



Surveillance des infections nosocomiales à bactéries multirésistantes : place d'un contrôle de qualité externe

N. Van der Mee-Marquet¹, C. Bizet², R. Quentin¹
 et le Réseau des biologistes du relais régional d'hygiène hospitalière du Centre¹

¹M.N. Adam, J. Akli, P. Amirault, X. Cahiez, J. Carbonnelle, J.C. Cartron, F. Cotty, M. Gavignat, E. Goreau, J.L. Graveron, F. Guinard, P. Harriau, D. Imbault, M. Jacqmin, P. Laudat, J. Loulergue, A. Massot, C. Naudion, F. Opsomer, J.P. Pourrat, R. Quentin, X. Rebeyrotte, A. Secher, N. Van der Mee-Marquet

²Collection de l'Institut Pasteur

INTRODUCTION

La surveillance est un élément-clé de la prévention des infections nosocomiales. Les informations du laboratoire sont essentielles pour la surveillance des bactéries multirésistantes (BMR) et pour l'alerte. Les laboratoires doivent respecter les bonnes pratiques, les recommandations techniques édictées par le Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie (CA-SFM) [2], et les recommandations méthodologiques de l'Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques [3]. Deux types de contrôles permettent de s'assurer de la qualité des informations générées par les laboratoires : les contrôles de qualité internes (CQI) et les contrôles de qualité externes (CQE). Définis par le Guide de bonne exécution des analyses (GBEA) [4], les CQI utilisent des souches bactériennes sensibles aux antibiotiques et ne permettent pas d'évaluer la détection des BMR. Les CQE pour la microbiologie sont peu nombreux : le contrôle national et celui du Centre toulousain pour le contrôle de qualité en biologie clinique (CTCB) ne sont pas dédiés au contrôle de la détection des BMR. Dans une démarche de qualité, et afin de compléter les CQE existants en ciblant la détection des BMR, le Relais régional d'hygiène hospitalière du Centre (RHC) a mis en place un CQE visant à évaluer l'aptitude des laboratoires à détecter les BMR en routine, déterminer les besoins de formation, et constituer un réseau de biologistes aptes à surveiller les BMR. L'intérêt de l'organisation du CQE est discuté dans cet article.

MÉTHODE

En 2001, 21 laboratoires en charge des analyses de 27 établissements de santé participant aux surveillances régionales (1 centre hospitalier universitaire, 16 centres hospitaliers, 10 cliniques privées) ont adhéré au projet. La participation au CQE a été un préalable à l'intégration au réseau de surveillance. Le CQE a été réalisé de manière concomitante à l'enquête BMR. Six souches de la Collection de l'Institut Pasteur (CIP) ont été testées (tableau 1). Pour garantir qualité et stabilité des phénotypes de résistance, l'envoi des souches a été réalisé à température ambiante directement depuis la CIP vers les laboratoires. La réglementation en vigueur pour le transport de souches a été respectée [5]. L'antibiogramme des souches a été réalisé par les techniques de routine : diffusion en milieu gélosé (n=5) ou système automatisé (ATB-API-bioMérieux/ATB-EXPRESSION-bioMérieux (n=8), VITEK-bioMérieux (n=4), VITEK2-bioMérieux (n=2) et MICRO-SCAN-DADE (n=2)). Un système d'expertise a été utilisé par 19 laboratoires (API-bioMérieux (n=8), SIR-I2A (n=4), VITEK-bioMérieux (n=2), VITEK2-bioMérieux (n=2) et TOUCAN (n=1)). Le traitement des résultats a été réalisé par le praticien du RHC. Les résultats ont été discutés en septembre 2001 par les participants. Le projet a fait l'objet d'un financement CCLIN Ouest.

