

Résistance chez les bacilles à Gram négatif non-fermentants

Rémi Le Guern
MCU-PH en Bactériologie
CHU Lille

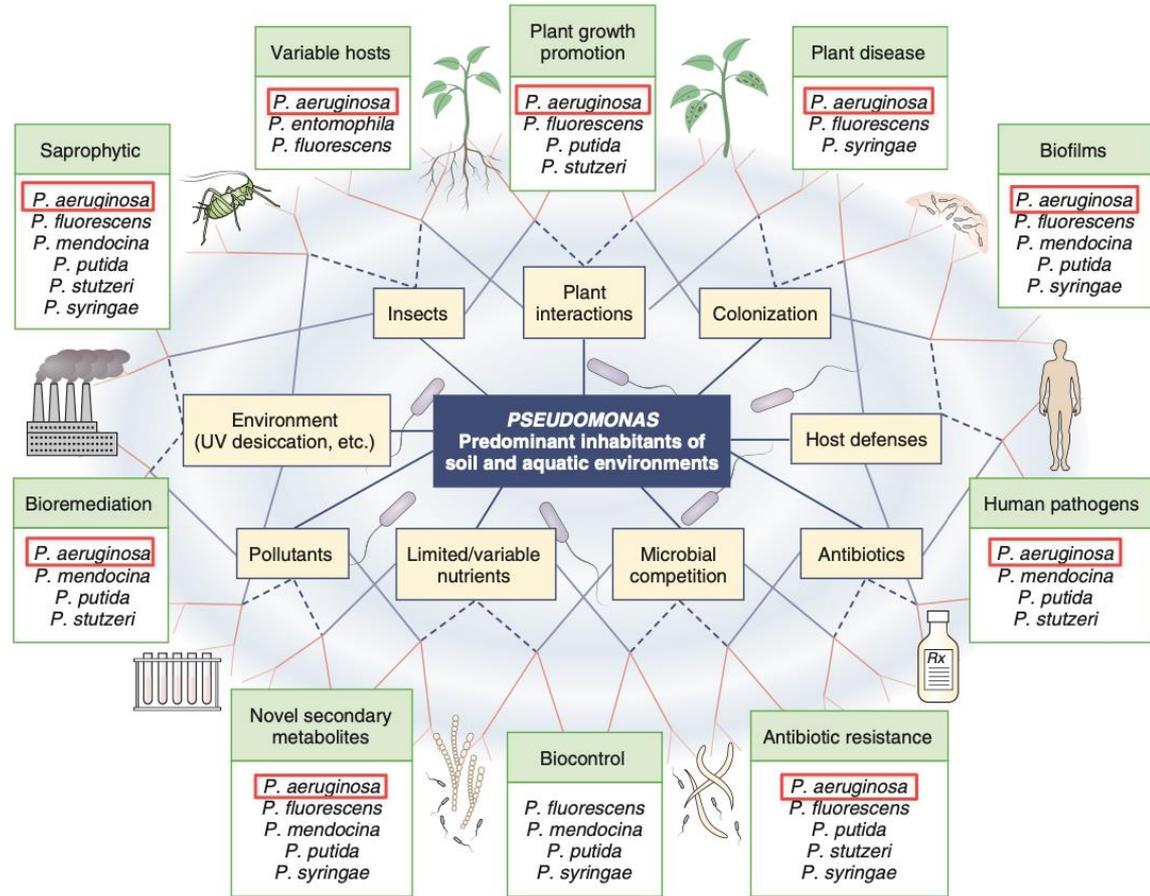


Généralités sur les bacilles à Gram-négatif non-fermentants

- **Aérobies stricts**
- **Ne fermentent pas le glucose** (oxydatifs ou inertes vis-à-vis du glucose)
- Représentent **10 à 15% des bacilles à Gram-négatif isolés.**
- 75% des non-fermentant = *Pseudomonas aeruginosa*
- 25% restants = Autres *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Acinetobacter*, *Chryseobacterium*
- Groupe divers +++

Epidémiologie

- **Habitat : environnement** (eau, végétaux...).
- Se développent dans des milieux humides (siphons +++).
- Peuvent contaminer des solutions antiseptiques.
- Naturellement résistants à certaines beta-lactamines.
- **Pathogène** de l'Homme mais aussi des plantes



Différences entre résistance naturelle et résistance acquise

- **Résistance naturelle**

Présent chez toutes les souches de l'espèce bactérienne.

Correspond au phénotype « phénotype sauvage »

Support chromosomique

- **Résistance acquise**

Uniquement certaines souches de l'espèce bactérienne.

Instable (peut être perdu ou acquis)

Soit chromosomique (sélection de mutations, ex. fluoroquinolones)

Soit acquisition de nouveaux gènes (plasmides, transposons, etc.)

Classification des beta-lactamases

- **Classification de Ambler**

Basée sur séquences en acides aminés.

- **Groupe A: Sérines protéases** (pénicillinases, BLSE, carbapénémases).

Inhibées par acide clavulanique.

- **Groupe B: Métallo-beta-lactamases** (carbapénémases)

Besoin de Zn^{2+} . Inhibées par EDTA (chélateur ions divalents)

- **Groupe C: AmpC** (céphalosporinases)

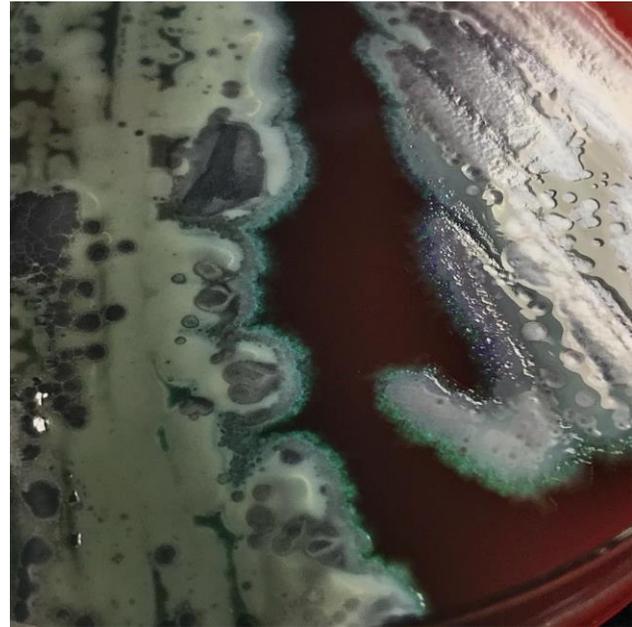
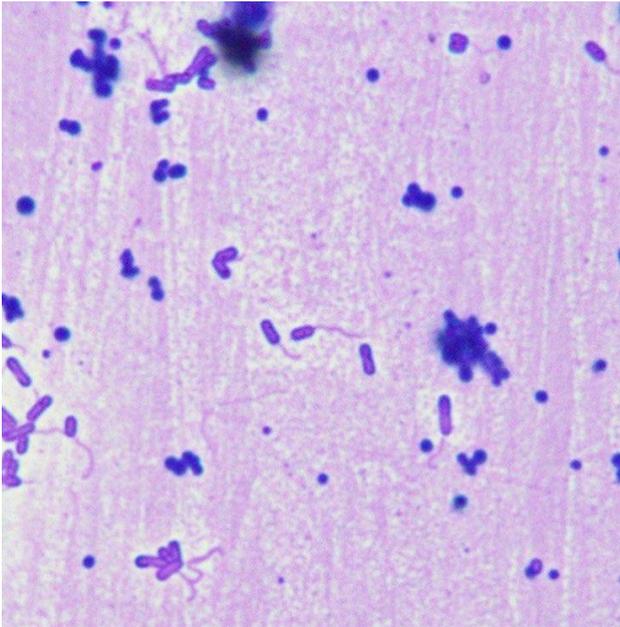
Inhibées par acide boronique.

- **Groupe D: Oxacillinases** (pénicillinase, BLSE, carbapénémase)

Résistances naturelles

	Bacilles à Gram négatif non-fermentant	<i>A. baumannii</i>	<i>P. aeruginosa</i>	<i>S. maltophilia</i>
Augmentin	R	R	R	R
Claventin				
Tazocilline				R
Ceftazidime				
Cefotaxime	R	R	R	R
Ceftriaxone	R	R	R	R
Ertapénème	R	R	R	R
Imipénème				R
Aminosides				R

Pseudomonas aeruginosa



Pseudomonas aeruginosa

- **Opportuniste +++** (ventilation mécanique, mucoviscidose, sujet âgé, immunodéprimé)

Souvent infections nosocomiales, pneumopathies ou bactériémies.

Cas particulier de la mucoviscidose

- **Beta-lactamines**

Produit naturellement:

- une céphalosporinase (AmpC)
- Plusieurs systèmes d'efflux (dont MexAB-OprM)

- **Résistance naturelle à plusieurs beta-lactamines:**

Résistant à l'amoxicilline et à l'amoxiclav (Augmentin)

Résistant aux C1G et C2G

Résistant à certaines C3G (ceftriaxone et céfotaxime)

Résistant à l'ertapénème

Pseudomonas aeruginosa

- **Phénotype sensible**

Sensible aux carboxypénicillines (ticarcilline)

Sensible aux uréidopénicilline (pipéracilline)

Sensible à certaines céphalosporines (ceftazidime)

Sensible aux monobactames (aztréonam)

Sensible aux carbapénèmes (imipénème, méropénème)

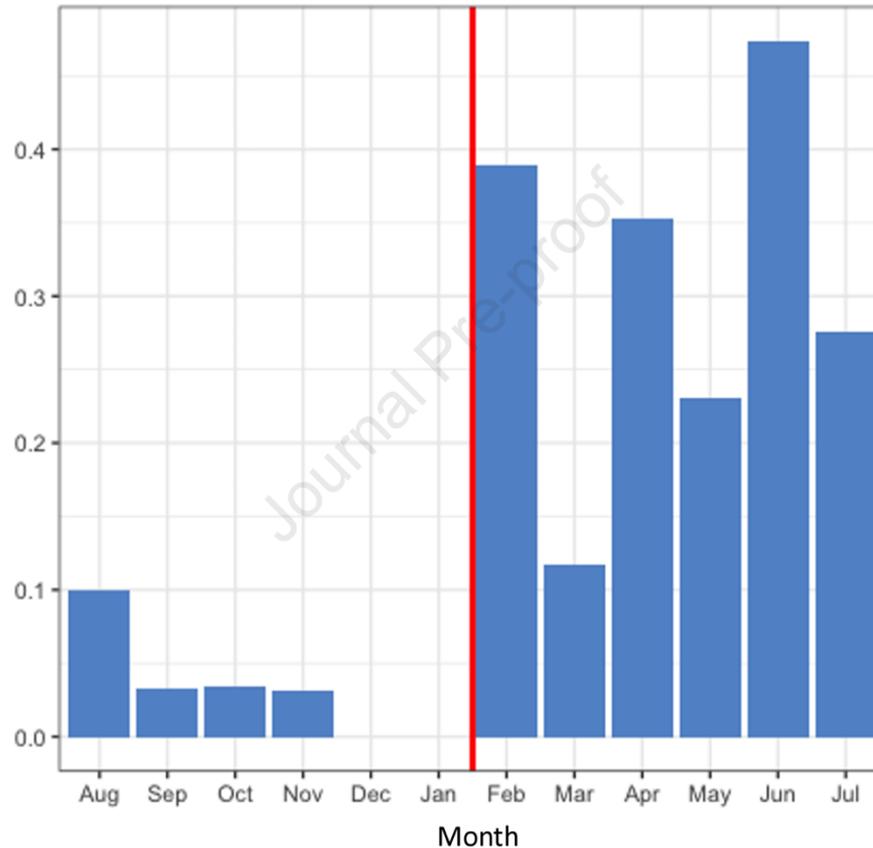
***Pseudomonas aeruginosa* : phénotype sensible**

Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ticarcilline			Amikacine	<= 2	S
Ticarcilline/acide clavulanique	16	I	Gentamicine		
Pipéracilline	<= 4	I	Tobramycine	<= 1	S
Pipéracilline/tazobactam	8	I	Ciprofloxacine	<= 0,25	I
Ceftazidime	2	I	Lévofloxacine	<= 0,12	I
Céfépime	<= 1	I	Colistine	<= 0,5	S
Aztréonam	4	I	Rifampicine		
Imipénème	2	I	Triméthoprimé/ sulfaméthoxazole		
Méropénème	1	S			

Attention depuis 2020 la catégorisation « S » n'existe quasiment plus pour *P. aeruginosa*, la plupart des molécules sont au minimum « I » (sensible à forte posologie), sauf le méropénème et les aminosides.

