

**THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenu publiquement le 15 Septembre 2015
Par Melle Aurélie MARICHAL**

**Enquête sur des bactériémies à *Escherichia coli* producteur de
BLSE dans les hôpitaux du Nord-Pas de Calais en 2013 : étude de
l'activité de différentes β -lactamines.**

Membres du jury :

Présidente : Madame le Docteur Anne GOFFARD
Assesseurs : Madame le Professeur Anne DECOSTER
Madame le Docteur Sophie NGUYEN
Directeur de thèse : Monsieur le Docteur Christian CATTOEN



Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques de Lille

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

☎ 03.20.96.40.40 - 📠 : 03.20.96.43.64



Université Lille 2 – Droit et Santé

Président :
Vice- présidents :

Professeur Xavier VANDENDRIESSCHE
Professeur Alain DUROCHER
Professeur Régis BORDET
Professeur Eric KERCKHOVE
Professeur Eric BOULANGER
Professeur Frédéric LOBEZ
Professeur Damien CUNY
Professeur Benoit DEPREZ
Professeur Murielle GARCIN
Monsieur Pierre RAVAUX
Monsieur Larbi AIT-HENNANI
Monsieur Antoine HENRY

Directeur Général des Services :

Monsieur Pierre-Marie ROBERT

Faculté des Sciences Pharmaceutiques et Biologiques

Doyen :
Vice-Doyen, 1^{er} assesseur :
Assesseur en charge de la pédagogie
Assesseur en charge de la recherche
Assesseur délégué à la scolarité
Assesseur délégué en charge des
relations internationales
Assesseur délégué en charge de la vie étudiante

Professeur Damien CUNY
Professeur Bertrand DECAUDIN
Dr. Annie Standaert
Pr. Patricia Melnyk
Dr. Christophe Bochu

Pr. Philippe Chavatte
M. Thomas Morgenroth

Chef des services administratifs :

Monsieur Cyrille PORTA

Liste des Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie
Mme	CAPRON	Monique	Immunologie
M.	DECAUDIN	Bertrand	Pharmacie Galénique
M.	DINE	Thierry	Pharmacie clinique
M.	DUBREUIL	Luc	Bactériologie
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie
M.	DUTHILLEUL	Patrick	Hématologie
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie
M.	LUYCKX	Michel	Pharmacie clinique
M.	ODOU	Pascal	Pharmacie Galénique
M.	DEPREUX	Patrick	Chimie Organique (ICPAL)

Liste des Professeurs des Universités

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
------	-----	--------	-------------

M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Physique
M.	BERTHELOT	Pascal	Chimie Thérapeutique 1
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie – Pharmacie clinique
M.	CHAVATTE	Philippe	Chimie Thérapeutique 2
M.	COURTECUISSÉ	Régis	Sciences végétales et fongiques
M.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Physique
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie Générale
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie Générale
M.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques
M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie
Mme	GAYOT	Anne	Pharmacotechnie Industrielle
M.	GESQUIERE	Jean-Claude	Chimie Organique
M.	GOOSSENS	Jean François	Chimie Analytique
Mme	GRAS	Hélène	Chimie Thérapeutique 3
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie Cellulaire
M.	LUC	Gerald	Physiologie
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie thérapeutique 2
Mme	MUHR – TAILLEUX	Anne	Biochimie
Mme	PAUMELLE-LESTRELIN	Réjane	Biologie Cellulaire
Mme	PERROY – MAILLOLS	Anne Catherine	Droit et déontologie pharmaceutique
Mme	ROMOND	Marie Bénédicte	Bactériologie
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie
M.	SERGHÉRAERT	Eric	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie Industrielle
M.	STAELS	Bart	Biologie Cellulaire
M	TARTAR	André	Chimie Organique
M.	VACCHER	Claude	Chimie Analytique
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique
M.	MILLET	Régis	Chimie Thérapeutique (ICPAL)

Liste des Maitres de Conférences - Praticiens Hospitaliers

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BALDUYCK	Malika	Biochimie
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie
M.	LANNOY	Damien	Pharmacie Galénique
Mme	ODOU	Marie Françoise	Bactériologie
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacie Galénique

Liste des Maitres de Conférences

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique 2
Mme	ALIOUAT	Cécile Marie	Parasitologie (90%)
M.	ANTHERIEU	Sébastien	Toxicologie
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie
Mme	BANTUBUNGI	Kadiombo	Biologie cellulaire
Mme	BARTHELEMY	Christine	Pharmacie Galénique
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie

M	BELARBI	Karim	Pharmacologie
M.	BERTHET	Jérôme	Physique
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle
M.	BOCHU	Christophe	Physique
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie
Mme	CACHERA	Claude	Biochimie
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie
Mme	CARON	Sandrine	Biologie cellulaire (80%)
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie (80%)
Mme	CHARTON	Julie	Chimie Organique (80%)
M	CHEVALIER	Dany	Toxicologie
M.	COCHELARD	Dominique	Biomathématiques
Mme	DANEL	Cécile	Chimie Analytique
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie (80%)
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques
Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire
M.	FARCE	Amaury	Chimie Thérapeutique 2
Mme	FLIPO	Marion	Chimie Organique
Mme	FOULON	Catherine	Chimie Analytique
M.	GELEZ	Philippe	Biomathématiques
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie
Mme	HAMOUDI	Chérifa Mounira	Pharmacotechnie industrielle
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie
Mme	HOUSSIN-THUILLIER	Pascale	Hématologie
M.	KAMBIA	Kpakpaga Nicolas	Pharmacologie
M.	KARROUT	Youness	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique 1
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie Analytique
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie Analytique
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie
M.	MOREAU	Pierre Arthur	Sciences végétales et fongiques
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle
Mme	NEUT	Christel	Bactériologie
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie
Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques
M.	PIVA	Frank	Biochimie
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques
Mme	RIVIERE	Céline	Pharmacognosie
Mme	ROGER	Nadine	Immunologie
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie Industrielle
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques
M.	YOUS	Saïd	Chimie Thérapeutique 1
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques
M.	FURMAN	Christophe	Pharmacobiochimie (ICPAL)
Mme	GOOSSENS	Laurence	Chimie Organique (ICPAL)

Professeurs Agrégés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	MAYES	Martine	Anglais
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et déontologie pharmaceutique

Professeurs Certifiés

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	HUGES	Dominique	Anglais
Mlle	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeur Associé - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
M.	DHANANI	Alban	Droit et déontologie pharmaceutique

Maîtres de Conférences ASSOCIES - mi-temps

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	BERTOUX	Elisabeth	Pharmacie Clinique - Biomathématiques
M.	BRICOTEAU	Didier	Biomathématiques
M.	FIEVET	Pierre	Information Médicale
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacie Clinique
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacie Clinique
M.	WATRELOS	Michel	Droit et déontologie pharmaceutique
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

AHU

Civ.	NOM	Prénom	Laboratoire
Mme	DROUET	Maryline	Pharmacie Galénique
Mme	GENAY	Stéphanie	Pharmacie Galénique

3, rue du Professeur Laguesse - B.P. 83 - 59006 LILLE CEDEX

Tel. : 03.20.96.40.40 - Télécopie : 03.20.96.43.64

<http://pharmacie.univ-lille2.fr>

L'Université n'entend donner aucune approbation aux opinions émises dans les thèses ; celles-ci sont propres à leurs auteurs.

A ma Présidente de Thèse

Madame le Docteur Anne GOFFARD

Pour me faire l'honneur de présider ce jury. Pour votre pédagogie dans la transmission de vos connaissances lors de vos cours à la Faculté de Pharmacie de Lille.

Acceptez ma gratitude.

A mon Directeur de Thèse

Monsieur le Docteur Christian CATTOEN

Pour m'avoir accueillie au sein de votre laboratoire et avoir accepté de diriger ce travail. Pour votre patience, votre disponibilité et votre adaptabilité face à mes déplacements.

Soyez assuré de toute mon estime.

Aux membres de mon jury

Madame le Professeur Anne DECOSTER

Pour avoir accepté de juger ce travail. Pour votre réactivité qui a facilité l'organisation de la soutenance de ce travail.

Veillez trouver ici l'expression de mes sincères remerciements.

Madame le Docteur Sophie NGUYEN

Pour avoir accepté de faire partie de ce jury. Pour m'avoir montré l'exemple d'un dialogue clinico-biologique efficace et agréable. Pour votre gentillesse et votre enthousiasme communicatif.

Merci.

A mes parents,
pour votre soutien et votre patience face à
mon stress tout au long de ces années
d'études. Pour votre Amour et toutes les
clefs que vous m'avez données.

A mes sœurs,
Eliz et So, pour cette complicité
extraordinaire qui nous lie, si
importante pour moi.

A Pouley,
pour m'avoir fait rêver tout au long de
tes pérégrinations, pour cette amitié
qui perdure malgré l'éloignement.

A Céline,
pour ta présence et ton soutien
depuis tant d'années.

A Aude,
pour nos aventures sous diverses
latitudes, à quand le prochain voyage ?

A Laura, Paupau, Marjo et Hélène,
petits trésors mis à jour par cet internat.

A toute la tribu de la coloc Desbassyns
(Sara, Manu, Yohan, Manon, Emeric), ainsi
qu'à Elsa et Lenny,
pour votre soutien et votre joie de vivre,
vous avez illuminé cet hiver austral.

A tous mes amis et toutes les belles
rencontres que j'ai eu le bonheur de faire au
cours de cet internat.

A Loïc pour ton aide et ton dynamisme.

« Un seul mot usé mais qui brille comme une vieille pièce de monnaie : MERCI. »
(Pablo Neruda)

SOMMAIRE

Sommaire	13
Liste des figures	15
Liste des tableaux.....	17
Liste des abréviations	19
INTRODUCTION	20
GENERALITES ET ANALYSE DE LA LITTERATURE.....	21
I. Problématique de la résistance aux antibiotiques.....	21
II. <i>Escherichia coli</i>	23
A. Description	23
B. Facteurs de virulence	24
C. Epidémiologie.....	25
D. Sensibilité des souches sauvage aux β -lactamines	25
III. Les β -lactamines	26
A. Activité.....	26
B. Classification des β -lactamines	31
C. Résistance aux β -lactamines	35
IV. BLSE	47
A. Historique	47
B. Définition	48
C. Les BLSE de type TEM et SHV.....	49
D. Les BLSE de type CTX-M	51
E. Les autres types de BLSE.....	54
F. Support génétique.....	56
V. Epidémiologie.....	57
A. Les BLSE	57
B. Les carbapénémases.....	65
VI. Versant thérapeutique	69
A. Carbapénèmes et entérobactéries productrices de BLSE.....	69
B. Alternatives	70
C. Importance des paramètres de pharmacocinétiques et pharmacodynamiques et des CMI.....	77
D. Effet inoculum	78
MATERIEL ET METHODE	81
I. L'étude régionale	81
II. Matériel.....	82

A.	Les souches bactériennes.....	82
B.	Vérification de l'activité des β -lactamines apparaissant «sensible» sur l'antibiogramme	83
C.	Etude de l'effet inoculum	83
III.	Méthode	84
A.	Description des épisodes bactériémiques.....	84
B.	Vérification de l'activité des molécules rendues « sensible » sur l'antibiogramme.....	85
C.	Etude de l'effet inoculum	87
D.	Contrôles.....	87
	Résultats.....	89
I.	Caractéristiques des bactériémies.....	89
II.	Vérification de la pureté des souches.....	90
III.	Vérification de l'activité des molécules rendues « Sensible » sur l'antibiogramme.....	90
A.	La tazocilline	93
B.	Le céfotaxime.....	94
C.	La ceftazidime	95
D.	Le céfépime.....	96
E.	L'imipénème.....	97
F.	L'ertapénème	98
G.	Bilan	98
IV.	Etude de l'effet inoculum	99
	Discussion	105
I.	Caractéristiques des bactériémies.....	105
II.	Sensibilité des molécules testées.....	106
III.	Différence entre résultats obtenus avec CAFSM 2013 et EUCAST 2014 .	107
IV.	Effet inoculum.....	108
	Conclusion et perspectives.....	110
	Bibliographie.....	112
	Annexe 1 : Protocole bactériémies documentées à Escherichia coli BLSE.....	120
	Annexe 2 : Fiche de recueil des données de l'enquête.	122
	Annexe 3 : Résultats des CMI en mg/L obtenues pour chaque souche.	123

LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Dates de découverte des différentes molécules antibiotiques.....	21
Figure 2 : Images d' <i>Escherichia coli</i> au microscope électronique à balayage	22
Figure 3: Organisation de la paroi des bactéries	25
Figure 4 : Structure du peptidoglycane	26
Figure 5 : Synthèse du peptidoglycane	27
Figure 6 : Réaction de transpeptidation par les protéines liant la péniciline (PLP)....	28
Figure 7 : Similarité « stéréochimique » entre β -lactamines et le motif DAAla-DAAla....	28
Figure 8 : Structures simplifiées des diverses β -lactamines	30
Figure 9 : Les méthodes de transfert horizontal de gènes chez les bactéries.	36
Figure 10 : Hydrolyse du cycle β -lactam par une β -lactamase	38
Figure 11 : Représentation de la dissémination des <i>Klebsiella pneumoniae</i> productrices de KPC.....	43
Figure 12 : Représentation de la dissémination des entérobactéries productrices de NDM	44
Figure 13 : Séquence d'acides aminés de différents dérivés BLSE de TEM-1.....	47
Figure 14 : Séquence d'acides aminés de différents dérivés BLSE de SHV-1.....	48
Figure 15 : Shématisation du degré de similarité entre les séquences d'acides aminés des six sous-groupes de β -lactamases de type CTX-M.....	49
Figure 16 : Distribution globale des génotypes de CTX-M	50
Figure 17: Evolution de la proportion de souches invasives d' <i>E.coli</i> et de <i>K.pneumoniae</i> présentant une résistance aux C3G en Europe.....	56
Figure 18: Densité d'incidence des infections à SARM et des EBLSE pour 1 000 journées d'hospitalisation, en France, entre 2002 et 2012	57
Figure 19 : Incidences globales régionales des EBLSE pour 1 000 journées d'hospitalisation en 2012	58
Figure 20 : Évolution des densités d'incidence pour 1 000 journées d'hospitalisation des EBLSE par espèce, en France, entre 2002 et 2012	59
Figure 21: Proportion de souches invasives d' <i>E.coli</i> et de <i>K.pneumoniae</i> présentant une résistance aux carbapénèmes en 2013 en Europe.	63
Figure 22 : Nombre d'épisodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénémases en France signalés à l'InVS entre janvier 2004 et le 4 mars 2015, selon la mise en évidence ou non d'un lien avec un pays étranger	65
Figure 23 : Nombre d'épisodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénémases en France signalés à l'InVS entre janvier 2012 et le 4 mars 2015, par départements	65
Figure 24 : Pourcentage de souches d' <i>E.coli</i> BLSE sensible, en fonction des molécules antibiotiques, selon les recommandations de l'EUCAST 2012.....	67

Figure 25 : Technique de lecture de la valeur de la CMI par utilisation de bandelette E-test	83
Figure 26 : Distribution du nombre de souches (parmi les 55 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice à la tazocilline	90
Figure 27 : Distribution du nombre de souches (parmi les 5 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice au céfotaxime	91
Figure 28 : Distribution du nombre de souches (parmi les 44 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice à la ceftazidime	92
Figure 29 : Distribution du nombre de souches (parmi les 31 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice au céfépime	93
Figure 30 : Photos des CMI de céfépime catégorisées «résistantes» obtenues avec l'inoculum standard pour les souches Armentières3, Tourcoing4, Valenciennes9	93
Figure 31 : Distribution du nombre de souches (parmi les 60 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice à l'imipénème.....	94
Figure 32 : Distribution du nombre de souches (parmi les 48 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice à l'ertapénème	95
Figure 33 : Distribution des ratio CMI obtenue avec l'inoculum fort et CMI obtenue avec l'inoculum faible répartis en quatre catégories	98
Figure 34 : Photos de CMI à l'ertapénème (souche Valenciennes9) obtenue à partir de l'inoculum faible et l'inoculum fort	99
Figure 35 : Photos de CMI au céfépime obtenues à partir de l'inoculum faible et l'inoculum fort pour les souches Lille22 et Lille27	100
Figure 36 : Photos de CMI à partir de l'inoculum faible et l'inoculum fort, pour la souche Dunkerque7 et la tazocilline pour la souche Boulogne1 et le céfépime	100

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Répartition des différentes β -lactamases selon les classifications de Ambler, de Bush et leur sensibilité à l'inhibition par l'acide clavulanique.....	42
Tableau 2 : Évolution de la répartition, des souches d'EBLSE selon les quatre principales espèces d'entérobactéries, de 2002 à 2012, en France.....	58
Tableau 3: DI pour 1 000 JH des <i>E.coli</i> BLSE, de 2005 à 2013, dans le Nord-Pas de Calais	60
Tableau 4 : Nombre et DI pour 1 000 JH, des bactériémies à <i>E.coli</i> BLSE, de 2008 à 2013, dans le Nord-Pas de Calais	61
Tableau 5 : Taux de BLSE au sein de l'espèce <i>E.coli</i> , de 2005 à 2013, dans le Nord-Pas de Calais	61
Tableaux 6 : Nombre d'épisodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénamases, en France, signalés à l'InVS entre janvier 2004 et le 4 mars 2015, selon les bactéries et les mécanismes impliqués	64
Tableau 7 : Répartition des souches d'intérêt au sein des centres hospitaliers	79
Tableau 8 : Répartition globale, des sensibilités, pour les molécules d'intérêt, relevées par les laboratoires des centres participant, de l'ensemble des souches....	80
Tableau 9 : Nombre de bactériémies et de décès en fonction des différents points de départ clinique, associés au résultat du test statistique de Fisher	86
Tableau 10 : Nombre de bactériémies et de décès en fonction du caractère sévère ou non sévère de l'infection, associés au résultat du test statistique de Fisher.....	87
Tableau 11 : Nombre de bactériémies et de décès en fonction de l'origine de l'infection, associés au résultat du test statistique de Fisher	87
Tableau 12 : Concentrations et diamètres critiques déterminant les seuils de sensibilité en fonction des molécules d'intérêt selon EUCAST/SFM 2014	88
Tableau 13 : Description des CMI obtenues avec l'inoculum standard pour les six molécules	89
Tableau 14 : Répartition des 55 souches testées à la tazocilline en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant ».....	90
Tableau 15 : Répartition des 5 souches testées au céfotaxime en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant ».....	91
Tableau 16 : Répartition des 44 souches testées à la ceftazidime en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant.....	92
Tableau 17 : Répartition des 31 souches testées au céfépime en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant ».....	93
Tableau 18 : Répartition des 60 souches testées à l'imipénème en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant ».....	94

Tableau 19 : Répartition des 48 souches testées à l'ertapénème en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant »	95
Tableau 20 : Description des CMI obtenues avec les inocula faible et fort pour les cinq molécules d'intérêt	97
Tableau 21 : Proportion de souches ayant un rapport CMI inoculum fort sur CMI inoculum faible inférieur ou égal à 2 ; supérieur à 2 et inférieur ou égal à 3 ; supérieur à 3 et inférieur ou égal à 4 ; supérieur à 4 en pourcentage	98
Tableau 22 : Valeurs de concentrations critiques, charge en antibiotique des disques et diamètres critiques pour les <i>Enterobacteriaceae</i> indiquées par le CAFSM 2013 et changements apportés par l'EUCAST 2014	104

LISTE DES ABREVIATIONS

AFORCOPI-BIO: Association de formation continue en pathologie infectieuse des biologistes

ARLIN : antenne régionale de lutte contre les infections nosocomiales

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché

BCP : Bromocrésol Pourpre

BL/IBL : β -lactamine et inhibiteur de β -lactamase

BLSE : β lactamine à spectre étendu

BMR : Bactérie Multi-Résistante

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CAZ-AVI : ceftazidime/avibactam

CCLIN : Centre de Coordination de la Lutte contre les Infections Nosocomiales

CMI : Concentration minimale inhibitrice

DI : Densité d'incidence

EARSS : European Antimicrobial Resistance Surveillance System

ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control

EBLSE : Entérobactéries productrices de BLSE

EDTA : acide éthylène diamine tétraacétique

EHPAD : établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FDA : Food and Drug Administration

Gélose MH : gélose Mueller-Hinton

IV : Intra-Veineux

JH : Journée d'hospitalisation

McF : MacFarland

NAG : N-acétylglucosamine

NAM : acide N-acétylmuramique

NMEC : *Escherichia coli* induisant des méningites néonatales

Nd-PdC : Nord-Pas de Calais

ONERBA : Observatoire National de l'Epidémiologie des Résistances Bactériennes aux Antibiotiques

PBP : Penicillin-Binding Proteins

PLP : Protéine liant la penicilline

RAISIN : Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infestions Nosocomiales

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

SPILF : Société de pathologie infectieuse de langue française

UFC : unité formant colonie

UPEC : *Escherichia coli* uropathogène

INTRODUCTION

Actuellement une diffusion de bactéries multi-résistantes, notamment d'entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) est observée au niveau mondial. La prévalence des patients infectés par une souche d'*E.coli* BLSE augmente d'année en année tant en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier. Compte tenu de la documentation de plus en plus fréquente d'infections invasives dues à *Escherichia coli* BLSE, une étude prospective concernant les bactériémies à *E.coli* BLSE a été réalisée, durant l'année 2013, par le réseau des microbiologistes hospitaliers du Nord-Pas de Calais.

Tout d'abord, nous effectuerons un exposé des généralités et une analyse de la littérature concernant les résistances bactériennes aux β -lactamines et en particulier à propos des entérobactéries productrices de BLSE. Puis, à partir des données de l'enquête sur les bactériémies à *E.coli* BLSE, nous décrirons les principales caractéristiques des épisodes bactériémiques ainsi que la sensibilité des souches aux β -lactamines. Ensuite, après avoir sélectionné une soixantaine de souches d'intérêt, nous étudierons plus précisément leur sensibilité envers six molécules de β -lactamines (pipéracilline-tazobactam, céfotaxime, ceftazidime, céfépime, imipénème et ertapénème) en déterminant leurs concentrations minimales inhibitrices. Enfin, nous tenterons de mesurer *in vitro* le phénomène d'effet inoculum, pour les cinq molécules suivantes, pipéracilline-tazobactam, ceftazidime, céfépime, imipénème et ertapénème, en utilisant deux inocula bactériens différents.

GENERALITES ET ANALYSE DE LA LITTERATURE

I. PROBLEMATIQUE DE LA RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

La résistance aux antibiotiques touche toutes les familles d'antibiotiques. Elle réside dans la faculté de certains micro-organismes à survivre et se développer en présence d'un antimicrobien en dose généralement suffisante pour inhiber ou tuer des micro-organismes de la même espèce.

Toutes les bactéries présentent une capacité d'adaptation naturelle qui leur permet de produire des gènes les rendant résistantes aux antimicrobiens. Cependant, les pratiques médicales actuelles contribuent au développement d'organismes résistants aux antibiotiques. En effet, la mauvaise utilisation des antibiotiques se manifeste par l'administration de dosages excessifs et irresponsables, l'utilisation d'antibiotiques de mauvaise qualité ainsi que le non-suivi d'un cycle complet de traitement prescrit par un médecin qualifié. Ce gaspillage d'agents antimicrobiens s'ajoute à la mise en cause des conséquences de leur utilisation dans les élevages sur la propagation de la résistance chez les humains. En éradiquant les bactéries sensibles, les antimicrobiens mettent en place un processus de sélection qui favorise la croissance des bactéries porteuses d'un gène de résistance. L'utilisation prolongée d'agents antimicrobiens contribue donc à propager à grande échelle les souches résistantes.

Le problème de la résistance aux antimicrobiens a été encore exacerbé par le phénomène de multi résistance de certaines bactéries qui peut limiter l'efficacité de diverses familles d'antimicrobiens. Les échanges entre les bactéries sont nombreux et pas seulement au sein d'une même espèce. Dans certaines situations, une bactérie peut acquérir en une seule fois plusieurs gènes codant pour des résistances, envers différentes familles d'antibiotiques, ce qui accélère d'autant plus la propagation de résistance antimicrobienne.

Les conséquences sont très alarmantes, durant l'année 2007, le Centre européen pour la prévention et le contrôle des maladies (ECDC) et l'Agence européenne du médicament (EMA) ont estimé à 25 000 le nombre de décès

directement imputable aux infections multi résistantes. Ils ont également évalué à 1,5 milliard d'euros le surcoût engendré par ces infections(1).

Le problème de l'augmentation du nombre des bactéries résistantes est amplifié par un ralentissement majeur de la production de nouveaux antimicrobiens. En effet, le manque en matière d'innovation dans le développement de nouveaux antimicrobiens s'avère incontestable et ce depuis de nombreuses années.

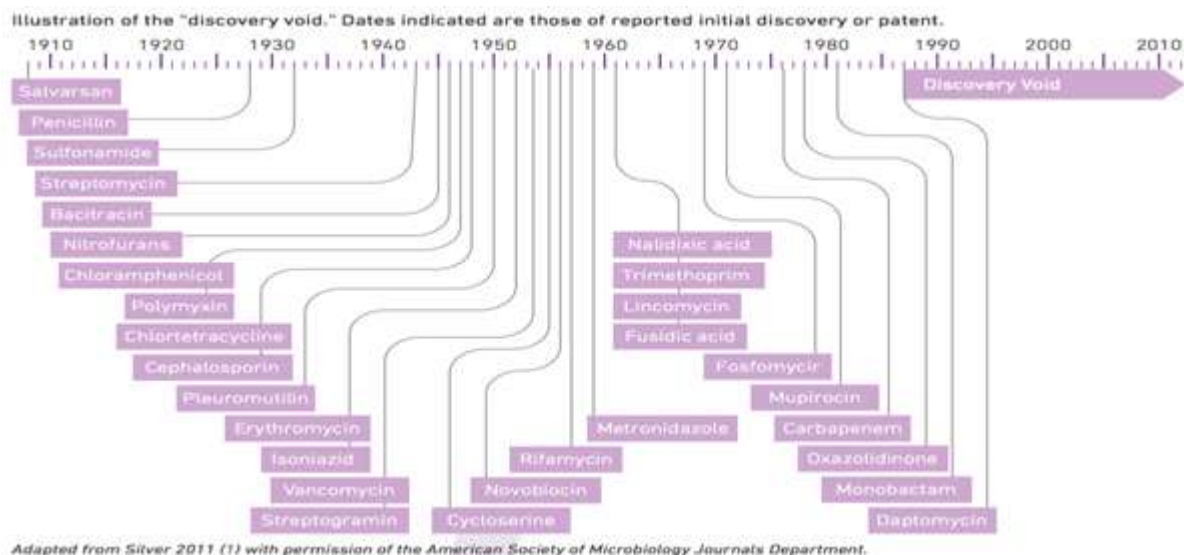


Figure 1 : Dates de découverte des différentes molécules antibiotiques.

Le désintérêt de l'industrie pharmaceutique pour la recherche et le développement des antibiotiques s'explique par le fait que, dans le système actuel, les antibiotiques ne sont pas « rentables » au regard du coût de leur développement avec un retour sur investissement faible. Les raisons de cet état de fait sont nombreuses. Tout d'abord, le volume de prescription est faible et les durées de traitement sont courtes contrairement aux traitements des maladies chroniques. De plus, la législation et la politique des génériques ne permet pas une exploitation exclusive des molécules développées sur le long terme. En outre, la volonté légitime de préserver l'efficacité des nouvelles molécules en les réservant pour le traitement des infections à bactéries multi-résistantes réduit encore d'autant plus le volume de prescription. Par ailleurs, l'espérance de vie des nouvelles molécules face à l'évolution rapide des résistances est relativement courte. Enfin, le prix fixé par les agences de régulation ne reflète pas l'efficacité des antibiotiques sur la réduction de la morbidité et de la mortalité des infections. D'autre part, l'augmentation très importante du niveau d'exigence pour obtenir une autorisation de mise sur le marché a pour effet que beaucoup de molécules ne parviennent pas au stade de commercialisation.

A mesure que la résistance se propage, que la durée de vie des antimicrobiens se réduit et que le nombre de nouveaux antimicrobiens disponibles diminue, le fossé s'élargit entre la propagation des infections et leur endiguement. L'OMS redoute "un retour à la période où les antibiotiques n'existaient pas". La « World Alliance Against Antibiotic Resistance » a été créée, en 2011, pour sensibiliser le public sur l'urgence et la gravité du danger que représente la résistance aux antibiotiques. Présidée par le Dr. Jean Carlet l'alliance, qui regroupe 700 personnes de 55 pays, formule dans une déclaration ses 10 recommandations pour préserver l'efficacité des antibiotiques et stabiliser l'écosystème bactérien. L'inscription par l'UNESCO des antibiotiques au patrimoine mondial de l'humanité a du reste été réclamée.

II. *ESCHERICHIA COLI*

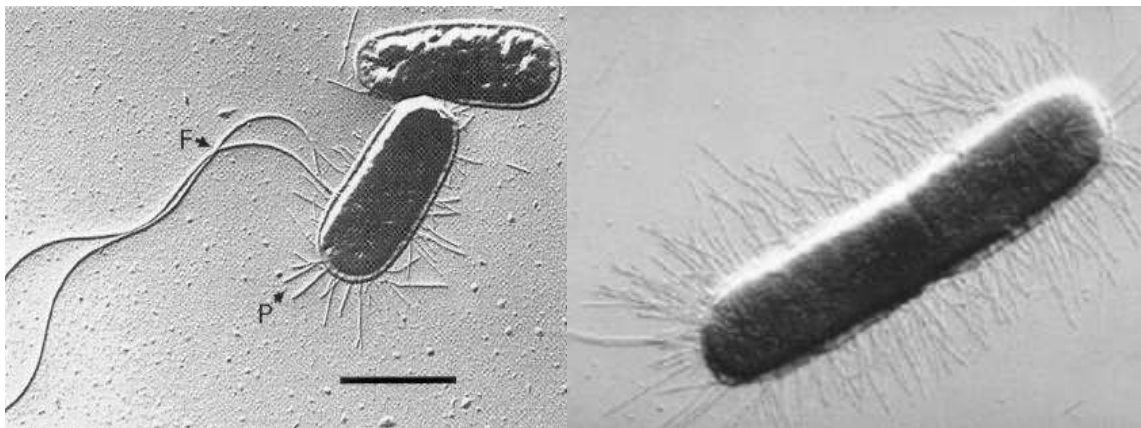


Figure 2 : Images d'*Escherichia coli* au microscope électronique à balayage. Sur l'image de gauche, nous visualisons clairement la différence entre les flagelles (F) et les pili (P).

A. Description

Les bactéries *Escherichia coli* sont des bacilles à Gram négatif qui appartiennent à la famille des entérobactéries. Elles sont mobiles et capables de fermenter le lactose et de produire de l'indole. Elles font partie de la flore intestinale normale de l'Homme et de nombreux animaux et participent aux fonctions de la flore intestinale, dans la digestion des aliments et l'apport de certaines vitamines. Elles représentent à elles seules la plus grande partie de la flore aérobie de l'intestin, à raison de 10^8 par gramme de fèces, sachant que la flore totale est constituée de 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme.

E.coli est une espèce présentant une grande diversité qui comprend également des variétés pathogènes ou pathovars. Ceux-ci ont émergé après acquisition de gènes, codant pour des facteurs de virulence, intégrés au sein de leur chromosome ou sur des plasmides. *E.coli* est alors responsable de diverses infections telles que des gastro-entérites, des infections urinaires, génitales, des méningites, des septicémies, des infections localisées aux voies digestives (cholécystites, appendicites)...

B. Facteurs de virulence

Les principaux facteurs de pathogénicité d'*E.coli* sont les adhésines, la capsule, le lipopolysaccharide (LPS), les systèmes de captation du fer et les toxines.

Lorsqu'une souche d'*E.coli* pénètre dans une cavité de l'hôte, elle doit vaincre diverses défenses naturelles non spécifiques constituées par les flores commensales, la couche de mucus, les molécules à activité anti-bactérienne qui y sont associées... Après avoir surmonté ces défenses, *E.coli* arrive au contact des épithéliums. L'adhésion aux cellules épithéliales est un préalable au développement de nombreuses pathologies. Cette adhésion permet, en effet, à la bactérie de résister aux défenses mécaniques (péristaltisme, miction...) et, ce faisant, de se multiplier sur place, provoquant la formation de microcolonies(2).

Les structures bactériennes responsables de l'adhésion aux cellules épithéliales sont des adhésines qui sont portés par des pili communs (encore appelés fimbriae). Les pili sont des structures protéiques filamenteuses, de 2 à 3 µm de long, disposés régulièrement à la surface de la bactérie (cf figure 2). Ils sont constitués par la polymérisation d'une même sous-unité polypeptidique, la piline, assemblée à des polypeptides mineurs dont l'adhésine. Exposées à la surface des bactéries, ces adhésines interagissent avec des récepteurs de la membrane des cellules cibles. C'est ainsi que des souches d'*E.coli* pathogènes sont capables, en partie grâce à leurs adhésines, de coloniser des biotopes qui ne sont normalement peu ou pas colonisés par les *E.coli* commensales.

L'intrusion d'un élément étranger dans l'organisme déclenche la mise en place d'une réaction immunitaire non spécifique visant à le détruire. La phagocytose, ou digestion d'un élément reconnu comme du non-soi par des phagocytes, est au cœur

de ce système de défense. Cependant, les antigènes polysaccharidiques K de la capsule sont capables de s'opposer à la phagocytose.

Le système du complément est également un pilier central de la réaction immunitaire. Néanmoins, le LPS et des protéines de la membrane externe sont en mesure d'empêcher la fixation des molécules du complément et donnent ainsi aux bactéries la capacité d'échapper à l'activité bactéricide du sérum de l'hôte.

Pour se développer, les bactéries ont besoin de fer. Toutefois, chez les êtres vivants, le fer libre est rare puisqu'il est particulièrement toxique de par sa capacité de développer des radicaux libres. Les pools de fer se situent dans les cellules (associés aux hèmes de l'hémoglobine notamment) ou dans les fluides biologiques, associés à des globulines (transferrine dans le sang, lactoglobuline dans le lait). Différents mécanismes sont mis en place au sein du monde bactérien pour avoir accès à ce fer, notamment la synthèse de sidérophores, molécules qui ont une forte affinité pour le fer et peuvent ainsi capter le fer porté par les globulines de l'hôte.

Les toxines telles que l'endotoxine, les entérotoxines ST (thermostables) et LT (thermolabiles) et les cytotoxines SLT1 et SLT2 constituent un facteurs de virulence important dans la pathogénicité des souches d'*E.coli* responsables de syndrome diarrhéiques (3)(4)(5).

C. Epidémiologie

E.coli est de loin la première bactérie retrouvée dans les infections urinaires communautaires, en France, elle représente 70 à 80% de celles-ci(6). De plus, cette bactérie est le germe prédominant dans les infections nosocomiales. En effet lors de l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales, effectuée en 2012, *E.coli* représentait 26% des germes isolés toutes infections nosocomiales confondues(7).

D. Sensibilité des souches sauvage aux β -lactamines

E.coli appartient aux entérobactéries du groupe 1. Elle est naturellement sensible aux aminopénicillines, carboxypénicillines, uréidopénicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines et aux carbapénèmes. Cependant, elle produit à très bas niveau, une céphalosporine chromosomique non inductible de type AmpC qui peut

entraîner, chez certaines souches, une réduction de la sensibilité aux aminopénicillines, à leur association aux clavulanate et/ou aux céphalosporines de première génération(8).

III. LES B-LACTAMINES

A. Activité

Les β -lactamines représentent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en antibio-prophylaxie et en antibiothérapie. Elles correspondent à une large famille d'antibiotiques bactéricides temps dépendant qui agissent par inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne.

