



COMITE DE L'ANTIBIOGRAMME
DE LA
SOCIETE FRANCAISE DE MICROBIOLOGIE

Recommandations 2012

(Edition de Janvier 2012)

Coordonnateur : Pr C.J. SOUSSY

Centre Hospitalier Universitaire Henri Mondor

94010 Créteil Cedex

Tel. : (33) (0)1 49 81 28 31 - Fax.: (33) (0)1 49 81 28 39

E-mail : claudesoussy@hmn.aphp.fr

Membres (en 2011) :

R. BONNET, F. CARON, J.D. CAVALLO, H. CHARDON, C. CHIDIAC, P. COURVALIN,
H. DRUGEON, L. DUBREUIL, V. JARLIER, F. JEHL, T. LAMBERT, R. LECLERCQ,
M.H. NICOLAS-CHANOINE, P. PLESIAT, M.C. PLOY, C. QUENTIN, C.J. SOUSSY,
E. VARON, P. WEBER

Ce document peut être téléchargé depuis le site internet de la Société Française de Microbiologie : <http://www.sfm-microbiologie.org/>

SOMMAIRE

1. GÉNÉRALITÉS

1.1.	Définition des catégories cliniques	Page	3
1.2.	Etablissement des valeurs critiques délimitant les catégories cliniques	Page	3
1.3.	Procédure et critères de catégorisation des souches	Page	4
1.4.	Lecture interprétative de l'antibiogramme	Page	4
1.5.	Harmonisation européenne	Page	4

2. RECOMMANDATIONS TECHNIQUES

2.1.	Conditions techniques générales pour les méthodes de dilution et de diffusion en milieu gélosé	Page	5
2.2.	Contrôle de qualité interne	Page	8
2.3.	Concentrations et diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques	Page	9

3. RÉSISTANCES NATURELLES AUX ANTIBIOTIQUES DES PRINCIPALES ESPÈCES BACTÉRIENNES D'INTÉRÊT MÉDICAL

3.1.	Bacilles à Gram négatifs non exigeants	Page	15
3.2.	Bacilles à Gram négatifs exigeants	Page	16
3.3.	Coques à Gram positif	Page	17
3.4.	Bacilles à Gram positif	Page	17
3.5.	Coques à Gram négatif	Page	17
3.6.	Bactéries anaérobies strictes	Page	17

4. ANTIBIOTIQUES À TESTER, CONCENTRATIONS, DIAMÈTRES CRITIQUES ET RÈGLES DE LECTURE INTERPRÉTATIVE SPÉCIFIQUES

4.1.	<i>Enterobacteriaceae</i>	Page	19
4.2.	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Page	24
4.3.	<i>Acinetobacter</i> spp., <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> , <i>Burkholderia cepacia</i>	Page	27
4.4.	<i>Staphylococcus</i> spp.	Page	29
4.5.	Détermination de l'activité <i>in vitro</i> des glycopeptides sur <i>Staphylococcus aureus</i>	Page	33
4.6.	<i>Enterococcus</i> spp.	Page	34
4.7.	<i>Streptococcus pneumoniae</i>	Page	37
4.8.	<i>Streptococcus</i> spp.	Page	40
4.9.	<i>Haemophilus influenzae</i>	Page	43
4.10.	<i>Neisseria meningitidis</i>	Page	46
4.11.	<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	Page	47
4.12.	<i>Campylobacter</i> spp.	Page	49
4.13.	<i>Helicobacter pylori</i>	Page	51
4.14.	Anaérobies stricts	Page	52

5. MODIFICATIONS SIGNIFICATIVES EN 2012

Page 55

ANNEXE 1

Page 56

ANNEXE 2

Page 58

© Copyright 2012 - Société Française de Microbiologie

Tous droits de traduction, d'adaptation et de reproduction par tous procédés réservés pour tous pays. Toute reproduction ou représentation intégrale ou partielle par quelque procédé que ce soit de ce document, faite sans autorisation expresse et écrite du Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (28, rue du Docteur Roux, 75724 Paris Cedex 15) est illicite et constitue une contrefaçon. Seules sont autorisées, d'une part, les reproductions strictement réservées à l'usage du copiste et non destinées à une utilisation collective, et d'autre part, les courtes citations justifiées par le caractère scientifique ou d'information de l'œuvre dans laquelle elles sont incorporées (art. L. 122-4, L. 122-5 et L. 335-2 du Code de la propriété intellectuelle).

1. GENERALITES

A la suite des recommandations du Comité d'Experts de la Standardisation biologique de l'OMS (rapports techniques n° 610, 1977), la Société Française de Microbiologie a créé un Comité de l'Antibiogramme (CA-SFM) chargé de déterminer les valeurs critiques qui délimitent les catégories cliniques (antérieurement catégories thérapeutiques) et de proposer un guide pour la détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques. Les valeurs critiques définies pour les concentrations et les diamètres des zones d'inhibition, ainsi que les recommandations spécifiques à certaines espèces ou à certains groupes d'antibiotiques sont publiées dans un communiqué annuel.

1. 1. Définition des catégories cliniques

Trois catégories cliniques ont été retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité *in vitro* : Sensible (S), Résistant (R) et Intermédiaire (I).

- Les souches catégorisées S sont celles pour lesquelles la probabilité de succès thérapeutique est forte dans le cas d'un traitement par voie systémique avec la posologie recommandée dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP), rédigé par l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Produits de Santé (AFSSAPS).
- Les souches catégorisées R sont celles pour lesquelles il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique quels que soient le type de traitement et la dose d'antibiotique utilisée.
- Les souches catégorisées I sont celles pour lesquelles le succès thérapeutique est imprévisible. Ces souches forment un ensemble hétérogène pour lequel les résultats obtenus *in vitro* ne sont pas prédictifs d'un succès thérapeutique. En effet, ces souches :
 - peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression *in vitro* est faible, avec pour conséquence leur

classement dans la catégorie S. Cependant, *in vivo*, une partie de ces souches apparaît résistante au traitement ;

- peuvent présenter un mécanisme de résistance dont l'expression n'est pas suffisante pour justifier un classement dans la catégorie R, mais suffisamment faible pour espérer un effet thérapeutique dans certaines conditions (fortes concentrations locales ou posologies accrues) ;

La catégorie intermédiaire est aussi une zone tampon qui tient compte des incertitudes techniques et biologiques.

1. 2. Etablissement des valeurs critiques délimitant les catégories cliniques

Les valeurs des concentrations et des diamètres critiques définies pour chaque antibiotique sont établies en tenant compte de plusieurs paramètres :

- la distribution des concentrations minimales inhibitrices (CMI) pour des populations de souches définies et appartenant à chacune des espèces bactériennes impliquées en pathologie humaine ;
- les concentrations humorales et tissulaires qui sont obtenues avec les posologies recommandées dans le résumé des caractéristiques du produit (RCP) ;
- la confrontation des résultats obtenus *in vitro* et des résultats obtenus *in vivo* (essais cliniques) ;
- la variabilité statistique des méthodes utilisées pour mesurer les CMI et les diamètres des zones d'inhibition.

Ainsi sont définies deux concentrations critiques : la concentration critique basse *c* et la concentration critique haute *C* auxquelles correspondent des diamètres critiques *D*, et *d*, respectivement.

1. 3. Procédure et critères de catégorisation des souches

Aux regards des concentrations et des diamètres critiques sont considérées comme :

- sensibles (S), les souches pour lesquelles la CMI de l'antibiotique testé est inférieure ou égale à la concentration critique basse (c), ce qui équivaut à un diamètre supérieur ou égal au diamètre critique D (Tableau I) ;
- résistantes (R), les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé est supérieure à la concentration critique haute C, correspondant à un diamètre inférieur au diamètre critique d (Tableau I) ;
- de sensibilité intermédiaire (I), les souches vis-à-vis desquelles la CMI de l'antibiotique testé et du diamètre correspondant sont compris entre les deux concentrations critiques et les deux diamètres critiques (Tableau I).

	CMI (mg/L)	Diamètre (\varnothing) (mm)
S	$CMI \leq c$	$\varnothing \geq D$
R	$CMI > C$	$\varnothing < d$
I	$c < CMI \leq C$	$d \leq \varnothing < D$

Les concentrations et les diamètres critiques des antibiotiques d'activité médicale figurent dans le Tableau III du supplément annuel de ce guide.

1. 4. Lecture interprétative de l'antibiogramme

La lecture interprétative de l'antibiogramme, fondée sur la connaissance des phénotypes de résistance conduit dans certains cas à transformer un résultat initialement catégorisé S en résultat I ou R en raison d'un risque d'échec thérapeutique. De plus, pour quelques couples bactérie-antibiotique, malgré une catégorisation « sensible », le risque accru de sélection *in vivo* de mutants résistants justifie un commentaire particulier destiné au clinicien. Ceci requiert au préalable l'identification correcte

de la souche bactérienne et une méthode d'antibiogramme standardisée. L'identification formelle du (ou des) mécanisme(s) de résistance impliqué(s) impose la mise en place de techniques spécifiques.

Les règles de lecture interprétative sont mentionnées, pour certaines espèces ou pour certains groupes bactériens, dans les notes additionnelles des tableaux VII à XIX du supplément annuel.

Le CA-SFM recommande de ne pas modifier la catégorisation clinique en dehors des règles de lecture interprétative listées dans des recommandations. Les remarques destinées aux cliniciens, en particulier celles concernant l'activité *in vivo* des antibiotiques catégorisés S peuvent être jointes en commentaire.

1. 5. Harmonisation européenne

(*Bull. Soc. Fr. Microbiol.*, Octobre 2004, Vol. 19, n°3 : 191-193)

Le besoin d'une harmonisation européenne dans la méthodologie des tests de sensibilité aux antibiotiques et leur interprétation a été ressenti il y a déjà de nombreuses années.

Ceci a conduit en 2002 à la création de l'**EUCAST** (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) qui est composé, d'une part, d'un **General Committee** qui comporte un représentant par pays européen et se réunit une fois par an et, d'autre part, d'un **Steering Committee** composé de deux représentants du General Committee et surtout d'un représentant de chacun des six comités nationaux reconnus comme actifs en raison de leur ancienneté, de la fréquence de leurs réunions et de leur notoriété attestée par des publications régulières :

- France : CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie)

- Allemagne : DIN (Deutsches Institut für Normung)
- Pays-Bas : CRG (Commissie Richtlijnen Geveiligheidsbepalingen)
- Norvège : NWGA (Norwegian Working Group on Antibiotics)
- Suède : SRGA (Swedish Reference Group for Antibiotics)
- Royaume-Uni : BSAC (British Society for Antimicrobial Chemotherapy)

Le Steering Committee se réunit cinq fois par an.

Les objectifs de l'EUCAST ont été définis de la façon suivante :

- standardiser les méthodologies ;
- s'accorder sur l'expression des concentrations critiques : celle qui a toujours prévalu en France a été retenue, soit $S \leq x$ mg/L et $R > y$ mg/L ;
- établir des « cut-off values » séparant pour chaque couple espèce-antibiotique, la population des souches sauvages de celles porteuses d'un ou plusieurs mécanismes de résistance acquise ;
- établir des concentrations critiques pour la catégorisation clinique, d'une part, en rédigeant en accord avec l'EMA (European Agency for the Evaluation of Medicinal Products) une procédure pour les nouveaux antibiotiques et, d'autre part, en tentant d'harmoniser les concentrations critiques nationales des antibiotiques existants sur de nouveaux arguments solides, notamment des points de vue pharmacocinétique et pharmacodynamique ainsi que clinique.

Le CA-SFM peut alors soit accepter ces modifications, soit justifier son désaccord avec les propositions de l'EUCAST. En effet, en fonction des recommandations françaises de l'AFSSAPS et de différentes sociétés savantes et tenant compte des posologies utilisées en France, il peut exister quelques rares différences entre les concentrations critiques

du CA-SFM et celles de l'EUCAST.

Dans le Communiqué Annuel sont indiquées **en gras** :

- les concentrations critiques proposées par l'EUCAST et approuvées par le CA-SFM
- les modifications des diamètres critiques : celles-ci sont adoptées par les Comités nationaux en fonction de leur propre méthodologie.

2. RECOMMANDATIONS TECHNIQUES

2. 1. Conditions techniques générales pour les méthodes de dilution et de diffusion en milieu gélosé

(*Bull.Soc.Fr.Microbiol.*, 1993, 8, 156-66 ; *Clin. Microbiol. Infect.* 1996, 2, Suppl. 1)

2.1.1. *Enterobacteriaceae*, bacilles à Gram négatif non fermentaires *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.* (Tableaux VI à XV)

• Inoculum

A partir d'une culture de 18-24 h sur milieu gélosé non sélectif, préparer une suspension en bouillon Mueller-Hinton ou en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5 ($\sim 10^8$ UFC/ml). Cette suspension peut également être préparée à partir d'une culture en bouillon Mueller-Hinton obtenue après incubation à 37° C au bain-marie agité pendant 3 à 5 h, dont la densité est ajustée au standard McFarland 0,5.

• Milieu

Gélose Mueller-Hinton

• Ensemencement

· méthode de dilution : diluer la suspension inoculum au 1/10 et déposer 1 à 2 μ l, soit $\sim 10^4$ UFC par spot.

· méthode de diffusion : ensemercer par écouvillonnage avec la suspension inoculum diluée au 1/10 ($\sim 10^7$ UFC/mL) ou ensemercer par inondation avec la suspension inoculum diluée au 1/100 ($\sim 10^6$ UFC/mL) en respectant les mesures de sécurité nécessaires.

- **Lecture**

Après 18-24 h d'incubation à 35-37° C.

Cas particulier :

Pour *Staphylococcus aureus* et pour l'oxacilline, diluer la suspension inoculum au 1/10 (~ 10⁷ UFC/ml) et incuber à 30°C sur milieu non supplémenté en chlorure de sodium ou à 37°C sur milieu hypersalé (2 à 4 %). Prolonger éventuellement l'incubation jusqu'à 48 h si la croissance apparaît faible après 24 h.

2.1.2. *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus spp.* (Tableaux XVI à XIX)

- **Inoculum**

A partir d'une culture de 18-24 h sur gélose Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de mouton, préparer une suspension en bouillon Mueller-Hinton ou en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5 (~10⁸ UFC/ml)

- **Milieu**

Gélose Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de mouton.

Pour le cotrimoxazole, utiliser une gélose Mueller-Hinton + 5 % de sang de cheval hémolysé.

- **Ensemencement**

- méthode de dilution : diluer la suspension inoculum au 1/10 et déposer 1 à 2 µl, soit ~ 10⁴ UFC par spot.

- méthode de diffusion : ensemercer par écouvillonnage sans diluer ou par inondation en diluant la suspension inoculum au 1/10 (~ 10⁷ UFC/mL) en respectant les mesures de sécurité nécessaires.

