

I. REMARQUES GENERALES

Pour la première évaluation du cycle 2000 (enquête 01/2000) le matériel suivant a été expédié le 24 janvier 2000.

1.1. Quatre échantillons lyophilisés pour identification.

Il s'agissait de 4 cultures pures. Pour un échantillon, les tests de sensibilité pour 4 antibiotiques ont été demandés.

Une culture a été envoyée à titre didactique, les résultats ne seront pas pris en considération pour l'évaluation de la performance des laboratoires . Pour l'échantillon marqué avec un astérisque, l'identification était obligatoire pour les urologues agréés.

1.2. Deux frottis sanguins fixés pour la recherche de parasites.

1.3. Deux échantillons lyophilisés pour la sérologie de l'hépatite B et C.

NOMBRE DE PARTICIPANTS

Le nombre de formulaires de réponses évaluables est de :

- | | |
|--|-----|
| 1. Pour les identifications et l'antibiogramme : | 271 |
| 2. Pour la parasitologie : | 245 |
| 3. Pour la sérologie de l'hépatite B et C : | 250 |

II. IDENTIFICATIONS

2.1 La culture M/1670

Cette souche isolée à partir d'une hémoculture d'un patient avec un abcès abdominal est *Streptococcus anginosus* (anciennement nommé *S. milleri* ou *S. intermedius*).

2.1.1. Taxonomie

Cette bactérie appartient à une espèce/un groupe dont la taxonomie évolue.

Les streptocoques sont depuis l'objet de réajustements taxonomiques importants. Les Enterococcus et Lactococcus ont été séparés des streptocoques.

En général, les antigènes de Lancefield et l'hémolyse pour l'identification des streptocoques : ils restent utiles, mais ne correspondent pas toujours à la détermination d'une espèce. *S. anginosus* (ou 'S.milleri') en est un bel exemple : les souches appartenant à cette sorte/ce groupe peuvent être alfa-, bêta- ou non-hémolytiques et une partie de ces souches peut contenir des antigènes Lancefield appartenant aux groupes A,C,G,F ou à un mélange de ces groupes.

Dans la littérature, la classification des streptocoques du 'groupe anginosus' est contestée. Whiley prétend que les *S. constellatus*, *S. anginosus* et *S. intermedius* sont trois espèces différentes. Coykendall affirme que ces trois groupes sont plutôt trois sous-populations d'une seule espèce. Le nom à utiliser pour cette espèce est *S. anginosus* parce qu'il s'agit de la dénomination la plus ancienne.

Le terme 'S. milleri' regroupe les trois différentes espèces. Ce nom n'est jamais publié de façon reconnue et doit figurer entre guillemets (bien qu'en ce qui concerne le contenu, il correspond au groupe des anginosus). Dans certains ouvrages (Mandell, 2000, 5th Edition), ces bactéries sont toujours nommées 'S.intermedius'.

Par ailleurs, les streptocoques *viridans* regroupent les streptocoques *anginosus*, *mitis-oralis*, *thermophilus* et *mutans* ... L'identification approfondie des streptocoques est souhaitable, surtout quand ils sont isolés de 'sites profonds', parce qu'il existe des liens évidents entre l'identification et la pathogénie.

2.1.2. Fréquence et signification clinique

Appartient à la flore normale des muqueuses (bouche, intestin, vagin).

En identifiant les streptocoques *viridans*' dans des sites 'profonds' (tels que les abcès cérébraux, l'abcès du foie et autres abcès intra-abdominaux, l'empyème pleural,...), on observe que les souches font fréquemment partie des *S.anginosus* ou *S. milleri*. Dans la plupart des cas, elles sont associées à d'autres espèces bactériennes comme *Eikenella corrodens*.

La présence de *S.anginosus* dans les hémocultures doit faire rechercher une infection profonde (mixte) ou une endocardite.

2.1.3. Isolement et identification

- aspect microscopique des streptocoques
- croissance des colonies : comme de nombreux streptocoques *viridans*, petites colonies grisâtres poussant sur des milieux au sang, et souvent mieux aussi en CO₂ ou même en micro-aérophile
- odeur de "caramel" fréquente
- catalase négatif
- hémolyse : non-, alfa- ou bêta-hémolytique (les colonies (minute-colony) sont toujours beaucoup plus petites que celles des streptocoques pyogènes)
- antigènes Lancefield : fréquemment F mais également C, G, A, aucun ou parfois plusieurs ensemble
- caractéristiques biochimiques : positives pour VP et Arginine, combinaison se distinguant des autres espèces du "groupe viridans"
 - un inoculum dense dans un petit volume est utile pour les deux tests afin d'obtenir rapidement des résultats (réf. Facklam et Washington) : suspension dans un milieu agar intégral (dans lequel la bactérie est incubée 18 heures) dans 2 ml VP broth, après incubation (6 heures suffisent), y ajouter les réactifs VP A et B)
 - distinction des *S. pyogenes*, entérocoques ... par test bacitracine, pyrrolidonyl amidase, BEA, CAMP test, ... En fait, ceci n'est pas nécessaire si l'on prend en considération la taille des colonies
 - en cas de doute : galerie biochimique plus élaborée ou galerie d'identification commerciale
- galeries d'identification commerciales : ici, on retrouve souvent un nom ancien

- différenciation dans le groupe *S.anginosus* : elle n'est pas très facile et est peu pertinente en raisons des discussions concernant la taxonomie. (Il y aurait néanmoins un lien entre le site de l'infection et les sous-types : *S.anginosus* serait plus

fréquent dans les infections gastrointestinales et urogénitales, et les deux autres "espèces" seraient plus souvent observées dans les infections au niveau de la partie supérieure du corps). On trouve un tableau sur ce thème dans Mandell, 2000, Vth édition (chapitre 192) et dans le Manual of Clinical Microbiology 7th édition.