1. La paroi bactérienne

La paroi bactérienne confère à la bactérie sa forme et lui permet de résister à la forte pression osmotique interne comprise entre 5 et 20 atmosphères. Celle des bactéries à gram négatif est complexe. Elle se compose des différents éléments suivant, de l'extérieur vers l'intérieur, d'une membrane externe, d'une fine couche de peptidoglycane, d'un espace périplasmique et d'une membrane cytoplasmique.

Notons la présence des PLP « protéines liant la péniciline » ou PBP «Penicillin-Binding Proteins », qui sont des protéines possédant un ancrage dans la membrane cytoplasmique tandis que leurs domaines catalytiques sont situés au sein de l'espace périplasmique.

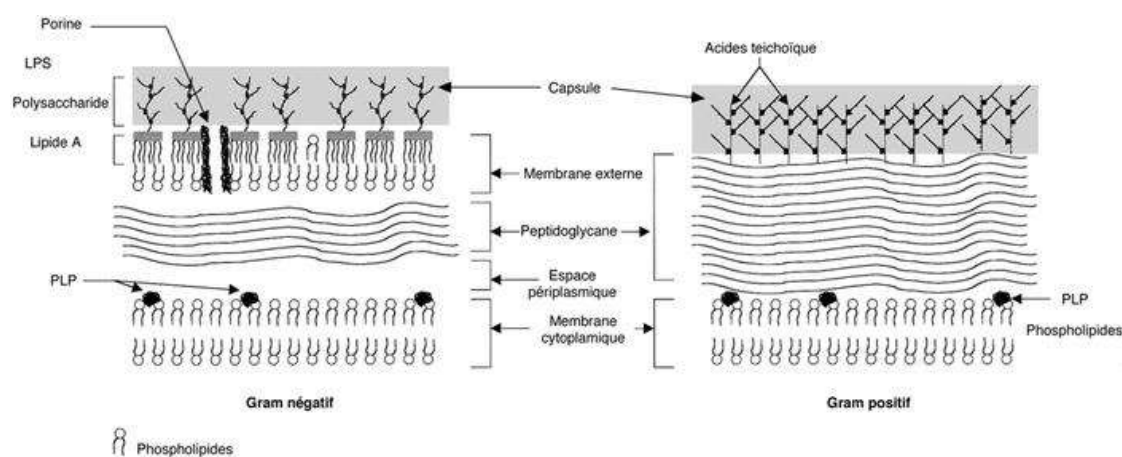


Figure 3: Organisation de la paroi des bactéries à Gram négatif (à gauche) et positif (à droite).

La membrane externe est spécifique aux bactéries à gram négatif, elle forme une barrière de perméabilité protectrice. Elle est constituée d'un double feuillet de phospholipides hydrophobes dans lequel sont enchâssées différentes protéines dont les porines. Celles-ci sont un assemblage trimérique de protéines formant des canaux transmembranaires, dont le diamètre de la lumière ne laisse passer que des molécules de petite taille inférieure à 600 daltons pour *Escherichia coli*. Les β -lactamines ont un caractère essentiellement hydrophile, leur pénétration est donc liée à l'existence de ces porines tandis qu'elles traversent très rapidement le peptidoglycane.

Le peptidoglycane est un polymère complexe constitué de trois éléments, tout d'abord de longues chaînes polysaccharidiques constituées d'une répétition d'unités disaccharidiques composées d'acide N-acétylmuramique (ANAM) et de résidus de N-acétylglucosamine (NAG), ensuite d'un ensemble de chaînes latérales peptidiques identiques, attachées à l'acide NAM et composées de 4 acides aminés et qui sont elles-mêmes reliées entre elles grâce à des ponts interpeptidiques.

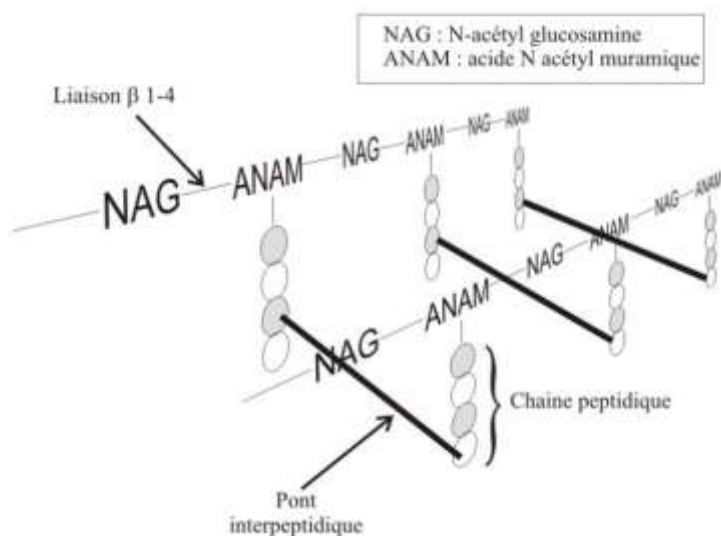


Figure 4 : Structure du peptidoglycane.

2. La synthèse du peptidoglycane

Dans le cas d'*Escherichia coli*, dans le cytoplasme, les enzymes de la famille Mur (MurA à MurF) catalysent les réactions aboutissant à la synthèse d'Uridine Di-Phosphate-N-acétyl-D-glucosamine (UDP-GlcNAc), et d'UDP-MurNAc.

Sur ce dernier, les acides aminés (L-alanine, D-glutamate, acide méso-diaminopimélique puis D-alanine-D-alanine) sont ajoutés séquentiellement afin

d'élaborer la chaîne pentapeptidique. L'UDP-MurNAc-pentapeptide est ensuite transféré par *MraY* sur un intermédiaire membranaire, l'undécaprényl phosphate (bactoprénol pyrophosphate), pour donner l'undécaprényl-pyrophosphoryl-MurNAc-pentapeptide, également appelé lipide I. *MurG* additionne au lipide I l'UDP-GlcNAc, sur le résidu MurNAc, afin de former le précurseur du peptidoglycane, le lipide II ou undécaprényl-pyrophosphoryl-GlcNAc-MurNAc-pentapeptide.

Le lipide II est ensuite transféré du côté extracellulaire de la membrane cytoplasmique, on obtient alors un disaccharide pentapeptide (GlcNAc-MurNAc-pentapeptide) motif récurrent de la chaîne de peptidoglycane qui vient alors se lier au peptidoglycane en voie de croissance par l'intervention des PLP, enzymes ayant des activités glycosyltransferase et transpeptidase.

L'activité glycosyltransferase catalyse le transfert d'un monomère de disaccharide-pentapeptide à l'extrémité d'une chaîne glycane par l'intermédiaire d'une liaison glycosidique $\beta(1-4)$.

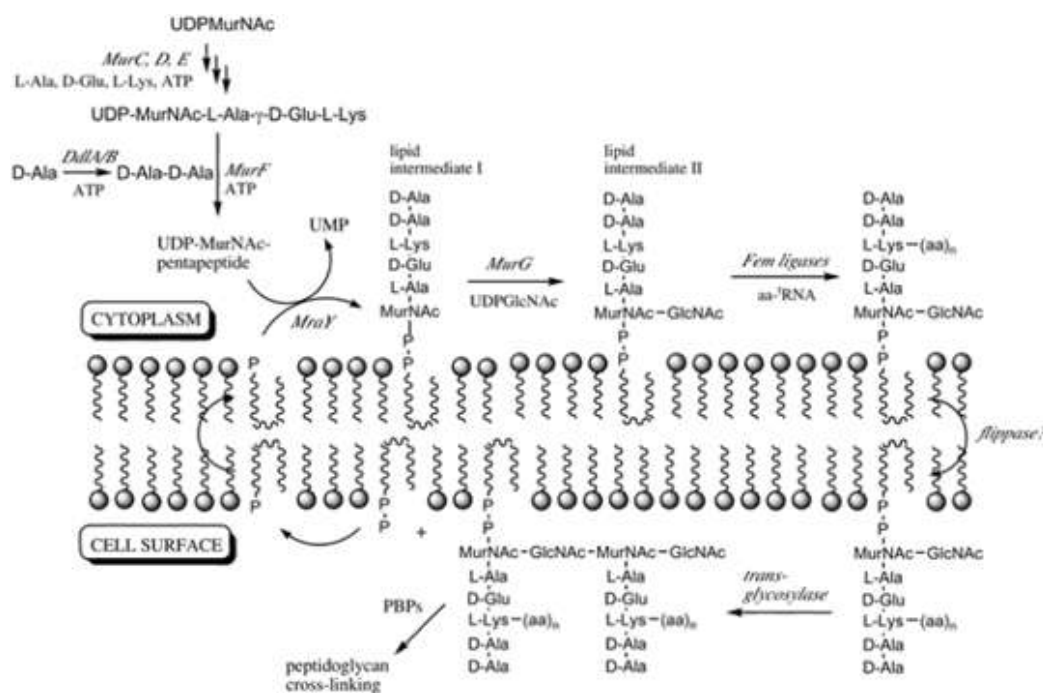


Figure 5 : Synthèse du peptidoglycane.

La chaîne néoformée est ensuite réticulée aux chaînes adjacentes par l'activité transpeptidase des PLP qui catalysent la formation de ponts peptidiques entre l'avant-dernier D-alanine (4) d'un peptide donneur et le groupe ϵ -aminé porté par l'acide méso-diaminopimélique (DAP) d'un peptide accepteur (3).

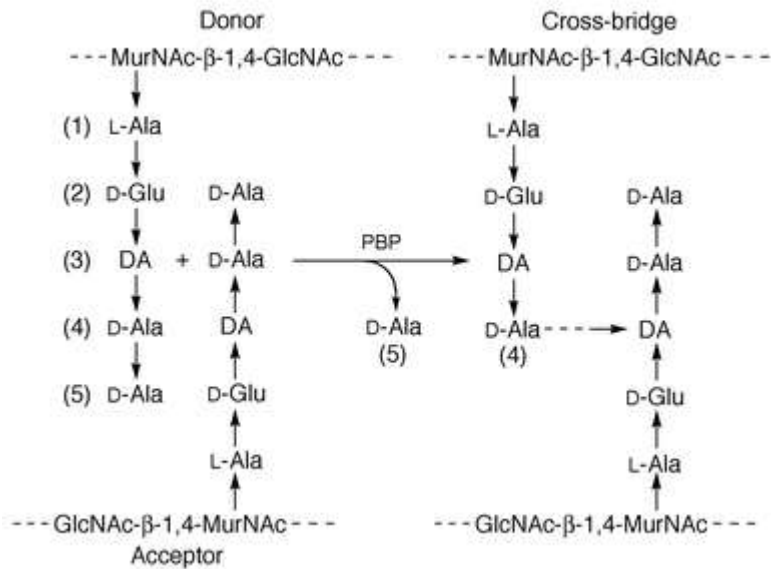
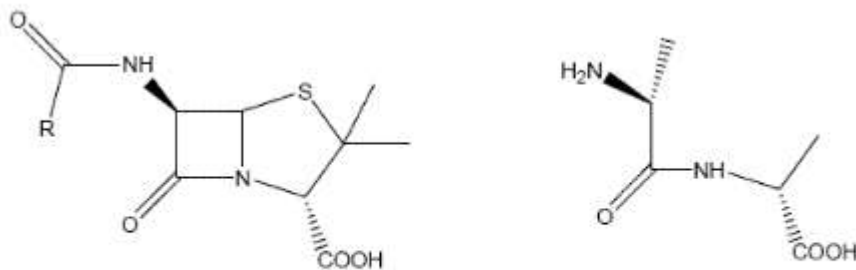


Figure 6 : Réaction de transpeptidation par les protéines liant la pénicilline (PLP).

3. Mécanisme d'action

Le mécanisme d'action commun à toutes les β -lactamines est l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane.



Pénicilline

motif DAla-DAla

Figure 7 : Similarité « stéréochimique » entre β -lactamines et le motif DAla-DAla.

Par analogie structurale avec le dipeptide D-alanyl-D-alanine dont elles miment la structure tridimensionnelle, les β -lactamines inhibent les PLP. En effet, elles vont être reconnues par les transpeptidases et carboxypeptidases ce qui aboutit à la fixation du cycle β -lactame sur le site actif de ces enzymes qui comportent habituellement une sérine. On observe alors une rupture de la liaison amide entraînant une ouverture du cycle β -lactame ainsi qu'une acylation du site actif sérine avec formation d'un complexe pénicilloyl-enzyme engendrant une inhibition de la synthèse du peptidoglycane et l'arrêt de la croissance bactérienne. Les β -

lactamines vont se comporter comme des substrats suicides en se liant de manière covalente et irréversible avec les PLP rendant ainsi ces enzymes inactives.

Pour concrétiser au mieux leur activité antibiotique, les β -lactamines doivent remplir différentes conditions. Tout d'abord, il est nécessaire qu'elles puissent pénétrer au travers de la membrane externe et du peptidoglycane puis qu'elles traversent l'espace périplasmique sans être évacuées à l'extérieur par des systèmes de pompes d'efflux ni inactivées par les β -lactamases. Enfin, elles doivent se lier aux PLP présentes sur la membrane cytoplasmique avec une affinité suffisante et ainsi inhiber l'activité transpeptidase, aboutissant à l'arrêt de la synthèse pariétale ce qui correspond à l'effet bactériostatique de l'antibiotique.

La lyse bactérienne peut résulter de l'action des forces osmotiques sur la paroi altérée mais elle découle essentiellement de l'action de systèmes impliquant les autolysines qui sont des hydrolases endogènes. Celles-ci sont capables, sous le contrôle strict de mécanismes de régulation, de dégrader à plusieurs niveaux la structure du peptidoglycane. La rupture de l'équilibre dynamique entre la construction du peptidoglycane et son réarrangement par les autolysines va expliquer l'action bactéricide des β -lactamines. Il est important de noter que les autolysines ne sont actives que lors de la phase de croissance bactérienne, ce qui explique que les β -lactamines n'ont généralement pas d'activité bactéricide sur les bactéries en phase stationnaire mais uniquement sur celles en phase de croissance.

Le nombre et la nature des PLP varient selon les espèces bactériennes et elles sont numérotées en fonction de leurs masses moléculaires décroissantes. Chez *Escherichia coli* on distingue sept PLP : 1a, 1b, 2, 3, 4, 5 et 6. Les PLP 1 à 3 ont un rôle capital dans la survie bactérienne, elles sont pourvues des activités transglycosylase et transpeptidasique avec toutefois des différences d'activité. L'inhibition simultanée de PLP 1a et 1b, impliquées dans l'élongation cellulaire, conduit à la formation de sphéroplast, rapidement suivie d'une lyse bactérienne. L'inhibition de la PLP 2, impliquée dans l'élaboration de la forme bactérienne, conduit à la formation de bactéries ovoïdes tandis que l'inhibition de la PLP 3, impliquée dans la formation du septum de la division bactérienne, conduit à la formation de longs filaments qui vont se lyser lentement. Les PLP 4, 5 et 6 ne sont pas essentielles à la survie bactérienne en effet elles possèdent une activité carboxypeptidase dont l'inhibition par les β -lactamines ne modifie pas la division cellulaire.

B. Classification des β -lactamines (8)

Comme leur nom l'indique, la structure de base des β -lactamines est le cycle bêta-lactame. Les β -lactamines sont classées par rapport à leurs structures chimiques, en fonction de la nature de l'hétérocycle associé au cycle β -lactame, on distingue les groupes des pénicillines, des céphalosporines, des carbapénèmes et des monobactames.

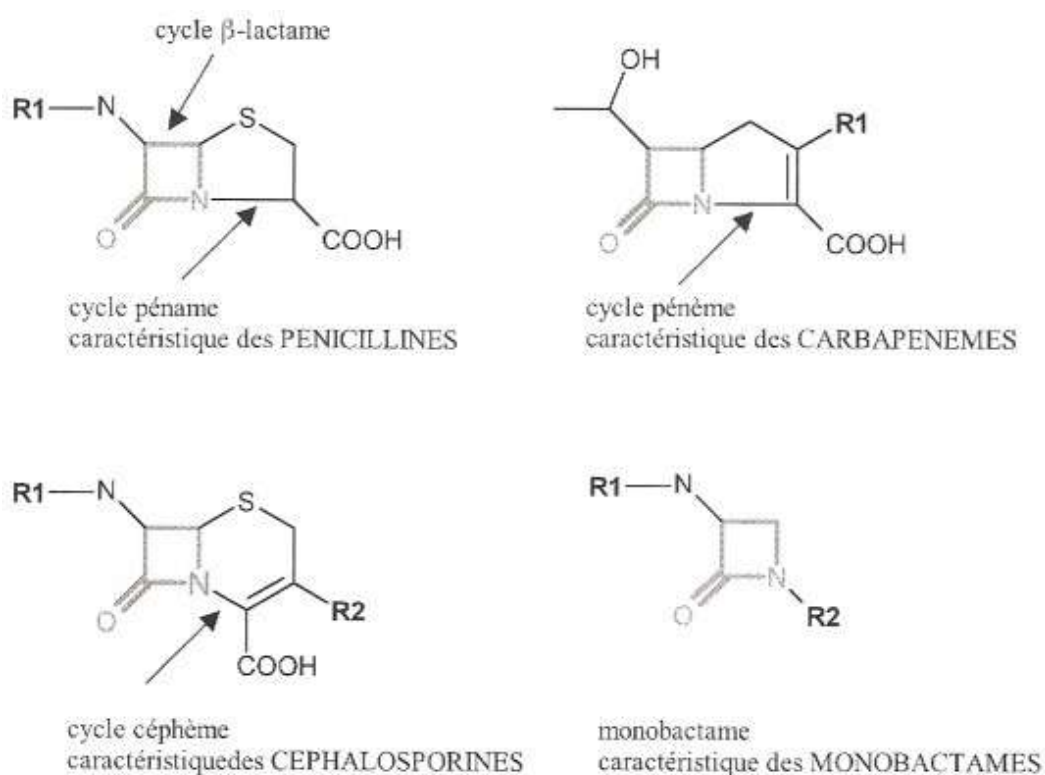


Figure 8 : Structures simplifiées des diverses β -lactamines.

1. Les pénicillines

L'appartenance à la famille des pénicillines est déterminée par la structure du noyau de base qui est dérivé de l'acide 6-amino-penicillanique qui possède un cycle thiazolidine et un cycle β -lactame aminé en 6.

La variété des molécules appartenant à cette famille est issue de la modification du radical R qui peut entraîner une modification des propriétés pharmacocinétiques, une modification des propriétés bactériologiques ainsi qu'une protection du cycle β -lactame vis-à-vis d'une hydrolyse enzymatique.

➤ Sous-groupe des pénicillines « naturelles » :

La benzylpénicilline, plus connue sous le nom de pénicilline G, est rapidement détruite par les sucs gastriques et doit donc être administrée par voie parentérale. La phénoxyéthylpénicilline (pénicilline V) est obtenue en modifiant par une liaison oxygène l'acide phénylacétique située en position 6 de la pénicilline G, qui est alors plus stable et peut être utilisée par voie orale.

➤ Sous-groupe des pénicillines M ou pénicillines anti-staphylococciques :

L'ajout de nouvelles chaînes en position 6 du noyau pénicilline provoque un encombrement stérique qui empêche les pénicillinases d'hydrolyser le noyau lactame. Le premier composé produit, la diméthoxy-benzylpénicilline (mécilline) est rapidement détruite par les sucs gastriques, elle nécessite une utilisation parentérale tandis que les isoxaloylpénicillines comme l'oxacilline, ou la cloxacilline sont administrables par voie orale.

➤ Sous-groupe des pénicillines à large spectre :

Les aminopénicillines : la première, l'ampicilline est obtenue par l'ajout d'un radical aminé en position 6 sur la benzylpénicilline ceci lui octroie une meilleure stabilité en milieu acide et élargit le spectre d'activité à de nombreux bacilles à Gram négatif. L'amoxicilline (composé le plus prescrit au sein de ce sous-groupe) est obtenue par hydroxylation de l'ampicilline ce qui améliore l'efficacité et modifie la cinétique, en effet la molécule, étant plus polaire, elle passe mieux au travers des porines des bactéries à Gram négatif.

Les carboxypénicillines se différencient des aminopénicillines par le remplacement du radical aminé sur la chaîne latérale en C6, par un groupement carboxyl. Ces composés (ex : ticarcilline) sont administrés par voie parentérale et possèdent un spectre d'action encore plus étendu sur les bacilles à Gram négatif.

Les uréidopénicillines (ex: pipéracilline) ont en commun un groupement urée sur la chaîne latérale en C6. Elles sont utilisées par voie parentérale et possèdent un spectre d'activité qui conjugue celui des amino- et des carboxy-pénicillines.

Les amidinopénicillines sont identifiables par la substitution d'une liaison méthylène en C6 sur le noyau pénicilline ce qui les rend très actives sur certaines

entérobactéries des voies urinaires. Le pivmécillinam est un ester administrable par voie orale du mécillinam.

Les pénicillines sulfones essentiellement représentées par le tazobactam et le sulbactam présentent une sulfonation en position 1 sur le noyau pénème. Ces molécules ont une activité antibactérienne propre à de fortes concentrations mais sont surtout utilisées comme inhibiteurs de β -lactamases appartenant essentiellement à la classe A de Ambler.

Au sein du groupe des oxapénèmes ou clavames, le seul représentant disponible actuellement est l'acide clavulanique, qui est utilisé comme inhibiteur de β -lactamases appartenant essentiellement à la classe A de Ambler bien qu'il possède une activité antibactérienne propre. Le noyau clavame est obtenu en substituant le soufre en position 1 du noyau pénème par un oxygène.

2. Les carbapénèmes

Le noyau pénème est obtenu par le remplacement par un atome de carbone, de l'atome de soufre du pentacycle du noyau pénème d'où le nom de « carbapénème ». Ce noyau pénème augmente l'affinité de ces antibiotiques pour les protéines cibles notamment la PLP 2 ce qui entraîne une lyse rapide des bactéries et donc un effet bactéricide rapide. En outre, le groupement hydroxyéthyle en position trans à la place des groupements amino-acyl en cis retrouvés en position 6 chez les autres β -lactamines améliore la stabilité de ces molécules vis-à-vis de l'action des β -lactamases. Cependant certaines de ces molécules telles que l'imipénème sont vulnérables à l'action de la déhydropeptidase rénale, leur administration doit donc être associée à la cilastatine qui est un inhibiteur de cette enzyme. Chez d'autres carbapénèmes tels que le méropénème et l'ertapénème, un groupement méthyl en position 1 permet une protection importante vis-à-vis de l'action de la déhydropeptidase rénale humaine. Par ailleurs, la chaîne latérale en position 2 permet de renforcer l'activité contre *Pseudomonas aeruginosa* ainsi que d'autres bactéries à Gram négatif.

3. Les monobactams

Le noyau monobactam est essentiellement constitué du noyau β -lactame. Pour l'heure le seul composé utilisé est l'aztréonam. Sa chaîne latérale aminothiazoyl lui confère une grande activité contre les bactéries à Gram négatif

aérobies et son groupement méthyl en position 4 lui adjoint une bonne stabilité vis-à-vis des β -lactamases.

4. Les céphalosporines

Le noyau céphème est constitué d'un cycle β -lactame accolé à un cycle dihydrothiazine au sein duquel se trouve un atome de soufre en position 1. La chaîne latérale en position 7 modifie les propriétés antibactériennes et la stabilité de la molécule. Quant à la chaîne latérale en position 3, elle fait varier les propriétés cinétiques de la molécule et peut renforcer les propriétés antibactériennes. Les céphalosporines sont classées en différentes catégories selon leur arrivée sur le marché, leur spectre d'activité et surtout leur comportement vis-à-vis des céphalosporinases.

Les céphalosporines de première génération sont détruites par les céphalosporinases et inactives sur *Pseudomonas aeruginosa*. Les principaux représentants sont la cefalotine et la cefazoline pour les formes parentérales et le céfador, le céfadroxil et la céfalexine pour les formes orales.

Les céphalosporines de deuxième génération ont un spectre un peu élargi au sein des entérobactéries mais restent inactives sur *Pseudomonas aeruginosa* et présentent une relative résistance à certaines céphalosporinases. Les principaux représentants sont le céfuroxime et le céfamandole.

Les céphalosporines de troisième génération se distinguent par une majoration importante de leur spectre antibactérien et par leur stabilité vis-à-vis de l'action de la plupart des céphalosporinases chromosomiques. La présence de l'hétérocycle amino-2-thiazolyl en position 7, permet une acylation maximale et irréversible des transpétidases avec un accroissement de l'affinité pour les PLP3 des entérobactéries ce qui explique l'élargissement du spectre antibactérien. En outre sa présence entraîne un encombrement stérique du noyau β -lactame qui lui confère une certaine résistance à l'hydrolyse par les β -lactamases. La substitution d'un groupement méthoxy-imino en position α , sur la chaîne latérale branchée sur le carbone 7, accentue de façon importante la stabilité envers les β -lactamases. Les principaux représentants de cette famille sont la ceftriaxone, le céfotaxime, le céfixime, la cefpodoxime et la ceftazidime. Chez la ceftriaxone, l'introduction d'un hétérocycle thiotriazine en position 3 lui confère une forte liaison aux protéines et une demi-vie d'élimination longue (8 heures). Chez la ceftazidime la présence de

l'hétérocycle pyridinium chargé positivement en position 3, associé à une charge négative en position 7 provoque une bonne activité anti-*Pseudomonas* en facilitant le passage à travers sa membrane externe.

Les céphalosporines zwitterioniques dites de quatrième génération sont dotées d'un hétérocycle portant un atome d'azote en position 3. Celui-ci permet d'obtenir des zwitterions (molécule possédant une charge positive et une charge négative) et contribue à une meilleure diffusion à travers la membrane externe des bacilles à Gram négatifs par augmentation de l'hydrophilie de la molécule. Les principaux représentants sont le céfépime et le ceftiprome.

Les céphamycines essentiellement représentées par la céfoxitine et le céfotétan se caractérisent par un radical méthoxy en position 7. Celui-ci protège le noyau β -lactame de l'action des β -lactamases mais provoque un effet inducteur important sur les céphalosporinases chromosomiques. Ces molécules conservent souvent leur activité sur les entérobactéries produisant une β -lactamase à spectre élargi.

C. Résistance aux β -lactamines

1. Résistances naturelles/ résistances acquises

Les résistances aux antibiotiques peuvent être naturelles ou acquises. Les résistances naturelles sont programmées sur le génome bactérien, elles sont donc constantes au sein d'une espèce, de ce fait elles peuvent être utilisées comme critère d'identification. Les résistances acquises résultent de modifications de l'équipement génétique chromosomique ou plasmidique de la bactérie. Elles ne concernent que certaines souches d'une même espèce mais peuvent se propager, leur fréquence varie dans l'espace et dans le temps. Elles constituent un marqueur épidémiologique(9).

2. Les supports de l'acquisition de la résistance

Les modifications génétiques responsables de résistances acquises sont soit chromosomiques, secondaires à une (ou plusieurs) mutations portant sur le chromosome, soit extra-chromosomiques par acquisition de gène(s).

➤ Les résistances consécutives à des mutations :

Elles sont spontanées car elles préexistent à l'utilisation de l'antibiotique. Elles sont stables étant donné qu'elles se transmettent verticalement dans le clone bactérien. Elles sont spécifiques parce qu'elles ne concernent qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques à la fois. Elles restent relativement rares puisque le taux de mutation se situe généralement entre 10^{-7} et 10^{-8} . Leur diffusion est favorisée par l'administration d'antibiotiques à des posologies trop faibles pour être efficace, qui sélectionnent les mutants résistants. La résistance par mutation est peu répandue en clinique, elles représentent moins de 20% des résistances acquises. En clinique, l'utilisation de l'antibiotique impliqué sélectionne les souches résistantes, la parade consiste donc à associer différentes familles d'antibiotiques.

➤ Les résistances par acquisition de gènes

Elles sont fréquentes, en effet elles représentent plus de 80% des résistances bactériennes acquises. Elles sont « contagieuses » car elles se transmettent horizontalement entre bactéries, même d'espèces différentes, cohabitant dans le même environnement. Le support génétique des résistances extra-chromosomiques peut être un plasmide ou un transposon, acquis par conjugaison ou plus rarement transduction. Les plasmides sont des molécules d'ADN bicaténaires, circulaires et cytoplasmiques, de petite taille, distinctes du chromosome, capable de réplication autonome et non indispensables au métabolisme normal de cellule-hôte. Les transposons sont des séquences d'ADN de taille limitée qui peuvent se déplacer d'un endroit à un autre sur un même brin d'ADN ou sur un autre brin. Au sein de leur structure se trouvent les gènes codant pour les enzymes nécessaires à la transposition (intégrase, transposase...). La conjugaison bactérienne consiste en une transmission de plasmides de conjugaison d'une bactérie donneuse à une bactérie receveuse. La transduction quant à elle est un mécanisme liée aux bactériophages (virus spécifiques des bactéries) qui sont capables d'injecter leur génome dans la bactérie pour qu'elle le réplique et le traduise. La transformation est le transfert passif d'ADN d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice.

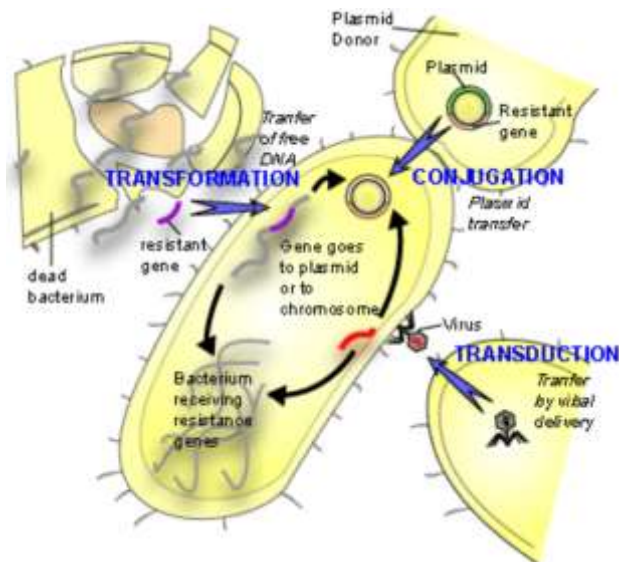


Figure 9 : Les méthodes de transfert horizontal de gènes chez les bactéries.

Ces éléments génétiques peuvent intéresser plusieurs antibiotiques ou familles d'antibiotiques et entraîner une polyrésistance. Ainsi l'utilisation d'un seul antibiotique dont la résistance est codée par un gène du plasmide impliqué, sélectionne des souches résistantes à toutes les molécules dont le gène de résistance est localisé sur ce plasmide. Ceci provoque la sélection rapide de souches polyrésistantes.

3. Les mécanismes de résistance

➤ Imperméabilité

- Absence naturelle de perméabilité membranaire

La membrane externe des entérobactéries est constituée de lipopolysaccharides (LPS) dont la structure est hydrophile grâce à ses charges électriques de surface. Ceci explique la résistance naturelle des entérobactéries, à certaines β -lactamines hydrophobes telles que la pénicilline G, la pénicilline V, les pénicillines M.

- Perte de perméabilité membranaire acquise

Les porines, situées dans la membrane externe des entérobactéries, ne sont pas spécifiques. Il est possible d'observer des résistances acquises par diminution de la perméabilité suite à une altération quantitative ou qualitative des porines. Cependant la perte de plusieurs porines est nécessaire pour réduire la sensibilité aux β -lactamines et la résistance conférée est de bas niveau. Néanmoins, l'association d'une perte de perméabilité membranaire avec un second mécanisme de résistance

tel qu'un efflux et/ou une production de β -lactamases peut conduire à une résistance de haut niveau aux β -lactamines à large spectre. Par exemple, une mutation des gènes de régulation de la transcription des gènes codant pour les porines OmpC et OmpF d'*E.coli* conduit à une diminution de l'activité des antibiotiques empruntant cette voie (β -lactamines, aminosides, quinolones, triméthoprine, chloramphénicol). Chez d'autres espèces, la perte de perméabilité à elle seule peut entraîner une authentique résistance. Par exemple chez *Pseudomonas aeruginosa*, la résistance par imperméabilité est illustrée par la mutation impliquant un déficit en porine D2 (OprD) rendant les souches résistantes à l'imipénème, en effet cette porine présente la particularité d'être spécifique aux carbapénèmes.

➤ Efflux

De nombreuses espèces de bacilles à Gram négatif comme *E.coli* expriment naturellement et à bas niveau des systèmes d'efflux multiples de type RND (Resistance-Nodulation-Division). Leur rôle initial consiste à excréter les molécules toxiques présentes dans l'environnement de la bactérie. Ils sont constitués de trois protéines. La première est enchâssée dans la membrane cytoplasmique et joue le rôle de pompe excrétrice. La deuxième, située dans le périplasme est une protéine de fusion membranaire. La troisième est insérée dans la membrane externe et assure le passage au travers de celle-ci. Ces systèmes peuvent être surexprimés en raison de mutations dans des gènes régulateurs ce qui conduit à une résistance de bas niveau et croisée à différentes familles d'antibiotiques comme le chloramphénicol, les tétracyclines, les quinolones, les β -lactamines. C'est, par exemple, le cas chez *E.coli* en situation de sur expression du système d'efflux AcrAB-TolC. La résistance par efflux est souvent couplée à une diminution de la perméabilité par diminution des porines. La combinaison de ces deux mécanismes peut conduire à une résistance simultanée et à haut niveau à l'égard d'antibiotiques structuralement différents.

➤ Modification de PLP

Un des processus classiques pouvant entraîner une résistance à un antibiotique est la modification de sa cible, or les cibles des β -lactamines sont les PLP. Ainsi plusieurs éléments peuvent entraîner cette résistance: l'hyperproduction de PLP normales, la production par mutations de nouvelles PLP sans affinité pour

les β -lactamines ou l'acquisition de gènes ou de fragments de gènes codant pour des PLP d'affinité diminuée pour les β -lactamines. Néanmoins ce type mécanisme de résistance est très rare chez les entérobactéries. Cela est notamment observé chez les souches de *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline, par transposition ces souches ont acquis le gène *mecA* qui code pour une nouvelles PLP, dénommée PLP2a. Cette protéine, sans affinité pour les β -lactamines, confère une résistance de haut niveau pour toute les pénicilines, céphalosporines et carbapénèmes.

➤ Inactivation enzymatique(10)(11)

C'est le principal mécanisme de résistance aux β -lactamines chez les entérobactéries. Il repose sur la production d'enzymes, les β -lactamases, qui hydrolysent le cycle β -lactam en provoquant l'ouverture de celui-ci au niveau de la liaison amide. Cette réaction repose sur un résidu sérine actif chez les enzymes les plus fréquentes ou sur un ion métallique Zn^{2+} .

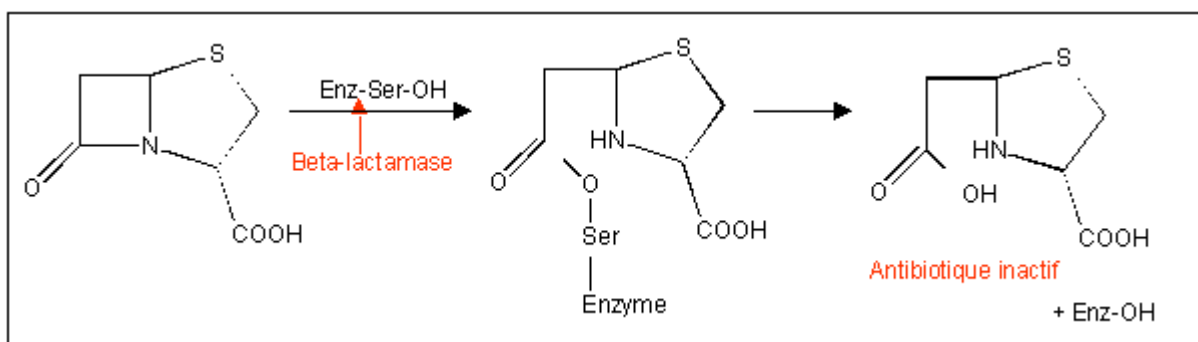


Figure 10 : Hydrolyse du cycle β -lactam par une β -lactamase.

