N’oubliez pas les ANAEROBIES ces inconnus maltraités

L. Dubreuil
Université de Lille, France

→

Fifty years devoted to anaerobes: historical, lessons, and highlights

Luc J. Dubreuil **European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases 2023 https://doi.org/10.1007/s10096-023-04708-4**

Les fondamentaux

QUAND FAUT-IL RECHERCHER LES ANAEROBIES ?

QUELLES CONDITIONS POUR LE TRANSPORT ET L'ACHEMINEMENT

QUELLES ESPÈCES SONT ATTENDUES EN FONCTION DES PATHOLOGIES ?

Le recueil des prélèvements

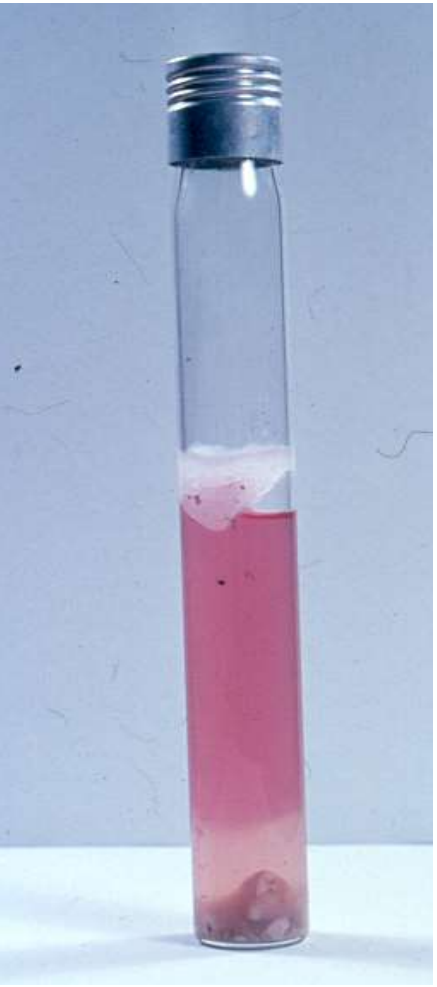
- Eviter l'oxygène

  Conserver le prélèvement en anaérobiose

- Acheminer le plus vite possible au laboratoire

- Ne pas réfrigérer les prélèvements

Eviter que les anaérobies soient morts avant de franchir la porte du laboratoire.



Milieu de Rosenow en tube

Le transport des prélèvements

Volume > 2 ml

Pas de milieu de transport si acheminé au laboratoire < 6h

Volume < 2 ml milieu de Stuart

Milieu de transport obligatoire
délai d'acheminement au laboratoire < 24h

QUAND FAUT-IL RECHERCHER LES ANAEROBIES ?

Mauvaise odeur de l'échantillon (souvent tardif)
Présence de gaz dans une lésion,

Formation d'abcès, gangrène, nécrose de tissu
Infections chroniques

Foyers proches des muqueuses
[dentaires, orofaciales, abdominales, gynécologiques (sauf IST)]
Infections secondaires à des morsures humaines ou animales

QUAND FAUT-IL RECHERCHER LES ANAEROBIES ?

Infections tumorales (bronchiques, coliques et utérins)

Infections où les anaérobies sont toujours en cause :

dentaires,

péritonites, infections post-chirurgicales abdominales

pneumonies d' aspiration,

otites et sinusites chroniques

infections des extrémités chez le diabétique

QUAND FAUT-IL RECHERCHER LES ANAEROBIES ?

Coloration noire du pus ou fluorescence rouge du prélèvement
Présence d'un pus ou grain de soufre (*Actinomyces*)

A l'examen direct présence:

de leucocytes altérés et flore très abondante polymorphe

de formes caractéristiques d'anaérobies *Fusobacterium, Clostridium*

Culture stérile ou isolement d'un seul germe sans rapport avec l'aspect polymorphe de l'examen direct.

Selle stérile !!! Entérite nécrosante à *C. perfringens*

Origine des anaérobies

Exogène *C. tetani*, *C.botulinum*, telluriques

Nosocomial C. difficile

Autres cas

Endogène flore du patient

La base du traitement

Délais de culture → Pas de documentation bactériologique

Traitement empirique en fonction de la connaissance des microbiotes et de la sensibilité aux antibiotiques

Drainage chirurgical, débridement des tissus nécrosés

Antibiotique

Caisson hyperbare

***

Infections intra-abdominales

IB = infections biliaires, AH = abcès hépatique, P = péritonites, A = appendicites

Bactéries	IB	AH	P	A
B. fragilis	+++	+++	+++2	+++
Prevotella	++	++	++	++
Fusobacterium	++	++1	++	++
Clostridium	+++	+++	+++	+++
Eubacterium	+	+	+	+
GPAC	++++	+++	+++	+++

GPAC = cocci à Gram + anaérobie ex Peptostreptococcus

Plaie par arme blanche, perforation intestinale….

***

Infections pulmonaires

PS = pneumopathies suppuratives, AP = abcès du poumon,

A = actinomycoses

Bactéries	PS	AP	A
B. fragilis		+[3]	
Prevotella	+++	+++	++
Fusobacterium	+++	+++	++
Clostridium		+	
Actinomyces	+	+[1]	++++[2]
GPAC	+++	+++	+++

1 E.lenta, A. meyeri ; 2 A.israelii, Eikenella corrodens

3 Bacteroides fragilis présent si infection intraabdominale concomitante

***

Infections en O.R.L.

SC = sinusites chroniques, OC = otites chroniques, ID = dentaires, A LV= angines

Bactéries	SC	OC	ID	ALV
B. fragilis				
Prevotella	+++	+++	+++	++
Porphyromonas	++	++	+++	+
Fusobacterium	+++	+++	+++	[1] ++++
Clostridium	+	+	+	
Eubacterium	+	+	+	+
GPAC	++++	+++	+++	+++

Espèces associées spécifiquement : 1 F. necrophorum + spirochètes; 2 P. gingivalis, P. intermedia, B. forsythus + E. corrodens, Capnocytophaga, S. milleri

Infections de la peau et des tissus mous

***

UD = ulcère de décubitus, AR = abcès rectal, escarre,

MH et MA = morsures humaines ou animales, AS= abcès du sein

Bactéries	UD	AR	MH	MA	AS
B. fragilis	+++	+++			
Prevotella	+	+	+++	+++	++[1]
Porphyromonas	+	+	+++	+++	+++
Fusobacterium	+	+	+++.	+++	+++
Clostridium	+	+++		++[2]	
GPAC	++	++	+++	++	+++

Espèces associées spécifiquement :

1 B. ureolyticus;

2 C. perfringens et C. tetani, + E. corrodens, Capnocytophaga, Pasteurella

***

Le choix de l'antibiotique

C. difficile exclu

Infections à *B. fragilis* ?

Oui

Si traitement efficace sur *B. fragilis*

Amox-clav, Pip-tazo, carbapénèmes

Tous les anaérobies

sont pris en compte

(sauf cas particulier résistance rare))

Sauf *Actinomyces* et *Propionibacterium*.
pour le **métronidazole**

NON

Considérer *Prevotella*,*Fusobacterium*
et leurs ß- lactamases

Amox-clav, métronidazole

Résistance naturelle des anaérobies

Résistance naturelle:

triméthoprime, aztréonam, fosfomycine (sauf *Fusobacterium*)

acide nalidixique et quinolones classiques

aminoglycosides (kanamycine 75 mg/l, néomycine 20mg/L)

en fonction des espèces

métronidazole Propionibactéries et *Actinomyces*

rifampicine : *F. necrophorum* et *F. mortiferum*

céphalosporines *Clostridioides difficile*

vancomycine : *C. innocuum*

Résistance à la clindamycine 2023

10-80 % des anaérobies résistants selon les espèces

50% en général. La clindamycine ne doit plus être utilisée en empirique. Uniquement sur antibiogramme

Macrolides pas d'intérêt sauf relais oral Actinomycose et spiramycine +métronidazole (Birodogyl) en dentaire.