2.1.4. Sensibilité aux antibiotiques

- sensibilité à la pénicilline : précédemment excellente, mais malheureusement de plus en plus intermédiaire (CMI 0.25 - 2 µg/ml) à résistante (CMI > 2 µg/ml)
- rappel : en fait, on ne peut pas utiliser un antibiogramme de diffusion pour déterminer la sensibilité des "streptocoques *viridans*", il faut établir leurs CMI (directives du NCCLS)
- également sensible à d'autres bêtalactamines dont l'efficacité clinique n'est pas suffisamment documentée pour les céphalosporines plus récentes
- alternative : clindamycine (et vancomycine)
- la chirurgie ou le drainage sont d'une importance primordiale pour les infections suppurantes

Nomenclature : conclusion

- La réponse correcte est : groupe *S.anginosus*, bien que selon certains autres taxonomistes les noms *S. anginosus*, *S.constellatus* et *S. intermedius* sont également valables.
- 'S.milleri' est un nom ancien qui ne devrait plus être appliqué. Cependant, il est tout à fait intégré et le "message clinique" de l'infection suppurante est connu par de nombreux cliniciens

G. CLAEYS

(Labo voor bacteriologie en virologie UZ Gent)

P. VAN DAMME

(Laboratorium voor Microbiologie, Ledeganckstraat, Universiteit Gent)

REFERENCES

1. Streptococcus K.L.Ruoff. p 283-296 In Manual of Clinical Microbiology 7th Edition. Murray P, E.Baron, M.Pfaller, F.Tenover, R. Tenover, R. Tenover, R. Tenover, R. Tenover, R. Tenover. ASM Press, Washington DC, 1999.
2. Whiley, R. A., and D. Beighton. 1991.
Emended descriptions and recognition of *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*, and *Streptococcus anginosus* as distinct species. Int. J. Syst. Bacteriol. 41:1-5.)
3. Coykendall, A. L., P. M. Wesbecher, and K. B. Gustafson. 1987. *Streptococcus milleri*, *Streptococcus constellatus*, and *Streptococcus intermedius* are later synonyms of *Streptococcus anginosus*. Int. J. Syst. Bacteriol. 37:222-228.)
4. Facklam RR, Washington JA *Streptococcus* and related catalase-negative gram-positive cocci. p 238-257. In Manual of clinical Microbiology 5th Edition. Balows A, Hausler WJ, Herrman KL; Isenberg HD and Shadomy HJ. ASM Press, Washington DC, 1991.
5. S.J. Antony & C.W Stratton Chapter 192 *Streptococcus intermedius* group. 2000 In :Mandell Douglas & Bennett's Principles and practice of infectious diseases 5th Edition Ed. Churchill Livingstone

2.2. La culture M/ 1871

Isolée à partir d'une urine d'un patient âgé avec pyurie, est un *Acinetobacter baumannii*.

2.2.1. Taxonomie

Les bactéries du genre *Acinetobacter* sont des cocco-bacilles à Gram négatif, non-fermentants (inertes), oxydase négatifs, strictement aérobies, immobiles (cf. A-kineto) et à croissance facile. Les confusions qui entourent la dénomination et l'identification des *Acinetobacter* peuvent être clarifiées en partie par le schéma qui suit :

Stades de l'évolution de la taxonomie et de la nomenclature des *Acinetobacter*

1.

Point de départ : membres de la famille des *Neisseriaceae*, appelés *Mima polymorpha*, *Herellea vaginicola* ou encore *Moraxella sp*

2.

Division en DEUX espèces : *Acinetobacter anitratus* et *Acinetobacter Iwoffii*

3.

Regroupement en UNE espèce : *Acinetobacter calcoaceticus* mais en PLUSIEURS BIOVARS : *anitratus* (glucidolytique), *Iwoffii* (non-glucidolytique), plus tard également en *hemolyticus* (hémolytique) et *alcaligenes* (protéolytique)

4.a.

- Restructuration complète du genre par Bouvet & Grimont sur base de l'hybridisation ADN-ADN. Il s'avère alors que les noms antérieurs ne correspondaient pas aux espèces naturelles. Les dénominations *calcoaceticus*, *Iwoffii* et *hemolyticus* sont préservées mais utilisées pour de nouvelles espèces. La plupart des souches cliniques identifiées antérieurement appartiennent à la nouvelle espèce *A. baumannii*. Parmi les nouvelles espèces, seules quelques unes reçoivent un nom dont : *Acinetobacter jonhsonii*, *Acinetobacter junii* et *Acinetobacter radioresistens*.
- Des recherches taxonomiques simultanées de Bouvet & Jeanjean (1989) et de Tjernberg & Ursing (1989) y ajoutent de nouvelles espèces (peu importantes du point de vue clinique) dont la numérotation chevauche la précédente, ce qui augmente la confusion
- Tableau présentant le réajustement phénotypique des *Acinetobacter* selon leurs génotype

Espèce génomique ou groupe ADN	Nom d'espèce	Espèce génomique ou groupe ADN	Nom d'espèce
1	<i>A. calcoaceticus</i>	10	
2	<i>A. baumannii</i>	11	
3		12	<i>A. radioresistens</i>
4	<i>A. haemolyticus</i>	13	
5	<i>A. junii</i>	14	
6		15	
7	<i>A. johnsonii</i>	16	
8	<i>A. lwoffii</i>	17	
9	Synonyme à 8	18	

5. Classification phénotypique

- Etablissement d'un schéma d'identification sur base de caractéristiques phénotypiques : croissance à 37, 41 et 44°C, hydrolyse de la gélatine, acidification du glucose, hémolyse (sang de mouton), assimilation de trans-aconitate, L-arginine, citrate, malonate... (14 substrats différents)(Bouvet & Grimont, 1987)
- Observation que les tests d'identification proposés sont sujets à variation selon la technique employée et que certains demandent par exemple 6 jours d'incubation au moins. Le schéma proposé n'est donc pas utilisable dans les laboratoires de routine.

6.

