicolle A. | 478/85A | Perraud M. | 466/84A |
| Nicolle M.C. | 132/32o, 538/90A | Perretti J. | 614/97A |
| Niel J. | 128/31o | Perrier M. | 282/67A |
| Noel C. | 494/87A | Perronne C. | 100/26o, 104/26o, 117/28o, 122/30s, 305/69A, 325/73A, 496/87A |
| Noël C. | 574/94A | Perrouse-de-Montclos M. | 539/90A |
| Noël N. | 147/36o | Pestel-Caron M. | 465/84A, 590/95A |
| Nordmann P. | 214/53o, 216/53o, 222/54s, 239/59o, 241/59o, 242/59o, 253/61o, 283/67A, 306/69A, 512/88A | Petiot D. | 397/79A |
| Noullard M.N. | 608/97A | Petitjean Lecherbonnier J. | 336/74A, 517/89A |
| Nouril J. | 526/89A | Petitpretz P. | 460/84A |
| Noury P. | 297/69A | Peuchant O. | 321/72A, 334/74A, 338/74A |
| Noussair L. | 567/94A | Pfeffer J. | 574/94A |
| Nunes Claro A. | 504/87A | Pfirmann C. | 142/33o |
| Nzeumi Fanmi A. | 382/77A | Philippe M. | 408/80A |
| O | | Picard B. | 315/71A, 459/84A |
| Auteur/Co-Auteur | | Picard C. | 109/27o |
| Obeniche F. | 261/64s | Picard-Maureau M. | 110/27o |
| Obrador G. | 522/89A | Picaud J.C. | 16/3o |
| O'callaghan D. | 15/3o | Picaud P. | 494/87A |
| Oddoux O. | 350/76A, 570/94A | Pichard E. | 152/36o |
| Odou P. | 318/72A | Pichavant L. | 142/33o |
| Olechny M. | 274/67A | Piednoir E. | 495/87A |
| Ollat D. | 62/15o, 450/84A | Piérard D. | 290/68A |
| Ollivier E. | 165/39o | Pierre-Audigier C. | 3/1o |
| Ollivier F. | 295/68A, 411/80A | Pietri V. | 332/74A |
| Osman Hassan M. | 375/77A | Piette F. | 501/87A |
| Ostinelli J. | 131/32o, 462/84A | Piffaut C. | 314/71A |
| Othman A.B. | 258/63o, 575/94A | Pillet S. | 135/32o, 405/79A |
| Ott J. | 524/89A | Pilmis B. | 128/31o |
| Otto M.P. | 457/84A | Pina P. | 293/68A |
| Ouachée M. | 69/16o | Pinquier D. | 446/84A |
| Oudrar F. | 433/82A | Piotte E. | 484/86A |
| Ouertani M. | 445/84A | Piret J. | 188/45o |
| Oueslati H. | 489/87A | Piroth L. | 227/56s |
| Oumokhtar B. | 64/15o, 362/76A, 490/87A | Piton G. | 484/86A |
| Ouyahia A. | 430/82A, 487/86A | Pivert A. | 151/36o |
| Ovtachrenko M. | 475/85A | Pivette J. | 295/68A, 569/94A |
| P | | Plainvert C. | 346/75A, 596/96A |
| Auteur/Co-Auteur | | Planquette B. | 133/32o |
| Pachart A. | 453/84A | Plantier J.C. | 513/88A |
| | | Plantin J. | 585/94A |