Infections de ville:

En dehors des *Bacteroides*

Les anaérobies sont sensibles à la pristinamycine

Sensibilité des GPAC (*Peptostreptococcus spp.)*

GPAC = **Cocci à Gram+ anaérobie:** Peptostreptococcus, Finegoldia, Parvimonas, Peptinophilus, Aerococcus

Sensibilité : ß-lactamines pénicillines > céphalosporines, imipenem

métronidazole, glycopeptides, linézolide, tigécycline

Résistance acquise : macrolides et clindamycine (MLSb),

Sensibilité variable aux fluoroquinolones

infections osseuses en association avec rifampicine si sensibles aux deux antibiotiques

Sensibilité des bacilles à Gram + non sporulés

Actinomyces

Sensibilité : pénicillines, relais oral macrolides, tétracyclines,clindamycine

Résistance naturelle : métronidazole

Les doses de pénicillines sont élévées en cas d'actinomycose > 10M U.I.

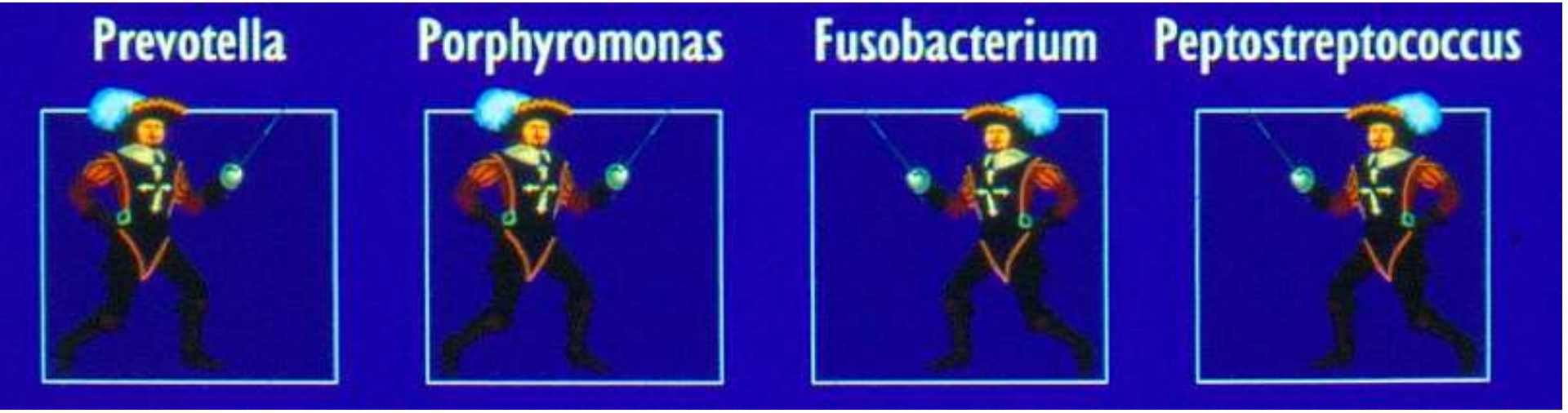
Propionibacterium

Sensibilité :ß-lactamines, fluoroquinolones,linézolide

Résistance acquise : macrolides, clindamycine (augmentation !)

Résistance naturelle : métronidazole

Les mousquetaires anaérobies des infections pulmonaires et O.R.L



Sensibilité des Prevotella

Prevotella, Paraprevotella, Segatella, Hallela, Hoysella, Leyella,Palleniella, Xylanabacter

80 % des souches ß-lac+

Considérer toutes ß lac +. >>Augmentin , Métronidazole

Sensibilité : pénicillines + IBL, streptogramines, linézolide

Résistance acquise : tétracycline, macrolides et clindamycine

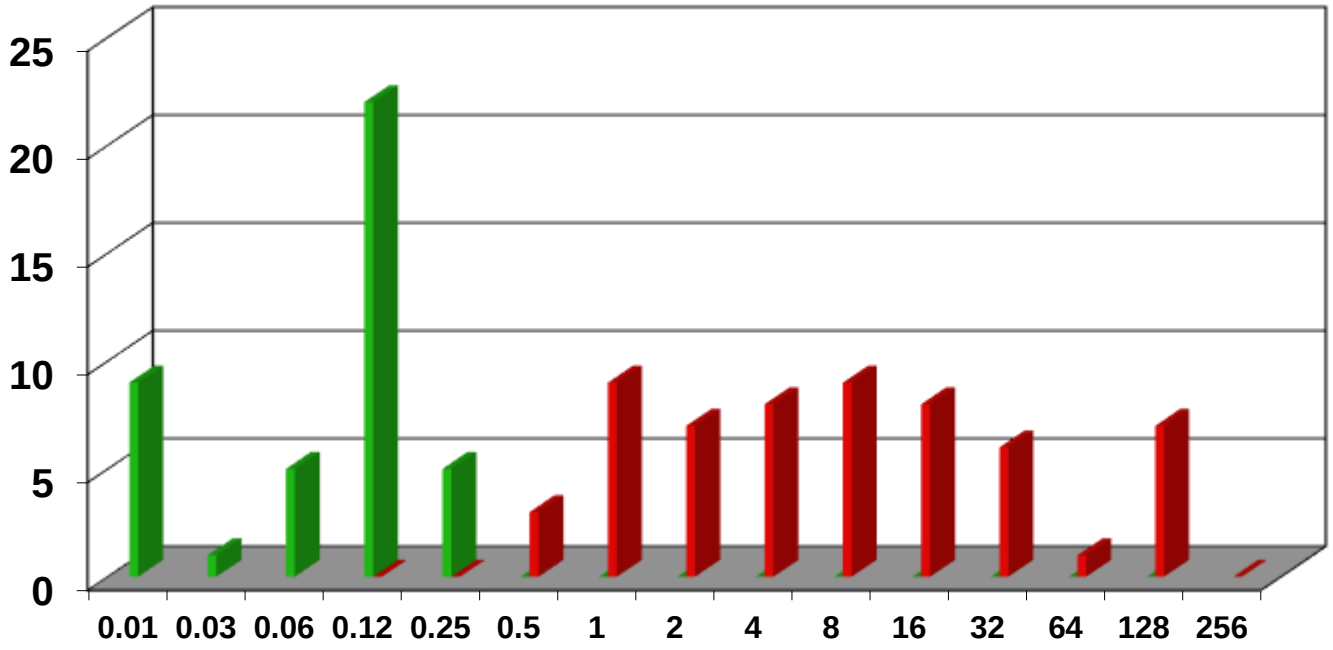
rare pour métronidazole,

***Porphyromonas* sensibles aux antibiotiques**

Prevotella

Distribution des CMI de l'amoxicilline en fonction de la production de ß-lactamase

L. Dubreuil, Lille



Sensibilité des *Fusobacterium*

336 souches 4,7% des souches ß-lac+

Résistance naturelle : macrolides bas niveau

Sensibilité : pénicillines (si ß-lactamase -) ,

pénicillines + inhibiteurs (si ß-lactamase +, 5 à 10%),

streptogramines, métronidazole

Résistance acquise : clindamycine (5-10%)

Les bacilles à Gram négatif anaérobies sont peu sensibles aux fluoroquinolones. La moxifloxacine est la plus active mais des résistances sont possibles ->ATBg nécessaire

Clostridium perfringens et *C. difficile*

C. perfringens

Sensibilité : pénicillines, métronidazole, glycopeptides

clindamycine , céfoxitine, carbapénèmes linézolide

Pénicillines > C1G, C3G

C. difficile

Sensibilité : métronidazole, glycopeptides, fidaxomicine

Hors colite pseudomembraneuse: pénicillines,

Résistance acquise : clindamycine > 50%, tétracycline,

Résistance naturelle : céphalosporines

Clostridium autres que *C. perfringens* et *C. difficile*

Sensibilité : pénicillines, carbapénèmes, métronidazole , glycopeptides, linézolide, daptomycine, tigécycline

Résistance acquise : macrolides ,clindamycine , C1G, C3G,

céfoxitine et chloramphénicol

ß-lactamase produite par : *C. butyricum*, *C. ramosum*, *C. innocuum*, *C. clostridioforme*, *C. tertium*

C. butyricum ß-lactamase inhibée par acide clavulanique

Le groupe REC (ex RIC group)

espèces ramosum, innoccum clostridioforme.

