

Annales du contrôle national de qualité des analyses de biologie médicale

Bactériologie

14BAC1

Avril 2014

Antibiogramme : *Acinetobacter baumannii*

**Identification bactérienne et antibiogramme : *Burkholderia multivorans* et
*Stenotrophomonas maltophilia***

Septembre 2015

Christophe de CHAMPS (Reims)
Gérard LINA (Lyon)
Muriel FROMAGE (Ansm)

Expédition : 12 mars 2014

Clôture : 11 avril 2014

Edition des compte-rendus individuels : 4 juin 2014

Paramètres contrôlés :

Antibiogramme *Acinetobacter baumannii*

Identification et antibiogramme *Burkholderia multivorans* et *Stenotrophomonas maltophilia*

Nombre de laboratoires concernés* : 1258

Nombre de laboratoires participants** : 1220

* Laboratoires ayant déclaré à l'Ansm pratiquer au moins une des analyses concernées par l'envoi

** Laboratoires ayant saisi leurs résultats sur internet avant la date de clôture de l'opération

Résumé de l'opération

Cette opération de contrôle comportait deux souches lyophilisées d'*Acinetobacter baumannii* pour antibiogramme. L'une était hyperproductrice de la céphalosporinase chromosomique, ce qui correspond au phénotype de résistance aux bêta-lactamines indiqué par 68% des laboratoires participants. L'autre, en plus de la céphalosporinase, produisait une β -lactamase à spectre étendu (BLSE de type VEB-1) détectée par 55% des participants. Ce pourcentage est nettement supérieur à celui obtenu en 2008 (39%), lors de l'envoi d'une souche d'*Acinetobacter baumannii* productrice d'une BLSE de type PER-1.

Cette opération comportait également deux échantillons contenant chacun une souche lyophilisée d'un bacille à Gram négatif, aérobic strict, non fermentaire pour identification et antibiogramme. Il s'agissait de *Burkholderia multivorans* (complexe *Burkholderia cepacia*) et de *Stenotrophomonas maltophilia* dont le dernier envoi dans le cadre du CNQ remonte à 2002.

Les pourcentages d'identification correcte, respectivement de 87,8% et 96,7% sont en nette progression par rapport à 2002. En ce qui concerne *B. multivorans*, un peu plus d'un laboratoire sur 10 (12,8%) est allé jusqu'au diagnostic d'espèce, probablement grâce à la technologie MALDI-TOF qui s'implante de plus en plus dans les laboratoires.

Enfin, bien que les deux souches proposées ne présentent aucun mécanisme de résistance acquise, on note une grande variabilité des résultats de l'antibiogramme selon la technique utilisée et parfois au sein d'une même technique. Ceci confirme la difficulté d'effectuer et d'interpréter un antibiogramme sur les souches du complexe *B. cepacia* d'une part, pour lequel l'EUCAST ne fournit les concentrations critiques d'aucun antibiotique (« *it is currently not possible to recommend susceptibility testing of B. cepacia complex to guide patient therapy* ») et de l'espèce *S. maltophilia* d'autre part, pour laquelle seule l'activité du triméthoprime-sulfaméthoxazole semble bien documentée. Cependant, le CA-SFM a établi récemment une liste d'antibiotiques à tester avec leurs concentrations critiques éventuellement accompagnées de diamètres critiques : cinq antibiotiques pour *S. maltophilia* en 2014 et sept pour le complexe *cepacia* en 2015.

Antibiogramme *Acinetobacter baumannii*

Définition de l'échantillon

Deux échantillons contenant chacun une souche d'*Acinetobacter baumannii* lyophilisée ont été proposés : l'une hyperproductrice de la céphalosporinase AmpC portée par le chromosome (Case HP) (lot 1), l'autre productrice d'une bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) (lot 2).

Il était demandé aux laboratoires participants de tester la sensibilité de la souche isolée vis-à-vis de 14 antibiotiques définis. Pour chaque antibiotique testé, le résultat « lu » permet de contrôler la qualité technique de l'antibiogramme tandis que le résultat « transmis » correspond à l'interprétation de l'antibiogramme par le biologiste en présence d'un éventuel mécanisme de résistance.

En complément de l'antibiogramme, les laboratoires qui utilisent la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques) devaient préciser les diamètres d'inhibition obtenus pour les neuf antibiotiques suivants : ticarcilline, ticarcilline / ac.clavulanique, pipéracilline / tazobactam, céfépime, imipénème, méropénème, gentamicine, tobramycine, amikacine.

Enfin, les laboratoires devaient choisir le phénotype de résistance aux β -lactamines détecté parmi les quatre phénotypes suivants : pénicillinase haut niveau, céphalosporinase chromosomique hyperproduite, BLSE et carbapénémase.

Les numéros des échantillons ainsi que les résultats des experts (Pr C. de CHAMPS, Reims et Pr G. LINA, Lyon) - obtenus pour chacune de ces deux souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé sont présentés dans le tableau I. Pour chaque antibiotique, la catégorisation de la souche en « S », « I » ou « R » suit les recommandations du CA-SFM 2013. La détermination des CMI lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-Test et/ou par la méthode de dilution en gélose.

tableau I - antibiogramme des deux souches d'*A. baumannii* selon le CA-SFM 2013 : résultats des experts

N° des échantillons	<i>A. baumannii</i> (Lot 1)		<i>A. baumannii</i> (Lot 2)	
	145, 233, 385, 501, 624, 788, 857, 916		106, 202, 419, 527, 690, 763, 834, 948	
Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis	Résultat lu	Résultat transmis
Ticarcilline	I/R	I/R	R	R
Ticarcilline + ac. clavulanique	I/R	I/R	I/R	I/R
Pipéracilline	R	R	R	R
Pipéracilline + tazobactam	I/R	I/R	I/R	I/R
Ceftazidime	R	R	R	R
Céfépime	R	R	R	R
Imipénème	S/I	S/I	S/I	S/I
Méropénème	S/I	S/I	S/I	S/I
Gentamicine	R	R	R	R
Tobramycine	S	S	R	R
Amikacine	S	S	R	R
Ciprofloxacine	R	R	R	R
Colistine	S *	S	S **	S
Rifampicine	S/I	S/I	I/R	I/R

* : CMI = 0,25 mg/l (E-test)

** : CMI = 0,5 mg/l (E-test)

Résultats des participants

Les réactifs utilisés dans les laboratoires pour la réalisation de l'antibiogramme d'*A.baumannii* sont détaillés dans le tableau II. On remarque que la part des automates représente un peu plus de la moitié des utilisateurs.

Il s'agit en majorité du Vitek et les cartes utilisées sur cet automate sont par ordre décroissant : AST-N240 (83%), AST-N233 (8%), AST-XN05 (7%), AST-N235 (1,3%) et AST-N234 (0,7%). La méthode de diffusion en milieu gélosé arrive en seconde place avec les disques Bio-Rad majoritairement (71%) utilisés. Enfin, près d'un laboratoire sur cinq a opté pour l'utilisation d'une galerie ATB bioMérieux, en particulier la galerie ATB PSE EU pour 78% d'entre eux.

Les résultats des antibiogrammes obtenus par les participants, tous réactifs confondus, sont rapportés respectivement dans les tableaux III et IV selon la souche considérée. Les phénotypes de résistance aux β -lactamines détectés pour chacune des deux souches sont rapportés dans les tableaux V et VI. Les réponses attendues apparaissent en gras (tableaux III à VI).

En ce qui concerne les diamètres d'inhibition relevés par les participants qui utilisent la méthode des disques, les paramètres statistiques pour chaque antibiotique (effectif, moyenne et écart-type) ont été calculés à partir des données fournies. Ils ont ensuite été recalculés après une troncature à 2 écart-types (opération consistant à éliminer les valeurs situées au-delà de 2 écart-types de part et d'autre de la moyenne). L'ensemble des paramètres statistiques obtenus pour la souche du lot 1 est rapporté dans le tableau VII. A l'exception de la gentamicine pour laquelle on observe une résistance « contact », la distribution des diamètres d'inhibition tous réactifs confondus relevés pour chacun des huit autres antibiotiques est représentée figures 1 à 8. De la même façon, l'ensemble des paramètres statistiques obtenus pour la souche du lot 2 est rapporté dans le tableau VIII et les distributions des diamètres d'inhibition (à l'exception de la ticarcilline, du céfépime, de la gentamicine et de la tobramycine pour lesquels on note une résistance « contact ») sur les figures 9 à 13. Les diamètres critiques indiqués sur les figures sont ceux relevés dans les recommandations du CA-SFM 2013.

tableau II - antibiogramme *A. baumannii* : réactifs utilisés

Techniques / Réactifs	14BAC1
Galleries	18,9%
ATB PSE EU bioMérieux	168
ATB G - EU bioMérieux	37
ATB UR EU bioMérieux	9
Rapid ATB UR EU bioMérieux	2
Automates	52,1%
Vitek 2 bioMérieux	528
Phoenix Becton Dickinson	34
MicroScan Siemens	35
Disques	28,5%
Bio-Rad	233
I2a	64
Oxoid	26
Eurobio	3
Réactif non précisé	6 (0,5%)
Total	1145

tableau III - antibiogramme de la souche *A. baumannii* - Case HP (Lot 1) : résultats des participants

Antibiotiques	Lus				Transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
Ticarcilline	566	2,7	37,6	59,7	567	1,9	20,5	77,6
Ticarcilline + ac clavulanique	533	2,4	36,8	60,8	537	1,5	21,4	77,1
Pipéracilline	531	0,2	0,2	99,6	534	0,2	0,2	99,6
Pipéracilline + tazobactam	532	0,2	12,0	87,8	533	0,2	11,3	88,5
Ceftazidime	565	0,0	0,0	100,0	565	0,0	0,0	100,0
Céfépime	538	0,0	0,4	99,6	538	0,0	0,0	100,0
Imipénème	560	92,0	7,1	0,9	559	91,1	7,3	1,6

Méropénème	432	86,6	11,8	1,6	435	86,2	11,0	2,8
Gentamicine	563	0,0	0,0	100,0	562	0,0	0,0	100,0
Tobramycine	557	98,7	0,0	1,3	557	97,9	0,7	1,4
Amikacine	338	97,9	0,0	2,1	336	97,3	0,6	2,1
Ciprofloxacine	558	0,2	0,2	99,6	556	0,2	0,0	99,8
Colistine	496	96,6	0,0	3,4	481	96,1	0,2	3,7
Rifampicine	437	59,1	39,1	1,8	437	57,7	39,8	2,5

tableau IV - antibiogramme de la souche *A. baumannii* - BLSE (Lot 2) : résultats des participants

Antibiotiques	Lus				Transmis			
	n	S (%)	I (%)	R (%)	n	S (%)	I (%)	R (%)
Ticarcilline	559	0,2	0,2	99,6	562	0,2	0,0	99,8
Ticarcilline + ac clavulanique	525	5,7	41,3	53,0	529	4,3	22,5	73,2
Pipéracilline	532	0,6	0,2	99,2	535	0,4	0,4	99,2
Pipéracilline + tazobactam	526	5,9	26,6	67,5	528	4,9	24,8	70,3
Ceftazidime	557	0,5	0,0	99,5	560	0,4	0,0	99,6
Céfépime	533	0,2	0,4	99,4	535	0,2	0,4	99,4
Imipénème	559	79,8	18,2	2,0	561	77,6	18,7	3,7
Méropénème	429	91,7	7,5	1,8	429	88,3	9,1	2,6
Gentamicine	560	0,9	0,2	98,9	562	0,4	0,1	99,5
Tobramycine	552	1,1	0,4	98,5	554	1,1	0,5	98,4
Amikacine	348	2,6	3,7	93,7	352	2,0	2,3	95,7
Ciprofloxacine	560	0,5	0,2	99,3	562	0,7	0,2	99,1
Colistine	494	98,6	0,0	1,4	483	98,3	0,0	1,7
Rifampicine	424	1,2	66,5	32,3	424	1,4	64,6	34,0

tableau V - *A. baumannii* - Case HP (lot 1) : Phénotype de résistance aux β -lactamines ?