- Distribution des *Acinetobacter* dans l'environnement :

Source	Espèces les plus fréquemment observées
Peau de personnes en bonne santé (avant-bras, front, espaces interdigitaux,...)	8/9 (<i>A. lwoffii</i>)
	15 (pas de nom)
	12 (<i>A. radioresistens</i>)
Patients hospitalisés (peau, muqueuses, autres sites infectés ou colonisés)	2 (<i>A. baumannii</i>)
	3 (pas de nom)
	13TU (pas de nom)
Eaux résiduaires, environnement,...	Variables selon les circonstances

Les espèces rencontrées sur la peau diffèrent des souches nosocomiales. Le réservoir naturel des souches nosocomiales est inconnu (Seifert e.a., 1997)

7.

Appellation pratique :

- groupe *Acinetobacter baumannii*-*Acinetobacter calcoaceticus* (génotypes 1,2,3 et 13TU) : ce sont les espèces les plus fréquemment isolées dans les hôpitaux, à l'exception d'*A. calcoaceticus* rarement observé en clinique
-

2.2.2. Identification des Acinetobacters

Microscopie :

- *Acinetobacter* est polymorphe puisque sa forme varie d'un bacille à un coque, prenant parfois une disposition en diplocoque.
- Dans la pratique au Gram, la bactérie est parfois difficile à décolorer bien qu'elle soit à Gram négatif. Il en résulte que selon les circonstances, *Acinetobacter* se présente comme une *Neisseria*, un streptocoque ou même un staphylocoque conduisant à des erreurs d'interprétation, en particulier pour les souches identifiées en milieu de culture liquide (hémoculture, par ex.)

Culture et identification :

- Les *Acinetobacter* poussent bien sur les milieux de culture ordinaires, tels que la gélose de McConkey
- Les *Acinetobacter* appartiennent au grand groupe des **non-fermentants**, mais se distinguent de la plupart des autres bactéries du groupe par une **oxydase négative** et leur **absence de mobilité**. Certains autres caractères permettent la différenciation d'espèces plus rares comme la présence de pigment et les tests négatifs à l'indole, l'esculine, les nitrates et la DNase. Par ailleurs, on peut distinguer un groupe d'*Acinetobacter* acidifiant le glucose et un groupe n'acidifiant pas le glucose, mais ces deux groupes ne correspondent pas à deux espèces différentes. On observe que les *Acinetobacter* peuvent dégager une odeur de poisson, bien qu'il ne s'agisse pas d'un caractère fiable.

2.2.3. Ecologie et importance clinique

- Les *Acinetobacter* peuvent faire partie de la flore transitoire de la peau normale, être présents dans l'environnement ou encore être isolés chez des patients hospitalisés (selon les circonstances, les espèces sont différentes)
- La plupart des épidémies sont d'origine clonale (clones européens). *Acinetobacter baumannii* (= espèce génomique 2) et *Acinetobacter* (espèce génomique 3) sont les espèces plus importantes du point de vue clinique.
- Après *P. aeruginosa*, les *Acinetobacter* sont les bactéries inertes les plus fréquemment isolées dans les échantillons cliniques

- La plupart des souches isolées chez les patients ne témoignent que d'une colonisation, les infections sont typiquement opportunistes
- Dans certaines circonstances, on observe des flambées épidémiques dont la souche causale peut être par ailleurs présente de façon quasi-endémique : importance de l'hygiène des mains, celle de la pression des antibiotiques, l'existence éventuelle d'une source commune (machine infectée, liquide infecté,...) dans l'éclosion d'épidémie
- Certains *Acinetobacter* survivent longtemps dans un environnement sec (plusieurs semaines et plus de 160 jours pour l'*A. radioresistens*)

2.2.4. Sensibilité aux antibiotiques

Certaines souches « sauvages » sont sensibles à de nombreux antibiotiques, mais elles sont quasiment toujours résistantes à l'ampicilline, aux céphalosporines de première génération et au chloramphénicol. Les souches hospitalières sont mal connues pour leur résistance : ces dernières années, on décrit des souches résistantes à tous les antibiotiques classiques

Techniques d'ADN

Les différentes sortes d'*Acinetobacter* peuvent être identifiées efficacement au moyen de techniques génotypiques, comme ARDRA (Vaneechoutte, 1995, Dijkshoorn, 1998) et tDNA-PCR (Ehrenstein e.a., 1996)

CONCLUSIONS :

La souche envoyée appartient à l'espèce génomique 2 des *Acinetobacter* et est un *A. baumannii* strictu sensu (ARDRA)
Comme rapporté ci-dessus, une identification phénotypique correcte de la plupart des *Acinetobacter* au niveau de l'espèce est pratiquement impossible.

G. CLAEYS
M. VANECHOUTTE
(Laboratorium voor bacteriologie en virologie UZ Gent)

REFERENCES

1. Dijkshoorn L., B. van Harsseelaar, I. Tijernberg, P.J.M. Bouvet & M. Vaneechoutt. 1998. Evaluation of amplified ribosomal DNA restriction analysis for identification of *Acinetobacter* genomic species. *System. Appli. Microbiol.* 21 : 33-39
2. Seifert H., L. Dijkshoorn, P. Gerner-Smidt, N. Pelzer, I. Tjernberg & M. Vaneechoutte. 1997. Distribution of *Acinetobacter* species on human skin : comparison of phenotypic and genotypic identification methods. *J. Clin. Microbiol.* 35 : 2819-2825
3. Vaneechoutte M., L. Dijkshoorn, I. Tjernberg, A. Elaichouni, P. De Vos, G. Claeys & G. Verschraegen. 1995. Identification of *Acinetobacter* genomic species by amplified ribosomal DNA restriction analysis. *J. Clin. Microbiol.* 33 : 11-15
4. Bouvet P.J.M. & P.A.D. Grimont. 1987. Identification of biotyping of clinical isolates of *Acinetobacter*. *Ann. Inst. Pasteur/Microbiol.* 138 : 569-578
5. Bernards A.T., J. van der Toorn, C.PA. van Boven, L. Dijkshoorn. 1996. Evaluation of the ability of a commercial system to identify *Acinetobacter* genomic species. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.* 15 : 303-308
6. Ehrenstein B., A.T. Bernards, L. Dijkshoorn, P. Gerner-Schmidt, K.J. Tower, P.J.M. Bouvet, F.D. Daschner & H. Grundmann. 1996. *Acinetobacter* species identification by using tRNA spacer fingerprinting. *J. Clin. Microbiol.* 34 : 2414-2420

2.3. La culture M/1711

est isolée à partir d'une aspiration bronchique chez un patient artificiellement aspiré est un *Alcaligenes faecalis*.