Résistance parmi les Clostridium du groupe REC

Résistance naturelle bas ou haut niveau :

Thomasclavelia ramosa ex *C. ramosum* : vancomycin, linezolid, daptomycin

C. innocuum : cefoxitin, cefotetan, vancomycin,telavancin, daptomycin

Enterocloster clostridioformis (ex C. clostridioforme)): teicoplanin, dalbavancin, ramoplanin, fluoroquinolones

Enterocloster lavalensis : vancomycin (Van B)

E. boltae cefoxitin, ramoplanin, fluoroquinolones
Enterocloster aldenensis, and E. citroniae : moxifloxacin
Hungatella hathewayi: C3G, moxifloxacin

Dans ce groupe de *Clostridium* et apparentés attention aux sensibilités différentes aux glycopeptides et lipopeptides

***

Hors abdominal pas de *Bacteroides* du groupe fragilis

Infection Documentée

Amoxicilline : GPAC, Bacilles à Gram + non sporulés, Porphyromonas Fusobacterium (ß–lactamase -), Clostridium

amoxicilline-clavu ou pipéracilline –tazobactam: Prevotella Fusobacterium, Clostridium ß lac+

Métronidazole: bacilles à Gram négatif + GPAC + clostridia

Peu de difficultés ….. Sauf Clostridium groupe REC

sauf Résistances rares

C. perfringens

résistant Amox+ pipéracilline et associations Mutation PLP

optrA : R à Linezolid /Phénicolés/Tétracyclines

C. perfringens* + *Clostridioides difficile* ; *Enterocloster boltae

cfr(C) rRNA methylase: phenotype R: PhLOPSA phenicols, lincomycin, oxazolidinones, pleuromutilins, streptogramins

C. difficile métronidazole

C. botulinum pénicilline G et métronidazole

Enterocloster lavelansis Teicoplanine

Bacteroides du groupe fragilis

Bacteroides du groupe fragilis comprend

Des Bacteroides

*B. coprocola, , B. caccae, B. clarus, , B. eggerthii, B. finegoldii ,**B. fragilis**, B. fluxus, B. gallinaceum, B. gallinarum B. helcogenes, B. koreensis,B. intestinalis, B. johnsonii, B. kribbi , B. koreensis, N. leii, B. massiliensis, B. nordii, B. oléiciplenus, **B. ovatus**, B. plebeius, , B. salyersiae, B. stercoris, B. stercorirosoris, **B. thetaiotaomicron,***
B. uniformis

des Parabacteroides

*P. chartae, P. chinchillae, **P. distasonis**, P. faecichinchillae, P. faecis, P. goldsteinii , P. gordonii, P. johnsonii, P. merdae, P. sartorii*

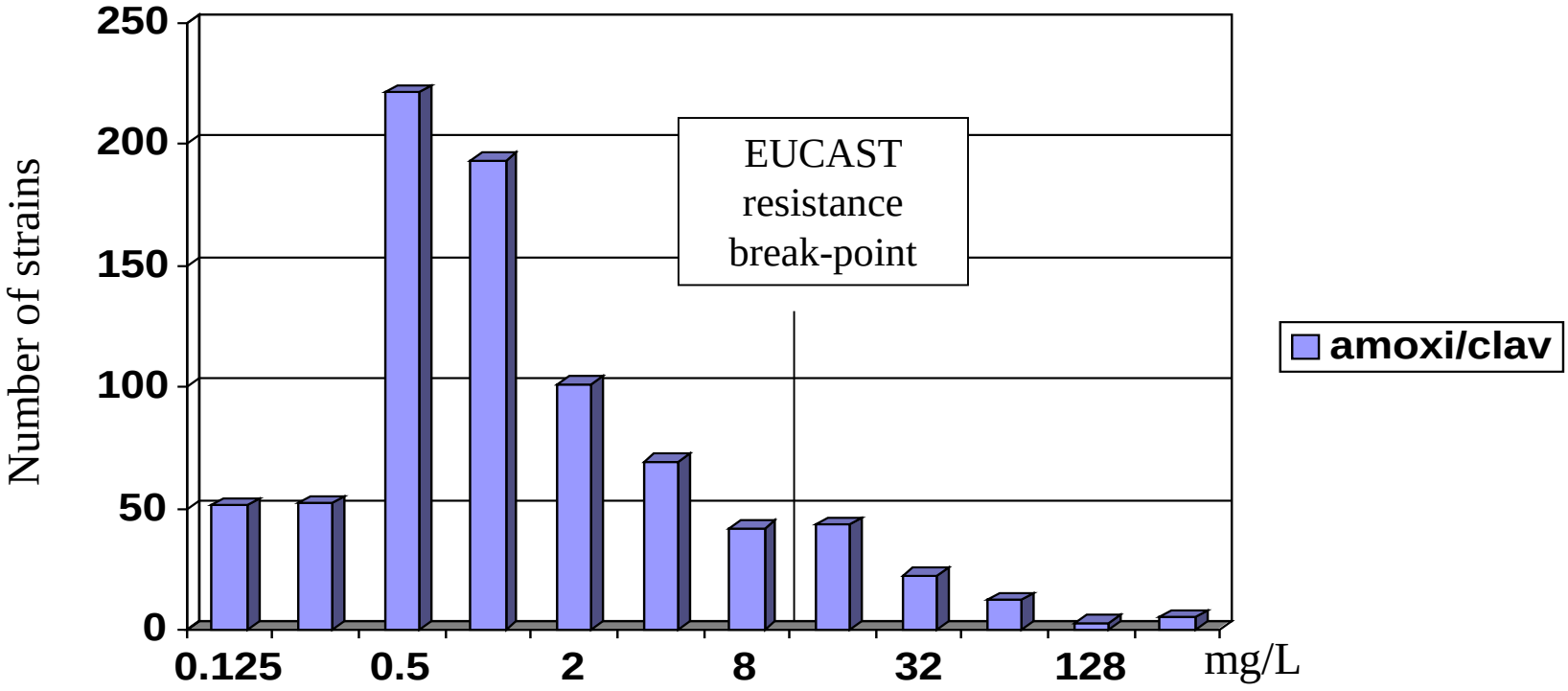
Des ***Phocaeiocola***

***Ph.** barnesiae, Ph. Coprophilus,, Ph. dorei, Ph. oris, Ph. plebeius, Ph. salanitronis*
*Ph. Sartorii, **Ph. vulgatus***

Resistance to beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combination

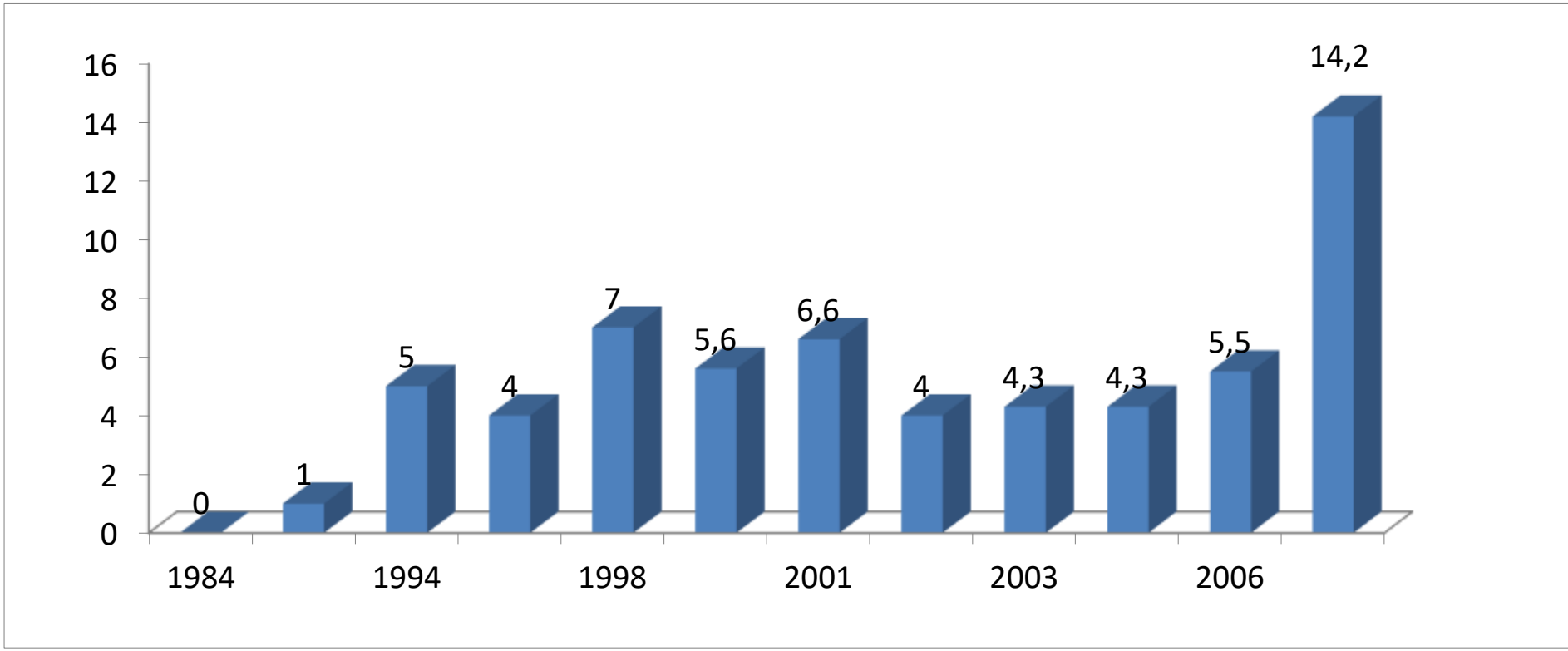
- Europe-wide first study: 1% resistance to amoxi/clav
- France, between 1992-2004: 1-7% resistance to amoxi/clav in *B. fragilis* group
- Hungary, 2004: 10% resistance to amoxi/clav among *B. fragilis* isolates