- **Lecture**

Après 18-24 h d'incubation à 35-37°C

2.1.3. *Haemophilus influenzae* (Tableaux XX et XXI)

- **Inoculum**

A partir d'une culture de 18-24 h sur gélose chocolat PolyViteX®, préparer une suspension en bouillon Mueller-Hinton ou en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5 (~ 10⁷ UFC/ml).

- **Milieu**

Milieu HTM (Mueller-Hinton + NAD 15 mg/L +

hémine 15 mg/L + extrait de levure 5 g/L) ou Gélose chocolat PolyViteX®.

- **Ensemencement**

- méthode de dilution : déposer 1 à 2 µl de la suspension inoculum, soit ~10⁴ UFC par spot.

- méthode de diffusion : diluer au 1/10 la suspension inoculum (~10⁶ UFC/ml) et ensemercer par écouvillonnage ou par inondation en respectant les mesures de sécurité nécessaires.

- **Lecture**

Après 18-24 h d'incubation à 35-37° C.

2.1.4. *Neisseria meningitidis* (Tableaux XXII et XXIII)

- **Inoculum**

A partir d'une culture de 18-24 h sur gélose chocolat PolyViteX®, préparer une suspension en tampon phosphate M/15 pH 7,2 équivalente au standard McFarland 0,5 (~ 10⁶ UFC/ml).

- **Milieu**

Gélose Mueller-Hinton additionnée de 5% de sang de mouton.

- **Ensemencement**

- méthode de dilution : déposer 10 µl de la suspension inoculum soit ~ 10⁴ UFC par spot.

- méthode de diffusion : ensemercer la suspension inoculum par écouvillonnage ou par inondation en respectant les mesures de sécurité nécessaires. Disposer les disques à une distance de 60 mm, centre à centre, afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition.

- **Lecture**

Après 18 à 20 h d'incubation à 35-37° C en atmosphère contenant 5 % de CO₂.

2.1.5. *Neisseria gonorrhoeae* (Tableaux XXIV et XXV)

- **Inoculum**

A partir d'une culture de 18-24 h sur gélose chocolat PolyViteX®, préparer une suspension en tampon phosphate M/15 pH 7,2 équivalente au standard McFarland 1 (~10⁸ UFC/ml).

- **Milieu**

Gélose chocolat PolyViteX®

- **Ensemencement**

- méthode de dilution : déposer 1 à 2 µl de la suspension inoculum soit ~ 10⁵ UFC par spot.
- méthode de diffusion : ensemencer la suspension inoculum diluée au 1/100 ou ajustée au standard McFarland 0,5 (~10⁶ UFC/ml) par écouvillonnage ou par inondation en respectant les mesures de sécurité nécessaires. Disposer les disques à une distance de 60 mm, centre à centre, afin d'éviter le chevauchement des zones d'inhibition.

- **Lecture**

Après 18-24 h d'incubation à 35-37° C en atmosphère contenant 5 % de CO₂, et, si la croissance est insuffisante, après 36-40 h.

2.1.6. *Campylobacter* spp. (Tableaux XXVI et XXVII)

- **Inoculum**

A partir d'une culture de 18-24 h sur milieux d'isolement, préparer une suspension en bouillon Brucella ou en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 0,5 (~10⁸ UFC/ml).

- **Milieu**

Gélose de Mueller-Hinton additionnée de 5 % de sang de mouton ou de cheval.

- **Ensemencement**

- méthode de dilution : déposer 2 à 5 µl de la suspension inoculum (~ 10⁵ UFC par spot).
- méthode de diffusion : diluer au 1/10 la suspension inoculum puis ensemencer par écouvillonnage ou par inondation en respectant les mesures de sécurité nécessaires. Sécher la surface des géloses pour éliminer toute trace d'humidité qui favorise l'envahissement.

- **Lecture**

Après 18-24 h d'incubation à 35-37° C en microaérobiose ou en anaérobiose selon l'atmosphère optimale des souches.

2.1.7. *Helicobacter pylori* (Tableaux XXVIII et XXIV)

- **Inoculum**

Préparer une suspension en bouillon Mueller-Hinton ou en solution saline (0,9 % NaCl) équivalente au standard McFarland 3 (~ 10⁹ UFC/ml). Vérifier l'absence de formes coccoïdes (< 10 %).

- **Milieu**

Gélose de Mueller-Hinton additionnée de 10 % de sang de cheval.

- **Ensemencement**

- méthode de diffusion : ensemencer la suspension inoculum par écouvillonnage ou par inondation en respectant les mesures de sécurité nécessaires.

- **Lecture**

Après 72 h d'incubation à 35-37° C en microaérobiose et après 4 jours pour détecter les doubles populations.

2.1.8. Anaérobies (Tableaux XXX et XXXI)

- **Inoculum**

A partir d'une culture de 24 h sur gélose Columbia + 5 % de sang, ou gélose Brucella + vitamine K1 (1 mg/L) + 5 % de sang, préparer une suspension en bouillon Brucella ou Schaedler équivalente au standard McFarland 0,5 pour la méthode de dilution (~ 10⁷ UFC/ml) ou McFarland 1 (~ 10⁸ UFC/ml) pour la méthode de diffusion. Les bouillons doivent être régénérés avant emploi.

Pour certaines espèces à croissance lente (> 72 heures), préparer une suspension en bouillon Brucella ou Schaedler équivalente au standard McFarland 0,5 à partir d'une culture en bouillon.

- **Milieu**

Gélose Wilkins Chalgren + 5 % de sang, ou gélose Brucella + vitamine K1 (1 mg/L) + 5 % de sang. Pour certaines espèces, d'autres suppléments (bicarbonate de sodium 1 mg/L, hémine 5 mg/L) sont utilisés.

- **Ensemencement**

- méthode de dilution : déposer 2 à 3 µl de la suspension inoculum (McFarland 0,5), soit ~ 10⁵ UFC par spot.
- méthode de diffusion : ensemencer la suspension inoculum (McFarland 1) par écouvillonnage.

- **Lecture**

Après 48 h d'incubation à 35-37° C en atmosphère anaérobie (chambre ou jarre), si la croissance est suffisante. Pour la clindamycine, le test doit être lu impérativement après 48 h d'incubation.

2. 2. CONTROLE DE QUALITE INTERNE

Un contrôle de qualité interne doit être organisé pour s'assurer de la validité des résultats obtenus. Les souches de référence recommandées sont les suivantes : *Escherichia coli* CIP 7624 (ATCC 25922), *Pseudomonas aeruginosa* CIP 76110 (ATCC 27853), *Staphylococcus aureus* CIP 7625 (ATCC 25923), *Providencia stuartii* CIP 107808, *Streptococcus pneumoniae* CIP 104485

Tableau II A - Limites acceptables des diamètres d'inhibition (mm) obtenus par diffusion en gélose (moyennes \pm 1 écart-type calculés sur 400 tests)

Antibiotiques	Charge du disque	<i>Escherichia coli</i> CIP 7624	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> CIP 76110	<i>Staphylococcus aureus</i> CIP 7625	<i>Providencia stuartii</i> CIP 107808
Pénicilline G	6 µg (10 UI)	-	-	31,0 – 38,5	-
Oxacilline	5 µg	-	-	27,0 – 34,0	-
Amoxicilline	25 µg	22,0 – 26,5	-	-	6,0 – 7,0
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	22,0 – 27,0	-	-	6,0 – 8,0
Ticarcilline	75 µg	-	25,0 – 30,5	-	-
Pipéracilline	75 µg	-	27,5 – 32,5	-	-
Céfalotine	30 µg	18,0 – 23,0	-	-	6,0 – 6,5
Céfoxitine	30 µg	-	-	28 - 35	-
Céfotaxime	30 µg	32,5 – 37,5	-	-	25,0 – 32,0
Ceftazidime	30 µg	-	25,5 – 31,5	-	-
Imipénème	10 µg	-	24,5 – 29,5	-	-
Gentamicine	15 µg (10 UI)	22,0 – 26,5	15,5 – 22,5	24,0 – 28,5	13,0 – 17,0
Tobramycine	10 µg	-	20,5 – 26,5	-	-
Amikacine	30 µg	21,5 – 26,0	20,0 – 26,0	-	24,5 – 29,0
Acide nalidixique	30 µg	25,5 – 30,5	-	-	-
Péfloxacine	5 µg	29,0 – 35,5	-	25,5 – 29,5	6,0 – 7,5
Ciprofloxacine	5 µg	31,0 – 38,0	29,0 – 36,5	-	17,5 – 22,5
Triméthoprim/sulfaméthoxazole (cotrimoxazole)	1,25/23,75 µg	25,5 – 30,5	-	28,0 – 32,5	-
Erythromycine	15 UI	-	-	26,5 – 31,5	-
Lincomycine	15 µg	-	-	24,5 – 29,5	-
Pristinamycine	15 µg	-	-	26,5 – 32,0	-
Rifampicine	30 µg	-	-	34,0 – 39,0	-
Acide fusidique	10 µg	-	-	28,5 – 34,5	-
Fosfomycine	50 µg	-	-	24,0 – 35,0	-
Colistine	50 µg	-	17,0 – 22,0	-	-
Vancomycine	30 µg	-	-	17,5 – 20,5	-
Teicoplanine	30 µg	-	-	17,0 – 20,0	-

Tableau II B : Limites acceptables des CMI (mg/L) des bêta-lactamines chez *Streptococcus pneumoniae* CIP 104485 (résultats de 15 observatoires régionaux)

Antibiotiques	
Pénicilline G	0,125 – 0,500 mg/L
Amoxicilline	0,030 – 0,125 mg/L
Céfotaxime	0,030 – 0,250 mg/L

2. 3. Concentrations et diamètres critiques pour les diverses classes d'antibiotiques (Tableau III)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
PENICILLINES					
Pénicilline G	6 µg (10 UI)	≤ 0,25	> 2	≥ 29	< 18
Ampicilline	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 16
Ampicilline/sulbactam	10/10 µg	≤ 2/8	> 8/8	≥ 21	< 16
Amoxicilline	25 µg	≤ 2	> 8	≥ 23	< 16
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 2/2	> 8/2	≥ 23	< 16
Ticarcilline	75 µg	≤ 8	> 16	≥ 24	< 22
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	≥ 24	< 22
Pipéracilline	75 µg	≤ 4	> 16	≥ 22	< 18
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 4	> 16	≥ 22	< 18
CARBAPENEMES					
Imipénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15
Ertapénème	10 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 28	< 26
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19
MONOBACTAME					
Aztréonam	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 23	< 21

Tableau III (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
CEPHALOSPORINES (Voie parentérale)					
Céfazoline		≤ 1	> 2		
Céfalotine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfamandole	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Céfuroxime	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 22
Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15
Céfotiam	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 22	< 15
Céfopérazone	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 14
Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23
Ceftriaxone	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23
Ceftazidime	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19
Céfépime	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19
Cefpirome	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19
Latamoxef	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17
CEPHALOSPORINES (Voie orale)					
Céfadroxil	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfalexine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfradine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12
Céfaclor	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 16
Céfatrizine	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15
Loracarbef	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 23	< 15
Céfuroxime-axétil	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 26	< 20
Céfotiam-héxétil	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Céfixime	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 25	< 22
Cefpodoxime-proxétil	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 24	< 21

Tableau III (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
AMINOSIDES					
Streptomycine					
- streptocoques, entérocoques	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 12
- autres bactéries	10 UI	≤ 8	> 16	≥ 15	< 13
Gentamicine					
- streptocoques, entérocoques	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 17	< 11
- autres bactéries	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Nétilmicine	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 19
Kanamycine					
- streptocoques, entérocoques	1000 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 10
- autres bactéries	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
Tobramycine	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15
Spectinomycine (<i>Neisseria gonorrhoeae</i>)	100 µg	≤ 64	> 64	≥ 20	< 20
PHENICOLES					
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 23	< 19
TETRACYCLINES					
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Oxytétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Doxycycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Minocycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17
Tigécycline	15 µg	≤ 0,25	> 0,5	≥ 22	< 22

Tableau III (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
MACROLIDES					
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 4	≥ 22	< 17
Dirithromycine	15 µg	≤ 0,12	> 4	≥ 28	< 16
Azithromycine	15 µg	≤ 0,5	> 4	≥ 22	< 17
Spiramycine	100 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19
KETOLIDES					
Télithromycine	15 µg	≤ 0,5	> 2	≥ 21	< 17
LINCOSAMIDES					
Lincomycine	15 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 17
Clindamycine	2 UI	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
STREPTOGRAMINES					
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Quinupristine-dalfopristine	15 µg	≤ 0,5	> 2	≥ 25	< 19
OXAZOLIDINONES					
Linézolide	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 28	< 24
GLYCOPEPTIDES					
Teicoplanine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-
Vancomycine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-
POLYPEPTIDES					
Bacitracine	130 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15
SULFAMIDES-TRIMETHOPRIME					
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12
Triméthoprime	5 µg	≤ 4	> 8	≥ 16	< 12
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 2/38	> 8/152	≥ 16	< 10

Tableau III (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
NITROFURANES	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15
QUINOLONES					
Acide oxolinique	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 17
Fluméquine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 21
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15
Acide pipémidique	20 µg	≤ 8	> 16	≥ 19	< 14
Acide piromidique	25 µg	≤ 16	> 32	≥ 20	< 16
FLUOROQUINOLONES					
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22
Enoxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17
Loméfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 24	< 21
Norfloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22
Ofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16
Sparfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 16

Tableau III (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
		S	R	S	R
DIVERS					
Acide fusidique	10 µg	≤ 2	> 16	≥ 22	< 15
Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14
Métronidazole	Comprimé 16 µg	≤ 4	> 4	-	< 21
Nitroxoline	20 µg	≤ 1	> 32	≥ 30	< 12
Rifampicine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14
Mupirocine	5 µg	≤ 2	-	≥ 19	-

3. RESISTANCES NATURELLES AUX ANTIBIOTIQUES DES PRINCIPALES ESPECES BACTERIENNES D'INTERET MEDICAL

La résistance naturelle est caractéristique d'une espèce bactérienne. Elle délimite le spectre naturel de l'antibiotique et constitue une aide à l'identification. La résistance naturelle se traduit habituellement par des CMI supérieures à la valeur critique basse de concentration (c) de l'antibiotique concerné. Les quelques souches apparemment sensibles aux antibiotiques auxquels l'espèce est naturellement résistante devraient donc être interprétées « I ».

3. 1. Bacilles à Gram négatif non exigeants

Pénicilline G, oxacilline, macrolides, kétolides, lincosamides, streptogramines, acide fusidique, glycopeptides, oxazolidinones, lipopeptides.

3.1.1. Entérobactéries

Tableau IV – Résistance naturelle chez les entérobactéries.