2.3.1. Taxonomie

Les bactéries du genre bactérien *Alcaligenes* sont des bacilles à gram négatif, mobiles et non-fermentants et oxydase positifs. On les rencontre dans le sol et l'eau. Chez les patients hospitalisés, ces bactéries peuvent être isolées dans l'arbre respiratoire et dans le tube digestif. Selon J.P. Steinberg et C Del Rio (dans Mandell 2000), on observe trois espèces cliniquement importantes : *A. faecalis* (anciennement *A. odorans*), *A. piechaudii*, et *Alcaligenes xylosoxidans* dont on connaît deux sous-espèces : *xylosoxidans* (précédemment appelé *Achromobacter xylosoxidans*) et *denitrificans*. D'après Murray, on distingue un groupe asaccharolytique comprenant *Alcaligenes faecalis*, *Achromobacter piechaudii* et *Achromobacter xylosoxidans* subsp *denitrificans* et une espèce saccharolytique : *Achromobacter xylosoxidans* subsp *xylosoxidans*. Il apparaît donc que les deux genres *Alcaligenes* et *Achromobacter* sont très proches d'un point de vue phylogénétique et biochimique ; ils sont apparentés au genre *Bordetella*. Parmi ces bactéries, c'est *A. xylosoxidans* qui est cliniquement la plus importante ; elle est particulièrement associée à des infections nosocomiales (dont des bactériémies) et à la mucoviscidose. *A. faecalis* est également une bactérie associée au séjour intrahospitalier. Elle a été isolée dans le sang, les sécrétions respiratoires et les urines. En dehors des bactériémies, son rôle pathogène est souvent incertain.

2.3.2. Identification

Les bactéries de ce genre sont capables de pousser sur les milieux nutritifs ordinaires à 35°C. Après 24 à 48 heures, elles donnent des petites colonies non pigmentées et opaques. *Alcaligenes faecalis* développe des colonies à bord mince, irrégulier et prenant parfois un aspect d'œuf sur la plat (centre dense entouré d'une zone translucide mal délimitée). La croissance est strictement aérobie. Sur milieu au sang, certaines souches sont verdissantes. Ces bactéries croissent sur milieu de MacConkey. Elles ne réduisent pas les nitrates en nitrites mais bien les nitrites. Dans le système API, après 48 heures d'incubation, la galerie API 20 NE donne le profil 0 000 057 (%id > 98).

2.3.3. Sensibilité aux antibiotiques

Du point de vue de la sensibilité aux antibiotiques, les souches d'*A. faecalis* sont sensibles aux carbopénèmes, aux associations avec inhibiteurs de bêtalactamases, à la piperacilline, au triméthoprime-sulfaméthoxazole et à la plupart des céphalosporines. La sensibilité

est variable aux F-quinolones, à l'aztréonam et aux aminoglycosides. Les souches sont résistantes à l'amoxicilline et à la ticarcilline.

2.3.4. Remarque

La confusion concernant l'appellation correct apparaît également dans une publication de 1997 CDC *Alcaligenes faecalis* du type I serait synonyme du nom *A. piedchaudii* et CDC *Alcaligenes faecalis* du type II correspondrait à *Bordetella avium*.

Pour compliquer les choses, un ouvrage belge récent attribue au genre *Ralstonia* une série de souches *Alcaligenes faecalis* (dont des souches d'échantillons cliniques) par des techniques moléculaires.

Du point de vue phénotypique, ces isolements devraient être caractérisés par un test négatif de réduction de nitrite et un test positif d'assimilation du malate (acide malique) : ce test figure dans la galerie API 20 NE.

Dans le kit commercial pour la différenciation de *Neisseria* spp. (*Neisseria H*® Sanofi-Pasteur), la souche envoyée ne donne pas de réduction de nitrite, et dans la galerie API, elle montre un test malate positif qui entraîne une identification définitive incertaine.

I. SURMONT
(Heilig Hartziekenhuis-VZW Roeselare)
P. DE MOL
(CHU de Liège)

REFERENCES

1. Murray P.R. et al. Manual of Clinical Microbiology. Seventh Edition. 1999. American Society for Microbiology. Washington D.C., p 545-546.
2. Mandell G.L. et al. Principles and Practice of Infectious Diseases. Fifth Edition. 2000. Churchill Livingstone, p. 2465-2466.
3. Bizet J. and Bizet C. Strains of *Alcaligenes faecalis* from Clinical Material. J. Infect. 1997, 35: 167-169.
4. Coenye T et al. Classification of *Alcaligenes faecalis*-like isolates from the environment and human clinical samples as *Ralstonia gilardii* sp. Nov. Int. J. Syst. Bacteriol. 1999, 49: 405-413.

2.4. La culture M/1142

Un *Fusobacterium necrophorum* isolé à partir d'une hémoculture prélevée chez un patient jeune avec une angine grave.

Il s'agit d'un échantillon didactique.

2.4.1. Taxonomie

Le genre bactérien *Fusobacterium* est constitué de bacilles à gram négatif, immobiles et obligatoirement anaérobies. L'acide butyrique est le principal produit final de la décomposition des glucides et de la peptone.