	Effectif (%)
Absence de réponse	43 (7,5%)
Céphalosporinase chromosomique HP (Case HP)	255 (44,3)
Pénicillinase haut niveau (Pase HN)	40 (7,0)
Case HP + Pase HN	106 (18,4)
Case HP + BLSE	44 (7,6)
BLSE	35 (6,1)
Case HP + carbapénèmase	19 (3,3)
Carbapénèmase	16 (2,8)
BLSE + carbapénèmase	3 (0,5)
Autres (divers)	14 (2,5)
Total	575 (100)

tableau VI - *A. baumannii* - Case HP + BLSE (lot 2) : Phénotype de résistance aux β -lactamines ?

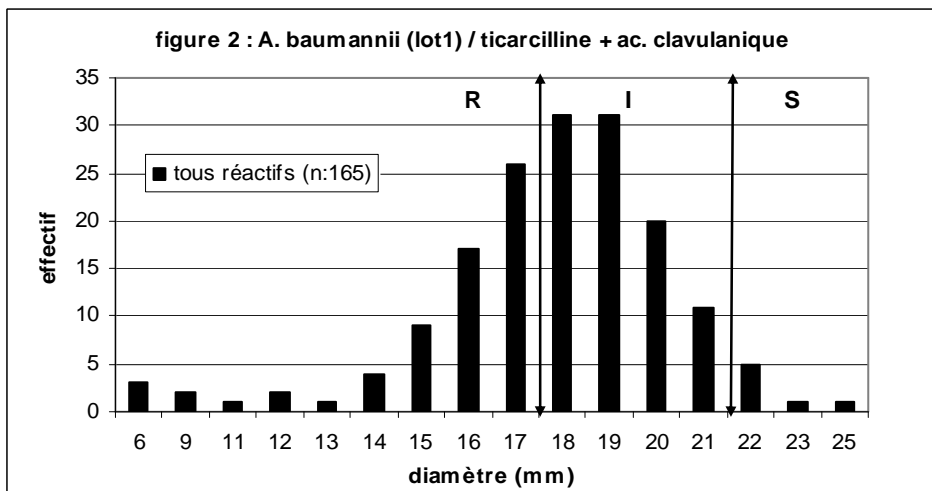
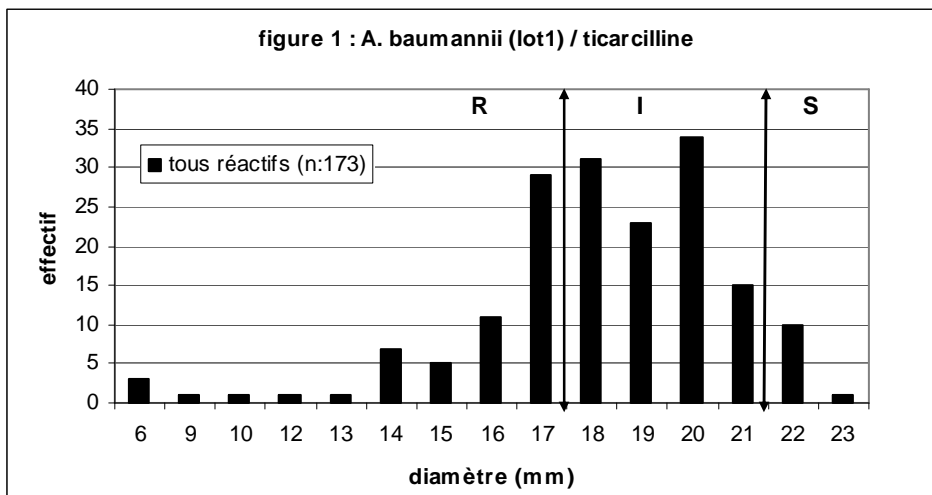
	Effectif (%)
Absence de réponse	31 (5,4)
BLSE	153 (26,8)
Céphalosporinase chromosomique HP (Case HP)	79 (13,9)
Case HP + BLSE	130 (22,8)

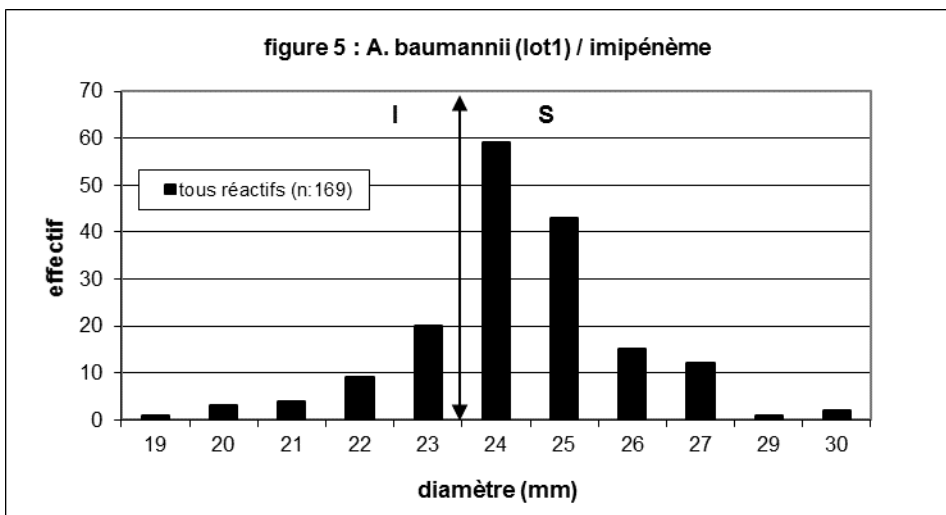
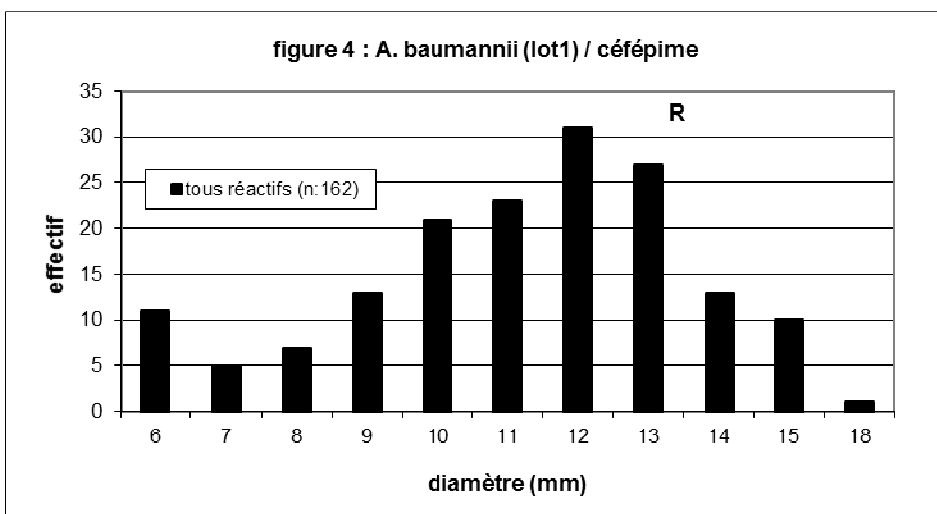
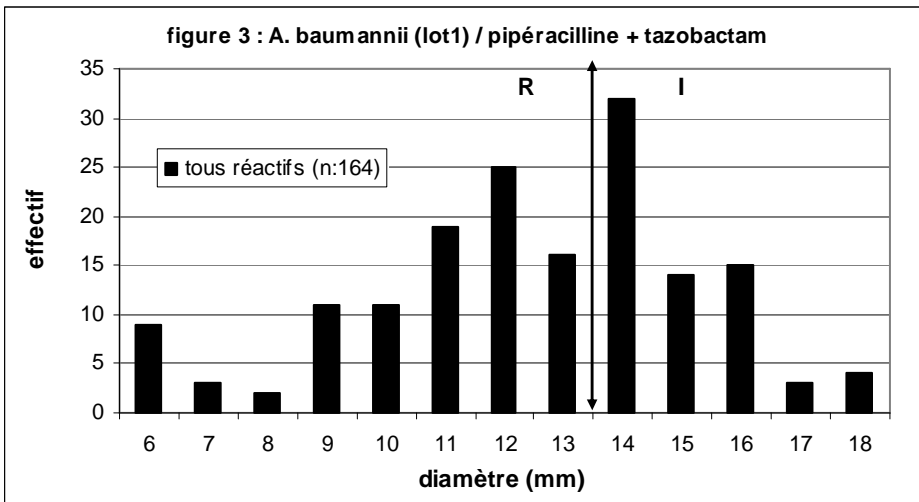
Case HP + Pénicillinase haut niveau (Pase HN)	62 (10,9)
Carbapénèmase	37 (6,5)
Pase HN	34 (6,0)
BLSE + carbapénèmase	17 (3,0)
Case HP + carbapénèmase	11 (1,9)
Autres (divers)	16 (2,8)
Total	570 (100)

tableau VII – A. baumannii (lot 1) : diamètres d'inhibition (mm) obtenus par les participants tous réactifs confondus

