

DÉTECTION RAPIDE PAR CULTURE DES ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES DE BÉTALACTAMASE À SPECTRE ÉTENDUE (EBLSE) SUR MILIEU CHROMOGÈNE : Colorex™ Orientation/ESBL (CHROMagar, Paris France).

Aurélie Clément, Lauren Chaubron, Patrice Laudat,
Laboratoire ARNAUD, Tours.plaudat@laboarnaud.fr

SFM Congrès National – Marseille, 2-4 juin 2010

Introduction

Resumé

Introduction : 1979 premier brevet déposé par Alain Rambach pour son milieu chromogène de détection d'*Escherichia coli*. 2009 un milieu pour la détection de *E.coli* BLSE est disponible Colorex™ Orientation/ESBL au moment où l'émergence des EBLSE en ville est un point d'inquiétude majeur.
Une étude réalisée par l'Observatoire National de l'Evolution de la Résistance des Bactéries aux Antibiotiques (ONERBA) en 2006 retrouve que sur un total de 6771 souches d'entérobactéries isolées en ville 72 (1,1%) sont des EBLSE, dont 67% de l'espèce *E.coli*. Utilisant la même méthode dans notre laboratoire à Tours en 2008 : sur 1161 souches, 36 (3,10%) sont des EBLSE dont 32 (88,88%) de la seule espèce *E.coli* (cf Figure 1).

Objectif : Evaluer la sensibilité et spécificité technique de ce nouveau milieu chromogène pour la recherche des EBLSE dans les prélèvements d'origine clinique (ECBU, pus), ainsi que sur une collection de 65 souches connues productrices ou non de BLSE (test de synergie et disques combinés BIO-RAD).

Méthodes : Milieu : Colorex™ Orientation/ESBL il s'agit d'un milieu pour l'isolement et l'identification présumptive des EBLSE. Ce milieu comporte 2 géloses chromogènes sélectives (bi-plate) pour faciliter le repérage.

Sensibilité technique : un total de 65 souches conservées congelées ou isolées au cours de la période d'évaluation (avril à juin 09) ont été isolées en parallèle sur gélose au sang et sur milieu chromogène et incubées à 36°C, avec et sans CO₂, et lues après une nuit d'incubation (18h) : il s'agit de *E.coli* (n=55), *Proteus mirabilis* (n=5), *Klebsiella pneumoniae* (n=3), *Enterobacter cloacae* (n=2).

Spécificité technique : pendant 2 mois 500 prélèvements ciblés d'origine clinique divers (dont urines, crachats, gastriques, pus) ont été ensemencés en parallèle des milieux habituels du laboratoire (suivant recommandations du REMIC) et le milieu Colorex™ Orientation/ESBL. L'identification et l'antibiogramme en routine sont réalisés avec l'automate MICROSCAN WalkAway (SIEMENS) et les tests complémentaires selon les recommandations du CASFM.

Conclusion : Au total le milieu Colorex™ Orientation/ESBL s'avère particulièrement intéressant et discriminant pour la mise en évidence des EBLSE dans les prélèvements d'origine clinique, en particulier pour les ECBU et prélèvements de colonisation ou portage. Ce type de milieu que nous aurions volontiers réservé au secteur hospitalier dans les mains des hygiénistes risque de devenir demain l'outil indispensable du biologiste y compris en pratique de ville.

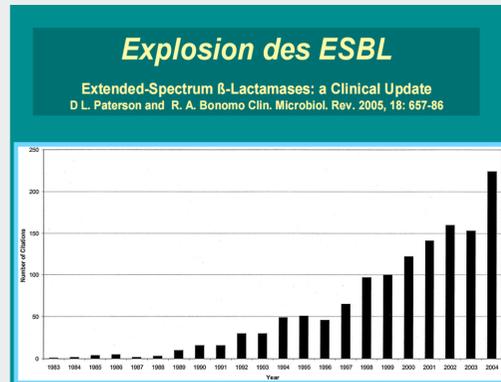
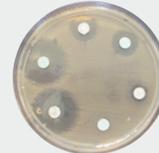


Figure 1 : Explosion des ESBL

Méthodes utilisées

Test des disques combinés sur milieu Mueller Hinton



Microscan® WalkAway40SI



Milieu CHROMagar: Colorex™ Orientation/ESBL

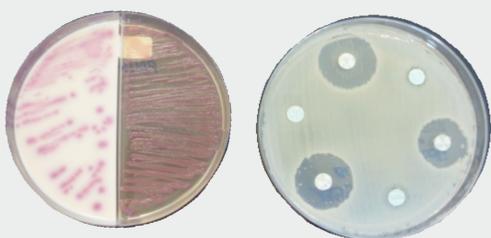


Colorex™ Orientation: gélose chromogénique non sélective permettant la différenciation des germes urinaires