Distribution of amoxicillin-clavulanic acid MICs of 824 *Bacteroides* isolates

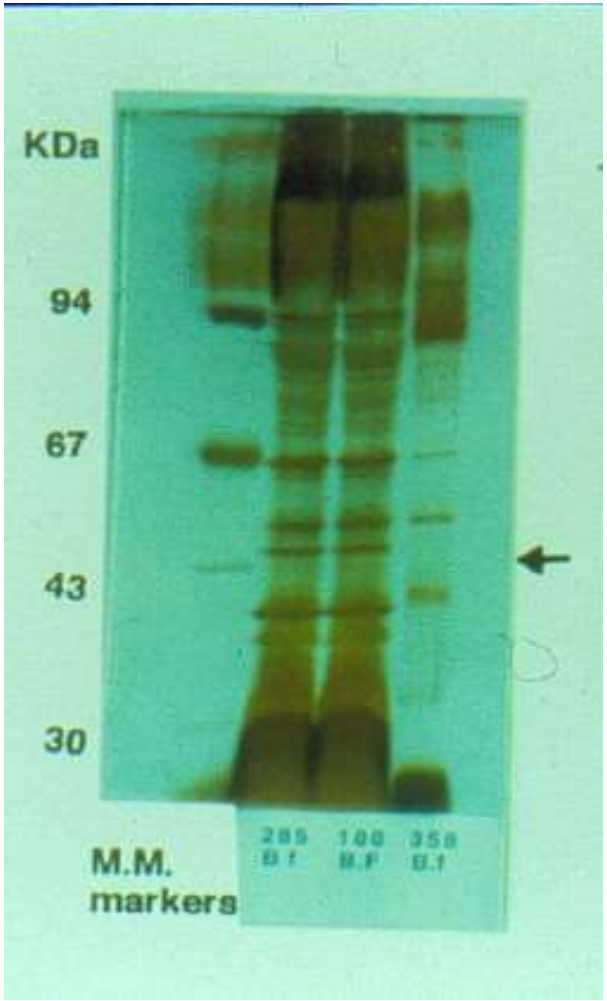


Resistance is 10.4% versus 1% twenty years ago

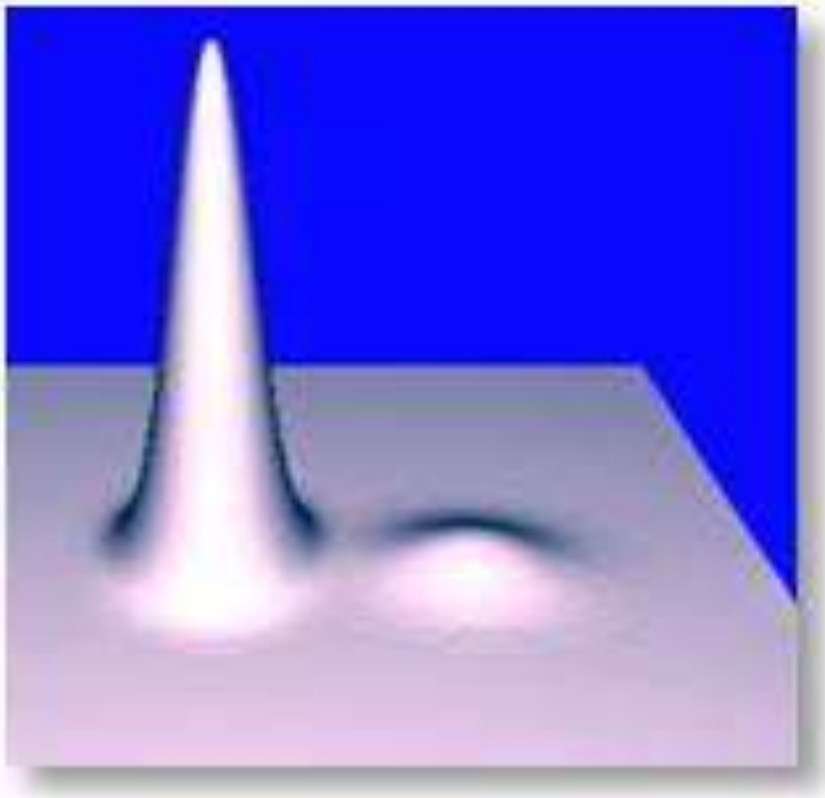
Amoxicillin-clavulanate resistance rates from 1985 to 2008 in France L. Dubreuil, Lille



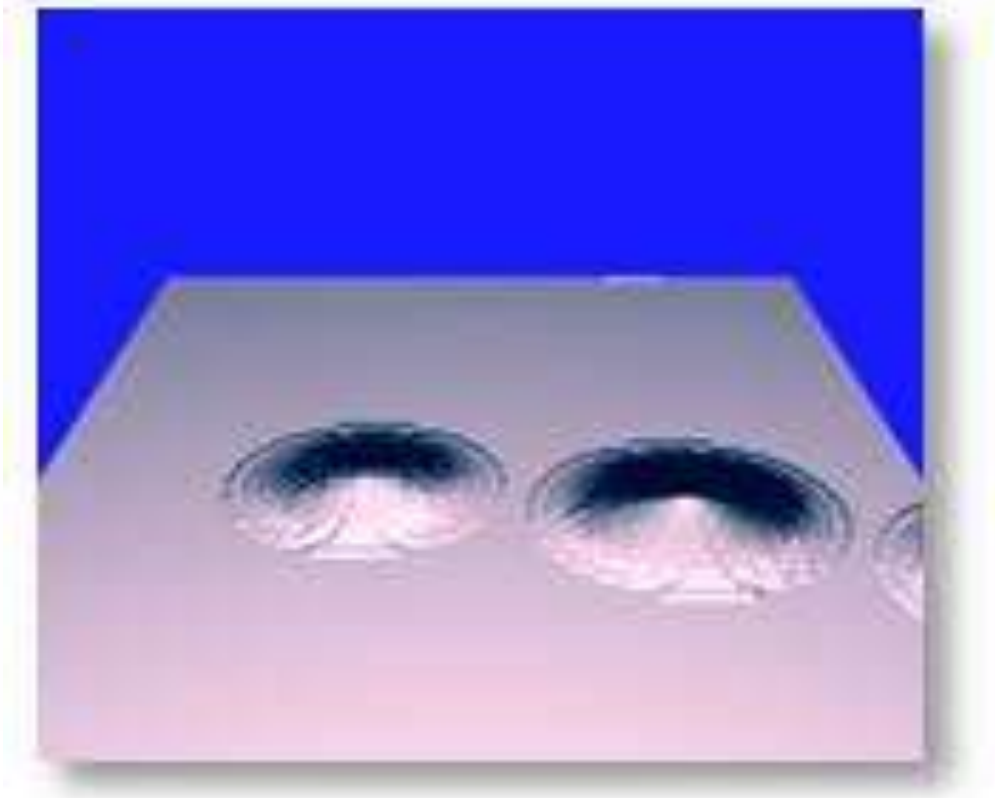
Défaut de protéine 45kDa chez *B. fragilis* résistant à amoxicilline + acide clavulanique