Antibiotique	effectif	effectif tr*	moyenne tr*	écart-type tr*
Ticarcilline	173	167	18,5	2,0
Ticarcilline + ac. clav.	165	158	18,1	2,0
Pipéracilline + tazobactam	164	155	12,8	2,4
Céfépime	162	161	11,1	2,4
Imipénème	169	162	24,4	1,3
Méropénème	73	72	21,4	2,3
Gentamicine	166	R contact		
Tobramycine	167	165	19,6	1,6
Amikacine	172	167	21,5	1,7

tr * : après troncature à 2 écart-types





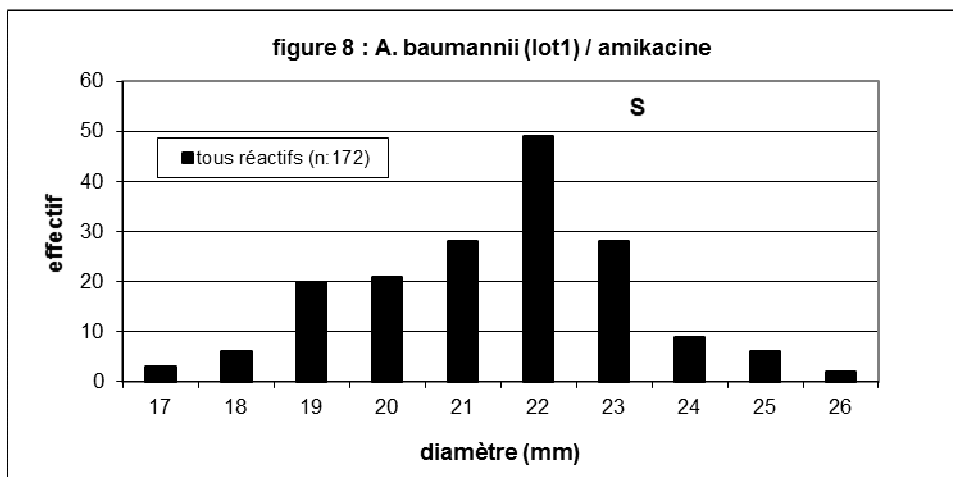
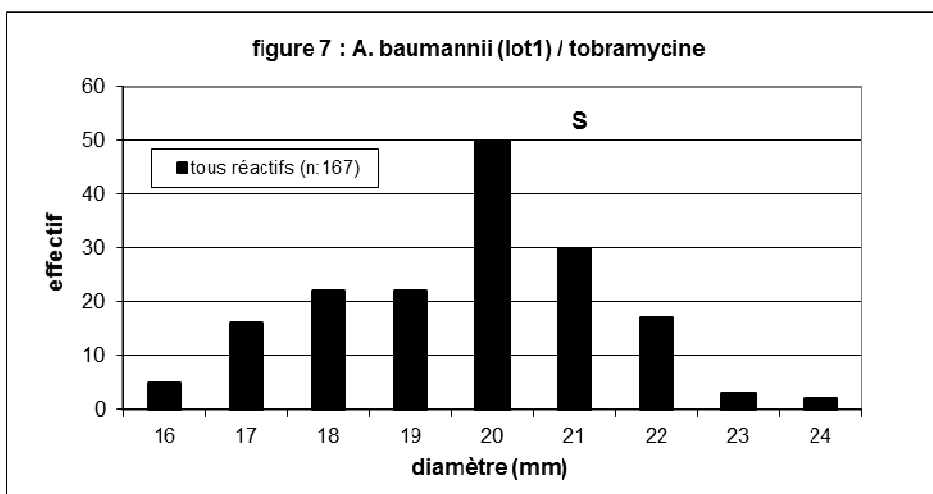
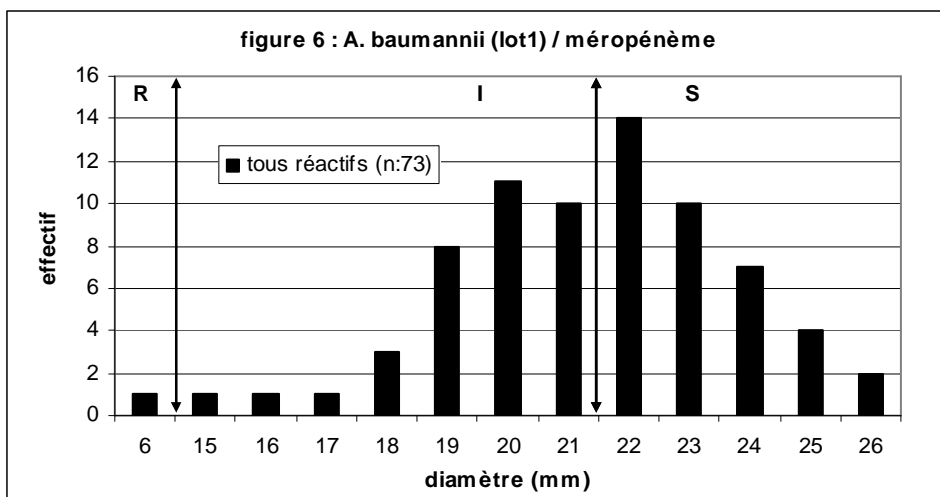


tableau VIII – A. baumannii (lot 2) : diamètres d'inhibition (mm) obtenus par les participants tous réactifs confondus

Antibiotique	effectif	effectif tr*	moyenne tr*	écart-type tr*
Ticarilline	171	R contact		
Ticarilline + ac. clav.	160	152	18,4	2,6
Pipéracilline + tazobactam	162	154	16,2	2,5
Céfépime	161	R contact		
Imipénème	179	175	23,1	2,0
Méropénème	59	56	21,2	3,1
Gentamicine	169	R contact		
Tobramycine	164	R contact		
Amikacine	175	167	12,3	1,5

tr * : après troncature à 2 écart-types

figure 9 : *A. baumannii* (lot2) / ticarcilline + ac. clavulanique

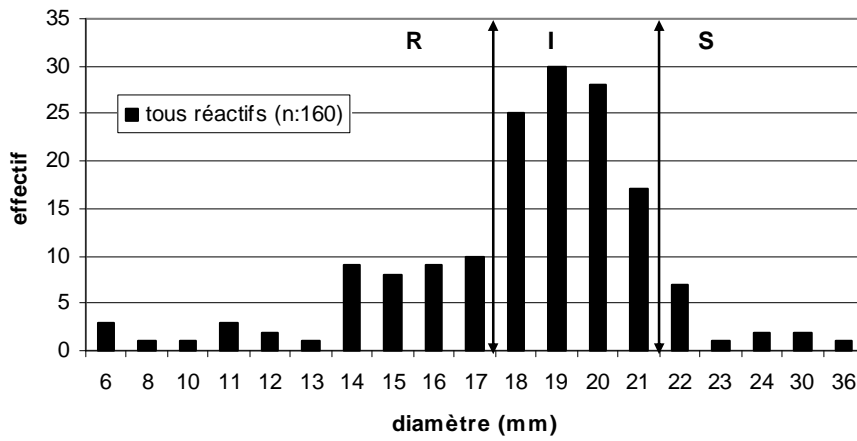


figure 10 : *A. baumannii* (lot2) / pipéracilline + tazobactam

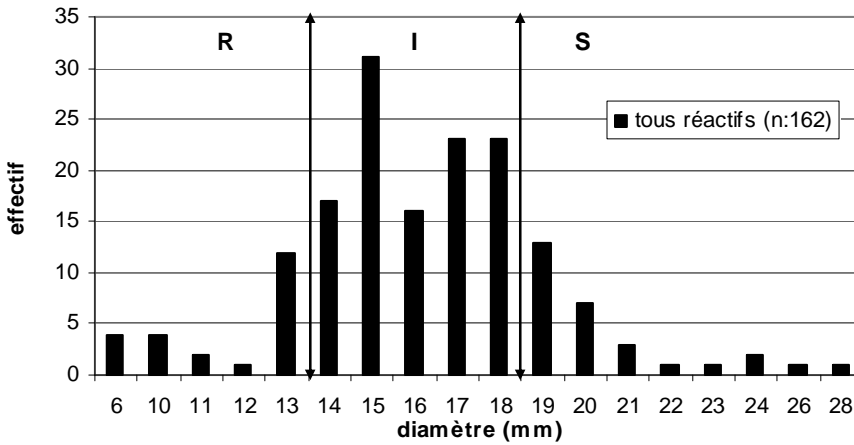
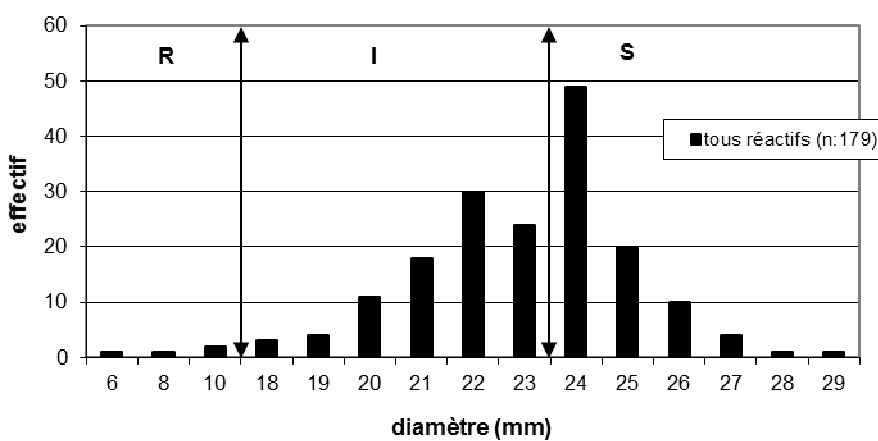
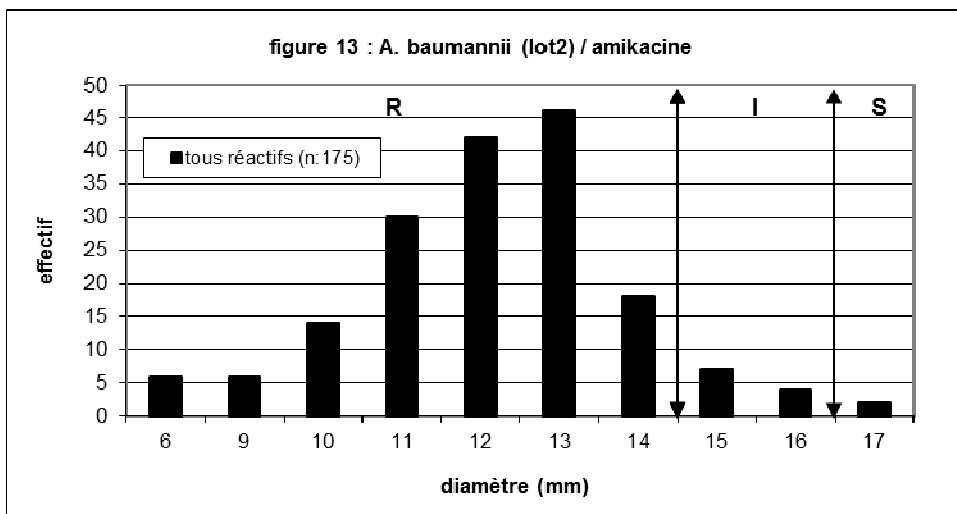
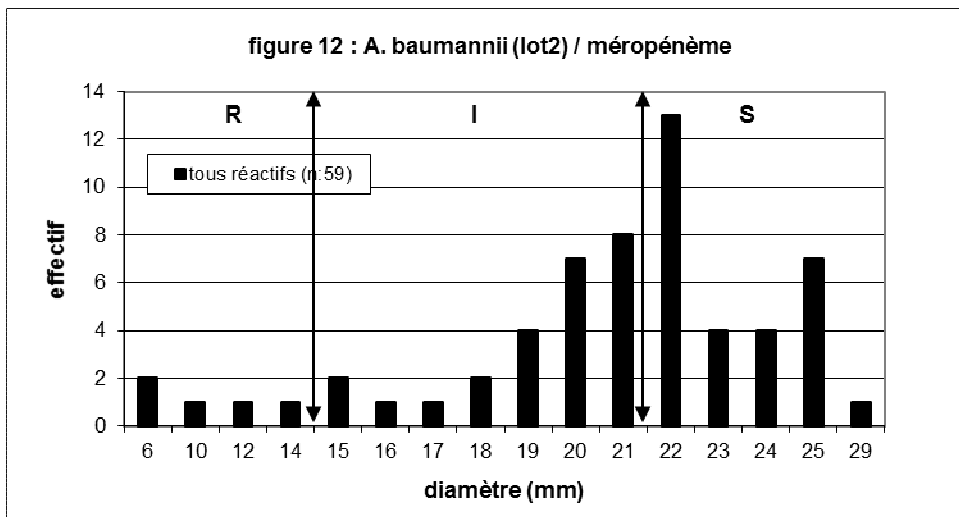


figure 11 : *A. baumannii* (lot2) / imipénème





Commentaires

1 - *Acinetobacter baumannii* Case HP

Bêta-lactamines :

Acinetobacter baumannii possède naturellement une céphalosporinase non inductible du fait de l'absence de gène régulateur en amont du gène chromosomique *bla_{ampC}* (1). Il existe différents types de céphalosporinases dans cette espèce (ADC : *Acinetobacter*-derived-cephalosporinase) qui confèrent une résistance aux aminopénicillines, à la céfalotine et la céfoxitine. Ces céphalosporinases ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique. Chez *A. baumannii* existe une autre enzyme de classe D dont le gène est chromosomique : OXA-51, utilisée comme marqueur d'espèce et dont l'influence dans la résistance est assez faible comparativement à la céphalosporinase (5).