Les bactéries de l'espèce typique *F. nucleatum* ont la forme d'un fuseau. Ceci n'est pas vrai pour toutes les espèces du genre. Les bactéries de l'espèce *F. necrophorum* sont pléomorphes. Il existe aussi d'autres bactéries qui ont la forme d'un fuseau mais qui n'appartiennent pas au genre *Fusobacterium*.

Dans l'espèce *F. necrophorum*, on distingue deux sous-espèces : *F. necrophorum*, sous-esp. *necrophorum* est lipase positive, produit de l'hémagglutinine et appartient au biovar A; *F. necrophorum*, sous-esp. *funduliforme* est lipase négative, ne produit pas d'hémagglutinine et appartient au biovar B. *F. pseudonecrophorum* a été présenté en tant que biovar C mais est aujourd'hui considéré comme synonyme de *F. varium* (1,2).

2.4.2. Signification clinique

La *Fusobacterium necrophorum* appartient à la flore normale de l'oropharynx et au tractus gastro-intestinal et urogénital (3).

La *Fusobacterium necrophorum* est principalement connu en tant que responsable de septicémies post angines à anaérobies, comme décrits par Lemierre en 1936. Le syndrome est caractérisé par une pharyngotonsillite et/ou une infection péricarotidienne, suivie par un gonflement unilatéral et des douleurs au niveau du muscle sterno-cléido-mastoidien consécutives à une thrombophlébite de la veine jugulaire interne. En une semaine, le patient peut développer une septicémie grave due à *Fusobacterium necrophorum* donnant lieu à des frissons, beaucoup de fièvre et des infections métastatiques des poumons et moins souvent des articulations, des os, du foie ou du cerveau. Les autres infections primaires possibles sont l'otite, la mastoïdite ou les infections dentaires.

La maladie apparaît principalement chez les enfants en bonne santé et chez les adultes jeunes. La mortalité de la maladie est de 4 à 18 %. Depuis l'utilisation des antibiotiques, cette maladie est devenue très rare. Pour la période 1990 – 1995, l'incidence au Danemark est de 0.75 par million d'habitants par an (3,4).

Les patients avec une septicémie à *F. necrophorum* sans syndrome de Lemierre ont un foyer primaire différent, comme la peau ou le tractus gastro-intestinal ou urogénital. La fréquence est quasi

semblable à celle du syndrome de Lemierre. Dans la plupart des cas, il y a des facteurs prédisposants tels que le cancer, le diabète ou l'alcoolisme. Les patients sont plus âgés; l'âge moyen est de 60 ans (3,4,5).

D'autres infections pouvant être causées par *F. necrophorum* sont l'endocardite, la méningite, la mastoïdite, la sinusite et l'otite chroniques.(3)

2.4.3 Culture et identification

F. necrophorum est isolé sur des milieux de culture universels comme le Schaedler ou le Brucella blood agar dans des conditions d'anaérobiose stricte. *F. necrophorum* meurt très rapidement après exposition à l'oxygène de l'air. Les boîtes de Petri doivent être incubées en anaérobiose dans les 20 minutes.

Les hémocultures anaérobies deviennent positives après, en moyenne, trois jours d'incubation. Après 24 heures d'incubation sur un agar au sang, *F. necrophorum* forme des colonies grises, rondes, translucides à opaques ayant un diamètre de 1 à 2 mm. Les colonies sont convexes ou ont un centre surélevé avec un bord plat. La plupart des souches causent une α ou une β hémolyse.

La coloration de Gram montre des bactéries pléomorphes à Gram négatif de 0.5 à 0.7 (parfois gonflées jusqu'à 1.8) μm de large et de 10 μm de long. Les extrémités sont rondes ou aplaties. Leur forme est variable : on observe parfois des cocci, parfois de longs filaments. Après culture dans un milieu liquide, on observe plus fréquemment de longs filaments avec des inclusions granuleuses. Dans des cultures âgées et après croissance sur des milieux solides, les formes bacillaires sont les plus fréquentes.(2)

La croissance de *Fusobacterium spp.* est inhibée par un disque de 10 μg de colistine et 1000 μg de kanamycine mais ne l'est pas par le disque de 5 μg de vancomycine. La catalase et la réduction des nitrates sont négatives. Elles ont une odeur rance à cause de la production d'acide butyrique.

F. necrophorum est indole positif. La plupart des souches sont inhibées par la bile et produisent des lipases. Ces tests, en combinaison avec la forme pléomorphe au Gram et l'hémolyse sur agar au sang suffisent pour l'identification de *F. necrophorum*, sous-esp. *necrophorum* lipase positive. Afin de distinguer *F. necrophorum*, sous-esp. *funduliforme* de *F. varium*, des tests supplémentaires sont nécessaires.(1,2)

L'identification définitive rapide et fiable est possible grâce aux systèmes enzymatiques commerciaux, tels que RAPID ID 32 A et BBL Crystal Anaerobe ou par le biais d'une chromatographie en phase gazeuse .(1,2,6)

Espèce	Forme de fuseau	Indole	Résistant à la bile	lipase
<i>F. nucleatum</i>	+	+	-	-
<i>F. necrophorum</i>	-	+	- ⁺	+ ⁻
<i>F. varium</i>	-	+ ⁻	+	V ¹

¹ peut devenir positif après 5 à 7 jours d'incubation

2.4.4 Sensibilité aux antibiotiques

F. necrophorum est sensible au métronidazole, à la clindamycine, ainsi qu'à la pénicilline. Les macrolides n'ont pas une bonne activité. Le traitement préférentiel pour le syndrome de Lemierre est le métronidazole en combinaison avec la pénicilline pendant plusieurs semaines. La chirurgie est indispensable en cas de thrombophlébite de la veine jugulaire interne.(3,4)