Resistance to Amoxicillin + clavulanic acid is associated with a lack of porin in *B. thetaiotaomicron :* Porine omp F pI 9.5, MW 40.9 + spot omp A decreased (Cybergels Master)

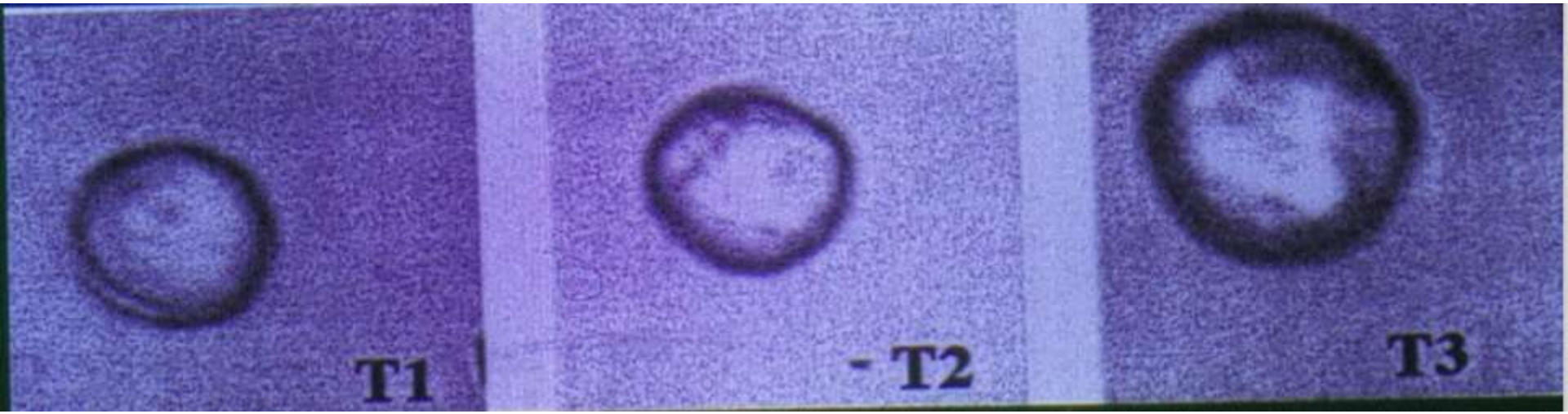


ATCC 29741



Resistant strain

Swelling assay with amoxicillin



Protéoliposome avec la protéine 45 kDa

Pas de résistance croisée systématique Amox+ clavu et Piperacilline-tazobactam chez les Bacteroides du groupe fragilis

- **Amox-clav R et Pip-tazo S** (défaut de porine)

M. F. Odou, E. Singer, and L. Dubreuil* Description of Complex Forms of a Porin in Bacteroides fragilis and Possible Implication of this Protein in Antibiotic

Resistance Anaerobe (2001) 7, 219–225 doi:10.1006/anae.2001.0385

J. Behra-Miellet, L. Calvet, L. Dubreuil*
A *Bacteroides thetaiotamicron* porin that could take part in resistance to ß-lactams

International Journal of Antimicrobial Agents 24 (2004) 135–143

Affinité, efflux

Pipera- tazo-R et amox-clav S chez *B. thetaiotaomicron* et **Parabacteroides faecis**

*Travaux recompensés par le Finegold Award best abstract of the millenium in 2020, awarded by the Anaerobe Society of the Americas, the British Society of Anaerobic Bacteria, and the Japanese Society on Anaerobes) Park City USA

EUCAST affirme le contraire !!!!

Bacteroides fragilis 2007-2009
Test Program 1842 souches Europe/165 France

Antibiotique	%R	%R en France
Céfoxitine	5,6	15,1
Clindamycine	25	**29**
Métronidazole	0,3	0
PIP + Tazo	3,2	7,6
Tigécycline	1	3,3

Intra-abdominal abscesses: Microbiological epidemiology and empirical antibiotherapy

F. Méchaï [a,b,*], A. Kolakowska [a], E. Carbonnelle [b,c], O. Bouchaud [a], C. Tresallet [d], F. Jaureguy [b,c]

[a] Infectious Disease Department, Groupe Hospitalier Paris Seine Saint-Denis, AP-HP, Bobigny, France

Infectious Diseases Now 53 (2023) 104604

2023

Table 4
Susceptibility to major antibiotics used in intra-abdominal infections for 412 isolated bacteria (with available antibiotic susceptibility).

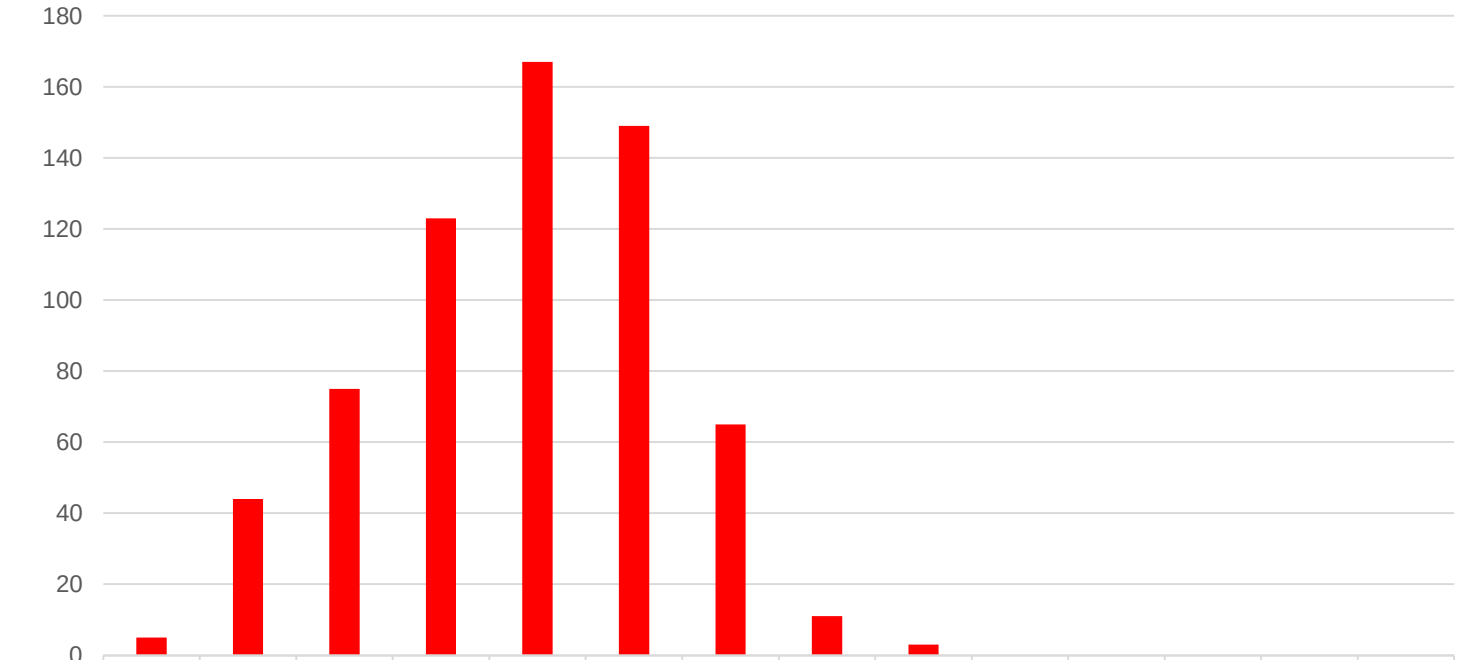
Isolated bacteria	N = 412 (%)	Susceptible to			
		Amoxicillin–acid clavulanic (%)	Piperacillin–tazobactam (%)	Cefotaxime–metronidazole (%)	Carbapenem (%)
Anaerobes	**66 (16.0)**	**54 (81.8)**	**65 (98.5)**	**64 (96.7)**	**66 (100.0)**

Amox clav 20% R, Pip-Tazo <5%

No difference in antimicrobial susceptibility rates was observed between CA or HCA infection acquisition except for cefotaxime–metronidazole (entérocoque).