| | | | |
|-------------------------|---|-------------------------|--|
| Plésiat P. | 174/43s, 251/61o, 254/61o, 586/95A, 591/95A, 592/95A | Raymond J.C. | 378/77A |
| Plong V. | 483/86A | Raynal B. | 18/3o |
| Plouzeau C. | 44/10o | Raynal J. | 392/78A |
| Ploy M.C. | 342/75A, 343/75A, 604/97A, 612/97A | Razik F. | 431/82A, 553/92A |
| Pluquet E. | 351/76A, 395/79A | Rebeyrotte C. | 612/97A |
| Poccardi N. | 399/79A | Recule C. | 182/44o, 393/78A |
| Poilane I. | 400/79A | Régis C. | 500/87A |
| Poirel L. | 216/53o, 239/59o, 241/59o, 242/59o, 253/61o, 283/67A, 306/69A | Réglier-Poupet H. | 333/74A, 603/96A |
| Poirier H. | 473/85A, 480/85A | Régnier J.L. | 606/97A |
| Poirot C. | 189/45o | Remy E. | 416/80A |
| Pollet Villard X. | 189/45o | Renard-Dubois S. | 593/95A |
| Pommier J.D. | 3/1o | Renaudin H. | 267/65s, 330/74A |
| Pompilio M. | 275/67A | Renois F. | 83/21DP, 110/27o, 149/36o, 443/83A, 520/89A |
| Pons F. | 450/84A | Renshaw S.A. | 15/3o |
| Pons J.L. | 108/27o | Reverdy M. | 401/79A, 452/84A |
| Portaels F. | 378/77A | Rey D. | 524/89A |
| Postaire M. | 128/31o | Reynaud A. | 138/33o, 250/61o, 349/76A, 385/77A, 562/94A |
| Postil D. | 135/32o | Reyrolle M. | 134/32o |
| Potel G. | 52/12o, 130/31o, 141/33o, 142/33o, 285/68A, 309/70A, 371/76A, 417/80A | Rezgui S. | 294/68A |
| Pothier P. | 245/60s, 527/89A | Ribaud P. | 26/6o |
| Potier J. | 359/76A, 360/76A | Ricard J.D. | 312/71A |
| Potron A. | 253/61o, 306/69A, 512/88A | Richalet G. | 43/10o |
| Pouessel G. | 180/44o | Richard C. | 197/48o |
| Poupard M. | 423/81A | Richard J.L. | 234/58DP, 311/71A, 352/76A, 355/76A |
| Pourcel C. | 535/90A, 536/90A, 587/95A | Richard P. | 551/92A |
| Pouré L. | 576/94A | Richaud C. | 54/12o |
| Pourrat X. | 409/80A | Richaud-Morel B. | 418/80A |
| Pourriat J.L. | 131/32o, 462/84A | Rieder C. | 389/78A, 611/97A |
| Poyart C. | 13/3o, 92/23SEP, 333/74A, 346/75A, 557/93A, 596/96A, 603/96A | Riegel P. | 17/3o |
| Pozzetto B. | 354/76A, 405/79A, 493/87A, 504/87A | Rieu P. | 147/36o |
| Pradines B. | 162/39o, 164/39o | Rigal S. | 450/84A |
| Pralong C. | 401/79A, 404/79A | Rio Y. | 360/76A |
| Pranada A.B. | 381/77A | Rioux C. | 3/1o |
| Prasjnar T.K. | 15/3o | Risch M. | 514/88A |
| Prère M.F. | 61/15o, 361/76A | Ritzler M. | 514/88A |
| Pressac D. | 612/97A | Rivat S. | 275/67A |
| Prévost G. | 17/3o | Rivaud E. | 150/36o |