K. MAGERMAN
(Virga Jesseziekenhuis Hasselt)

III. RESULTATS DES IDENTIFICATIONS (N=271)

3.1 Culture M/1670 *Streptococcus anginosus* (hémoculture) N=271

<u>Streptococcus anginosus</u>	13	(4,8%)
* <u>Streptococcus intermedius</u>	21	(7,7%)
* <u>Streptococcus milleri</u>	66	(24,4%)
* <u>Streptococcus constellatus</u>	121	(44,7%)
A.baumannii + S. constellatus	1	
Streptococcus mitis	15	
Streptococcus oralis	1	
Streptococcus salivarius	1	
Streptococcus sanguis	2	
Streptococcus acidominimus	2	
Streptococcus non hémolytique	2	
Streptococcus Viridans	3	
Streptococcus sp	4	
Enterococcus faecalis	1	
Gemella haemolysans	2	
Gemella morbillorum	3	
Lactococcus cremoris	1	
Leuconostoc pseudomesenteroides	1	
Rhodococcus equi	1	
Aerococcus viridans	1	
Providencia stuartii	1	
Coques Gram + anaerobes	1	
Échantillon contaminé	1	
Pas de croissance	1	
Pas de réponse	5	

* Noms acceptés cfr commentaire p.2 et p.4

3.2 Culture M/1871 *Acinetobacter baumannii* (urine) N=271

<u>Acinetobacter baumannii</u>	244	(90,0%)
* <u>Acinetobacter anitratus</u>	3	(1,1%)
** <u>Acinetobacter calcoaceticus</u>	16	(5,9%)
** <u>Acinetobacter sp</u>	6	(2,2%)
Chryseomonas luteola	2	

* Synonyme

** Identifications acceptées

3.3. Culture M/1672 *Alcaligenes faecalis* (aspiration bronchique)
N=271

<u>Alcaligenes faecalis</u>	244	(90,0%)
* <u>Alcaligenes odorans</u>	13	(4,8%)
** <u>Alcaligenes sp</u>	1	(0,4%)
Alcaligenes xylooxidans	1	
Pseudomonas aeruginosa	2	
Pseudomonas alcaligenes	1	
Pseudomonas fluorescens	1	
Pseudomonas putida	2	
Pseudomonas putida	1	
Burkholderia cepacia	1	
Flavimonas oryzihabitans	1	
Oligella urethralis	1	
Oxidase + non fermenteur	1	
Sans réponse	1	

* est un synonyme, voir page 11

** Identifications acceptées

3.4 Culture M/1142 *Fusobacterium necrophorum* (hémoculture)
N=271

<u>Fusobacterium necrophorum</u>	140	(51,7%)
Fersubacterium nicroforum	1	
F. necrophorum + Propionibacterium	1	
Fusobacterium nucleatum	1	
Fusobacterium varium	1	
Fusobacterium sp	32	
Porphyromonas sp	2	
Porphyromonas endodontalis	1	
Prevotella disiens	1	
Prevotella intermedia	7	
Prevotella sp	2	
Eubacterium	1	
Bacteroides corrodens	1	
Bacteroides sp	7	
Clostridium sp	1	
Corynebacterium CDC groupe G2	2	
Clostridium	1	
Acinetobacter baumannii	1	
Acinetobacter sp	1	
Actinomycetales sp	1	
Enterobacter aerogenes	1	
Staphylococcus epidermidis	1	
gram+ anaérobe	2	
gram-anaérobe	2	
Bâtonnet gram-	2	
Échantillon contaminé	1	

Sans croissance
Sans réponse

42
15

IV. ANTIBIOGRAMME

L'antibiogramme-type a été réalisé par plusieurs experts selon les deux méthodes les plus couramment utilisées et pouvant servir de référence : Méthode par diffusion de disque selon NCCLS et ROSCO (NEO-SENSITABS).

4.1 Culture M/1871 *Acinetobacter baumannii* (urine)

	Résultat attendu	S	I	R	Non testé
céfazoline	R	0	1	261	9
fluoroquinolone	S	261	2	0	8
ceftazidime	S	233	19	10	9
nitrofurantoïne	R	2	0	266	3

IV. PARASITOLOGIE

5.1. Les échantillons

Tous les laboratoires ont reçu deux frottis sanguins.

Le frottis P/1396 comporte des trophozoïtes jeunes et mûrs, ainsi que de rares gamétocytes de *P. falciparum*. Les frottis ont été faits dans le laboratoire de référence du paludisme 'South African Institute for Medical Research', Johannesburg, en Afrique du Sud et le diagnostic donné était : *P. falciparum*.

Parasitémie: $\pm 0,3$ % des hématies infectées.

Le frottis P/1834 comporte des trophozoïtes jeunes et mûrs, ainsi que de très rares gamétocytes de *P. falciparum*.

Parasitémie: $\pm 0,4$ % des hématies infectées.

5.2. RESULTATS

P/1396

Les résultats suivants ont été rapportés :

Parasite	Nombre de laboratoires
<i>Plasmodium sp</i>	7
<i>Plasmodium sp</i> + <i>P. falciparum</i>	10
<i>Plasmodium sp</i> + <i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	4
<i>Plasmodium sp</i> + <i>P. ovale</i>	1
<i>Babesia</i>	1
<i>P. falciparum</i>	122
<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	39
<i>P. falciparum</i> + <i>P. ovale</i>	2
<i>P. falciparum</i> + <i>P. vivax</i>	1
<i>P. malariae</i>	38
<i>P. malariae</i> + <i>P. vivax</i>	1
<i>P. ovale</i>	9
<i>P. vivax</i>	6
Total	241

P/1396: Plusieurs stades du cycle évolutif ont été rapportés; trophozoïtes, schizontes jeunes, autres schizontes mûrs et gamétocytes.

P/1834

Parasite	Nombre de laboratoires
<i>Plasmodium sp</i>	8
<i>Plasmodium sp</i> + <i>P. falciparum</i>	3
<i>P. falciparum</i>	206
<i>P. falciparum</i> + <i>P. malariae</i>	1
<i>P. falciparum</i> + <i>P. vivax</i>	1
<i>P. malariae</i>	18
<i>P. ovale</i>	1
<i>P. vivax</i>	7
Total	245

P/1834: Ici aussi, plusieurs stades du cycle évolutif ont été rapportés, principalement des trophozoïtes et de rares gamétocytes.

