

**Phénotype de résistance aux antibiotiques de la souche de *Acinetobacter baumannii*
productrice de la β -lactamase VEB-1***

(* Journal of Clinical Microbiology, 2003, 41:3542-7)

-) L'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé de Mueller-Hinton (MH) (figure ci-jointe) fait apparaître le phénotype suivant :

- **S** à l'imipénème (IPM) et à la colistine (CS),
- **I** ou **R** aux associations ticarcilline/acide clavulanique (TCC) et pipéracilline/tazobactam (TZP).
- **R** à la ticarcilline (TIC) et aux céphalosporines de troisième génération : ceftazidime (CAZ), céfotaxime (CTX), et céfépime (FEP).

Remarque: Absence de diamètre d'inhibition pour TIC, CAZ, CTX, et FEP

- **R** à la ciprofloxacine (CIP), cotrimoxazole (SXT), tétracycline (TE), gentamicine (GM), tobramycine (TM), netilmicine (NET) et amikacine (AN).

Remarque: La sensibilité aux aminosides peut être variable selon les souches.

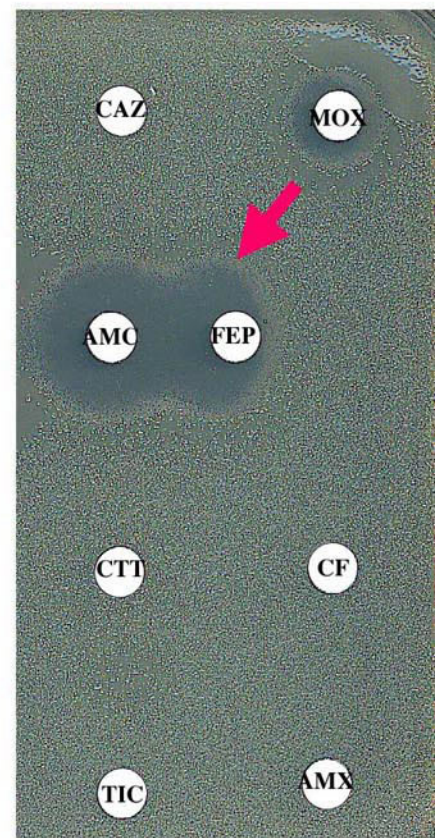
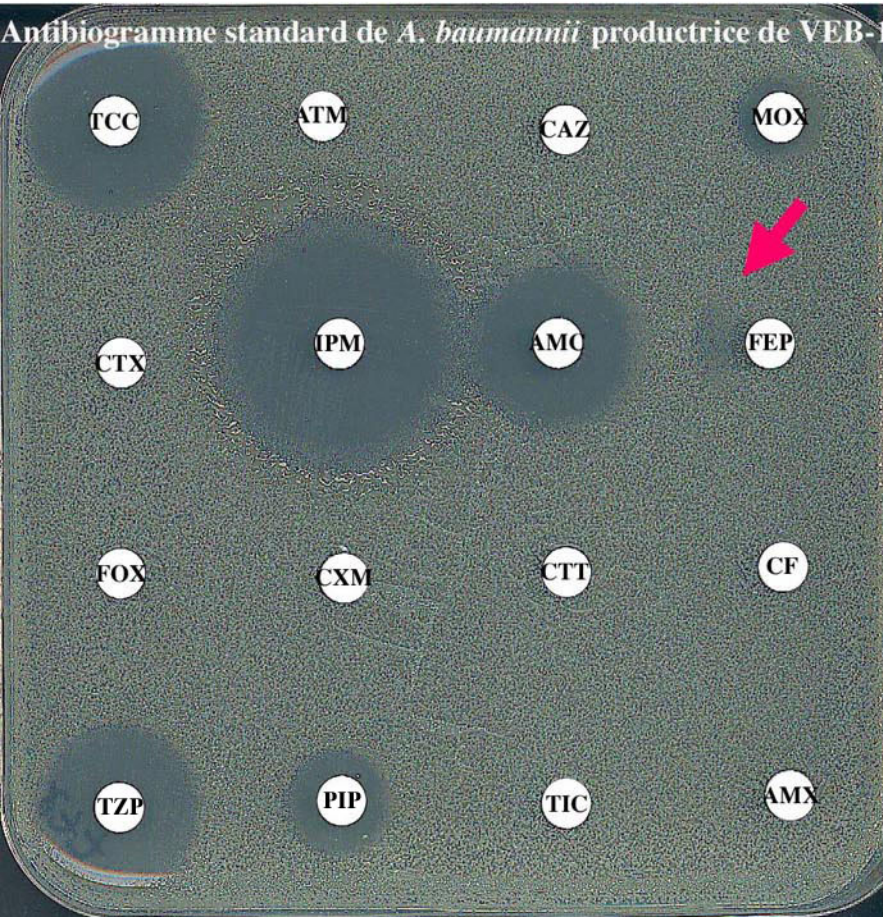
- un diamètre réduit autour du disque de rifampicine (RA) (environ 12 mm) liée à la présence, sur le même intégéron que *veb-1*, du gène de résistance à la rifampicine, *arr2*.