I = Sensible à Forte Posologie = on peut mettre la molécule, mais il faut des fortes posologies pour *Pseudomonas*

Rate of
meropenem
prescription



Prescription méropénème pour traiter les infections à *P. aeruginosa* à Lausanne (Suisse) avant / après implémentation des recommandations EUCAST 2020
(I = SFP à toutes les beta-lactamines sauf S pour méropénème, si phénotype sauvage)

Résistance enzymatique acquise

- **1. Hyperproduction de céphalosporinase chromosomique**

Deux beta-lactamases naturelles: (OXA-50 peu importante) + AmpC

AmpC = inductible, médiée par un système de répresseur (AmpR comme chez les entérobactéries du groupe 3 (*Enterobacter* etc.)).

Si mutation système de régulation -> hyperproduction AmpC.

Hyperproduction d'AmpC = affecte la plupart des beta-lactamines à l'exception des carbapénèmes.

C4G (céfépime) théoriquement plus stable à la céphalosporinase AmpC, mais peuvent quand même être touchées.

Hyperproduction de céphalosporinase = mécanisme le plus fréquent de résistant au ceftazidime

***Pseudomonas aeruginosa* : AmpC hyperproduite**

Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ticarcilline			Amikacine	<= 2	S
Ticarcilline/acide clavulanique	> 64	R	Gentamicine		
Pipéracilline	> 64	R	Tobramycine	<= 1	S
Pipéracilline/tazobactam	> 64	R	Ciprofloxacine	<= 0,25	I
Ceftazidime	> 32	R	Lévofloxacine	1	I
Céfépime	32	R	Colistine	2	S
Aztréonam	> 32	R	Rifampicine		
Imipénème	2	I	Triméthoprime/ sulfaméthoxazole		
Méropénème	1	S			

AmpC hyperproduite: peut rester sensible au céfépime ou être résistant si production de très haut niveau ou autre mécanisme de résistance associé.

Ne touche pas les carbapénèmes

Résistance enzymatique acquise

- **2. Beta-lactamase à spectre restreint**

Pénicillinase: Classe A de Ambler (ex. TEM-1)

Inhibées par les inhibiteurs de pénicillinase (ex. acide clavulanique, Tazobactam)

Oxacillinase à spectre restreint: Classe D de Ambler (ex. OXA-1)

Peuvent hydrolyser fortement le céfépime, sans hydrolyser le ceftazidime.

Donc possible d'avoir un phénotype ceftazidime sensible, céfépime résistant.

Résistance enzymatique acquise

- 3. Beta-lactamase à spectre étendu (BLSE)

Beta-lactamases à spectre étendu de classe A de Ambler (ex. PER-1, VEB-1)

Beta-lactamases à spectre étendu de classe D de Ambler (ex. diverses oxacillinases)

Pas de recommandation de précautions complémentaires spécifiques pour *P. aeruginosa* produisant une BLSE.

De plus mise en évidence difficile pour le laboratoire (différent des entérobactéries).

Non-recherché en routine au laboratoire

Résistance enzymatique acquise

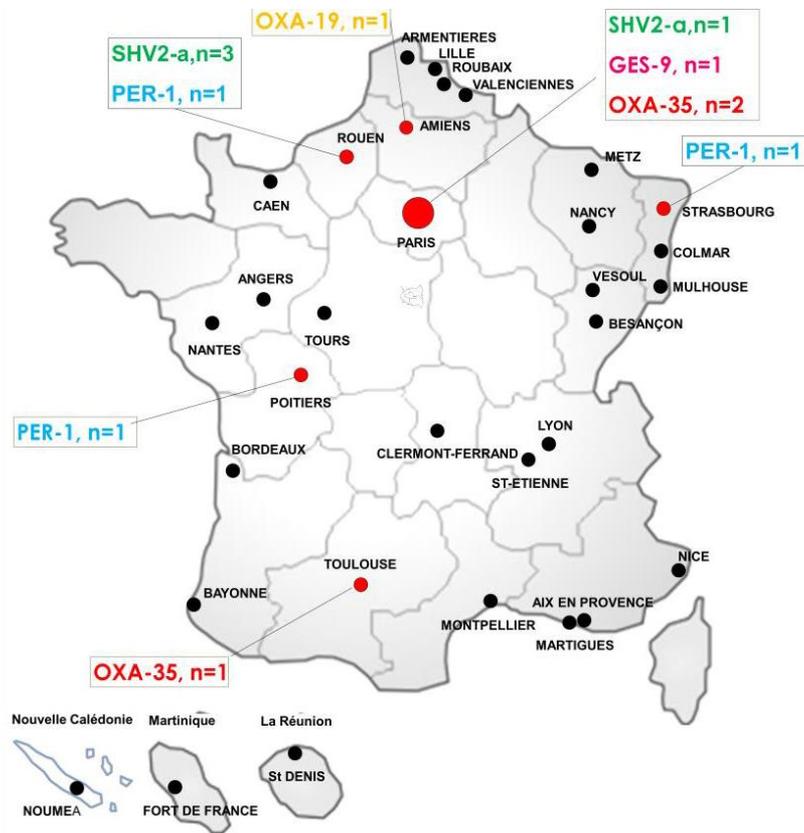
• 3. Beta-lactamase à spectre étendu (BLSE)

En France principalement SHV (4 souches), PER (3 souches) et des oxacillinases (4 souches).

Etude réalisée un mois donné dans 35 laboratoires français sur souches non-sensibles au ceftazidime ou non-sensible à l'imipénème.

Seulement 5% des souches résistantes au ceftazidime produisaient une BLSE (mécanisme rare).

-> Mécanisme le plus fréquent de R au ceftazidime = hyperproduction AmpC.



Résistance enzymatique acquise

- **4. Carbapénémases**

Surtout des carbapénémases de **classe B (métallo-enzymes)**: ex. **VIM, NDM, IMP**

Hydrolysent **toutes les beta-lactamines sauf l'aztréonam**.

Hydrolysent même nouvelles molécules ceftazidime-avibactam ou ceftolozane-tazobactam (ne fonctionnent pas sur les carbapénémases de classe B qui sont majoritaires chez *P. aeruginosa*).

***Pseudomonas aeruginosa* : carbapénémase VIM**

Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ticarcilline			Amikacine	> 32	R
Ticarcilline/acide clavulanique	> 64	R	Gentamicine		
Pipéracilline	> 64	R	Tobramycine	> 8	R
Pipéracilline/tazobactam	> 64	R	Ciprofloxacine	0,5	I
Ceftazidime	> 32	R	Lévofloxacine	0,5	I
Céfépime	> 32	R	Colistine	2	S
Aztréonam	4	I	Rifampicine		
Imipénème	> 8	R	Triméthoprimé/ sulfaméthoxazole		
Méropénème	> 8	R			

Carbapénémase VIM : hydrolyse toutes les beta-lactamines à haut niveau sauf l'aztréonam (sensible forte posologie) si pas d'autre mécanisme de résistance associé.

Résistance enzymatique acquise

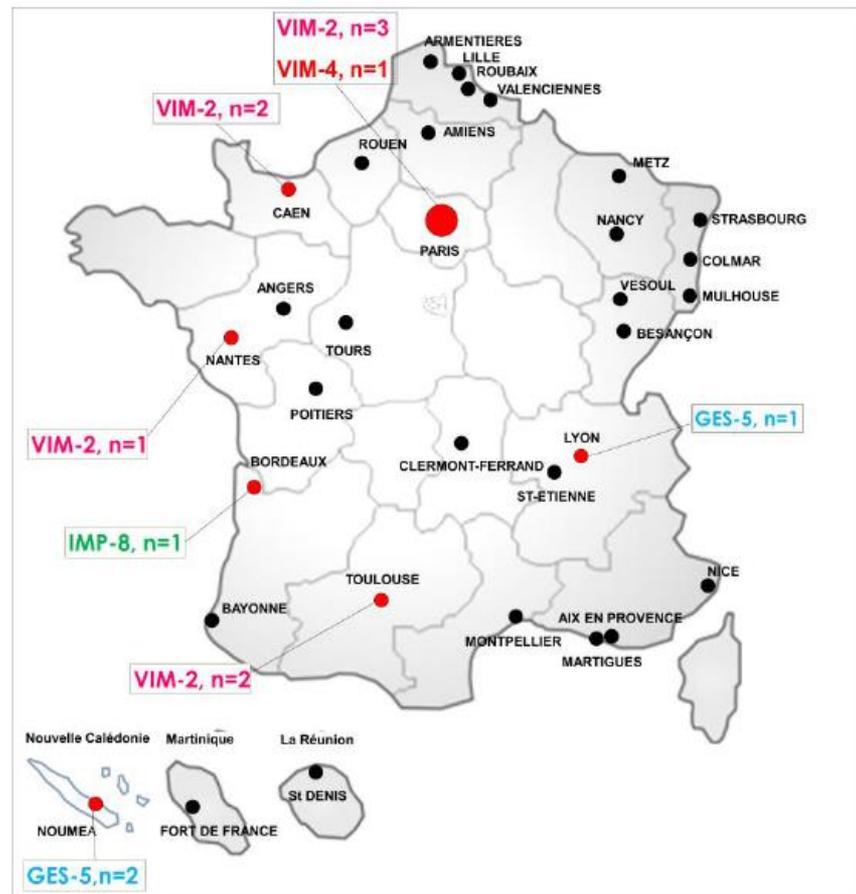
- **Carbapénémases**

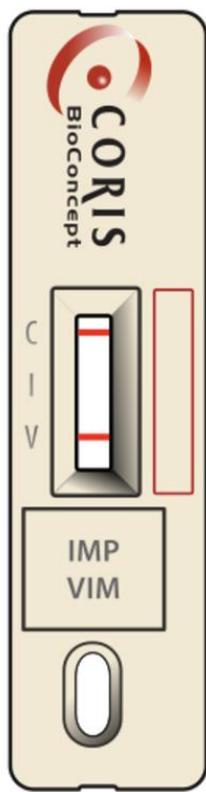
En France principalement **VIM** (8 souches) dans étude GERPA en 2015.

Etude réalisée un mois donné dans 35 laboratoires français sur souches non-sensibles au ceftazidime ou non-sensible à l'imipénème.

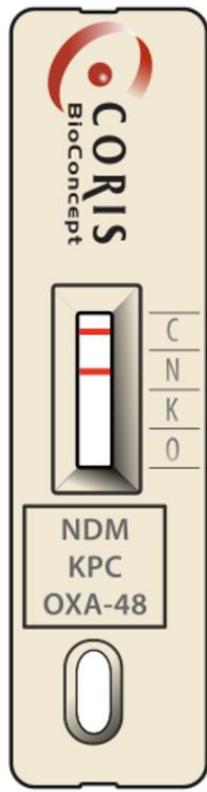
Seulement 5% des souches résistantes aux carbapénèmes produisent une carbapénémase (mécanisme rare).

-> Mécanisme le plus fréquent = perte de la porine OprD2 (non-enzymatique)



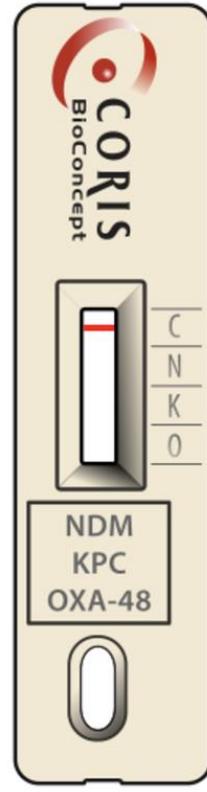


VIM

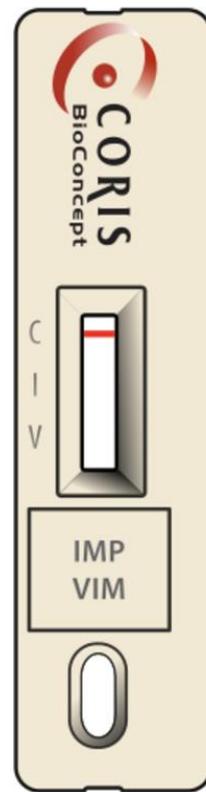


NDM

CORIS RESIST 5



Negative



Negative

Test immuno-chromatographiques pour les carbapénémases chez les Entérobactéries ou *Pseudomonas*

	P.aeruginosa
BETA-LACTAMINES	
Pipéracilline/Tazobactam	Résistant >64/4 mg/l
Ceftazidime	Résistant >64 mg/l
Ceftazidime/Avibactam	Résistant >32/4 mg/l
Ceftolozane/Tazobactam	Résistant >32/4 mg/l
Céfépime	Résistant >32 mg/l
Aztréonam	<=2 mg/l Sensible à Forte Posologie
Imipénème	Résistant >32 mg/l
Méropénème	Résistant >32 mg/l
Imipénème/relebactam	Résistant >16/4 mg/l
Céfiderocol	Sensible 2 mg/l
AMINOSIDES	
Amikacine	Résistant >64 mg/l
QUINOLONES	
Ciprofloxacine	Résistant >4 mg/l
DIVERS	
Colistine	Utilisable en association 1 mg/l

Panel PCR carbapénèmases classe B :

blaNDM :	POSITIF
blaVIM :	POSITIF
blaIMP :	Négatif

Séquençage des gènes amplifiés :

Technique Sanger - RUO 3500 (ThermoFischer Scientific)

Résultat :

blaNDM-1,
blaVIM-2,
blaOXA-10

Nous vous confirmons la présence des carbapénèmases NDM-1 et VIM-2.