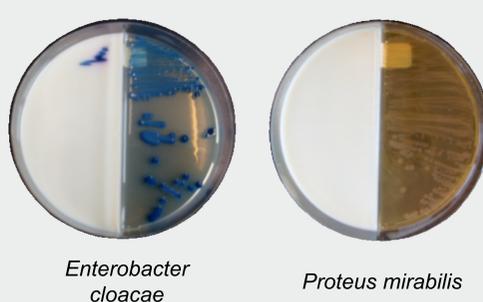
Colorex™ESBL: gélose chromogénique non sélective permettant la détection des bactéries à résistance de type ESBL.

Présentation du milieu Colorex™

Escherichia coli BLSE (+)



Entérobactéries BLSE (-)



Contrôle de qualité

2 souches d'*Escherichia coli* connues :

Une productrice de BLSE

Une non productrice de BLSE



--> Validité du milieu confirmée

Résultats

Evaluation sensibilité et spécificité technique

1) Tests sur souches pures:

- Comparaison de Colorex™ Orientation/ESBL vs méthode de référence (Müller Hinton)

65 souches d'Entérobactéries dont :

- 55 souches d'*Escherichia coli*
- 2 souches d'*Enterobacter cloacae*
- 3 souches de *Klebsiella pneumoniae*
- 5 souches de *Proteus mirabilis*

2) Tests sur 500 prélèvements cliniques:

- Comparaison de Colorex™ Orientation/ESBL vs WalkAway® et confirmation par test synergie sur Müller Hinton (CASFM).

- Incubation de 18-24h à 36°C, en aérobie.

Tests sur souches pures

		Résultats obtenus sur milieu BLSE		Total
		+	-	
Souches BLSE confirmées par la méthode de référence sur milieu Mueller Hinton(CASFM)	+	31	0	65
	-	1*	33	

* = *Enterobacter cloacae* avec cephalosporinase de type AmpC

Tests sur prélèvements cliniques

Lecture du milieu Colorex™ Orientation/ESBL :

		Culture sur Colorex™ ESBL		Total
		+	-	
Culture sur Colorex™ Orientation	+	24*	135	159
	-	0	341	
		Total		500

* Dont 10 non-entérobactéries : *Pseudomonas spp* (8), *Alcaligenes spp.* (1) et *Stenotrophomonas maltophilia* (1), facilement différenciables des Entérobactéries :

--> car souches attendues incolores

--> par des tests complémentaires comme l'oxydase par exemple.

EBLSE: Comparaison sur Colorex™ vs WalkAway® :

		Culture sur Colorex™ ESBL		Total
		+	-	
WalkAway® test EBLSE	+	10	2 **	12
	-	2*	145	
		Total		159

* Ces deux souches ont été caractérisées *Enterobacter Cloacae* porteuses d'une céphalosporinase de type AmpC.

** Ces 2 souches (*E coli*) ne sont pas confirmées EBLSE +

Discussions

Limites du milieu

- Sur les 24 échantillons positifs sur le milieu Colorex™ Orientation/ESBL :
 - 12 vrai positif EBLSE
 - 2 Entérobactéries AmpC (*E. cloacae*)
 - 10 souches non-Entérobactéries incolores, Gram(-), oxydase(+)
- La spécificité apportée par la couleur permet de facilement distinguer les EBLSE d'autres bactéries Gram(-) Oxydase(+), connues pour être fréquemment multi-résistantes (MDR).
- Avec une VPP de 85,7% et une VPN de 100%, Colorex™ Orientation/BLSE affiche une efficacité globale de 99,6% pour la détection des EBLSE.

Aspects des bacilles à Gram négatif, oxydase (+)



Conclusion

Colorex™ Orientation/ESBL s'avère particulièrement intéressant et discriminant pour la mise en évidence des EBLSE dans les prélèvements d'origine clinique, en particulier pour les ECBU et prélèvements de colonisation ou portage.

Ce type de milieu que nous aurions volontiers réservé au secteur hospitalier dans les mains des hygiénistes risque de devenir demain l'outil indispensable du biologiste y compris en pratique de ville.