-) **Mise en évidence de la synergie :** la synergie entre les disques FEP et/ou CAZ et TCC, évocatrice de BLSE, est masquée par la présence de la céphalosporinase. Pour la mettre en évidence, deux techniques peuvent être utilisées :

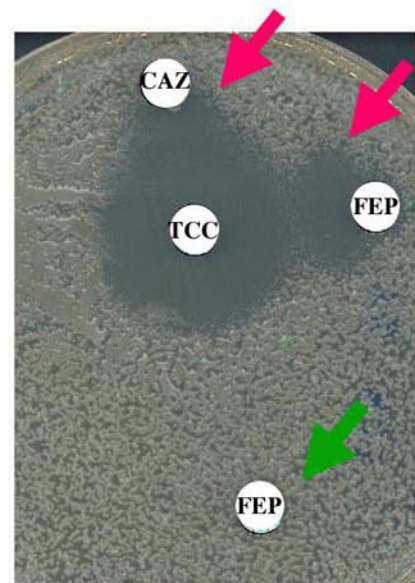
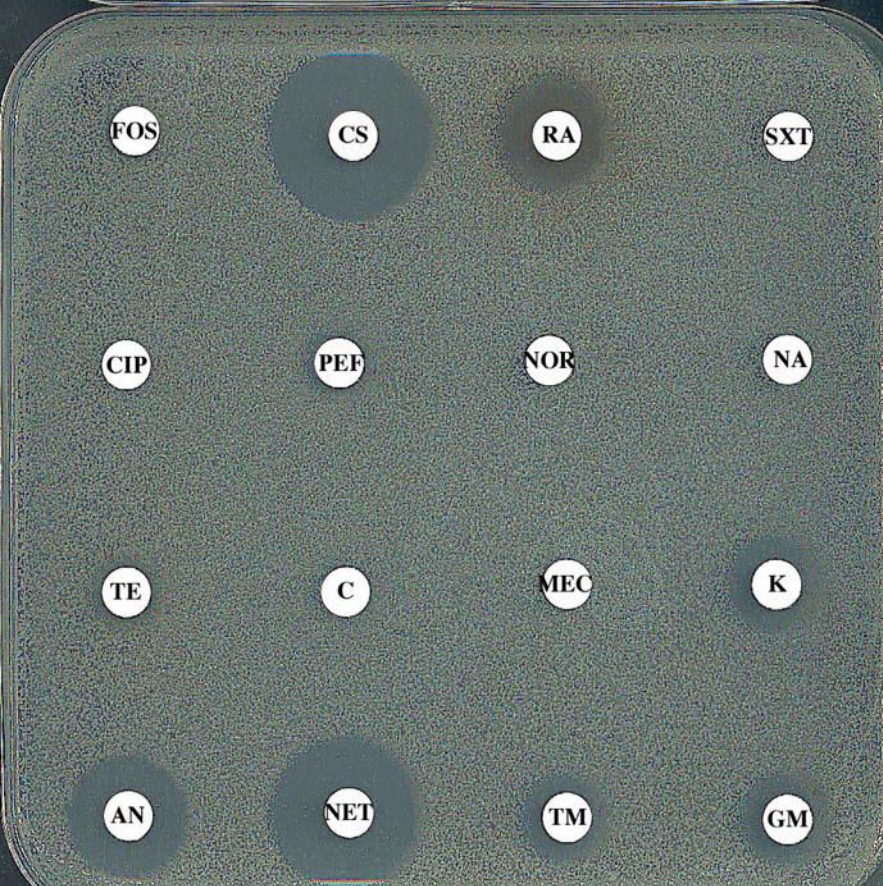
1. Rapprocher les disques FEP et/ou CAZ et TCC (tester différentes distances entre les deux disques (de bord à bord : 1 cm et 1,5 cm).(figure ci-jointe)
2. Réaliser un test de synergie sur milieu de Mueller Hinton contenant 250 μ g/ml de cloxacilline (figure ci-jointe, et annexe « Préparation de gélose MH-CLOXA »). La cloxacilline inhibe partiellement l'activité de la céphalosporinase.
 - **Si BLSE**, la synergie est visible entre les disques FEP et/ou CAZ et TCC. De plus, les diamètres autour des disques de FEP et CAZ ne sont pas modifiés en l'absence d'acide clavulanique.
 - **Si absence de BLSE**, les diamètres autour des disques de FEP et CAZ augmentent et aucune synergie n'est visible.

Mise en évidence de la synergie chez *Acinetobacter baumannii* productrice de VEB-1

Antibiogramme standard de *A. baumannii* productrice de VEB-1



En rapprochant les disques de FEP et AMC



Antibiogramme sur MH-Cloxa
Rem: Si présence de VEB-1, le diamètre autour du FEP n'est pas modifié en l'absence d'acide clavulanique (flèche verte)

Annexe : Préparation de gélose MH-CLOXA

Ces géloses sont utilisées pour la détection de bêta-lactamases à spectre étendu. La cloxacilline (Orbénine®), est un inhibiteur des céphalosporinases de la classe C d'Amblar chromosomiques ou plasmidiques. En cas d'hyperproduction, les diamètres autour des disques de C3G très diminués peuvent masquer les images de synergies évocatrices de BLSE entre des disques de C3G et d'acide clavulanique.

Préparation des géloses à la cloxacilline (250 µg/ml)

Préparation de la solution mère

Reconstituer un flacon de 1g de poudre de cloxacilline avec 2 ml d'eau distillée stérile (solution mère à 500 mg/ml). Cette solution peut être répartie en aliquots de 150 microlitres dans des tubes eppendorff et conservée à -80°C pendant plusieurs mois.

Préparation des milieux

Incorporer 100 microlitres de l'aliquot décongelé dans un flacon de 200 ml de MH-agar préalablement fondu et ramené à une température d'environ 50°C, homogénéiser. Couler ensuite assez rapidement (20 ml par boîte de pétri ronde de diamètre 85 mm).

Conservation des milieux

Les géloses coulées en boîtes se conservent à +4°C pendant 2 semaines.

Réalisation du test de synergie

Faire un test de synergie entre des disques de ticarcilline/acide clavulanique et céfépime et/ou ceftazidime (2 cm de centre à centre) (figure). Incuber 18 h à 37°C.

Remarque: La mise en évidence de la synergie est favorisée par une incubation des boîtes de pétri à température ambiante.