Par ailleurs, les mécanismes de résistance suivants ont été identifiés :

- La production d'une oxacillinase à spectre restreint OXA-10.
- La résistance aux aminosides peut être expliquée par :
- La production d'une méthylase de l'ARNr 16S de type RrmB.

CNR Résistance antibiotiques Besançon

Possibilité d'avoir le mécanisme de résistance précis en envoyant la souche au CNR (ex. NDM-1 et VIM-2 au lieu de simplement NDM et VIM)

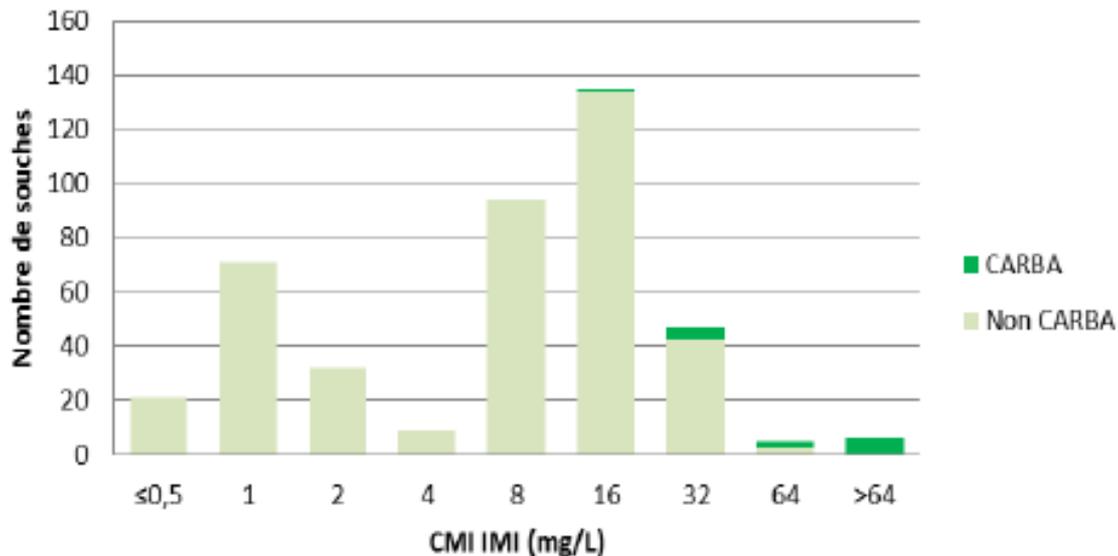
Résistance enzymatique acquise

- Carbapénémases

Etude GERPA 2015

Carbapénémase = CMI élevées à l'imipénème.

Distribution des souches Carba+ selon la CMI imipénème



Résistance enzymatique acquise

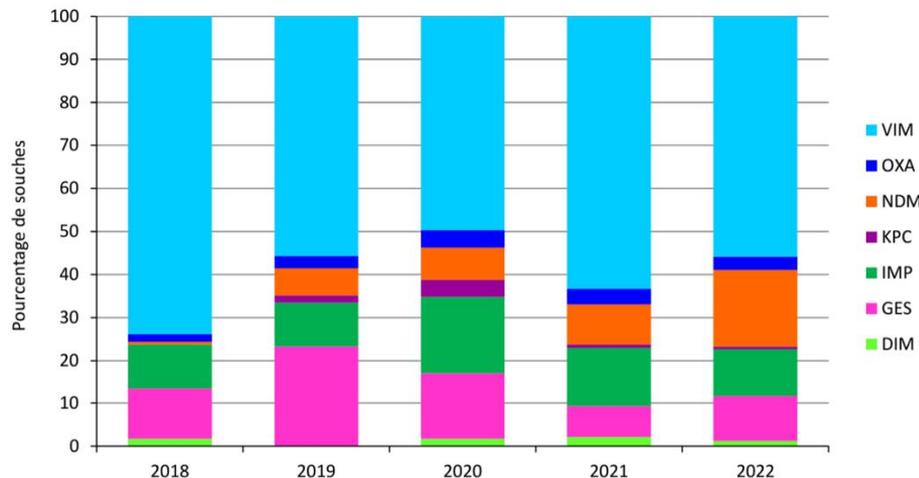


Figure 40 : Proportion des principales carbapénémases identifiées chez *P. aeruginosa* sur la période 2018-2022.

CNR Résistance antibiotiques Besançon

Carbapénémase = surtout VIM, mais aussi NDM et IMP (metallo-carbapénémases)

Résistances enzymatiques

β -lactamine	Céphalosporinase hyperproduite	Pénicillinase (TEM)	Oxacillinase (spectre étroit)	BLSE classe A (PER, VEB)	BLSE classe D (type OXA)	Carbapénémasse classe B (VIM, IMP)
Ticarcilline	R	R	R	R	R	R
Claventin	R	I/S	I/R	S/I	I/R	R
Pipéracilline	I/R	R	R	R	R	R
Tazocilline	I/R	I/S	I/R	S/I	I/R	R
Ceftazidime	I/R	S	S	R	I/R	R
Céfépime	I/R	S	I/R	I/R	I/R	R
Aztreonam	I/R	S	S	R	S/I	S
Imipénème	S	S	S	S	S	R
Méropénème	S	S	S	S	S	R

Résistance non-enzymatique acquise

- **1. Perte ou mutation de la porine OprD2**

Résistance aux carbapénèmes. Mécanisme très fréquent (beaucoup plus fréquent que carbapénémase). Présent chez 10% des souches de *P. aeruginosa*.

Porine = canal qui permet de laisser entrer des molécules spécifiques à travers à la membrane externe.

Perte porine OprD2 = diminution entrée de l'imipénème + hydrolyse partielle par la céphalosporinase naturelle.

Méropénème moins touché que l'imipénème par ce mécanisme.

***Pseudomonas aeruginosa* : Perte ou mutation porine OprD**

Antibiotique	CMI	Interprétation	Antibiotique	CMI	Interprétation
Ticarcilline			Amikacine	≤ 2	S
Ticarcilline/acide clavulanique	16	I	Gentamicine		
Pipéracilline	16	I	Tobramycine	≤ 1	S
Pipéracilline/tazobactam	≤ 4	I	Ciprofloxacine	$\leq 0,25$	I
Ceftazidime	≤ 1	I	Lévofloxacine	0,5	I
Céfépime	≤ 1	I	Colistine	2	S
Aztréonam	2	I	Rifampicine		
Imipénème	> 8	R	Triméthoprime/ sulfaméthoxazole		
Méropénème	4	I			

Résistance isolée aux carbapénèmes: imipénème résistant, méropénème un peu moins touché (ici reste sensible à forte posologie)

Souche hyperproductrice d'AmpC + mutation porine OprD

Restauration de la sensibilité à l'imipénème *in vitro* en présence de cloxacilline

Sensibilité aux beta-lactamines = dynamique :

- entrée (porines)
- activité beta-lactamase sur antibiotique
- sortie (efflux)



16.3488

Mueller-Hinton



16.3488 / cloxacillin 2,000

Mueller-Hinton + cloxacilline (inhibe cephalosporinase AmpC)

Résistance non-enzymatique acquise

- **Surexpression des systèmes d'efflux**

Quatre systèmes d'efflux décrits, présents naturellement chez *P. aeruginosa*.

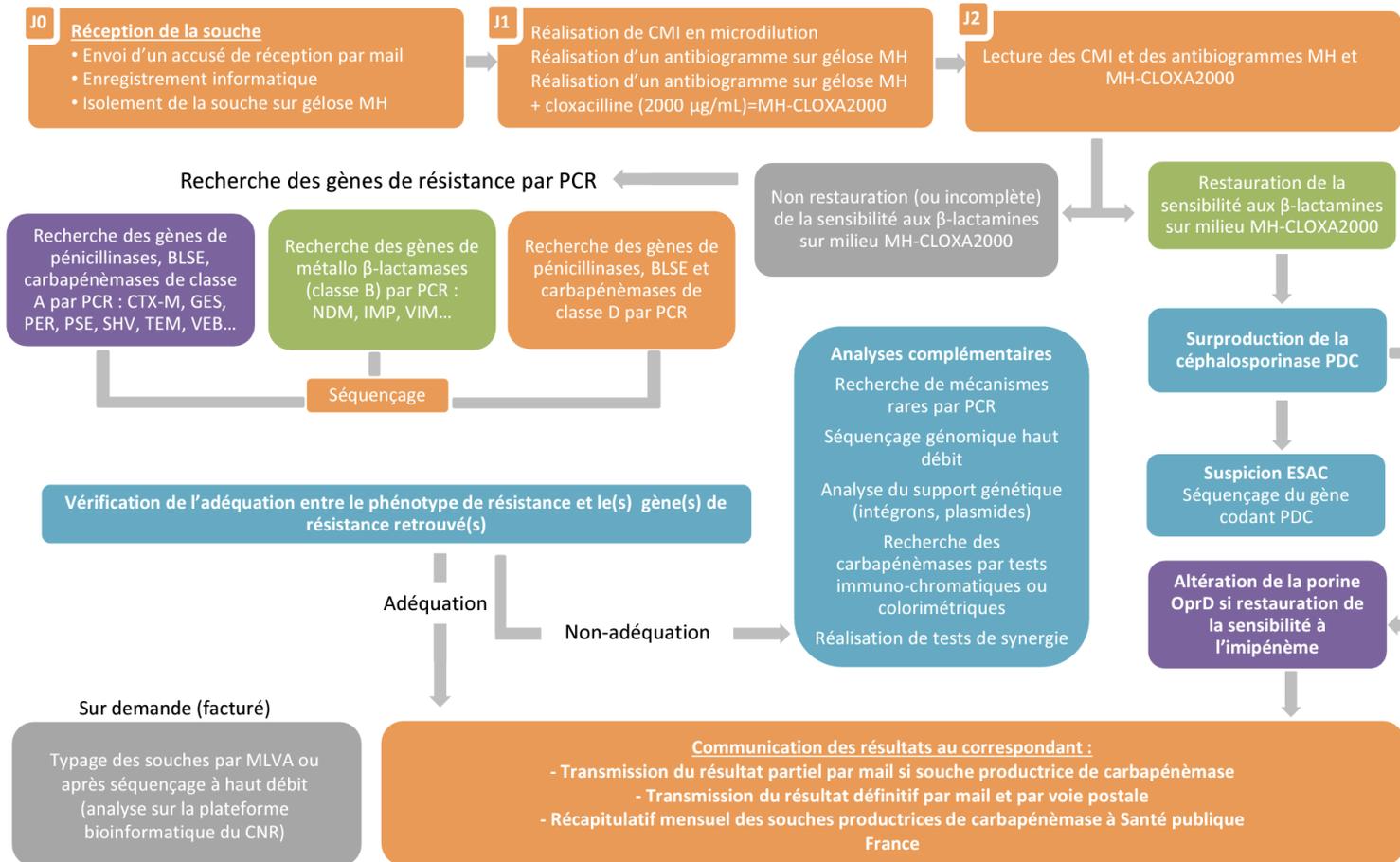
Ce qui pose problème, c'est leur sur-expression.

Diminution sensibilité à plusieurs classes d'antibiotiques qui ne sont pas reliés au niveau de la structure.

Ex. MexAB-OprM = touche certaines beta-lactamines, fluoroquinolones, chloramphénicol.

L'efflux est souvent associé à d'autres mécanismes de résistance. Difficile de faire la part des choses.

Etude des mécanismes de résistance chez *P. aeruginosa* : logigramme



Pseudomonas aeruginosa

- **Ceftolozane-Tazobactam**

Molécule disponible récemment ayant une excellente activité anti-*Pseudomonas*.

Recommandé de la tester dans la liste standard de l'antibiogramme (surtout intéressant si ceftazidime-R).