Plusieurs auteurs ont tenté de classer les enzymes hydrolysant les β -lactamines. Actuellement deux classifications superposables sont utilisées pour distinguer les différents types de β -lactamases. La classification de Ambler(12) est structurale, elle est basée sur la séquence peptidique du site enzymatique ou sur la séquence totale du gène codant la β -lactamase. Elle propose quatre classes : A, B, et C qui sont des sérines enzymes et la classe D constituée de métalloenzymes. La classification de Bush-Jacoby-Meideros(13), quant à elle, est fonctionnelle. Elle répartit les β -lactamases en quatre groupes, en fonction de leur spectre d'activité hydrolytique et de leur sensibilité aux inhibiteurs.

L'expression du niveau de résistance d'une population bactérienne, envers les β -lactamines, découle de plusieurs facteurs : l'affinité de l'enzyme pour le substrat, la vitesse d'hydrolyse, la quantité d'enzyme synthétisée, sa localisation, la capacité de

diffusion de l'antibiotique à travers la membrane externe à l'intérieur de la paroi et le type d'enzyme(14). Chez les entérobactéries, les β -lactamases sont localisées dans l'espace périplasmique. La capacité de diffusion au travers de la membrane externe est un facteur de variation important sur la cinétique de l'activité des β -lactamases. Ainsi, un antibiotique sensible à l'hydrolyse, peut être efficace, s'il est capable d'accéder rapidement aux PLP en traversant facilement la membrane externe. De la même façon, un antibiotique qui traverse moins facilement la membrane externe peut être efficace s'il est stable à l'hydrolyse.

➤ La classe A de Ambler

Elle est subdivisée en sept groupes fonctionnels dans la classification de Bush-Jacoby-Meideros.

Le groupe fonctionnel 2a correspond aux pénicillinases à spectre étroit. Ces enzymes inactivent la pénicilline G, les aminopénicillines, les carboxypénicillines et les uréidopénicillines. Les inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam restaurent l'activité des pénicillines.

Le groupe fonctionnel 2b rassemble les pénicillinases à large spectre telles que les enzymes TEM-1, TEM-2, SHV-1. Elles inactivent les pénicillines, les céphalosporines de première génération et, dans une moindre mesure les céphalosporines de deuxième génération qui n'appartiennent pas aux céphamycines. Elles sont sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases.

Le groupe fonctionnel 2be comprend les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) de classe A. Elles inactivent l'ensemble des pénicillines et des céphalosporines en dehors des céphamycines. Elles sont sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases.

Le groupe fonctionnel 2br correspond aux β -lactamases à large spectre résistant à l'acide clavulanique. Elles dérivent de TEM et beaucoup plus rarement de SHV, par mutation dans le site actif. Ces enzymes appelées TEM Résistantes aux Inhibiteurs (TRI) ont un spectre d'hydrolyse proche de celui des enzymes d'origine avec cependant une activité hydrolytique amoindrie sur les céphalosporines et surtout une résistance à l'action par les inhibiteurs de β -lactamases.

Le groupe fonctionnel 2c rassemble les carbénicillines. Le spectre d'activité est proche de celui des enzymes TRI avec toutefois les carboxypénicillines comme substrat préférentiel. La restauration de l'activité par les inhibiteurs de β -lactamases est faible.

Le groupe fonctionnel 2e correspond aux céphalosporinases inhibées par l'acide clavulanique. Elles inactivent les aminopénicillines (et à moindre niveau les carboxypénicillines, les uréidopénicillines), les céphalosporines de première et de seconde génération en dehors des céphamycines. Comme leur nom l'indique, elles sont sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases.

Le groupe fonctionnel 2f rassemble les carbapénémases à site actif sérine et inhibées par l'acide clavulanique. Elles hydrolysent en général, les pénicillines, les céphalosporines de première et de deuxième génération, l'aztréonam, les carbapénèmes et de façon variable les céphalosporines de troisième génération. Elles sont peu inhibées par inhibiteurs de β -lactamases.

➤ La classe B de Ambler

Elle coïncide avec le groupe fonctionnel 3 de la classification de Bush et rassemble les métallo- β -lactamases. Ces enzymes inactivent les pénicillines, les céphalosporines et les carbapénèmes mais épargnent l'aztréonam. Elles sont résistantes à l'action des inhibiteurs de β -lactamases classiques mais sont sensibles aux inhibiteurs chélatant les ions métalliques comme l'EDTA.

➤ La classe C de Ambler

Elle correspond au groupe fonctionnel 1 de la classification de Bush. C'est un ensemble hétérogène de céphalosporinases de type AmpC qui sont insensibles à l'action des inhibiteurs de β -lactamases. Cette classe rassemble les céphalosporinases chromosomiques constitutives, celles qui sont inductibles ainsi que les céphalosporinases plasmidiques. Ces enzymes inactivent les aminopénicillines, les céphalosporines de première génération et selon la nature de l'enzyme les céphalosporines de deuxième génération y compris les céphamycines. Elles sont actives dans une moindre mesure sur les carboxypénicillines, les uréidopénicillines et les céphalosporines de troisième génération, néanmoins ces substrats seront inactivés efficacement par les enzymes hyperproduites. Les

céphalosporines zwitterioniques et les carbapénèmes sont quant à eux généralement épargnés, toutefois certaines enzymes AmpC mutantes dites à spectre étendu sont capables de les hydrolyser.

➤ La classe D de Ambler

Elle équivaut au groupe fonctionnel 2d de la classification de Bush. Elle comprend les oxacillinases. Ces enzymes possèdent une activité hydrolytique plus importante envers les isoxazolyl-pénicillines comme l'oxacilline que sur la benzylpénicilline. En général leur spectre d'action et leur résistance au clavulanate se rapprochent des enzymes du groupe 2br. Cependant les oxacillinases confèrent souvent une discrète diminution de la sensibilité aux céphalosporines zwitterioniques, ce qui facilite parfois leur distinction par rapport aux enzymes TRI. Au sein de cette classe sont également intégrées des BLSE de classe D qui correspondent à des oxacillinases possédant un spectre d'activité étendu aux céphalosporines de deuxième et troisième générations ainsi qu'aux céphalosporines zwitterioniques. En outre, certaines oxacillinases retrouvées chez les entérobactéries comme l'OXA-23 disposent d'une activité carbapénémase.

La classification de Bush-Jacoby-Meideros décrit également un groupe fonctionnel 4, qui rassemble une dizaine d'enzymes, rarement rencontrées et qui s'intègrent mal dans d'autres groupes ou classes moléculaires. Ces enzymes possèdent généralement des profils hydrolytiques de pénicillinases et sont insensibles à l'action de l'acide clavulanique.

	Classification moléculaire de (Ambler)	Classification fonctionnelle (Bush)	Type de β -lactamases	Inhibition par l'acide clavulanique
Enzymes à sérine active	Classe A	2a	Pénicillinases	+++
		2b	β -lactamases à large spectre	+++
		2be	β -lactamases à spectre étendu	+++
		2br	β -lactamases à large spectre résistant à l'acide clavulanique	-
		2c	Carbénicillinases	+
		2e	Céphalosporinases inhibées par l'acide clavulanique	+++
		2f	Carbapénémases à site actif sérine et inhibées par l'acide clavulanique	+
	Classe C	1	Céphalosporinases AmpC	-
	Classe D	2d	Oxacillinases	+/-
	4	Enzymes indéterminées n'entrant pas dans une autre catégorie	-	
Métallo-enzymes à zinc	Classe B	3	Métallo- β -lactamases	-

Tableau 1 : Répartition des différentes β -lactamases selon les classifications de Ambler, de Bush et leur sensibilité à l'inhibition par l'acide clavulanique.

Rappelons-nous que naturellement *Escherichia coli* produit à très bas niveau, une céphalosporinase chromosomique non inductible, de type AmpC. Selon le niveau d'expression de cette céphalosporinase, le phénotype de résistance naturel chez cette bactérie varie, d'une sensibilité à toutes les β -lactamines à une sensibilité intermédiaire aux aminopénicillines avec et sans inhibiteur et/ou aux céphalosporines de première génération.

4. La résistance aux carbapénèmes, zoom sur les carbapénémases

La résistance aux carbapénèmes peut être due à une perte de perméabilité associée à l'hyper expression d'une β -lactamase ayant une faible capacité d'hydrolyse des carbapénèmes ou à la production d'une enzyme possédant une puissante activité carbapénémase. La différenciation de ces mécanismes et de leur propension à diffuser va influencer les pratiques thérapeutiques ainsi que les actions préventives concernant les infections nosocomiales.

➤ Les carbapénémases de classe A

De rares souches d'entérobactéries produisent des carbapénémases de classe A chromosomiques et inductibles par les β -lactamines, *Enterobacter cloacae* (NMC-A, IMI), *Serratia marcescens* (SME) et *Serratia fonticola* (SFC-1). Ces souches présentent une sensibilité diminuée ou sont résistantes aux pénicillines, aux céphalosporines de première et deuxième générations, à l'aztréonam et à l'imipénème, par contre elles restent sensibles aux céphalosporines zwitterioniques et de troisième génération.

Des enzymes codées par un plasmide et dérivées des BLSE (GES) sont ponctuellement décrites, elles possèdent une faible activité carbapénémase.

Les carbapénémases de type KPC sont bien plus inquiétantes, aussi bien concernant leur capacité à hydrolyser des β -lactamines que leur aptitude à se propager au sein des entérobactéries. En effet, ces enzymes confèrent une résistance à toutes les β -lactamines, y compris l'ensemble des céphalosporines et à certains voire tous les carbapénèmes. De plus, bien qu'appartenant à la classe A de Ambler, elles sont peu inhibées par les inhibiteurs traditionnels comme l'acide clavulanique. Elles sont codées par un plasmide ce qui a permis leur diffusion chez les entérobactéries telles que *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter spp* et *Salmonella enterica*. Les premières *Klebsiella pneumoniae* KPC ont tout d'abord été décrites sur la côte est des États Unis en 1996(15).

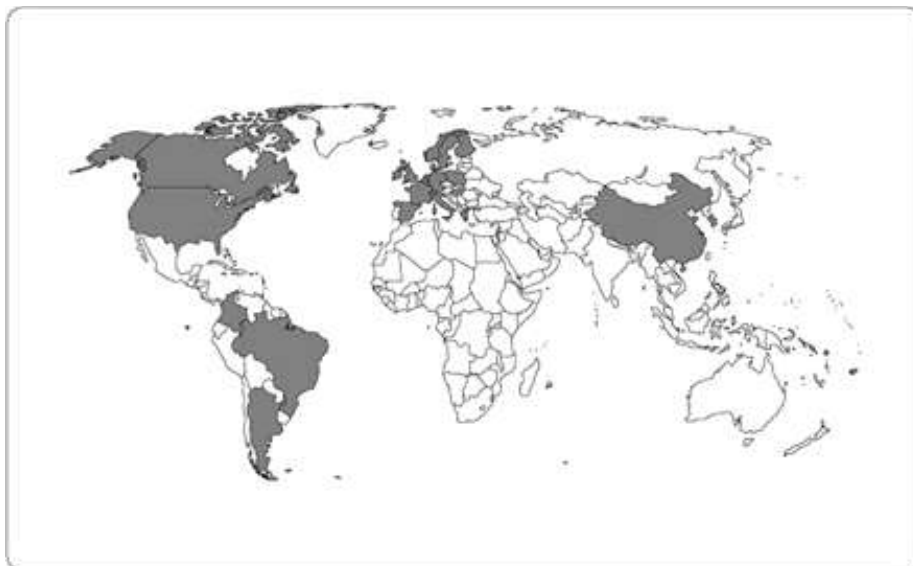


Figure 11 : Représentation de la dissémination des *Klebsiella pneumoniae* productrices de KPC. Sont indiqués en gris les pays dans lesquels des cas de *K. pneumoniae* KPC ont été publiés avant février 2011(16).

➤ Les carbapénémases de classe B

Ces métallo- β -lactamases possèdent un large profil de substrat qui englobe la totalité des β -lactamines incluant les β -lactamines inhibitrices et n'épargne que l'aztréonam. Elles sont habituellement portées par des éléments génétiques mobiles et peuvent se situer sur des chromosomes ou des plasmides. Les enzymes IMP (Impénémase) et VIM (Verona Integron encoded Metallo- β -lactamase) représentent la majorité des carbapénémases de classe B, elles ont été rejointes en 2008 par NDM-1 (New Delhi metallo- β -lactamase). La première métallo- β -lactamase de type IMP a été décrite au Japon en 1991. Les carbapénémases de classe B ont par la suite largement diffusé dans le monde entier et les enzymes de type VIM et IMP sont désormais endémiques dans certains pays tels que la Grèce, l'Italie, l'Espagne, Taiwan et le Japon. La plupart des souches productrices de métallo- β -lactamases sont des *K. pneumoniae* multirésistantes acquises dans les établissements de soins(17).

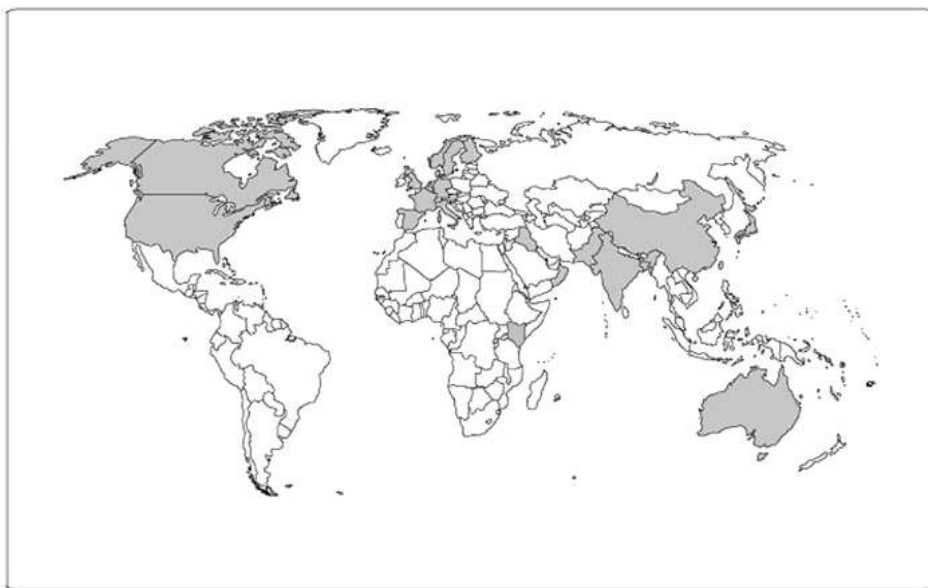


Figure 12 : Représentation de la dissémination des entérobactéries productrices de NDM. Sont indiqués en gris les pays dans lesquels des cas d'entérobactéries NDM ont été publiés avant février 2011(16).

➤ Les carbapénémases de classe D

Elles correspondent essentiellement aux enzymes de type oxacillinases (OXA-48, OXA-163, OXA-181) et sont principalement observées chez *K.pneumoniae*, *E.coli* et *Enterobacter* spp. Ces enzymes confèrent une résistance aux pénicillines avec ou sans inhibiteur, elles présentent une sensibilité diminuée aux céphalosporines de

première, deuxième et quatrième générations ainsi qu'aux carbapénèmes, notamment l'ertapénème. Toutefois, leur présence est souvent couplée à la présence d'une BLSE ou à un défaut de perméabilité membranaire ce qui conduit à une multirésistance des souches sécrétrices. La première souche de *K. pneumoniae* productrice d'OXA-48 a été isolée en Turquie en 2003. Et depuis, les bactéries productrices d'oxacillinases, notamment OXA-48, ont largement émergé dans tous les pays du pourtour méditerranéen et en Afrique(17).

IV. BLSE

A. Historique

La première β -lactamase médiée par un plasmide, retrouvée chez une entérobactérie a été décrite au début des années soixante. Elle a été identifiée en Grèce, chez une souche d'*Escherichia coli* isolée dans une hémoculture d'une patiente nommée Temoneira, c'est pourquoi cette enzyme a été baptisée TEM-1. Une autre β -lactamase fréquente médiée par un plasmide, identifiée chez *Klebsiella pneumoniae* et *E.coli* est SHV-1 pour «Sulphydryl Variable». La β -lactamase SHV-1 est encodée au niveau du chromosome chez la majorité des souches de *K.pneumoniae* mais habituellement médié par un plasmide chez *E.coli*. Ces enzymes (TEM-1/2 et SHV-1) sont des pénicillinases à large spectre qui correspondent au groupe fonctionnel 2b de la classification de Bush-Jacoby-Meideros, elles se sont rapidement répandues et ont diffusé parmi d'autres espèces (entérobactéries, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*)(18). Durant les années 70-80, face à la propagation de ces enzymes, de multiples β -lactamines stables vis-à-vis de ces β -lactamases ont été développées (oxyimino céphalosporines, céphamycines, monobactam, carbapénèmes). Les céphalosporines à spectre étendu ont notamment rencontré un franc succès et ont été copieusement utilisées dans de nombreuses indications. Cependant leur usage intensif en clinique a entraîné l'apparition précoce de résistances. Ainsi, la première β -lactamase capable d'hydrolyser les céphalosporines à spectre élargi a été décrite en 1985 en Allemagne chez une souche clinique de *K.pneumoniae* subsp *ozaenae*, il s'agissait de SHV-2 un mutant ponctuel de SHV-1(19). Quelques années plus tard ce sont des β -lactamases dérivées des enzymes TEM qui ont été signalées résistantes

aux céphalosporines de troisième génération(20). Par la suite de nombreuses β -lactamases dérivées des enzymes originelles TEM1/2 et SHV-1 par mutations ponctuelles ont été détaillées. La majorité des enzymes SHV et une grande partie des enzymes TEM présentent une résistance aux céphalosporines de troisième génération et font donc partie du groupe fonctionnel 2be de Bush tandis que le reste des mutants présentent une résistance aux inhibiteurs de β -lactamases et appartiennent au groupe fonctionnel 2br de Bush(21)(22). Jusqu'à la fin des années 90, la majorité des BLSE détectées appartenait aux familles d'enzymes TEM ou SHV. Elles étaient essentiellement associées à des épidémies nosocomiales. Les principaux facteurs de risques identifiés étaient: l'admission en unité de soins intensifs, l'hospitalisation prolongée, l'utilisation de dispositifs invasifs tels que sondage urinaire, ventilation assistée, cathétérisme IV, ainsi que l'administration de céphalosporines de troisième génération(23)(24). La prévalence des BLSE était plus forte chez *K.pneumoniae* que chez *E.coli*. Fin des années 80, au Japon, une souche d'*E.coli* résistante au céfotaxime a été détectée dans la flore fécale d'un chien de laboratoire utilisé à des fins d'études de pharmacocinétiques des β -lactamines. Cette souche produisait une enzyme n'appartenant ni à la famille des TEM ni à celle des SVH(25). Dans le même temps une dissémination importante de souche de *Salmonella* résistante au céfotaxime est décrite en Amérique du sud. Cette résistance est due à une enzyme qui hydrolyse de façon bien plus substantielle le céfotaxime par rapport à la ceftazidime d'où le nom de céfotaximase (CTX-M). Durant les années 90, on assiste à une diffusion massive de souches productrices de CTX-M au sein de différentes espèces d'entérobactéries (*Salmonella*, *Proteus mirabilis*, *E.coli*, *Shigella*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Enterobacter aerogenes*, *Serratia marcescens*)(26). En 15 ans, la propagation des BLSE de type CTX-M chez les entérobactéries au niveau mondial a explosé de façon excessivement rapide d'où le terme de « pandémie CTX-M »(27). L'avènement de la prédominance des BLSE de type CTX-M a profondément modifié l'épidémiologie des BLSE qui ne sont plus confinées à l'hôpital mais également dans la communauté notamment parce que l'hôte préférentiel est devenu *E.coli*(28).

B. Définition

Le terme de « β -lactamase à spectre étendu » (BLSE), initialement « β -lactamase à spectre élargi étendu » a été formulé pour décrire les enzymes dérivées

de TEM1/2 et SHV1 qui étaient capable d'hydrolyser les oxyimino-céphalosporines. Elles appartenait toutes au groupe fonctionnel 2be. Par la suite, ce terme désignait également les enzymes ayant un spectre d'activité similaire aux mutants BLSE TEM et SHV mais d'origine différente telles que les CTX-M, ainsi que les enzymes ayant une capacité de résistance aux β -lactamines plus vaste que leurs ascendants mais ne répondant pas à la définition du groupe fonctionnel 2be comme les dérivés de type OXA. De ce fait le terme BLSE est utilisé au sens large et doit être accompagné d'un élément précisant le type d'enzyme, par exemple : BLSE de type OXA ou BLSE de type CTX-M(29).

C. Les BLSE de type TEM et SHV

Plus de 200 dérivés de TEM-1/2 ont été décrits à ce jour, dont plus de 100 avec un phénotype de BLSE. Au début essentiellement retrouvées chez *E.coli* et *K.pneumoniae*, ces enzymes sont observés chez une grande variété d'entérobactéries telles *Enterobacter* spp, *Proteus* spp, *Morganella morganii*, *Salmonella* spp mais aussi chez *Pseudomonas aeruginosa*(18). Les mutations qui entraînent un élargissement du spectre d'activité ont surtout été détectées à certaines localisations de la séquence d'acides aminés de la protéine (positions 104,164,238,240)(21).

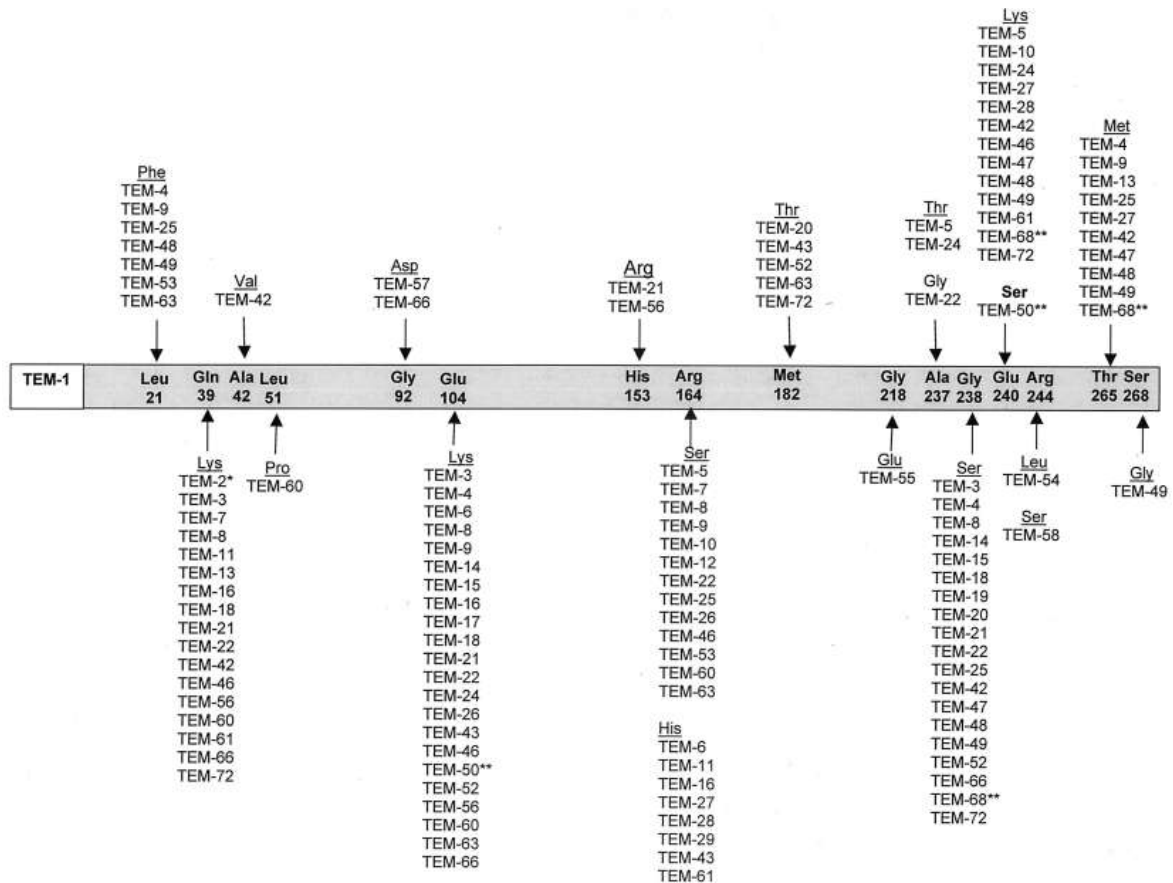


Figure 13 : Séquence d'acides aminés de différents dérivés BLSE de TEM-1. (TEM-2 a également été représenté sur la figure bien qu'elle ne soit pas une BLSE)(18)

Plus de 60 dérivés de SHV-1 ont été décrits dont la majorité expriment un phénotype de BLSE. Ces enzymes sont observées chez de nombreuses espèces d'entérobactéries notamment de *K.pneumoniae* mais aussi chez *Pseudomonas aeruginosa*(18). Les mutations responsables de l'élargissement de spectre ont généralement lieu au niveau des positions 238 et 240(21). Ainsi le remplacement d'une glycine par une sérine en position 238 aurait un rôle essentiel dans l'efficacité hydrolytique envers le céfotaxime tandis que l'association des remplacements d'une glycine en 238 et d'un résidu glutamate en 240 respectivement par une sérine et une lysine influencerait l'efficacité hydrolytique envers la ceftazidime(30).

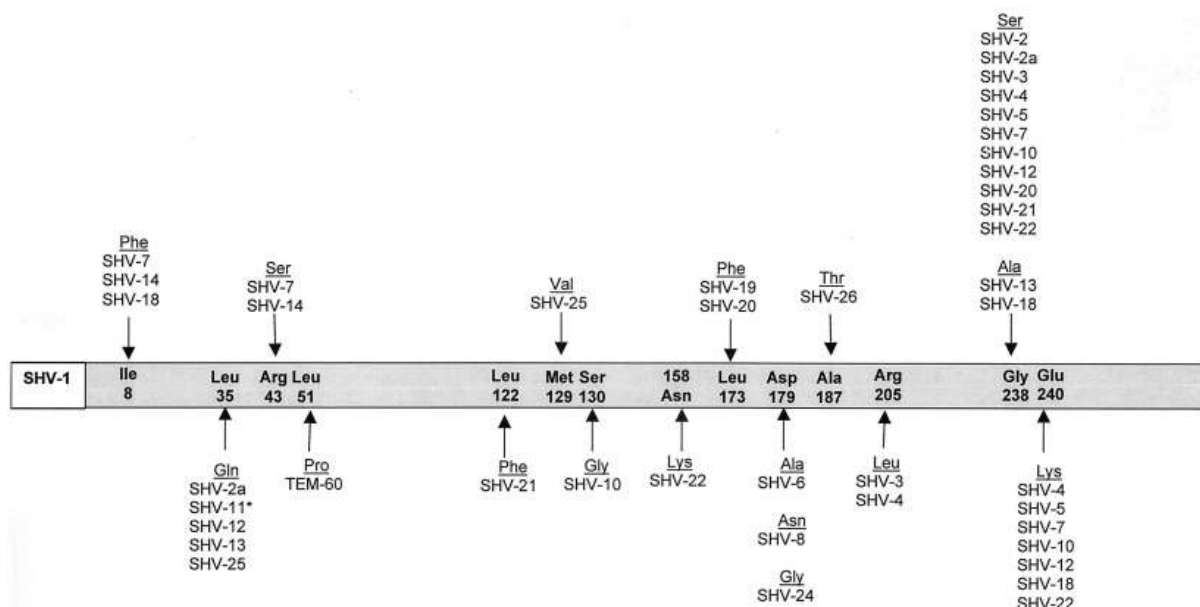


Figure 14 : Séquence d'acides aminés de différents dérivés BLSE de SHV-1(18).

Le spectre d'activité des dérivés BLSE de type TEM et SHV inclut les céphalosporines à large spectre ainsi que l'aztréonam avec un niveau de résistance variable vis-à-vis des différentes molécules en fonction des dérivés(14).

D. Les BLSE de type CTX-M

La première enzyme de type CTX-M a été signalée à la fin des années 1980, par la suite de nombreux variants ont été décrits. Actuellement plus de 50 sont connus, regroupés en six sous-groupes, chaque sous-groupe étant habituellement désigné par le nom du premier variant décrit: CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45(31).

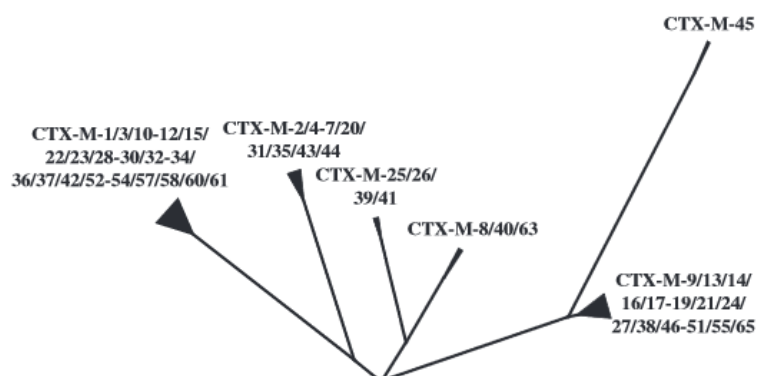


Figure 15 : Shématisation du degré de similarité entre les séquences d'acides aminés des six sous-groupes de β -lactamases de type CTX-M(31).

Contrairement à la plupart des autres BLSE acquises, la source originelle des gènes codant pour les enzymes de type CTX-M est connue. En effet, ces éléments génétiques sont retrouvés au sein du chromosome de bactéries issues du genre *Kluyvera*, telles que *K.ascorbata*, *K.cryocrescens*, *K.georgiana* (32–34)(35). Ces bactéries sont environnementales, non ou peu pathogènes pour l’homme. De multiples mécanismes génétiques sont apparemment impliqués dans la capture et la dissémination des déterminants CTX-M. Par exemple, les gènes codant pour plusieurs groupes d’enzymes de type CTX-M (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-9, CTX-M-25) ont été retrouvés en aval de la séquence d’insertion *ISEcp1* impliquée dans la mobilisation de ces gènes. La diffusion mondiale des BLSE de type CTX-M chez les entérobactéries s’est développée de façon très rapide, la situation semble endémique dans la plupart des pays d’Europe, d’Asie et d’Amérique du Sud, avec de fort taux de prévalence de CTX-M parmi les souches productrices de BLSE. Il est à noter que certains variants sont retrouvés spécifiquement dans certains pays, comme CTX-M-9 et CTX-M-14 en Espagne, CTX-M-1 en Italie ou CTX-M2 en Amérique du Sud et en Israël tandis que CTX-M-15 est mondialement distribué(27).

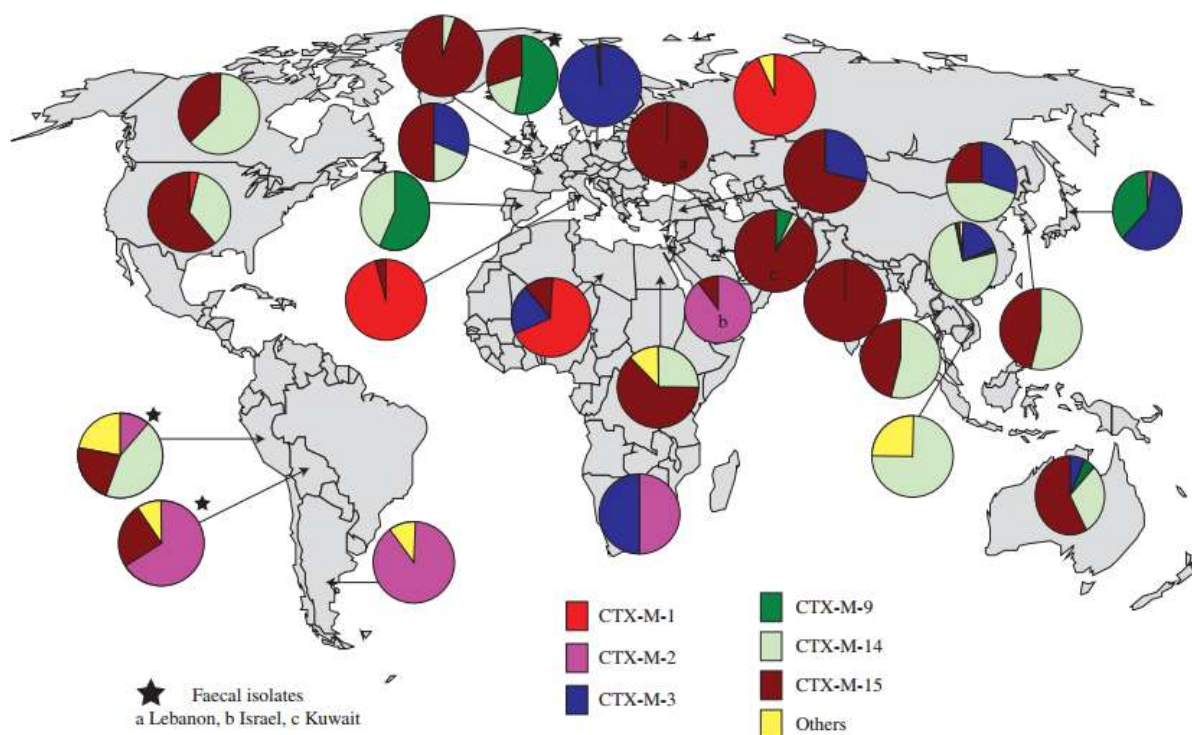


Figure 16 : Distribution globale des génotypes de CTX-M(36).

La structure du site de liaison des CTX-M permet la reconnaissance efficace des pénicillines, céphalosporines de spectre étroit et du céfotaxime mais pas de l’encombrante molécule de ceftazidime. Toutefois une modulation du spectre

d'hydrolyse peut être obtenue par mutations. Ainsi certains variants CTX-M présentent une augmentation de l'activité ceftazidimase, notamment par la substitution d'une Asparagine par une Glycine en 240 qui entraîne une meilleure accessibilité de la molécule de ceftazidime(31). De la même façon que pour les souches productrices de BLSE de type TEM et SHV, un haut niveau de co-résistances envers d'autres familles d'antibiotiques telles que les aminosides ou les fluoroquinolones a été rapporté pour les souches produisant des enzymes de type CTX-M. De plus, bien que les enzymes CTX-M restent pour l'instant inactives sur les carbapénèmes, une résistance acquise à l'ertapénème médiée par une perte de porine a déjà été décrite chez des souches d'entérobactéries produisant des BLSE de type CTX-M(37). Ceci laissant entrevoir le spectre des souches d'entérobactéries associant différents mécanismes de résistance et devenant pan résistantes.

E. Les autres types de BLSE

SFO-1 (*Serratia fonticola*) a été détectée dans une souche d'*Enterobacter cloacae* au Japon en 1988. Elle possède une puissante activité hydrolytique envers le céfotaxime et est inhibée par l'acide clavulanique (38)(39).

BES-1 (Brazilian Extended-Spectrum β -lactamase) a été détectée dans une souche de *Serratia marscescens* au Brésil en 1996. Cette enzyme confère un haut niveau de résistance à l'aztréonam ainsi qu'une plus forte résistance au céfotaxime qu'à la ceftazidime(38)(39).