Espèces	AM	AMC	TIC/ PIP	C1G	FOX	CTT	MA	CXM	GM	TET	COL	FT
<i>Klebsiella spp.</i>	R		R									
<i>E. hermanii</i>	R		R									
<i>C. koseri</i>	R		R									
<i>C. freundii</i>	R	R		R	R	R						
<i>E. cloacae</i>	R	R		R	R	R						
<i>E. aerogenes</i>	R	R		R	R	R						
<i>H. alvei</i>	R	R		R								
<i>S. marcescens</i>	R	R		R			R	R			R	
<i>P. mirabilis</i>										R	R	R
<i>P. vulgaris, P. penneri</i>	R			R			R	R		R	R	R
<i>M. morganii</i>	R	R		R				R			R	R
<i>P. stuartii</i>	R	R		R					R	R	R	R
<i>P. rettgeri</i>	R	R	R	R	R					R	R	R
<i>Y. enterocolitica</i>	R	R		R			R	R				

R : résistance naturelle

AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; PIP : pipéracilline

C1G : céphalosporines de 1^{ère} génération ; FOX : céfoxitine ; CTT : céfotétan ; MA : céfamandole ; CXM : céfuroxime ;

GM : gentamicine ; TET : tétracyclines y compris la tigécycline ; COL : colistine, polymyxine B ; FT : nitrofuranes.

3.1.2. Bacilles à Gram négatif non fermentaires

Tableau V – Résistance naturelle chez les bacilles à Gram négatif non fermentaires.

Espèces	TIC	TCC	PIP	CTX	CAZ	IPM	QUI	C	TMP	FOS	COL
<i>S. maltophilia</i>	R		R	R		R			R	R	
<i>B. cepacia</i>	R	R				R	R	R	R	R	R
<i>A. denitrificans</i>				R							
<i>C. meningosepticum</i>	R	R	R	R	R	R	R				R
<i>O. anthropi</i>	R	R	R	R	R						

R : résistance naturelle

TIC : ticarcilline ; TCC : ticarcilline + ac. clavulanique ; PIP: pipéracilline ; CTX: céfotaxime ; CAZ : ceftazidime ; IPM : imipénème ; QUI : quinolones; C : chloramphénicol ; TMP: triméthoprimine ; FOS : fosfomycine ; COL : colistine, polymyxine B.

Pseudomonas aeruginosa : aminopénicillines, céphalosporines 1^{ère} et 2^{ème} génération, **céfixime**, **céfuroxime**, céfotaxime, ceftriaxone, ertapénème, kanamycine, tétracyclines, chloramphénicol, triméthoprimine, quinolones.

Acinetobacter baumannii, *Acinetobacter calcoaceticus* : aminopénicillines, aztréonam, céphalosporines 1^{ère} et 2^{ème} génération, ertapénème, fosfomycine, triméthoprimine, furanes.

S. maltophilia

La résistance intrinsèque aux aminosides est observée uniquement après incubation à 30°C. Interpréter I, un résultat S obtenu après incubation à 37° C.

Aeromonas

Aminopénicillines (sauf *Aeromonas trota*), céphalosporines de 1^{ère} et de 2^{ème} génération (sauf *Aeromonas veronii*), ertapénème.

Autres bacilles à Gram négatif non fermentaires : aminopénicillines, céphalosporines 1^{ère} et 2^{ème} génération, ertapénème. Voir aussi le tableau V.

3. 2. Bacilles à Gram négatif exigeants

Haemophilus : macrolides (cycle à 16 atomes : spiramycine, josamycine, midécamycine), lincosamides.

Campylobacter : aztréonam, novobiocine, streptogramines, triméthoprimine, glycopeptides.

Campylobacter jejuni , *Campylobacter coli* et *Campylobacter lari* : céphalosporines de 1^{ère} génération.

Campylobacter fetus et *Campylobacter lari* : quinolones.

3. 3. Coques à Gram positif

Mécillinam, aztréonam, quinolones, colistine.

Staphylococcus saprophyticus : fosfomycine, novobiocine.

Staphylococcus cohnii et *Staphylococcus xylosus* : novobiocine, lincomycine.

Micrococcus : furanes.

Streptococcus (dont *Streptococcus pneumoniae*) : aminoglycosides (bas niveau), péfloxacine.

Enterococcus : oxacilline, céphalosporines, ertapénème, aminosides (bas niveau), péfloxacine, fosfomycine (bas niveau), sulfamides.

Enterococcus faecalis : lincosamides, streptogramines A.

Enterococcus gallinarum - *Enterococcus casseliflavus* / *flavescens* : vancomycine¹.

Pediococcus – *Leuconostoc* : glycopeptides.

1 - (voir introduction page 15)

3. 4. Bacilles à Gram positif

Mécillinam, aztréonam, colistine, polymyxine B, quinolones.

Listeria monocytogenes : oxacilline, céphalosporines, lincosamides, fosfomycine, fluoroquinolones (bas niveau).

Erysipelothrix rhusiopathiae : glycopeptides.

Corynebacterium urealyticum - *Corynebacterium jeikeium* : bêta-lactamines, aminosides, macrolides, lincosamides, sulfamides.

Rhodococcus equi : streptogramines, lincosamides.

Bacillus cereus : pénicilline G, amino- et carboxy- pénicillines, céphalosporines.

Nocardia asteroides – *Nocardia farcinica* : triméthoprim, vancomycine, rifampicine, fluoroquinolones.

Lactobacillus : sulfamides.

Lactobacillus hétérofermentaires : glycopeptides.

3. 5. Coques à Gram négatif

Bacillus cereus : pénicilline G, amino- et carboxy- pénicillines, céphalosporines:

Nocardia asteroides – *Nocardia farcinica* : triméthoprim, vancomycine, rifampicine, fluoroquinolones:

Lactobacillus : sulfamides:

Lactobacillus hétérofermentaires : glycopeptides:

Neisseria : triméthoprim, glycopeptides.

Neisseria meningitidis - *Neisseria gonorrhoeae* : lincosamides, colistine, polymyxine B.

Branhamella catarrhalis : lincosamides, triméthoprim.

Moraxella : triméthoprim.

3. 6. Bactéries anaérobies strictes

Aminosides, aztréonam (sauf *Fusobacterium*), triméthoprim, quinolones.

Bacteroides du groupe *fragilis* : aminopénicillines, céphalosporines 1^{ère} génération, céfamandole, céfuroxime, colistine, polymyxine B, glycopeptides, fosfomycine.

Prevotella : glycopeptides, fosfomycine.

Porphyromonas : fosfomycine, colistine, polymyxine B.

Fusobacterium : macrolides (bas niveau) .

Fusobacterium varium - *Fusobacterium mortiferum* : rifampicine.

Clostridium - *Eubacterium* – *Peptostreptococcus* : colistine, polymyxine B, fosfomycine.

Clostridium difficile : céphalosporines.

Clostridium innocuum : vancomycine (bas niveau).

Actinomyces – *Propionibacterium* : céphalosporines 1^{ère} génération, nitroimidazoles, ornidazole.

Mobiluncus : nitroimidazoles.

Veillonella : macrolides (bas niveau), glycopeptides.

4. ANTIBIOTIQUES À TESTER, CONCENTRATIONS, DIAMÈTRES CRITIQUES ET RÈGLES DE LECTURE INTERPRÉTATIVE SPÉCIFIQUES

Chaque molécule (ou son équivalent) est représentative d'une classe d'antibiotiques. Deux listes distinctes (ne préjugant pas de la technique utilisée) sont présentées :

Liste standard

Cette liste comprend les antibiotiques nécessaires à l'orientation thérapeutique, en fonction des indications cliniques et de la prévalence de la résistance acquise.

Liste complémentaire

Cette liste comprend les antibiotiques plus spécifiquement utilisés vis-à-vis des souches multirésistantes, la surveillance épidémiologique de la résistance ou l'aide à l'interprétation des résultats de l'antibiogramme.

Il n'est pas utile de tester en routine d'autres molécules que celles mentionnées dans les listes standard et complémentaire par espèce ou groupe bactérien, mais le choix des antibiotiques de la liste standard peut être adapté par chaque laboratoire en fonction des schémas thérapeutiques de première intention retenus par le Comité du Médicament ou des données épidémiologiques locales.

4. 1. *Enterobacteriaceae*

4.1.1. Antibiotiques à tester (Tableau VI)

<i>Enterobacteriaceae</i>	
Liste standard	Liste complémentaire
Amoxicilline ou ampicilline	Ticarcilline
Amoxicilline/ac. clavulanique ou ampicilline/sulbactam	Ticarcilline/ac. clavulanique Pipéracilline Pipéracilline/tazobactam
Mécillinam	Céfamandole
Céfalotine	Céfuroxime
Céfoxitine	Latamoxef
Ceftriaxone ou céfotaxime	Ceftazidime
Céfixime	Céfépime ou cefpirome
Ertapénème	Aztréonam
Gentamicine Amikacine	Imipénème ou méropénème
Acide nalidixique Norfloxacin Ciprofloxacine	Kanamycine Tobramycine Nétilmicine
Cotrimoxazole	Chloramphénicol
Nitrofuranes	Tétracycline Minocycline Tigécycline
Fosfomycine	Péfloxacin ou ofloxacin
	Sulfamides Triméthoprime
	Colistine
	Azithromycine

4.1.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau VII)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 16	Interprétation valable pour bacampicilline, pivampicilline. Cf. règle (1)
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 16	Cf. règle (1)
Ampicilline/sulbactam	10/10 µg	≤ 4/8	> 8/8	≥ 19	< 16	Cf. règle (3). Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1) et (2).
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 8/2	≥ 21	< 16	
Ticarcilline	75 µg	≤ 8	16	≥ 24	< 22	Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1) et (2).
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	≥ 24	< 22	
Pipéracilline	75 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 16	Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1) et (2).
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 8/4	> 16/4	≥ 21	< 17	
Méциллин	10 µg	≤ 8	> 8	≥ 24	< 22	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines. Voir note en annexe 1 : lettre d'information (p.56)
Imipénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17	
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15	Déterminer la CMI en cas de résistance par diffusion à l'ertapénème avec sensibilité à l'imipénème.
Ertapénème	10 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 28	< 26	
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	Cf. règle (3).
Aztréonam	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 27	< 21	

Règles de lecture interprétative

- (1). Interpréter I un résultat S aux carboxy- et/ou aux uréido-pénicillines chez *Proteus mirabilis* R aux amino-pénicillines.
- (2). Interpréter I un résultat S aux uréido-pénicillines chez toute entérobactérie I ou R aux carboxy-pénicillines.

Tableau VII (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Céfalotine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12	Interprétation valable pour les céphalosporines injectables de 1 ^{ère} génération (céfapirine, céfazoline). Interprétation également valable pour les céphèmes orales de 1 ^{ère} génération (céfadroxil, céfalexine, céfradine, céfclor, céfatrizine, loracarbef) mais uniquement pour les souches isolées des urines.
Céfuroxime	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 22	< 22	Non commercialisé en France
Céfamandole	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15	
Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15	
Céfotétan	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17	
Latamoxef	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17	
Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	Pour les 6 céphalosporines de ce groupe cf. règle (3).
Ceftriaxone	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	
Ceftazidime	30 µg	≤ 1	> 4	≥ 26	< 21	
Céfépime	30 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 21	
Cefpirome	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 24	< 17	
Céfixime	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 25	< 22	

Règles de lecture interprétative (suite)

(3). Les concentrations critiques désormais retenues pour les céphalosporines de troisième génération permettent la catégorisation clinique des souches productrices de bêta-lactamases hydrolysant ces molécules comme, par exemple, les BLSE et dispensent donc d'interpréter les résultats pour des raisons thérapeutiques. Cependant, la détection des BLSE reste indispensable pour des objectifs autres que thérapeutiques (épidémiologie, mesure d'hygiène et d'isolement, par exemple). Voir note en annexe 2 (p.58)

La présence d'une BLSE peut être confirmée par des méthodes quantitatives ou qualitatives.

- Les méthodes quantitatives peuvent consister en :

* la mesure d'une augmentation de 5 mm du diamètre de la zone d'inhibition d'un disque de céfotaxime, ceftazidime et céfépime combiné(s) à l'acide clavulanique comparativement à la zone d'inhibition de ce(s) même(s) disque(s) utilisé(s) sans acide clavulanique,

* diminution d'au moins 3 dilutions de la CMI de ces céphalosporines mesurée en présence d'acide clavulanique.

=> Toute synergie significative témoigne de la présence d'une BLSE et permet de distinguer ces enzymes de certaines β-lactamases plasmidiques (OXA-1/30, SHV-1 hyperproduite).

- La méthode qualitative peut consister en l'utilisation de la méthode du « double disque » sur l'antibiogramme standard : disque de céfotaxime, ceftazidime et céfépime et un disque contenant de l'acide clavulanique (ex. amoxicilline + ac. clavulanique : AMC) distants de 30 mm des disques de céphalosporine. La présence d'une BLSE s'exprime par l'apparition d'une synergie en « bouchon de champagne ». Toutefois, si les souches productrices de BLSE ont aussi d'autres mécanismes de résistance aux β-lactamines comme l'hyperproduction de céphalosporinase, la détection de l'image de synergie peut être facilitée par le rapprochement des disques de céphalosporine, de celui du disque contenant de l'acide clavulanique ou en pratiquant un antibiogramme standard sur gélose Mueller-Hinton additionnée de 250 mg/L de cloxacilline (inhibiteur de céphalosporinase).

Chez *P. vulgaris* et *P. penneri*, la présence d'une synergie significative CIIG/AMC peut résulter de l'hyperproduction de la β-lactamase naturelle chromosomique et beaucoup plus rarement d'une BLSE, surtout en absence de résistance acquise aux autres familles d'antibiotiques.

Chez certaines espèces intrinsèquement très sensibles aux β-lactamines (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri*, *P. stuartii* et *P. rettgeri*), les BLSE s'expriment à bas niveau. Leur détection est facilitée par la recherche d'une synergie significative entre les C3G et AMC avec des disques placés à une distance de 40-45 mm ou par mesure des CMI des céphalosporines en absence et en présence d'acide clavulanique

La présence d'une souche catégorisée I ou R à céfotaxime et/ou ceftriaxone et/ou ceftazidime et/ou aztréonam en l'absence de synergie entre ces molécules et l'acide clavulanique est évocatrice d'une souche hyperproductrice de céphalosporinase chromosomique (entérobactérie du groupe III et *E. coli*) ou d'une céphalosporinase plasmidique (toutes espèces d'entérobactéries).

La réalisation d'un antibiogramme standard sur gélose Mueller-Hinton additionnée de 250 mg/L de cloxacilline permet de vérifier que la résistance observée est bien liée à ce type de mécanisme (restauration de la sensibilité aux molécules précitées lorsqu'il n'y a pas d'autre mécanisme de résistance aux β-lactamines) et de détecter une éventuelle β-lactamase à spectre étendu (BLSE) associée qui serait masquée par l'hyperproduction de céphalosporinase.

Tableau VII (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Interprétation valable pour néomycine, framycétine, paromomycine.
Tobramycine	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (4), (7) et (9).
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf. règles (4) et (5).
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (4), (6) et (9)
Nétilmicine	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 19	Cf. règles (4), (8) et (9)

Règles de lecture interprétative (suite)

Abréviations : gentamicine (G), tobramycine (T), nétilmicine (Nt), amikacine (A).