A. baumannii est naturellement résistant à l'ertapénème et peu sensible à l'aztréonam (3). Le spectre de résistance peut s'étendre par hyperproduction de la céphalosporinase. Un mécanisme connu de cette hyperproduction est la présence d'une séquence d'insertion IS_{Aba1} en amont du gène *bla_{ampC}*. Cette séquence joue un rôle de promoteur pour le gène (4)(6). La bactérie devient alors résistante à l'ensemble des céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G). La ticarcilline est peu hydrolysée et le sulbactam a une petite activité inhibitrice à laquelle s'ajoute son activité intrinsèque sur *A. baumannii* (3). C'est le phénotype que l'on observe pour la souche du lot 1.

En ce qui concerne les résultats obtenus par les laboratoires participants, la résistance à la pipéracilline, aux C3G (ceftazidime) et au céfépime a été détectée par l'ensemble des participants.

Pour la ticarcilline et l'association ticarcilline/acide clavulanique, la catégorisation attendue était « intermédiaire ». On note environ 38% de réponses « R » provenant d'une part des utilisateurs du VITEK 2 car l'automate corrige en « R » le résultat brut « I » et d'autre part, des utilisateurs de la galerie ATB PSE qui teste

uniquement la concentration critique basse (16 mg/l), ce qui a pour conséquence de catégoriser « R » les souches « I ». Enfin, dans une moindre mesure, la méthode des disques conduit à des résultats « I » ou « R » (tableau VII) (figures 1 et 2).

En ce qui concerne l'association pipéracilline/tazobactam, les 12% de réponses « I » proviennent des utilisateurs de disques avec respectivement 77%, 28% et 27% de résultats « I » pour les disques i2a, BioRad et Oxoid.

La souche était sensible aux deux carbapénèmes testés. On note respectivement 7,1% et 11,8 % de réponses « I » respectivement pour l'imipénème et le méropénème qui proviennent exclusivement des utilisateurs de la méthode des disques pour l'imipénème auxquels s'ajoutent 19% des utilisateurs de la galerie ATB PSE pour le méropénème. La CMI des deux antibiotiques étant égale à la concentration critique basse (2 mg/l), un résultat « intermédiaire » est considéré comme acceptable.

A la question « quel(s) phénotype(s) de résistance aux β -lactamines envisagez-vous pour cette souche ? », 92,5% des participants ont répondu et parmi eux, près de la moitié (48%) ont donné la réponse attendue « Céphalosporinase chromosomique HP (Case HP) » et 20% une réponse approchante « Case HP + pénicillinase haut niveau ». En revanche, 82 laboratoires (15%) ont choisi « BLSE », alors qu'aucun test de détection d'une BLSE n'était positif pour cette souche et, tout aussi étonnant, 38 laboratoires (7%) ont indiqué « carbapénémase ». Le fait de catégoriser la souche « I » pour l'imipénème et/ou le méropénème n'est pas synonyme de production d'une β -lactamase à activité carbapénémase !

Autres antibiotiques :

A. baumannii présente une imperméabilité naturelle due à un faible nombre de porines, associé à une pompe d'efflux RND/Ade/IJK. Ces mécanismes sont impliqués dans l'absence de sensibilité au chloramphénicol et au triméthoprime mais ne touchent pas les aminosides (2)(9).

A. baumannii est naturellement résistant à la fosfomycine, à la norfloxacine mais pas à l'acide nalidixique (3).

La souche du lot 1 présente un phénotype de résistance aux aminoglycosides de type enzymatique ne touchant que la gentamicine observé avec l'enzyme AAC(3)-I. Cette résistance est acquise, le gène est souvent porté par un plasmide.

Concernant la résistance aux quinolones la souche a une résistance « contact » à toutes les quinolones sur l'antibiogramme par diffusion (acide nalidixique, ofloxacine, norfloxacine, ciprofloxacine). Ceci montre une résistance acquise dont le mécanisme le plus fréquent est la modification de cible (mutations de l'ADN gyrase et de l'ADN topoisomérase IV).

Enfin, la souche était sensible à la colistine (CMI = 0,25 mg/l). En cas d'utilisation thérapeutique, la CMI de cet antibiotique doit être déterminée.

2 - *Acinetobacter baumannii* BLSE (VEB-1)

Bêta-lactamines :

Il s'agit d'un des isolats d'*Acinetobacter baumannii* producteur de la bêta-lactamase VEB-1 de l'épidémie hospitalière française de 2003 (7). La résistance de cette souche est due à l'association d'une hyperproduction de la céphalosporinase à une bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE) VEB-1.

Sur les antibiogrammes par la méthode des disques, la détection de la BLSE par la méthode du double disque ne met en évidence une synergie qu'entre l'acide clavulanique et l'aztréonam. Par contre, la synergie apparaît avec les disques combinés céphalosporines de 3^{ème} génération + acide clavulanique (photo 1). La méthode du double disque est plus nette si le test est réalisé sur une gélose contenant de la cloxacilline (200mg/L) qui inhibe l'activité de la céphalosporinase. On peut voir alors les images de synergie entre le disque d'amoxicilline/ac. clavulanique et les disques de céfépime, ceftazidime et céfotaxime (photo 2).

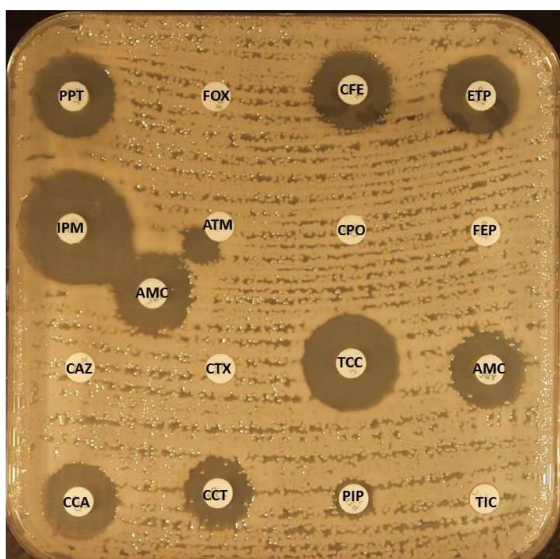


photo 1 - *Acinetobacter baumannii* VEB-1
gélose MH
Opération CNQ 14BAC1

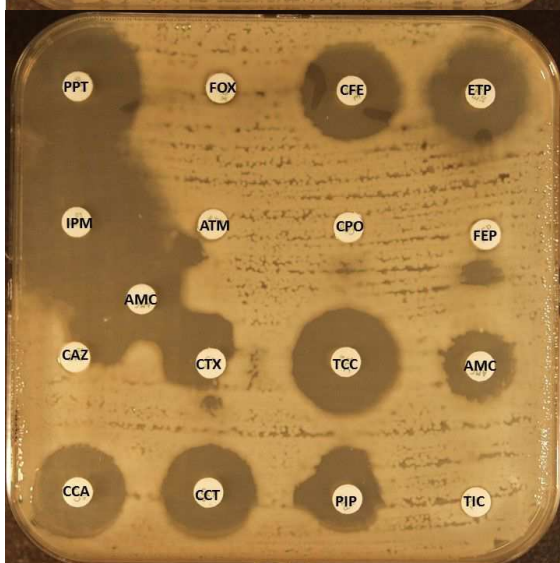


photo 2 - *Acinetobacter baumannii* VEB-1
gélose MH + cloxacilline
Opération CNQ 14BAC1

TIC, ticarcilline ; PIP, pipéracilline ; FEP, céfépime ; AMC, amoxicilline + ac. clavulanique ; CAZ, ceftazidime ; FOX, céfoxitine ; TCC, ticarcilline + ac. clavulanique ; ATM, aztréonam ; CTX, céfotaxime ; IPM, imipénème ; ETP, ertapénème ; CPO, ceftpirome ; PPT, pipéracilline + tazobactam
Disques combinés : CCT, cefotaxime + ac.clavulanique ; CCA, ceftazidime + ac.clavulanique ; CFE, céfépime + ac. clavulanique

La résistance à la ticarcilline, la pipéracilline, la ceftazidime et le céfépime a bien été relevée par les participants.

L'association de l'acide clavulanique à la ticarcilline montre une récupération de l'activité de la ticarcilline : la souche est « intermédiaire » avec une CMI à 32 mg/l. On note néanmoins 73% de réponses transmises « R » car le VITEK et la galerie ATB PSE corrigent le résultat lu en « R » et les diamètres d'inhibition obtenus avec les disques catégorisent la souche « I » ou « R » (figure 9) dans des proportions variables (91%, 28%, 21% de « R » avec respectivement les disques Oxoid, Bio-Rad et i2a). En ce qui concerne l'association pipéracilline/tazobactam, la souche est « R » avec une CMI égale à 128 mg/l mais elle peut être catégorisée « I » à une dilution près. Les résultats « S » sont obtenus avec les disques i2a (32% « S ») et Bio-Rad (10% « S »).

La combinaison des mécanismes de résistance entraîne une diminution de la sensibilité à l'imipénème. La CMI étant égale à 4 mg/l, la souche est catégorisée « intermédiaire » mais elle peut être catégorisée « sensible » à une dilution près. Les réponses « I » proviennent exclusivement des utilisateurs de disques. Quant au méropénème, avec une CMI égale à 2 mg/l, la souche est catégorisée « sensible » à cet antibiotique. Là encore, les réponses « I » proviennent exclusivement des utilisateurs de disques.

La production de BLSE chez *A. baumannii* n'est pas fréquente mais occasionne des épidémies. Les enzymes les plus souvent en cause ont été PER-1 en Turquie et VEB-1 en France. Les enzymes TEM-92, CTX-M-2, CTX-M-15, SHV-5 et SHV-12 ont également été rapportées. Plus récemment sont apparues des carbapénémases, KPC, NDM, IMP, VIM, SIM, OXA-23, OXA-58, OXA-40 et OXA-143.