Liste standard		Liste complémentaire	
Amikacine	Gentamicine	Céfiderocol	Lévofoxacine
Aztréonam	Imipénème	Ceftazidime-avibactam	Méropénème-vaborbactam
Céfépime	Méropénème	Colistine	Ticarcilline
Ceftazidime	Pipéracilline	Fosfomycine	Ticarcilline-acide clavulanique
Ceftolozane-tazobactam	Pipéracilline-tazobactam	Imipénème-relebactam	
Ciprofloxacine	Tobramycine		

Pseudomonas aeruginosa

- **Ceftolozane-Tazobactam**

Nouvelle céphalosporine avec activité anti-Pyo et contre les entérobactéries BLSE. Spectre d'action inclut également certains anaérobies comme *Bacteroides fragilis*.

Nom commercial = **Zerbaxa**

Ceftolozane = spectre d'action similaire à la ceftazidime, mais avec une efficacité accrue contre *P. aeruginosa*.

Ceftolozane = reste actif quand *P. aeruginosa* hyperproducteur de AmpC (très fréquent).

Par contre pas d'activité contre *P. aeruginosa* producteur de métallo beta-lactamase (VIM, etc.)

Pseudomonas aeruginosa

- **Ceftolozane-Tazobactam**

Ajout de Tazobactam n'apporte pas grand-chose sur *P. aeruginosa*, sauf pour les rares souches productrices de BLSE.

Par contre intéressant pour élargir le spectre aux entérobactéries productrices de BLSE qui seraient résistantes au ceftolozane seul.

AMM dans infections intra-abdominales compliquées, pyélonéphrites aiguës.

Validé sur pneumopathies nosocomiales sous ventilation mécanique. Résultats publiés dans Lancet Infect Dis en 2019 (Etude = ASPECT-NP, Kollef et al.)

-> non-inférieur au méropénème pour les pneumopathies nosocomiales.

Pseudomonas aeruginosa : ceftolozane-tazobactam

	Ceftolozane-tazobactam group	Meropenem group	% difference (95% CI)*
28-day all-cause mortality (ITT population)†			
Overall	87/362 (24.0%)	92/364 (25.3%)	1.1 (-5.1 to 7.4)‡
Ventilator-associated pneumonia	63/263 (24.0%)	52/256 (20.3%)	-3.6 (-10.7 to 3.5)§
Ventilated hospital-acquired pneumonia	24/99 (24.2%)	40/108 (37.0%)	12.8 (0.2 to 24.8)§
28-day all-cause mortality (microbiological ITT population)†	53/264 (20.1%)	63/247 (25.5%)	4.4 (-2.8 to 11.8)‡
Clinical cure at test of cure (ITT population)†			
Overall	197/362 (54.4%)	194/364 (53.3%)	1.1 (-6.2 to 8.3)‡
Ventilator-associated pneumonia	147/263 (55.9%)	146/256 (57.0%)	-1.1 (-9.6 to 7.4)§
Ventilated hospital-acquired pneumonia	50/99 (50.5%)	48/108 (44.4%)	6.1 (-7.4 to 19.3)§
Clinical cure at test of cure (clinically evaluable population)¶			
Overall	139/218 (63.8%)	143/221 (64.7%)	-1.3 (-10.2 to 7.7)‡
Ventilator-associated pneumonia	105/159 (66.0%)	111/172 (64.5%)	1.5 (-8.7 to 11.6)§
Ventilated hospital-acquired pneumonia	34/59 (57.6%)	32/49 (65.3%)	-7.7 (-25.0 to 10.6)§
Microbiological eradication at test of cure (microbiological ITT population)†	193/264 (73.1%)	168/247 (68.0%)	4.5 (-3.4 to 12.5)‡

Table 1. *In vitro* activities of ceftiderocol (S-649266), ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam and other related drugs against imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*, imipenem-resistant *Acinetobacter baumannii* and *Stenotrophomonas maltophilia* associated with bloodstream infections

Species (no. of isolates)	MIC (mg/L)			No. (%) of isolates with indicated susceptibility category ^a		
	range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	S	I	R
<i>P. aeruginosa</i> (n = 100)						
ceftiderocol	≤0.03–8	0.12	1	NA	NA	NA
ceftazidime	0.5 to >64	8	64	54 (54)	12 (12)	34 (34)
cefepime	1 to >16	8	>16	67 (67)	18 (18)	15 (15)
ceftolozane/tazobactam	0.25–32	0.5	4	95 (95)	4 (4)	1 (1)
ceftazidime/avibactam	1 to >64	4	16	83 (83)	0 (0)	17 (17)
meropenem	0.25 to >64	8	32	25 (25)	19 (19)	56 (56)
aztreonam	1 to >32	16	>32	44 (44)	19 (19)	37 (37)
ciprofloxacin	≤0.25 to >4	0.5	>4	57 (57)	11 (11)	32 (32)
amikacin	≤4–32	4	8	97 (97)	3 (3)	0 (0)
tigecycline	≤0.25 to >4	>4	>4	NA	NA	NA
colistin	≤0.5 to >8	1	2	95 (95)	0 (0)	5 (5)

Sur 100 souches de *P. aeruginosa* résistants à l'imipénème:

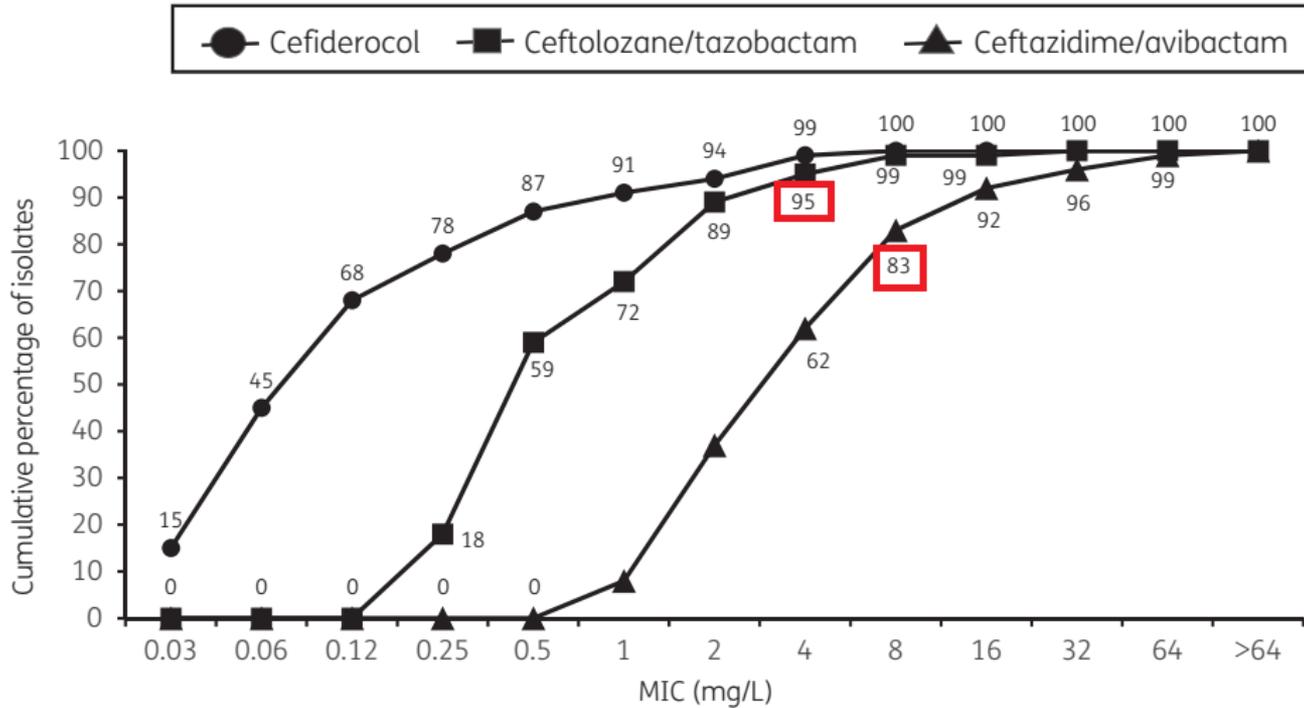
54% de sensibilité au ceftazidime

67% de sensibilité au céfépime

83% de sensibilité au ceftazidime-avibactam

95% de sensibilité au ceftolozane-tazobactam

(a) Imipenem-resistant *P. aeruginosa* (n = 100)



83% de sensibilité au ceftazidime-avibactam
95% de sensibilité au ceftolozane-tazobactam

Acinetobacter baumannii



Acinetobacter baumannii

Cocco-bacilles à Gram négatif

Acinetobacter spp. Flore cutanée (*A. Iwoffii*, *A. johnsonii*...).

A. baumannii transmission manuportée + rôle de réservoir de l'environnement.

Infections associées aux soins (bactériémies, pneumopathies...).

Epidémies décrites en **réanimation** et dans les services des **brûlés**.

***Acinetobacter baumannii* complex (*A. baumannii*, *A. pittii*, *A. nosocomialis*) = plus pathogènes**

***A. baumannii* : résistances naturelles**

- Produit naturellement:

une **céphalosporinase** (AmpC)

Une **oxacillinase** (OXA-51)

- Résistance naturelle à plusieurs beta-lactamines:

Résistant à l'amoxicilline et à l'amoxiclav (Augmentin)

Résistant aux C1G et C2G

Résistant à certaines C3G (ceftriaxone et céfotaxime)

Résistant à l'ertapénème

Résistances enzymatiques acquises

- **1. Hyperproduction de céphalosporinase chromosomique**

Deux beta-lactamases naturelles: OXA-51+ AmpC

AmpC = non-inductible

Surexpression possible due à la présence de des séquences d'insertions en amont du gène.

Hyperproduction d'AmpC = affecte la plupart des beta-lactamines à l'exception des carbapénèmes.

C4G (céfépime) plus stable à la céphalosporinase AmpC.

Ticarcilline +/- acide clavulanique moins touchées que la pipéracilline et la tazocilline.

Résistances enzymatiques acquises

- **2. Beta-lactamase à spectre restreint**

- **Pénicillinase:** Classe A de Ambler (ex. TEM-1)

Inhibées par les inhibiteurs de pénicillinase (acide clavulanique, Tazobactam)

- **Oxacillinase** à spectre restreint: Classe D de Ambler (ex. OXA-10, OXA-20, OXA-21)

Ne sont pas inhibées par les inhibiteurs de pénicillinase.

Résistances enzymatiques acquises

- **3. Beta-lactamase à spectre étendu**

Difficile à mettre en évidence au laboratoire (pas aussi simple que pour une entérobactérie).

Prévalence réelle difficile à évaluer.

Résistance aux C3G et céfépime.

Souvent associées à d'autres gènes de résistances (ex. aminosides)

Reste sensible aux carbapénèmes.

BLSE la plus fréquente en France = **VEB-1** (Vietnamese Extended spectrum Beta-lactamase)

Epidémie dans le Nord de la France en 2003 - 2005

Résistances enzymatiques acquises

- **4. Carbapénémases**

Principalement des enzymes de classe D (oxacillinase)