(4). Se conformer aux diamètres critiques de chaque molécule pour l'interprétation si une diminution des diamètres d'inhibition (< 20 mm) est observée pour l'ensemble des aminosides ; elle évoque une perméabilité diminuée.

(5). Interpréter A^I un résultat G^S et T^{I/R} Nt^{I/R} et A^{S/I}, évoquant la production d'une AAC(6').

(6). Interpréter G^I un résultat G^S si une diminution du diamètre d'inhibition (18 à 19 mm) de la seule gentamicine, évoquant la production d'une AAC (3)-I, est observée.

(7). Interpréter T^I un résultat T^S si une diminution du diamètre d'inhibition (18 à 19 mm) de la tobramycine est observée avec un résultat G^{I/R}. Ceci évoque la production d'une ANT (2'').

(8). Interpréter Nt^I un résultat Nt^S si une diminution du diamètre d'inhibition (21 à 22 mm) de la nétilmicine est observée avec un résultat G^{I/R} T^{I/R}. Ceci évoque la production d'une AAC(3)-II ou d'une AAC(3)-IV.

(9). Chez *Providencia* spp., après vérification de l'identification, interpréter G^I T^I Nt^I un résultat G^S T^S et Nt^S (résistance naturelle par production d'une AAC (2')-I).

IMPORTANT : Les phénotypes G^R T^S Nt^R A^S - G^S T^R Nt^R A^S - G^S T^S Nt^R A^R et G^S T^R Nt^S A^R demeurent improbables. Vérifier l'identification et l'antibiogramme, ainsi que l'interprétation.

Tableau VII (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline et la tigécycline. <i>En cas d'utilisation thérapeutique, il y a lieu de déterminer la CMI pour les diamètres de 19 et 20 mm.</i>
Minocycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	
Tigécycline	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 21	< 19	
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15	Les diamètres ont pour but de vérifier la résistance naturelle de certaines espèces, mais ne permettent pas de détecter toutes les résistances acquises ce qui impose de déterminer la CMI en cas d'utilisation thérapeutique. Interprétation valable pour polymyxine B
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprim	5 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 16	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprim/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 2/38	> 4/76	≥ 16	< 13	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprim-sulfamide. La charge des disques de cotrimoxazole n'étant pas adaptée, les souches isolées d'infections urinaires et catégorisées sensibles aux sulfamides et/ou au triméthoprim doivent être catégorisées sensibles au cotrimoxazole.
Nitrofuranes	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Acide oxolinique	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 17	Il est justifié de fournir une réponse globale pour l'ensemble du groupe des quinolones classiques (parfois appelées de première génération) en n'étudiant qu'un seul représentant de ce groupe. Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Fluméquine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 21	
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15	
Acide pipémidique	20 µg	≤ 8	> 16	≥ 19	< 14	
Acide piromidique	25 µg	≤ 16	> 32	≥ 20	< 16	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules mais son niveau d'expression peut varier pour chaque molécule. Les souches d'entérobactéries sensibles à la norfloxacine (NOR) sont sensibles aux autres fluoroquinolones. Pour les souches I (ou R) à NOR, des différences d'activité intrinsèque impliquent un test et une réponse indépendante pour les autres molécules. Les souches de <i>Salmonella</i> spp. résistantes à l'acide nalidixique doivent être catégorisées résistantes aux fluoroquinolones.
Enoxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17	
Loméfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 24	< 21	
Norfloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Ofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	
Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	
Azithromycine		≤ 16				Valable pour <i>Salmonella</i> sérotype Typhi et <i>Shigella</i> spp.

4. 2. *Pseudomonas aeruginosa*

4.2.1. Antibiotiques à tester (Tableau VIII)

<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	
Liste standard	Liste complémentaire
Ticarcilline	Ticarcilline/ac. clavulanique
Pipéracilline	Pipéracilline/tazobactam
Ceftazidime	Céfépime
Imipénème	Doripénème
Méropénème	Nétilmicine
Aztréonam	Lévofloxacine
Gentamicine	Sulfamides
Tobramycine	Fosfomycine
Amikacine	Rifampicine
Ciprofloxacine	
Colistine	

4.2.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau IX)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Ticarcilline	75 µg	≤ 16	> 16	≥ 22	< 22	Cf. règle (1).
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 16/2	> 16/2	≥ 22	< 22	
Pipéracilline	75 µg	≤ 16	> 16	≥ 18	< 18	
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 16/4	> 16/4	≥ 19	< 19	
Imipénème	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 22	< 17	Une résistance isolée aux carbapénèmes correspond à une imperméabilité sélective associée à une hydrolyse par la céphalosporinase hyperproduite de l'espèce. Cette résistance n'est pas croisée avec les autres bêta-lactamines.
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15	
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	
Aztréonam	30 µg	≤ 1	> 16	≥ 27	< 19	Cf. règle (2).
Ceftazidime	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 19	< 19	Cf. règles (1) et (2).
Céfépime	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 19	< 19	
Cefpirome	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 19	< 19	

Règles de lecture interprétative

Abréviations : TIC, ticarcilline ; TCC, ticarcilline + acide clavulanique ; PIP, pipéracilline ; PTZ, pipéracilline + tazobactam ; AZL, azlocilline ; IPM, imipénème ; ATM, aztréonam ; CFZ, céfopérazone ; CPO, cefpirome ; FEP, céfépime ; CAZ, ceftazidime.

Les concentrations critiques définies correspondent à l'utilisation des doses maximales indiquées dans le RCP.

(1). Un résultat TIC^S TCC^{I/R} est en relation avec une céphalosporinase inductible ; il n'y a pas lieu de changer la catégorisation de la ticarcilline.

(2). Une synergie entre TCC et ATM et/ou CAZ et/ou FEP et/ou CPO permet la détection de certaines bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE).

Tableau IX (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Tobramycine	10 µg	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16	
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16	
Nétilmicine	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 19	< 19	
Colistine	50 µg	≤ 2	> 4			En raison de l'absence de corrélation CMI/diamètre, il y a lieu de déterminer la CMI de la colistine en milieu liquide en cas d'utilisation thérapeutique (souche multirésistante). Interprétation valable pour polymyxine B.
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17	Valable en cas d'utilisation à la posologie maximale
Rifampicine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14	
Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte.
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.

4. 3. *Acinetobacter* spp., *Stenotrophomonas maltophilia* et *Burkholderia cepacia*

4.3.1. Antibiotiques à tester (Tableau X)

Autres bacilles à Gram négatif non fermentaires	
Liste standard	Liste complémentaire
Ticarcilline Ticarcilline/ac. clavulanique Pipéracilline Pipéracilline/tazobactam Ceftazidime Imipénème Gentamicine Tobramycine Amikacine Cotrimoxazole Ciprofloxacine	Céfépime Cefpirome Méropénème Nétilmicine Chloramphénicol Tétracycline Tigécycline Colistine ^a Rifampicine

a. Aide à l'identification (résistance naturelle *Burkholderia cepacia*)

4.3.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XI)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Ticarcilline	75 µg	≤ 16	> 64	≥ 22	< 18	Pour <i>Acinetobacter</i> spp.
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 16/2	> 64/2	≥ 22	< 18	Pour <i>Acinetobacter</i> spp. et <i>S. maltophilia</i> .
Pipéracilline	75 µg	≤ 16	> 64	≥ 18	< 12	Pour <i>Acinetobacter</i> spp. et <i>B. cepacia</i> .
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 16/4	> 64/4	≥ 19	< 14	Pour <i>Acinetobacter</i> spp.
Imipénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17	
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15	
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	
Ceftazidime	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19	
Céfépime	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19	
Cefpirome	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 19	
Tobramycine	10 µg	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16	Pour <i>Acinetobacter</i> spp.
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Pour <i>Acinetobacter</i> spp.
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 4	> 4	≥ 16	< 16	Pour <i>Acinetobacter</i> spp.
Nétilmicine	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 19	< 19	Pour <i>Acinetobacter</i> spp.
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 23	< 19	Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	Pour <i>S. maltophilia</i> et <i>B. cepacia</i> .
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15	Les diamètres ont pour but de vérifier la résistance naturelle de certaines espèces, mais ne permettent pas de détecter toutes les résistances acquises ce qui impose de déterminer la CMI en cas d'utilisation thérapeutique (souche multirésistante). Interprétation valable pour polymyxine B.
Péfloxacin	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	
Ofloxacin	5 µg	≤ 1	> 1	≥ 22	< 22	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 1	> 1	≥ 22	< 22	La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules mais son niveau d'expression peut varier pour chaque molécule.
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17	
Rifampicine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14	Pour <i>Acinetobacter</i> spp. et <i>S. maltophilia</i> .
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 4/76	> 4/76	≥ 13	< 13	Interprétation valable uniquement pour les autres associations triméthoprime-sulfamide.
- <i>S. maltophilia</i>		≤ 2/38	> 4/76	≥ 16	< 13	
- Autres espèces						

4. 4. *Staphylococcus* spp.

4.4.1. Antibiotiques à tester (Tableau XII)

<i>Staphylococcus</i> spp.	
Liste standard	Liste complémentaire
Pénicilline G	Streptomycine
Oxacilline	Kanamycine
Céfoxitine* ou Moxalactam*	Tobramycine
Gentamicine	Spiramycine
Erythromycine	Sulfamides
Lincomycine	Triméthoprime
Pristinamycine ou Quinupristine-dalfopristine	Chloramphénicol
Fluoroquinolones	Tétracycline
Acide fusidique	Minocycline
Cotrimoxazole	Tigécycline
Rifampicine	Linézolide
Fosfomycine	Nitrofuranes
Vancomycine	Novobiocine ^a
Teicoplanine	0/129 ^b
	Daptomycine
	Mupirocine

(*) Antibiotiques testés pour la lecture interprétative de l'antibiogramme

a. Aide à l'identification de *S. saprophyticus*, *S. xylosus* et *S. cohnii* (résistance naturelle).

b. Pour la différenciation entre staphylocoques (R) et microcoques (S).

Résistance croisée entre 0/129 et triméthoprime chez les microcoques.

4.4.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XIII)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Pénicilline G	6 µg (10 UI)	≤ 0,12	> 0,12			Vérifier l'absence de production de pénicillinase par une technique chromogénique. Les souches productrices de pénicillinase sont résistantes à la pénicilline G (CMI > 0,12 mg/L), à la phénoxy-méthyl-pénicilline et aux autres pénicillines hydrolysables (amino-, carboxy- et uréido-pénicillines).
Oxacilline	5 µg	≤ 2 ≤ 0,25	> 2 > 2	≥ 20	< 20	Pour <i>S. aureus</i> (voir page 4) Pour les staphylocoques à coagulase-négative. L'expression d'une PLP2a après induction par une β-lactamine ou la présence d'un gène <i>mecA</i> doit être recherchée pour les souches catégorisées intermédiaires par les CMI de l'oxacilline. Des souches appartenant aux espèces <i>S. saprophyticus</i> et <i>S. lugdunensis</i> présentent fréquemment des valeurs intermédiaires alors qu'elles ne possèdent pas le gène <i>mecA</i> ou n'expriment pas de PLP2a. Ces souches sont considérées comme sensibles aux isoxazoly-pénicillines.
Céfoxitine	30 µg			≥ 27	< 25	1. La résistance des staphylocoques aux isoxazoly-pénicillines (oxacilline, cloxacilline) est recherchée à l'aide d'un disque de céfoxitine (30 µg) et de moxalactam (30 µg) dans les conditions standards de l'antibiogramme des staphylocoques (en milieu de Mueller-Hinton avec un inoculum ~ 10 ⁶ UFC/ml et incubation 18-24 h). Il ne doit pas être tenu compte d'une éventuelle zone fantôme pour la lecture des diamètres d'inhibition de la céfoxitine. Les souches présentant un diamètre supérieur ou égal à 27 mm (céfoxitine) ou 24 mm (moxalactam) sont sensibles aux isoxazoly-pénicillines. Les souches présentant un diamètre inférieur à 25 mm (céfoxitine) ou 23 mm (moxalactam) sont résistantes. Pour les souches présentant un diamètre compris entre ces bornes, l'expression d'une PLP2a après induction par une bêta-lactamine ou la présence d'un gène <i>mecA</i> doit être recherchée par une technique appropriée. Des souches de <i>S. saprophyticus</i> et <i>S. lugdunensis</i> présentent des valeurs inférieures à la borne basse pour les diamètres de la céfoxitine ou du moxalactam. Le gène <i>mecA</i> ou la PLP2a sont à rechercher pour ces souches. En cas de négativité, elles sont considérées comme sensibles aux isoxazoly-pénicillines. 2. Les souches de staphylocoques résistantes à la céfoxitine, au moxalactam ou à l'oxacilline ou possédant le gène <i>mecA</i> ou exprimant la PLP2a, après induction par une bêta-lactamine, doivent être interprétées résistantes à toutes les bêta-lactamines: pénicillines (associées ou non à un inhibiteur de bêta-lactamase), céphalosporines et carbapénèmes.
Moxalactam	30 µg			≥ 24	< 23	

Tableau XIII (suite)

						<p>3. De rares staphylocoques à coagulase négative possédant le gène <i>mecA</i> ne sont pas identifiés comme résistants à la méticilline par les tests à la céfoxitine (environ 4 % des cas) et au moxalactam (1 %). Il est donc recommandé de vérifier l'absence du gène <i>mecA</i> ou de la PLP2a devant toute infection sévère à staphylocoque à coagulase-négative.</p> <p>4. Les souches pénicilline R – oxacilline S sont sensibles aux isoxazolyl-pénicillines, aux pénicillines associées à un inhibiteur de bêta-lactamase, aux céphalosporines et aux carbapénèmes. Ces molécules sont utilisables dans les limites de l'AMM. Il est inutile de les tester en routine.</p> <p>5. Les staphylocoques résistants à la méticilline sont souvent résistants à de multiples familles d'antibiotiques; cependant, certaines souches ont une résistance isolée à l'oxacilline.</p>
Streptomycine Kanamycine	10 UI 30 UI	≤ 8 ≤ 8	> 16 > 16	≥ 15 ≥ 17	< 13 < 15	Interprétation valable pour néomycine, framycétine, paromomycine et amikacine.
Gentamicine Tobramycine	15 µg (10 UI) 10 µg	≤ 1 ≤ 1	> 1 > 1	≥ 20 ≥ 20	< 20 < 20	Interprétation valable pour nétilmicine. Les souches résistantes à la gentamicine sont résistantes à l'ensemble des aminosides (sauf streptomycine).
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine.
Spiramycine Lincomycine	100 µg 15 µg	≤ 1 ≤ 2	> 4 > 8	≥ 24 ≥ 21	< 19 < 17	Interprétation valable pour josamycine et midécamycine. Interprétation valable pour clindamycine. Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à spiramycine ou lincomycine ou clindamycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance (antagonisme érythromycine-lincomycine). En l'absence d'induction, répondre sensible à spiramycine, lincomycine et clindamycine. En présence d'induction, répondre sensible à spiramycine, lincomycine et clindamycine avec le message suivant : de rares échecs cliniques ont été rapportés par sélection de mutants constitutifs résistants.
Clindamycine		≤ 0,25	> 0,5			En cas de résistance à la clindamycine, les activités de la pristinamycine et de l'association quinupristine-dalfopristine sont diminuées.
Pristinamycine Quinupristine-dalfopristine	15 µg 15 µg	≤ 1 ≤ 1	> 2 > 2	≥ 22 ≥ 22	< 19 < 19	Pour les souches dont le diamètre est $19 \leq \varnothing < 22$ mm, déterminer la CMI.
Linézolide	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 24	< 24	La résistance inductible n'est détectée que si l'incubation est prolongée à 48 H.
Mupirocine	5 µg	≤ 2	-	≥ 19	-	