A la question « quel(s) phénotype(s) de résistance aux β -lactamines envisagez-vous pour cette souche ? », 94,6% des participants ont répondu et parmi eux plus de la moitié (52%) ont indiqué la réponse attendue « BLSE » ou « BLSE + céphalosporinase HP ». Toutefois, 44% n'ont pas « vu » la BLSE ! L'isolement d'une souche multirésistante doit faire rechercher une BLSE. La réalisation d'un antibiogramme sur une gélose avec cloxacilline est informative. Parfois, un rapprochement des disques est nécessaire (cf *A. baumannii* PER-1 de l'opération de contrôle 08BAC1).

Autres antibiotiques :

La souche du lot 2 présente un phénotype de résistance aux aminoglycosides de type enzymatique touchant les trois molécules testées (gentamicine, tobramycine, amikacine). Plusieurs mécanismes peuvent être évoqués : inactivation des aminoglycosides par association d'acétylases, d'adénylases, de phosphorylases ou modification de cible par des méthylases responsables de méthylations de l'ARN16S (10). Ce dernier mécanisme confère une résistance de haut niveau ce qui n'est pas le cas ici, le diamètre d'inhibition de l'amikacine étant de 12 mm en moyenne (tableau VIII). L'association de deux enzymes inactivatrices est fréquente (75 % des souches) chez *A. baumannii* (8).

Enfin, la souche était sensible à la colistine (CMI = 0,5 mg/l). En cas d'utilisation thérapeutique, la CMI de cet antibiotique doit être déterminée.

Bibliographie

- (1) Bou G, Martínez-Beltrán J. Cloning, nucleotide sequencing, and analysis of the gene encoding an AmpC beta-lactamase in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2000, 44(2): 428-32
- (2) Damier-Piolle L, Magnet S, Brémont S, Lambert T, Courvalin P. AdelJK, a resistance-nodulation-cell division pump effluxing multiple antibiotics in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2008, 52(2): 557-62.
- (3) Decré Dominique. *Acinetobacter baumannii* et résistance aux antibiotiques : un modèle d'adaptation. *Revue Francophone des Laboratoires*, 2012, 42(441): 43-52
- (4) Héritier C, Poirel L, Nordmann P. Cephalosporinase over-expression resulting from insertion of ISAbA1 in *Acinetobacter baumannii*. *Clin Microbiol Infect.* 2006, 12(2):123-30.
- (5) Héritier C, Poirel L, Lambert T, Nordmann P. Contribution of acquired carbapenem-hydrolyzing oxacillinases to carbapenem resistance in *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005, 49(8): 3198-202.
- (6) Lin YC, Hsia KC, Chen YC, Sheng WH, Chang SC, Liao MH, Li SY. Genetic basis of multidrug resistance in *Acinetobacter* clinical isolates in Taiwan. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010, 54(5): 2078-84.
- (7) Naas T, Coignard B, Carbonne A, Blanckaert K, Bajolet O, Bernet C, Verdeil X, Astagneau P, Desenclos JC, Nordmann P; French Nosocomial Infection Early Warning Investigation and Surveillance Network. VEB-1 Extended-spectrum beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii*, France. *Emerg. Infect. Dis.* 2006, 12(8): 1214-22.
- (8) Peleg AY, Seifert H, Paterson DL. *Acinetobacter baumannii* : emergence of a successful pathogen. *Clin. Microbiol. Rev.*, 2008, 21(3): 538-582
- (9) Sato K, Nakae T. Outer membrane permeability of *Acinetobacter calcoaceticus* and its implication in antibiotic resistance. *J Antimicrob Chemother* 1991, 28: 35-45.
- (10) Zhou Y, Yu H, Guo Q, Xu X, Ye X, Wu S, Guo Y, Wang M. Distribution of 16rRNA methylases among different species of Gram negative bacilli with high-level resistance to aminoglycosides. *Eur J Clin Microb Inf Dis* 2010, 29(11): 1349-1353.

Identification bactérienne et Antibiogramme

Définition des échantillons

Deux échantillons contenant chacun une souche lyophilisée de bacille à Gram négatif, aérobie strict, non fermentaire ont été proposés. Il s'agissait de *Burkholderia multivorans* et de *Stenotrophomonas maltophilia*. Il était demandé aux laboratoires participants d'identifier la souche isolée et de tester sa sensibilité vis-à-vis de 14 antibiotiques définis.

En complément de l'antibiogramme, les laboratoires qui utilisent la méthode de diffusion en milieu gélosé (disques) devaient préciser les diamètres d'inhibition obtenus pour les dix antibiotiques suivants : ticarcilline, ticarcilline/ac.clavulanique, pipéracilline/tazobactam, ceftazidime, céfépime, imipénème, mérépénème, gentamicine, tobramycine, amikacine.

Les numéros des échantillons ainsi que les résultats des experts - Pr C. de CHAMPS, Reims, Pr G. LINA, Lyon et Dr C. SEGONDS, Toulouse - obtenus pour chacune de ces deux souches par la méthode de diffusion en milieu gélosé sont présentés dans les tableaux IX et X. Pour chaque antibiotique, la catégorisation de la souche en « S », « I » ou « R » suit les recommandations du CA-SFM 2013. La détermination des CMI lorsqu'elle était nécessaire a été réalisée par la méthode du E-Test et/ou par la méthode de référence (dilution en gélose).

Les renseignements cliniques qui accompagnaient les échantillons sont les suivants :

« Monsieur Y (antécédent BPCO post-tabagique compliquée de nombreuses exacerbations ayant nécessité des cures d'antibiothérapies successives) est à nouveau hospitalisé pour une exacerbation fébrile hypoxémiante. Une aspiration bronchique est réalisée qui montre un aspect purulent. L'isolement sur milieux gélosés montre une bactérie en quantité importante > 10⁷ UFC/ml. »

tableau IX - antibiogramme *Burkholderia multivorans* : résultats des experts

N° des échantillons	137, 249, 473, 555, 611, 729, 892, 905	
Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis
Ticarcilline	R	R ^(a)
Ticarcilline + ac. clavulanique	R	R ^(a)
Pipéracilline	-	- ^(b)
Pipéracilline + tazobactam	-	- ^(c)
Ceftazidime	S	S
Céfépime	R	R
Imipénème	R	R ^(a)
Ertapénème	I/R	I/R
Gentamicine	R	R
Tobramycine	R	R
Amikacine	R	R
Ciprofloxacine	R	R
Cotrimoxazole	-	- ^(d)
Colistine	R	R ^(a)

(a) : résistance contact (méthode des disques). Résistance naturelle.

(b) : phénotype habituel « S ». Résultats variables selon la technique utilisée. Absence de consensus.

(c) : absence de diamètres et concentrations critiques.

(d) : résultats variables selon la technique utilisée. Absence de consensus.

tableau X - antibiogramme *Stenotrophomonas maltophilia* : résultats des experts

N° des échantillons	182, 274, 444, 560, 672, 700, 818, 931	
Antibiotiques	Résultat lu	Résultat transmis
Ticarcliline	-	R ^(a)
Ticarcliline + ac. clavulanique	S	S
Pipéracilline	-	R ^(a)
Pipéracilline + tazobactam	-	- ^(b)
Ceftazidime	-	R ^(c)
Céfépime	-	R ^(d)
Imipénème	R	R ^(e)
Ertapénème	R	R
Gentamicine	-	I/R ^(f)
Tobramycine	-	I/R ^(f)
Amikacine	-	I/R ^(f)
Ciprofloxacine	S	S
Cotrimoxazole	S	S
Colistine	R	R ^(g)

(a) : absence de diamètres et concentrations critiques. Résistance habituelle pour cette espèce.

(b) : absence de diamètres et concentrations critiques.

(c) : CMI E-test = 32 mg/l. Dispersion des résultats par la méthode des disques

(d) : CMI E-test = 16 mg/l. Dispersion des résultats par la méthode des disques

(e) : résistance naturelle

(f) : résistance intrinsèque aux aminosides uniquement observée après incubation à 30°C. Interpréter I, un résultat S obtenu après une incubation à 37°C.

(g) : CMI E-test = 16 mg/l . Dispersion des résultats par la méthode des disques (mauvaise diffusion sur gélose)

Résultats des participants

1 - Identification

Les bilans de l'identification de *Stenotrophomonas maltophilia* et de *Burkholderia multivorans* par les laboratoires participants sont présentés dans les tableaux XI et XIII. Les résultats obtenus lors des trois envois précédents d'une souche de *S. maltophilia* ou d'une souche de *Burkholderia cepacia* pour identification sont rapportés dans les tableaux XII et XIV.

En ce qui concerne *Burkholderia multivorans* (espèce qui fait partie du complexe *Burkholderia cepacia*), la table de codage des bactéries de cette opération de contrôle comprenait pour la première fois, des codes distincts pour le complexe *Burkholderia cepacia* et les principales espèces qui le composent (*B. multivorans*, *B. cepacia sensu stricto*, *B.cenocepacia*, *B. vietnamiensis*). Lors des envois précédents, seul le code « *Burkholderia cepacia* » (*B. cepacia* complexe) était proposé.

tableau XI - identification *S. maltophilia* : résultats des 577 participants

Réponse attendue	Genre exact				Genre faux	Absence diagnostic
	espèce exacte	espèce fausse	espèce non précisée	total genre exact		
<i>S. maltophilia</i>	96,7%	1,4%	0,3%	98,4%	1,3%	0,3%

tableau XII - bilan des trois opérations de contrôle précédentes « *S. maltophilia* »

Année	Effectif	Espèce exacte (%)	Genre exact * (%)	Absence diagnostic (%)
2002	895	83	93	0,5
1996	897	78	87	2
1992	605	72,5	81,5	1

* : avec les *Pseudomonas* et bactéries apparentées

tableau XIII - identification *B. multivorans* (ou *Burkholderia cepacia* complexe) : résultats des 565 participants

Réponses	Effectif (%)	} 87,8% *
<i>Burkolderia multivorans</i>	72 (12,8)	
<i>Burkolderia cepacia</i> complexe	150 (26,5)	
<i>Burkolderia cepacia</i>	273 (48,3)	
<i>Burkolderia cenocepacia</i>	1 (0,2)	
<i>Burkolderia</i> sp.	2 (0,4)	
<i>Pseudomonas</i> divers	16 (2,8)	
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	23 (4,1)	
Autres	20 (3,5)	
Absence de diagnostic	8 (1,4)	

* identification correcte au niveau du groupe « complexe cepacia » par 87,8% des participants.

tableau XIV - bilan des trois opérations de contrôle précédentes « *B. cepacia* »

Année	Effectif	Espèce exacte * (%)	Genre exact ** (%)	Genre faux (%)	Absence diagnostic (%)
2002	927	82,0	88,5	9,0	2,5
1993	445	52,8	71,4	19,8	8,8
1986	523	36	49,4	33,4	17,2

* : *B. cepacia* (*B.cepacia* complexe)

** : avec les *Pseudomonas* et bactéries apparentées

2 - Antibiogramme

Les réactifs utilisés par les participants pour réaliser les antibiogrammes sont détaillés dans le tableau XV, tandis que les résultats obtenus pour chaque antibiotique, tous réactifs confondus, sont regroupés pour chacune des deux souches dans les tableaux XVI et XVII (la réponse attendue pour chaque antibiotique apparaît en gras).