5.3. DISCUSSION

5.3.1. Frottis P/1396

Les frottis ne sont pas de qualité optimale et il est probable que ce soit la raison principale pour la diversité des réponses.

Dans le laboratoire de référence de l'Institut de Médecine Tropicale, les frottis ont été examinés par quatre collaborateurs différents. Le diagnostic *P. falciparum* était surtout basé sur :

1. La présence de rares gamétocytes (sous leur forme typique de banane).
2. La présence de trophozoïtes jeunes et mûrs (du point de vue morphologique légèrement déviants à cause d'une prophylaxie partielle ou de sang datant déjà de quelques heures au moment où les frottis ont été faits).
3. Les hématies parasitées sont petites à normales.
4. Il n'y a pas de granulations de Schüffner dans les hématies parasitées.

5.3.2. Frottis P/1834

La qualité des frottis est supérieure à celle des frottis précédents et l'identification du parasite était plus facile. Ici aussi, quatre collaborateurs du laboratoire de référence de l'Institut de Médecine Tropicale ont examiné les frottis. Leur diagnostic de *P. falciparum* était surtout basé sur :

1. La présence de très rares gamétocytes (sous leur forme typique de banane).

2. La présence, dans la plupart des cas, de trophozoïtes jeunes et de plusieurs parasites par hématie, ainsi que l'observation fréquente de deux grains de chromatine. Les trophozoïtes périphériques ou se situant contre la membrane (forme accolée), typiques de *P. falciparum*, sont également fréquents.
3. Des hématies parasitées petites à légèrement agrandies.
4. L'absence de granulations de Schüffner (ces granulations devraient être observées dans la plupart des *P. vivax* et *P. ovale*).

Ce frottis a été envoyé récemment en tant que H 1833 dans le cadre du contrôle de qualité externe d'hématologie; enquête n° 03/1999 et 90% des laboratoires participants n'avaient pas trouvé de parasite de paludisme. Maintenant, tous les laboratoires participants ont trouvé des parasites de paludisme dans les frottis.

5.3.3. REMARQUES GENERALES

Dans le frottis P/1834, 26 laboratoires (11%) n'ont pas trouvé de *P. falciparum* et dans le frottis P/1396 le nombre s'élève à 55 (22%). Ce fait peut avoir d'importantes conséquences pour le traitement. Le traitement de *P. falciparum* diffère totalement du traitement des trois autres types de paludisme

Des schémas sur le traitement sont disponibles par exemple dans "The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy" (Belgian edition). On peut également demander une brochure à l'Institut de Médecine Tropicale, Polyclinique, Service des conseils pour voyageurs.

Nous insistons sur le fait qu'en cas de diagnostic de paludisme, il est très important de faire la distinction entre *P. falciparum* et les trois autres espèces. De plus, une infection avec *P. falciparum* peut être fatale; par conséquent, le diagnostic du paludisme doit se faire de façon correcte et rapide. Pour une confirmation des espèces, on peut toujours faire appel au laboratoire de référence du paludisme de l'Institut de Médecine Tropicale. Les résultats positifs sont toujours confirmés le même jour par fax ou par message électronique.

Pour l'identification il faut envoyer :

- Une goutte épaisse non colorée
- Un frottis non coloré fixé
- 0.5 ml de sang EDTA
- 200 microlitres de sérum ou de plasma

Le sang EDTA ainsi que le sérum sont utilisés pour compléter l'éventuelle identification morphologique (qui n'est pas toujours facile) par une détermination des antigènes de *P. falciparum* ou d'autres espèces et éventuellement la titration en anticorps des différents antigènes de plasmodiums.

Les formulaires pour l'envoi d'un échantillon au laboratoire de référence peuvent être obtenus à l'Institut scientifique de la Santé Publique- Louis Pasteur, Service d'Epidémiologie.

T. VERVOORT
(Instituut voor Tropische Geneeskunde
Laboratorium Klinische Biologie)

Nous remercions le Dr. Leigh Dini du SAIMR, Johannesburg, RSA pour la préparation et l'envoi des frottis sanguins.

VI. SEROLOGIE HEPATITE B ET C

6.1. Description des échantillons

Nous avons envoyé 2 échantillons lyophilisés :

- S/2088 anti-HBs positif
- S/2089 anti-HBs, anti-HBc et anti-HCV positif

6.2. Participation

Au total 250 laboratoires ont participé à cette enquête.

6.3. Réactifs utilisés

Le tableau suivant donne la répartition des principaux réactifs, en nombre, utilisés par les participants:

Methode	Fabricant	AgHBs	Anti-HBs	Anti-HBc	Anti-HCV
MEIA	Abbott	111	119	111	141
EIA	Abbott	8	6	7	5
	Ortho	4	5	2	3
	Roche	5	6	5	3
	DiaSorin	4	4	4	
	Sanofi Pasteur	17	15	14	20
	bioMérieux 999	2	1		1
ELISA	Dade	3	3	4	
	Organon	1	1	1	
	Ortho	2	1		17
	Roche	2	2	2	1
	bioMérieux	1	2	3	
	DiaSorin	8	4	8	
	Sanofi	2	2	1	5
	Abbott				1
	Innogenetics 999				7
				3	
ELFA	bioMérieux	35	34	41	
	Sanofi	1	1	1	1
LIA	DPC	3	3	2	
	999	1	1	1	1
RIA	Abbott	1			
	DiaSorin	12	11	11	
999	Abbott	1			
	Ortho	2	5	1	5
	Roche	14	2	12	
	Sanofi	2	1	1	3
?	Abbott	1	1	1	2
999	999	1	1	1	
?	?	1	8	16	31

999 = autre - ? = pas mentionné - LIA = Luminescence ImmunoAssay

6.4. Resultats

6.4.1. Distribution des résultats pour S/2088

N=250

Résultat	AgHBs	AntiHBs	AntiHBc	AntiHCV
sans	3	20	15	31
+	0	229	8	4
+/-	1	0	16	1
-	246	1	211	214

Un résultat douteux pour agHBs avec Abbott MEIA

Un résultat négatif pour antiHBs avec bioMérieux ELFA

Résultat positif pour antiHBc ; 7 avec Abbott MEIA et 1 avec Dade Behring elisa

Résultats douteux pour antiHBc ; 15 avec Abbott MEIA et 1 avec Dade Behring elisa

Résultats positifs pour antiHCV ; 1 avec Abbott EIA et 1 avec Abbott MEIA + 2 interventions d'échantillons avec S/2089.