Tableau XIII (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	Péfloxacine, ofloxacine, lévofloxacine et ciprofloxacine ont une activité similaire sur les staphylocoques. La résistance est croisée entre ces molécules et le résultat obtenu en testant l'une d'entre elles est valable pour les autres. En cas de résistance à l'une de ces molécules, il existe un risque élevé de sélection <i>in vivo</i> de mutants résistants et d'échec clinique pour les molécules encore actives.
Ofloxacine	5 µg	≤ 1	> 1	≥ 22	< 22	
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 1	> 1	≥ 22	< 22	
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 24	< 21	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tétracycline	30 UI	≤ 1	> 2	≥ 23	< 21	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline et la tigécycline. <i>Il y a lieu de déterminer la CMI de la tigécycline pour toute souche dont le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 22 mm.</i>
Minocycline	30 UI	≤ 0,5	> 1	≥ 23	< 21	
Tigécycline	15 µg	≤ 0,5	> 0,5	≥ 22	< 22	
Rifampicine	30 µg	≤ 0,06	> 0,5	≥ 29	< 24	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte.
Fosfomycine	50 µg	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	
Acide fusidique	10 µg	≤ 1	> 1	≥ 24	< 24	
Teicoplanine	30 µg	≤ 2	> 2	≥ 17	-	<i>S. aureus</i> : Cf. règle (1)
Vancomycine	30 µg	≤ 2	> 2	≥ 17	-	<i>S. aureus</i> : Cf. règle (1)
Teicoplanine	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 17	-	Staphylocoques à coagulase négative.
Vancomycine	30 µg	≤ 2	> 2	≥ 17	-	Staphylocoques à coagulase négative.
Daptomycine	-	≤ 1	> 1	-	-	
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprim	5 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 16	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprim/sulfaméthoxazole	1,25+23,75 µg	≤ 2/38	> 4/76	≥ 16	< 13	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprim-sulfamide.
Nitrofuranes	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15	

4. 5. Détermination de l'activité *in vitro* des glycopeptides sur *Staphylococcus aureus* : catégorisation clinique des souches suspectées d'être de sensibilité diminuée.

4.5.1. Introduction

Des souches de *S. aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA, GRSA, Hetero-VISA* des anglosaxons) ont été décrites depuis plusieurs années. En France, cette sensibilité diminuée concerne presque exclusivement les souches simultanément résistantes à la méticilline et à la gentamicine.

4.5.2. Critères de suspicion de la sensibilité diminuée aux glycopeptides

En routine, par la méthode par diffusion en milieu gélosé lorsque,

- le diamètre de la zone d'inhibition est < 17 mm autour du disque de l'un des deux glycopeptides,
- le diamètre de la zone d'inhibition autour d'un disque de téicoplanine est inférieur d'au moins 3 mm à celui de la vancomycine,
- quelques colonies sont présentes dans la zone d'inhibition de l'un des deux glycopeptides,

En routine, par les méthodes automatisées lorsque les souches sont catégorisées I ou R à au moins l'un des glycopeptides.

(*) mise en évidence basée sur une analyse de population non réalisée en routine (voir Chesneau, O., A. Morvan et N. El Solh – J. Antimicrob. Chemother., 2000, **45** : 887-890.)

Par l'un des deux test particuliers suivants :

1. ensemencement d'une gélose Mueller-Hinton (MH) additionnée de 5 mg/L de téicoplanine, par dépôt de 10 µl d'une suspension de 6.10⁸ UFC/ml (McFarland 2), incubation à 35-37°C et lecture à 24 et 48 heures. Un témoin négatif (*Staphylococcus aureus* ATCC 25923) et un témoin positif (*Staphylococcus haemolyticus* CIP 107204) sont à utiliser.
2. Test de sensibilité à téicoplanine et vancomycine par diffusion en gradient (bandelettes) sur milieu Cœur-cerveau avec un inoculum McFarland 2 en écouvillonnage.

La présence d'au moins 4 colonies pour le premier test ou des CMI de vancomycine et téicoplanine ≥ 8 mg/L ou de téicoplanine seule ≥ 12 mg/L pour le deuxième test permet de suspecter très fortement le caractère hétéro-VISA. La confirmation définitive se fait par la technique de référence d'analyse de population (Wootton M, *et al.* J Antimicrob Chemother. 2001;47:399-403).

4.5.3. Catégorisation

Pour les souches suspectes d'être de sensibilité diminuée aux glycopeptides, seule la détermination des CMI de la vancomycine et de la téicoplanine dans les conditions décrites dans ce communiqué annuel (page 3) ou par toute technique ayant démontré, pour ces antibiotiques, son équivalence avec la technique de référence, permet leur catégorisation clinique.

4. 6. Enterococcus spp.

4.6.1. Antibiotique à tester (Tableau XIV)

<i>Enterococcus</i> spp.	
Liste standard	Liste complémentaire
Ampicilline	Oxacilline ^a
Gentamicine	Streptomycine Kanamycine
Nitrofuranes	Chloramphénicol
Vancomycine Teicoplanine	Tétracycline Tigécycline
	Erythromycine Lincomycine ^a ou clindamycine ^a
	Pristinamycine ou Quinupristine-dalfopristine
	Linézolide
	Cotrimoxazole
	Rifampicine
	Fluoroquinolones

a. Aide à l'identification de *E. faecalis* (résistance naturelle).

4.6.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XV)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 16	Pour <i>E. faecalis</i> , l'interprétation est valable pour pénicilline G, amoxicilline, uréidopénicillines et carbapénèmes. Le traitement des infections sévères à entérocoques ampicilline S/I nécessite des doses élevées d'une pénicilline associée à un aminoside pour obtenir une activité bactéricide.
Streptomycine Kanamycine Gentamicine	500 µg 1000 µg 500 µg	≤ 250 ≤ 250 ≤ 128	> 500 > 500 > 128	≥ 14 ≥ 14 ≥ 17	< 12 < 10 < 17	Les entérocoques présentent une résistance naturelle de bas niveau (BNR) à tous les aminosides qui n'empêche pas d'obtenir un effet synergique bactéricide entre un aminoside et une pénicilline ou un glycopeptide. L'acquisition d'une résistance de haut niveau (HNR) aux aminosides, détectée grâce à des disques fortement chargés en streptomycine (S : 500 µg), kanamycine (K : 1000 µg) et gentamicine (G : 500 µg), abolit cet effet synergique bactéricide. <u>Interprétation des résultats :</u> S ^{BNR} , K ^{BNR} et G ^{BNR} (∅ ≥ D ; CMI ≤ c) : synergie possible avec les pénicillines ou les glycopeptides en cas de sensibilité à ces derniers antibiotiques. S ^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : streptomycine ne peut être utilisée. K ^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : kanamycine et amikacine ne peuvent être utilisées. G ^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : kanamycine, tobramycine, dibécacine, amikacine, gentamicine, sisomicine et nétilmicine ne peuvent être utilisées. Pour les valeurs « intermédiaires » des diamètres, le niveau de résistance devra être confirmé par dilution en agar ou en bouillon contenant 500 µg/mL de S, K ou G. (HNR : CMI > 500 µg/mL). Les combinaisons S ^{HNR} + K ^{HNR} , K ^{HNR} + G ^{HNR} et S ^{HNR} + K ^{HNR} + G ^{HNR} sont possibles.
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 23	< 19	Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tétracycline Tigécycline	30 UI 15 µg	≤ 4 ≤ 0,25	> 8 > 0,5	≥ 19 ≥ 22	< 17 > 22	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline et la tigécycline. <i>Il y a lieu de déterminer la CMI de la tigécycline pour toute souche dont le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 22 mm.</i>

Tableau XV (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 4	≥ 22	< 17	Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine.
Lincomycine	15 µg	≤ 2	> 8	≥ 21	< 17	Résistance naturelle de <i>E. faecalis</i> .
Clindamycine	2 UI	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15	Résistance naturelle de <i>E. faecalis</i>
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	Spectre limité à <i>E. faecium</i> .
Quinupristine – dalfopristine	15 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	Spectre limité à <i>E. faecium</i> .
Lévofoxacine	5 µg	≤ 1	> 4	-	-	
Moxifloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	-	-	
Linézolide	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 24	< 24	
Teicoplanine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-	Du fait d'une expression parfois faible ou tardive de la résistance aux glycopeptides des entérocoques, il est recommandé de déterminer les CMI de la vancomycine et de la teicoplanine par la méthode de dilution en gélose ou par toute technique ayant démontré, pour ces antibiotiques, son équivalence avec la technique de référence : <ul style="list-style-type: none"> - en cas d'échec thérapeutique - lorsque, par la méthode de diffusion en gélose, <u>après 24 heures d'incubation</u> : <ul style="list-style-type: none"> · le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de l'un des deux glycopeptides est < 17 mm · le diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de vancomycine est inférieur d'au moins 3 mm à celui autour du disque de teicoplanine · quelques colonies sont présentes dans la zone d'inhibition de l'un des deux glycopeptides. - lorsque les souches sont catégorisées I ou R à au moins l'un des deux glycopeptides par les méthodes automatisées. - en cas de culture sur un milieu additionné de vancomycine Il convient aussi de vérifier l'identification, notamment en cas d'infection sévère, <i>Enterococcus casseliflavus</i> / <i>flavescens</i> et <i>Enterococcus gallinarum</i> étant naturellement résistants aux glycopeptides.
Vancomycine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-	
Rifampicine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14	
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 0,03/0,6	> 1/19	≥ 16	< 10	
Nitrofuranes	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines

4.7. *Streptococcus pneumoniae*

4.7.1. Antibiotiques à tester (Tableau XVI)

<i>Streptococcus pneumoniae</i> ¹	
Liste standard	Liste complémentaire
Pénicilline G	Autres bêta-lactamines
Ampicilline ou amoxicilline	Gentamicine 500 µg Streptomycine 500 µg Kanamycine 1000 µg
Oxacilline*	Chloramphénicol
Céfotaxime ou ceftriaxone	Linézolide
Tétracycline	Rifampicine
Erythromycine Télithromycine	Cotrimoxazole ^a
Lincomycine ou clindamycine	Fosfomycine
Pristinamycine	
Fluoroquinolones Norfloxacin*	
Vancomycine ou Teicoplanine	

(*) Antibiotiques testés pour la lecture interprétative de l'antibiogramme

a. Tester sur milieu de Mueller-Hinton additionné de 5 % de sang de cheval hémolysé

4.7.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XVII)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Pénicilline G	-	≤ 0,06	> 2	-	-	<p>La détection de pneumocoques de sensibilité diminuée à la pénicilline G est réalisée avec un disque d'oxacilline 5 µg (OXA-5) selon les critères suivants :</p> <ul style="list-style-type: none"> - diamètre OXA-5 ≥ 26 mm : souche sensible à la pénicilline G et aux autres bêta-lactamines. - diamètre OXA-5 < 26 mm : souche de sensibilité diminuée. <p>Ce test ne peut pas apprécier le niveau de résistance à la pénicilline G ou aux autres bêta-lactamines. L'utilisation d'autres disques de bêta-lactamines ne permet pas de déterminer le niveau de résistance à ces bêta-lactamines.</p> <p>En conséquence, notamment en cas d'infection sévère, d'échec clinique ou devant toute souche de sensibilité diminuée (OXA-5 < 26 mm), il y a lieu de déterminer la CMI d'au moins une des bêta-lactamines dont les propriétés pharmacodynamiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique (amoxicilline, céfotaxime, ceftriaxone).</p> <p>La résistance acquise à la pénicilline G est croisée avec toutes les autres bêta-lactamines mais à des niveaux variables en fonction des antibiotiques permettant l'utilisation des molécules les plus actives. Les souches catégorisées comme intermédiaires (ou résistantes de bas niveau) doivent être considérées comme résistantes en cas de méningite, mais sensibles à fortes doses en cas d'infections respiratoires.</p>
Ampicilline	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Amoxicilline	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Céfuroxime	-	≤ 0,5	> 1	-	-	
Céfuroxime-axétil	-	≤ 0,25	> 0,5	-	-	
Cefpodoxime-proxétil	-	≤ 0,25	> 0,5	-	-	
Céfotaxime	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Ceftriaxone	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Céfépime	-	≤ 1	> 2	-	-	
Cefpirome	-	≤ 1	> 2	-	-	
Imipénème	-	≤ 2	-	-	-	
Ertapénème	-	≤ 0,5	-	-	-	
Méropénème	-	≤ 2	-	-	-	
Doripénème	-	≤ 1	> 1	-	-	