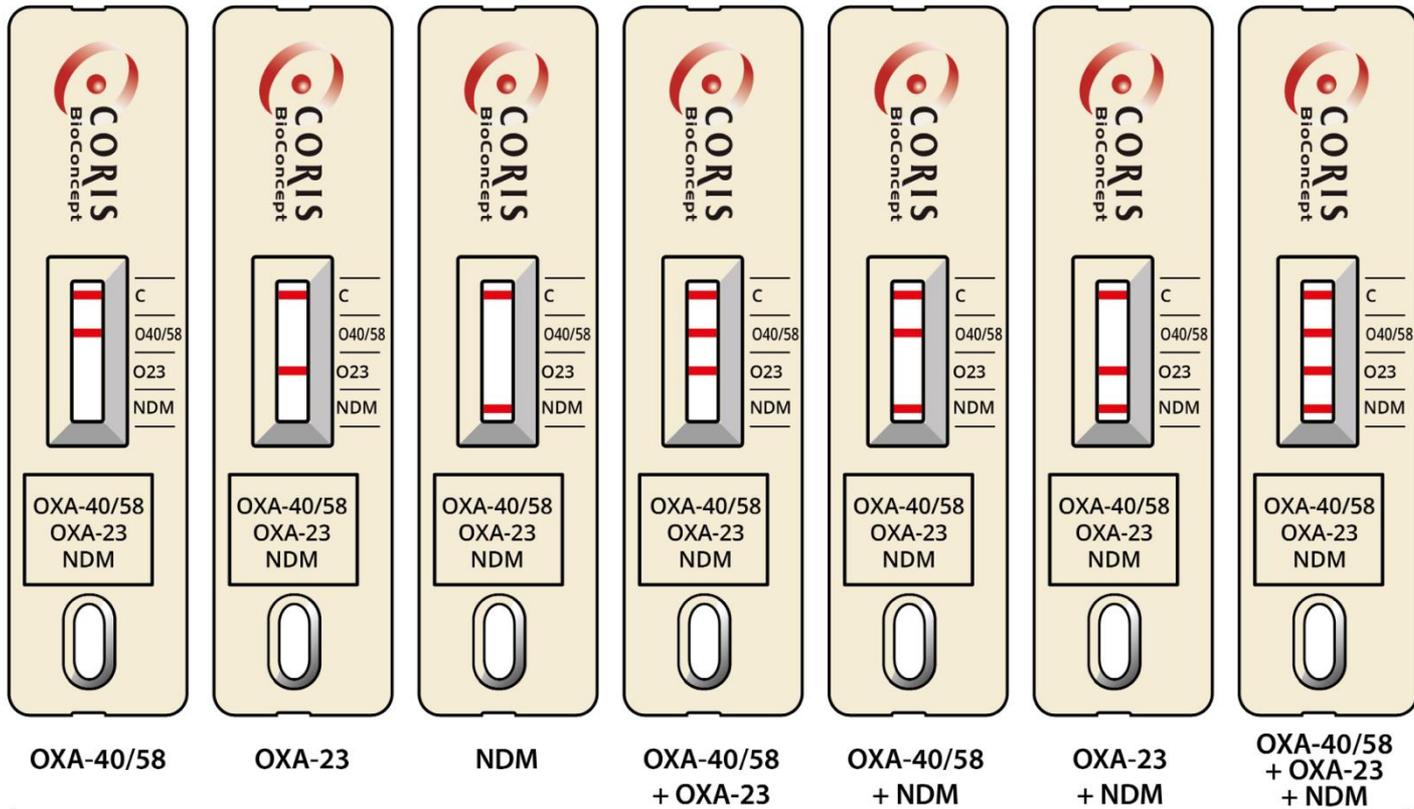
Surtout **OXA-23** dans la région

Hydrolyse principalement les carbapénèmes, et très peu les C3G / C4G. Cependant en pratique associés à d'autres mécanismes de résistance.

OXA-23 peut être chromosomique ou plasmidique. Provient probablement de souches d'*Acinetobacter radioresistens* (échanges génétiques inter-espèces au sein du genre *Acinetobacter*)

Autres carbapénémases de classe D décrites (groupe OXA-40/58) mais plus rares dans la région.

Il existe également métallo-carbapénémases (classe B) type NDM (ou plus rarement VIM). On retrouve des souches à la fois OXA-23+NDM.



CORIS RESIST Acineto

Test immuno-chromatographiques pour les carbapénémases chez *Acinetobacter*

Séquençage des gènes amplifiés :

Technique Sanger - RUO 3500 (ThermoFischer Scientific)

Résultat :

blaOXA-72

Conclusion :

La résistance à la ceftazidime et aux carbapénèmes peut être expliquée par :

- La surproduction de la céphalosporinase AmpC,
- La production d'une carbapénémase OXA-72.

Par ailleurs, les mécanismes de résistance suivants ont été identifiés :

- La production d'une pénicillinase à spectre restreint de type RTG,
- La résistance aux aminosides peut être expliquée par :
- La production d'une méthylase de l'ARNr 16S de type ArmA.

Attention, souche possédant un mécanisme de résistance à caractère épidémique.

CNR Résistance antibiotiques Besançon

Possibilité d'avoir le mécanisme de résistance précis en envoyant la souche au CNR (ex. OXA-72 au lieu de simplement OXA du groupe OXA40/58)

Résistance enzymatique acquise

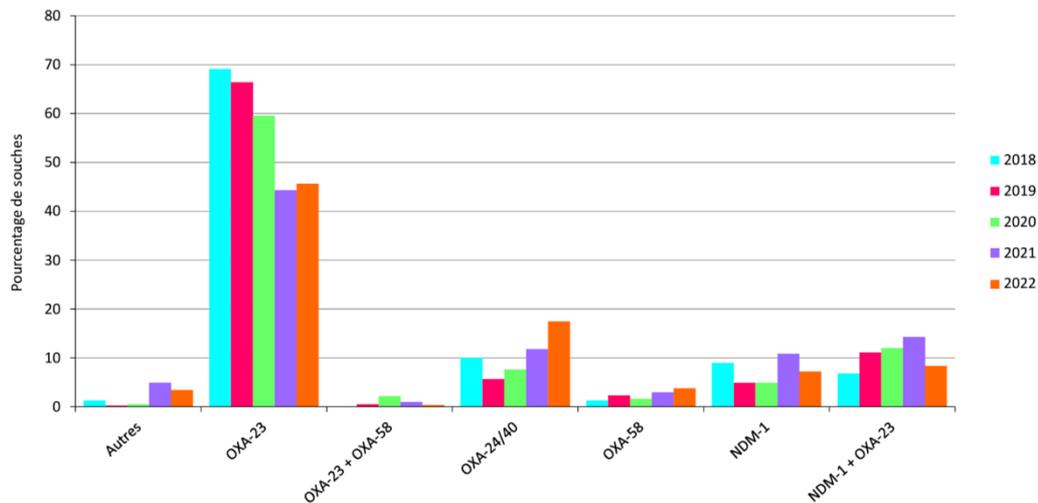


Figure 44 : Proportion des différentes carbapénémases identifiées chez *A. baumannii* sur la période 2018-2022.

CNR Résistance antibiotiques Besançon

Carbapénémase = surtout OXA-23, mais augmentation de NDM et de NDM+OXA-23

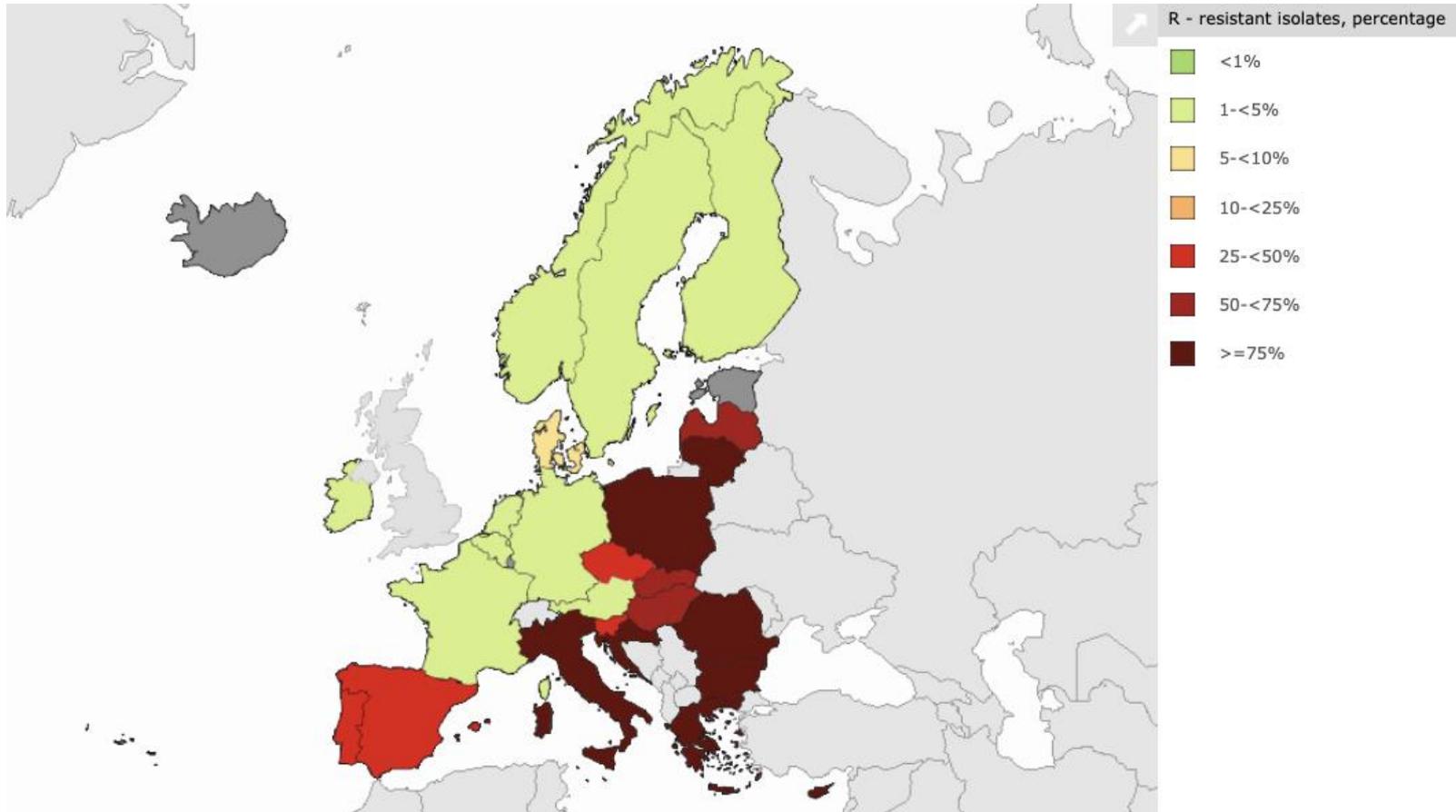
Résistances enzymatiques

β -lactamine	Sensible	AmpC surexprimée	Pénicillinase	Oxacillinase à spectre restreint	BLSE	Carbapénémase
Ticarcilline	S	S/I	R	R	R	R
Claventin	S	S/I	I/R	R	I/R	R
Pipéracilline	S	I/R	I/R	R	R	R
Tazocilline	S	I/R	I/R	R	I/R	R
Ceftazidime	S	R	S	S	R	R
Céfépime	S	I/R	S	S	R	R
Aztreonam	I/R	I/R	I/R	I/R	R	R
Imipénème	S	S	S	S	S	R
Méropénème	S	S	S	S	S	R

Figure 3.19. *Acinetobacter* spp. Distribution of isolates: fully susceptible and resistant to one, two and three antimicrobial groups (among isolates tested against fluoroquinolones, aminoglycosides and carbapenems), EU/EEA countries, 2017



Acinetobacter R aux carbapénèmes en 2022



3,5% des souches en France (données ECDC)

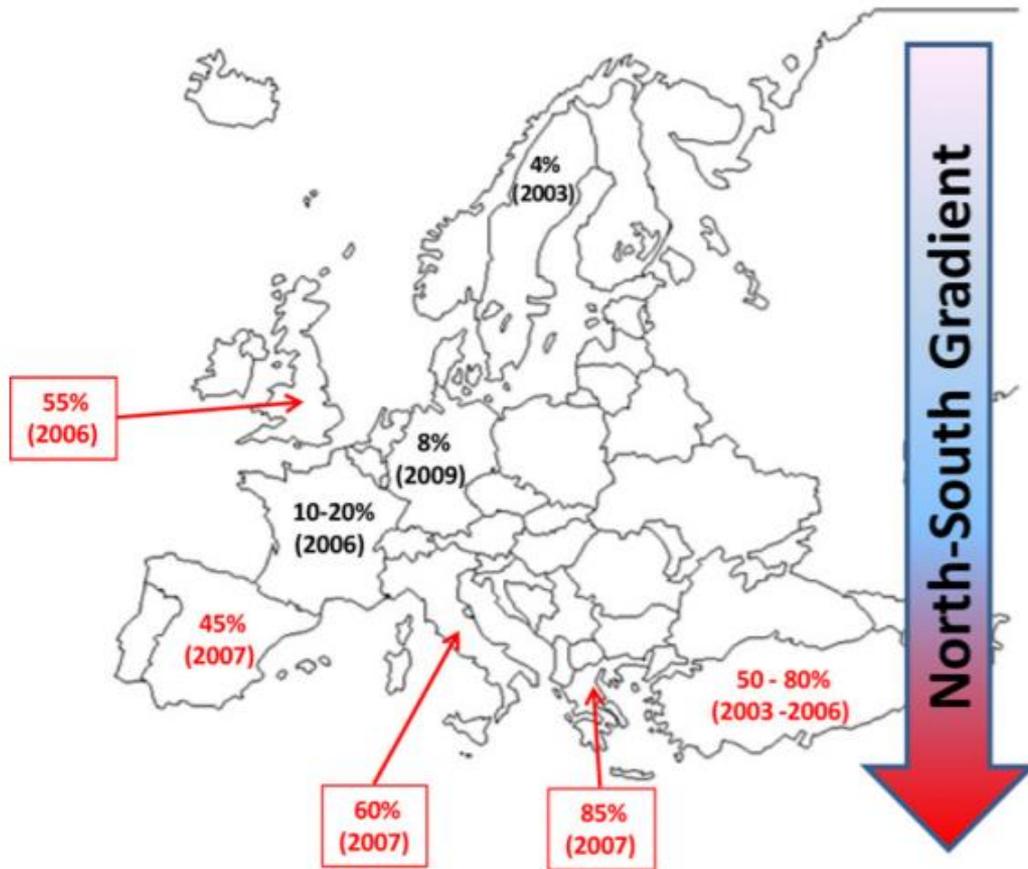


Fig. 3. The north to south gradient of prevalence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe (1997–2008).