Bacteroides groupe fragilis group autres que B. fragilis
Imipenem 642 souches

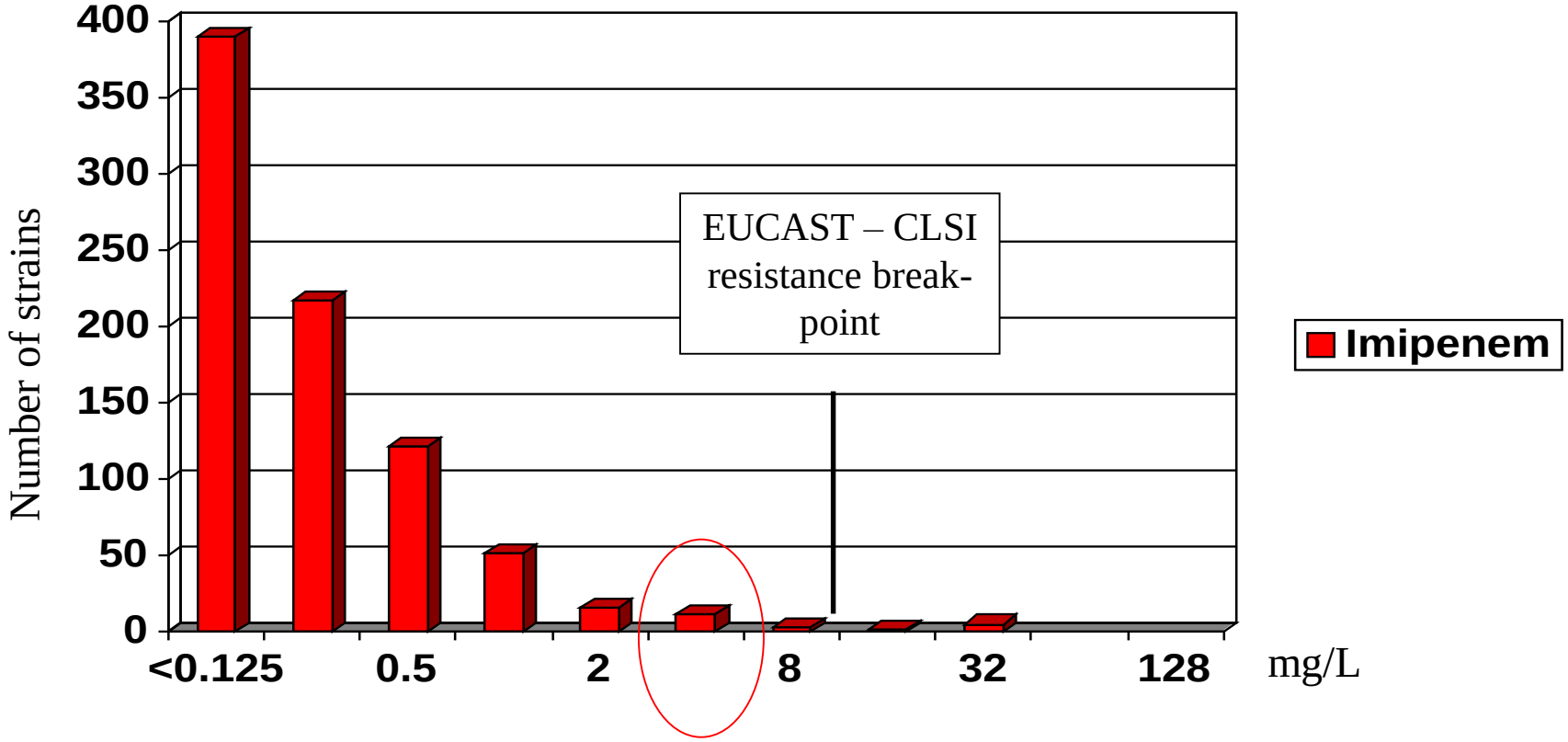
L. Dubreuil, Lille



	0.015	0.03	0.06	0,12	0.25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	>64
Série1	5	44	75	123	167	149	65	11	3	0	0	0	0	0

Pas de résistance en France

Distribution of imipenem MICs of 824 *Bacteroides* isolates



In this study 0.8% resistant and 1.2% with >4 mg/L

High prevalence of division II (cfiA positive) isolates among blood stream Bacteroides fragilis in Slovenia as determined by MALDI-TOFMS

Samo Jeverica Anaerobe 58 (2019) 30-34

Table 3
Concordance between MALDI-TOF MS typing for division I/II discrimination and cfiA gene detection among a selection of n = 30 isolates with imipenem MIC ≥0.25 mg/L.

ID	MIC (imipenem) (mg/L)	MALDI-TOF typing (division I/II)	*cfiA* gene (±)	IS element[a] (±)
7	32	II	+	+ (IS942)
75	32	II	+	−
154	32	II	+	−
232	32	II	+	+ (IS1187)
134	4	II	+	−
220	4	II	+	−
100	2	II	+	−
226	2	II	+	−
230	2	II	+	−
190	1	II	+	−
115	0.5	II	+	−
208	0.5	II	+	−
222	0.5	II	+	−
102	0.5	II	+	−
86	0.25	II	+	−
103	0.25	II	+	−
217	0.25	II	+	−
108	1	I	−	nt
228	1	I	−	nt
81	0.5	I	−	nt
147	0.5	I	−	nt
166	0.5	I	−	nt
201	0.5	I	−	nt
91	0.25	I	−	nt
93	0.25	I	−	nt
135	0.25	I	−	nt
227	0.25	I	−	nt
233	0.25	I	−	nt
125	0.25	I	−	nt
213	0.25	I	−	nt

nt not tested.
[a] IS insertion sequence element.

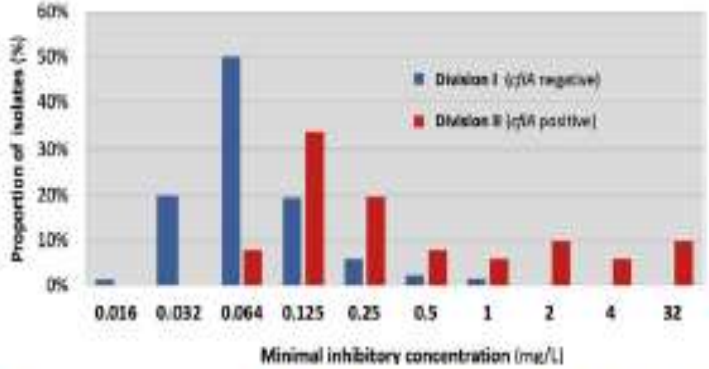


Fig. 1. Relative imipenem MIC distribution among division II (*cfiA* positive) and division I (*cfiA* negative) B. fragilis isolates (n = 623).

