THESE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Soutenue publiquement le 7 octobre 2022 Par Mme PERNET Marie-Amélie

Membres du jury:

Président : Monsieur le Professeur FOLIGNÉ Benoît

Professeur des Universités, Université de Lille

Directeur de thèse: Monsieur le Docteur BLONDIAUX Nicolas

Maître de conférences des Universités Université de Lille

Pharmacien Praticien hospitalier, CH Tourcoing

Assesseurs: Monsieur le Docteur PATOZ Pierre

Pharmacien Praticien hospitalier, CH Tourcoing

Monsieur le Docteur PETITGAS Paul

Médecin Assistant spécialiste, CHU Sud La Réunion





Faculté de Pharmacie de Lille 3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille 03 20 96 40 40 https://pharmacie.univ-lille.fr

Université de Lille

Président
Premier Vice-président
Vice-présidente Formation
Vice-président Recherche
Vice-présidente Réseaux internationaux et européens
Vice-président Ressources humaines
Directrice Générale des Services

Régis BORDET Etienne PEYRAT Christel BEAUCOURT Olivier COLOT Kathleen O'CONNOR Jérôme FONCEL Marie-Dominique SAVINA

UFR3S

Doyen Dominique LACROIX Premier Vice-Doyen Guillaume PENEL Vice-Doyen Recherche Éric BOULANGER Vice-Doyen Finances et Patrimoine **Damien CUNY** Vice-Doven Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires Sébastien D'HARANCY Vice-Doyen RH, SI et Qualité Hervé HUBERT Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie Caroline LANIER Vice-Doyen Territoires-Partenariats Thomas MORGENROTH Vice-Doyenne Vie de Campus Claire PINÇON Vice-Doyen International et Communication Vincent SOBANSKI Vice-Doyen étudiant Dorian QUINZAIN

Faculté de Pharmacie

Doyen
Premier Assesseur et Assesseur en charge des études
Assesseur aux Ressources et Personnels
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement
Assesseur à la Vie de la Faculté
Responsable des Services
Représentant étudiant

Delphine ALLORGE Benjamin BERTIN Stéphanie DELBAERE Anne GARAT Emmanuelle LIPKA Cyrille PORTA Honoré GUISE Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

11010000410 400 01111010100		ratioiono moopitanoro (i o i m)		
Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	ALLORGE	Delphine	Toxicologie et Santé publique	81
M.	BROUSSEAU	Thierry	Biochimie	82
M.	DÉCAUDIN	Bertrand	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	DINE	Thierry	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	81
M.	STAELS	Bart	Biologie cellulaire	82

Professeurs des Universités (PU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	ALIOUAT	El Moukhtar	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	AZAROUAL	Nathalie	Biophysique - RMN	85
М.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
М.	CHAVATTE	Philippe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	COURTECUISSE	Régis	Sciences végétales et fongiques	87
М.	CUNY	Damien	Sciences végétales et fongiques	87
Mme	DELBAERE	Stéphanie	Biophysique - RMN	85
Mme	DEPREZ	Rebecca	Chimie thérapeutique	86
M.	DEPREZ	Benoît	Chimie bioinorganique	85
М.	DUPONT	Frédéric	Sciences végétales et fongiques	87

M.	DURIEZ	Patrick	Physiologie	86
M.	ELATI	Mohamed	Biomathématiques	27
M.	FOLIGNÉ	Benoît	Bactériologie - Virologie	87
Mme	FOULON	Catherine	Chimie analytique	85
M.	GARÇON	Guillaume	Toxicologie et Santé publique	86
M.	GOOSSENS	Jean-François	Chimie analytique	85
M.	HENNEBELLE	Thierry	Pharmacognosie	86
M.	LEBEGUE	Nicolas	Chimie thérapeutique	86
M.	LEMDANI	Mohamed	Biomathématiques	26
Mme	LESTAVEL	Sophie	Biologie cellulaire	87
Mme	LESTRELIN	Réjane	Biologie cellulaire	87
Mme	MELNYK	Patricia	Chimie physique	85
M.	MILLET	Régis	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	MUHR-TAILLEUX	Anne	Biochimie	87
Mme	PERROY	Anne-Catherine	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	ROMOND	Marie-Bénédicte	Bactériologie - Virologie	87
Mme	SAHPAZ	Sevser	Pharmacognosie	86
M.	SERGHERAERT	Éric	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	SIEPMANN	Juergen	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	SIEPMANN	Florence	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	WILLAND	Nicolas	Chimie organique	86

Maîtres de Conférences - Praticiens Hospitaliers (MCU-PH)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BLONDIAUX	Nicolas	Bactériologie - Virologie	82
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	AGOURIDAS	Laurence	Chimie thérapeutique	85
Mme	ALIOUAT	Cécile-Marie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	ANTHÉRIEU	Sébastien	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	AUMERCIER	Pierrette	Biochimie	87
M.	BANTUBUNGI-BLUM	Kadiombo	Biologie cellulaire	87
Mme	BARTHELEMY	Christine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	85
Mme	BEHRA	Josette	Bactériologie - Virologie	87
M.	BELARBI	Karim-Ali	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	восни	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMANCHE	Christine	Parasitologie - Biologie animale	87
Mme	DEMARQUILLY	Catherine	Biomathématiques	85
M.	DHIFLI	Wajdi	Biomathématiques	27