Résistances non-enzymatiques acquises

- **1. Modification des porines**

Perte de CarO (porine) engendre une diminution sensibilité à l'imipénème.

Soit perte de porine, ou diminution expression de porines.

- **2. Surexpression systèmes d'efflux**

70% des souches possède le système d'efflux AdeABC

Problématique uniquement quand elle est sur-exprimée (mutations au niveau du régulateur)

Efflux concernant: beta-lactamines (dont céfépime et carbapénèmes), aminosides, chloramphénicol, fluoroquinolones, triméthoprim, tigécycline.

Résistances non-enzymatiques acquises

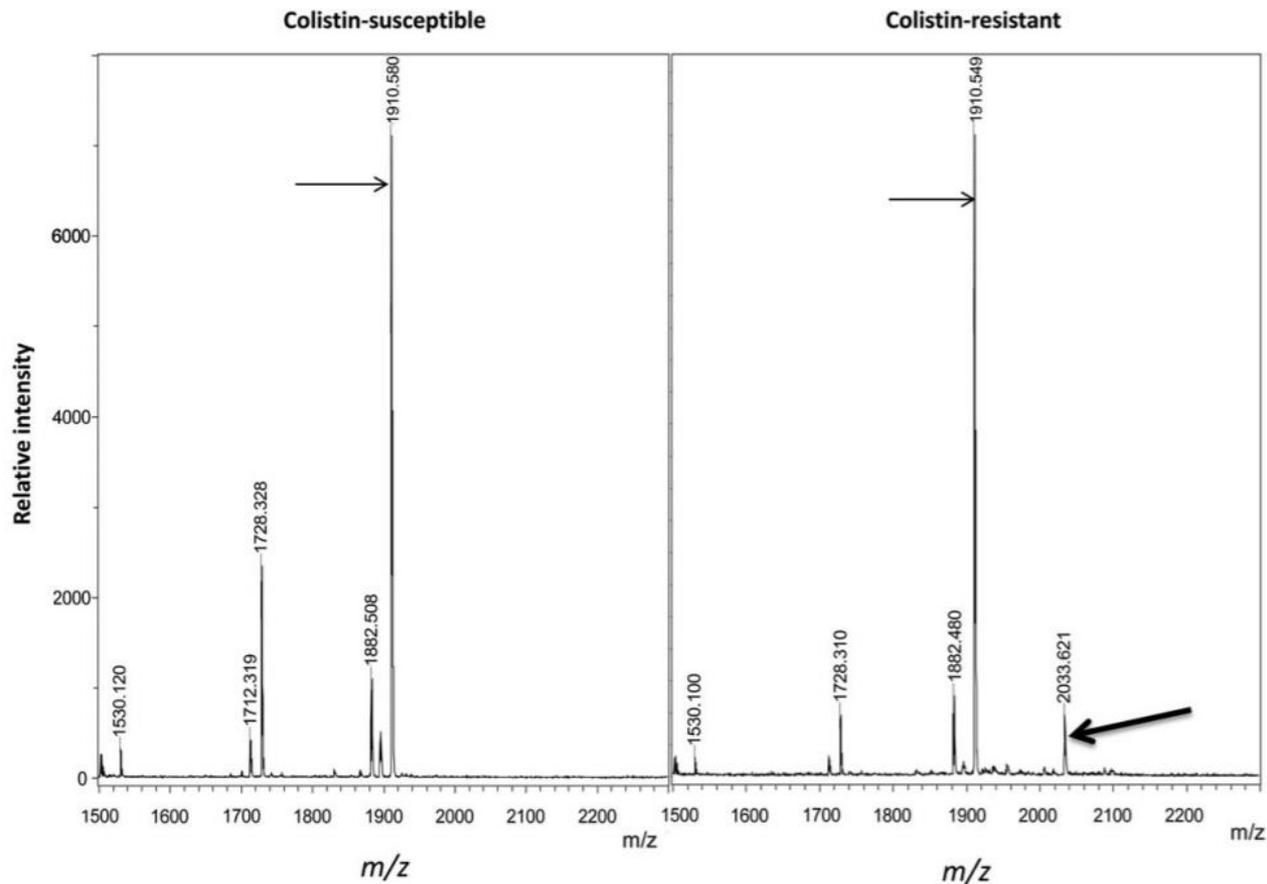
- **3. Polymyxines (colistine)**

Souvent seule classe de molécule active sur les *Acinetobacter baumannii* résistant à l'imipénème (ABRI)

Habituellement sensible, mais résistance peut apparaître sous traitement.

Colistine = polypeptide cationique (chargé positivement) -> interagit avec un composant chargé négativement du lipopolysaccharide (LPS) des Gram négatifs

Chez *Acinetobacter baumannii* il peut exister des mutations au niveau des gènes du lipide A (modification par la phosphoethanolamine, ou alors perte complète du LPS)



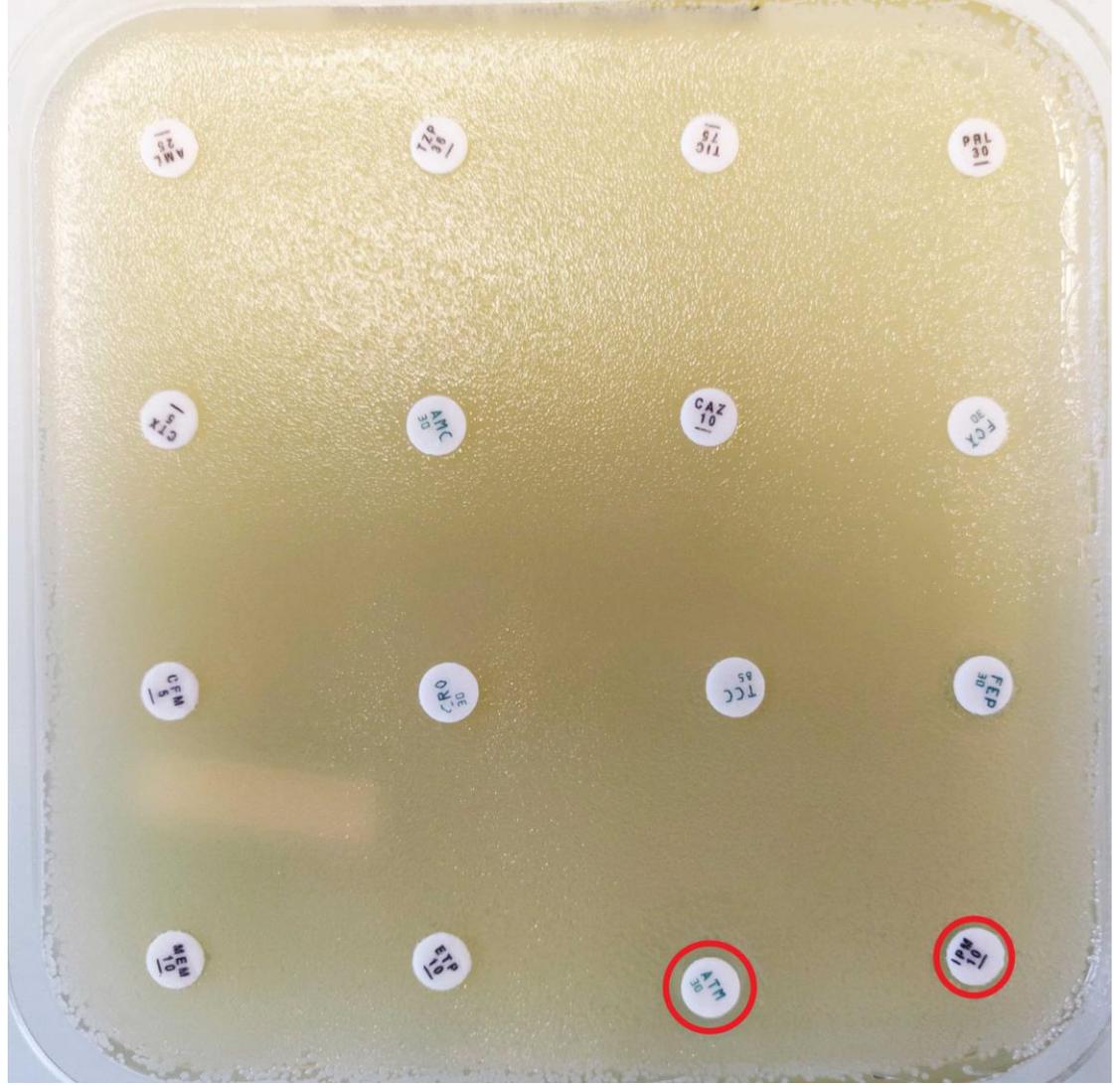
Lipide A: addition d'un phoshoethanolamine sur 20
souches résistantes à la colistine (MALDI-TOF)

Patient	Sequence Type	OXA Carbapenemase	MIC, µg/mL													pEtN ^a
			CST	AMS	PTZ	AMK	GEN	TOB	CIP	TMP-SMX	IPM	MEM	DOR	MIN	TIG	
1	92	51-like, 23	>256	16/8	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	>8	>4	6	3	+
2	92	51-like, 23	>256	8/4	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	4	8	>4	2	1.5	+
3	92	51-like, 23	>256	16/8	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	>8	>4	12	4	+
4	92	51-like, 23	4	16/8	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	>8	>4	12	3	+
5	92	51-like, 23	128	16/8	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	>8	>4	8	2	+
6	282	51-like, 23	128	≤4/2	>64/4	≤4	>8	≤1	>2	>4/76	4	8	>4	1.5	2	+
7	92	51-like, 23	64	32/16	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	>8	>4	1.5	0.25	+
8	92	51-like, 23	>256	16/8	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	8	>8	>4	2	1.5	+
9	92	51-like, 23	>256	16/8	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	>8	>4	8	4	+
10	92	51-like, 23	>256	16/8	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	8	8	>4	6	2	+
11	92	51-like, 23	32	16/8	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	8	>4	0.75	1	+
12	92	51-like, 23	256	16/8	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	>8	>4	0.25	0.25	+
13	92	51-like, 23	>256	8/4	64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	8	8	4	8	2	+
14	282	51-like, 23	32	8/4	>64/4	≤4	>8	≤1	>2	>4/76	>8	>8	>4	1.5	2	+
15	92	51-like, 23	16	32/16	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	>8	>4	8	2	+
16	92	51-like, 23	4	16/8	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	>8	>4	6	2	+
17	92	51-like, 23	64	≤4/2	64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	>8	8	>4	1	1.5	+
18	282	51-like, 23	16	8/4	>64/4	≤4	>8	≤1	>2	>4/76	>8	8	>4	1.5	2	+
19	92	51-like, 23	16	16/8	>64/4	16	8	8	>2	≤0.5/9.5	>8	>8	>4	2	2	+
20	451	51-like, 23	>256	64/32	>64/4	>32	>8	>8	>2	>4/76	8	>8	>4	6	1.5	+

Souches d'ABRI résistantes à la colistine.