En ce qui concerne les diamètres d'inhibition relevés par les participants qui utilisent la méthode des disques, les paramètres statistiques pour chaque antibiotique (effectif, moyenne et écart-type) ont été calculés à partir des données fournies. Ils ont ensuite été recalculés après une troncature à 2 écart-types (opération consistant à éliminer les valeurs situées au-delà de 2 écart-types de part et d'autre de la moyenne). En raison de la dispersion des diamètres d'inhibition, la moyenne tous réactifs confondus et la moyenne par réactif n'ont pas pu être utilisées comme valeurs cibles de consensus.

En ce qui concerne *Burkholderia multivorans*, à l'exception de la ticarcilline, de l'association ticarcilline-ac. clavulanique, de l'imipénème et des aminosides (gentamicine, tobramycine et amikacine) pour lesquels on observe une résistance « contact », la distribution des diamètres d'inhibition tous réactifs confondus relevés pour chacun des quatre autres antibiotiques est représentée figures 13 à 16. Les diamètres critiques indiqués sur les figures sont ceux relevés dans les recommandations du CA-SFM 2013.

De la même façon, pour *Stenotrophomonas maltophilia*, les distributions des diamètres d'inhibition (à l'exception de la ticarcilline, de la ceftazidime et des carbapénèmes (imipénème et méropénème) pour lesquels on note une résistance « contact ») sont rapportées sur les figures 17 à 22.

tableau XV - réactifs utilisés pour l'antibiogramme

Réactifs	Fournisseur	Effectif (%)
Automates (36,4%)		
Phoenix	Becton Dickinson	34 (3,3)
Vitek 2 Compact	BioMérieux	310 (30,0)
MicroScan WalkAway	Siemens	32 (3,1)
Galleries (26,4%)		
ATB PSE EU	BioMérieux	239 (23,1)
ATB G- EU	BioMérieux	29 (2,8)
ATB UR EU	BioMérieux	5 (0,5)
Rapid ATB UR EU	BioMérieux	1 (<0,1)
Disques (36,4%)		
Disques	Bio-Rad	272 (26,3)
NeoSensitabs	Eurobio	6 (0,6)
Disques	i2a	63 (6,1)
Disques	Oxoid	33 (3,2)
Disques	Mast	2 (0,2)
Disques	Becton Dickinson	1 (<0,1)
	non précisé	8 (0,8)
	Total	1035

tableau XVI - antibiogramme *Burkholderia multivorans* : résultats des participants

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Ticarcilline	507	1,0	0,0	99,0	499	0,8	0,0	99,2
Ticarcilline + ac clavulanique	486	0,8	0,4	98,8	480	0,8	0,2	99,0
Pipéracilline	487	53,4	19,1	27,5	486	49,4	13,4	37,2
Pipéracilline + tazobactam	475	39,0	4,4	56,6	465	39,2	4,7	56,1
Ceftazidime	520	81,5	9,8	8,7	518	80,9	8,1	11,0
Céfépime	479	7,9	5,7	86,4	477	7,3	5,5	87,2
Imipénème	514	1,4	1,0	97,6	510	1,0	0,6	98,4
Méropénème	365	7,1	77,3	15,6	363	6,3	74,4	19,3
Gentamicine	510	0,8	0,0	99,2	500	0,6	0,0	99,4
Tobramycine	500	1,2	0,0	98,8	493	0,8	0,2	99,0
Amikacine	500	0,8	0,0	99,2	490	0,6	0,2	99,2
Ciprofloxacine	519	0,8	0,4	98,8	517	1,0	0,4	98,6
Cotrimoxazole	485	33,2	39,4	27,4	482	32,4	36,9	30,7
Colistine	461	1,1	0,6	98,3	457	0,9	0,6	98,5

tableau XVII - antibiogramme *Stenotrophomonas maltophilia* : résultats des participants

antibiotiques	résultats lus				résultats transmis			
	effectif	S (%)	I (%)	R (%)	effectif	S (%)	I (%)	R (%)
Ticarcilline	408	4,7	2,2	93,1	399	1,0	2,0	97,0
Ticarcilline + ac clavulanique	438	79,0	5,7	15,3	440	75,5	8,6	15,9
Pipéracilline	408	8,3	4,2	87,5	400	1,7	3,0	95,3
Pipéracilline + tazobactam	402	15,4	8,0	76,6	387	13,4	10,1	76,5
Ceftazidime	455	13,4	7,0	79,6	454	13,0	6,6	80,4
Céfépime	426	7,3	2,8	89,9	425	7,1	2,8	90,1
Imipénème	448	0,4	0,0	99,6	450	0,4	0,2	99,4
Méropénème	308	1,3	4,5	94,2	308	1,0	3,9	95,1
Gentamicine	437	12,8	4,1	83,1	430	3,7	9,8	86,5
Tobramycine	420	9,5	3,3	87,2	412	3,2	7,0	89,8
Amikacine	433	14,3	10,2	75,5	425	5,4	12,2	82,4
Ciprofloxacine	464	80,8	12,3	6,9	462	81,0	10,4	8,6
Cotrimoxazole	470	94,0	0,0	6,0	469	92,1	0,4	7,5
Colistine	374	21,1	0,5	78,4	362	19,3	0,6	80,1

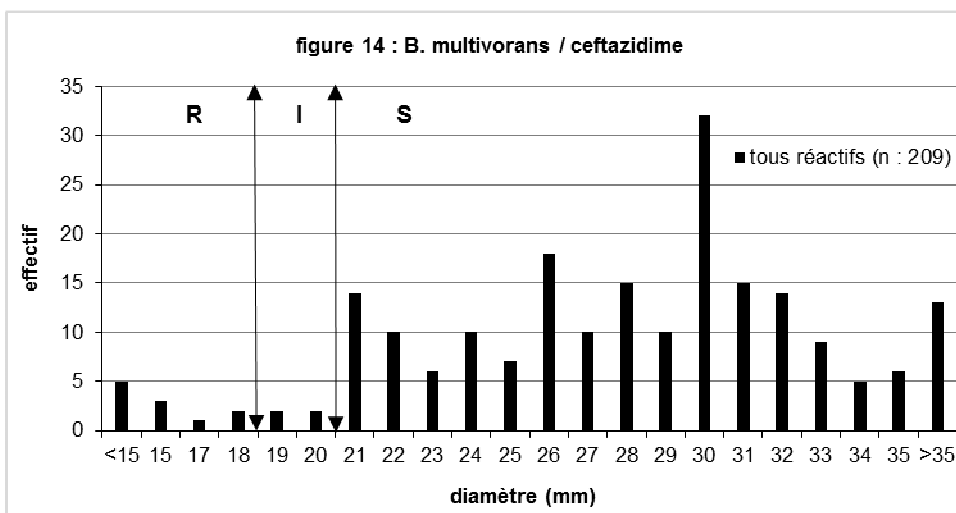
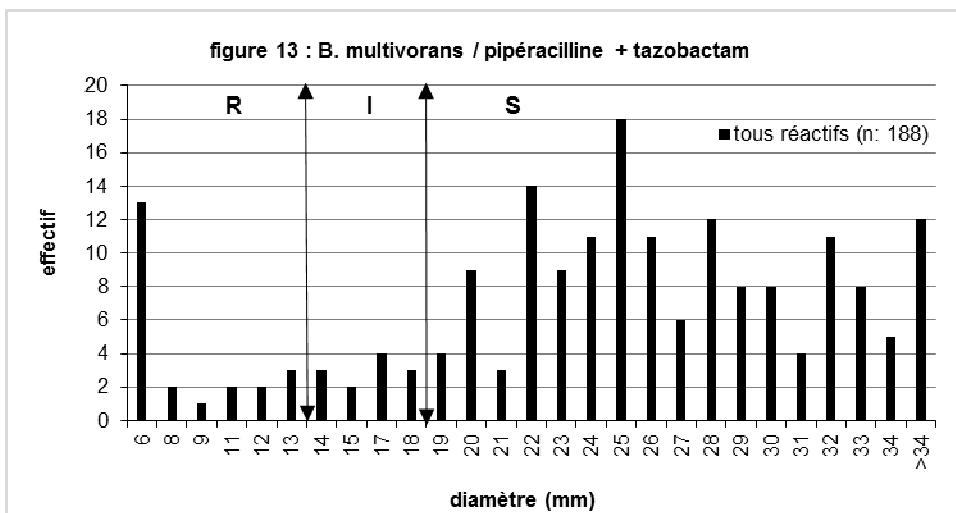