RÉSULTATS

Conformément aux recommandations de la CA-SFM, 54 résultats étaient attendus pour chacun des 21 laboratoires après étude des 6 souches-test. Les résultats ont été classés en deux groupes : conformes aux résultats attendus, ou

résultats caractérisés par une discordance majeure avec le résultat attendu. Le nombre de non-réponses a varié de 1 à 20 (médiane 2, moyenne 4) : 16 laboratoires ont fourni plus de 95 % des 54 réponses. Pour 5 laboratoires, le nombre de non-réponses a varié entre 10 et 37 % ; 71 discordances majeures (6 %) ont été identifiées pour l'ensemble des résultats attendus (n=1134), soit de 0 à 9 selon les laboratoires (moyenne 3 ; médiane 3). Les laboratoires ont été regroupés en deux classes (tableau 2) : 16 présentant 1 à 4 non-réponses (classe 1), et 5 présentant un nombre de non-réponses ≥ 5 (classe 2). Au sein de la classe 1, le nombre de discordances a varié de 1 à 9 : 6 laboratoires présentant un nombre ≤ 2 (classe 1a), 7 présentant 3 ou 4 discordances (classe 1b) et 6 présentant un nombre ≥ 5 (classe 1c). Les principaux phénotypes de résistance ont été retrouvés par plus de 80 % des participants : pour *Pseudomonas aeruginosa*, résistances vis-à-vis des B-lactamines, aminosides et ciprofloxacine (95 à 100 % des participants), pour *Klebsiella pneumoniae*, résistance aux céphalosporines de 3^e génération, gentamicine et acide nalidixique (81 à 100 %), pour *Enterococcus faecalis*, résistance vis-à-vis des glycopeptides, érythromycine et tétracycline (81 à 100 %), et pour *Staphylococcus aureus*, résistance vis-à-vis de pénicilline et érythromycine (respectivement 93 et 86 % des participants).

Tableau 1

Phénotypes de résistance des souches-test

| Désignation | Numéro CIP | Phénotype de résistance |
|--|------------|--|
| <i>Klebsiella pneumoniae</i> subsp <i>pneumoniae</i> | 105858 | Céphalosporines (3 ^e génération) R* |
| | | Aminosides |
| | | Gentamycine R |
| | | Tobramycine R |
| | | Nétilmycine R |
| <i>Staphylococcus aureus</i> subsp <i>aureus</i> | 6525 | Quinolones |
| | | Acide nalidixique R |
| | | Péfloxacine I |
| | | B-lactamines |
| | | Pénicilline R |
| | 103514 | Méticilline R |
| | | Macrolides |
| | | Erythromycine R |
| | | B-lactamines |
| | | Pénicilline R |
| <i>Pseudomonas aeruginosa</i> | 106817 | Méticilline R |
| | | Macrolides |
| | | Erythromycine R |
| | | Quinolones |
| | | Péfloxacine I |
| | 106816 | Glycopeptides |
| | | Teicoplanine I |
| | | B-lactamines |
| | | (imipénème inclus) R |
| | | Aminosides |
| <i>Enterococcus faecalis</i> | 106996 | Quinolones |
| | | Ciprofloxacine R |
| | | Glycopeptides |
| | | R |
| | | Macrolides |
| | | Erythromycine R |
| | | Pristinamycine R |
| | | Tétracycline R |

* catégories cliniques retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro : R (résistant) et I (intermédiaire)

Tableau 2

| Classement des laboratoires en fonction des résultats | | | | |
|---|-------------|-------------------------------|----------------------------|-------------|
| Classe | Sous classe | Nombre de laboratoires (n=21) | Nombre de résultats (n=54) | |
| | | | Non réponses | Discordants |
| 1 | 1a | 6 | 1 à 4 | 1 à 2 |
| | 1b | 4 | | 3 à 4 |
| | 1c | 6 | | 5 à 9 |
| 2 | | 5 | 5 à 20 | |

Les discordances ont essentiellement concerné *Staphylococcus aureus* (tableau 3). La détection de la résistance à la méticilline a été optimale pour la souche CIP 6525, dite « résistante homogène » (100 % des laboratoires), mais la détection a été insatisfaisante pour la souche CIP 103514, « résistante hétérogène ». De plus, pour cette souche, la détection de la diminution de sensibilité vis-à-vis de la péfloxacinine et de la teicoplanine ont été respectivement faibles (62 % des participants) et nulle (aucun participant).