| Prévotat A. | 23/6o | Rivière A. | 274/67A |
| Priester M. | 524/89A | Robaday-Voisin S. | 416/80A |
| Prisse V. | 549/92A | Robb A. | 70/16o |
| Prots L. | 237/58DP | Robert J. | 158/38SEP, 233/58DP, 278/67A, 383/77A, 384/77A, 560/93A, 592/95A |
| Puyhardy J.M. | 486/86A | Robert-Nicoud M. | 251/61o, 591/95A |
| Puyuelo L. | 332/74A | Robert-Nicoud R. | 586/95A |
| Q | | Robin F. | 277/67A, 284/67A, 562/94A, 563/94A, 564/94A, 576/94A |
| Auteur/Co-Auteur | | Rochais E. | 71/16o |
| Quaeset L. | 183/44o | Roche J.M. | 243/59o |
| Quatresous I. | 416/80A | Rodaix C. | 308/70A |
| Quentin C. | 297/69A, 571/94A | Rodriguez-Nava V. | 451/84A |
| Quentin R. | 304/69A | Rodriguez-Villalobos H. | 290/68A, 386/78A |
| R | | Rogeaux O. | 437/82A |
| Auteur/Co-Auteur | | Roger P. | 320/72A |
| Rabar D. | 457/84A | Rognon A. | 522/89A |
| Rabaud C. | 40/9SR, 73/17CT | Rogues A.M. | 203/49SEP, 566/94A |
| Rabier V. | 152/36o | Roig B. | 311/71A |
| Rabuel C. | 406/80A | Rolin C. | 396/79A |
| Rachid S. | 575/94A | Rolland C. | 608/97A |
| Raffoux E. | 218/53o | Rome A. | 116/28o |
| Raghu F. | 422/81A | Rondinaud E. | 306/69A |
| Rahal K. | 534/90A | Rondy M. | 135/32o |
| Raherison C. | 267/65s | Roque-Afonso A.M. | 98/24s |
| Rainfray M. | 501/87A | Roquebert B. | 151/36o |
| Rais M. | 430/82A, 487/86A | Roquilly A. | 52/12o |
| Rallo P. | 388/78A | Ros A. | 405/79A, 604/97A |
| Rambaud C. | 399/79A | Rosset P. | 409/80A, 482/85A |
| Ramirez P. | 571/94A | Rostane H. | 7/2o, 347/75A |
| Ramphal R. | 540/90A | Rothan-Tondeur M. | 501/87A |
| Ranfaing J. | 84/21DP, 137/33o | Rouard C. | 139/33o, 140/33o, 274/67A |
| Raoult A. | 388/78A, 614/97A | Roubaud Baudron C. | 56/12o |
| Rapp C. | 62/15o, 166/39o, 450/84A | Rouby J.J. | 394/78A |
| Rasigade J.P. | 16/3o, 84/21DP, 137/33o, 243/59o, 252/61o, 255/63o, 438/83A | Roudaut S. | 446/84A |
| Raskine L. | 374/77A | Rousée J.M. | 389/78A |
| Rasongles P. | 461/84A | Rousseau B. | 441/83A |
| Ratour C. | 319/72A | Rousseau C. | 400/79A |
| Rattier M. | 282/67A | Rousseau F. | 351/76A, 395/79A |
| Rault G. | 341/75A | Rousselier P. | 614/97A |
| Ravaud P. | 72/16o | Rousselière C. | 318/72A |
| Ray S. | 463/84A | Rousselle S. | 28/6o |
| Raymond J. | 546/91A, 604/97A | Roux A.L. | 329/73A, 415/80A |
| | | Roux D. | 540/90A |
| | | Rouyer C. | 476/85A |
| | | Rouzaire P. | 382/77A |