BEL-1 (Belgium extended-spectrum β -lactamase) a été détectée dans une souche de *Pseudomonas aeruginosa* en Belgique en 2004. Elle hydrolyse les céphalosporines de troisième génération et l'aztréonam, elle est inhibée par l'acide clavulanique mais peu par le tazobactam(38)(39).

TLA-1 (Tlahuicas-tribu indienne) a été détectée dans une souche d'*Escherichia coli* au Mexique en 1993. Elle hydrolyse les céphalosporines de troisième génération, le céfepime et l'aztréonam et est fortement inhibée par le tazobactam. Plusieurs cas de bactériémies et d'infections urinaires nosocomiales dues à une souche de *K.pneumoniae* productrice de SHV-5 et TLA-1 ont été rapportés au Mexique. Il est à noter que TLA-2 a été détectée chez une bactérie isolée à partir d'eaux usées de traitement de plantes en Allemagne en 2002(38)(39).

➤ BLSE de type PER (*Pseudomonas* Extended Resistance)

PER-1 a été initialement détectée dans une souche de *Pseudomonas aeruginosa* en 1993 en France chez un patient ayant été hospitalisé en Turquie. Cette enzyme confère une résistance aux pénicillines, céfotaxime, ceftazidime et aztréonam et est sensible aux inhibiteurs de β -lactamases. Elle est fréquente chez *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. Mais a aussi été détectée chez *Salmonella enterica* sérovar Typhimurium, *Providencia* spp, *Proteus mirabilis* et *Alcaligenes faecalis*. Une seconde enzyme, PER-2 a été décrite en 1996, en Argentine chez une souche de *Salmonella enterica* sérovar Typhimurium et par la suite chez d'autres espèces d'entérobactéries, *Vibrio cholerae* et *Acinetobacter baumannii*. A noter que PER-1 est surtout retrouvée en Corée du Sud et en Turquie avec quelques cas décrits en Italie, France et Belgique, tandis que PER-2 est présente en Amérique du sud(38)(39).

➤ BLSE de type VEB (Vietnam Extended-spectrum β -lactamase)

VEB-1 a été détectée dans une souche d'*Escherichia coli* en 1996 chez un patient vietnamien. Elle confère un haut niveau de résistance à la ceftazidime, au céfotaxime et à l'aztréonam et est sensible aux inhibiteurs de β -lactamases. Cette enzyme a été ensuite décelée chez des souches de *Pseudomonas aeruginosa* au Koweït, en Chine, en Inde et au Bangladesh, chez *Acinetobacter baumannii* en France, en Belgique et en Argentine, chez *Proteus stuartii* en Algérie, et *P.mirabilis* en Corée du Sud, chez *Enterobacter cloacae* en France et en Chine ainsi que chez *E. coli* au Canada. Par la suite, des dérivés de VEB-1 ont été décrits par exemple, VEB-2 à VEB-5(38)(39).

➤ BLSE de type GES (Guyana Extended-Spectrum β -lactamase)

GES-1 a été initialement détectée dans une souche de *K.pneumoniae* en 1998 en France. Elle hydrolyse les pénicillines, les céphalosporines de troisième génération mais pas l'aztréonam et est sensible à l'action des inhibiteurs de β -lactamases. Les BLSE de type GES dont neuf variants ont été décrits sont de plus en plus rapportés chez les bacilles à Gram négatif notamment *Pseudomonas aeruginosa*, *K.pneumoniae* et *E.coli* et ceci dans différentes zones du globe : France, Grèce, Portugal, Argentine, Brésil, Chine, Corée, Japon ou encore Afrique du Sud. GES-2 est un variant remarquable, en effet par une unique mutation, il est le premier exemple de BLSE avec un élargissement du spectre d'activité aux carbapénèmes de plus cette enzyme est moins sensible aux inhibiteurs de β -lactamases. De façon inquiétante, des souches de *Pseudomonas aeruginosa* produisant GES-1 et la carbapénémase VIM-1 et de *E.coli* produisant GES-7 et la carbapénémase VIM-2 ont été décrites respectivement en Argentine et en Grèce(38)(39).

➤ BLSE de type OXA (Oxacillinase)

Initialement découvertes chez *Pseudomonas aeruginosa* en Turquie, les BLSE de type OXA ont été décrites en France, à Taiwan, en Corée et aux Etats-Unis. Phylogénétiquement parlant, les β -lactamases de type OXA forment une

famille très hétérogène, les BLSE dérivent le plus souvent les enzymes OXA-10, OXA-13 ou OXA-2 mais peuvent aussi être non reliées (ex : OXA-18, OXA-45). Bien que la plupart des BLSE dérivées de OXA-10 confèrent une résistance plus élevée au céfotaxime, les activités hydrolytiques des BLSE de type OXA sont très variables(38)(39).

F. Support génétique

La diffusion des résistances bactériennes peut s'effectuer par voie verticale (transmission aux descendants) ou horizontale (transmission aux bactériennes environnantes). Ainsi la transmission verticale peut être illustrée par la propagation de quelques clones particuliers. Mais la diffusion horizontale est la plus efficace en terme de rapidité, c'est d'ailleurs elle qui est la principale mise en cause dans l'expansion mondiale des gènes codant pour des BLSE, notamment par l'intermédiaire de plasmides.

Les plasmides appartiennent à l'ensemble des réplicons qui rassemble les segments d'acides nucléiques qui peuvent se répliquer comme une unité autonome sous leur propre contrôle. Les plasmides de groupes F sont largement répandus chez *E.coli*, ils ont un spectre d'hôte étroit, semblent très bien adaptés à l'espèce *E.coli* et seraient en quelques sortes les plasmides «naturels» de cette espèce. A l'opposé, les plasmides A/C, qui ont un large spectre d'hôte, sont très liés à la résistance BLSE de type TEM. Les BLSE de type TEM ne partagent pas les mêmes réplicons que les gènes codant pour les pénicillinases de type TEM (bla_{TEM-1} et bla_{TEM-2}) dont elles dérivent pourtant par mutations. En effet les BSLE de type TEM sont majoritairement codées par des réplicons A/C alors que ces plasmides sont absents des *E.coli* producteurs de TEM-1 et que bla_{TEM-1} est fréquemment porté par les réplicons F. Les transposons de type Tn3, associés aux gènes TEM, ont la particularité d'induire une immunité de transposition ce qui signifie qu'un plasmide porteur d'un transposon de type Tn3 est résistant à l'insertion d'un deuxième transposon de la même famille. Ainsi la prévalence élevée des pénicillinases TEM, notamment sur les réplicons F, a pu empêcher les BSLE de type TEM de transposer sur les plasmides F et d'avoir la même évolution que TEM-1 et TEM-2. Cette observation suggère que les BLSE de type TEM ne correspondent pas à des mutants des gènes bla_{TEM-1} et bla_{TEM-2} sélectionnés chez l'homme mais qu'elles ont vraisemblablement plutôt émergé dans l'environnement pour être secondairement

transmises aux *E.coli* humains, grâce à des plasmides à large spectre d'hôte (A/C). Au contraire des BLSE de type TEM, portées par des plasmides A/C et qui n'ont que faiblement diffusé chez *E.coli*, CTX-M-14 et CTX-M-15 qui sont fréquemment impliquées dans des épidémies nosocomiales et communautaires d'*E.coli* producteurs de BLSE, sont pour la plupart codées par des réplicons F. De plus, il semblerait que les anciennes CTX-M sont quant à elles situées sur des plasmides à large spectre d'hôte. Ainsi, il semble que les CTX-M, originaires de l'environnement, soient arrivées dans les *E.coli* par des plasmides à large spectre d'hôte et aient secondairement transposé sur les plasmides «naturels» de cette espèce, les plasmides F. Cette transposition (médiée par la séquence d'insertion *ISEcp1*) est probablement en partie responsable du succès épidémiologique de CTX-M-14 et CTX-M-15 chez *E.coli*. Les plasmides F, présentant un faible coût énergétique chez *E.coli*, pourraient être maintenus dans la cellule indépendamment de toute pression de sélection antibiotique, ce qui expliquerait la diffusion de CTX-M-15 en milieu communautaire. Cela suggère que la diffusion explosive des *E.coli* producteurs de CTX-M-14 et CTX-M-15 pourrait être en partie liée à la transposition de ces gènes de résistance depuis des plasmides à large spectre d'hôte provenant de l'environnement sur les «naturels» d'*E.coli*, les plasmides F. Cette évolution pourrait bien être similaire à celle de *bla*_{TEM-1} et *bla*_{TEM-2} dans les années 1960 et nous avons tout lieu de craindre que la prévalence de ces gènes de résistance devienne bientôt aussi élevée que celle des pénicillinases TEM(40).

V. EPIDEMIOLOGIE

A. Les BLSE

➤ En Europe

L'European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net, anciennement EARSS) collige depuis 1998 des données sur la résistance bactérienne aux antibiotiques en santé humaine en Europe. Depuis 2010, ce réseau de surveillance est coordonné par l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). *Escherichia coli* est suivi depuis 2001 tandis que *Klebsiella pneumoniae* l'est depuis 2005. Cette surveillance cible les souches invasives isolées d'hémocultures ou de prélèvements de liquide céphalo-rachidien. Une proportion de souches « productrices de BLSE » est aussi produite depuis 2009 pour les souches

d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération. Pour la France, le recueil et la transmission à l'EARS-Net des données concernant *E.coli* et *K.pneumoniae* couvrent la France métropolitaine et fait l'objet de collaborations entre l'InVS et l'Observatoire National de la Résistance aux Antibiotiques (ONERBA). La contribution de l'ONERBA s'effectue à travers trois des réseaux de laboratoires fédérés au sein de cet observatoire (Azay-résistance, Ile-de-France, REUSSIR). Le réseau Azay-résistance, regroupe une vingtaine de laboratoires de centres hospitaliers universitaires (CHU); le réseau Ile-de-France regroupe huit laboratoires de centres hospitaliers généraux (CHG) situés en Ile-de-France et le réseau Réussir regroupe une trentaine de laboratoires de CHU, CHG et établissements privés participant au service public hospitalier (PSPH).

Depuis le début des années 2000, les cas d'infections invasives à entérobactéries productrices de BLSE en clinique ont explosé ceci est en lien étroit avec la diffusion rapide d'enzymes BLSE de type CTX-M(28). Ainsi en 2013, au sein des souches invasives d'*E.coli* et de *K.pneumoniae* isolées en France la proportion de souches résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération était respectivement de 9.5 et 28%(41). En ce qui concerne *E.coli*, sur les 30 pays inclus en 2013, 14 avaient un taux de souches résistantes inférieur à 10%, 12 entre 10 et 25% et 4 supérieur à 25% avec un minimum de 5% pour l'Islande, un maximum de 39.6% pour la Bulgarie et une moyenne pondérée par les populations des différents pays de 12.6% alors qu'elle était de 9.5% en 2010. Concernant *K.pneumoniae* les disparités sont très importantes en fonction des pays, en effet la moyenne pondérée à 30.0% en 2013 est associée à un minimum de 0% toujours pour l'Islande et un maximum de 70.1% pour la Grèce. D'autre part, 5 pays signalaient des taux de résistance inférieurs à 10%, 8 entre 10 et 25%, 8 également entre 25 et 50% et 9 supérieurs à 50% (cf figure 17).

La part représentée, en 2013, par les souches productrices de BLSE parmi celles résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération était de 76.5% pour d'*E.coli* et de 68.2% pour *K.pneumoniae*. Ces chiffres sont plus faibles que la grande majorité des autres pays européens en effet si au Danemark seul 73.6% et 51.4% des souches invasives résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération étaient productrices de BLSE, en Lituanie et en Hongrie elles étaient 100%(41).

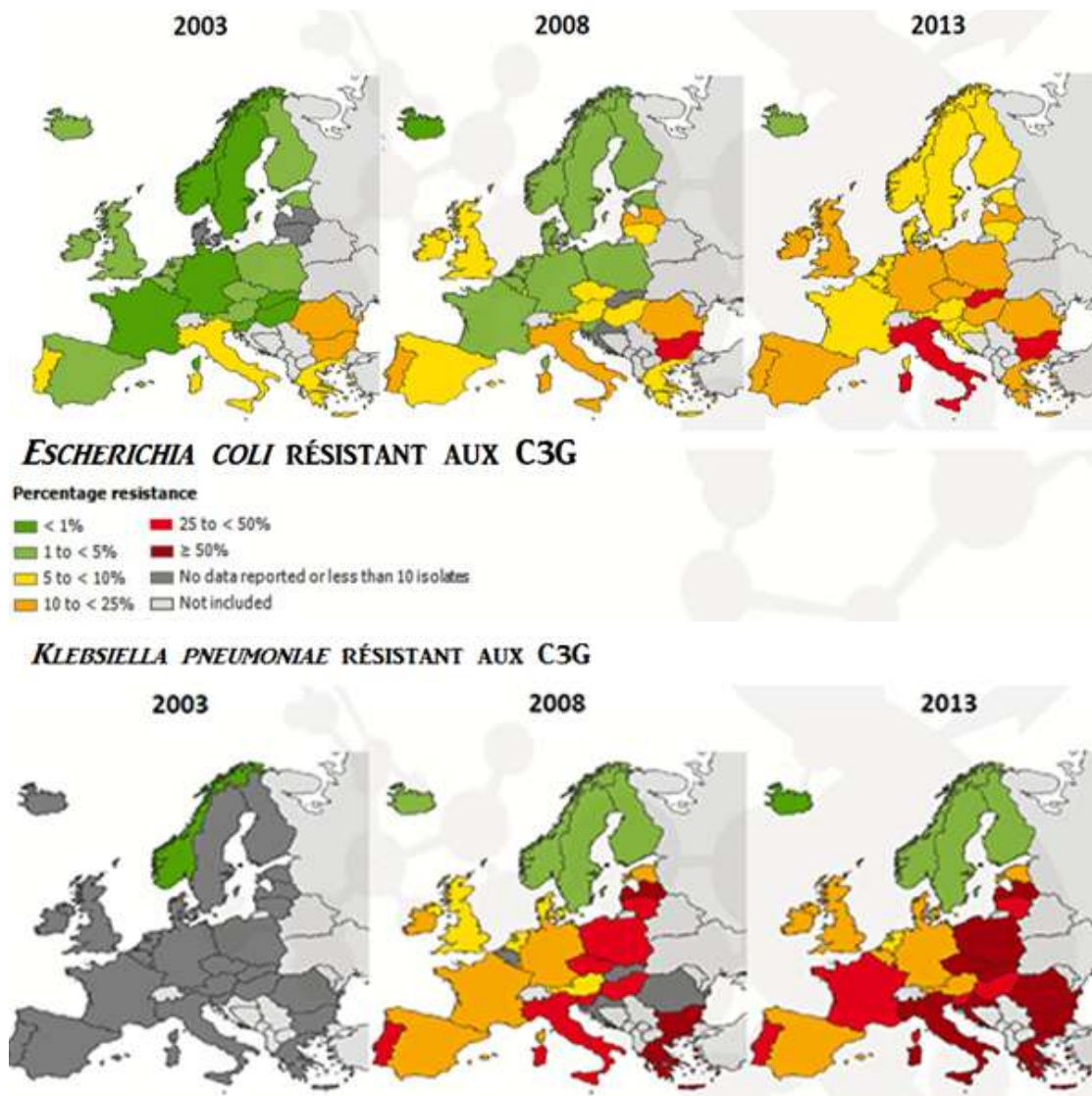


Figure 17: Evolution de la proportion de souches invasives d'*Escherichia coli* (en haut) et de *Klebsiella pneumoniae* (en bas) présentant une résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération en Europe(41).

➤ En France

Au niveau national, l'ONERBA recueille des informations au travers de divers réseaux de laboratoires fédérés, soit hospitaliers, tels que Azay-résistance, Ile-de-France, REUSSIR décrits précédemment, soit communautaire tels que Epiville, Medqual...

Dans les établissements de santé, l'émergence des EBLSE (Entérobactéries BLSE) est objectivée par de multiples sources. Les données du réseau BMR-Raisin permettent de suivre leur évolution ainsi que celle des infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la métilicine (SARM) et à EBLSE. Depuis 2011 en France, les

infections à EBLSE sont devenues plus fréquentes que celles à SARM. En 2012, la densité d'incidence des infections (DI) à EBLSE était estimée à 0,53 pour 1000 journées d'hospitalisation (JH) contre seulement 0.13 en 2002 (cf figure18).

Tous types de séjours confondus, une augmentation importante de la DI des entérobactéries BLSE pour 1 000 JH a été observée entre 2002 et 2012 dans toutes les inter-régions. Sud-Est(x 2,6), Sud-Ouest (x 2,9), Paris-Nord (x 3,3), Ouest (x 8,0) et Est (x 9,8). La figure montre des différences régionales de l'incidence des infections à EBLSE dans les établissements de santé participants avec une incidence plus élevée en Ile de France, Alsace, Franche-Comté, PACA, Corse et une partie des DOM. L'interprétation de cette carte, doit cependant rester prudente car les différences observées peuvent illustrer des particularités régionales mais aussi être liées aux types d'établissements de santé ou de patients présents dans chaque région. Pour la région Nord-Pas de Calais, l'incidence des infections à EBLSE pour 1 000 journées d'hospitalisation en 2012 était de 0,59.(42).

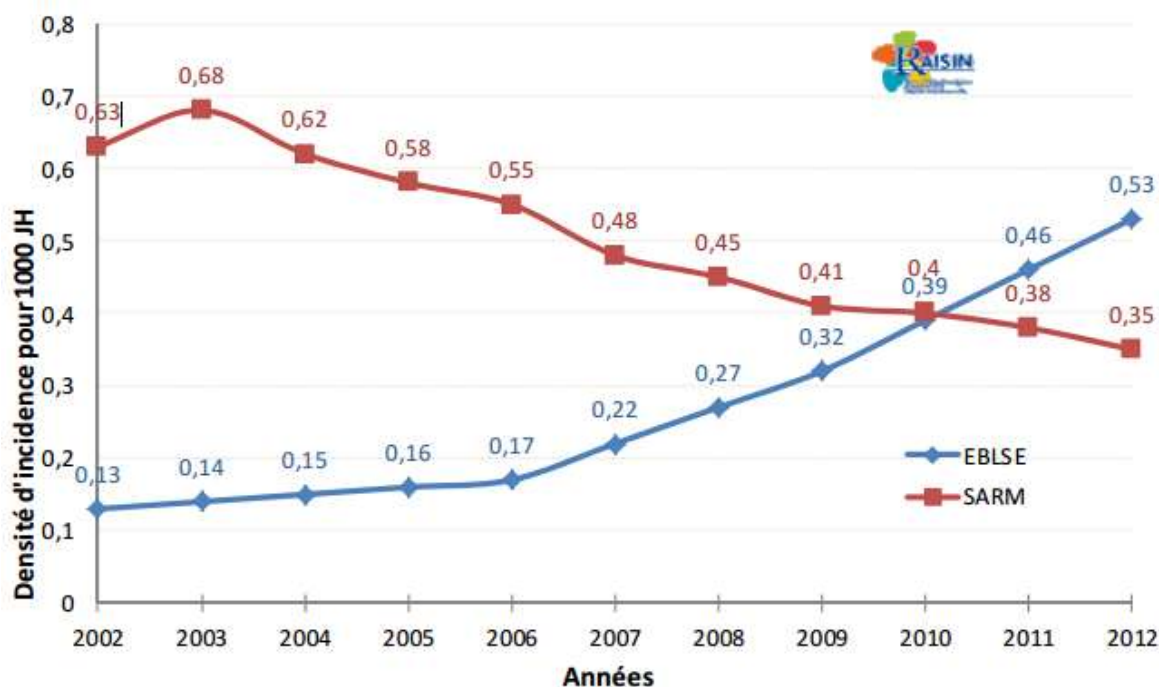


Figure 18: Densité d'incidence des infections à SARM et des EBLSE pour 1 000 journées d'hospitalisation en France (incidence globale par année)(42).

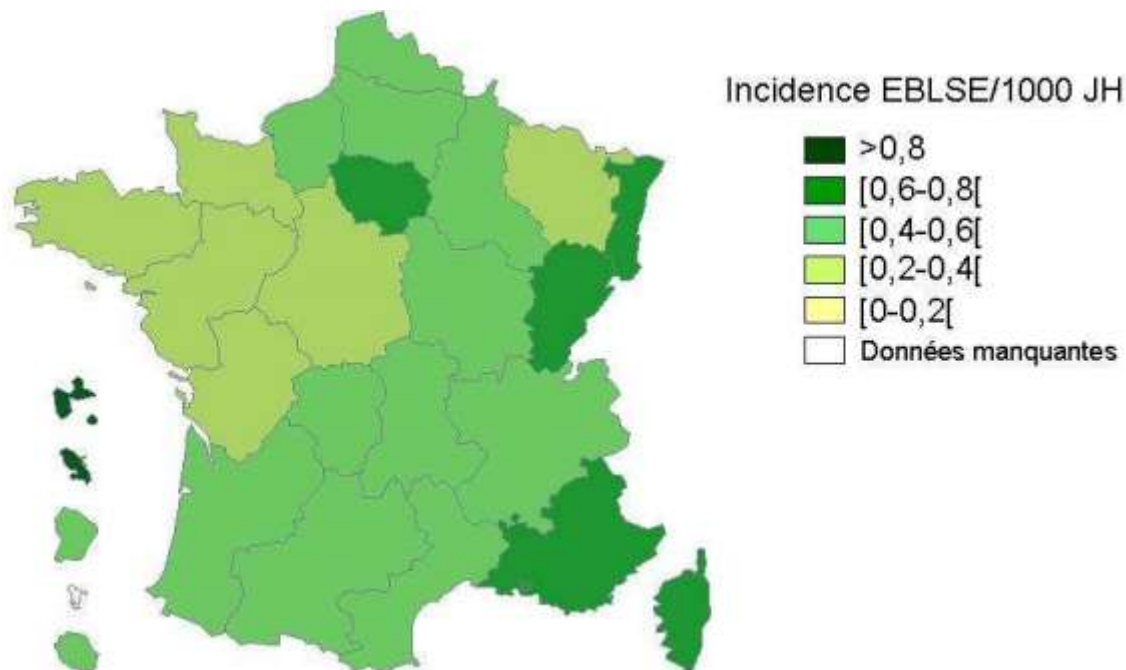


Figure 19 : Incidences globales régionales des EBLSE pour 1 000 journées d'hospitalisation en 2012 (tous établissements de santé n = 1 181)(42).

L'évolution des entérobactéries productrices de BLSE est étroitement surveillée et nous constatons que leur répartition par espèce d'entérobactéries a beaucoup évolué au fil des ans (cf tableau 2). Le premier fait notable concerne le pourcentage représenté par *E.coli* qui a régulièrement augmenté et a été multiplié par 3,2 entre 2002 (18,5 %) et 2012 (59,2 %). D'ailleurs cette augmentation s'est produite dans toutes les inter-régions. Concernant les autres espèces, il faut noter une augmentation d'*Enterobacter cloacae* dont la part a presque doublé entre 2002 et 2012 (5,8 et 11,8%) ainsi qu'une augmentation de *K.pneumoniae* qui est passée de 14,1% en 2002 à 20,2% en 2012. A contrario, nous constatons une forte baisse de la part représentée par *Enterobacter aerogenes* qui a été divisée par 13,7 entre 2002 à 2012.

Espèce bactérienne	Années										
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012
<i>E.coli</i>	18,5	24,9	31,0	39,3	42,6	48,5	58,0	58,4	59,7	59,2	59,2
<i>K.pneumoniae</i>	14,1	13,6	14,6	12,3	14	15,6	15,0	16,4	17,5	19,8	20,2
<i>E.cloacae</i>	5,8	7,8	6,2	9,8	11,7	12,7	10,4	11,2	11,3	11,1	11,8
<i>E.aerogenes</i>	35,8	34,0	31,2	21,8	17,5	10,8	7,6	5,2	3,6	2,2	2,0

Tableau 2 : Évolution de la répartition en pourcentage des souches d'EBLSE selon les quatre principales espèces d'entérobactéries, de 2002 à 2012, en France(42).

Ces chiffres sont bien illustrés par la figure 20 qui dépeint l'évolution entre 2002 et 2012 des DI pour 1 000 JH pour les quatre principales espèces d'entérobactéries

productrices de BLSE. Nous pouvons remarquer qu'en 2012, d'après les données du réseau BMR-Raisin l'incidence nationale pour 1 000 JH pour *E.coli* BLSE était de 0,31, tandis qu'elle était de 0,38 dans la zone couverte par le CCLIN Paris-Nord.

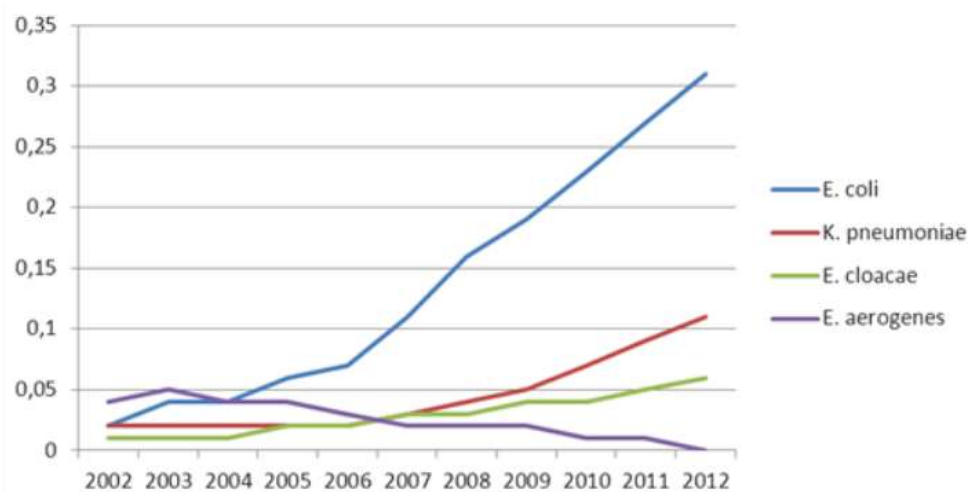


Figure 20 : Évolution des densités d'incidence pour 1 000 journées d'hospitalisation des EBLSE par espèce, en France, entre 2002 et 2012 (42).

Au niveau communautaire, bien que les données soient moins abondantes, les souches d'*E.coli* productrices de BLSE semblent connaître un accroissement significatif.

Les données de 2008 à 2013 du réseau MedQual, qui a suivi l'évolution de la sensibilité des souches d'*E.coli* isolées en milieu communautaire, montrent une augmentation de souches d'*E.coli* productrices de BLSE. Ainsi, en 2008, 2,2% des souches d'*E.coli* isolées présentaient une résistance aux céphalosporines de troisième génération contre 3,9% en 2013. Le taux de souches produisant une céphalosporinase est resté stable durant ces six années tandis que le taux de souches BLSE est passé de 1,4% en 2008 à 3,2% en 2013(43).

L'enquête Transville de l'ONERBA a étudié la sensibilité d'*E.coli* aux antibiotiques en médecine de ville entre le 1^{er} et le 31 janvier 2012, à partir de 70 laboratoires répartis sur l'ensemble du territoire métropolitain français. Les données ont essentiellement été collectées à partir de trois réseaux de ville AFORCOPI-BIO, Epiville France et MedQual et les patients issus de cliniques ou d'EHPAD étaient exclus. Cette enquête retrouve un taux d'*E.coli* BLSE de 3,8% sans grande disparités entre les régions(44).

Ces relevés mettent en évidence une augmentation du nombre de souches d'*E.coli* BLSE en milieu communautaire. En effet, le taux d'*E.coli* résistant aux céphalosporines de troisième génération parmi les souches isolées dans des infections urinaires communautaires était de 2%, en 2008, selon Fabre et al.(45) et

inférieur à 1% en 2003 selon De Mouy et al.(46). Lors d'une enquête de deux mois durant l'année 2006, Arpin et al.(47) ont retrouvé un taux de 1,1% d'EBLSE impliquées dans des infections urinaires communautaires en France. *E.coli* représentait deux tiers des EBLSE isolées et plus de 80% produisaient des CTX-M. Tandis que les autres espèces d'EBLSE étaient concernées, dans plus de 90% des cas, par des TEM ou des SHV.

➤ Dans la région Nord-Pas de Calais

Le Réseau des Microbiologistes de Nord-Pas de Calais regroupe une vingtaine d'établissements de santé, soit environ 22 000 lits. Cet observatoire a été mis en place en 2005 et est reconnu par l'ONERBA depuis 2011. Le suivi épidémiologique d'*E.coli* BLSE a mis en évidence une multiplication par 5 entre 2005 et 2014 de l'incidence globale des infections impliquant des souches d'*E.coli* BLSE (cf tableau 3) et une multiplication par 2 entre 2009 et 2013 de l'incidence des bactériémies à *E.coli* BLSE (cf tableau 4). Au total le taux de BLSE chez *E.coli* dans les hôpitaux du Nord-Pas de Calais est passé de 1,36% en 2005 à 6,09% en 2013 (cf tableau 5).

Années	Ic globale	Ic MCO	Ic SSR-SLD	Ic pédiatrie
2005	0.1	0.12	0.06	0.04
2006	0.13	0.16	0.06	0.09
2007	0.18	0.23	0.08	0.07
2008	0.22	0.29	0.09	0.24
2009	0.30	0.41	0.11	0.35
2010	0.40	0.49	0.22	0.44
2011	0.45	0.54	0.23	0.41
2012	0.50	0.58	0.31	0.35
2013	0.50	0.60	0.26	0.52

Tableau 3: DI pour 1 000 JH des *E.coli* BLSE, de 2005 à 2013, dans le Nord-Pas de Calais(48).

Années	Nb épisodes bactériémiques	Incidence des bactériémies pour 1000 jours
2008	56	0.016
2009	83	0.022
2010	135	0.034
2011	144	0.038
2012	154	0.038
2013	175	0.044

Tableau 4 : Nombre et DI pour 1 000 JH, des bactériémies à *E.coli* BLSE, de 2008 à 2013, dans le Nord-Pas de Calais(48).

Années	Nb souches <i>E.coli</i>	Nb souches BLSE	Taux de BLSE
2005	23.438	319	1.36%
2006	26.319	442	1.67%
2007	26.300	620	2.35%
2008	27.810	796	2.86%
2009	28.608	1102	3.85%
2010	29.366	1567	5.23%
2011	31.023	1740	5.61%
2012	35.570	2036	5.72%
2013	32.439	1977	6.09%

Tableau 5 : Taux de BLSE au sein de l'espèce *E.coli*, de 2005 à 2013, dans le Nord-Pas de Calais(48).

➤ Bilan

Durant ces quinze dernières années, l'épidémiologie des entérobactéries productrices de BLSE a été profondément bouleversée illustrant la transition entre les anciennes et les nouvelles BLSE. Au niveau des établissements de santé, nous avons assisté à une explosion des infections invasives à entérobactéries productrices de BLSE que ce soit à l'échelle européenne, nationale ou régionale. Le plus frappant est le changement de répartition des producteurs de BLSE entre les différentes espèces d'entérobactéries, *E.coli* se retrouvant très largement en tête. La diffusion des EBLSE est facilitée, d'une part par un réservoir important (le tube digestif) et d'autre part par le fait que leurs gènes de résistance, inclus dans des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons...), se trouvent facilement transférables entre bactéries. Or la diffusion des souches d'*E.coli* BLSE dans la

population générale est aujourd'hui un vrai risque en raison du caractère commensal ubiquitaire de cette espèce. Bien que l'évolution des infections communautaires soit moins facile à objectiver qu'en milieu hospitalier, plusieurs études ont déjà mis en évidence une diffusion communautaire des entérobactéries productrices de BLSE et notamment d'*E.coli* dans différentes régions du Monde, pour lesquelles la majorité des enzymes mises en cause sont bien des CTX-M (49)(50). Par ailleurs, M.H. Nicolas-Chanoine et al.(51) ont mis en lumière une multiplication par 6 entre 2006 et 2011 du portage digestif d'*E .coli* BLSE chez des personnes en bonne santé dans la région parisienne. Enfin, l'émergence des EBLSE préfigure l'émergence déjà constatée des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases. Ce phénomène d'émergences successives est favorisé par la pression de sélection des antibiotiques à spectre de plus en plus étendu qui, à terme, pourrait aboutir à une impasse thérapeutique.

B. Les carbapénémases

➤ En Europe

Les entérobactéries productrices de carbapénémases font l'objet d'une surveillance très étroite. En 2013, parmi les 30 pays participants au réseau de surveillance EARS, la plupart rapportait un taux de résistance aux carbapénèmes pour *E.coli* inférieur à 0.5% avec une moyenne européenne pondérée à l'aide des populations des différents pays de 0.2%.

Cependant les chiffres relatifs à *K.pneumoniae* sont beaucoup plus inquiétants. Effectivement, en 2013, la moyenne européenne pondérée du taux de résistance aux carbapénèmes dans cette espèce était de 8.3% alors qu'elle était de 4.6 en 2010. Nous observons de grandes disparités géographiques, par exemple des pays tels que la Bulgarie, la Lettonie, la Suède, la Lituanie et l'Islande rapportaient un taux de résistance égal à 0% tandis que le plus mauvais résultat était détenu par la Grèce avec un taux de résistance de 59.4%.

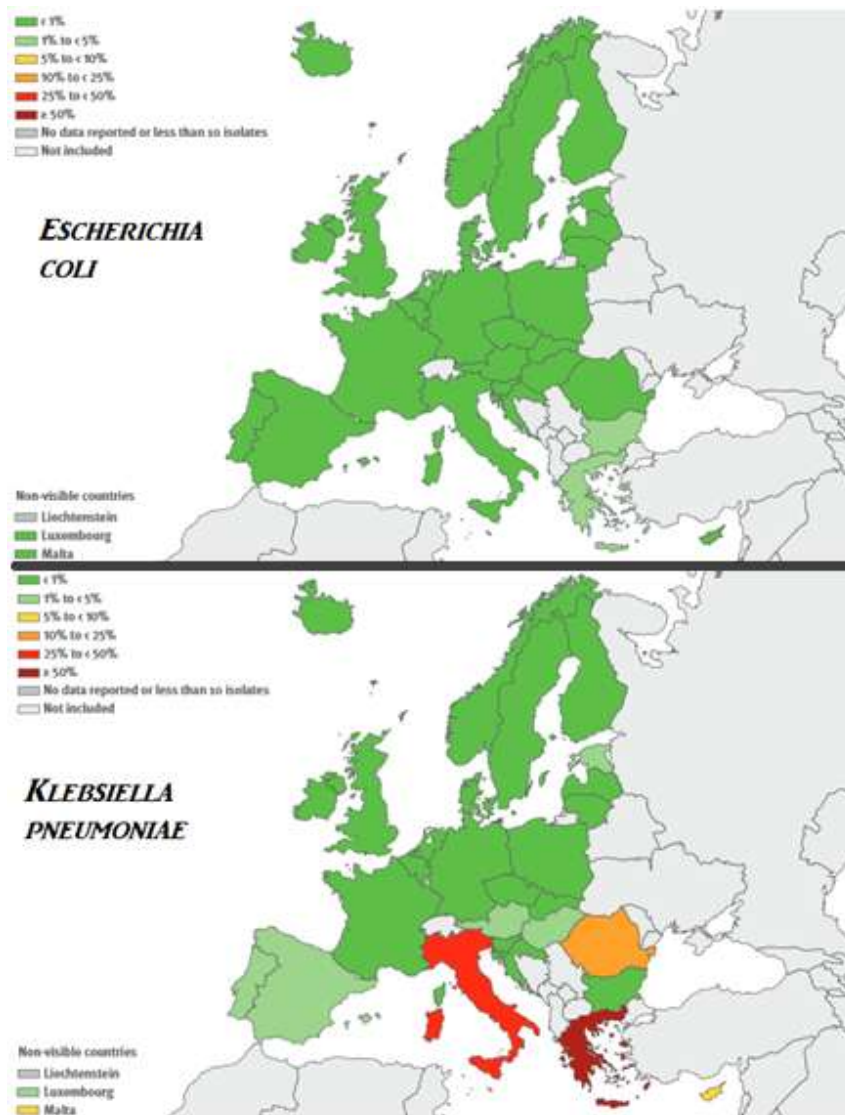


Figure 21: Proportion de souches invasives d'*E.coli* (en haut) et de *K.pneumoniae* (en bas) présentant une résistance aux carbapénèmes en 2013 en Europe.