figure 15 : *B. multivorans* / céfépime

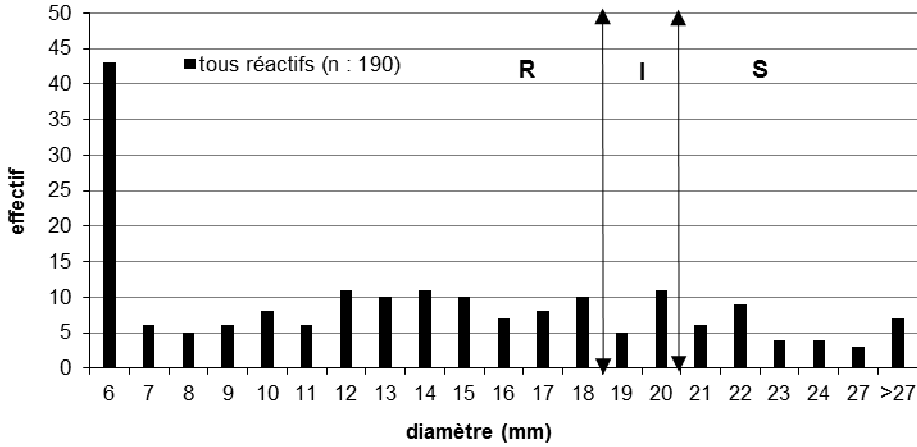


figure 16 : *B. multivorans* / méropénème

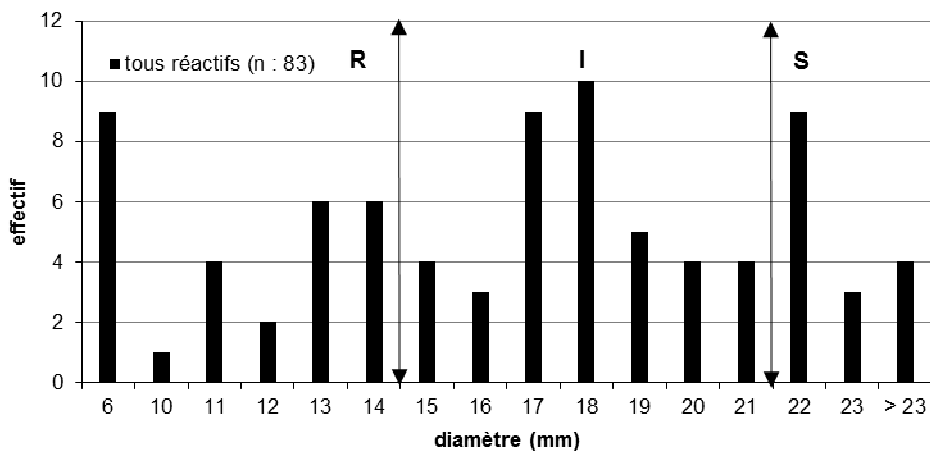


figure 17 : *S. maltophilia* / ticarcilline + ac. clavulanique

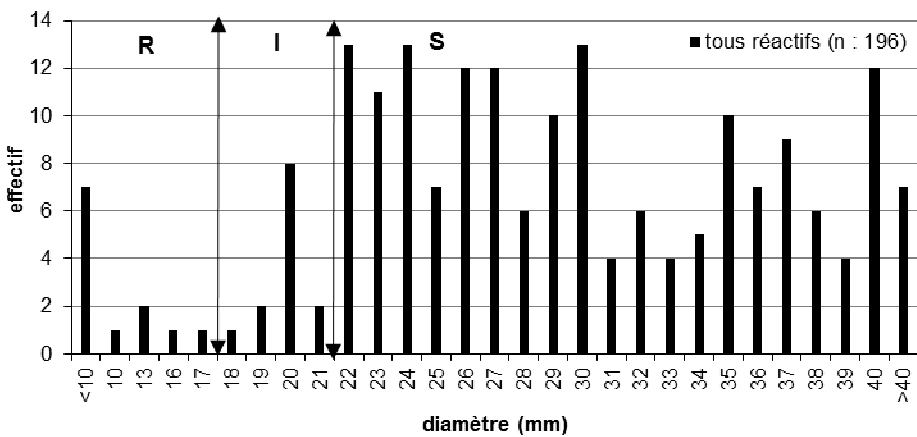


figure 18 : *S. maltophilia* / pipéracilline + tazobactam

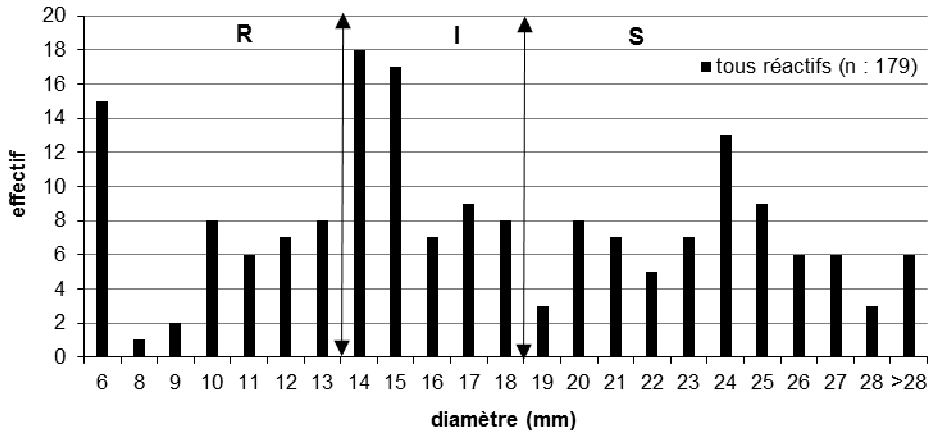


figure 19 : *S. maltophilia* / céfépime

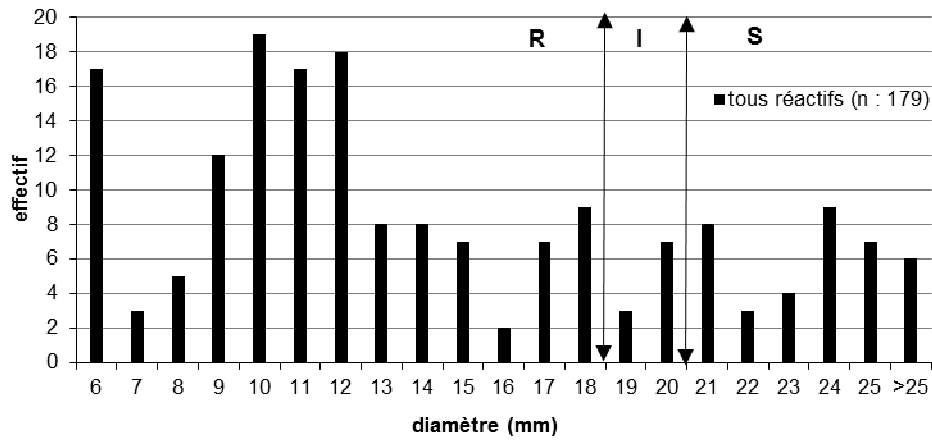
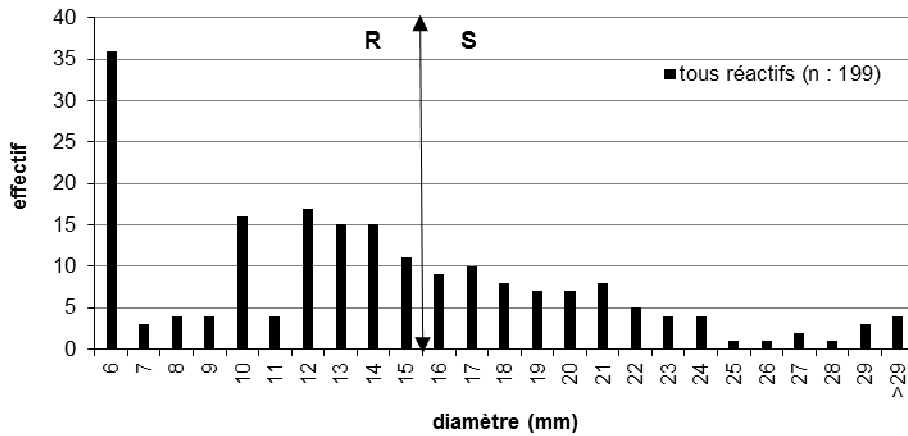
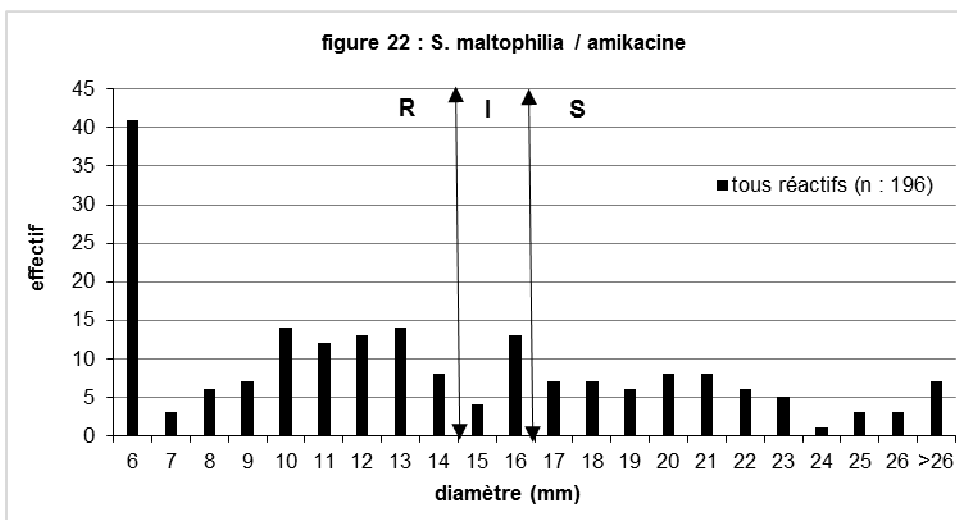
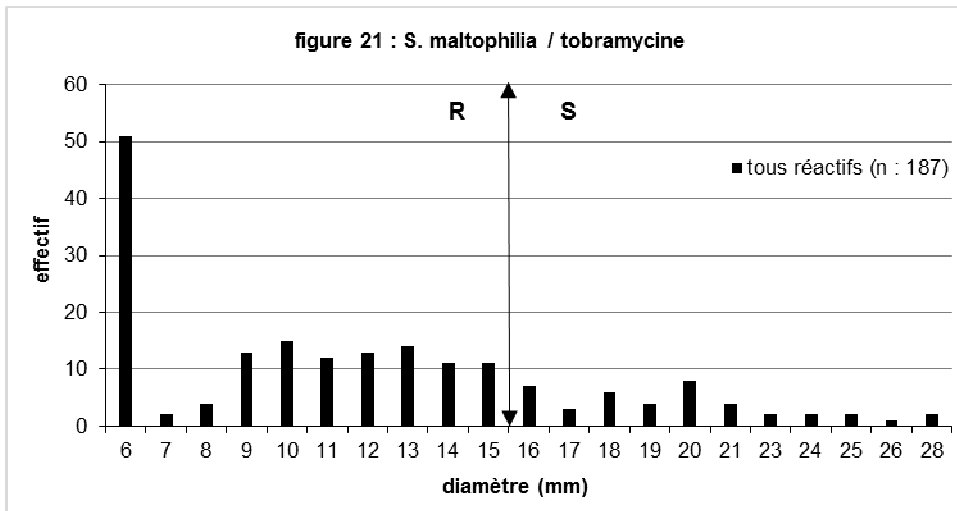


figure 20 : *S. maltophilia* / gentamicine





Commentaires

1 - Identifications bactériennes

Les deux espèces proposées étaient des bacilles à Gram négatif, mobiles, aérobies stricts, non fermentaires : *Burkholderia multivorans* qui fait partie du complexe *Burkholderia cepacia* et *Stenotrophomonas maltophilia*.

Depuis sa 1^{ère} description par W. Burkholder en 1950, l'espèce *Pseudomonas cepacia* a subi de nombreux remaniements taxonomiques. D'abord transférée dans le nouveau genre *Burkholderia* en 1992, l'hétérogénéité phénotypique des souches présumées « *Burkholderia cepacia* » a conduit Vandamme et al. à distinguer en 1997 cinq genomospécies (ou genomovars) sur la base d'une étude taxonomique multiphasique. Cet ensemble de cinq espèces génomiques a été désigné sous le nom de « complexe *cepacia* » et le nom *Burkholderia multivorans* a été proposé pour l'espèce génomique *B. cepacia* genomovar II, tandis que *B. vietnamiensis* correspond à *B. cepacia* genomovar V. Depuis, les souches du genomovar I ont reçu le nom de *B. cepacia* sensu stricto, celles du genomovar IV appartiennent à l'espèce *B. stabilis* et d'autres genomovars sont apparus. Actuellement le complexe *Burkholderia cepacia* (aussi appelé *B. cepacia* sensu lato pour bien le distinguer de l'espèce *B. cepacia* sensu stricto) compte 20 espèces.

Une identification précise de ces espèces, basée sur les caractères phénotypiques reste très délicate et les techniques « classiques » utilisées en routine dans les laboratoires (galeries, automates) permettent au mieux d'identifier « *B. cepacia* complexe ». Seules les techniques de biologie moléculaire et plus récemment la spectrométrie de masse (MALDI-TOF) permettent une identification jusqu'à l'espèce.