Tableau XVII (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Streptomycine Kanamycine Gentamicine	500 µg 1000 µg 500 µg	≤ 250 ≤ 250 ≤ 250	> 500 > 500 > 500	≥ 14 ≥ 14 ≥ 17	< 12 < 10 < 11	<i>S. pneumoniae</i> présente une résistance naturelle de bas niveau (BNR) à tous les aminosides qui n'empêche pas d'obtenir un effet synergique bactéricide entre un aminoside et une pénicilline ou un glycopeptide. L'acquisition d'une résistance de haut niveau (HNR) aux aminosides, détectée grâce à des disques fortement chargés en streptomycine (S : 500 µg), kanamycine (K : 1000 µg) et gentamicine (G : 500 µg), abolit cet effet synergique bactéricide. <u>Interprétation des résultats :</u> S ^{BNR} , K ^{BNR} et G ^{BNR} (Ø ≥ D ; CMI ≤ c) : synergie possible avec les pénicillines ou les glycopeptides en cas de sensibilité à ces derniers antibiotiques. S ^{HNR} (Ø < d ; CMI > C) : streptomycine ne peut être utilisée. K ^{HNR} (Ø < d ; CMI > C) : kanamycine et amikacine ne peuvent être utilisées. Pour les valeurs « intermédiaires » des diamètres, le niveau de résistance devra être confirmé par dilution en agar ou en bouillon contenant 500 µg/mL de S, K ou G. (HNR : CMI > 500 µg/mL). La combinaison S ^{HNR} + K ^{HNR} est possible.
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tétracycline	30 UI	≤ 1	> 2	≥ 23	< 21	Interprétation valable pour les autres tétracyclines.
Erythromycine	15 UI	≤ 0,25	> 0,5	≥ 26	< 24	Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine.
Télithromycine	15 µg	≤ 0,25	> 0,5	≥ 24	< 21	La résistance à la télithromycine doit être vérifiée par un test en l'absence de CO ₂ qui permet la catégorisation clinique.
Spiramycine Lincomycine Clindamycine	100 µg 15 µg	≤ 1 ≤ 2 ≤ 0,5	> 4 > 8 > 0,5	≥ 24 ≥ 21	< 19 < 17	Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à spiramycine ou lincomycine ou clindamycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance (antagonisme érythromycine-lincomycine). En l'absence d'induction, répondre sensible à spiramycine, lincomycine et clindamycine. En présence d'induction, répondre résistante à spiramycine, lincomycine et clindamycine.
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 1	≥ 19	< 19	Interprétation valable pour quinupristine-dalfopristine.
Triméthopri- me/ sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 1/19	> 2/38	≥ 19	< 16	Interprétation valable pour les autres associations triméthopri- me-sulfaméthoxazole.
Fosfomycine	50 µg	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte.
Lévo- floxacin- e Moxiflo- xacine Ciproflo- xacine	5 µg 5 µg 5 µg	≤ 2 ≤ 0,5 ≤ 0,12	> 2 > 0,5 > 2	≥ 17 ≥ 24 ≥ 30	< 17 < 24 < 19	Le dépistage des pneumocoques de sensibilité diminuée aux fluoroquinolones est réalisé par la mesure de la sensibilité à la norfloxacin- e. Si le diamètre autour du disque de norfloxacin- e (chargé à 5 µg) est inférieur à 7 mm et/ou si la CMI est > 16 mg/L, il existe un risque élevé de sélection <i>in vivo</i> de mutants résistants aux fluoroquinolones et d'échec clinique.
Linézolide	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 24	< 24	
Teicoplanine	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 17	-	Pour les diamètres < 17 mm, il est recommandé de déterminer la CMI et de confirmer l'identification.
Vancomycine	30 µg	≤ 4	> 4	≥ 17	-	
Rifampicine	30 µg	≤ 0,06	> 0,5	≥ 29	< 24	

4. 8. Streptococcus spp. (*S. pneumoniae* excepté)

4.8.1. Antibiotiques à tester (Tableau XVIII)

<i>Streptococcus</i> spp. (autres que <i>S. pneumoniae</i>)	
Liste standard	Liste complémentaire
Pénicilline G	Streptomycine 500µg Kanamycine 1000 µg
Ampicilline ou amoxicilline	Chloramphénicol
Oxacilline*	Spiramycine Télithromycine
Gentamicine 500 µg	Cotrimoxazole ^a
Tétracycline	Fluoroquinolones
Erythromycine	Rifampicine
Lincomycine ou clindamycine	Vancomycine Teicoplanine
Pristinamycine	

(*) Antibiotiques testés pour la lecture interprétative de l'antibiogramme

a. Tester sur milieu de Mueller-Hinton additionné de 5 % de sang de cheval hémolysé

4.8.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XIX)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Pénicilline G	-	≤ 0,25	> 2	-	-	La sensibilité des streptocoques à la pénicilline G est évaluée avec un disque d'oxacilline à 5 µg (OXA-5) selon les critères suivants : - diamètre OXA-5 ≥ 21 mm - souche sensible à pénicilline G. Cette interprétation est prédictive de l'activité des autres β-lactamines incluant les streptocoques dans leur spectre. - diamètre OXA-5 < 21 mm - souche I ou R à pénicilline G. Devant toute souche de sensibilité diminuée (OXA-5 < 21 mm), il y a lieu de déterminer la CMI de l'ampicilline, de l'amoxicilline ou du céfotaxime. En cas de résistance, il convient de vérifier l'identification de la souche et sa résistance aux pénicillines. Les streptocoques bêta-hémolytiques, à l'exception de rares souches de streptocoque B, sont sensibles à la pénicilline G.
Ampicilline	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Amoxicilline	-	≤ 0,5	> 2	-	-	
Céfotaxime	-	≤ 0,5	> 0,5	-	-	
- Streptocoques A,B,C,G - Autres streptocoques	-	≤ 0,5	> 16	-	-	
Streptomycine	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 12	Les streptocoques présentent une résistance naturelle de bas niveau (BNR) à tous les aminosides qui n'empêche pas d'obtenir un effet synergique bactéricide entre un aminoside et une pénicilline ou un glycopeptide. L'acquisition d'une résistance de haut niveau (HNR) aux aminosides, détectée grâce à des disques fortement chargés en streptomycine (S : 500 µg), kanamycine (K : 1000 µg) et gentamicine (G : 500 µg), abolit cet effet synergique bactéricide. <u>Interprétation des résultats :</u> S ^{BNR} , K ^{BNR} et G ^{BNR} (∅ ≥ D ; CMI ≤ c) : synergie possible avec les pénicillines ou les glycopeptides en cas de sensibilité à ces derniers antibiotiques. S ^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : streptomycine ne peut être utilisée. K ^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : kanamycine et amikacine ne peuvent être utilisées. G ^{HNR} (∅ < d ; CMI > C) : kanamycine, tobramycine, dibécacine, amikacine, gentamicine, sisomicine et nétilmicine ne peuvent être utilisées. Pour les valeurs « intermédiaires » des diamètres, le niveau de résistance devra être confirmé par dilution en agar ou en bouillon contenant 500 µg/ml de S, K ou G. (HNR: CMI > 500 µg/ml). La combinaison S ^{HNR} + K ^{HNR} est possible.
Kanamycine	1000 µg	≤ 250	> 500	≥ 14	< 10	
Gentamicine	500 µg	≤ 250	> 500	≥ 17	< 11	

Tableau XIX (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tétracycline Minocycline	30 UI	≤ 1 ≤ 0,5	> 2 > 1	≥ 23	< 21	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline.
Tigécycline	15 µg	≤ 0,25	> 0,5	≥ 22	< 22	<i>Interprétation valable pour les Streptococcus A, B, C, G. Il y a lieu de déterminer la CMI de la tigécycline pour toute souche dont le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à 22 mm.</i>
Erythromycine	15 UI	≤ 0,25	> 0,5	≥ 26	< 24	Interprétation valable pour azithromycine, clarithromycine, dirithromycine et roxithromycine.
Spiramycine Lincomycine Clindamycine	100 µg 15 µg 2 UI	≤ 1 ≤ 2 ≤ 0,5	> 4 > 8 > 0,5	≥ 24 ≥ 21 -	< 19 < 17 -	Devant une souche résistante à l'érythromycine et sensible à spiramycine ou lincomycine ou clindamycine, rechercher le caractère inductible de cette résistance (antagonisme érythromycine-lincomycine). En l'absence d'induction, répondre sensible à spiramycine, lincomycine et clindamycine. En présence d'induction, répondre résistante à spiramycine, lincomycine et clindamycine.
Télithromycine	15 µg	≤ 0,25	> 0,5	≥ 24	< 21	
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	Interprétation valable pour quinupristine-dalfopristine.
Lévofoxacine Moxifloxacine	5 µg 5 µg	≤ 1 ≤ 0,5	> 2 > 1	≥ 20 ≥ 24	< 17 < 21	
Linézolide	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 28	< 24	
Teicoplanine Vancomycine	30 µg 30 µg	≤ 4 ≤ 4	> 4 > 4	≥ 17 ≥ 17	- -	Pour les diamètres < 17 mm, il est recommandé de mesurer la CMI et de vérifier l'identification.
Daptomycine	-	≤ 1	> 1	-	-	Interprétation valable pour les <i>Streptococcus</i> A, B, C, G.
Rifampicine	30 µg	≤ 0,06	> 0,5	≥ 29	< 24	
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 1/19	2/38	≥ 19	< 16	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide.

4. 9. *Haemophilus influenzae*

4.9.1. Antibiotiques à tester (tableau XX)

<i>Haemophilus influenzae</i>	
Liste standard	Liste complémentaire
Ampicilline ^a	Chloramphénicol
Amoxicilline/ac. clavulanique	Rifampicine
Céfalotine	Kanamycine Gentamicine
Ertapénème	Fluoroquinolones
Tétracycline	
Cotrimoxazole	
Acide nalidixique	

a. La résistance aux pénicillines par production de bêta-lactamases est déterminée dès l'isolement par une technique chromogénique.

4.9.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XXI)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Ampicilline	2 µg	≤ 1	> 1	≥ 20	< 20	La production de bêta-lactamase détectée par une technique chromogénique dès l'isolement, confère la résistance aux amino-, carboxy- et uréido-pénicillines. L'activité des ces bêta-lactamines est restaurée lors de l'association avec un inhibiteur de bêta-lactamases. La détection d'une sensibilité diminuée aux bêta-lactamines (souches non productrices de bêta-lactamase) peut se faire à l'aide d'un disque d'ampicilline 2 µg (diamètre < 20 mm) ou, à défaut, d'un disque de céfalotine 30 µg (diamètre < 17 mm). Certaines de ces souches poussant faiblement sur milieu HTM, on utilise alors une gélose chocolat PolyViteX®. La résistance de faible niveau aux aminopénicillines est croisée avec toutes les bêta-lactamines, plus marquée avec les céphalosporines de première génération, le céfuroxime et les carbapénèmes. L'activité des céphalosporines de troisième génération n'est que faiblement altérée. En cas d'infection sévère ou lors d'échec thérapeutique, il y a lieu de déterminer la CMI de l'amoxicilline et/ou d'une bêta-lactamine dont les propriétés pharmacologiques sont compatibles avec une efficacité thérapeutique.
Céfalotine	30 µg	-	> 8	-	< 17	
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 1	1	≥ 21	< 21	
Ertapénème	-	≤ 0,5	-	-	-	
Doripénème	-	≤ 1	> 1	≥ 23	< 23	
Céfotaxime	-	≤ 0,12	-	-	-	Sont utilisables en l'absence de critères d'interprétation, car il n'existe pas actuellement d'échec clinique dû à un mécanisme de résistance.
Ceftriaxone	-	≤ 0,12	-	-	-	
Tétracycline	30 UI	≤ 1	> 2	≥ 23	< 20	Interprétation valable pour les autres tétracyclines.

Tableau XXI (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Triméthopri­me/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 0,5/9,5	> 1/19	≥ 24	-	Ne peut être testé sur gélose chocolat. Utiliser le milieu HTM.
Chloramphénicol	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 30	< 26	
Rifampicine	30 µg	≤ 0,5	> 0,5	≥ 24	< 24	
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 18	< 15	
Gentamicine	15 µg	≤ 2	> 4	≥ 16	< 14	Interprétation valable pour amikacine, tobramycine et nétilmicine.
Azithromycine	-	≤ 0,12	> 4	-	-	<i>H. influenzae</i> apparaît généralement intermédiaire aux macrolides avec un cycle à 14 et 15 atomes, aux kétolides et à la pristinamycine, et résistant aux macrolides avec un cycle à 16 atomes et aux lincosamides.
Clarithromycine	-	≤ 1	> 32	-	-	
Erythromycine	-	≤ 0,5	> 16	-	-	
Roxithromycine	-	≤ 1	> 16	-	-	
Télithromycine	-	≤ 0,12	> 8	-	-	
Acide nalidixique	30 µg	-	-	-	< 21	La détection de la sensibilité diminuée aux fluoroquinolones peut être réalisée en utilisant un disque d'acide nalidixique (30 µg). Si le diamètre d'inhibition est inférieur à 21 mm, les CMI des fluoroquinolones doivent être déterminées.
Ofloxacine	-	≤ 0,5	-	-	-	
Lévo­floxacine	-	≤ 1	-	-	-	
Ciprofloxacine	-	≤ 0,5	-	-	-	
Moxifloxacine	-	≤ 0,5	-	-	-	

4. 10. Neisseria meningitidis

4.10.1. Antibiotiques à tester (Tableau XXII)

Neisseria meningitidis	
Liste standard	Liste complémentaire
Pénicilline G (oxacilline) ou amoxicilline	Chloramphénicol
Céfotaxime ou ceftriaxone	Ciprofloxacine
Rifampicine	
Acide nalidixique	

4.10.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XXIII)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Pénicilline G Amoxicilline Oxacilline	- - 5 µg	≤ 0,06 ≤ 0,12 -	> 0,25 > 1 -	- - ≥ 18	- - -	La détection d'une sensibilité diminuée aux pénicillines est effectuée en routine à l'aide d'un disque d'oxacilline (5 µg) selon les critères suivants : OXA 5 µg ≥ 18 mm, souche sensible aux pénicillines ; OXA 5 µg < 18 mm, sensibilité diminuée à la pénicilline G et/ou amoxicilline à confirmer par la détermination des CMI. La résistance à haut niveau aux pénicillines par production de bêta-lactamase est extrêmement rare. Elle est détectée par une technique chromogénique.
Céfotaxime	-	≤ 0,12	-	-	-	
Ceftriaxone	-	≤ 0,12	-	-	-	
Méropénème		≤ 0,25				
Chloramphénicol	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 30	-	
Rifampicine	30 µg	≤ 0,25	-	≥ 30	-	Antibiotique utilisé uniquement en prophylaxie.
Ciprofloxacine	-	≤ 0,03	> 0,06	-	-	

4. 11. *Neisseria gonorrhoeae*

4.11.1. Antibiotiques à étudier (Tableau XXIV)

<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	
Liste standard	Liste complémentaire
Pénicilline G ^a	Chloramphénicol
Ceftriaxone Céfixime	Azithromycine
Spectinomycine	
Tétracycline	
Acide nalidixique Ciprofloxacine ou ofloxacine	

a. La résistance aux pénicillines par production de bêta-lactamases est déterminée dès l'isolement par une technique chromogénique.