➤ En France

Le premier cas impliquant une entérobactérie productrice de carbapénémases en France a été mentionné en 2004 et depuis plus de 1600 épisodes ont été signalés (cf figure 22). Sachant qu'on entend par épisode, un ou plusieurs cas infecté(s) ou colonisé(s) par une EPC et reliés par une chaîne de transmission épidémiologique. Les principales entérobactéries concernées sont dans l'ordre d'importance *K.pneumoniae*, *E.coli* et *Enterobacter cloacae*. Les OXA-48 et OXA-48-like représentent plus des trois quarts des carbapénémases impliquées, suivies par les NDM (10-15%) puis les KPC et VIM (environ 5% chacune) enfin les carbapénémases de types IMI, IMP et GES restent quant à elles anecdotiques(52)(53).

Bactéries	Episodes dans lesquels la bactérie est impliquée	
	Nombre	%
Klebsiella pneumoniae	1002	62
Escherichia coli	514	32
Enterobacter cloacae	199	12
Citrobacter freundii	74	5
Klebsiella oxytoca	38	2
Citrobacter (autre)	29	2
Enterobacter aerogenes	26	2
Proteus	9	< 1
Serratia	9	< 1
Morganella morganii	6	< 1
Providencia	4	< 1
Enterobacter autre	4	< 1
Raoultella	4	< 1
Salmonella	3	< 1
Autres espèces	1	< 1
Total des épisodes	1625	

Mécanismes de résistance	Episodes dans lesquels le mécanisme est impliqué	
	Nombre	%
OXA-48 et OXA-48 like	1257	77
NDM-1 ou NDM (sans précision)	215	13
KPC	105	6
VIM	77	5
IMI	9	< 1
IMP	5	< 1
GES-6	1	< 1
Total des mécanismes	1625	

Tableaux 6 : Nombre d'épisodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénèmases en France signalés à l'InVS entre janvier 2004 et le 4 mars 2015, selon les bactéries (à gauche) et les mécanismes (à droite) impliqués. Dans 246 épisodes au moins deux EPC sont associées et dans 44 épisodes deux mécanismes de résistance sont associés.

Un épisode est défini comme présentant un lien avec un pays étranger si, dans l'année qui précède son hospitalisation en France, le cas index a été hospitalisé dans un pays étranger, a résidé à l'étranger ou a rapporté un voyage à l'étranger. Nous constatons qu'initialement la grande majorité des épisodes impliquant des EPC présentaient un lien avec l'étranger, tandis que ces deux dernières années le nombre d'épisodes impliquant des EPC sans lien avec l'étranger a franchement augmenté. Ceci tend à confirmer l'hypothèse évoquant la circulation de souches dites « autochtones » probablement issues d'élevages.

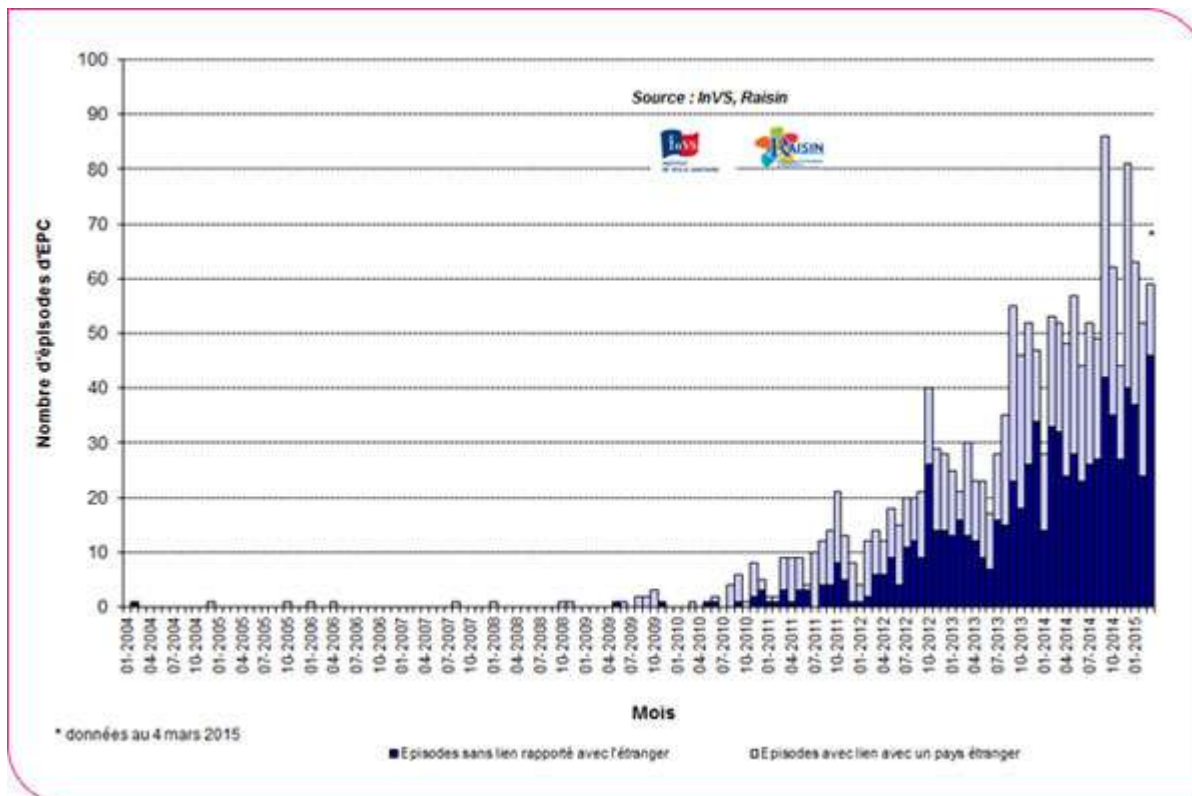


Figure 22 : Nombre d'épisodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénèmes en France signalés à l'InVS entre janvier 2004 et le 4 mars 2015, selon la mise en évidence ou non d'un lien avec un pays étranger (N=1625)(53).

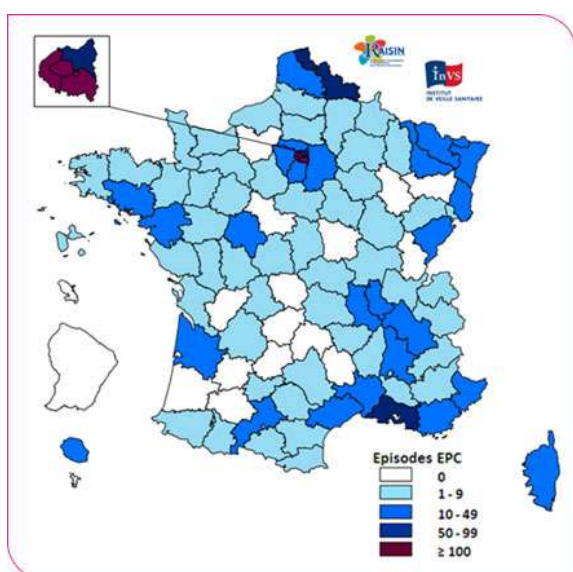


Figure 23: Nombre d'épisodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénèmes en France signalés à l'InVS entre janvier 2012 et le 4 mars 2015, par départements (N=1465 épisodes).

Les carbapénèmes ont un usage exclusivement hospitalier et sont principalement utilisés dans le traitement des infections à bactéries multi-résistantes associées aux soins. Ils représentent souvent l'ultime rempart contre les bactéries multi-résistantes. La propagation de bactéries devenues résistantes aux carbapénèmes et souvent porteuses de résistances associées concernant d'autres familles d'antibiotiques aboutit à de véritables impasses thérapeutiques. L'émergence de la résistance aux antibiotiques comme enjeu de santé publique,

relève d'une véritable prise de conscience. Ainsi le Haut Conseil de Santé Publique a publié un rapport en 2013 développant des recommandations pour la prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes »(54). Le traitement des infections et des portages à bactéries multi- ou hautement résistantes font régulièrement l'objet de recommandations de collègues d'experts. En effet, la maîtrise de la diffusion des bactéries multi- ou hautement résistantes aux antibiotiques repose sur une double stratégie de réduction de la prescription des antibiotiques et de prévention de la diffusion à partir des patients porteurs.

VI. VERSANT THERAPEUTIQUE

A. Carbapénèmes et entérobactéries productrices de BLSE

Les carbapénèmes sont reconnus depuis des années comme étant un traitement efficace des infections à entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE). Ils constituent d'ailleurs LE traitement de référence des infections documentées à EBLSE. Ainsi l'activité de l'imipénème, du méropénème et du doripénème contre les EBLSE est estimée proche de 100% contrairement à l'activité de l'ertapénème qui est évaluée à 87%(55). L'épidémiologie analysée précédemment, nous a montré une diffusion importante des infections à EBLSE, ayant pour conséquence une hausse de la consommation de carbapénèmes. Par exemple, en France, la consommation de carbapénèmes en Dose Définie Journalière pour 1 000 habitants est passée de 0,014 en 2000 à 0,033 en 2013 soit une augmentation de 144,9%(56). Cependant, du fait de leur utilisation exclusivement hospitalière, cette consommation est relativement maîtrisée en France ce qui est loin d'être le cas dans certaines régions du globe. Or l'utilisation d'un antibiotique entraîne inéluctablement le développement de mécanismes de résistance de la part des bactéries. Ainsi l'augmentation de la consommation de carbapénèmes est suivie par l'émergence de bactéries productrices de carbapénémases. Les carbapénèmes apparaissent donc comme une « fausse bonne solution », performante à l'échelle individuelle mais délétère en terme de pression de sélection à l'échelon collectif. De plus, dans les prochaines années, nous ne pourrons pas compter sur l'arrivée de nouveaux antibiotiques efficaces contre les bacilles gram négatif multi-résistants. Ainsi, il est nécessaire

d'étudier des alternatives, à l'utilisation de carbapénèmes parmi les molécules existantes.

B. Alternatives

Concernant les infections à BLSE, différentes études se basent sur les résultats *in vitro* afin de soumettre des alternatives thérapeutiques aux carbapénèmes. Par exemple, Fournier et al.(57) ont étudié l'activité de différents antibiotiques, en déterminant leur CMI, sur un panel de 100 souches d'*E.coli* BLSE, isolées à partir de prélèvements urinaires (cf figure 24). Ils en concluent que dans la plupart des situations, des alternatives aux carbapénèmes sont disponibles pour le traitement des infections à *E.coli* BLSE. Toutefois, ces résultats sont à remettre dans le contexte de l'infection. Ainsi la fosfomycine, la nitrofurantoïne et le mécilinam qui étaient actifs sur plus de 90 % des souches, sont présentés comme d'excellentes options pour le traitement des infections urinaires.

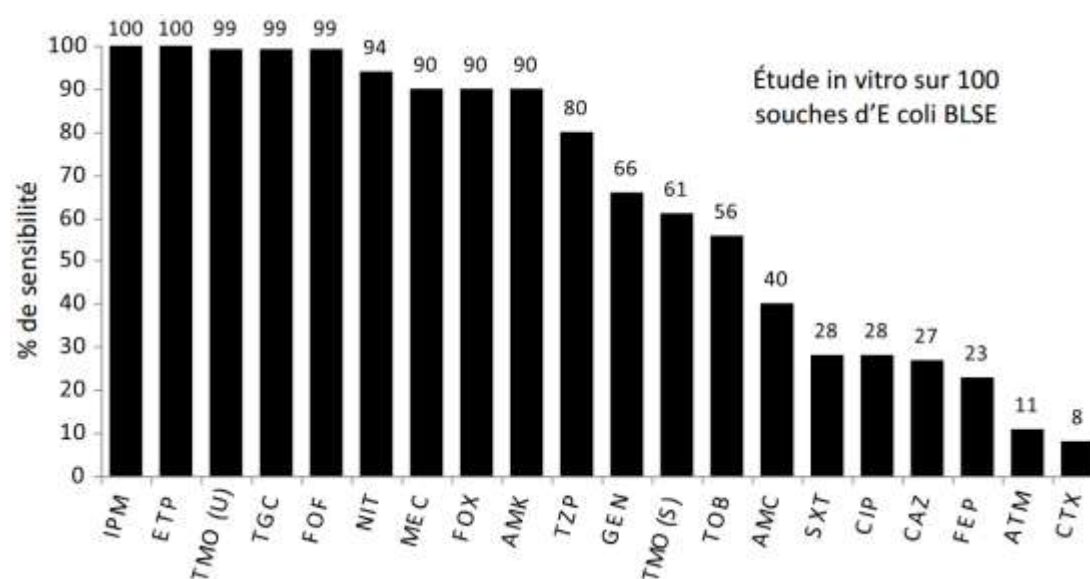


Figure 24: Pourcentage de souches d'*E.coli* BLSE sensible, en fonction des molécules antibiotiques, selon les recommandations de l'EUCAST 2012(57).

D'après la littérature, différentes molécules sont évoquées: le pivmecillinam, la fosfomycine, la tigécycline, l'association de β -lactamine et d'inhibiteur de β -lactamases notamment l'association piperacilline-tazobactam, les céphamycines, les céphalosporines de troisième génération, le céfépime. Cependant, ces résultats sont à remettre dans le contexte de l'infection, *in vivo* les résultats cliniques sont parfois discordants, différents facteurs entrent en ligne de compte, tels que les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.

1. Le pivmecillinam

Cette molécule est très largement utilisée dans les pays nordiques. Dans les années 1980 de nombreuses études montraient son efficacité et son innocuité dans les cystites, y compris chez la femme enceinte. Graninger(58) souligne la grande proportion de souches d'entérobactéries responsables d'infections urinaires, sensibles au pivmecillinam et son innocuité vis-à-vis des flores commensales. Tandis que Titelman et al.(59) mettent en évidence son efficacité clinique sont huit patients souffrant infections urinaires basses à *E.coli* ou *K.pneumoniae* BLSE.

2. La tigécycline

In vitro cette molécule semble avoir sa place comme alternative aux carbapénèmes dans le traitement d'infections à EBLSE. En effet, Chen et al.(60) ont étudié 1 141 souches d'*E.coli* BLSE et 1 330 souches de *K.pneumoniae* BLSE, isolées entre 2006 et 2010 à Taiwan. Ils retrouvent respectivement 98,7% et 85,32% de souches sensibles à la tigécycline, selon les recommandations de l'EUCAST 2011. Dans l'étude de Fournier et al.(57) 99% des souches d'*E.coli* BLSE étaient sensibles à la tigécycline.

Néanmoins, en pratique, *in vivo* peu d'études ont été effectuées. De plus, cette molécule est bactériostatique et possède une mauvaise diffusion dans les voies urinaires. En septembre 2010 la FDA (U.S. Food and Drug Administration)(61) publie une méta-analyse de 14 études, qui compare le risque de mortalité des patients traités par tigécycline avec ceux traités par d'autres antibiotiques lors d'infections semblables. Elle évoque une tendance non significative en défaveur de la tigécycline en matière d'efficacité clinique ainsi que des effets indésirables de type digestifs significativement plus fréquents sous tigécycline.

3. La fosfomycine

Cette molécule se concentre fortement dans les urines et est rarement concernée par des phénomènes de réactions croisées. En outre, elle est active sur la plupart des souches d'EBLSE. En effet dans l'étude de Fournier et al.(57) 99% des souches d'*E.coli* BLSE étaient sensibles à la fosfomycine.

Par ailleurs, Falagas et al.(62) ont effectué une méta-analyse de 17 études évaluant les succès clinique ou microbiologique de la fosfomycine dans des

infections à entérobactéries. Sur les 1657 souches d'*E.coli* BLSE et 748 souches de *K.pneumoniae* BLSE isolées, respectivement 96,8% et 81,3% étaient sensibles à la fosfomycine. Rodríguez-Baño et al.(63) relèvent un taux de guérison clinique de 93% sur les 28 patientes atteintes d'infections communautaires à *E.coli* BLSE ayant reçues 3g de fosfomycine-trométamol pendant trois jours. Toutefois, Oteo et al.(64) s'intéressent à l'augmentation du taux de résistance à la fosfomycine chez des *E.coli* BLSE impliqués dans des infections urinaires. Ainsi dans la région de Madrid, entre 2004 et 2008, l'utilisation de la fosfomycine a augmenté de 50% pendant que le taux de résistance à la fosfomycine, chez les souches bactériennes étudiées, est passé de 2,2% en 2004 à 21% en 2008.

4. Les associations β -lactamine et inhibiteur de β -lactamase (BL/IBL)

In vitro, l'association la plus pertinente serait pipéracilline-tazobactam. En effet beaucoup de souches restent sensibles *in vitro* à cette association. Dans l'étude de Fournier et al.(57) 80% des souches d'*E.coli* y étaient sensibles.

Au niveau clinique, cette option a déjà été évoquée plusieurs fois et un certain nombre d'études sont à notre disposition. Rodríguez-Baño et al.(63) relèvent un taux de guérison clinique de 84% sur les 37 patientes atteintes, d'infections communautaires à *E.coli* BLSE, traitées par l'association amoxicilline-clavulanate. Dans une analyse post hoc de six études, Rodríguez-Baño et al.(65) comparent la mortalité entre le traitement par carbapénèmes ou par l'association BL/IBL dans des bactériémies à *E.coli* BLSE. Ils en concluent que les associations amoxicilline-clavulanate ou pipéracilline-tazobactam avec une posologie adaptée constituent une alternative appropriée aux carbapénèmes, dans un contexte de bactériémie à *E.coli* BLSE, notamment d'origine urinaire ou biliaire. Vadakas et al.(66) réalisent une méta-analyse de 21 études, entre 1996 et 2010, concernant les bactériémies à EBLSE et les éventuels traitements alternatifs à l'utilisation des carbapénèmes. Ils ne constatent pas de différence de mortalité, toutes causes confondues, entre carbapénèmes et BL/IBL (traitement empirique et documenté), mais une différence entre carbapénèmes et autres molécules non BL/IBL.

Par ailleurs, l'utilisation de l'acide clavulanique semble restaurer l'activité du céfixime, dans les infections urinaires, sur la plupart des souches d'*E.coli* BLSE. En effet, en 2006, Bingen et al. étudient 64 souches d'*E.coli* BLSE isolées de

prélèvements urinaires, 85% étant des enzymes de type CTX-M et 15% des enzymes de type TEM-52 ou SHV-12. Pour 60 souches, ils mettent en évidence, *in vitro*, une synergie entre le céfixime et l'association amoxicilline/acide clavulanique. En 2013, Madhi et al. rapportent deux cas d'infections urinaires pédiatriques à d'*E.coli* BLSE pour lesquelles l'association amoxicilline/acide clavulanique et céfixime a été utilisée, avec succès en relais oral. Ainsi, en 2015, la SPILF et le GPIIP (Groupe de Pathologie Infectieuse Pédiatrique)(67) énoncent que l'association amoxicilline/acide clavulanique et céfixime peut être envisagée, après avis spécialisé, pour le relais oral d'un traitement d'une pyélonéphrite aiguë à *E.coli* BLSE, si la bactérie est résistante aux autres molécules de relais, à savoir le cotrimoxazole et la ciprofloxacine et après vérification *in vitro* de la synergie.

5. Les céphamycines

In vitro, les céphamycines sont souvent épargnées par l'activité hydrolytique des BLSE. Par exemple, dans l'étude de Fournier et al.(57) 90% des souches d'*E.coli* BLSE étaient sensibles à la céfoxitine. Lepeule et al.(68) montrent sur des modèles murins d'infections urinaires à *E.coli* BLSE, une efficacité comparable, *in vitro* et *in vivo*, de la céfoxitine par rapport aux carbapénèmes.

A partir d'une petite étude rétrospective, portant sur 27 cas de bactériémies à *K.pneumoniae* BLSE, Lee et al.(69) suggèrent que, dans ce contexte, le flomoxef pourrait être une alternative aux carbapénèmes. Boyer et al.(70) rapportent, en 2012, une prostatite à *K.pneumoniae* BLSE sur sonde avec bactériémie, traitée efficacement par céfoxitine et amikacine. Mais, l'utilisation des céphamycines a été freinée, dès les années 80 par la publication d'échecs thérapeutiques rendant préférable l'utilisation des céphalosporines de troisième génération. La céfoxitine a été mis en cause dans l'induction de mécanismes de résistance chez des bacilles à Gram négatif, que ce soit par induction enzymatique(71) ou par émergence de mutants, présentant une modification des protéines de membrane, rendant la souche imperméable à l'ensemble des β -lactamines(72). Cependant la céfoxitine est une molécule éliminée sous forme inchangée dans les urines. De ce fait, les concentrations urinaires après injection intraveineuse semblent suffisamment élevées pour éviter les inductions enzymatiques ou l'émergence de souches résistantes.(73).

6. Le céfépime

In vitro, peu de souches d'EBLSE restent sensibles au céfépime. En effet dans l'étude de Fournier et al.(57) seules 23% des souches d'*E.coli* BLSE étaient sensibles au céfépime. Bert et al.(74) s'intéressent à 400 souches d'EBLSE, ils retrouvent notamment respectivement 16,7%, 21,1% et 19,4% de souches sensibles parmi les 215 souches d'*E.coli*, les 104 souches de *K.pneumoniae* et les 67 souches d'*Enterobacter cloacae*. Paterson et al.(75) obtiennent parmi les 85 souches de *K.pneumoniae* BLSE, une proportion de 23,6% de souches ayant une CMI inférieure ou égale à 1mg/L.

A partir d'une analyse de la littérature, Ramphal et al.(76) évoquent le céfépime comme une alternative possible aux carbapénèmes dans les infections à EBLSE. Lee et al.(77) étudient des bactériémies à EBLSE sensibles au céfépime et repèrent une mortalité est 6,8 fois supérieure dans le groupe traité par céfépime par rapport à ceux traités par carbapénèmes. Mais le seuil de sensibilité était de 8 mg/L, ce qui correspond aux recommandations du CLSI 2011 alors que les recommandations de l'EUCAST placent ce seuil de sensibilité à 1mg/L. Cet article suggère, d'ailleurs, de limiter l'usage du céfépime dans le traitement des bactériémies à EBLSE, aux souches pour lesquelles la CMI de cette molécule est inférieure ou égale à 1mg/L.

7. Les céphalosporines de troisième génération

Depuis 2011, d'après les recommandations du CASFM(78), des souches d'entérobactéries peuvent être rendues sensibles à une ou plusieurs céphalosporines de 3^{ème} génération en dépit de la mise en évidence d'une BLSE. Cependant leur utilisation clinique est sujette à controverse.

In vitro, cette option concerne une faible proportion de souches. En effet, dans l'étude de Fournier et al.(57), respectivement 27% et 8% des souches d'*E.coli* BLSE étaient sensibles à la ceftazidime et au céfotaxime. Dans l'article de Bert et al.(74) 21,8%, des 215 souches d'*E.coli* BLSE et 1,9% des 104 souches de *K.pneumoniae* BLSE étaient sensibles à la ceftazidime. Dans cette même étude, seules 2,8% des souches d'*E.coli* et 0,9% des souches de *K.pneumoniae* restaient sensibles au céfotaxime.

De plus, nous disposons de peu de données cliniques. D'après un article étudiant des bactériémies à *E.coli* BLSE de type CTX-M, Bin et al.(79) ne retrouvent pas de différence, concernant le résultat clinique, entre les groupes recevant de l'imipénème, de la ceftazidime ou l'association cefoperazone/sulbactam. Et ils concluent que la ceftazidime est un traitement efficace dans les bactériémies à *E.coli* BLSE de type CTX-M d'origine urinaire ou biliaire. Toutefois, le faible nombre de patients constitue une limite conséquente dans cette étude. Paterson et al.(75) en 2001, rapportent une grande proportion d'échecs thérapeutiques et ne recommandent pas l'utilisation de céphalosporines dans le traitement d'infections sévères à EBLSE, même si les germes apparaissent sensibles, selon les valeurs seuils définies par le CLSI. Toutefois, ils remarquent que les résultats sont bien meilleurs, lorsque les CMI sont inférieures ou égales à 1mg/L. Cette valeur est le seuil de sensibilité actuellement défini par l'EUCAST pour les céphalosporines de troisième génération

8. La témocilline

La témocilline est un dérivé semi-synthétique 6-alpha-méthoxylé de la ticarcilline. Cette modification structurale réduit son spectre d'activité aux entérobactéries et lui confère une stabilité à l'hydrolyse par la plupart des β -lactamases, y compris les BLSE et les céphalosporinases de type AmpC. La demi-vie d'élimination est d'environ cinq heures, bien supérieure à la plupart des β -lactamines, ce qui autorise une administration toutes les 12 heures en intramusculaire ou intraveineuse. Elle est métaboliquement stable et excrétée principalement par voie urinaire. Ainsi, durant les 24 heures suivant l'injection, plus de 70% de la dose est retrouvée sous forme inchangée dans les urines(80). La témocilline déjà commercialisée en Belgique, au Luxembourg et au Royaume-Uni, bénéficie d'une AMM, en France, depuis décembre 2014, dans la spécialité Négaban®. *In vitro*, dans l'étude de Fournier et al.(57), 61% des souches d'*E.coli* BLSE étaient sensibles, à la témocilline, en prenant en compte le seuil de sensibilité de 8mg/L défini par l'EUCAST 2014. En 2011, Balakrishan et al.(81) ont publié une étude rétrospective à propos de 92 épisodes d'infections (42 infections urinaires, 42 bactériémies et 8 pneumonies nosocomiales) chez 92 patients au sein de six hôpitaux britanniques. Les patients devaient avoir été traités par témocilline pendant au moins trois jours et l'infection devait être microbiologiquement documentée.

Cinquante-trois épisodes étaient le fait d'une entérobactérie BLSE ou AmpC, principalement *E.coli* (dans plus de la moitié des cas), *Enterobater spp.* ou *K.pneumoniae*. Les taux de succès cliniques et microbiologiques étaient respectivement de 86 et 84% et ne différaient pas selon que les bactéries exprimaient ou non une enzyme de type BLSE ou AmpC.

9. L'association ceftazidime/avibactam

L'association ceftazidime/avibactam (CAZ-AVI) est un antibiotique expérimental en cours de développement pour traiter de graves infections bactériennes à Gram négatif. L'avibactam est un inhibiteur de bêta-lactamases, qui protège la ceftazidime contre la dégradation par les bêta-lactamases de classe A, C et certaines bêta-lactamases de la classe D. Les résultats de l'étude de phase III ont été présentés à l'occasion du 25^e Congrès européen de microbiologie clinique et des maladies infectieuses (ECCMID) qui a eu lieu en avril 2015(82).

D'une part, les résultats complets de phase III des études globales RECLAIM-1 et RECLAIM-2 ont été communiqués. Elles évaluaient l'innocuité et l'efficacité de la CAZ-AVI, en comparaison au méropénem, chez des patients adultes hospitalisés souffrant d'un diagnostic présumé ou avéré d'infection intra-abdominale compliquée. Les résultats ont démontré que la CAZ-AVI a satisfait à l'objectif de non-infériorité statistique par rapport au méropénem et que la fréquence des effets indésirables de la CAZ-AVI en combinaison au métronidazole était similaire au méropénem.

D'autre part, les résultats complets de la phase III de l'étude globale REPRISE ont aussi été signalés. Cette étude a évalué l'innocuité et l'efficacité de la CAZ-AVI, administrée chez des patients souffrant d'infection intra-abdominale compliquée ou d'infection des voies urinaires compliquée résistantes à la ceftazidime et à Gram négatif. Les patients souffrant d'infection intra-abdominale compliquée ayant également reçu du métronidazole. La CAZ-AVI a été comparée à la meilleure thérapie disponible. Les résultats ont démontré que l'efficacité de la CAZ-AVI et du meilleur traitement disponible étaient similaires.

La CAZ-AVI apparaît donc comme un traitement d'avenir de graves infections bactériennes à Gram négatif dont des infections intra-abdominales compliquées(82)(81).

C. Importance des paramètres de pharmacocinétiques et pharmacodynamiques et des CMI.

La pharmacocinétique correspond à la relation entre l'antibiotique et le patient. Elle rassemble les mécanismes d'absorption, de distribution, de métabolisation et d'élimination de l'antibiotique, qui influencent les concentrations sérique et tissulaire en antibiotique et donc conditionnent les voie et posologie d'administration.

La pharmacodynamie correspond à la relation entre l'antibiotique et le germe cible. Elle englobe les paramètres de bactéricidie (vitesse et mécanisme), l'effet post-antibiotique ainsi que la concentration minimale inhibitrice.

Le concept pharmacocinétique/pharmacodynamie (PK/PD) est une prise en compte globale du comportement de l'antibiotique, dans l'organisme et vis-à-vis du germe cible, afin d'évaluer les modalités d'administration entraînant l'effet thérapeutique le plus efficace.

Selon la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) (83) pour des infections graves, il faut probablement maintenir les concentrations plasmatiques de β -lactamines pendant au moins 70% du temps supérieures à la CMI, pour garantir le succès thérapeutique. D'ailleurs, il faut probablement atteindre un objectif plus élevé, avec une concentration minimale sérique 4 à 6 fois supérieure à la CMI. Chez des patients de réanimation, Mohr et al.(84) proposent comme objectif pharmacodynamique pour les bêta-lactamines de maintenir les concentrations plasmatiques pendant 100% du temps supérieures à la CMI, associé à un rapport concentration minimale sérique sur CMI supérieur à 5.

Diverses études nous montrent que la valeur de la CMI de l'antibiotique pour le germe étudié serait plus importante que la seule sensibilité du germe au dit antibiotique.

Lee et al.(77) proposent de limiter l'usage du céfépime dans le traitement des bactériémies à EBLSE aux souches, pour lesquelles la CMI de cette molécule est inférieure ou égale à 1mg/L.

Retamar et al.(85) étudient l'impact de la CMI à l'association piperacilline-tazobactam, sur le pronostic de 39 patients souffrant de bactériémie à *E.coli* BLSE. Ils concluent que cette association se révélait être un traitement efficace des bactériémies à *E.coli* BLSE d'origine urinaire. Alors que pour les bactériémies à

E.coli BLSE d'origine non urinaire, notamment intra-abdominale, l'association piperacilline-tazobactam ne devait être utilisée que dans les cas d'une CMI inférieure à 2mg/L. Gavin et al.(86) s'intéressent au pronostic de patients souffrant d'infection à *E.coli* ou *Klebsiella* BLSE et traités par piperacilline-tazobactam. Ils constatent que le pronostique était bon pour les infections urinaires quel que soient les CMI obtenues contrairement aux infections non urinaires. Ceci pourrait s'expliquer par les hautes concentrations urinaires obtenues lors d'un traitement par piperacilline-tazobactam.

Ainsi l'importance des CMI et donc, l'efficacité thérapeutique seraient variable en fonction du site infecté.

D. Effet inoculum

L'effet inoculum est défini par une élévation franche de la CMI d'un antibiotique quand la densité bactérienne augmente, il est notamment décrit chez les β -lactamines. De nombreuses études *in vitro* ont mis en évidence ce phénomène.

Thomson et al.(87), en 2001, étudient l'évolution des CMI de différentes β -lactamines, entre un inoculum standard et un inoculum cent fois plus important, sur des souches d'EBLSE de types TEM et SHV. Ils établissent que le céfépime, la ceftazidime et le céfotaxime sont très largement touchés par le phénomène d'effet inoculum, la piperacilline/tazobactam est concernée, de façon moins importante, par cet effet tandis que le méropénème n'est que très peu affecté.

Lopez-Cerero et al.(88), en 2010, travaillent sur une quinzaine de souches d'*E.coli* BLSE de type TEM, SHV et CTX-M sensibles aux associations amoxicilline/clavulanate et piperacilline/tazobactam. Ils étudient la cinétique de bactéricidie de ces associations sur un inoculum standard et un inoculum cent fois plus important. Ils constatent que l'activité de l'amoxicilline/clavulanate reste relativement stable tandis que celle de piperacilline/tazobactam est très affectée lorsque l'inoculum est plus conséquent.

Au cours d'une étude *in vitro*, Wu et al.(89), en 2014, s'intéressent à l'effet inoculum de plusieurs antibiotiques contre des souches d'*E.coli* BLSE de type CTX-M. Ils comparent les CMI obtenues avec un inoculum standard et un inoculum cent fois plus important. Un effet inoculum est observable dans 5% des cas avec la piperacilline/tazobactam, 35% des cas avec la ceftazidime, 85% des cas avec le céfépime et 100% des cas avec le céfotaxime, tandis que le méropénème n'est pas touché par ce phénomène. Ils conseillent la plus grande prudence aux cliniciens

quant à l'utilisation de céphalosporines de troisième et quatrième générations dans le traitement, d'infections sévères à *E.coli* BLSE, même si ceux-ci apparaissent sensibles *in vitro*.

En 2014, Kang et al.(90) analysent l'effet inoculum de plusieurs β -lactamines sur un panel de 99 souches d'*E.coli* BLSE de type CTX-M, isolées en 2010 et 2011. Il en découle que les molécules les plus atteintes par le phénomène d'effet inoculum sont le céfépime et la ceftazidime et que sa répercussion sur la catégorisation des souches en tant que sensible ou résistante est très importante. Alors que les carbapénèmes tels que l'imipénème et le méropénème n'apparaissent que très peu concernés.

Ainsi d'après les diverses études effectuées *in vitro*, les molécules les plus affectées par le phénomène d'effet inoculum seraient, les céphalosporines telles que céfépime, céfotaxime, ceftazidime mais aussi l'association piperacilline/tazobactam, tandis que les carbapénèmes comme l'imipénème et le méropénème seraient épargnés. Or certaines pathologies infectieuses sont caractérisées par un inoculum bactérien particulièrement important par exemple, les endocardites, méningites, arthrites septiques, ostéomyélites, empyèmes, abcès...dans ces situations, dans une collection suppurée, il peut être retrouvé un taux supérieur ou égale à 10^9 bactéries par millilitre de pus. La CMI obtenue à partir de l'antibiogramme peut donc être faussement sous-évaluée et rassurante. Cependant, son application clinique reste hypothétique et il est en fait bien difficile, voire impossible, de le différencier de l'inactivation des antibiotiques dans le pus ou d'une mauvaise pénétration dans le foyer infecté.

Craig et al.(91) assurent au contraire que le phénomène d'effet inoculum n'est qu'un artefact *in vitro*. D'après eux, ce phénomène serait dû à la technique elle-même qui consiste à mettre en présence une quantité plus importante d'enzymes avec la même dose d'antibiotique, ce qui ne refléterait pas la réalité du rythme d'administration des antibiotiques *in vivo*. Ils qualifient ce phénomène de prédictible car il touche les molécules étant hydrolysées par l'enzyme produite par la bactérie, ce qui n'est pas en accord avec les résultats de l'étude de Lopez-Cerero et al.(88) qui montre une stabilité de l'activité de l'amoxicilline/clavulanate.