Tableau 3

| <i>Staphylococcus aureus</i> . Résultats obtenus pour les souches CIP 6525 et 103514 | | | | | | | |
|---|--------|--|-----------|-----------|-----------|------------|------|
| Antibiotique | CIP | Résultats restitués par les 21 laboratoires* | | | | | |
| | | Souche-test | Résultats | S | I | R | NR** |
| Pénicilline G | 6525 | | R | | | 20 (95 %) | 1 |
| | 103514 | | R | | | 19 (90 %) | 2 |
| Méticilline | 6525 | | R | | | 21 (100 %) | |
| | 103514 | | R | 8 (38 %) | | 13 (62 %) | |
| Erythromycine | 6525 | | R | 3 | | 16 (76 %) | 2 |
| | 103514 | | R | | | 20 (95 %) | 1 |
| Péfloxacinine | 103514 | | I | 8 (38 %) | 12 (57 %) | | 1 |
| Teicoplanine | 103514 | | I | 20 (95 %) | | | 1 |

* catégories cliniques retenues pour l'interprétation des tests de sensibilité in vitro : R (résistant), I (intermédiaire) et S (sensible) ** Non-réponse

DISCUSSION

Un COE dédié au contrôle de la détection des BMR a été mis en place afin d'évaluer la qualité des résultats des laboratoires participant aux enquêtes de surveillance. Le choix des souches a reposé sur un partenariat avec l'Institut Pasteur afin de disposer de souches précisément caractérisées. La stabilité des phénotypes de résistance au cours de l'étude a permis de valider la faisabilité de l'envoi des souches à température ambiante. Une qualité satisfaisante des résultats a été obtenue (résultats conformes à 94 % pour l'ensemble des germes et des participants, variant de 90 à 97 % en fonction des germes et de 64 à 93 % selon les participants). Les principales discordances ont été observées pour *Staphylococcus aureus*. En utilisant une technique de routine, la résistance à la méticilline a été facilement détectée (CIP 6525, résistance homogène). Concernant la CIP 103514 (résistance hétérogène), les techniques usuelles de réalisation des antibiogrammes ont été mises en défaut pour 8 laboratoires. Pour ce type de résistance, la mise en œuvre de techniques spécifiques est nécessaire [2]. Ces techniques complémentaires sont connues des biologistes, mais leur utilisation en routine est limitée. Depuis cinq ans en France, l'émergence rapide d'un clone épidémique de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) sensible à la gentamicine [6], la disparition du clone de SARM gentamicine-résistant, ainsi que l'émergence de SARM non-multirésistants [7], sont associées à l'augmentation des SARM présentant une résistance dite « hétérogène » à la méticilline. Il est recommandé de rechercher une résistance à la méticilline dès lors que la souche présente des résistances acquises associées, en particulier vis-à-vis de la kanamycine, ou de la péfloxacinine. Dans cette étude, les systèmes d'expertise n'ont pas incité les biologistes à mettre en œuvre les techniques complémentaires de détection de la résistance à la méticilline, en dépit de l'existence de telles résistances associées.

L'émergence des *Staphylococcus aureus* de sensibilité diminuée aux glycopeptides (GISA) nécessite une vigilance accrue. L'enquête nationale réalisée récemment dans le cadre du Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin) a évalué leur incidence actuelle à 0,023 / 1000 journées d'hospitalisation [8]. Pour notre étude, aucun des laboratoires n'a détecté la diminution de sensibilité du SARM CIP

103514 vis-à-vis de la teicoplanine. Ces résultats soulignent les limites des techniques usuelles pour la détection des GISA et la nécessité de mettre en œuvre la technique recommandée par le CA-SFM [2].