4.11.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XXV)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Pénicilline G Amoxicilline	- -	$\leq 0,06$ $\leq 0,25$	> 1 > 2	- -	- -	La production de bêta-lactamase doit être détectée par une technique chromogénique dès l'isolement. Elle confère la résistance à la pénicilline G, aux amino-, carboxy- et uréido-pénicillines. L'activité de ces bêta-lactamines est restaurée lors de l'association avec un inhibiteur de bêta-lactamase. La détection d'une sensibilité diminuée aux pénicillines sera effectuée en routine par détermination de la CMI de la pénicilline G sur gélose chocolat PolyViteX® ; si la méthode E-test® est utilisée, ensemercer par écouvillonnage. Pour les souches ne produisant pas de bêta-lactamase, la sensibilité aux amino, carboxy et uréido-pénicillines peut être déduite de la sensibilité à la pénicilline déterminée par mesure des CMI. La diminution de sensibilité aux céphalosporines de 3ème génération est mieux détectée avec le céfixime.
Ceftriaxone Céfixime		$\leq 0,12$ $\leq 0,12$	- -			
Spectinomycine	100 µg	≤ 64	> 64	≥ 20	< 20	
Chloramphénicol		≤ 4	> 16			
Tétracycline Minocycline	30 UI	$\leq 0,5$ $\leq 0,5$	> 1 > 1	- -	< 19 < 19	Interprétation valable pour la doxycycline et la minocycline. Un diamètre < 19 mm fait suspecter une résistance due à la présence du gène <i>tetM</i> qui concerne également la minocycline.
Azithromycine		$\leq 0,25$	$> 0,5$	-	-	
Acide nalidixique Ofloxacin Ciprofloxacine	30 µg - -	- $\leq 0,12$ $\leq 0,03$	- $> 0,25$ $> 0,06$	- - -	< 25 - -	La détection d'une sensibilité diminuée ou d'une résistance aux fluoroquinolones est effectuée à l'aide d'un disque d'acide nalidixique (30 µg). Si le diamètre est inférieur à 25 mm, mesurer les CMI de l'ofloxacin ou de la ciprofloxacine.

4. 12. *Campylobacter* spp.

4.12.1. Antibiotiques à tester (Tableau XXVI)

<i>Campylobacter</i> spp.	
Liste standard	Liste complémentaire
Ampicilline Amoxicilline/ac. clavulanique	Céfalotine ^a Céfotaxime
Gentamicine	Streptomycine Kanamycine
Erythromycine	Acide nalidixique ^a
Ciprofloxacine	Chloramphénicol
Tétracycline	

a. Aide à l'identification

4.12.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XXVII)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14	Cf règle (1).
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 16/2	≥ 21	< 14	Cf règle (1).
Céfalotine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12	Cf règle (1).
Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	Cf règle (1).
Streptomycine	10 UI	≤ 8	> 16	≥ 15	< 13	Cf règles (1) et (2).
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf règles (1) et (2).
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf règles (1) et (2).
Tobramycine	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf règles (1) et (2).
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 4	≥ 22	< 17	Cf règle (1). Interprétation valable pour clarithromycine
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15	Cf règle (1).
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	Cf règle (1).
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 23	< 19	

Règles de lecture interprétative

Remarques : selon les antibiotiques, la corrélation entre CMI et diamètres est parfois difficile à établir. En cas de doute sur les résultats obtenus par diffusion en milieu gélosé, il y a lieu de déterminer les CMI par une méthode de référence ou toute méthode ayant montré, pour les antibiotiques concernés, son équivalence avec la méthode de référence.

- (1). Pour *Campylobacter* spp., une absence de zone d'inhibition autour des disques de bêta-lactamines, aminosides, macrolides ou quinolones traduit une résistance de haut niveau.
- (2). Compte tenu des conditions d'incubation (anaérobiose ou microaérobiose), les diamètres des zones d'inhibition autour des disques d'aminosides sont toujours réduits.

4. 13. *Helicobacter pylori*

4.13.1. Antibiotiques à étudier (Tableau XXVIII)

<i>Helicobacter pylori</i>	
Liste standard	Liste complémentaire
Erythromycine	
Ciprofloxacine	

4.13.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XXIX)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Erythromycine	15 UI	≤ 1	> 4	≥ 22	< 17	Interprétation valable pour clarithromycine
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 1	> 1	≥ 20	< 20	Interprétation valable pour lévofloxacine et moxifloxacine. Si le diamètre est inférieur à 20 mm, mesurer les CMI.

Remarque :

La diffusion en milieu gélosé n'est pas recommandée pour tester la sensibilité à l'amoxicilline de *Helicobacter pylori* car pour l'instant, quelques souches de sensibilité diminuée (CMI > 0,1 mg/L) ont été décrites, mais il ne paraît pas utile de conditionner l'utilisation de l'amoxicilline aux résultats d'un test *in vitro*.

4. 14. Anaérobies stricts

4.14.1. Antibiotiques à tester (Tableau XXX)

Anaérobies stricts	
Liste standard	Liste complémentaire
Amoxicilline	Ticarcilline ou pipéracilline
Amoxicilline/ac. clavulanique	Ticarcilline/ac. clavulanique ou pipéracilline/tazobactam
Imipénème ou ertapénème	Céfoxitine
Clindamycine	Céfotétan
Métronidazole	Céfotaxime
Vancomycine	Spiramycine ^a
Chloramphénicol	Pristinamycine
	Tigécycline
	Linézolide
	Colistine ^b
	Ofloxacin ^c
	Moxifloxacin
	Rifampicine

a. En cas d'infection dentaire.

b. Aide à l'identification des bacilles à Gram négatif.

c. Pour les *Propionibacterium* spp. et quelques souches de *Peptostreptococcus* spp. isolées d'infection sévère (osseuse ou cérébrale).

4.14.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau XXXI)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Pénicilline G		≤ 0,25	> 0,5			
Amoxicilline		≤ 0,5	> 2	-	-	Interprétation pour les anaérobies à Gram négatif. Cf. règles (1) et (2).
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 17	Interprétation pour les anaérobies à Gram positif. Cf. règle (3). Interprétation valable pour pénicilline G et ampicilline.
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 8/2	≥ 21	< 17	Cf. règle (4).
Ticarcilline	75 µg	≤ 8 ≤ 16	> 16 > 16	≥ 24 ≥ 22	< 22 < 22	Interprétation pour les anaérobies à Gram positif. Interprétation pour les anaérobies à Gram négatif.
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	≥ 24	< 22	Pour <i>Bacteroides fragilis</i> , l'interprétation est valable pour la pipéracilline.
Pipéracilline	75 µg	≤ 8 ≤ 16	> 16 > 16	≥ 20 ≥ 18	< 18 < 18	Interprétation pour les anaérobies à Gram positif. Interprétation pour les anaérobies à Gram négatif.
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 8/4	> 16/4	≥ 21	< 19	Pour <i>Bacteroides fragilis</i> , l'interprétation est valable pour la ticarcilline.
Imipénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17	Cf. règle (4).
Ertapénème	10 µg	≤ 1	> 1	≥ 26	< 26	
Méropénème		≤ 2	≤ 8	≥ 22	< 15	
Doripénème		≤ 1	> 1			
Céfoxitine		-	> 32	-	-	Cf. règle (5).
Céfotaxime	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 21	< 15	

Règles de lecture interprétative

Remarque : selon les antibiotiques, la corrélation entre CMI et diamètres est parfois difficile à établir et diffère selon les espèces, en particulier pour les espèces à croissance lente. En cas doute sur les résultats obtenus par diffusion en milieu gélosé, il y a lieu de déterminer les CMI par une méthode de référence ou toute méthode ayant montré, pour les antibiotiques concernés, son équivalence avec la méthode de référence.

- (1). Chez *Fusobacterium*, la production de β-lactamase détectée par une méthode chromogénique dès l'isolement, confère la résistance à la pénicilline G et aux amino-, carboxy- et uréido-pénicillines. L'activité est restaurée lors de l'association avec un inhibiteur de β-lactamase.
- (2). Chez *Prevotella*, la production de β-lactamase, confère la résistance à la pénicilline G et aux amino-pénicillines, céphalosporines 1^{ère} génération, céfuroxime et aux céphalosporines de 3^{ème} génération orales. L'activité est restaurée lors de l'association avec un inhibiteur de β-lactamase. La détection par la nitrocéphaline n'est pas aisée (faible affinité pour le substrat, production à bas niveau, pigmentation des souches). Les CMI de l'amoxicilline sont inférieures à 0,5mg/L pour les souches non productrices de β-lactamase. La CMI de l'amoxicilline peut être déterminée par toute technique ayant démontré, pour cet antibiotique, son équivalence avec la technique de référence, par exemple l'épsilomètre.
- (3). Chez *Clostridium butyricum*, *C. clostridioforme* et *C. ramosum*, la production de β-lactamase est détectée par une méthode chromogénique dès l'isolement. Seule la β-lactamase de *C. butyricum* est inhibée, aux concentrations thérapeutiques, par les inhibiteurs de β-lactamase.
- (4). La résistance à l'imipénème est décrite en France chez *Bacteroides fragilis* (carbapénémase) et *B. distasonis*. La résistance est croisée pour l'ensemble des β-lactamines même associées à des inhibiteurs de β-lactamases.
- (5). Pour *Bacteroides* du groupe *fragilis*, interpréter l tout résultat S aux céphalosporines de 3^{ème} génération (β-lactamase chromosomique).

Tableau XXXI (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	
Clindamycine	2 UI	≤ 4	> 4	≥ 15	< 15	Lecture obligatoire à 48h : risque de faux sensibles après 24h d'incubation.
Spiramycine	100 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19	Concerne les anaérobies isolés d'infections dentaires.
Pristinamycine	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	Ne pas tester pour les <i>Bacteroides</i> du groupe <i>fragilis</i> .
Tigécycline	15 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	-	Lorsque le diamètre est ≤ 20 mm, il y a lieu de déterminer la CMI
Vancomycine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-	Interprétation valable pour les anaérobies à Gram positif.
Teicoplanine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 17	-	Interprétation valable pour les anaérobies à Gram positif.
Ofloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	Seulement pour <i>Peptostreptococcus</i> et les <i>Propionibacterium</i> spp. en cas d'infection osseuse ou cérébrale.
Moxifloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 21	< 18	
Rifampicine	30 µg	≤ 4	> 16	≥ 19	< 14	
Métronidazole	Comprimé 16 µg	≤ 4	> 4	≥ 21	< 21	Interprétation valable pour l'ornidazole. Cf règle (6).
Vancomycine	5 µg	-	-	-	< 10	Aide à l'identification des bacilles à Gram négatif. Cf règle (7).
Kanamycine	1000 µg	-	-	-	< 10	Aide à l'identification des bacilles à Gram négatif. Cf règle (7).
Colistine	10 µg	-	-	-	< 10	Aide à l'identification des bacilles à Gram négatif. Cf règle (7).

Règles de lecture interprétative (suite)

- (6). Les comprimés Néosensitabs® (Rosco) permettent l'étude de la sensibilité au métronidazole par diffusion en milieu gélosé. Par cette technique, les diamètres obtenus avec des souches sensibles sont > 35 mm. Chez *Clostridium* et les anaérobies à Gram négatif, la résistance aux 5-nitro-imidazoles est très rare. Elle doit être confirmée par détermination de la CMI. Certaines souches apparaissent faussement résistantes si l'anaérobiose n'est pas correcte. La résistance à haut niveau est exceptionnelle. En France, 2 à 3% des souches de *Bacteroides* du groupe *fragilis* ont une sensibilité diminuée aux 5-nitro-imidazoles (CMI de 8 à 16 mg/L).
- (7). Ces trois disques, de charge particulière, constituent une aide précieuse à l'identification des principaux bacilles à Gram négatif : les *Bacteroides* du groupe *fragilis* sont résistants à kanamycine, colistine et vancomycine ; *Prevotella* est résistante à kanamycine et vancomycine, la sensibilité à la colistine variant selon les espèces ; *Porphyromonas* est sensible à la vancomycine et résistant à kanamycine et colistine ; *Fusobacterium* est sensible à kanamycine et colistine, résistant à la vancomycine

5. PRINCIPALES NOUVEAUTÉS DES RECOMMANDATIONS 2012

- Page 16 : ajout de céfixime et céfuroxime pour les résistances naturelles de *P. aeruginosa*
- Page 20 : ajout d'une note relative aux carbapénèmes proposée en annexe 1
- Page 21 : ajout d'une note relative aux BLSE proposée en annexe 2
- Page 21 : test BLSE, méthode du double disque: remplacement de «et/ou» céfépime par «et» céfépime
- Page 22 : règles de lectures N° 6, 7, et 8
- Page 30 : remarque 1: remplacement de «ou moxalactam» par «et moxalactam»
- Page 36 : ajout d'une ligne «rifampicine et entérocoque»
- Page 39 : *S. pneumoniae*, ajout d'une ligne «spiramycine» et d'un commentaire sur l'inductibilité de la résistance
- Page 43 : ajout de l'ertapénème dans la liste standard de *H. influenzae*
- Page 52 : suppression du céfotétan dans la liste complémentaire des anaérobies

Nous remercions les collègues dont les commentaires et remarques adressées sur le site Web de la SFM ont permis de faire évoluer les Recommandations. De plus, une FAQ (foire aux questions) peut être consultée sur ce même site.

ANNEXE 1

Lettre d'information du CA-SFM concernant la détection de la production de carbapénèmases chez les entérobactéries

Janvier 2012

Deux mécanismes peuvent causer la résistance des entérobactéries aux carbapénèmes : (i) la production de carbapénèmases qui appartiennent à différentes classes de β -lactamases (classification d'Amblar) : classe A (KPC), classe B (métalloenzymes VIM, IMP, NDM) et classe D (OXA-48, OXA-23, OXA-181 et leurs variants) et (ii) un défaut d'accumulation de l'antibiotique associé à la production de céphalosporinases et/ou de BLSE.

Il faut d'abord noter que les espèces de la tribu des *Proteae*, notamment *Proteus mirabilis* et *Morganella morganii*, sont intrinsèquement moins sensibles aux carbapénèmes (notamment à l'imipénème) que les autres espèces d'entérobactéries à cause de PLP naturellement peu affines pour ces molécules. Le respect de l'inoculum bactérien lors de la réalisation des tests de sensibilité *in vitro* est important pour ces espèces pour éviter de fausses résistances aux carbapénèmes, notamment avec les techniques d'antibiogramme automatisées en milieu liquide. Une résistance acquise à l'imipénème (et au mércillinam) par mutation des PLP a été décrite chez *P. mirabilis*.

Les carbapénèmases rapportées en France à ce jour sont le plus souvent de type OXA-48 et KPC. Les principales espèces bactériennes impliquées sont *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens* et *Citrobacter freundii*. Ce sont souvent, jusqu'à ce jour, des souches importées de zones d'endémie (pourtour méditerranéen, Inde, Asie, USA).

Certaines souches productrices de carbapénèmases sont, quelle que soit la méthode d'antibiogramme utilisée, catégorisées sensibles (S) aux carbapénèmes, notamment aux molécules autres que l'ertapénème (imipénème, méropénème). L'ertapénème est le carbapénème le plus sensible pour la détection des souches productrices de carbapénèmases. On doit suspecter la production d'une carbapénémase lorsque le diamètre d'inhibition autour du disque d'ertapénème est < 28 mm ou que la CMI est $> 0,5$ mg/L. En cas de suspicion, la production de carbapénémase doit être faite confirmée à l'aide de techniques phénotypiques et/ou génotypiques. En effet, la détection des carbapénèmases est indispensable pour mettre en oeuvre les mesures de prévention pour empêcher la dissémination épidémique des souches et/ou des gènes dans la population, et le risque d'impasse thérapeutique qui en découlerait (souches pan-résistantes).