D'autres études tentent de mettre en évidence ce phénomène *in vivo*. Par exemple, Docobo-Perez et al.(92), en 2013, utilisent un modèle murin afin de simuler des infections bactériennes à *E.coli* avec des tailles d'inocula différentes. Ils

comparent alors l'activité de l'amoxicilline/clavulanate, de la piperacilline/tazobactam et de l'imipénème sur l'évolution de la concentration bactérienne splénique et sur la proportion de bactériémies et de décès. Ils en concluent que l'effet inoculum pourrait être la cause d'échec de traitements d'infections à EBLSE par piperacilline/tazobactam en dépit d'une bonne sensibilité *in vitro*, dans les cas où l'inoculum bactérien est lourd.

MATERIEL ET METHODE

Comme nous l'avons décrit précédemment, nous assistons depuis quelques années à un accroissement rapide du nombre d'infections invasives à entérobactéries productrices de BLSE et en particulier à *E.coli* BLSE, que ce soit à l'échelle mondiale, européenne, nationale ou régionale. Ces circonstances ont motivé la mise en place d'une enquête, sur les bactériémies à *E.coli* BLSE, dans les hôpitaux du Nord-Pas de Calais (Nd-PdC), celle-ci a été effectuée au sein du réseau des microbiologistes du Nd-PdC.

Nous avons d'abord exploité quelques données cliniques de cette enquête afin de mettre en évidence certaines caractéristiques des épisodes bactériémiques.

Puis, nous avons sélectionné les souches bactériennes semblant présenter une sensibilité aux céphalosporines de 3^{ème} génération et nous avons exploré leur sensibilité aux β -lactamines en déterminant les Concentrations Minimales Inhibitrices (CMI).

Enfin, l'analyse de la littérature nous ayant rapporté l'existence d'un effet inoculum, pour certaines β -lactamines, nous avons tenté de mettre en évidence ce phénomène en comparant des CMI obtenues à partir de divers inocula.

I. L'ETUDE REGIONALE

Cette étude a été réalisée au cours de l'année 2013, 182 cas de bactériémies à *E.coli* BLSE ont été recensés. Ils étaient répartis dans 17 établissements participants. Pour chaque cas, diverses données ont été recueillies relatives au patient (âge, sexe, motif d'hospitalisation, facteurs de risques...), à l'épisode bactériémique (origine communautaire ou nosocomiale, gravité, porte d'entrée), aux souches bactériennes mises en cause (sensibilité à douze molécules antibiotiques), au traitement (initial et après documentation) ainsi qu'au devenir du patient à J10. Le protocole et la fiche de recueil de données sont reportés dans les annexes 1 et 2.

II. MATERIEL

A. Les souches bactériennes

Dans cette étude, 182 épisodes de bactériémies à *E.coli* producteur de BLSE ont été inclus, 2 épisodes ont été exclus par manque de données. Dans chacun des cas, l'antibiogramme de la souche bactérienne mise en cause, nous avait été communiqué par le laboratoire de l'établissement au sein duquel la souche avait été isolée.

Conformément aux recommandations décrites par l'EUCAST, une souche bactérienne peut être caractérisée «sensible», «intermédiaire» ou «résistante» aux différentes molécules antibiotiques ainsi testées. Nous nous sommes intéressés aux souches d'*E.coli* qui avaient été rendues «sensible» à au moins une des trois molécules suivantes: cefotaxime, ceftazidime et céfépime, par les laboratoires des centres participants, selon les recommandations du **CA-SFM 2013**(93). Les laboratoires avaient utilisés différentes techniques telles que les méthodes par diffusion ou par dilution (Walk-away, Phoenix, Vitek). Cela représente 70 souches mais en pratique, seules 60 souches nous ont été transmises. Celles-ci proviennent de 14 centres hospitaliers.

Centres hospitaliers	Nombre de souches caractérisées sensible à au moins une des trois molécules
Valenciennes	4
Lille	16
Tourcoing	4
St Philibert	2
Lens	4
St Omer	2
Roubaix	4
Boulogne	2
Dunkerque	3
Armentières	3
Cambrai	3
Béthune	5
Calais	3
Maubeuge	5

Tableau 7 : Répartition des souches d'intérêt au sein des centres hospitaliers

Molécules	Sensible		Intermédiaire		Résistante	
	Nombre	%	Nombre	%	Nombre	%
Pipéracilline/ tazobactam	139	76,37	24	13,19	19	10,44
Céfotaxime	5	2,75	6	3,30	171	93,96
Ceftazidime	52	28,57	43	23,63	87	47,80
Céfépime	39	22,16	57	32,39	79	44,89
Imipénème	182	100	0	0	0	0
Ertapénème	182	100	0	0	0	0

Tableau 8 : Répartition globale, des sensibilités, pour les molécules d'intérêt, relevées par les laboratoires des centres participants, de l'ensemble des souches.

B. Vérification de l'activité des β -lactamines apparaissant «sensible» sur l'antibiogramme

La Concentration Minimale Inhibitrice (CMI) est la plus petite concentration en antibiotique capable, *in vitro*, d'empêcher la croissance d'un germe dans des conditions expérimentales définies.

Tout d'abord nous avons travaillé dans des conditions standards, que nous décrirons plus précisément par la suite. De cette façon, pour les 60 souches d'*E.coli*, nous avons déterminé les CMI de la tazocilline qui correspond à l'association de la pipéracilline et du tazobactam, du céfotaxime, de la ceftazidime, du céfépime, de l'imipénème et de l'ertapénème à chaque fois que ceux-ci avaient été caractérisés «sensible» par le laboratoire du centre hospitalier d'origine de la souche bactérienne. Cependant concernant l'ertapénème, des contraintes techniques, nous ont empêchés de déterminer la CMI pour la totalité des souches. Dès lors, les CMI pour la tazocilline, le céfotaxime, la ceftazidime, le céfépime, l'imipénème et l'ertapénème ont été définies respectivement pour 55, 5, 44, 31, 60 et 48 souches.

C. Etude de l'effet inoculum

Par la suite, nous avons modifié les conditions expérimentales en faisant varier l'inoculum bactérien. L'objectif était de rechercher l'existence d'un effet inoculum et donc une variation significative des CMI en fonction de l'inoculum bactérien utilisé. Nous avons alors déterminé les CMI des différents antibiotiques en utilisant un inoculum dix fois plus faible et un inoculum dix fois plus important que

celui décrit dans les conditions standards. En pratique, l'appréciation des CMI avec les deux nouveaux inocula a été menée à bien pour les molécules suivantes : tazocilline, ceftazidime, céfépime, imipénème, ertapénème, respectivement sur 33, 31, 34, 30 et 31 souches d'*E.coli*. La molécule de céfotaxime n'a pas été incluse dans cette démarche étant donné qu'elle avait été caractérisée « sensible » pour seulement 5 souches. Ceci confirme que le type d'enzyme majoritaire était sans doute CTX-M, ces enzymes touchant plus souvent et plus fortement la molécule de céfotaxime.

III. METHODE

A. Description des épisodes bactériémiques

Nous nous sommes intéressés aux quatre éléments suivants : le point de départ de l'infection, la sévérité de celle-ci, son origine et la survenue éventuelle d'un décès à J10.

Les points de départ des épisodes bactériémiques ont été répartis en quatre catégories : urinaire, digestif, pulmonaire et point de départ autre ou inconnu.

Le critère de sévérité a été dissocié en deux catégories distinctes : sévère ou non sévère sachant que la notion de sepsis grave a été laissée à l'appréciation du médecin contacté (la définition étant : sepsis + lactates > 4 mmol/l ou hypotension artérielle ou dysfonctionnement d'au moins un organe).

L'origine de l'infection faisait allusion à son caractère communautaire ou nosocomial.

Nous avons analysé la survenue de décès à J10 en fonction de la porte d'entrée de l'infection, de son origine et de sa sévérité, en utilisant le test exact de Fisher, afin de rechercher un lien statistique significatif entre ces éléments.

B. Vérification de l'activité des molécules rendues « sensible » sur l'antibiogramme.

1. Culture

Nous avons mis les souches bactériennes en culture sur des géloses Lactosée au Bromocrésol Pourpre (BCP ; Biomérieux®) que nous avons incubées 18 à 24h à $36 \pm 1^\circ\text{C}$.

2. Antibiogrammes différentiels

Lorsque la culture semblait hétérogène quant à l'aspect macroscopique des colonies, les différents types de colonies ont été réisolés. Sur chacun d'entre eux, un antibiogramme a été réalisé par la méthode de diffusion, selon les conditions définies par l'EUCAST 2014(94) afin de rechercher une éventuelle différence de phénotype de résistance et mettre en évidence la présence de sous populations ayant des niveaux de résistance différents aux antibiotiques. Ceci a été effectué sur neuf souches (Valenciennes⁹, Lille²⁶, Maubeuge⁸, Béthune¹⁴, Tourcoing³, Tourcoing⁵, Tourcoing⁷, Saint-Omer¹¹ et Armentières⁵). Pour effectuer les antibiogrammes, nous avons réalisé une suspension bactérienne, dans une solution salée (NaCl 0,85% Biomérieux®), à partir des colonies provenant de la culture faite sur milieu BCP. Avec l'aide d'un Densimat (Biomérieux®), nous avons modifié la suspension jusqu'à ce que sa turbidité corresponde à 0,5 McFarland. Le Densimat a été contrôlé chaque jour à l'aide de l'étalon 0,5 de la gamme de McFarland (*ATB Kit Contrôle Densitomètre*, Biomérieux®). La suspension bactérienne a ensuite été distribuée sur les géloses MH (Mueller-Hinton, Bio-Rad®) à l'aide d'un écouvillon en coton, sur la totalité de la surface de la gélose et dans trois directions. Une fois la gélose sèche, les disques chargés en antibiotiques ont été déposés et la gélose a été incubée dans une étuve à $36 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 18 à 24H. Les antibiogrammes issus d'une même souche ont alors été comparés entre eux. Les éventuelles différences de résistances pouvaient ainsi être mises en évidence par une variation de la taille des diamètres d'inhibition autour des disques chargés d'antibiotiques.

3. Détermination des Concentrations minimales inhibitrices

Pour la détermination des CMI, nous avons utilisé les bandelettes E-test suivantes :

- Pipéracilline/tazobactam PTC (0.016-256) Biomérieux® La concentration du tazobactam est de 4mg/L conformément aux recommandations de l'EUCAST 2014.
- Céfotaxime CTX (0.016-256) Oxoid®
- Ceftazidime CAZ (0.016-256) Liofilchem®
- Céfépime PM (0.016-256) Biomérieux®,
- Imipénème IP (0.002-32) Biomérieux®
- Ertapénème ETP (0.002-32) Biomérieux®

Les bandelettes E-test sont des bandelettes de plastique inertes et non poreuses de 5 mm de large et 60 mm de long. Sur l'une des faces est représentée une échelle de lecture de CMI en $\mu\text{g/mL}$ tandis que sur l'autre face est immobilisé un gradient exponentiel prédéfini d'antibiotique séché et stabilisé. Quand la bandelette E-test est déposée sur la géloseensemencée, l'antibiotique est instantanément libéré sur la surface de la gélose. Un gradient continu et exponentiel de concentration en antibiotique se crée au voisinage de la bandelette. L'incubation rend la croissance bactérienne visible. Nous observons ainsi la formation d'une ellipse d'inhibition. La valeur de la CMI est indiquée par la graduation correspondant à la limite de la zone d'inhibition de croissance de la bactérie étudiée.

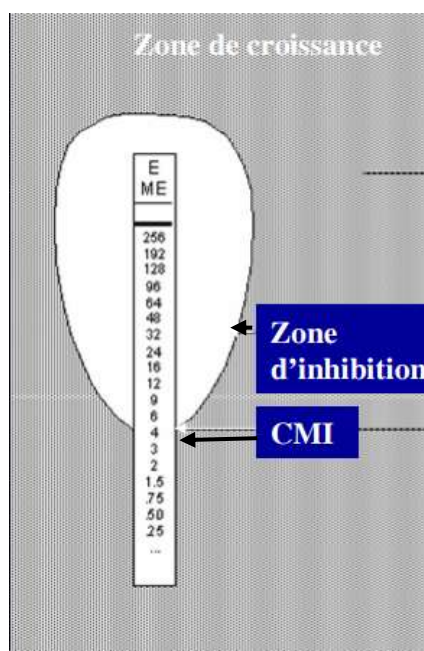


Figure 25 : Technique de lecture de la valeur de la CMI par utilisation de bandelette E-test.

Pour effectuer la détermination des CMI avec l'inoculum standard, nous avons suivi les recommandations de l'EUCAST 2014(94). Soit, à partir d'une culture fraîche, nous avons réalisé une suspension bactérienne en solution saline dont la turbidité était équivalente à celle de l'étalon 0,5 de la gamme de MacFarland (McF). Nous avons inoculé une gélose MH à l'aide de cette suspension, en écouvillonnant sur la totalité de la surface de la gélose, dans trois directions. Une fois la gélose sèche, nous avons déposé les bandelettes E-test et incubé la gélose à $36 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 18 à 24H.

C. Etude de l'effet inoculum

Nous avons déterminé les CMI de la tazocilline, de la ceftazidime, du céfépime, de l'imipénème et de l'ertapénème en utilisant les bandelettes E-test décrites ci-dessus mais en modifiant les conditions de préparation de l'inoculum.

Préparation de l'inoculum faible : nous avons prélevé précisément 100 μL de la suspension bactérienne à 0,5McF que nous avons transféré dans un tube contenant 900 μL de solution saline. Cette suspension a ensuite été homogénéisée à l'aide d'un vortex puis inoculée sur une gélose de la même manière que décrite précédemment.

Préparation de l'inoculum fort: nous avons centrifugé 5mL de la suspension bactérienne à 0,5McF pendant 15 minutes à 4000rpm (Jouan® BR4i). Nous avons éliminé le surnageant et remis en suspension le culot dans 500 μL de solution saline. Cette suspension a ensuite été homogénéisée à l'aide d'un vortex puis inoculée sur une gélose de la même manière que décrite précédemment.

D. Contrôles

1. Concernant les différents inocula

Nous avons effectué plusieurs contrôles par une technique de dénombrement en effectuant des dilutions à partir des suspensions théoriquement prêtes à être inoculées sur des géloses (procédé décrit ci-après). A partir des suspensions finales, deux géloses ont étéensemencées avec deux volumes différents (10 et 100 μL). Ces géloses ont été incubées à $36 \pm 1^\circ\text{C}$ pendant 18 à 24H. Enfin, nous avons réalisé un décompte des colonies obtenues sur ces géloses, afin de vérifier en pratique la

cohérence de la technique. Aussi, nous avons bien obtenu une différence de $2\log_{10}$ entre les suspensions identifiées comme « l'inoculum faible » et « inoculum fort ».

Inoculum standard : A partir d'une suspension bactérienne à 0,5McF nous avons réalisé deux dilutions successives au $1/100^{\text{ème}}$ (100 μ L dans 9,9mL de solution saline) puis une dilution au $1/10^{\text{ème}}$ (100 μ L dans 900 μ L de solution saline). Puis nous avons inoculé à l'aide d'un étaleur deux géloses BCP avec 100 μ L et 10 μ L de la suspension finale.

Inoculum faible : A partir d'une suspension bactérienne à 0,5McF, nous avons prélevé 100 μ L de la suspension bactérienne à 0,5McF que nous avons transféré dans un tube contenant 900 μ L de solution saline. Puis nous avons réalisé deux dilutions successives au $1/100^{\text{ème}}$ (100 μ L dans 9,9mL de solution saline) enfin nous avons inoculé à l'aide d'un étaleur deux géloses BCP avec 100 μ L et 10 μ L de la suspension finale.

Inoculum fort : nous avons centrifugé 5mL de la suspension bactérienne à 0,5McF pendant 15 minutes à 4000rpm. Nous avons éliminé le surnageant et remis en suspension le culot dans 500 μ L de solution saline. Puis nous avons réalisé trois dilutions successives au $1/100^{\text{ème}}$ (100 μ L dans 9,9mL de solution saline) enfin nous avons inoculé à l'aide d'un étaleur deux géloses BCP avec 100 μ L et 10 μ L de la suspension finale.

2. Concernant la détermination des CMI

Les manipulations étaient validées par les Contrôles de Qualité Interne du laboratoire, l'analyse de détermination des CMI étant sous accréditation.

RESULTATS

Dans ce chapitre nous avons étudié, en premier lieu, les chiffres relatifs à l'enquête régionale en décrivant notamment la proportion de décès en fonction des caractéristiques des bactériémies, à savoir leur point de départ clinique, leur sévérité et leur origine. Puis nous nous sommes penchés sur les 60 souches d'intérêt précédemment sélectionnées en examinant les valeurs de CMI obtenues en utilisant un inoculum standard et enfin celles en utilisant les deux inocula modifiés.

I. CARACTERISTIQUES DES BACTERIEMIES

Parmi les cas de bactériémies à *E.coli* BLSE mises en lumière par cette enquête régionale, celles ayant un point de départ urinaire étaient largement majoritaires, en effet elles représentaient plus de 60% de l'ensemble. Nous avons réparti les points de départ en quatre catégories : urinaire, digestif, pulmonaire, et les bactériémies ayant un point de départ autre ou inconnu. Nous avons statistiquement analysé le rapport entre le nombre de décès et le type de point de départ de l'infection à l'aide du Test exact de Fisher. Ceci nous a permis de mettre en évidence une différence significative du nombre de décès en fonction du point de départ de l'infection avec une valeur-p inférieure à 0,05.

		Nombre de bactériémies	Nombre de décès	% de décès dans chaque catégorie	Test de Fisher
	Total	182	20	10,99	
Point de départ	Urinaire	112	6	5,36	p = 0,0017
	Digestif	28	6	21,43	
	Pulmonaire	10	4	40,00	
	Autre ou inconnu	32	4	12,50	

Tableau 9 : Nombre de bactériémies et de décès en fonction des différents points de départ clinique, associés au résultat du test statistique de Fisher.

Nous avons séparé les épisodes de bactériémies en deux catégories de sévérité (sévère et non sévère) selon des critères préalablement définis et nous y avons associé le nombre de décès ainsi que leur correspondance en pourcentage. Ceci nous a montré que la proportion de décès était significativement plus élevée dans les formes dites sévères avec une valeur-p inférieure à 0,05 pour le Test exact de Fisher.

		Nombre de bactériémies	Nombre de décès	% de décès dans chaque catégorie	Test de Fischer
Total		182	20	10,99	
Sévérité	Formes non sévères	138	7	5,07	p = 4,022.10 ⁻⁵
	Formes sévères	44	13	29,55	

Tableau 10 : Nombre de bactériémies et de décès en fonction du caractère sévère ou non sévère de l'infection, associés au résultat du test statistique de Fisher.

Enfin nous avons voulu comparer le nombre de décès au cours des bactériémies à *E.coli* BLSE en fonction de l'origine de l'acquisition de l'infection à savoir communautaire ou nosocomiale. Comme la valeur-p pour le test statistique de Fisher était supérieur à 0,05, cela signifie qu'il n'y avait pas de différence significative de survenue de décès en fonction du caractère communautaire ou nosocomial d'acquisition de l'infection.

		Nombre de bactériémies	Nombre de décès	% de décès dans chaque catégorie	Test de Fischer
Total		182	20	10,99	
Origine	Nosocomiales	76	10	13,16	p = 0,47
	Communautaires	106	10	9,43	

Tableau 11 : Nombre de bactériémies et de décès en fonction de l'origine de l'infection, associés au résultat du test statistique de Fisher.

II. VERIFICATION DE LA PURETE DES SOUCHES

Concernant les neuf souches pour lesquelles des antibiogrammes par diffusion ont été réalisés sur les colonies d'aspects distincts, afin de vérifier la pureté des souches, à savoir : Valenciennes9, Lille26, Maubeuge8, Béthune14, Tourcoing3, Tourcoing5, Tourcoing7, Saint-Omer11 et Armentières5, aucune différence de phénotype de résistance n'a été objectivée.

III. VERIFICATION DE L'ACTIVITE DES MOLECULES RENDUES « SENSIBLE » SUR L'ANTIBIOGRAMME.

Avant 2011, pour les souches d'entérobactéries productrices de BLSE apparaissant « sensible » à une ou plusieurs céphalosporines de 3^{ème} génération sur l'antibiogramme, le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de

Microbiologie (CASFM) recommandait par principe de précaution d'interpréter les résultats et de rendre au clinicien toutes les céphalosporines catégorisées au minimum comme « intermédiaire ». Or cette pratique avait pour conséquence une utilisation plus importante des carbapénèmes, d'autant plus que l'explosion de la diffusion d'entérobactéries productrices de BLSE dans le monde rendait ces situations de plus en plus courantes. Ceci provoquant un enjeu écologique de taille : l'émergence d'entérobactéries productrices de carbapénémases. Aussi depuis 2011, le CASFM(78) ne recommande plus d'interpréter les résultats. Cependant cette indication est accompagnée de plusieurs mesures de précaution. Tout d'abord les concentrations critiques basses déterminant le seuil de sensibilité ont été abaissées à 1mg/L contre 4mg/l auparavant. Ensuite la recherche de la production de BLSE est toujours préconisée, non pas dans le but d'une interprétation de l'antibiogramme mais pour des raisons épidémiologiques, dans le but de mettre en place des mesures d'hygiène afin d'éviter une diffusion. Enfin si une entérobactérie productrice de BLSE est catégorisée « sensible » pour une céphalosporine de 3^{ème} génération et que cette molécule est utilisée dans le traitement de l'infection alors la CMI précise devra être déterminée.

Molécules	Concentration critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)	
	S≤	>R	S≥	R<
Tazocilline	8	16	20	17
Céfotaxime	1	2	20	17
Ceftazidime	1	4	23	23
Céfépime	1	4	24	21
Imipénème	2	8	22	16
Ertapénème	0,5	1	25	22

Tableau 12 : Concentrations (mg/L) et diamètres (mm) critiques déterminant les seuils de sensibilité en fonction des molécules d'intérêt selon EUCAST 2014(94).

Nous nous sommes intéressés aux CMI obtenues avec l'inoculum standard pour les 60 souches sélectionnées sur le critère suivant : souche catégorisées « sensible » à au moins une molécule parmi les trois suivantes, céfotaxime, ceftazidime ou céfépime. Les CMI des molécules tazocilline, céfotaxime, ceftazidime, céfépime, imipénème et ertapénème ont été déterminées sur chacune des 60 souches à chaque fois qu'elles avaient été rendues « sensible » par les laboratoires participants à l'enquête (exception faite de l'ertapénème). Ces résultats sont retranscrits dans le tableau suivant.

	Effectif	CMI moyenne	CMI50	CMI90
Tazocilline Inoculum Standard	55	2,38	2	4
Céfotaxime Inoculum Standard	5	1,36	0,5	4
Ceftazidime Inoculum Standard	44	1,75	1,5	4
Céfépime Inoculum Standard	31	2,75	1,5	6
Imipénème Inoculum Standard	60	0,26	0,25	0,38
Ertapénème Inoculum Standard	48	0,03	0,01	0,05

Tableau 13 : Description des CMI obtenues avec l'inoculum standard pour les six molécules. (Effectif, CMI moyenne, CMI 50 et CMI 90)

A. La tazocilline

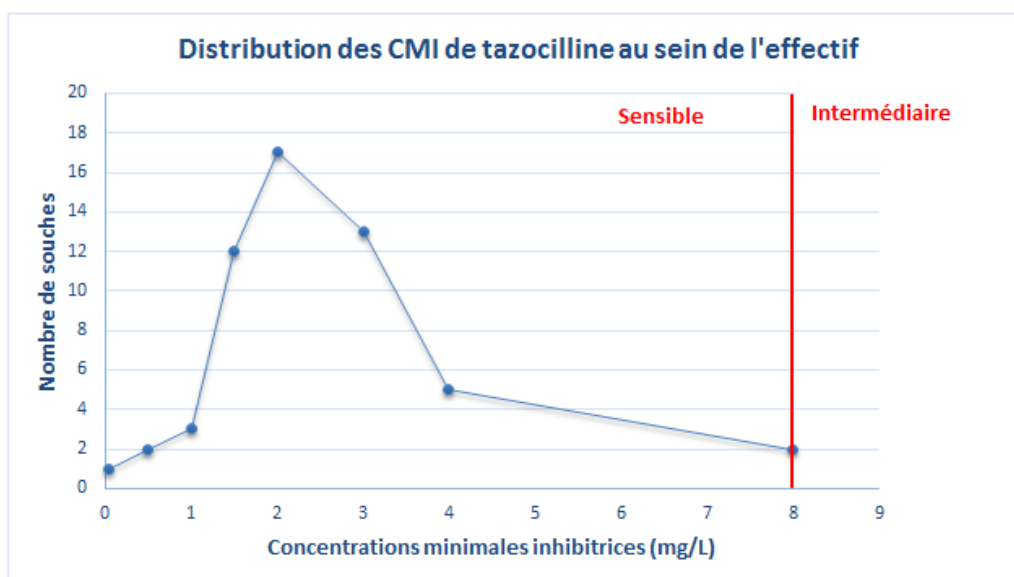


Figure 26 : Distribution du nombre de souches (parmi les 55 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice à la tazocilline.

	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Nombre	55	0	0
%	100	0	0

Tableau 14 : Répartition des 55 souches testées à la tazocilline en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant ».

Nous avons constaté que la totalité des 55 souches testées à la tazocilline avaient des CMI comprises entre 0,047 et 8mg/L c'est-à-dire relevant de la catégorie « sensible » défini par les critères de l'EUCAST 2014. Nous avons toutefois remarqué que deux souches avaient des CMI égales à 8mg/L soit juste à la limite du seuil de sensibilité tandis que toutes les autres affichées des CMI bien inférieures.

B. Le céfotaxime

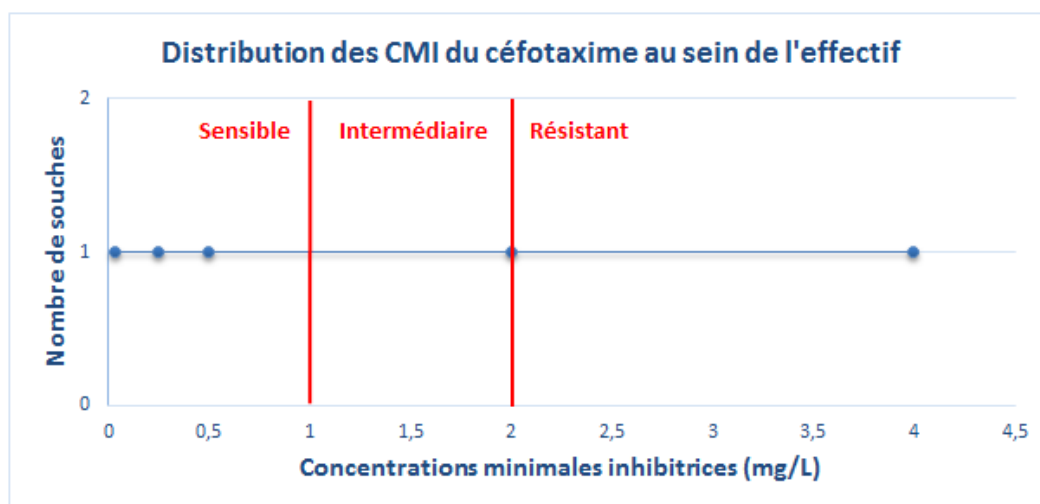


Figure 27 : Distribution du nombre de souches (parmi les 5 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice au céfotaxime.

	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Nombre	3	1	1
%	60	20	20

Tableau 15 : Répartition des 5 souches testées au céfotaxime en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant ».

Nous avons établi que sur les 5 souches testées au céfotaxime, trois présentaient des CMI entre 0,03 et 0,5 mg/L c'est-à-dire bien inférieures au seuil de sensibilité défini par les critères de l'EUCAST 2014. Une souche avait une CMI de valeur 2mg/L soit le double de la valeur définissant de sensibilité, elle se retrouvait dans la catégorie « intermédiaire » et juste à la limite du seuil de résistance. La dernière souche quant à elle avait une valeur de CMI à 4mg/L soit dans la catégorie résistante.

C. La ceftazidime

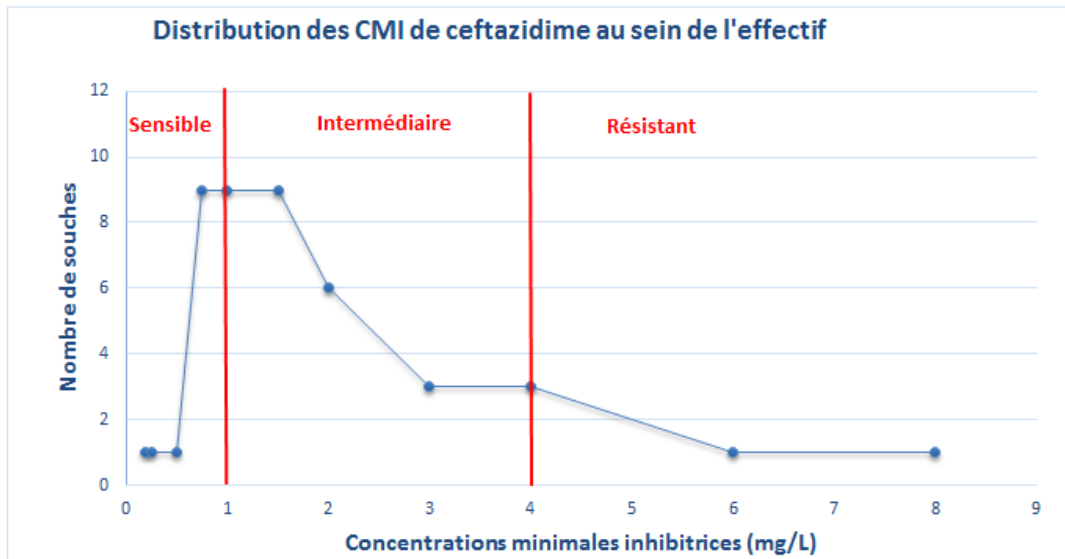


Figure 28 : Distribution du nombre de souches (parmi les 44 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice à la ceftazidime.

	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Nombre	21	21	2
%	47,72	47,72	4,54

Tableau 16 : Répartition des 44 souches testées à la ceftazidime en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant ».

Parmi les 44 souches testées à la ceftazidime, nous avons observé qu'au vu de leur CMI seules 47,72% entre elles entraînent dans la catégorie « sensible ». D'autant qu'une bonne partie de celles-ci (18 souches sur les 21 catégorisées « sensible ») avaient une CMI proche du seuil de sensibilité défini par les critères de l'EUCAST 2014. En outre, 47,72% des souches entraînent dans la catégorie « intermédiaire » et 4,54% relevaient de la catégorie « résistant ».

D. Le céfépime

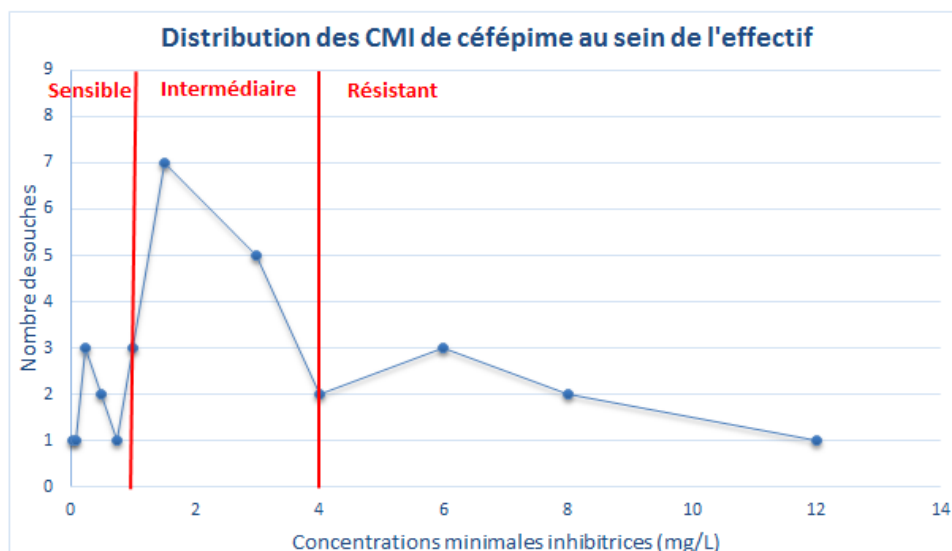


Figure 29 : Distribution du nombre de souches (parmi les 31 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice au céfépime.

	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Nombre	11	14	6
%	35,48	45,16	19,35

Tableau 17 : Répartition des 31 souches testées au céfépime en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant ».

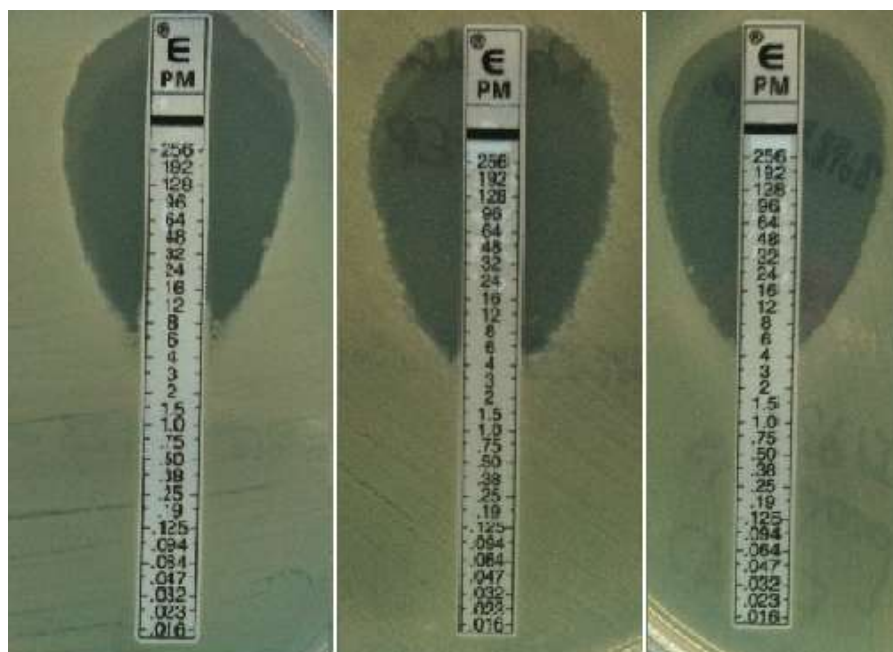


Figure 30 : Photos des CMI de céfépime catégorisées « résistantes » obtenues avec l'inoculum standard pour les souches Armentières3, Tourcoing4, Valenciennes 9 (de gauche à droite)

Concernant les 31 souches testées au céfépime, nous avons constaté que 35,48% d'entre elles étaient catégorisées « sensible » au vu de leur CMI et un quart de celles-ci avaient une CMI proche du seuil de sensibilité défini par les critères de l'EUCAST 2014. Par ailleurs, 45,16% des souches affichaient une CMI faisant partie de la catégorie « intermédiaire ». De surcroît 19,35% des souches testées exhibaient des CMI relevant de la catégorie « résistant ».