| | | | |
|-------------------|---|---------------------|---|
| Rouzaud C. | 104/26o, 305/69A, 325/73A, 329/73A | Seta V. | 319/72A |
| Roy C. | 46/10o | Sevin O. | 612/97A |
| Roy M.H. | 388/78A | Shadoud L. | 182/44o |
| Ruelle A. | 470/85A, 502/87A | Shakhi J. | 593/95A |
| Ruellé M. | 392/78A | Shwarzinger M. | 201/48o |
| Ruimy R. | 12/2o, 201/48o, 364/76A | Siegrist H.H. | 279/67A, 345/75A |
| Ruppé E. | 65/15o, 198/48o, 199/48o, 282/67A, 331/74A | Sifré E. | 545/91A |
| | | Simeon D. | 613/97A |
| | | Simon A. | 386/78A |
| S | Auteur/Co-Auteur | Simon F. | 69/16o, 106/27o, 108/27o, 184/45o, 185/45o |
| Saada M. | 346/75A | Simon L. | 26/6o |
| Sabatier B. | 7/2o | Simon N. | 114/28o, 116/28o |
| SaéNZ Y. | 219/53o | Six A. | 13/3o |
| Sahloul J. | 369/76A | Skaar E.P. | 15/3o |
| Said O. | 399/79A | Skurnik D. | 540/90A |
| Saidi N. | 561/93A | Slekovec C. | 45/10o, 592/95A |
| Saile R. | 365/76A, 367/76A | Slim-Saidi N.L. | 377/77A |
| Saint-Blancart P. | 473/85A | Slitine N. | 577/94A |
| Salaun V. | 601/96A | Sobas C. | 401/79A |
| Saleh-Mghir A. | 117/28o | Sobral D. | 535/90A, 536/90A |
| Saliba F. | 70/16o | Sochay E. | 187/45o |
| Salleron J. | 23/6o | Soler C. | 25/6o, 66/15o, 238/58DP, 317/72A, 450/84A, 471/85A, 472/85A, 473/85A, 480/85A |
| Salles N. | 56/12o | Solers C. | 375/77A |
| Salmona M. | 400/79A | Soller M. | 611/97A |
| Salord H. | 404/79A | Sommabere A. | 612/97A |
| Saloum K. | 107/27o | Sonnet P. | 163/39o |
| Samaille S. | 426/81A, 608/97A | Soraa N. | 577/94A |
| Samatova E.V. | 363/76A | Sotier M. | 54/12o |
| Samatova S.M. | 363/76A | Sotto A. | 15/3o, 61/15o, 234/58DP, 299/69A, 311/71A, 352/76A, 355/76A |
| Sambamurthy N. | 111/27o | Soufflet A. | 436/82A |
| Samet S. | 445/84A | Soufflet C. | 131/32o, 462/84A |
| Sammoud S. | 289/68A, 298/69A, 477/85A | Sougakoff W. | 278/67A, 379/77A |
| Samson T. | 66/15o, 238/58DP | Soulaymani A. | 544/91A, 546/91A |
| Sanakli S. | 377/77A | Soulias Levezuel M. | 468/85A |
| Sanchez R. | 41/10o, 301/69A, 580/94A | Soulié B. | 604/97A |
| Sanmartin N. | 62/15o, 66/15o, 166/39o, 238/58DP, 317/72A, 473/85A | Souply L. | 126/31o, 397/79A |
| Sanou M.J. | 429/82A | Soussi M. | 561/93A |
| Sansot D. | 388/78A, 614/97A | Spinali S. | 346/75A |
| Sapin A. | 137/33o, 243/59o, 358/76A | Squalli H T. | 362/76A, 490/87A |
| Sapriel G. | 153/37s | Staedel C. | 440/83A |
| Saras E. | 217/53o | Stahl J.P. | 131/32o, 462/84A |
| Sauvonnnet V. | 275/67A | Steele A.D. | 528/89A |
| Sauzay C. | 236/58DP | Steve M. | 450/84A |
| Savary P. | 416/80A | Stindel E. | 183/44o |
| Savey A. | 418/80A | Stolidi P. | 614/97A |
| Sayah-Jeanne S. | 55/12o | Stoll-Keller F. | 524/89A |
| Scanvic A. | 595/96A | Strady C. | 310/70A |
| Schaal J. | 25/6o, 471/85A, 472/85A | Stragier P. | 378/77A |
| Schatt P. | 396/79A | Strens A. | 386/78A |
| Schmid K. | 514/88A | Stressmann F. | 24/6o |
| Schmit J.L. | 326/73A | Subtil D. | 172/41s |
| Schmitt A. | 557/93A | Sueur A. | 606/97A |
| Schmitt M.P. | 524/89A | Sultan A. | 352/76A |
| Schneider D. | 291/68A | Sunder S. | 554/92A |
| Schnepf N. | 106/27o, 184/45o, 185/45o | Surgers L. | 403/79A |
| Schnuriger A. | 107/27o | Surtihadi J. | 509/88A |
| Schramm F. | 17/3o | Sutera V. | 291/68A, 393/78A |
| Schrenzel J. | 121/29s | Suy F. | 454/84A, 493/87A |
| Schubert S. | 348/75A | | |
| Schuldiner S. | 352/76A | T | Auteur/Co-Auteur |
| Schvoerer E. | 151/36o | Tabet-Derraz N. | 555/93A, 556/93A |
| Scieux C. | 106/27o, 184/45o | Tagajdid M.R. | 511/88A |
| Scotto M. | 344/75A | Taha M.K. | 223/55SEP, 224/55SEP |
| Sdiri-Loulizi K. | 527/89A | Taib K. | 458/84A |
| Secher A. | 610/97A | Tali-Maamar H. | 534/90A |
| Seddik K. | 135/32o | Talon D. | 45/10o |
| Sednaoui P. | 292/68A, 337/74A | Tan R.N. | 277/67A, 284/67A, 563/94A, 564/94A |
| Segard C. | 502/87A | Tande D. | 183/44o |
| Ségard M. | 413/80A, 414/80A, 419/81A, 420/81A, 421/81A, 424/81A, 425/81A | Tandé D. | 341/75A, 604/97A |
| | 235/58DP, 604/97A | Tarnaud C. | 26/6o |
| Segonds C. | 406/80A | Tasse J. | 243/59o, 358/76A |
| Segouin C. | 27/6o, 340/74A | Tattevin P. | 59/14s, 81/20ss, 117/28o, 135/32o, 232/57ss |
| Semaille C. | 28/6o | Taudon N. | 162/39o, 163/39o, 164/39o, 165/39o, 185/45o |
| Sendid B. | 26/6o, 412/80A | Tavares N. | 333/74A |
| Senechal H. | 103/26o | Tazi A. | 603/96A |
| Sénéchal A. | 492/87A | Tcherakian C. | 150/36o |
| Sénéchal H. | 234/58DP | Te-din Huang D. | 256/63o |
| Senneville E. | 28/6o | Teicher E. | 316/72A, 319/72A |
| Seraphin H. | 547/91A | Templier F. | 339/74A |
| Serghini M. | 499/87A | Tenailon O. | 315/71A |
| Servais M.C. | 111/27o | Terru D. | 378/77A |
| Seshagiri Rao R. | | | |