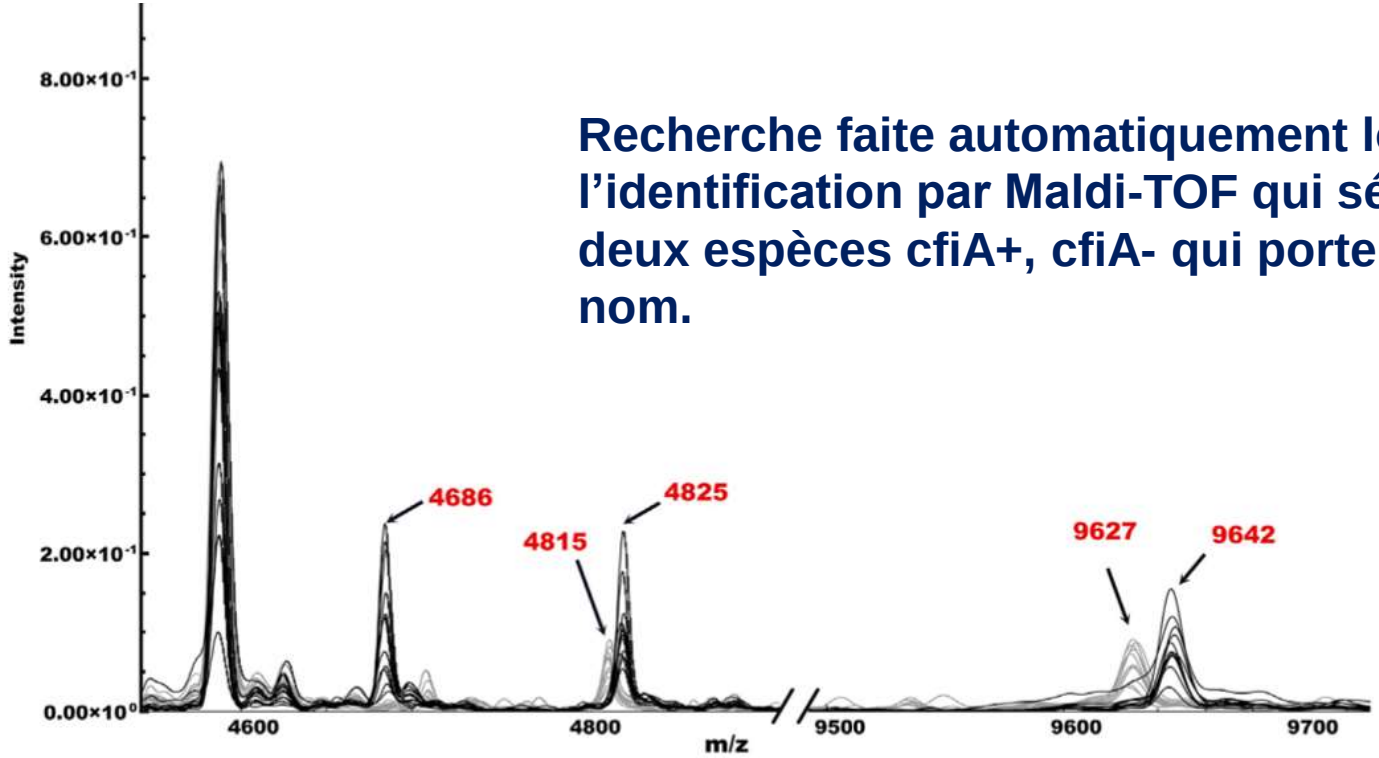
Pas de relation entre présence de carbapénèmase et CMI

Three MS peaks (4686, 4825, and 9642 Da) were predominantly identified in cfiA-positive B. fragilis isolates, whereas two MS peaks (4815 and 9627 Da) were identified in cfiA- negative isolates.

Table 3
Performance of characteristic MS peaks in discriminating *cfiA* positive and *cfiA* negative *B. fragilis* isolates.

Characteristic MS spectra	SP (%)	SE (%)	PPV (%)	NPV (%)
4686 Da	95.8 (113/118)	100.0 (34/34)	87.2 (34/39)	100.0 (113/113)
4815 Da	3.4 (4/118)	0.0 (0/34)	0.0 (0/114)	10.5 (4/38)
4825 Da	**100.0 (118/118)**	**100.0 (34/34)**	**100.0 (34/34)**	**100.0 (118/118)**
9627 Da	0.9 (1/118)	0.0 (0/34)	0.0 (0/117)	2.9 (1/35)
9642 Da	**100.0 (118/118)**	**100.0 (34/34)**	**100.0 (34/34)**	**100.0 (118/118)**

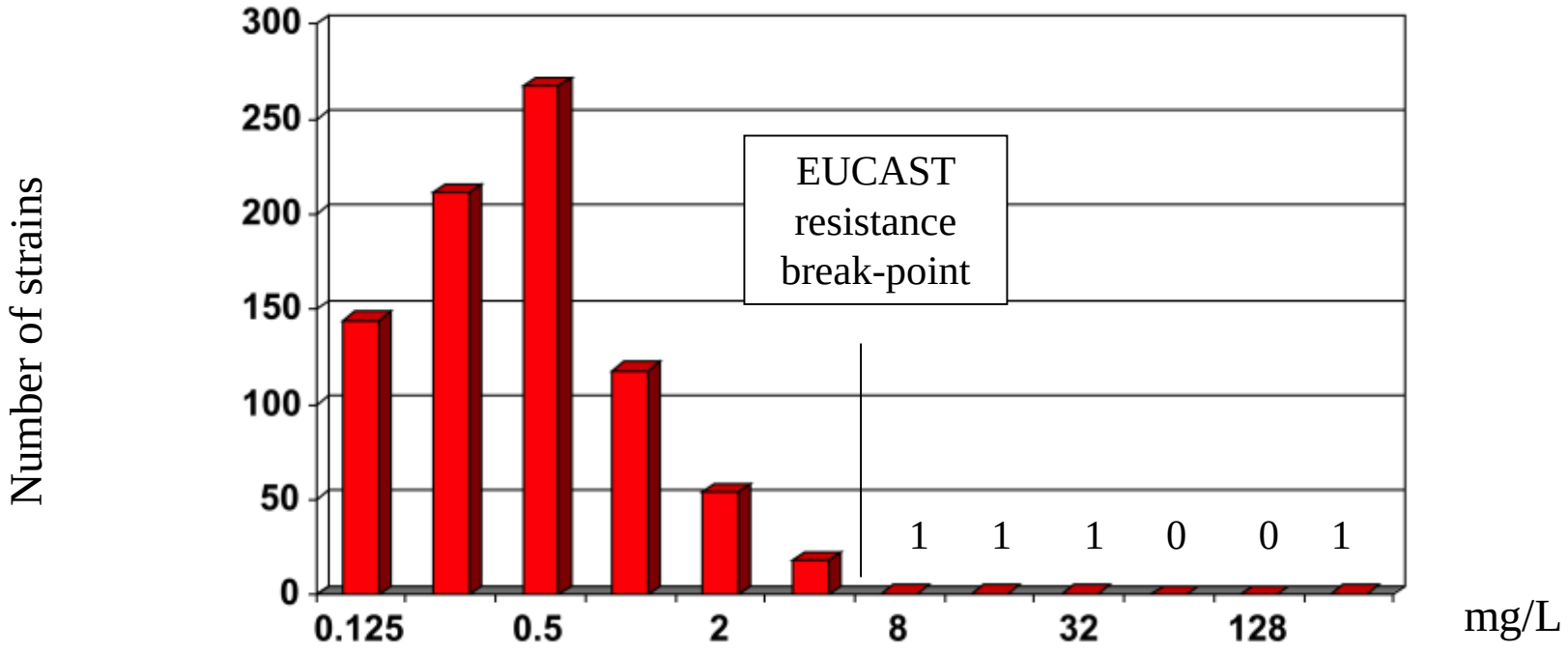
Note: SE, sensitivity; SP, specificity; PPV, positive predictive value; NPV, negative predictive value.



Recherche faite automatiquement lors de l'identification par Maldi-TOF qui séparent les deux espèces cfiA+, cfiA- qui portent le même nom.

Fig. 3. Shifts of the characteristic peaks from *cfiA* negative *B. fragilis* strains to *cfiA* positive *B. fragilis* strains.

Distribution of metronidazole MICs of 824 *Bacteroides* isolates L. Dubreuil, Lille