Les bactéries du complexe *cepacia* sont des bacilles à Gram négatif, aérobies stricts, mobiles, oxydase faiblement positive, ADH négatifs et résistants à la colistine et à la polymyxine B (propriété utilisée pour la composition des milieux sélectifs d'isolement utilisés dans le cadre de l'analyse des expectorations des patients atteints de mucoviscidose). De nombreux caractères phénotypiques sont variables au sein du complexe, voire

au sein de chaque espèce. L'espèce *Burkholderia multivorans* pousse à 42°C. Elle est esculine -, ODC -, nitrate réductase + et ONPG +.

En ce qui concerne la souche du CNQ, l'identification exacte de l'espèce *Burkholderia multivorans* a été rendue par 72 laboratoires, soit 13% des participants. Mais en pratique, la réponse « complexe *Burkholderia cepacia* » (27% des réponses) est également correcte. Quant à la réponse « *Burkholderia cepacia* », donnée par près de la moitié des participants, elle peut, vu le contexte historique, être considérée comme « acceptable ». Néanmoins, il faut que les biologistes prennent l'habitude de rendre « complexe *Burkholderia cepacia* » à la place de « *Burkholderia cepacia* » lorsqu'ils n'ont pas à leur disposition les moyens d'identifier les espèces au sein du complexe.

L'autre souche proposée dans le cadre de cette opération de contrôle, *Stenotrophomonas maltophilia*, initialement décrite sous le nom de *Pseudomonas maltophilia*, puis classée successivement dans les genres *Xanthomonas* (en 1983) et *Stenotrophomonas* (en 1993) n'a pas posé de problème d'identification aux participants. En 20 ans, on observe dans le cadre du CNQ, un net progrès des performances des laboratoires puisque l'on passe de 72,5% à 96,7% (+ 24%) d'identification exacte de l'espèce (tableau XII). Pour rappel, les caractères bactériologiques utiles à l'identification de cette espèce sont les suivants : Bacille à Gram négatif, mobile (ciliature polaire), aérobic strict, oxydase - (ou + faiblement et lentement), catalase +, LDC +, ADH -, esculine +, gélatine +, DNase + (en 72 h), ONPG +, assimilant le glucose et le maltose.

2 - Antibiogramme *Burkholderia multivorans*

Les espèces du complexe *B. cepacia* sont caractérisées par une résistance naturelle à de nombreux antibiotiques due à plusieurs types de mécanismes de résistance : imperméabilité de la membrane externe, bêta-lactamases chromosomiques inductibles et présence de systèmes d'efflux.

Ainsi, en ce qui concerne les bêta-lactamines, le phénotype sauvage est résistant à l'amoxicilline et à la ticarcilline, seuls et associés à l'acide clavulanique, aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} générations, à l'aztréonam, à l'imipénème et l'ertapénème. Quelques bêta-lactamines, comme la pipéracilline seule ou associée au tazobactam, la ceftazidime, le méropénème et le sulbactam restent actives *in vitro*. On observe également une résistance aux aminosides et aux polymyxines (la colistine aide à l'identification), au triméthoprime (la synergie avec le sulfaméthoxazole est conservée), à la fosfomycine, à l'acide nalidixique et à la ciprofloxacine. L'activité de cette dernière est très variable, mais selon l'EUCAST, les souches doivent être considérées comme résistantes. Ce phénotype dit sauvage correspond à celui des espèces les plus fréquentes du complexe (*B. cenocepacia* et *B. multivorans*) mais d'autres espèces peuvent présenter un phénotype plus sensible.

L'EUCAST souligne la difficulté de réaliser un antibiogramme sur les souches du complexe *B. cepacia* car il est pratiquement impossible d'établir des concentrations critiques. De plus, en ce qui concerne la méthode à utiliser, l'EUCAST rappelle que seule la détermination des CMI par la technique de microdilution en milieu liquide conduit à des résultats reproductibles. La technique des bandelettes est moins reproductible. Quant à la méthode des disques, en plus de sa mauvaise reproductibilité, la corrélation entre les diamètres d'inhibition obtenus par cette méthode et les CMI déterminées par microdilution est faible. Cependant, depuis 2015, les recommandations du CA-SFM comportent une rubrique spécifique « *Burkholderia cepacia* » qui liste sept antibiotiques accompagnés de leurs concentrations critiques. Le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) propose également des valeurs critiques pour certains antibiotiques.

Les antibiotiques utilisés dans le traitement des infections dues au complexe *B. cepacia* sont le sulfaméthoxazole-triméthoprime, le méropénème, la minocycline la témocilline, la ceftazidime, l'association pipéracilline-tazobactam voire le chloramphénicol.

Les laboratoires participants ont bien relevé la résistance de la souche testée à la ticarcilline, à la ticarcilline + acide clavulanique, à l'imipénème, aux aminosides (gentamicine, tobramycine, amikacine), à la ciprofloxacine et à la colistine. On observe entre 98,4 et 99,4% de réponses « R » selon l'antibiotique considéré.

En revanche, seuls 86,4% des participants ont rendu « R » pour le céfépime ; les réponses « Intermédiaire » ou « Sensible » proviennent exclusivement des utilisateurs des disques Bio-Rad pour lesquels on note 68% « R », 9% « I » et 23% « S ». La souche était sensible à la ceftazidime, les réponses « intermédiaire » sont données par la galerie ATB PSE bioMérieux qui corrige le résultat brut « S » en « I ».

Quant à la pipéracilline et à l'association pipéracilline-tazobactam (TZP) pour lesquelles le phénotype habituel est « S », la détection de la sensibilité a posé problème du fait de résultats variables selon la technique utilisée et de l'absence de concentrations critiques pour l'association TZP.

En ce qui concerne le cotrimoxazole, avec une CMI correspondant à la concentration critique basse (2 mg/l) la réponse attendue était « S » ou « I » (à une dilution près). Les réponses « R » proviennent des utilisateurs de la méthode des disques auxquels il faut rappeler de ne pas tenir compte, pour cet antibiotique, des micro-colonies éventuellement présentes dans la zone d'inhibition.

3 - Antibiogramme *Stenotrophomonas maltophilia*

L'existence chez *S. maltophilia* de deux bêta-lactamases chromosomiques inductibles (L1 : métallo-enzyme de classe B et L2 : enzyme de classe A inhibée par l'acide clavulanique) produites à des niveaux variables, d'une imperméabilité membranaire et de nombreuses pompes d'efflux peut expliquer la résistance intrinsèque de cette espèce à de nombreux antibiotiques dont les bêta-lactamines telles que la ticarcilline, la pipéracilline, le céfotaxime et l'imipénème. Selon la quantité de L2 produite, les isolats peuvent apparaître sensibles ou résistants à la ceftazidime. Néanmoins, la sensibilité à l'association ticarcilline-acide clavulanique est notable. On peut rencontrer de multiples phénotypes de résistance aux bêta-lactamines en fonction du niveau d'expression des bêta-lactamases chromosomiques et des systèmes d'efflux, y compris d'exceptionnelles souches sensibles à l'imipénème (< 1%).

En ce qui concerne les antibiotiques autres que les bêta-lactamines :

- la faible sensibilité naturelle aux aminosides est observée uniquement après incubation à 30°C. Par conséquent, le CA-SFM recommande d'interpréter « I » un résultat « S » obtenu après une incubation à 37°C,
- les fluoroquinolones restent assez actives. *In vitro*, la lévofloxacine et la moxifloxacine sont plus actives que la ciprofloxacine. L'émergence de résistances acquises sous traitement est décrite et s'associe à une résistance croisée aux tétracyclines (minocycline) et au chloramphénicol,
- enfin, malgré la résistance naturelle au triméthoprime, la synergie de l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole (cotrimoxazole) est conservée.

L'EUCAST souligne la difficulté de réaliser un antibiogramme sur les souches de *S. maltophilia* car les résultats sont variables en fonction du milieu de culture, de la température et du temps d'incubation et de la technique utilisée. Les résultats obtenus pour le cotrimoxazole sont les plus reproductibles et la méthode de diffusion (disques et bandelettes) peut être utilisée. C'est d'ailleurs le seul antibiotique pour lequel l'EUCAST fournit des « breakpoints ». Toutefois, depuis 2014, les recommandations du CA-SFM comportent une rubrique spécifique « *Stenotrophomonas maltophilia* » qui liste cinq antibiotiques (cotrimoxazole, ticarcilline-acide clavulanique, ceftazidime, lévofloxacine, minocycline) accompagnés de leurs concentrations critiques. Il faut noter que pour cette espèce, l'automate VITEK (carte AST-N240 « non fermentants » Gram négatif) ne rend les résultats que de deux antibiotiques : le cotrimoxazole et la lévofloxacine.

Les laboratoires participants ont bien relevé la résistance de la souche testée à la ticarcilline (97% « R ») et à la pipéracilline (95,3% « R ») ainsi qu'à l'imipénème (99,4% « R ») et au méropénème (95,1% « R »).

La souche caractérisée par sa sensibilité à l'association ticarcilline-acide clavulanique a néanmoins été rendue « R » par 15% des participants, en majorité utilisateurs de la galerie ATB PSE (77% « S » et 23% « R ») qui teste une concentration unique correspondant à la concentration critique basse (16 mg/l). Le laboratoire de contrôle de la société bioMérieux n'a pas reproduit ce résultat « R ».

En ce qui concerne la ceftazidime et le céfépime, on observe une dispersion très importante des diamètres d'inhibition par la méthode des disques, due à la présence de micro-colonies dans la zone d'inhibition. L'automate PHOENIX et la galerie ATB PSE qui teste deux concentrations (4 mg/l et 8 mg/l) catégorisent la souche « R ». Quant aux CMI déterminées par E-test, elles sont respectivement égales à 32 et 16 mg/l. par conséquent, la réponse attendue est « R » pour ces deux antibiotiques.

Pour rappel, selon les recommandations européennes, la ceftazidime doit être rendue « R » même si la CMI est basse, alors que d'après le CA-SFM 2014, la souche est « S » pour une CMI ≤ 8 mg/l et « R » pour une CMI > 16 mg/l (en 2013, les concentrations critiques étaient inférieures d'une dilution).

Pour les antibiotiques autres que les bêta-lactamines, on observe :

- 3 à 5% de réponses fausses « S » pour les aminosides. En effet, si la règle d'interprétation du CA-SFM est suivie, les résultats transmis ne peuvent être que « I » ou « R ».
- 80% de réponses exactes « R » pour la colistine (CMI E-test = 16 mg/l). Les fausses réponses « S » proviennent exclusivement de la méthode des disques.
- 81 % de réponses exactes « S » pour la ciprofloxacine. Les réponses « I » proviennent uniquement de la galerie ATB PSE (28% « I », 67% « S », 5% « R ») qui teste deux concentrations (1 et 2 mg/l) et les réponses « R » sont rendues par les utilisateurs de la galerie ATB PSE ou du PHOENIX (58% « R », 42% « S »).
- 94% de réponses exactes « S » pour le cotrimoxazole.

Bibliographie

Mérens A, Janvier F, Vu-Thien H, Cavallo J-D, Jeannot K. Phénotypes de résistance aux antibiotiques de *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*. RFL, 2012, 42(445) : 59-74

A.Philippon in Antibiogramme P. Courvalin et R. Leclercq, Ed. ESKA 2012, p 215.