AMS = ampicillin-sulbactam, AMK = amikacine, TOB = tobramycin,
 TMP-SMX = Bactrim, MIN = minocycline, TIG = tigécycline

ABRI Résistant à toutes les beta-lactamines dont carbapénèmes
(IPM = imipénème en bas à droite)



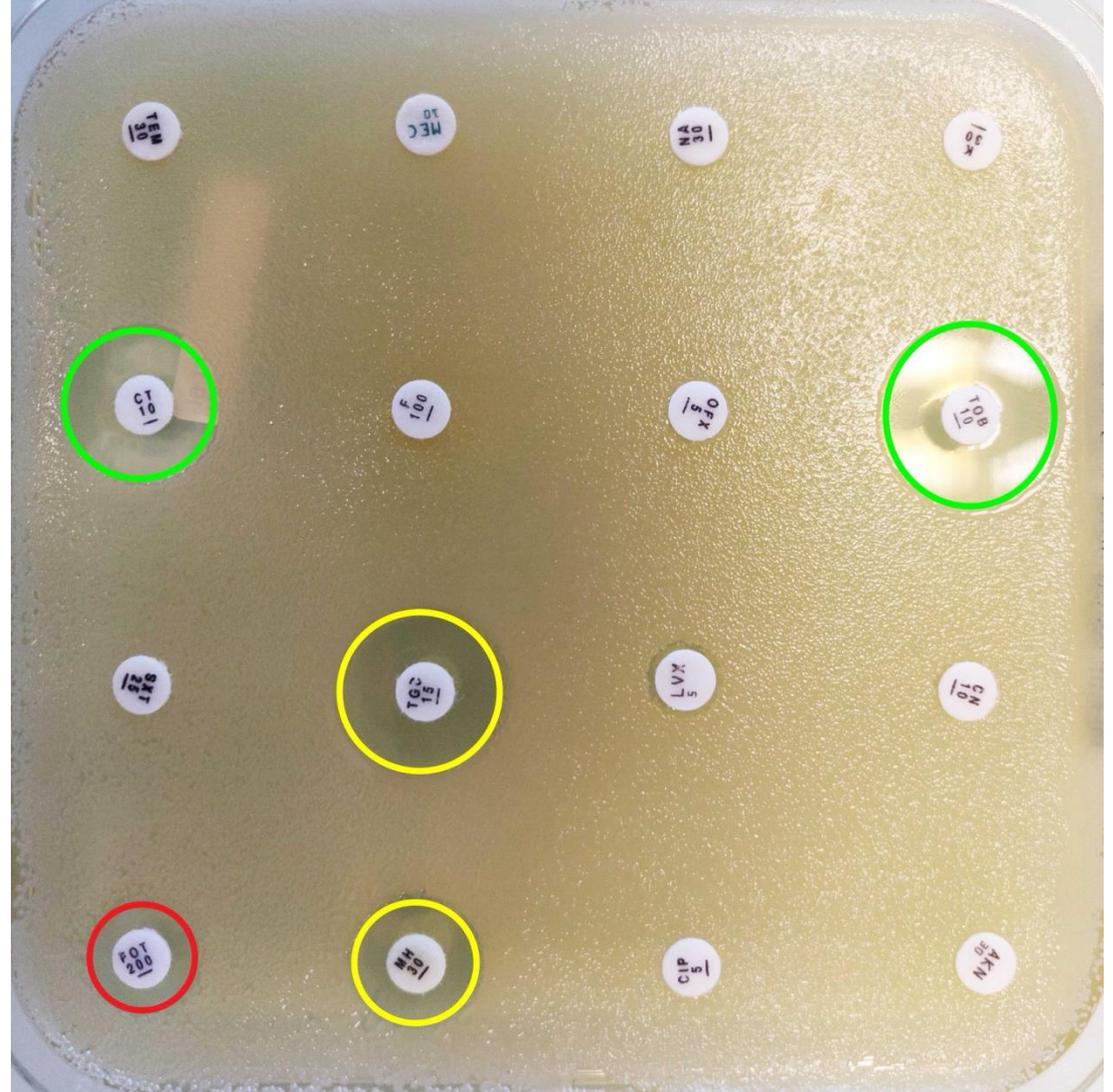
Souche sensible uniquement à :

- colistine (CT): doit être vérifiée en microdilution en milieu liquide

- tobramycine (TOB)

- tigécycline (TGC) nécessite de mesurer CMI (méthode E-test). Pas de borne disponible dans CASFM. Cut-off souvent utilisé à une CMI = 2 mg/L dans la littérature, mais PK/PD à 0,5 mg/L

- minocycline (MH): Sensible pour des CMI ≤ 4 mg/L



ABRI et colistine

Colistine = une des rares molécules qui reste sensible pour ABRI

Méthode d'antibiogramme en diffusion = pas performante pour détecter résistance à la colistine.

Nécessité de réaliser microdilution en milieu liquide.

Divers	Concentrations critiques (mg/L)			Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)			Notes Chiffres : commentaires généraux ou portant sur les concentrations critiques Lettres : commentaires portant sur les diamètres critiques
	S ≤	R >	ZIT		S ≥	R <	ZIT	
Colistine ¹	2	2			Note ^A	Note ^A		1/A. Pour évaluer la sensibilité de la colistine, utiliser une méthode permettant de déterminer la CMI (microdilution en milieu liquide uniquement). Les autres méthodes de détermination de la CMI (bandelettes à gradient de concentration) ou la méthode des disques ne doivent pas être utilisées pour cet antibiotique.

Forte utilisation de colistine pour traiter ABRI mais résistance rare.

Résistance à la colistine -> perte de fitness et diminution virulence (liées aux modifications du LPS)

ABRI et tigécycline

Mortalité plus élevée dans groupe tigécycline pour des CMI > à 2 mg/L
(Chuang et al, BMC Infectious Diseases 2014)

Results: A total of 294 adults with MDRAB pneumonia were enrolled, including 119 who received colistin and 175 who received tigecycline. We matched 84 adults who received colistin with an equal number of controls who received tigecycline. The two well matched cohorts share similar characteristics: the propensity scores are colistin: 0.37 vs. tigecycline: 0.37, ($P = .97$); baseline creatinine (1.70 vs. 1.81, $P = .50$), and the APACHE II score (21.6 vs. 22.0, $P = .99$). The tigecycline group has an excess mortality of 16.7% (60.7% vs. 44%, 95% confidence interval 0.9% – 32.4%, $P = .04$). The excess mortality of tigecycline is significant only among those with MIC >2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (10/12 vs. 37/84, $P = .01$), but not for those with MIC \leq 2 $\mu\text{g}/\text{mL}$ (4/10 vs. 37/84, $P = .81$).

ABRI et tigécycline

Autre étude (Gordon et al., JAC 2009)

Problème fréquent: souvent pas de groupe contrôle dans ces études, difficile de conclure.

Results: Thirty-four patients received tigecycline for MRAB or polymicrobial infection involving MRAB. Twenty-three (68%) had a positive clinical outcome: microbiological clearance was demonstrated in 10 of these. The overall mortality was 41% ($n = 14$), with nine deaths directly attributable to sepsis. Three patients had episodes of Gram-negative bacteraemia while receiving treatment with tigecycline, with documented resistance occurring in one patient. Overall, the correlation between microbiological and clinical outcomes was poor.

Conclusions: While tigecycline retains excellent *in vitro* activity against MRAB, its clinical efficacy remains uncertain. A prospective study, including the use of tigecycline in combination with other antimicrobial agents, should be undertaken to define its role in the treatment of MRAB.

ABRI et minocycline

La plus active des tétracyclines (dont tigécycline) in vitro.

50 à 70% des souches d'ABRI sont sensibles à la minocycline. Cependant peu de données, quasiment jamais utilisée en monothérapie.

Antimicrobial agent	Region (%susceptible [CLSI criteria])			
	USA ^a	EU-M ^a	LATAM ^a	APAC ^a
<i>A. baumannii</i> complex (No.)	(324)	(389)	(283)	(316)
Minocycline	81.8	58.6	88.0	65.2
Ceftazidime	40.4	8.0	14.5	17.7
Levofloxacin	39.8	8.5	13.8	18.7
Colistin	96.3	94.1	97.9	98.1
<i>MDR A. baumannii</i> complex (No.)	(200)	(361)	(249)	(260)
Minocycline	70.5	55.4	86.7	58.1
Ceftazidime	8.0	1.4	3.2	1.2
Levofloxacin	4.0	1.4	2.0	1.9
Colistin	94.4	93.6	98.0	98.1
<i>XDR A. baumannii</i> complex (No.)	(166)	(312)	(218)	(247)
Minocycline	68.7	49.7	84.9	56.3
Ceftazidime	1.2	0.3	0.5	0.4
Levofloxacin	0.0	0.0	0.0	0.4
Colistin	94.5	92.6	98.2	98.0

ABRI et ampicilline-sulbactam

Sulbactam Habituellement utilisé comme inhibiteur de beta-lactamase. Cependant, a une activité intrinsèque contre *Acinetobacter* en se liant à certaines PLP (Protéines de Liaison aux Pénicillines).

Souches sensibles au sulbactam dans 30% à 47% des cas. Cut-off dans le CASFM en France introduit en 2023 : Sensible à forte posologie si ≤ 8 mg/L. Evaluable en routine par méthode E-test depuis 2023.

ABRI et traitement

Quelles options thérapeutiques pour ABRI ?

- **Sulbactam**: activité intrinsèque vis-à-vis de Acinetobacter (sature PLP)
 - Habituellement sensible à la **colistine** (résistance très rare) mais effets indésirables
 - Parfois sensible à certains **aminosides** mais dépend des souches
 - **Tigécycline**: mortalité plus élevée si CMI > 2
 - **Minocycline**: parmi tétracyclines (dont tigécycline) habituellement le plus actif in vitro
 - **Méropénème** en infusion prolongée
 - **Céfidérol**
- > souvent utilisation simultanée de plusieurs antibiotiques.

ABRI et traitement

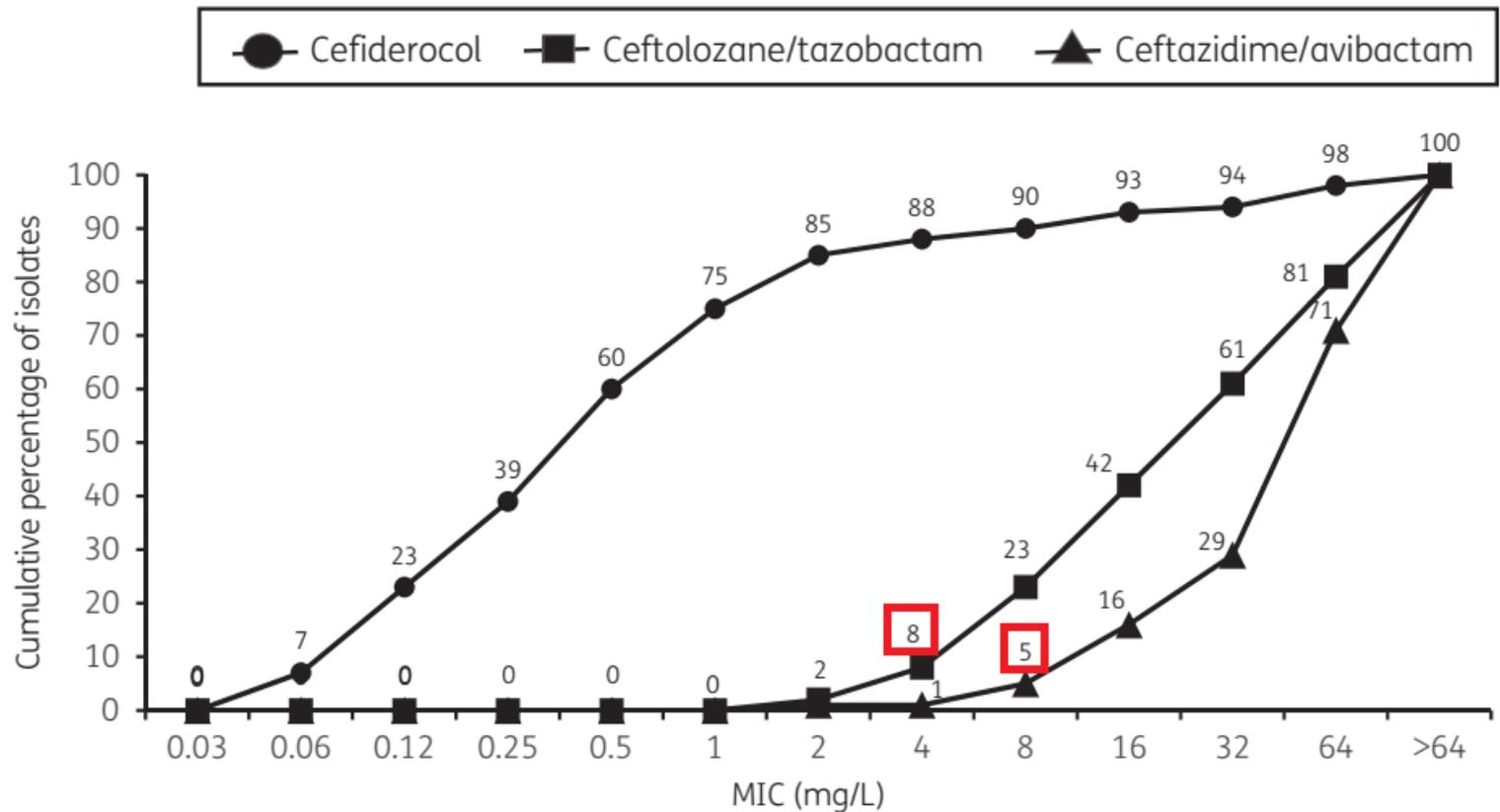
Question 1: What is the general approach for the treatment of infections caused by CRAB?

Suggested approach: A single active agent may be sufficient for mild infections caused by CRAB. Of available options, the panel suggests ampicillin-sulbactam as a preferred agent. Combination therapy with at least two agents, with *in vitro* activity whenever possible, is suggested for the treatment of moderate to severe CRAB infections given the limited clinical data supporting the effectiveness of any single antibiotic agent.