| | | | |
|------------------------|---|------------------------|---|
| Tessé S. | 62/15o, 63/15o | Van Der Mee-Marquet N. | 251/61o, 304/69A, 601/96A |
| Tessier S. | 356/76A | Van der Werf S. | 21/5SEP |
| Thabet L. | 589/95A | Van Eldere J. | 607/97A |
| Thabti I. | 530/89A | Van Gool T. | 488/86A |
| Thellier J.P. | 606/97A | Van Grunderbeeck N. | 3/1o |
| Thellier M. | 162/39o | Van Ranst M. | 525/89A |
| Thevenot S. | 44/10o | Vandamme Y. | 152/36o |
| Thibault V. | 151/36o | Vandenberg O. | 488/86A |
| Thibaut S. | 411/80A | Vandenesch F. | 15/3o, 16/3o, 18/3o, 84/21DP, 137/33o, 235/58DP, 243/59o, 252/61o, 354/76A, 356/76A, 358/76A, 360/76A, 401/79A, 404/79A, 452/84A, 537/90A, 539/90A, 543/91A |
| Thibaut-Jovelin S. | 295/68A, 569/94A | | |
| Thiebaut A. | 72/16o | Vandorslaer K. | 290/68A |
| Thierry J. | 447/84A, 574/94A | Vanhems P. | 132/32o, 181/44o, 447/84A, 466/84A, 500/87A, 531/90A, 538/90A |
| Thiolet J.M. | 26/6o, 356/76A | | |
| Thollot F. | 136/32o | Vanhoof R. | 607/97A |
| Thouvenin M. | 613/97A | Vankerkhoven P. | 396/79A |
| Thouverez M. | 585/94A | Varache C. | 609/97A |
| Tigaud S. | 255/63o, 314/71A, 401/79A, 404/79A | Varaine F. | 88/22SEP |
| Tilleul P. | 236/58DP | Varbanov M. | 530/89A |
| Tillier C. | 356/76A | Varin A. | 45/10o |
| Tilouch L. | 324/73A, 369/76A | Varon C. | 439/83A, 440/83A |
| Timounni M. | 362/76A, 365/76A, 366/76A, 367/76A, 572/94A | Varon E. | 136/32o, 552/92A, 599/96A, 604/97A, 606/97A |
| Timke M. | 381/77A | Vasseur M. | 608/97A |
| Timsit J.F. | 177/43s, 182/44o, 264/64s, 481/85A | Vaugeois C. | 517/89A |
| Tiouri Benaïssa H. | 370/76A, 448/84A, 456/84A, 558/93A | Vaux S. | 26/6o, 467/84A |
| Tiret I. | 416/80A | Vekens E. | 290/68A |
| Tissier F. | 520/89A | Vekhoff A. | 71/16o |
| Tissot N. | 236/58DP | Venier A.G. | 26/6o |
| Tlaili S. | 489/87A | Véran Y. | 486/86A |
| Tod M. | 103/26o | Verdet C. | 281/67A, 376/77A |
| Toko L. | 356/76A | Verdon R. | 478/85A |
| Tordo N. | 47/11s | Vergnaud G. | 535/90A, 536/90A |
| Toro A. | 614/97A | Vergnaud M. | 604/97A |
| Totet A. | 28/6o, 470/85A | Verhaegen J. | 290/68A, 607/97A |
| Touak G. | 596/96A | Verhaeghe A. | 608/97A |
| Touati G. | 503/87A | Verhoeven P. | 493/87A, 504/87A |
| Touati M. | 457/84A | Verhoeven P.O. | 354/76A, 405/79A |
| Tounsi I. | 410/80A | Vernet V. | 44/10o |
| Touratier S. | 407/80A | Vernet Garnier V. | 310/70A, 604/97A, 613/97A |
| Tourout-Jupin P. | 44/10o | Vezeris N. | 53/12o, 278/67A, 374/77A, 379/77A, 560/93A |
| Toyer A.L. | 610/97A | Viallon A. | 504/87A |
| Trabelsi A. | 525/89A, 528/89A | Vignon V. | 273/67A |
| Trampuz A. | 288/68A | Villard I. | 497/87A |
| Tran Minh O. | 287/68A | Villart M. | 415/80A |
| Travaillé C. | 165/39o | Villena I. | 147/36o |