En ce qui concerne les autres discordances de résistances, un défaut de sensibilité a été rencontré dans un nombre limité de cas : érythromycine pour *Staphylococcus aureus* (n=3), piperacilline (n=4) et ceftazidime (n=3) pour *Pseudomonas aeruginosa*. L'expertise des résultats n'a là encore pas amené le biologiste à poursuivre l'étude des souches par des tests complémentaires, en dépit du peu de vraisemblance entre résultats obtenus et données connues concernant la sensibilité des SARM vis-à-vis des macrolides, ou encore de la diminution de sensibilité à la piperacilline des *Pseudomonas* résistants à la ticarcilline.

L'analyse par laboratoire a montré que le profil de résultats est très homogène et que les taux de réponses et de résultats conformes sont plutôt satisfaisants. Toutefois, certains laboratoires se sont distingués par l'insuffisance en antibiotiques testés (classe 2), ou par le nombre de résultats discordants (classes 1b et 1c). Pour ces laboratoires, les procédures de réalisation de l'antibiogramme doivent être optimisées afin d'améliorer la qualité de leurs analyses.

L'ensemble de nos résultats conforte ceux publiés par Tenover [9] et souligne l'existence de problèmes pour la détection des mécanismes de résistance acquises et la lecture interprétative des résultats bruts. Dans le cadre des surveillances, afin d'assurer la qualité des données, la participation des laboratoires à un COE est une nécessité.

CONCLUSIONS

Dans le cadre de la prévention des infections nosocomiales, la surveillance des BMR, et en particulier des SARM, constitue un objectif du laboratoire. Notre étude montre la nécessité d'analyser les résultats avec les fabricants responsables des appareils pour la réalisation des antibiogrammes afin que les systèmes d'expertise facilitent la détection des BMR, qu'il s'agisse de phénotypes fréquents ou plus rares.

Notre étude souligne les besoins des biologistes de terrain concernant la connaissance des résistances, et la mise en œuvre pratique des règles de détection des principaux BMR.

Pour la plupart des participants, l'étude souligne la qualité des résultats produits. Toutefois, la nécessité de mesures correctives est pour certains nécessaire, afin de permettre la constitution d'un réseau de biologistes assurant la qualité des données des surveillances régionales.

Dans un souci d'amélioration constante de la qualité, les biologistes du Centre renouvèlent le COE en 2002. L'élargissement de cette démarche qualité à l'ensemble des participants aux surveillances du Raisin serait souhaitable. Des solutions pour pérenniser cette expérience doivent être recherchées.

RÉFÉRENCES

- [1] Comité technique national des infections nosocomiales. 100 recommandations pour la surveillance et le contrôle des infections nosocomiales, Paris : Ministère de l'emploi et de la solidarité, 2^e édition, 1999.
- [2] Société française de microbiologie. Comité de l'antibiogramme. Communiqué 2000-2001.
- [3] Conseil scientifique de l'Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques. Recommandations méthodologiques pour la surveillance de la résistance aux antibiotiques dans les laboratoires de microbiologie 2000.
- [4] Arrêté du 26 novembre 1999 relatif à la bonne exécution des analyses de biologie médicale. JO du 11 décembre 1999.
- [5] IATA. Dangerous Goods Regulations. 42nd Edition. Effective 1 January 2001.
- [6] Blanc D.S., Francioli P., Le Coustumier A., Gazagne L., Lecaillon E., Gueudet P., Vandenesch F., Etienne J. Reemergence of gentamicin-susceptible strains of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in France : a phylogenetic approach. *J Clin Microbiol.* Jun 2001; 39(6) : 2287-90
- [7] Witte W., Bralke C., Heuck D., Cuny C. Les SARM dans les hôpitaux allemands développent des profils de résistance plus étroits. *Eurosurveillance* 2000 ; 5 : 31-4 F.C.
- [8] Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin), *Staphylococcus aureus* GISA : données nationales 2000-2001.
- [9] Tenover F.C., Mohammed M.J., Stelling J., O'Brien T., Williams R. Ability of laboratories to detect emerging antimicrobial resistance : proficiency testing and quality control results from the World Health Organization's external quality assurance system for antimicrobial susceptibility testing. 2001. *J Clin Microbiol*, 39 : 241-250.