ABRI et traitement

Potential options for consideration as components of combination therapy include ampicillin-sulbactam (preferred), tetracycline derivatives (with the most experience available for minocycline, followed by tigecycline, and virtually no clinical data available for eravacycline or omadacycline), polymyxin B, extended-infusion meropenem, or cefiderocol ([Question 3](#), [Question 4](#), [Question 5](#), [Question 6](#), [Question 7](#); [Table 1](#)). The panel suggests ampicillin-sulbactam as a component of combination therapy, even when resistance to this agent has been demonstrated ([Question 3](#)). The combination of meropenem and colistin (or polymyxin

(b) Imipenem-resistant *A. baumannii* (n = 100)



Ceftolozane-tazobactam et ceftazidime-avibactam peu intéressants

Céfidérocol

Pourquoi déplétion des milieux en Fer ?

Activité du céfidérocol optimale si la concentration en Fer est faible dans le milieu = induction des transporteurs du Fer

In vivo, les concentrations en Fer sont très faibles

Fer extracellulaire est lié à la transferrine

si infection, diminution des concentrations en Fer

Mueller Hinton dépleted in iron indispensable for microdilution

Chélation (résine Chelex): retire le Fer, mais également les autres cations

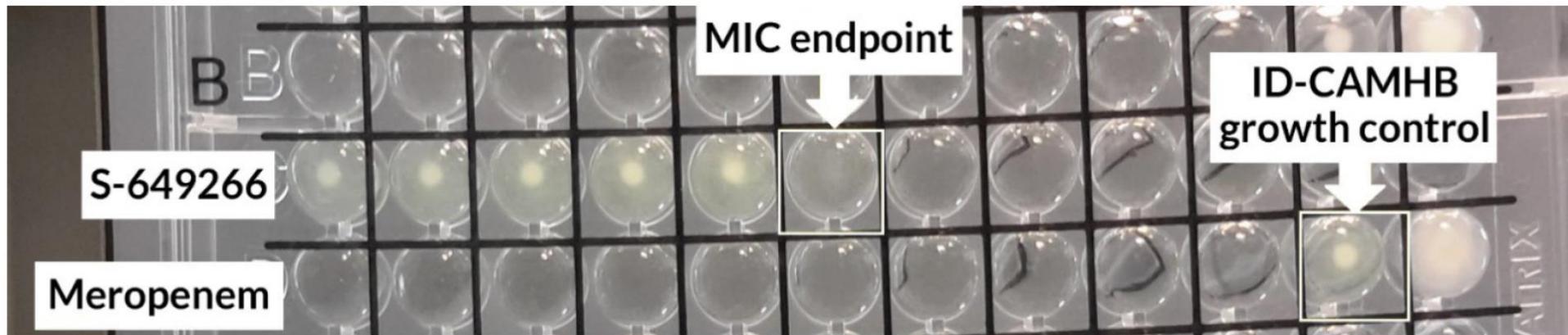
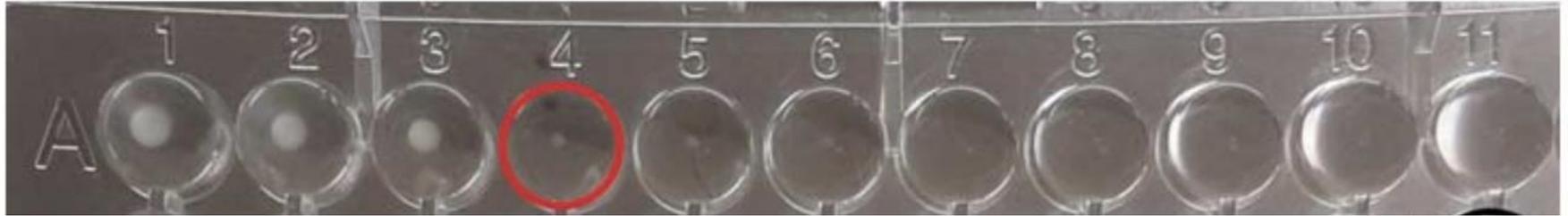
Ajouter ensuite calcium, magnésium et zinc

Concentration critique CASFM proposée à 2 mg/L (CMI \leq 2 sensible)



Céfidérocol

Mais parfois lecture de CMI difficile (S-649266 = céfidérocol)



CMI du céfidérocol à lire au niveau du premier puits avec une réduction de croissance et dépôt <1mm

Céfidérocol

Organism β -Lactamase enzyme	<i>n</i>	Cefiderocol			Ceftazidime-avibactam		Meropenem	
		MIC ₅₀	MIC ₉₀	Range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	MIC ₅₀	MIC ₉₀
<i>Acinetobacter baumannii</i>								
OXA-23	543	0.12	1	≤ 0.002 to 16	32	> 64	64	> 64
OXA-24	124	0.12	1	≤ 0.004 to 64	16	> 64	> 64	> 64
OXA-58	13	0.12	1	0.06 to 1	64	> 64	8	16
OXA-23, -40, -58 or -72	85	0.12	4	≤ 0.03 to 64	16	64	32	64
<i>Klebsiella pneumoniae</i>								
KPC-2, KPC-3, KPC-4	730	0.5	4	≤ 0.03 to 64	0.5	2	8	> 64
OXA-48	88	0.25	1	≤ 0.03 to 64	0.5	> 64	1	64
NDM, VIM or IMP	38	1	4	≤ 0.03 to 64	> 64	> 64	32	> 64
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>								
VIM	101	0.12	0.5	0.015 to 2	32	> 64	64	> 64
IMP, KPC, VIM, SPM, or GIM	30	0.5	2	≤ 0.03 to 64	> 64	> 64	64	> 64

Céfidérocol: actif sur *A. baumannii* **OXA-23**, et **métallo-carbapénémases** (*K. pneumoniae* **NDM**, *P. aeruginosa* **VIM**...)

Zhanet et al.
Drug 2019

	Cefiderocol (n=101)	Best available therapy (n=49)
<i>Acinetobacter</i> spp*	21/42 (50%)	3/17 (18%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	19/39 (49%)	3/17 (18%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	8/34 (24%)	4/16 (25%)
Without <i>Acinetobacter</i> spp	6/28 (21%)	4/15 (27%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6/17 (35%)	2/12 (17%)
Without <i>Acinetobacter</i> spp	2/11 (18%)	2/11 (18%)
<i>Escherichia coli</i>	1/6 (17%)	0/3
Without <i>Acinetobacter</i> spp	0/3	0/1
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	4/5 (80%)	NA
Without <i>Acinetobacter</i> spp	2/3 (67%)	NA

Data are n/N (%). NA=not available. *Includes *Acinetobacter baumannii* (for 39 patients assigned cefiderocol and 17 assigned best available therapy), *Acinetobacter nosocomialis* (for two patients assigned cefiderocol), and *Acinetobacter radioresistens* (for one patient assigned cefiderocol).

Table 6: All-cause mortality at the end of study by most frequent baseline pathogen in the safety population

Stenotrophomonas maltophilia



Stenotrophomonas maltophilia

Environnement aqueux, sol, plantes.

Colonise surfaces humides (dont ventilation mécanique)

Faible virulence -> Infection chez immunodéprimés (cancer hématologique, mucoviscidose, corticostéroïdes au long cours, immunosuppresseurs) surtout après exposition à des expositions à des antibiotiques à large spectre (ex. carbapénèmes + aminosides).

SENTRY

1997–1998

Total/SM isolates in:

BSI^e: 9194/82

RTI: 2052/54

SSTI: 2320/13

UTI: 2138/3

Among:

all pathogens: 1.0%

BSI: 0.89%, ranking: 19th

RTI: 2.63%, ranking: 9th

SSTI: 0.56%, ranking: 19th

UTI: 0.14%, ranking: 25th

Stenotrophomonas maltophilia

- **Résistance aux Beta-lactamines**

Produit naturellement deux beta-lactamases inductibles (L1 et L2):

- L1: métallo-beta-lactamase classe B (inactive les carbapénèmes)
- L2: BLSE chromosomique classe A, sensible acide clavulanique

-> Résistance naturelle à la plupart des beta-lactamines (dont carbapénèmes)

Seules beta-lactamines utilisables:

- **Ticarcilline + acide clavulanique**
- **Ceftazidime**

Sténotropomonas maltophilia

β -lactamine	Hypersensible	Sensible (CAZ S)	Sensible (CAZ R)	<i>Imipénème S</i> (<i>exceptionnel</i>)	Autre
Amoxicilline	R	R	R	R	R
Augmentin	R	R	R	S	R
Ticarcilline	S	R	R	R	R
Claventin	S	S	S	S	Variable
Ceftazidime	S	S	R	S	R
Imipénème	R	R	R	S	R
Activité B-lactamase					
L1	+	+	+	-	Variable
L2	-	+	++	+	Variable

Stenotrophomonas maltophilia

- **Options thérapeutiques**

SXT (triméthoprim + sulfaméthoxazole) = traitement de première intention

90% des souches sont sensibles au SXT

Se poser la question de bi-thérapie SXT + autre molécule.

Parmi beta-lactamines, seulement **TCC** (ticarcilline + acide clavulanique) ou **CAZ** (ceftazidime) potentiellement utilisables.

Cependant 50% des souches sont résistantes

Certaines fluoroquinolones peuvent être utilisables: **lévofloxacine**, meilleure que la ciprofloxacine

Parmi les cyclines, la **minocycline** est la plus efficace.

Question 1: What is a general approach for the treatment of infections caused by *S. maltophilia*?

Suggested approach: For mild infections, TMP-SMX, minocycline, tigecycline, levofloxacin, or cefiderocol monotherapy are suggested treatment options; of these, the panel suggests TMP-SMX and minocycline as the preferred agents. Ceftazidime is not suggested for the treatment of *S. maltophilia* regardless of the severity of infection given the intrinsic β -lactamases produced by *S. maltophilia* likely to render ceftazidime ineffective. For moderate to severe infections, any of three approaches are suggested: (1) the use of combination therapy, with TMP-SMX and minocycline as the preferred combination, (2) the initiation of TMP-SMX monotherapy with the addition of a second agent (minocycline [preferred], tigecycline, levofloxacin, or cefiderocol) if there is a delay in clinical improvement with TMP-SMX alone, or (3) the combination of ceftazidime-avibactam and aztreonam, when intolerance or inactivity of other agents are anticipated.

Question 7: What is the role of ceftazidime for the treatment of infections caused by *S. maltophilia*?

Suggested approach: Ceftazidime is not a suggested treatment option for *S. maltophilia* infections due to the presence of β -lactamase genes intrinsic to *S. maltophilia* expected to render ceftazidime inactive.

Rationale

The panel does not suggest prescribing ceftazidime for the treatment of *S. maltophilia* infections, as intrinsic L1 and L2 β -lactamases are expected to render it ineffective. Almost 30-40% of *S. maltophilia* isolates test susceptible to ceftazidime using CLSI interpretive criteria [292, 303]. Local clinical microbiology laboratories and antibiotic stewardship teams are encouraged to convey the likely ineffectiveness of ceftazidime against *S. maltophilia*, even when it tests susceptible, to clinicians.

Species (no. of isolates)	MIC (mg/L)			No. (%) of isolates with indicated susceptibility category ^a		
	range	MIC ₅₀	MIC ₉₀	S	I	R
<i>S. maltophilia</i> (n = 100)						
cefiderocol	≤0.03-1	0.06	0.25	NA	NA	NA
ceftazidime	1 to >64	32	>64	15 (15)	17 (17)	68 (68)
cefepime	4 to >16	>16	>16	NA	NA	NA
ceftolozane/tazobactam	0.5 to >64	32	>64	NA	NA	NA
ceftazidime/avibactam	1 to >64	16	>64	NA	NA	NA
meropenem	8 to >64	>64	>64	NA	NA	NA
aztreonam	8 to >32	32	>32	NA	NA	NA
ciprofloxacin	1 to >4	4	>4	NA	NA	NA
amikacin	≤4 to >64	>64	>64	NA	NA	NA
tigecycline	≤0.25-4	≤0.25	2	NA	NA	NA
colistin	≤0.5 to >8	>8	>8	NA	NA	NA

Sur 100 souches de *S. maltophilia*

Ceftozolone-tazobactam et ceftazidime-avibactam peu actifs (CMI₅₀ à 32 ou 16 -> concentrations critiques PKPD à 4 et 8 respectivement).

Céfidérocol = CMI très basses (CMI₉₀ à 0.25)

Hsueh et al.
JAC 2018

(c) *S. maltophilia* (n = 100)