Un résultats douteux pour antiHCV avec EIA d'Ortho Diagnostics.

Index/DO des résultats obtenus avec Abbott, MEIA pour le paramètre anti-HBc

AntiHBc	Résultat	Nombre de résultats	Max	Min	Med
	+	6	0,982	0,769	0,892
	+/-	15	1,091	0,945	0,995
	-	90	1,52	0,04	1,140

6.4.2. Distributions des résultats pour S/2089

N=250

Résultat	AgHBs	AntiHBs	AntiHBc	AntiHCV
Sans	7	20	15	29
+	3	221	224	218
+/-	3	8	3	0
-	237	1	8	3

Trois résultats positifs pour agHBs avec EIA et MEIA d' Abbott
Trois résultats douteux pour agHBs avec MEIA et RIA d'Abbott
Huit résultats douteux pour antiHBs avec DiaSorin, MEIA, EIA et RIA, avec Sanofi Pasteur (2), avec EIA de Dade Behring, et MEIA Abbott
Trois résultats douteux pour antiHBc avec DiaSorin,EIA, Elisa et RIA
Résultats négatifs pour antiHBC ; Abbott MEIA (8)
Résultats négatifs pour antiHCV ; 1 Abbott EIA et 2 interversions d'échantillons

Index/DO des résultats obtenus avec Abbott, MEIA pour le paramètre anti-HBC

AntiHBc	Résultat	Nombre de résultats	Max	Min	Med
	-	8	0,122	0,05	0,09
	+	104	1,04	0,068	0,103

6.4.3. Interprétations pour S/2088

2 laboratoires n'ont pas donné d'interprétation.

	Sans remarques	Tests Complémentaires	Nouveau échantillon > 3 semaines	Confirmation est inutile
Négatif pour HepB	1	4	1	1
Négatif pour HepC	15	1	3	38
Hépatite B aigue ou chronique			1	
Hep B immunité par vaccination	41	10	9	163
Hep B immunité infection naturelle	2	3		20
HépatiteC	1	1		1

6.4.4. Interprétation pour S/2089
 100 laboratoires n'ont pas donné d'interprétation

	Sans remarques	Test Complémentaires	Nouveau échantillon > 3 semaines	Confirmation est inutile
Négatif pour HepB		3		1
Négatif pour HepC	1			
Hépatite B aigue ou chronique		4	1	
Hep B immunité par vaccination	2	1	1	2
Hep B immunité infection naturelle	20	88	5	64
HépatiteC	19	115	11	46

6.5. Conclusion

Les renseignements cliniques qui accompagnaient le sérum S/2088 spécifiaient qu'il s'agissait d'une personne ayant été piquée par une aiguille. La demande était de savoir si la personne avait une immunité pour l'hépatite B (HBV). Deux possibilités s'offrent : soit la personne a été vaccinée, soit-elle à une immunité par infection. En cas de vaccination on s'assurera du taux d'anti-HBs. Au-delà de 10 UI/L on considère qu'une personne immunocompétente est protégée, même si on préfère voir un taux plus élevé afin d'avoir un taux persistant. En cas d'infection résolue on verra apparaître des anticorps anti-HBc à côté d'anticorps anti-HBs. Les porteurs chroniques du virus de l'hépatite B auront des tests positifs pour l'antigène HBs et les anticorps anti-HBc. Généralement les anticorps anti-HBs sont négatifs parfois de taux faible. Sans être protégés contre l'hépatite B ces dernières personnes ne courent cependant pas de risque particulier par l'accident de ponction.

Le sérum S/2088 contenait uniquement des anticorps anti-HBs ce qui correspondait très probablement à une immunité vaccinale. Sans anamnèse de vaccination il faut être prudent dans l'interprétation de ce test il peut s'agir d'un résultat faussement positif ou d'anticorps résiduels après disparition d'anti-HBc.

Pour le sérum S/2089 il s'agissait d'une hépatite chronique. Une malencontreuse faute de frappe a introduit un point d'interrogation après 'hépatite chronique. Ce n'est bien entendu pas le laboratoire de virologie/sérologie qui peut établir si une personne a une hépatite chronique il permet cependant d'en définir la cause. Deux causes virales fréquentes

dans notre pays sont les virus de l'hépatite B et de l'hépatite C (HCV). Les porteurs chroniques d'hépatite B ont comme indiqué ci-dessus de l'antigène HBs et des anticorps anti-HBc dans le sérum. Les gens qui souffrent d'une hépatite C chronique ont des anticorps anti-HCV. Dans le sérum S/2089 le test pour les anticorps anti-HCV était positif. D'autre part la positivité des tests anti-HBc et anti-HBs indiquent une immunité par infection naturelle de l'hépatite B. La présence des anticorps anti-HBV correspond à une haute probabilité que l'hépatite chronique est due au HCV. Il faut savoir que la valeur prédictive positive d'un test varie fortement avec la probabilité pretest de la maladie ou de l'infection. En cas d'hépatite chronique, cette probabilité est beaucoup plus haute qu'en cas de dépistage sans signes d'appel par exemple pour les dons de sang. Etant donné l'importance du diagnostic beaucoup préféreront par prudence obtenir une confirmation du diagnostic par des tests alternatifs.

P. GOUBAU
(Cliniques Universitaires St Luc Bruxelles)