On dispose à ce jour de plusieurs techniques phénotypiques pour détecter les carbapénèmases chez les entérobactéries. Ces techniques sont déjà utilisées dans de nombreux laboratoires. Cependant, parce que les performances exactes de ces techniques en termes de sensibilité, spécificité, valeurs prédictives et rapports de vraisemblance n'ont pas encore été suffisamment évaluées, le CA-SFM ne peut encore recommander un algorithme unique de détection. Il était cependant indispensable de communiquer dès maintenant à la communauté des bactériologistes des laboratoires de biologie médicale la liste des techniques les plus efficaces, sous forme d'une lettre d'information. Dès que possible, le CA-SFM recommandera un algorithme qui sera probablement basé sur une combinaison ordonnée de plusieurs tests.

La **détection phénotypique** des carbapénèmases peut être entreprise selon deux approches, des **tests d'inhibition** (ex. Kit carbapénémase Rosco, E-test MBL BioMérieux ou disque MBL BioRad) et le **test de Hodge** modifié.

1. Les **tests d'inhibition** reposent sur l'augmentation du diamètre d'inhibition autour d'un disque combinant un carbapénème (méropénème ou imipénème) et un inhibiteur ou la diminution de la CMI de ces molécules en présence d'inhibiteurs spécifiques de β -lactamases :

* EDTA ou acide dipicolinique pour les enzymes de classe B

* acides boroniques (ex. : acide para-amino-phenyl boronique) pour les enzymes KPC de classe A.

En testant les carbapénèmes sur un milieu contenant de la cloxacilline (inhibiteur de céphalosporinase) et, comparativement sur un milieu sans cloxacilline, on peut détecter une résistance aux carbapénèmes non liée à la production d'une carbapénémase mais à l'association de céphalosporinase et de défaut d'accumulation des carbapénèmes, qui se traduit par une augmentation importante des diamètres d'inhibition sur le premier milieu.

Il faut signaler que certains des inhibiteurs ci-dessus cités manquent de spécificité : les acides boroniques peuvent inhiber des céphalosporinases et l'EDTA peut avoir une activité antibiotique intrinsèque sur certaines souches.

A ce jour, il n'existe pas de test d'inhibition spécifique des carbapénémases de classe D (ex. OXA-48). La production de ces enzymes est suspectée si tous les tests d'inhibition cités ci-dessus sont négatifs. Dans ce cas le test de Hodges est particulièrement utile (cf. ci-dessous).

2. Le **test de Hodge** modifié repose sur l'utilisation d'un disque d'ertapénème 10 µg (plus indiqué que imipénème, cf ci-dessus) et la souche de référence sensible *E. coli* ATCC 25922 ensemencée par écouvillonnage sur gélose Müeller-Hinton à l'aide d'une suspension à 0,5 McFarland diluée au 1/10e. Les souches test suspectées de produire une carbapénémase et des souches témoins (ex. : témoin positif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 productrice de carbapénémase KP-2 et témoin négatif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 non productrice de carbapénémase) sont ensemencées en strie depuis le disque vers le bord de la gélose sur une longueur d'au moins 20 mm. Le test est interprétable en cas de déformation de la zone d'inhibition de la souche de référence le long de la strie de la souche témoin +. Si une déformation semblable est observée avec la souche test suspecte, celle-ci peut-être considérée comme productrice d'une carbapénémase. Le test ne permet pas de donner une orientation sur la classe à laquelle appartient la carbapénémase.

Le test de Hodge peut parfois être faussement négatif, notamment avec les souches productrices de carbapénémases de type NDM-1. L'ajout de ZnSO₄ (100 µg/ml) dans le milieu permet d'augmenter très notablement la sensibilité du test dans ce cas. Un test d'inhibition par des inhibiteurs spécifiques des β-lactamases de classe B (EDTA ou acide dipicolinique, cf.ci-dessus) est également utile dans ce cas.

Le test de Hodge peut parfois être faussement positif pour les souches ayant un défaut d'accumulation des carbapénèmes associé à la production de céphalosporinases et/ou de BLSE. La réalisation du test de Hodge modifié en ajoutant de la cloxacilline sur le disque d'ertapénème (déposer 10 µl d'une solution aqueuse à 75 mg/ml de cloxacilline sur le disque d'ertapénème) permet d'éliminer les faux positifs liés à la production de céphalosporinase.

La méthode référence pour la détection des carbapénémases est l'amplification du gène codant pour la carbapénémase.

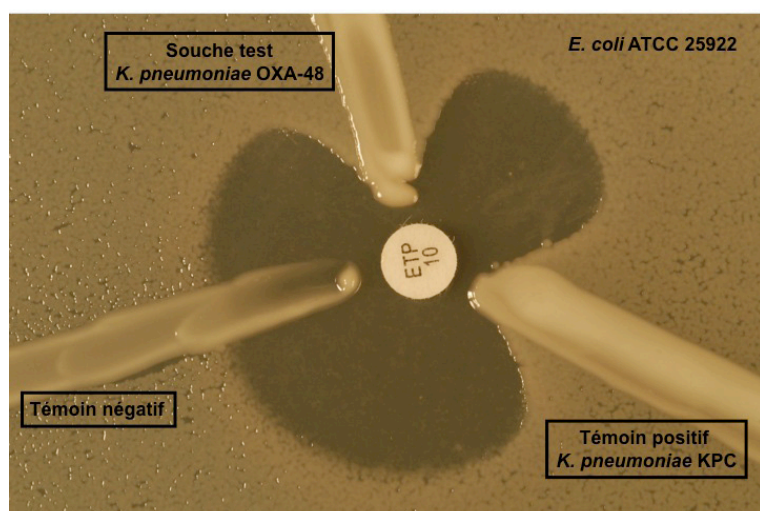


Figure. Test de Hodge modifié pour la détection des carbapénémases. La production de carbapénémase est objectivée par une déformation de la zone d'inhibition autour d'un disque d'ertapénème (ETP) de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 le long des stries correspondant au témoin positif (T+, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 produisant la carbapénémase KPC-2) et à la souche test (ici *K. pneumoniae* produisant OXA-48). La zone d'inhibition de la souche de référence *E. coli* ATCC 25922 reste inchangée au contact de la strie correspondant un témoin négatif (T-, *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706).

ANNEXE 2

Argumentaires pour les recommandations faites en 2011 à propos des céphalosporines de 3^e génération et l'aztréonam vis-à-vis des entérobactéries

Décembre 2011

CÉPHALOSPORINES DE 3^E GÉNÉRATION/ AZTRÉONAM ET ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES DE β -LACTAMASES À SPECTRE ÉTENDU (BLSE) EN 2011

Depuis 2009, le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) a modifié les concentrations critiques des céphalosporines de 3^e génération (C3G) et de l'aztréonam (AZT) pour les entérobactéries sur la base des propositions faites par l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Ainsi, une souche est, depuis 2009, catégorisée sensible (S) quand la CMI des C3G et AZT est ≤ 1 mg/L alors qu'elle l'était auparavant quand la CMI était ≤ 4 mg/L.

Arguments pour l'abaissement des concentrations critiques

1. Pharmacocinétique/Pharmacodynamique (PK/PD)

Les C3G et l'AZT sont des antibiotiques dont l'activité est temps-dépendante ce qui signifie que le paramètre pharmacodynamique prédictif de leur efficacité *in vivo* est le temps pendant lequel les concentrations sériques restent supérieures à un certain nombre de fois la CMI soit $T > n \text{ CMI} = X \%$. Ce temps est exprimé en % de l'intervalle entre deux administrations afin de pouvoir comparer entre eux les antibiotiques ayant un rythme d'administration différent. Dans les infections peu ou modérément sévères, $n = 1$ et $X = 70$, soit $T > \text{CMI} = 70\%$. Dans le cas d'infections sévères, chez un patient fragilisé, immunodéprimé ou dues à certaines espèces (ex : *Pseudomonas aeruginosa*, entérobactéries du groupe 3), l'exigence PK/PD est nettement supérieure soit $T > 8 \text{ CMI} = 100\%$ (1). Ceci revient à dire que la concentration sérique résiduelle doit être de 8 fois la CMI. En conséquence, la concentration résiduelle exigée est de 32 mg/L au regard d'une souche pour laquelle la CMI des C3G ou AZT est de 4 mg/L. Une concentration résiduelle de 32 mg/L est très difficile à atteindre avec les C3G et AZT, sauf si les posologies sont élevées et si l'antibiotique est administré en perfusion continue. Ces

exigences de PK/PD suggèrent qu'il n'est pas licite de catégoriser S aux C3G ou AZT une souche pour laquelle les CMI de ces antibiotiques est de 4 mg/L. Compte tenu qu'une concentration résiduelle de 8 mg/L (soit $8 \times \text{CMI} = 1 \text{ mg/L}$) peut être obtenue avec les C3G et AZT donnés aux doses et selon le mode d'administration habituels, il a été proposé d'abaisser la concentration critique basse des C3G et AZT à 1 mg/L et donc de catégoriser S à ces antibiotiques les souches pour lesquelles les CMI sont ≤ 1 mg/L. Ainsi, au regard des critères PK/PD, même les infections dues à des souches avec des mécanismes de résistance acquise (BLSE ou une hyperproduction de la β -lactamase chromosomique), mais pour lesquelles la CMI des C3G et AZT est ≤ 1 mg/L peuvent être traitées avec une C3G ou AZT.

2. Distribution des CMI des C3G et AZT vis-à-vis des souches sauvages et des souches ayant acquis des mécanismes de résistance aux C3G et AZT conforte cette approche

Au regard de la distribution des CMI des C3G et AZT vis-à-vis des entérobactéries, il s'avère que l'adoption d'une concentration critique basse de 1 mg/L, résulte en la catégorisation intermédiaire (I) ou résistant (R) de la majorité des souches ayant acquis des mécanismes de résistance modifiant l'activité des C3G et AZT (BLSE, hyperproduction de céphalosporinase).

3. Les échecs cliniques

Des échecs cliniques ont été rapportés par Paterson *et al* (2) lors de l'utilisation de C3G pour le traitement des infections bactériémiques dues à des *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE et catégorisées S aux C3G ou AZT selon les critères du CLSI (CMI ≤ 8 mg/L). Ces échecs ont principalement été observés lorsque la CMI de la C3G ou de l'AZT utilisé dans le traitement était ≥ 2 mg/L. Dans cette étude la recherche de la production d'une BLSE (test de synergie) n'avait pas été faite au moment de la mesure de la sensibilité aux antibiotiques par le laboratoire et la catégorisation S aux C3G et/ou AZT des souches reposait sur la lecture brute du test de sensibilité aux antibiotiques. Compte tenu du fait que des tests de détection des BLSE ne sont

pas systématiquement appliqués, une façon de prévenir les échecs cliniques liés aux souches productrices de BLSE non détectées est d'abaisser la concentration critique basse à 1 mg/L en accord avec la pharmacodynamie et les paramètres de distribution des CMI des C3G et AZT chez les entérobactéries.

Le communiqué de 2011 du CASFM recommande de ne plus faire de lecture interprétative pour la catégorisation des souches d'entérobactéries ayant acquis des mécanismes de résistance aux C3G et AZT, tout en continuant de détecter les BLSE. Pourquoi ?

Catégoriser systématiquement I aux C3G et AZT les souches détectées (test de synergie) productrices de BLSE relevait du principe de précaution (on ne sait pas ce qui peut se passer chez le malade). Le corollaire de cette catégorisation a été l'utilisation quasi systématique des carbapénèmes (dont la pharmacocinétique n'est, par ailleurs, pas toujours en adéquation avec les exigences pharmacodynamiques) pour traiter les infections dues à ces bactéries. Face à deux nouvelles situations, (i) l'augmentation massive des souches productrices de BLSE notamment chez *Escherichia coli* et (ii) l'émergence sous la pression antibiotique de souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, nous avons été amenés à reconsidérer la validité de notre principe de précaution. Cependant, comme il y a lieu de continuer de surveiller l'évolution des souches productrices de BLSE et de prévenir leur diffusion, notamment dans les hôpitaux, il semble logique qu'il faille continuer de détecter la présence de BLSE par un test de synergie.

Application en pratique de ces deux recommandations

Le microbiologiste peut être confronté quotidiennement à la détection d'une BLSE chez une souche

catégorisée S à certaines C3G et pas à d'autres. Ce phénotype peut résulter de deux situations :

1. Présence d'une BLSE qui n'hydrolyse que très faiblement certaines C3G [absence totale d'image de synergie entre la C3G et l'inhibiteur (acide clavulanique)] comme, par exemple, la ceftazidime et les BLSE de type CTX-M-1 et CTX-M-14 qui occupent les 2^e et 3^e places au sein des CTX-M en France. Cette situation est similaire à celle décrite pour d'autres types de β -lactamases : β -lactamase chromosomique hyperproduite de *Klebsiella oxytoca* qui n'hydrolyse pas la ceftazidime mais la ceftriaxone, le céfotaxime, le céfépime et l'aztréonam ou céphalosporinase chromosomique hyperproduite d'*Enterobacter cloacae* qui n'hydrolyse pas le céfépime mais le céfotaxime, la ceftriaxone, la ceftazidime et l'aztréonam. L'usage des C3G non hydrolysées pour le traitement d'infections dues à ce type de souches de *K. oxytoca* ou d'*E. cloacae* est classique.

2. Présence d'une BLSE qui manifestement hydrolyse (image de synergie) la C3G vis-à-vis de laquelle la souche est catégorisée S. C'est devant un tel résultat qu'il est demandé d'abandonner le principe de précaution antérieurement appliqué (interpréter I une souche catégorisée S selon la lecture brute du test de sensibilité aux antibiotiques) et d'expliquer au clinicien l'enjeu écologique de cet abandon (réduire l'usage des carbapénèmes). La question légitime que pose le clinicien est « êtes-vous sûr qu'un traitement par la C3G en question va être efficace chez le patient infecté par la souche catégorisée S à la C3G hydrolysée par la BLSE ? ». Dans ce cas, il est proposé de déterminer la CMI exacte de la C3G en question et de confronter cette valeur à la valeur résiduelle normalement attendue à la posologie utilisée, puis de suivre l'efficacité du traitement par cette C3G si elle est retenue pour le traitement.

1. Jehl *et al.* Revue Francophone des Laboratoires, 2011, **434**: 45-56.

2. Paterson *et al.* J Clin Microbiol. 2001, **39**: 2206-2212.

EN RÉSUMÉ

- Rechercher la production d'une β -lactamase à spectre étendu (BLSE).
- Ne plus faire d'interprétation des résultats bruts obtenus vis-à-vis des céphalosporines de 3^e génération (C3G) et l'aztréonam (AZT) pour les souches productrices de BLSE = catégoriser les souches en S, I, R sur la base du résultat brut.
- Si une souche productrice de BLSE est catégorisée « S » à une C3G ou à l'AZT, et si cette C3G ou l'AZT est utilisé pour traiter l'infection due à la souche productrice de BLSE, déterminer la CMI de la C3G en question ou de l'AZT.