0.5% resistant

Multirésistance aux antibiotiques

Amoxicilline > 128 **Amoxicilline + ac clavulanique >128**

Ticarcilline >256 **Ticarcilline + ac clavulanique >256**

Pipéracilline >256 **Pipéracilline + Tazobactam > 256**

Céfoxitine, Céfotétan, Céfotaxime, ceftriaxone > 64

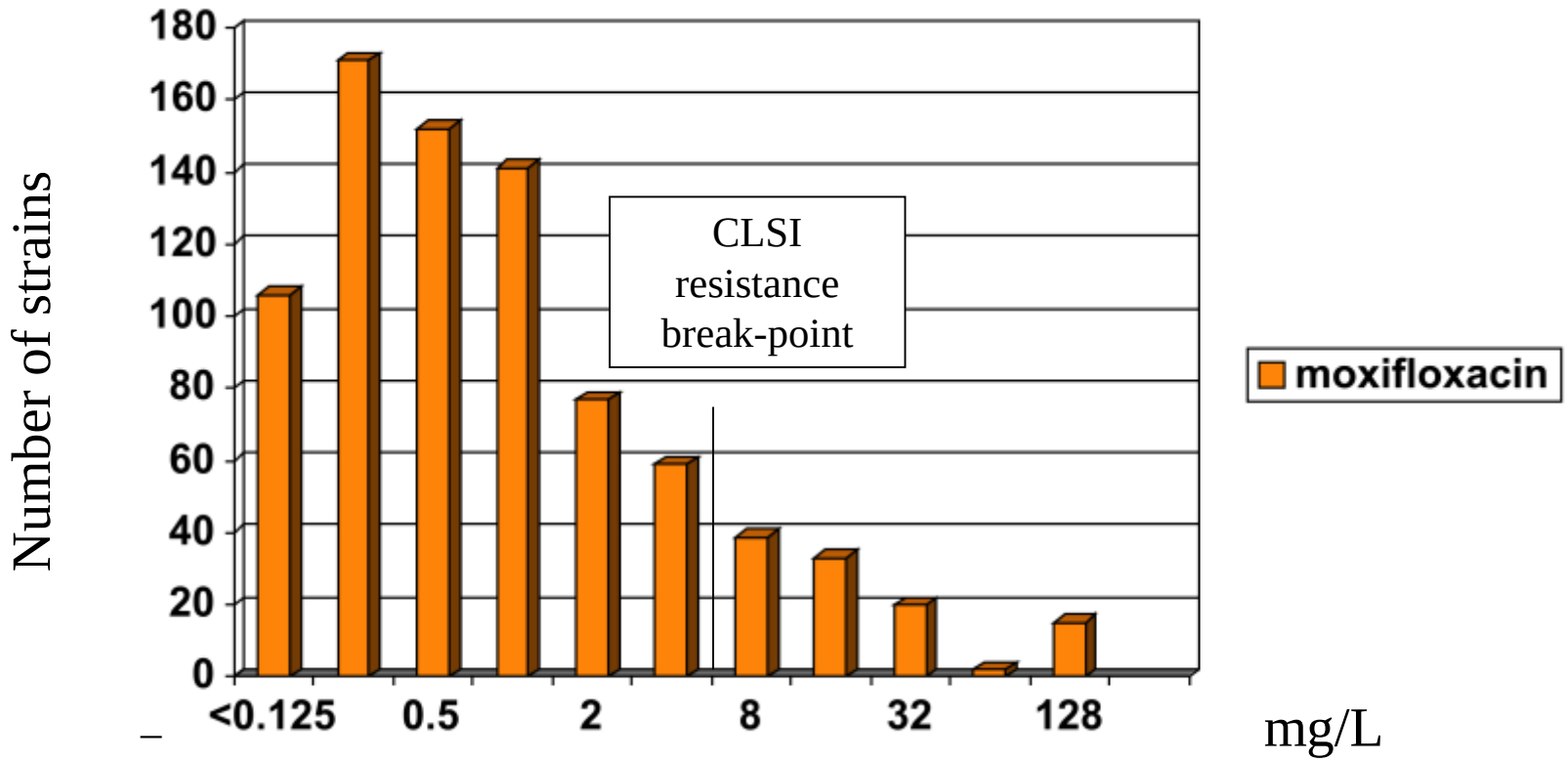
Imipénème, Méropénème, Faropénème >128

Erythromycine, Azithromycine, Clindamycine >128

Ofloxacine 64 **Sparfloxacine 16** **Métronidazole 8**

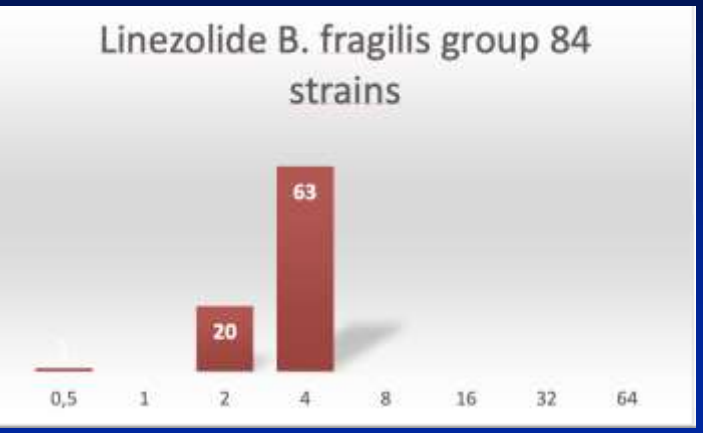
Chloramphénicol 8

Distribution of moxifloxacin MICs of 824 *Bacteroides* isolates L. Dubreuil, Lille



15 % resistance versus 9% resistance 10 years ago

Activity of linezolid on anaerobic bacteria



Tedizolid 2log inférieur

C. ramosum TDZ 0,5 mg/L vs LZD 16mg/L

Bilophila wadsworthia Résistant LZD et TDZ

	Range	MIC 5O	MIC 90
B. fragilis	2-4	4	4
Fusobacterium	0,06-2	0,5	1
Prevotella	0,06-8	2	2
P. acnes	0,25-1	0,5	0,5
Peptostreptococcus	0,25-2	1	2
Clostridium	0,06-4	2	4

***

Groupe des *Bacteroides fragilis*

Sauf rares exceptions taux de résistances sont:

Métronidazole 0,5% imipenem, meropenem 1%

Pipéracilline-tazobactam < 5%,

Amoxicilline-acide clavulanique 14-20 %

Clindamycine > 30% pas en empirique

Céfoxitine utilisable en prophylaxie de chirurgie abdominale

En cas de multirésistance

Linézolide ou Tédizolide 0% Tigécycline 3-5%

Moxifloxacine >15% sur antibiogramme

Thiamphénicol < 5%. Abcès cérébral

***

Conclusions

Plus de surveillance de la résistance en France

La résistance au métronidazole reste faible mais on l'observe dans des espèces de plus en plus variées (*C. difficile, Finegodia, Segatella bivia*)

La recherche par PCR du gène *nim* ne permet pas de détecter toutes les souches résistantes au métronidazole (nombreux mécanismes)

Attention chez certains *Clostridium* aux résistances naturelles aux glycopeptides & lipopeptides.

Les inhibiteurs de carbapénèmase ont très peu d'intérêt sur les anaérobies sauf le Xeruborbactam qui inhibe la carbapénèmase de *B. fragilis*

Apparition de souches multirésistances chez B. fragilis

Hétéro résistance à prendre en compte

Report for CA-SFM. L Dubreuil. NOV 2023

Consequences of EUCAST modifications on anaerobe resistance rates

Antibiotic	Bactéries	N° of strains*	Breakpoint EUCAST	%R	Breakpoint CA-SFM	%R
Amoxicillin-clavulanic acid	*B. fragilis group*	1642	2/2	21,6	0.001-8	13
Amoxicillin-clavulanic acid	*B. fragilis*	806	2/2	19,6	0.001-8	10.7
Amoxicillin-clavulanic acid	*B. thetaiotaomicron*	194		25,3	0.001-8	19,6
Piperacillin-tazobactam	*B. fragilis group*	2220	2/2	**51,6**	0.001-16	2,8
Piperacillin-tazobactam	*B. fragilis*	465	2/2	15,5	0.001-16	4,3
Piperacillin-tazobactam	*B. thetaiotaomicron*	85	2/2	**84,7**	0.001-16	12,9
Piperacillin-tazobactam	All anaerobes	3450	2/2	34,6	0.001-16	19,1
Imipenem	*B. fragilis*	1475	1/1	4,3	0.001-4	0.9
Amoxicillin	*Fusobacterium*	195	0.5/0.5	13,3	0.001-8	4,6**
Amoxicilline	*C. perfringens*	115	0.25/0.25	**6,0**	0.001-8	0
	Other *Clostridium*	55	0.5/0.5	**14,5**	0.001/8	0
Amoxicilline	GPAC	674	0.5/0.5	5,8	0.001-8	1,3
Amoxicillin-clavulanic acid	*Clostridium spp.*	133	0.5/0.5	**48,1**	0.001-8	0
Amoxicillin-clavulanic acid	*Fusobacterium spp.*	175	0.5/0.5	13,1	0.001-8	0.02
Clindamycin	C. perfringens	81	0.25/0.25	**29,6**	0.001-4	3,7
Clindamycin	GPAC****	315	0.5/0.5	21,6	0.001-4	11,7
Imipenem	C. acnes	64	0.03/0.03	4,7	0.001-4	0***
Amoxicillin	C. acnes	221	0.25/0.25	**33,0**	0.001-8	0

*MIC determination on Brucella blood agar in Lille

All R strains are ß-lactamases** +

*** Imipenem MIC of resistant strains according to EUCAST = 0.06 mg/L

**** Gram positif anaerobic cocci