E. L'imipénème

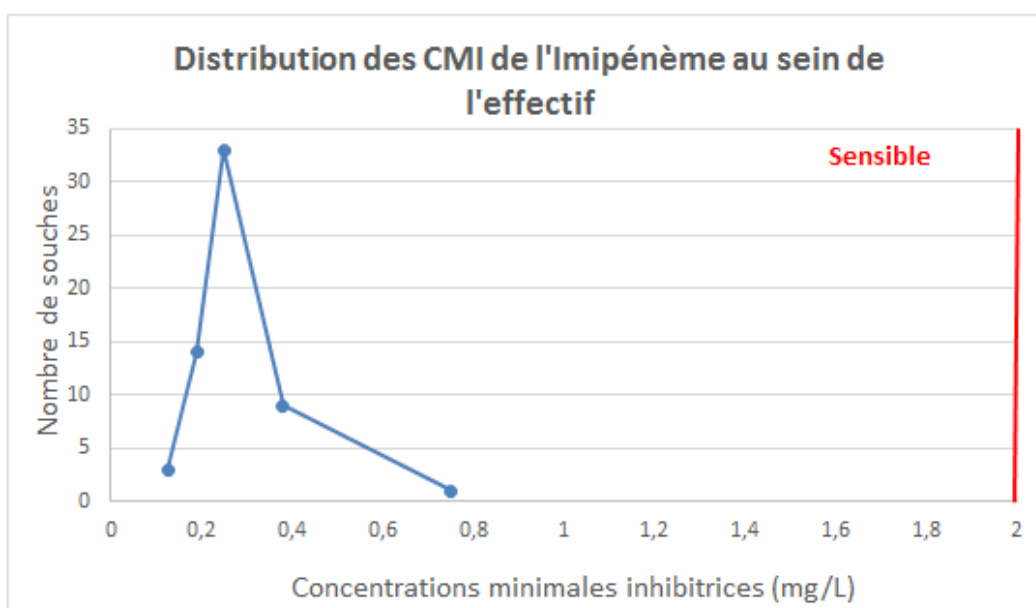


Figure 31 : Distribution du nombre de souches (parmi les 60 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice à l'imipénème.

	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Nombre	60	0	0
%	100	0	0

Tableau 18 : Répartition des 60 souches testées à l'imipénème en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant ».

L'ensemble des 182 souches recueillies durant l'enquête avait été rendu « sensible » à l'imipénème par les laboratoires participants. La totalité des 60 souches sélectionnées présentaient des CMI allant de 0,125 à 0,75mg/L c'est-à-dire bien en deçà du seuil de sensibilité défini par les critères de l'EUCAST 2014.

F. L'ertapénème

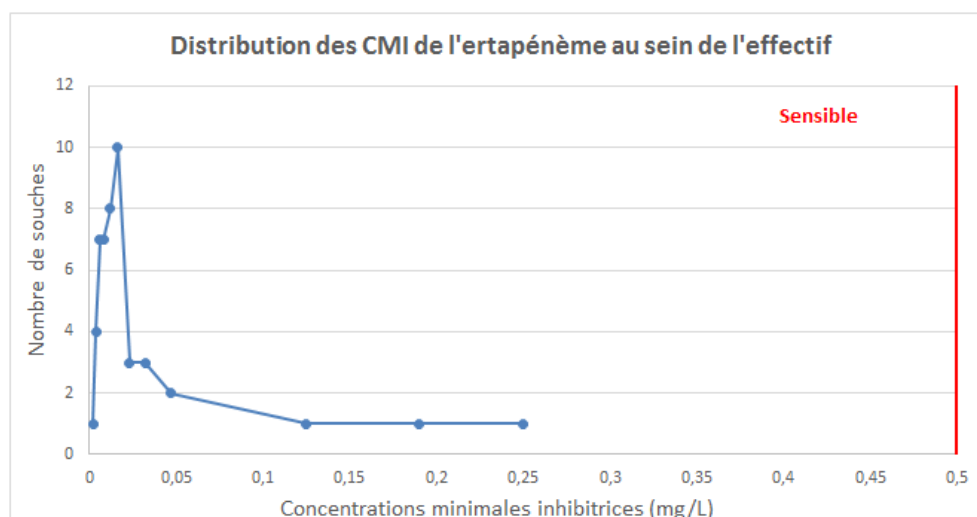


Figure 32 : Distribution du nombre de souches (parmi les 48 testées) en fonction de leur concentration minimale inhibitrice à l'ertapénème.

	Sensible	Intermédiaire	Résistant
Nombre	48	0	0
%	100	0	0

Tableau 19 : Répartition des 48 souches testées à l'ertapénème en fonction des catégories « sensible », « intermédiaire » et « résistant ».

L'ensemble des 182 souches recueillies durant l'enquête avait été rendu « sensible » à l'ertapénème par les laboratoires participants. La totalité des 48 souches testées à l'ertapénème présentaient des CMI allant de 0,002 à 0,25mg/L bien inférieur au seuil de sensibilité défini par les critères de l'EUCAST 2014.

G. Bilan

D'une part, nous avons vérifié que parmi les 60 souches sélectionnées, celles rendues « sensible » à la tazocilline, l'imipénème ou l'ertapénème par les laboratoires participants à l'enquête, étaient effectivement « sensible » au regard des CMI obtenues et des critères de sensibilité définis par l'EUCAST 2014. D'autant que la totalité des souches testées à l'imipénème ou à l'ertapénème ainsi que la grande majorité de celles testées à la tazocilline présentaient des CMI bien inférieures aux concentrations critiques.

D'autre part, le fait le plus remarquable était que le caractère « sensible » au céfotaxime, à la ceftazidime ou au céfépime rendu par les laboratoires des différents hôpitaux de la région n'était pas vérifié d'après les CMI obtenues. Rappelons que

lors de l'enquête, les laboratoires se référaient aux recommandations du CA-SFM 2013 qui préconisait l'utilisation d'un inoculum plus faible que celui retrouvé dans les recommandations de l'EUCAST 2014. Ainsi la majorité des souches rendues « sensibles » au céfépime ou à la ceftazidime avaient des CMI appartenant à la catégorie « intermédiaire » voire même « résistant »! Considérant ces résultats très surprenants, nous avons testé dix souches avec des disques chargés en antibiotiques afin de vérifier la cohérence des résultats obtenus en diamètre et en CMI. Ainsi, nous avons testé deux souches pour le céfotaxime (CMI égales à 2 et 4mg/L), six pour la ceftazidime (CMI allant de 1 à 8mg/L) et huit pour le céfépime (CMI allant de 1 à 8 mg/L). Les résultats obtenus en diamètre étaient tout à fait cohérents puisque les seules différences de catégorisations observées entre CMI et diamètre étaient dues au fait que pour la molécule de ceftazidime, il n'existe pas de catégorie « intermédiaire » lorsqu'on tient compte des diamètres critiques définis par l'EUCAST 2014.

IV. ÉTUDE DE L'EFFET INOCULUM

Par la suite, nous nous sommes intéressés aux CMI obtenues à partir des inocula faible et fort, respectivement dix fois moins important et dix fois plus important que l'inoculum standard. Nous avons tout d'abord comparé les moyennes des valeurs de CMI à la tazocilline, la ceftazidime, le céfépime l'imipénème et l'ertapénème obtenues à partir des inocula faible et fort (cf Tableau 20).

	Effectif	CMI moyenne	CMI50	CMI90
Tazocilline Inoculum Faible	33	2,27	2	4
Tazocilline Inoculum Fort	33	11,39	3	6
Ceftazidime Inoculum Faible	31	1,72	1	4
Ceftazidime Inoculum Fort	31	2,95	2	6
Céfépime Inoculum Faible	34	2,23	1,25	6
Céfépime Inoculum Fort	34	17,46	3	32
Imipénème Inoculum Faible	30	0,21	0,19	0,32
Imipénème Inoculum Fort	30	0,32	0,25	0,38
Ertapénème Inoculum Faible	31	0,02	0,01	0,03
Ertapénème Inoculum Fort	31	0,05	0,03	0,06

Tableau 20 : Description des CMI obtenues avec les inocula faible et fort pour les cinq molécules d'intérêt. (Effectif, CMI moyenne, CMI 50 et CMI 90)

Nous avons constaté qu'entre les inocula faible et fort, les CMI moyennes étaient multipliées par 5 pour la tazocilline et 7,8 pour le céfépime, tandis que ce facteur multiplicateur était bien moindre pour la ceftazidime (1,71), l'imipénème (1,5) et l'ertapénème (2,5). Cependant, en examinant les médianes ou CMI 50, nous ne distinguons pas de telles disparités. En effet, celles-ci étaient l'objet de variations moins importantes soit respectivement 1,5 fois, 2 fois, 2,4 fois, 1,3 fois et 3 fois pour la tazocilline, la ceftazidime, le céfépime, l'imipénème et l'ertapénème. Ainsi la présence d'un effet inoculum pouvait grandement varier d'une souche à une autre.

En pratique, l'utilisation de bandelette E-test pour la détermination des CMI comporte une incertitude technique d'une graduation sur l'échelle de concentration. C'est pourquoi, nous nous sommes intéressés aux différences de plus de deux graduations soit deux dilutions, ce qui correspond au doublement de la CMI étant donné que le gradient de concentration en antibiotique fixé sur la bandelette est exponentiel. Ainsi pour rechercher une différence significative de CMI entre celle obtenue à partir de l'inoculum faible et celle obtenue à partir de l'inoculum fort, nous avons étudié le quotient de ces deux valeurs.

Molécules	Effectif	Proportion de souches (%) ayant un rapport CMI inoculum fort/CMI inoculum faible			
		≤2	>2 ≤ 3	>3 ≤4	>4
Tazocilline	33	90,09	3,03	0	6,06
Ceftazidime	31	87,1	6,46	3,23	3,23
Céfépime	34	55,88	8,82	8,82	26,46
Imipénème	30	96,67	0	3,33	0
Ertapénème	31	48,39	19,36	12,9	19,36

Tableau 21 : Proportion de souches ayant un rapport CMI inoculum fort sur CMI inoculum faible inférieur ou égal à 2 ; supérieur à 2 et inférieur ou égal à 3 ; supérieur à 3 et inférieur ou égal à 4 ; supérieur à 4 en pourcentage.

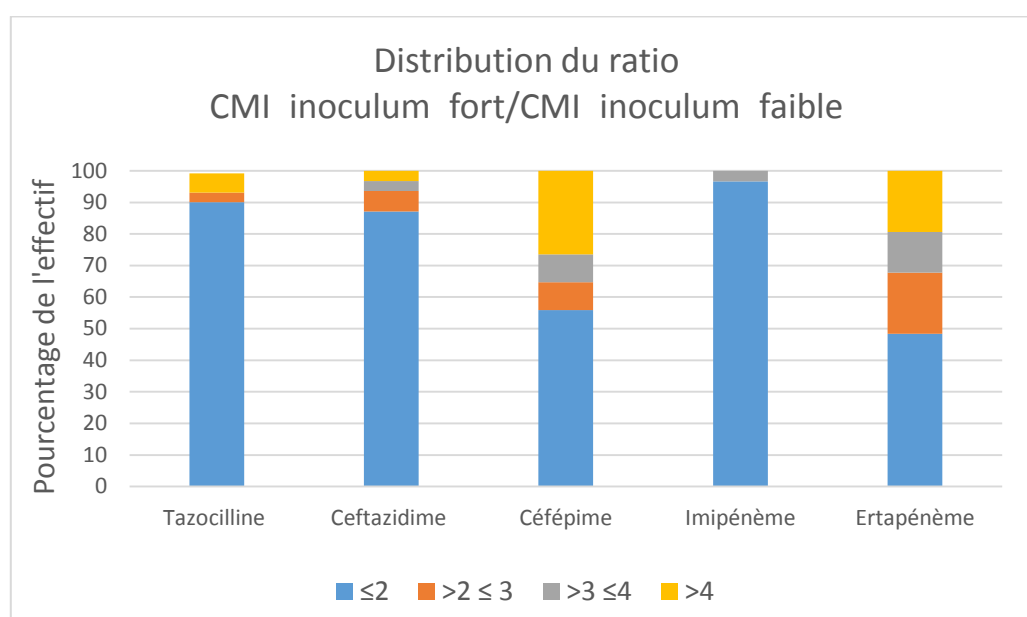


Figure 33 : Distribution des ratio CMI obtenue avec l'inoculum fort et CMI obtenue avec l'inoculum faible répartis en quatre catégories (≤2 ; >2 ≤ 3 ; >3 ≤ 4 et >4)

Concernant la tazocilline, pour 91% des souches testées, le rapport CMI obtenue avec l'inoculum fort sur CMI obtenue avec l'inoculum faible était inférieur ou égal à 2. Cependant parmi les 33 souches testées deux étaient remarquables. En effet, la CMI passait entre les deux inocula de 6 à 32mg/L pour l'une et de 3 à 25mg/L pour l'autre.

A propos de la ceftazidime, pour la plupart des souches testées (87%), le rapport de CMI entre les deux inocula était inférieur ou égal à 2, pour deux souches ce rapport était compris entre 2 et 3, pour une autre souche, il valait 4. Enfin une souche présentait un rapport supérieur à 4, avec une CMI qui évoluait de 1 à 8mg/L entre les deux inocula.

En ce qui concerne le céfépime, seul 55,88% des souches testées présentaient un rapport de CMI entre les deux inocula, inférieur ou égal à 2. Trois souches affichaient un rapport de CMI entre 2 et 3, pour trois autres souches, ce rapport était de situé entre 3 et 4. Enfin la CMI était multipliée, plus de quatre fois, entre les deux inocula, pour 9 souches soit 26%. L'écart le plus important étant constaté pour une souche dont la CMI obtenue avec l'inoculum faible valait 0,023mg/L tandis que celle obtenue avec l'inoculum fort était de 3mg/L.

Pour l'imipénème, la grande majorité des souches testées (97%) avaient un rapport de CMI entre les deux inocula inférieur ou égal à 2. Une seule souche faisait exception, sa CMI passant de 0,38 à 1,5mg/L.

Quant à l'ertapénème, seulement 48% des souches présentaient un rapport de CMI entre les deux inocula, inférieur ou égal à 2. Le reste des souches étant réparti de façon à peu près équivalente entre les trois autres catégories, six souches (19%) ayant un rapport situé entre 2 et 3, quatre souches (13%) avec un rapport établi entre 3 et 4 et pour finir six souches (19%) présentant un rapport de CMI supérieur à 4. L'écart le plus conséquent étant constaté pour une souche dont la CMI évoluait de 0,004 à 0,047mg/L entre les deux inocula.



Figure 34 : Photos de CMI à l'ertapénème (souche Valenciennes9) obtenue à partir de l'inoculum faible (à gauche) et l'inoculum fort (à droite).

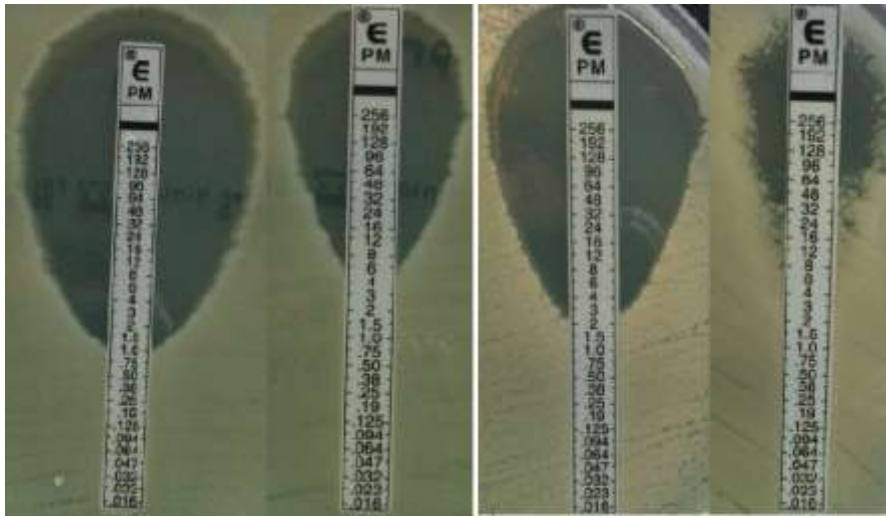


Figure 35 : Photos de CMI au céfépime obtenues à partir de l'inoculum faible et l'inoculum fort pour les souches Lille22 (à gauche) et Lille27 (à droite).

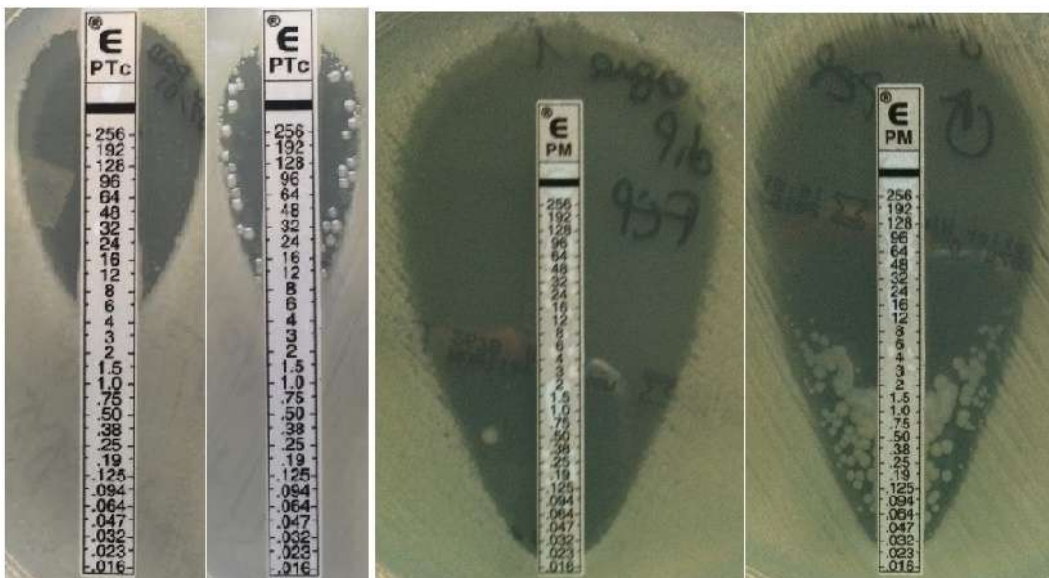


Figure 36 : Photos de CMI à partir de l'inoculum faible et l'inoculum fort, pour la souche Dunkerque7 et la tazocilline (à gauche) pour la souche Boulogne1 et le céfépime (à droite).

Les photos ci-dessus permettent de visualiser que l'augmentation de la valeur des CMI entre les deux inocula n'est pas homogène. Ainsi, l'utilisation d'un inoculum fort permettait de mettre en évidence des sous-populations plus résistantes.

➤ Bilan

Nous avons constaté que la tazocilline, la ceftazidime et l'imipénème apparaissent peu impactés par le phénomène d'effet inoculum en dehors de quelques exceptions. Au contraire, le céfépime et l'ertapénème semblent particulièrement touchés par ce phénomène. En effet, environ la moitié des souches testées montraient des CMI multipliées plus de deux fois entre les inocula. D'ailleurs, un quart des souches testées au céfépime et un cinquième de celles testées à l'ertapénème révélaient des CMI multipliées par plus de 4 entre les deux inocula. Cependant, les situations de ces deux molécules sont très différentes. Les CMI au céfépime étant déjà élevées initialement, l'utilisation d'un inoculum fort entraîne une modification de la catégorisation, des souches concernées, de « sensible », en « intermédiaire » voire « résistante ». Alors que pour l'ertapénème l'impact est bien moindre. En effet, les CMI à l'ertapénème étant initialement très faibles, leurs augmentations n'entraînent aucun changement de catégorisation de la sensibilité des souches bactériennes testées.

DISCUSSION

I. CARACTERISTIQUES DES BACTERIEMIES

Dans notre étude, un décès a été observé à J10 dans 20 cas sur les 182 inclus, soit 11%. La proportion de sepsis sévères était de 24% et les infections d'origines nosocomiales représentaient 42%. Nous avons constaté que la mortalité était significativement différente en fonction du point de départ de l'infection et de la sévérité du sepsis. Par contre l'origine nosocomiale ou communautaire de l'infection n'entraînait pas de différence significative au niveau de la mortalité à J10.

Au sein de la littérature, différentes études décrivent les bactériémies à *E.coli*. Par exemple, Ortega et al.(95) ont colligé 4758 cas de bactériémies à *E.coli* entre 1991 et 2007, en Espagne. Dans cette étude, 4% des souches étaient productrices de BLSE dont 84% ont été isolées après 2001. Le taux de mortalité globale était de 9%, la proportion de sepsis sévères était de 14% et les infections d'origines nosocomiales représentaient 29%. Ils retrouvaient une augmentation significative de la mortalité dans le cas des sepsis sévères et des infections à point de départ pulmonaire.

D'autre part, Kang et al.(96) se sont intéressés à 67 cas de bactériémies à *E.coli* BLSE et 66 cas de *K.pneumoniae* BLSE, entre 1998 et 2002, en Corée. Le taux de mortalité globale à J30 était de 26%, la proportion de sepsis sévères était de 23% et les infections d'origines nosocomiales représentaient 79%. Ils retrouvaient une augmentation significative de la mortalité dans le cas des sepsis sévères et des infections avec péritonite. Par contre l'origine nosocomiale ou communautaire de l'infection n'entraînait pas de différence significative au niveau de la mortalité à J30.

En outre, Frakking et al.(97) ont rapporté 232 cas de bactériémies à *E.coli*, *K.pneumoniae* et *Enterobacter cloacae* BLSE, entre 2008 et 2010, aux Pays-Bas. . Le taux de mortalité globale à J30 était de 20% et les infections d'origines nosocomiales représentaient 60%. Une augmentation significative de la mortalité à J30 était constatée dans le cas des sepsis sévères et des infections ayant un point de départ autre qu'urinaire.

Nous observons une grande disparité selon les études, en ce qui concerne la proportion d'infections d'origine nosocomiale. La faible part de celles-ci dans l'étude d'Ortega et al. s'explique par l'inclusion en grande majorité de bactériémies à *E.coli* non producteur de BLSE. La différence de mortalité est quant à elle probablement liée à une dissemblance de recrutement. En effet, dans notre travail les infections

d'origine urinaire représentent 62%, dans les études d'Ortega et al., de Kang et al. et de Frakking et al. elles correspondent respectivement à 55%, 10% et 42% des effectifs. D'autant que ces différents travaux s'accordent sur le fait que les bactériémies d'origine non urinaire seraient liées à une mortalité plus importante, ce qui serait également le cas des sepsis sévères

II. SENSIBILITE DES MOLECULES TESTEES

La proportion de souches, initialement rendues « sensibles » par les laboratoires participants à l'enquête régionale qui avaient suivi les recommandations du CASFM 2013(93), étaient de 76,4% pour la tazocilline, 2,8% pour le céfotaxime, 28,6% pour la ceftazidime, 22,2% pour le céfépime et de 100% pour l'imipénème et l'ertapénème. Après avoir testés les CMI, selon les recommandations de l'EUCAST 2014(94), sur les souches sélectionnées, les proportions de souches sensibles se trouvaient abaissées à 1,6% pour le céfotaxime, 11,% pour la ceftazidime et 6% pour le céfépime, tandis que les résultats n'étaient pas modifiés pour la tazocilline, l'imipénème et l'ertapénème.

Dans leur étude, Bert et al.(74) ont notamment travaillé sur 215 d'*E.coli* BLSE, isolés de prélèvements cliniques ou de dépistages rectaux, entre novembre 2011 et août 2012, à l'hôpital Beaujon. Le référentiel qu'ils ont utilisé est le CASFM 2011, qui ne diffère pas, de celui de 2013, en ce qui concerne les *Enterobacteriaceae* pour les molécules qui nous intéressent. Les proportions des souches sensibles étaient assez comparables à celles que nous avons retrouvées, soit 2,8% pour le céfotaxime, 21,8% pour la ceftazidime et 16,7% pour le céfépime.

Quant à Fournier et al.(57), ils ont travaillé sur 100 souches d'*E.coli* BLSE, isolés de prélèvements urinaires, entre juin 2009 et septembre 2010, au CHU de Besançon. Le référentiel qu'ils ont utilisé est l'EUCAST 2012(98), qui ne diffère pas, de celui de 2014, en ce qui concerne les *Enterobacteriaceae*, pour les molécules qui nous intéressent. Les proportions des souches sensibles étaient plus conséquentes que celles, que nous avons retrouvées, soit 80% pour la tazocilline, 8% pour le céfotaxime, 27% pour la ceftazidime, 23% pour le céfépime et de 100% pour l'imipénème et l'ertapénème.

III. DIFFERENCE ENTRE RESULTATS OBTENUS AVEC CAFSM 2013 ET EUCAST 2014

Concernant la méthode par diffusion, les différences entre le CASFM 2013 et l'EUCAST 2014 sont des modifications de la charge en antibiotique de certains disques (tazocilline, céfotaxime et ceftazidime), une légère variation des valeurs seuil des diamètres d'inhibition (tazocilline, céfotaxime, ceftazidime, imipénème et ertapénème) et surtout une augmentation de l'inoculum bactérien utilisé pour l'ensemencement des géloses. Ainsi, l'inoculum bactérien recommandé par le CASFM 2013 pour les *Enterobacteriaceae* était de 10^7 UFC/mL tandis qu'il est de 10^8 UFC/mL pour l'EUCAST 2014. Les variations des charges en antibiotique des disques ainsi que des diamètres d'inhibition sont à la baisse, par conséquent, elles ne peuvent pas expliquer la diminution notable de la proportion de souches catégorisées « sensibles » en utilisant les recommandations de l'EUCAST 2014. L'augmentation d'un facteur dix de l'inoculum bactérien pourrait permettre de mettre en évidence des sous-populations plus résistantes. D'ailleurs, lorsque nous avons fait varier l'inoculum bactérien, afin de mettre en évidence un effet inoculum, nous avons constaté que pour certaines souches, l'augmentation de la résistance était visuellement hétérogène suggérant ainsi la présence d'une sous-population bactérienne plus résistante (cf figures 34, 35 et 36).

Molécules	Concentration critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)	
	S≤	>R		S≥	R<
Pipéracilline/tazobactam	8	16	75/10	21	17
EUCAST 2014			30/6	20	
Céfotaxime	1	2	30	26	23
EUCAST 2014			5	20	17
Ceftazidime	1	4	30	26	21
EUCAST 2014			10	22	19
Céfépime	1	4	30	24	21
EUCAST 2014					
Imipénème	2	8	10	24	17
EUCAST 2014				22	16
Ertapénème	0,5	1	10	28	26
EUCAST 2014				25	22

Tableau 22 : Valeurs de concentrations critiques, charge en antibiotique des disques et diamètres critiques pour les *Enterobacteriaceae* indiquées par le CAFSM 2013 et changements apportés par l'EUCAST 2014 (**en gras**).

D'autre part, nous constatons qu'un nombre non négligeable de souches ont des CMI à la ceftazidime et au céfépime, situées au voisinage du seuil critique de sensibilité. Ceci montre l'importance de la recommandation du CASFM, reprise par

l'EUCAST, qui exhorte à déterminer précisément la CMI des céphalosporines détectées « sensible » sur l'antibiogramme, si celles-ci sont envisagées en thérapeutique. En 2012, lors de la quatrième enquête sur la prescription des antibiotiques (SPA-4), effectuée par la SPILF et l'ONERBA, une des questions concernée les nouvelles recommandations du CASFM 2011, relatives aux EBLSE. « Une CMI de la (des) C3G rendue(s) sensible(s) est-elle systématiquement déterminée pour les souches d'entérobactéries productrices de BLSE (pour les infections sévères) ? ». Pour cette question, 38,7% des participants avaient répondu négativement. Ainsi, la différence du taux de sensibilité entre les résultats transmis par les laboratoires participants et ceux obtenus par détermination de la CMI selon les recommandations de l'EUCAST 2014, pourrait en partie s'expliquer par le fait que les CMI ne soient pas réalisées systématiquement.

IV. EFFET INOCULUM

Lors de notre travail, nous avons constaté que les molécules les plus affectées par l'effet inoculum sont en premier lieu le céfépime, puis dans une moindre mesure la ceftazidime et que ce phénomène entraîne une modification notable de la sensibilité à ces molécules. Ces résultats sont en accord avec les données issues de l'analyse de la littérature quoique la tazocilline soit souvent associée à un effet inoculum, ce que nous ne décelons que très peu dans notre étude.

Concernant l'ertapénème, nous avons fréquemment mis en évidence le phénomène d'effet inoculum, cependant les CMI ayant des valeurs très basses pour les souches testées leur sensibilité à cet antibiotique n'en était pas affectée. Les points de comparaison dans la littérature sont rares, en effet les carbapénèmes habituellement testés dans les études sont l'imipénème et le méropénème qui semblent très peu touchés par le phénomène d'effet inoculum ce que nous retrouvons dans notre cas pour l'imipénème.

Nous pouvons émettre l'hypothèse que l'importance du phénomène d'effet inoculum varie en fonction de la nature de l'enzyme produite par la bactérie. Ceci pourrait expliquer les différences de résultats entre les différentes études, notamment pour la tazocilline. Ainsi, Thomson et al.(87) détectaient un effet inoculum concernant la tazocilline avec les souches bactériennes produisant une BLSE de type SHV et avec certains types de TEM. De plus, Lopez-Cerero et al.(88) retrouvaient un effet inoculum important pour la tazocilline, dans leur étude qui portait

sur 15 souches bactériennes, cinq TEM, cinq SHV et cinq CTX-M dont trois CTX-M 14. En outre, Wu et al. (89) qui n'ont utilisé que des CTX-M (dont 44 CTX-M-14 et 8 CTX-M-15), rapportaient un effet inoculum avec la tazocilline peu fréquent et uniquement avec les enzymes de type CTX-M-14, d'ailleurs ils mentionnaient plus fréquemment un effet inoculum avec la céftazidime et là encore uniquement avec les enzymes CTX-M-14. Cependant Kang et al.(90) qui ont travaillé sur des CTX-M-14 et des CTX-M-15 mettaient en évidence ce phénomène de façon constante pour la tazocilline, le céfotaxime, la céftazidime et le céfépime quel que soit le type d'enzyme. Par ailleurs, il faut noter que l'identification du type est actuellement inenvisageable dans une pratique de routine.

Quant au retentissement en clinique de l'effet inoculum mis en évidence in vitro, la réponse n'est pas tranchée. Bien qu'il semble logique que l'augmentation de la quantité de bactéries entraîne une augmentation de la quantité produite d'enzymes β -lactamases, Gauvin et al.(86) réfutaient cet argument en mettant en évidence l'absence d'effet inoculum avec l'association amoxicilline-acide clavulanique. Le principe de précaution reste de mise dans les infections sévères présentant un lourd inoculum bactérien. La prise en compte des facteurs de pharmacocinétique et de pharmacodynamie est nécessaire et l'élément important serait le rapport de concentration en antibiotique sur la CMI au niveau du site infecté.

CONCLUSION ET PERSPECTIVES

Au cours de ce travail, nous avons constaté que certains facteurs, comme la sévérité du sepsis et le point de départ de l'infection, influencent la mortalité lors des bactériémies à *E.coli* BLSE. Dans le contexte mondial actuel, les infections profondes à entérobactéries productrices de BLSE deviennent de plus en plus fréquentes, cependant la diffusion alarmante des carbapénèmases rend nécessaire la recherche d'alternatives aux carbapénèmes afin d'épargner ceux-ci. Toutefois, les résultats de l'antibiogramme sont à utiliser avec précaution pour le choix du traitement des infections profondes à EBLSE. En effet, l'antibiogramme présente certaines limites. La mesure précise de la sensibilité de la bactérie à la molécule antibiotique par la détermination de la CMI peut s'avérer impérative. Ceci permet de vérifier que les objectifs préconisés en matière de pharmacocinétique peuvent être respectés. De plus, nous avons mis en évidence *in vitro* un phénomène d'effet inoculum pour certaines molécules, ce qui entraîne une moindre sensibilité des bactéries. Sa répercussion en clinique reste controversée mais doit être pris en considération dans les cas d'infections présentant un inoculum bactérien important.

Au vu de l'évolution des résistances bactériennes et du manque d'innovation en matière d'antibiotiques. La sauvegarde des antibiotiques passe par un usage raisonné des molécules classiquement utilisées, une exploitation nouvelle de molécules anciennement délaissées, une innovation en termes d'association et un perfectionnement au niveau de la prévention de la transmission des bactéries multi-résistantes.

Parallèlement à la détérioration de l'efficacité des antibiotiques, en matière de lutte anti-infectieuse, d'autres domaines tels que la vaccination, la phagothérapie, l'utilisation de peptides antibactériens ou d'inhibiteurs de virulence sont en plein essor.

La connaissance des mécanismes moléculaires de la pathogénie bactérienne a permis d'identifier de nouvelles cibles thérapeutiques et de développer de nouvelles stratégies visant à bloquer les facteurs de virulence bactériens. Ces stratégies se basent sur la recherche de molécules capables d'inhiber les toxines et les adhésines bactériennes et d'interférer avec le système de régulation de la transcription des gènes de virulence.

Les peptides antibactériens regroupent un vaste ensemble de molécules diverses et variées qui sont produites par de nombreux types cellulaires et peuvent être isolés de divers organismes incluant les animaux vertébrés ou invertébrés, les plantes mais aussi les bactéries et les champignons.

La phagothérapie est l'utilisation thérapeutique de bactériophages qui sont des virus n'infectant que les bactéries. Ils ont été découverts en 1915 et utilisés avant l'avènement des antibiotiques. A présent, seuls certains pays de l'Est notamment la Géorgie continuent à les employer et les commercialiser. A l'heure où les limites des antibiotiques apparaissent clairement, de plus en plus de professionnels commencent à s'intéresser, à cette pratique et à étudier son potentiel développement.

La vaccination constitue un des moyens de lutte anti-infectieuse les plus efficaces et a une place privilégiée parmi les mesures sanitaires prophylactiques. Les avancées technologiques récentes et les nouvelles connaissances en immunologie favorisent le développement d'un éventail de stratégies vaccinales innovantes et d'avenir prometteur. En effet, la richesse et la diversité des approches vaccinales modernes permettent dès à présent ou dans un futur proche, à l'industrie pharmaceutique de proposer des vaccins à ADN, des vaccins vécourisés, des souches virales atténuées produites par mutagénèse dirigée ou encore des vaccins chimère.