| Trazit M. | 612/97A | Villier C. | 72/16o |
| Trébuchet A. | 424/81A | Vimont S. | 281/67A |
| Trieu-Cuot P. | 13/3o, 596/96A, 603/96A | Vincent A. | 418/80A |
| Tristan A. | 252/61o, 356/76A, 358/76A, 452/84A | Vinsonneau C. | 422/81A |
| Tritten M.L. | 279/67A, 345/75A | Viscogliosi E. | 23/6o |
| Trombert-Paolantoni S. | 380/77A | Visseaux C. | 65/15o |
| Tronchet S. | 509/88A | Vittecoq D. | 496/87A |
| Tronel H. | 397/79A | Voujon D. | 516/89A |
| Trouillet J.L. | 394/78A | Vuiblet V. | 147/36o |
| Trouillet S. | 84/21DP, 137/33o, 438/83A | Vu-Thien H. | 551/92A, 587/95A |
| Trystram D. | 86/21DP, 252/61o, 592/95A | | |
| Tsuchiya M. | 439/83A | | |
| Tubach F. | 46/10o | | |
| Tully T. | 153/37s | W | Auteur/Co-Auteur |
| Turck M. | 517/89A | Waligora-Dupriet A.J. | 140/33o |
| Turczyn J. | 509/88A | Wallaert B. | 23/6o, 24/6o |
| Turki E. | 445/84A | Wallet F. | 24/6o, 604/97A, 608/97A |
| Tytgat F. | 611/97A | Walther L. | 611/97A |
| | | Weber P. | 344/75A |
| U | Auteur/Co-Auteur | Weil-Olivier C. | 20/5SEP |
| Übertelli V. | 282/67A | Weinert K. | 348/75A |
| Uçkay I. | 101/26o | Weiss E. | 128/31o |
| Ustyugova S.S. | 363/76A | Weiss P. | 141/33o |
| Utili R. | 6/1o | Weissenburger S. | 453/84A |
| | | Welté B. | 153/37s |
| V | Auteur/Co-Auteur | Wirth G. | 321/72A |
| Vabret A. | 336/74A, 517/89A | Witt E. | 381/77A |
| Vaché B. | 339/74A | Woerther P.L. | 218/53o |
| Vachée A. | 608/97A | Wolak A. | 147/36o |
| Vaillant V. | 97/24s | Wolff M. | 29/7s |
| Valdiguié M. | 446/84A | Wurtz N. | 165/39o |
| Valentin A.S. | 304/69A | Wybo I. | 290/68A |
| Valette M. | 109/27o, 427/81A, 499/87A | | |
| Valiquette L. | 78/19SR | Y | Auteur/Co-Auteur |
| Valois A. | 486/86A | Yacouben K. | 69/16o |
| Van Broeck J. | 398/79A | Yahi S. | 539/90A |
| Van De Perre P. | 378/77A | Yao C. | 368/76A |
| Van den Bossche D. | 290/68A | Yazdanpanah Y. | 3/1o, 76/19SR, 91/22SEP, 201/48o, 568/94A |

| | |
|------------|---------|
| Yeni P. | 3/1o |
| Yera H. | 485/86A |
| Younes F. | 578/94A |
| Younous S. | 577/94A |

| Z | Auteur/Co-Auteur |
|-------------|-----------------------------------|
| Zabsonre I. | 429/82A |
| Zahar J. | 74/17CT |
| Zahar J.R. | 8/2o, 115/28o, 128/31o, 191/46SEP |
| Zahr N. | 236/58DP |
| Zambardi G. | 243/59o, 273/67A, 275/67A |
| Zangoli L. | 491/87A, 614/97A |
| Zaoui F.O. | 433/82A |
| Zeller M. | 525/89A |
| Zeller V. | 105/26o |
| Zerouali K. | 259/63o, 367/76A, 458/84A |
| Zertal A. | 449/84A |
| Zeruali K. | 365/76A |
| Zika D. | 368/76A |
| Ziza J.M. | 105/26o |
| Zouari M. | 324/73A |
| Zoui O.F. | 435/82A |
| Zribi M. | 258/63o, 547/91A, 575/94A |
| Zribi W. | 322/73A |

Notes :

Notes :

Notes :

Notes :

Notes :

Notes :