BIBLIOGRAPHIE

1. The bacterial challenge: time to react. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and control and European Medicines Agency; 2009 sept p. 13.
2. Mainil J. Facteurs de virulence et propriétés spécifiques des souches invasives d'*Escherichia coli*: I) les adhésines et facteurs de colonisation. *Ann Med Vet.* 2003;147:105- 26.
3. enterobacteries [Internet]. Disponible sur: <http://anne.decoستر.free.fr/bgn/enterob.htm>
4. FMPMC-PS - Bactériologie - Niveau DCEM1 [Internet]. Disponible sur: <http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.1.2.5.html>
5. Kern-Benaibout E. *Escherichia coli* potentiellement pathogènes pour l'Homme: synthèse bibliographique sur le portage par les animaux domestiques et la transmission à l'Homme par la contamination de l'environnement. [Toulouse]: Paul-Sabatier de Toulouse; 2006.
6. Blake A. DRUTI (Drug Resistance in community Urinary Tract Infections): résistance aux antibiotiques des infections urinaires communautaires, France, 2012. RICA; 2013 nov.
7. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissement de santé. France: InVS, RAISIN, CCLIN-ARLIN; 2012 juin.
8. Bonnet R. Béta-lactamines et entérobactéries. In: *Antibiogramme*. 3ème éd. ESKA; 2012. p. 165- 88.
9. RESISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES [Internet]. Disponible sur: <http://anne.decoستر.free.fr/atb/resab.htm>
10. Robin F, Gibold L, Bonnet R. Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries: comment les identifier en pratique quotidienne? *RFL*. oct 2012;42(445):47- 58.
11. Bétalactamines - EM|Premium [Internet]. Disponible sur: <http://www.em-premium.com.doc-distant.univ-lille2.fr/article/26380/resultatrecherche/7>
12. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.* 16 mai 1980;289(1036):321- 31.
13. Bush K, Jacoby G, Medeiros A. A Functional Classification Scheme for Beta-Lactamases and Its Correlation with Molecular Structure. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 1995;39(6):1211- 33.
14. Livermore DM. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev.* 1995;8(4):557- 84.
15. BOUTET-DUBOIS A, PANTEL A, SOTTO A, LAVIGNE J-P. Les entérobactéries productrices de carbapénémases. *Alinas Synthèse* [Internet]. avr 2012 [cité 27

16. Gupta N, Limbago BM, Patel JB, Kallen AJ. Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: Epidemiology and Prevention. *Clin Infect Dis*. 1 juill 2011;53(1):60-7.
17. Nordmann P, Naas T, Poirel L. Global Spread of Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis*. oct 2011;17(10):1791-8.
18. Bradford PA. Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat. *Clin Microbiol Rev*. 1 oct 2001;14(4):933-51.
19. Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B. Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother*. 1985;28(2):302-7.
20. Sougakoff W, Goussard S, Gerbaud G, Courvalin P. Plasmid-mediated resistance to third-generation cephalosporins caused by point mutations in TEM-type penicillinase genes. *Rev Infect Dis*. août 1988;10(4):879-84.
21. Gniadkowski M. Evolution of extended-spectrum β -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(s1):11-32.
22. Prinarakis EE, Miriagou V, Tzelepi E, Gazouli M, Tzouveleki LS. Emergence of an inhibitor-resistant beta-lactamase (SHV-10) derived from an SHV-5 variant. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997;41(4):838-40.
23. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update. *Clin Microbiol Rev*. 1 oct 2005;18(4):657-86.
24. Jacoby G, Munoz-Price L. The New β -Lactamases. *N Engl J Med*. 27 janv 2005;352(4):380-91.
25. Matsumoto Y, Ikeda F, Kamimura T, Yokota Y, Mine Y. Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother*. 1988;32(8):1243-6.
26. Bonnet R. Growing Group of Extended-Spectrum β -Lactamases: the CTX-M Enzymes. *Antimicrob Agents Chemother*. 1 janv 2004;48(1):1-14.
27. Cantón R, Coque TM. The CTX-M β -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol*. oct 2006;9(5):466-75.
28. Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, et al. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother*. 13 nov 2006;59(2):165-74.
29. Livermore DM. Defining an extended-spectrum β -lactamase. *Clin Microbiol Infect*. 2008;14(s1):3-10.
30. Huletsky A, Knox JR, Levesque RC. Role of Ser-238 and Lys-240 in the hydrolysis of third-generation cephalosporins by SHV-type beta-lactamases

- probed by site-directed mutagenesis and three-dimensional modeling. *J Biol Chem.* 1993;268(5):3690-7.
31. Rossolini GM, D'andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(s1):33-41.
 32. Poirel L, Kampfer P, Nordmann P. Chromosome-Encoded Ambler Class A -Lactamase of *Kluyvera georgiana*, a Probable Progenitor of a Subgroup of CTX-M Extended-Spectrum -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 déc 2002;46(12):4038-40.
 33. Humeniuk C, Arlet G, Gautier V, Grimont P, Labia R, Philippon A. -Lactamases of *Kluyvera ascorbata*, Probable Progenitors of Some Plasmid-Encoded CTX-M Types. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 sept 2002;46(9):3045-9.
 34. Decousser JW, Poirel L, Nordmann P. Characterization of a Chromosomally Encoded Extended-Spectrum Class A beta -Lactamase from *Kluyvera cryocrescens*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 déc 2001;45(12):3595-8.
 35. Olson AB, Silverman M, Boyd DA, McGeer A, Willey BM, Pong-Porter V, et al. Identification of a Progenitor of the CTX-M-9 Group of Extended-Spectrum -Lactamases from *Kluyvera georgiana* Isolated in Guyana. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 mai 2005;49(5):2112-5.
 36. Hawkey PM, Jones AM. The changing epidemiology of resistance. *J Antimicrob Chemother.* 1 sept 2009;64(Supplement 1):i3-10.
 37. Elliott E, Brink AJ, van Greune J, Els Z, Woodford N, Turton J, et al. In vivo development of ertapenem resistance in a patient with pneumonia caused by *Klebsiella pneumoniae* with an extended-spectrum β -lactamase. *Clin Infect Dis.* 2006;42(11):e95-8.
 38. Naas T, Poirel L, Nordmann P. Minor extended-spectrum β -lactamases. *Clin Microbiol Infect.* 2008;14(s1):42-52.
 39. Cattoir V. Les nouvelles beta-lactamases a spectre étendu (BLSE). *Mise Au Point en Anesthésie Réanimation*; 2008.
 40. Marcade G, Deschamps C, Boyd A, Gautier V, Picard B, Branger C, et al. Replicon typing of plasmids in *Escherichia coli* producing extended-spectrum -lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 18 oct 2008;63(1):67-71.
 41. Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). European Centre for Disease Prevention and control; 2013.
 42. Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France. Réseau BMR-Raisin; 2012.
 43. Thibaut S, Marquet A, Huon J-F, Grandjean G, Caillon J, Ballereau F. P-13: Surveillance des souches d'*Escherichia coli* productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées en milieu communautaire de 2008 à 2013. *Médecine Mal Infect.* 2014;44(6):85.

44. Caillon J, Gueudet T, Mérens A. Enquête transville 2012 ONERBA. RICAI; 2013 nov; Paris.
45. Fabre R, Mérens A, Lefebvre F, Epifanoff G, Cerutti F, Pupin H, et al. Sensibilité aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires. *Médecine Mal Infect.* oct 2010;40(10):555- 9.
46. de Mouy D, Fabre R, Cavallo J-D. Infections urinaires communautaires de la femme de 15 à 65 ans: sensibilité aux antibiotiques de *E. coli* en fonction des antécédents: étude AFORCOPI-BIO 2003. *Médecine Mal Infect.* sept 2007;37(9):594- 8.
47. Arpin C, Quentin C, Grobost F, Cambau E, Robert J, Dubois V, et al. Nationwide survey of extended-spectrum -lactamase-producing Enterobacteriaceae in the French community setting. *J Antimicrob Chemother.* 1 juin 2009;63(6):1205- 14.
48. Cattoen C. Suivi épidémiologique d'*E.coli* producteur de BLSE dans les hôpitaux du Nord-Pas de Calais. 2015 févr 19.
49. Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Romero L, Martinez-Martinez L, Muniain MA, Perea EJ, et al. Epidemiology and Clinical Features of Infections Caused by Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli* in Nonhospitalized Patients. *J Clin Microbiol.* 1 mars 2004;42(3):1089- 94.
50. Pitout JDD. Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum -lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother.* 7 juin 2005;56(1):52- 9.
51. Nicolas-Chanoine M-H, Gruson C, Bialek-Davenet S, Bertrand X, Thomas-Jean F, Bert F, et al. 10-Fold increase (2006-11) in the rate of healthy subjects with extended-spectrum -lactamase-producing *Escherichia coli* faecal carriage in a Parisian check-up centre. *J Antimicrob Chemother.* 1 mars 2013;68(3):562- 8.
52. Dortet L, Cuzon G, Nordmann P. Dissemination of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in France, 2012. *J Antimicrob Chemother.* 1 mars 2014;69(3):623- 7.
53. Episodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénémases en France. Situation épidémiologique du 4 mars 2015. Institut de Veille Sanitaire; 2015.
54. Recommandations pour la prévention de la transmission croisée des « Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes » (BHRé). Haut Conseil de la Santé Publique; 2013 juill.
55. Henard S. Prise en charge des infections à entérobactéries sécrétant des BLSE. 8 ème Journée des Référents en Antibiothérapie; 2013 juin 12; Clermont-Ferrand.
56. L'évolution des consommations d'antibiotiques en France entre 2000 et 2013. Agence nationale de sécurité du médicament et des produits de santé; 2014 nov.

57. Fournier D, Chirouze C, Leroy J, Cholley P, Talon D, Plésiat P, et al. Alternatives to carbapenems in ESBL-producing *Escherichia coli* infections. *Médecine Mal Infect.* févr 2013;43(2):62- 6.
58. Graninger W. Pivmecillinam-therapy of choice for lower urinary tract infection. *Int J Antimicrob Agents.* oct 2003;22:73- 8.
59. Titelman E, Iversen A, Kalin M, Giske C. Efficacy of pivmecillinam for treatment of lower urinary tract infection caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Drug Resist.* avr 2012;18(2):189- 92.
60. Chen Y-H, Lu P-L, Huang C-H, Liao C-H, Lu C-T, Chuang Y-C, et al. Trends in the Susceptibility of Clinically Important Resistant Bacteria to Tigecycline: Results from the Tigecycline In Vitro Surveillance in Taiwan Study, 2006 to 2010. *Antimicrob Agents Chemother.* 1 mars 2012;56(3):1452- 7.
61. Drug Safety and Availability > FDA Drug Safety Communication: Increased risk of death with Tygacil (tigecycline) compared to other antibiotics used to treat similar infections [Internet]. [cité 24 juin 2015]. Disponible sur: <http://www.fda.gov/Drugs/DrugSafety/ucm224370.htm>
62. Falagas M. Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systema... - PubMed - NCBI [Internet]. 2010. Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed?term=Fosfomycin%20%20for%20%20the%20%20treatment%20%20of%20%20multidrug-resistant%2C%20%20including%20extended-spectrum%20beta-lactamase%20producing%2C%20Enterobacteriaceae%20infections%20%3A%20a%20systematic%20review%5BTtitle%5D>
63. Rodríguez-Baño J, Alcalá JC, Cisneros J., Grill F, Oliver A, Horcajada JP. Community Infections Caused by Extended-Spectrum β -Lactamase–Producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med.* 22 sept 2008;168(7):1897- 902.
64. Oteo J, Orden B, Bautista V, Cuevas O, Arroyo M, Martínez-Ruiz R, et al. CTX-M-15-producing urinary *Escherichia coli* O25b-ST131-phylogroup B2 has acquired resistance to fosfomycin. *J Antimicrob Chemother.* 1 oct 2009;64(4):712- 7.
65. Rodríguez-Bano J, Navarro MD, Retamar P, Picon E, Pascual A, the Extended-Spectrum Beta-Lactamases-Red Espanola de Investigacion en Patologia Infecciosa/Grupo de Estudio de Infeccion Hospitalaria Group. Beta-Lactam/beta-Lactam Inhibitor Combinations for the Treatment of Bacteremia Due to Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing *Escherichia coli*: A Post Hoc Analysis of Prospective Cohorts. *Clin Infect Dis.* 15 janv 2012;54(2):167- 74.
66. Vardakas KZ, Tansarli GS, Rafailidis PI, Falagas ME. Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bacteraemia due to Enterobacteriaceae producing extended-spectrum -lactamases: a systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother.* 1 déc 2012;67(12):2793- 803.

67. Cohen R, Raymond J, Faye A, Gillet Y, Grimprel E. Prise en charge des infections urinaires de l'enfant. Recommandations du groupe de pathologie infectieuse pédiatrique de la Société française de pédiatrie et de la Société de pathologie infectieuse de langue française. *Arch Pédiatrie*. 2015;22(6):665-71.
68. Lepeule R, Ruppe E, Le P, Massias L, Chau F, Nucci A, et al. Cefoxitin as an Alternative to Carbapenems in a Murine Model of Urinary Tract Infection Due to *Escherichia coli* Harboring CTX-M-15-Type Extended-Spectrum β -Lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 1 mars 2012;56(3):1376-81.
69. Lee C-H, Su L-H, Tang Y-F, Liu J-W. Treatment of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia with carbapenems or flomoxef: a retrospective study and laboratory analysis of the isolates. *J Antimicrob Chemother*. 6 sept 2006;58(5):1074-7.
70. Boyer M, Bignon A, Dessein R, Faure K, Guery B, Kipnis E. Céfoxitine et BLSE. *Médecine Mal Infect*. mars 2012;42(3):126-8.
71. Moritz V, Carson P. Cefoxitin sensitivity as a marker for inducible beta-lactamases. *J Med Microbiol*. mai 1986;21(3):203-7.
72. Pangon B, Bizet C, Pichon F, Philippon A, Regnier B, Gutmann L. In vivo selection of a cephamycin-resistant, porin-deficient mutant of *Klebsiella pneumoniae* producing a TEM-3 beta-lactamase. *J Infect Dis*. mai 1989;159(5):1005-6.
73. Dworzack D, Pugsley M, Sanders C, Horowitz E. Emergence of resistance in gram-negative bacteria during therapy with expanded-spectrum cephalosporins. *Eur J Clin Microbiol*. août 1987;6(4):456-9.
74. Bert F, Bialek-Davenet S, Leflon-Guibout V, Noussair L, Nicolas-Chanoine M-H. Frequency and epidemiology of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae isolates susceptible to third-generation cephalosporins or to aztreonam. *Médecine Mal Infect*. févr 2014;44(2):76-8.
75. Paterson DL, Ko W-C, Von Gottberg A, Casellas JM, Mulazimoglu L, Klugman KP, et al. Outcome of Cephalosporin Treatment for Serious Infections Due to Apparently Susceptible Organisms Producing Extended-Spectrum β -Lactamases: Implications for the Clinical Microbiology Laboratory. *J Clin Microbiol*. 1 juin 2001;39(6):2206-12.
76. Ramphal R, Ambrose PG. Extended-spectrum β -lactamases and clinical outcomes: current data. *Clin Infect Dis*. 2006;42(Supplement 4):S164-72.
77. Lee N-Y, Lee C-C, Huang W-H, Tsui K-C, Hsueh P-R, Ko W-C. Cefepime Therapy for Monomicrobial Bacteremia Caused by Cefepime-Susceptible Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae: MIC Matters. *Clin Infect Dis*. 15 févr 2013;56(4):488-95.
78. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2011.
79. Bin C, Hui W, Renyuan Z, Yongzhong N, Xiuli X, Yingchun X, et al. Outcome of cephalosporin treatment of bacteremia due to CTX-M-type extended-spectrum

- β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. déc 2006;56(4):351-7.
80. Soubirou J. Témocilline, une alternative aux carbapénèmes pour traiter les infections à entérobactéries résistantes aux CG? *J Anti-Infect*. 2013;15:60-70.
 81. Balakrishnan I, Awad-El-Kariem FM, Aali A, Kumari P, Mulla R, Tan B, et al. Temocillin use in England: clinical and microbiological efficacies in infections caused by extended-spectrum and/or derepressed AmpC -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 1 nov 2011;66(11):2628-31.
 82. AstraZeneca. Résultats de phase III positifs pour deux antibiotiques, ZinforoTM et l'expérimental Ceftazidime-Avibactam, présentés à l'occasion d'une conférence de premier plan sur les maladies infectieuses. In Copenhague; 2015.
 83. Misset B. Stratégies de réduction de l'utilisation des antibiotiques à visée curative en réanimation (adulte et pédiatrique). Disponible sur: http://www.srlf.org/rc/org/srlf/htm/Article/2015/20150410-182723-613/src/htm_fullText/fr/2014_RFE_Antibiotiques_Rea.pdf
 84. Mohr JF, Wanger A, Rex JH. Pharmacokinetic/pharmacodynamic modeling can help guide targeted antimicrobial therapy for nosocomial gram-negative infections in critically ill patients. *Diagn Microbiol Infect Dis*. févr 2004;48(2):125-30.
 85. Retamar P, Lopez-Cerero L, Muniain MA, Pascual A, Rodriguez-Bano J, the ESBL-REIPI/GEIH Group. Impact of the MIC of Piperacillin-Tazobactam on the Outcome of Patients with Bacteremia Due to Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1 juill 2013;57(7):3402-4.
 86. Gavin PJ, Suseno MT, Thomson RB, Gaydos JM, Pierson CL, Halstead DC, et al. Clinical Correlation of the CLSI Susceptibility Breakpoint for Piperacillin-Tazobactam against Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella* Species. *Antimicrob Agents Chemother*. 1 juin 2006;50(6):2244-7.
 87. Thomson KS, Moland ES. Cefepime, Piperacillin-Tazobactam, and the Inoculum Effect in Tests with Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother*. 1 déc 2001;45(12):3548-54.
 88. López-Cerero L, Picón E, Morillo C, Hernández JR, Docobo F, Pachón J, et al. Comparative assessment of inoculum effects on the antimicrobial activity of amoxicillin-clavulanate and piperacillin-tazobactam with extended-spectrum β -lactamase-producing and extended-spectrum β -lactamase-non-producing *Escherichia coli* isolates. *Clin Microbiol Infect*. févr 2010;16(2):132-6.
 89. Wu N, Chen B, Tian S, Chu Y. The inoculum effect of antibiotics against CTX-M-extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2014;13:45-52.
 90. Kang C-I, Cha MK, Kim SH, Wi YM, Chung DR, Peck KR, et al. Extended-spectrum cephalosporins and the inoculum effect in tests with CTX-M-type

extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*: Potential clinical implications of the revised CLSI interpretive criteria. *Int J Antimicrob Agents*. mai 2014;43(5):456-9.

91. Craig WA, Bhavnani SM, Ambrose PG. The inoculum effect: Fact or artifact? *Diagn Microbiol Infect Dis*. déc 2004;50(4):229-30.
92. Docobo-Perez F, Lopez-Cerero L, Lopez-Rojas R, Egea P, Dominguez-Herrera J, Rodriguez-Bano J, et al. Inoculum Effect on the Efficacies of Amoxicillin-Clavulanate, Piperacillin-Tazobactam, and Imipenem against Extended-Spectrum β -Lactamase (ESBL)-Producing and Non-ESBL-Producing *Escherichia coli* in an Experimental Murine Sepsis Model. *Antimicrob Agents Chemother*. 1 mai 2013;57(5):2109-13.
93. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. *Recommandations 2013*.
94. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters*. 2014.
95. Ortega M, Marco F, Soriano A, Almela M, Martinez JA, Munoz A, et al. Analysis of 4758 *Escherichia coli* bacteraemia episodes: predictive factors for isolation of an antibiotic-resistant strain and their impact on the outcome. *J Antimicrob Chemother*. 15 janv 2009;63(3):568-74.
96. Kang C-I, Kim S-H, Park WB, Lee K-D, Kim H-B, Kim E-C, et al. Bloodstream Infections Due to Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: Risk Factors for Mortality and Treatment Outcome, with Special Emphasis on Antimicrobial Therapy. *Antimicrob Agents Chemother*. 1 déc 2004;48(12):4574-81.
97. Frakking FNJ, Rottier WC, Dorigo-Zetsma JW, van Hattem JM, van Hees BC, Kluytmans JAJW, et al. Appropriateness of Empirical Treatment and Outcome in Bacteremia Caused by Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*. 1 juill 2013;57(7):3092-9.
98. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters*. 2012.

ANNEXE 1 : PROTOCOLE BACTERIEMIES DOCUMENTEES A ESCHERICHIA COLI BLSE

RESEAU DES MICROBIOLOGISTES DU NORD – PAS DE CALAIS

PROTOCOLE BACTERIEMIES DOCUMENTEES A ESCHERICHIA COLI BLSE – ANNEE 2013

PROTOCOLE ET GUIDE DE REMPLISSAGE

RATIONNEL :

La prévalence des patients infectés par une souche d'*E.coli* BLSE augmente d'année en année tant en milieu communautaire qu'en milieu hospitalier. A l'hôpital, les données du réseau des microbiologistes du Nord – Pas de Calais objectivent un taux de BLSE proche de 6% dans l'espèce *E.coli* en 2011, ce taux a été multiplié par quatre entre 2005 et 2010. Par ailleurs, la part des bactériémies documentées avec ce type de souche augmente de manière significative depuis quatre ans, ainsi en 2010, 135 épisodes bactériémiques ont été documentés par ce réseau.

OBJECTIFS :

Compte tenu de la documentation de plus en plus fréquente d'infections invasives dues à *E.coli* BLSE, un travail collaboratif est proposé aux microbiologistes volontaires du réseau des microbiologistes hospitaliers du Nord – Pas de Calais.

L'objectif est observationnel :

- Décrire les patients pour lesquels une bactériémie à *E.coli* BLSE a été documentée (âge, sexe, motif d'hospitalisation, facteurs de risques...)
- Décrire l'épisode bactériémique (origine communautaire ou nosocomiale, gravité, porte d'entrée).
- Décrire les souches responsables (sensibilité à 12 molécules)
- Décrire le traitement antibiotique mis en place initialement et après documentation ainsi que le devenir des patients à J10.

METHODE :

L'étude est prospective et basée sur le volontariat, elle se déroulera du 01-01 au 31-12-2013. Chaque microbiologiste qui documentera une bactériémie à *E.coli* BLSE ouvrira une fiche de recueil de données.

Les fiches anonymisées remplies seront transmises au fur et à mesure par mail à Christian CATTOEN (cattoen-c@ch-valenciennes.fr), elles seront ainsi saisies sur un logiciel et l'avancée du nombre d'inclusions pourra ainsi être suivie dans le temps.

Toutes les souches seront conservées en double en gélose conservation, un exemplaire sera conservé par chaque centre investigateur,

Compte-tenu des données antérieures du réseau, 100 dossiers exploitables sont attendus à l'issue de l'année 2013.

GUIDE DE REMPLISSAGE :

Inclusions :

Toutes les bactériémies à *E.coli* BLSE seront incluses, quelque soit le service d'hospitalisation et quelque soit le mode d'entrée du patient.

Les inclusions sont réalisées de manière prospective au fur et à mesure des documentations, les fiches sont incrémentées par centre à partir du numéro 1.

Données à recueillir : le microbiologiste recueillera les éléments d'information à l'occasion du contact téléphonique qui permet de communiquer les hémocultures positives au médecin en charge du patient. Un second contact sera nécessaire à J+10 pour connaître l'adaptation thérapeutique et le devenir du patient.

Données d'hospitalisation : Recueillir le motif d'hospitalisation et les éléments de pathologies sous-jacentes pertinents dans ce contexte (immunodépression, contexte chirurgical, diabète...), les renseigner en clair sur la fiche. Préciser le type de service d'hospitalisation lors du prélèvement (urgences, médecine, chirurgie, pédiatrie, onco-hématologie, réanimation, SSR-SLD).

Données relatives à la bactériémie : renseigner en clair les autres sites documentés avec la même souche et la porte d'entrée de la bactériémie (urinaire, pulmonaire, digestive, dispositif intra-vasculaire...). Le patient est-il en sepsis grave ou en état de choc au moment du prélèvement des hémocultures ? *La notion de sepsis grave sera laissée à l'appréciation du médecin contacté (la définition étant : sepsis + lactates > 4 mmol/l ou hypotension artérielle ou dysfonctionnement d'au moins un organe)*

Antibiogramme : renseigner (SIR) les 12 molécules de la fiche, si une molécule n'est pas testée, indiquer NT (non testé)

Antibiothérapie et devenir du patient : renseigner en clair les molécules administrées initialement, rappeler à J10 l'unité de soins pour renseigner la réadaptation antibiotique après documentation et l'évolution du patient (préciser : évolution favorable, patient sorti, persistance d'un syndrome infectieux, patient décédé de sa bactériémie, patient décédé pour une autre cause...)

Souches : Elles seront regroupées pour une collecte globalisée en fin de protocole.

EXPLOITATION DES RESULTATS :

Les résultats seront exploités globalement à l'issue de la période d'enquête d'une année, 100 dossiers exploitables sont attendus. Une restitution sera effectuée auprès des microbiologistes du réseau.

Les résultats resteront la priorité du réseau des microbiologistes et feront l'objet de communication (JNI, RICAI) et de publication au nom du réseau et en citant l'ensemble des participants.

Les souches sont conservées pour d'éventuels travaux complémentaires (thèse...) menés après accord des membres participants.

ANNEXE 2 : FICHE DE RECUEIL DES DONNEES DE L'ENQUETE.

RESEAU DES MICROBIOLOGISTES DU NORD – PAS DE CALAIS

PROTOCOLE BACTERIEMIES DOCUMENTEES A ESCHERICHIA COLI BLSE – ANNEE 2013

FICHE DE RECUEIL DE DONNEES

Etablissement :

Fiche N°

DONNEES PATIENT

Initiales Nom / Prénom :

Sexe :

Date de naissance :

Provenance : Domicile

Institution

Autre établissement hospitalier

DONNEES HOSPITALISATION

Date d'entrée à l'hôpital :

Date d'entrée dans le service :

Service d'hospitalisation :
(O/N) :

Hospitalisations antérieures dans les 6 mois

Motif d'hospitalisation :

Pathologies sous-jacentes :

DONNES BACTERIEMIE :

Date de prélèvement des hémocultures:

Sepsis grave O/N :

Autre site documenté avec la même bactérie (si oui lequel) :

Point de départ de la bactériémie (porte d'entrée):

SOUCHE D'E.COLI BLSE (ANTIBIOGRAMME) : Répondre SIR :

Amoxicilline + ac clavulanique :

Ertapénème :

Piperacilline + tazobactam :

Imipénème :

Cefoxitine :

Gentamicine :

Cefotaxime :

Amikacine :

Ceftazidime :

Ac nalidixique :

Céfépime :

Ciprofloxacine :

ANTIBIOTHERAPIE MISE EN ŒUVRE ET DEVENIR DU PATIENT :

Antibiothérapie initiale (après le prélèvement) :

Antibiothérapie après réception de l'antibiogramme :

Devenir du patient à J10 :

Merci de conserver la souche en deux exemplaires en gélose conservation (Etiquette=établissement + numéro de fiche)

ANNEXE 3 : RESULTATS DES CMI EN MG/L OBTENUES POUR CHAQUE SOUCHE.

Souches	Tazo faible	Tazo standard	Tazo fort	CTX standard	CAZ faible	CAZ standard	CAZ fort	FEP faible	FEP standard	FEP fort	Imi faible	Imi standard	Imi fort	Erta faible	Erta standard	Erta fort
Valenciennes2		3						1	1	1,5		0,25			0,016	
Valenciennes9	4	4	4		1	1	1,5	6	6	96		0,19		0,047	0,19	0,5
Valenciennes16				0,003	0,125	0,19	0,19	0,032	0,032	0,047	0,19	0,25	0,38	0,008	0,012	0,023
Valenciennes18		3						0,094	0,094	0,094		0,25			0,006	
Lille1	2	2	2	0,25				0,25	0,25	0,38	0,25	0,25	0,25	0,008	0,032	0,047
Lille4		1,5				1,5						0,25			0,012	
Lille5		2				1,5						0,25			0,016	
Lille6		2				2						0,25			0,016	
Lille10	3	3	3		6	8	16	3	4	16	0,25	0,25	0,38	0,008	0,012	0,047
Lille15		3				1						0,25			0,012	
Lille20	6	8	12		1,5	2	2	1	1,5	3	0,25	0,38	0,38	0,006	0,006	0,023
Lille21		1,5				1						0,25			0,004	
Lille22								1	1,5	6	0,38	0,75	1,5	0,125	0,125	0,19
Lille23		1,5				0,75						0,25			0,008	
Lille26		2				1,5						0,25			0,008	
Lille27	0,5	0,5	0,5					3	3	64	0,19	0,19	0,25	0,006	0,006	0,008
Lille29		4				2						0,19			0,032	
Lille30		2				2						0,25			0,016	
Lille32		1,5				1						0,25			0,012	
Lille33	2	2	3					1	1,5	2	0,25	0,25	0,38	0,004	0,006	0,008
Tourcoing3	2	2	2		1	0,75	3	8	12	32	0,19	0,25	0,19	0,023	0,016	0,047
Tourcoing4	2	1,5	3		1	0,75	2	4	6	8	0,125	0,19	0,25	0,004	0,004	0,047
Tourcoing5	1,5	1,5	1,5		0,75	0,75	0,75				0,125	0,125	0,125	0,004	0,006	0,008
Tourcoing7	2	1,5	1,5		3	3	6				0,19	0,19	0,125	0,008	0,012	0,006

Souches	Tazo faibl e	Tazo standar d	Tazo fort	CTX standar d	CAZ faibl e	CAZ standar d	CAZ fort	FEP faibl e	FEP standar d	FEP fort	Imi faibl e	Imi standar d	Imi fort	Erta faibl e	Erta standar d	Erta fort
St Philibert3					0,75	0,5	1	0,5	0,5	0,5		0,38		0,008		
St Philibert7				4				0,75	1	1,5		0,25		0,016		
Lens4	2	2	2		2	3	3	6	8	8	0,19	0,19	0,25	0,008	0,012	0,023
Lens7	3	3	3		3	4	4				0,19	0,38	0,38	0,016	0,016	0,032
Lens8	1,5	2	2		2	3	3				0,19	0,19	0,19	0,19	0,25	0,25
Lens11	1	2	2		1,5	1	2				0,19	0,25	0,25	0,008	0,008	0,032
St Omer8	1	1,5	2		1,5	1,5	2				0,25	0,25	0,38	0,008	0,016	0,032
St Omer11	1,5	2	2		1	1	1,5				0,19	0,19	0,25	0,006	0,006	0,008
Roubaix1		2						1	1,5	1,5		0,25				
Roubaix6	1	1,5	1,5		0,75	0,75	0,75				0,19	0,19	0,25	0,004	0,004	0,006
Roubaix9	0,75	1	1,5		1	1,5	1				0,25	0,25	0,25	0,012	0,012	0,032
Roubaix11	2	3	3		1	1,5	1,5				0,38	0,38	0,5	0,006	0,008	0,008
Boulogne1		1						0,023	3	3		0,25				
Boulogne3	2	3	3	0,5	0,75	1	1,5	0,75	0,75	1	0,19	0,19	0,25	0,032	0,047	0,047

Dunkerque7	6	8	32		1	1,5	8	0,75	1	3	0,19	0,25	0,25	0,01		0,01
Dunkerque8		3						0,38	0,5	0,75		0,25		2	0,008	6
Dunkerque14	2	2	3		1,5	1,5	2	3	3	8	0,19	0,25	0,38	0,00		0,01
Armentières1	1	1	2	2				0,19	0,25	1		0,38				
Armentières3	1,5	2	2					6	8	256		0,38				
Armentières5								4	4	16		0,25				
Cambrai1	4	4	6					1,5	1,5	12		0,19				
Cambrai6	4	4	4					3	3	3		0,19				
Cambrai7	3	3	3		4	4	4	6	6	12	0,25	0,25	0,38	0,02		0,03
														3	0,023	2

Souches	Tazo faible	Tazo standard	Tazo fort	CTX standard	CAZ faible	CAZ standard	CAZ fort	FEP faible	FEP standard	FEP fort	Imi faible	Imi standard	Imi fort	Erta faible	Erta standard	Erta fort
Bethune2	2	3	3		0,75	1	1,5	1	1,5	2	0,094	0,125	0,125	0,016	0,023	0,047
Bethune6		1,5						3	3	16		0,38				
Bethune9	3	4	4		2	2	2				0,19	0,25	0,25	0,012	0,047	0,064
Bethune13	1	2	3		0,5	0,75	0,75				0,19	0,19	0,25	0,006	0,006	0,032
Bethune14	0,5	0,5	0,5		0,19	0,25	0,25	0,25	0,25	0,25	0,19	0,25	0,25	0,002	0,002	0,002
Calais1		1,5				0,75		3		4		0,25				
Calais3		3				1		3		8		0,25				
Calais4		1,5				0,75		2		4		0,25				
Maubeuge1	3	3	3		4	4	4				0,125	0,125	0,25	0,006	0,016	0,023
Maubeuge2		2			6	6	8					0,38			0,23	
Maubeuge4		2			1,5	1,5	1,5					0,25			0,032	
Maubeuge5		0,047			0,75	0,75	0,75					0,19			0,004	
Maubeuge8	3	3	256		1,5	2	6	1,5	1,5	3	0,38	0,38	0,38	0,016	0,016	0,047

Tazo=tazocilline ; CTX=céfotaxime ; CAZ=ceftazidime ; FEP=céfépime ; Imi=imipénème ; Erta=ertapénème ; Faible= CMI obtenue à partir de l'inoculum faible ; Standard= CMI obtenue à partir de l'inoculum standard ; fort= CMI obtenue à partir de l'inoculum fort.



Faculté des Sciences Pharmaceutiques
et Biologiques de Lille

3, rue du "Faisan" - 59000 LILLE CEDEX
☎ 03 20 36 43 40 - Télécopie 03 20 36 43 54
http://www.uspharm.lille.fr



DEMANDE D'AUTORISATION DE SOUTENANCE

Nom et Prénom de l'étudiant : FARICHAL Anne

Date, heure et lieu de soutenance :

Le 14/05/15 à 17h00 Amphi/réa/salle : Pauling

Avis du conseiller (directeur) de thèse

Nom : G. F. F. F. F. Prénom : Guillaume

- Favorable
 Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 10/05/15

Signature:

Avis de Présidence Jury

Nom : GOFFARD Prénom : Anne

- Favorable
 Défavorable

Motif de l'avis défavorable :

Date : 18/06/15

Signature:

Décision de Monsieur le Doyen

- Favorable
 Défavorable



NB : La faculté n'entend donner aucune approbation ou improbation aux opinions émises dans les thèses, qui doivent être regardées comme propres à leurs auteurs.

NU/2015

Université de Lille 2
FACULTE DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES ET BIOLOGIQUES DE LILLE
MEMOIRE de DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
(tenant lieu de Thèse en vue du Diplôme d'Etat de Docteur en Pharmacie)
Année Universitaire 2014/2015

Nom : MARICHAL

Prénom : Aurélie

Titre du mémoire / thèse :

Enquête sur des bactériémies à *Escherichia coli* producteur de BLSE dans les hôpitaux du Nord-Pas de Calais en 2013 : étude de l'activité de différentes β -lactamines

Mots-clés :

Bactériémie, *Escherichia coli*, β -lactamase à spectre étendu (BLSE), effet inoculum, Concentration minimale inhibitrice(CMI), β -lactamines.

Résumé :

Contexte : La diffusion des bactéries multi-résistantes et notamment des entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (EBLSE) est à présent, mondiale. Les BLSE de type CTX-M sont prédominantes et particulièrement retrouvées chez *Escherichia coli* qui est la principale bactérie responsable d'infections communautaires. L'utilisation de carbapénèmes pour traiter les infections à EBLSE entraîne le développement de bactéries hautement résistantes produisant des carbapénémases. Notre Objectif est d'étudier la sensibilité de plusieurs β -lactamines qui pourraient être employées en thérapeutique.

Méthode : Enquête sur les bactériémies à *E.coli* BLSE, en 2013, dans la région Nord-Pas de Calais. Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) de la tazocilline, du céfotaxime, de la ceftazidime, du céfépime, de l'imipénème et de l'ertapénème pour les souches rendues sensibles à au moins une céphalosporine de 3^{ème} ou 4^{ème} génération. Etude de l'effet inoculum en mesurant les CMI à l'aide de deux inocula, dix fois plus faible et dix fois plus important que l'inoculum standard recommandé.

Résultat : Au regard des CMI obtenues, peu de souches sont nettement sensible au céfotaxime, à la ceftazidime ou au céfépime. Tandis que la majorité voire la totalité des souches sont bien sensibles à la tazocilline, à l'imipénème et à l'ertapénème. Parmi les β -lactamines testées, le céfépime et l'ertapénème sont les molécules les plus touchées par l'effet inoculum. Les CMI pour l'ertapénème étant très basse, l'effet inoculum a peu d'impact. Au contraire, les CMI du céfépime étant souvent proches des concentrations critiques, l'effet inoculum peut conduire à un changement de catégorisation dont les conséquences cliniques mériteraient d'être évaluées.

Conclusion et perspectives : La détermination des CMI est nécessaire pour l'utilisation d'une céphalosporine de 3^{ème} ou 4^{ème} génération dans le traitement des infections à EBLSE. Les éléments de pharmacocinétique et de pharmacodynamie doivent également être pris en compte : site de l'infection, inoculum bactérien, capacité de diffusion de l'antibiotique au niveau du site infecté. Tandis que l'efficacité des antibiotiques s'essouffle, d'autres domaines de lutte antibactérienne prennent leur essor, vaccination, peptides antibactériens, inhibiteurs de virulence, phagothérapie.

Membres du jury :

Président :	Madame le Docteur Anne GOFFARD
Asseseurs :	Madame le Professeur Anne DECOSTER Madame le Docteur Sophie NGUYEN
Directeur de thèse :	Monsieur le Docteur Christian CATTOEN