Mme	DUMONT	Julie	Biologie cellulaire	87
M.	EL BAKALI	Jamal	Chimie thérapeutique	86
М.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FURMAN	Christophe	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	GERVOIS	Philippe	Biochimie	87
Mme	GOOSSENS	Laurence	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	GRAVE	Béatrice	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	GROSS	Barbara	Biochimie	87
M.	HAMONIER	Julien	Biomathématiques	26
Mme	HAMOUDI-BEN YELLES	Chérifa-Mounira	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	HANNOTHIAUX	Marie-Hélène	Toxicologie et Santé publique	86
Mme	HELLEBOID	Audrey	Physiologie	86
M.	HERMANN	Emmanuel	Immunologie	87
M.	KAMBIA KPAKPAGA	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
M.	KARROUT	Younes	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	LALLOYER	Fanny	Biochimie	87
Mme	LECOEUR	Marie	Chimie analytique	85
Mme	LEHMANN	Hélène	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	LELEU	Natascha	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
Mme	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86
M.	MOREAU	Pierre-Arthur	Sciences végétales et fongiques	87
M.	MORGENROTH	Thomas	Droit et Economie pharmaceutique	86
Mme	MUSCHERT	Susanne	Pharmacotechnie industrielle	85
Mme	NIKASINOVIC	Lydia	Toxicologie et Santé publique	86

Mme	PINÇON	Claire	Biomathématiques	85
M.	PIVA	Frank	Biochimie	85
Mme	PLATEL	Anne	Toxicologie et Santé publique	86
M.	POURCET	Benoît	Biochimie	87
M.	RAVAUX	Pierre	Biomathématiques / Innovations pédagogiques	85
Mme	RAVEZ	Séverine	Chimie thérapeutique	86
Mme	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	86
M.	ROUMY	Vincent	Pharmacognosie	86
Mme	SEBTI	Yasmine	Biochimie	87
Mme	SINGER	Elisabeth	Bactériologie - Virologie	87
Mme	STANDAERT	Annie	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	TAGZIRT	Madjid	Hématologie	87
M.	VILLEMAGNE	Baptiste	Chimie organique	86
M.	WELTI	Stéphane	Sciences végétales et fongiques	87
M.	YOUS	Saïd	Chimie thérapeutique	86
M.	ZITOUNI	Djamel	Biomathématiques	85

Professeurs certifiés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
Mme	FAUQUANT	Soline	Anglais
M.	HUGES	Dominique	Anglais
M.	OSTYN	Gaël	Anglais

Professeurs Associés

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DAO PHAN	Haï Pascal	Chimie thérapeutique	86
M.	DHANANI	Alban	Droit et Economie pharmaceutique	86

Maîtres de Conférences Associés

Civ	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques	85

Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81

Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	GEORGE	Fanny	Bactériologie - Virologie / Immunologie	87
Mme	N'GUESSAN	Cécilia	Parasitologie - Biologie animale	87
M.	RUEZ	Richard	Hématologie	87
M.	SAIED	Tarak	Biophysique - RMN	85
M.	SIEROCKI	Pierre	Chimie bioinorganique	85

Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière





Faculté de Pharmacie de Lille

3 Rue du Professeur Laguesse – 59000 Lille 03 20 96 40 40 https://pharmacie.univ-lille.fr

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

Remerciements

À mon président du jury,

Monsieur le Professeur Benoît FOLIGNÉ

Professeur des Universités - Bactériologie et virologie

Vous me faites l'honneur d'avoir accepté de présider ce jury de thèse et d'avoir accepté de juger ce travail. Je vous remercie de l'intérêt que vous avez porté à ce travail. Soyez assurée de ma reconnaissance et de mon plus profond respect.

À mes assesseurs.

Monsieur le Docteur Pierre PATOZ

Chef de service du Laboratoire de biologie médicale du CH de Tourcoing Praticien Hospitalier - CH de Tourcoing

Je suis très touchée par ta participation à ce jury de thèse, je te remercie d'apporter ton expertise microbiologique à ce travail. Sois assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

Monsieur le Docteur Paul PETITGAS

Assistant spécialiste - Service de maladie infectieuse et médecine interne du CHU Sud de La Réunion (Saint-Pierre)

Je te remercie d'avoir accepté avec enthousiasmes de faire partie de ce jury et d'évaluer ce travail en tant qu'infectiologue au CHU Sud de La Réunion. Sois assurée de ma reconnaissance et de mon profond respect.

À mon directeur de thèse.

Monsieur de Docteur Nicolas BLONDIAUX

Maître de Conférences des Universités - Université de Lille Praticien Hospitalier – CH de Tourcoing

Je tenais à te remercier d'avoir accepté de m'encadrer pour ce travail de thèse et d'avoir toujours su m'accorder le temps et l'aide nécessaire à son élaboration. Mais surtout, je souhaitais te remercier pour ta disponibilité et ton accessibilité, pour ta pédagogie et ton amour sincère de l'enseignement, et enfin pour la gentillesse et la bienveillance dont tu as toujours fait preuve à mon égard.

Sois assurée de ma reconnaissance et de mon respect les plus sincères.

Je tiens également à exprimer ma reconnaissance,

Au nombreux techniciens et biologistes, que j'ai pu côtoyer tout au long de mes années d'internat, au cours de mes différents stages.

Merci pour vos enseignements et votre patience à nous transmettre votre savoir.

Je voulais également vous témoigner, tout le plaisir que j'ai eu à travailler avec vous.

Je remercie tout particulièrement Caro, Lulu et Jaime pour votre accueil chaleureux pour mes premiers mois lillois.

Je remercie également toute l'équipe du laboratoire de bactériologie du CHU de Lille, pour ce deuxième semestre et pour vos disponibilités même encore maintenant.

Merci à Christine, Émilie et Corinne pour ce merveilleux stage d'hématologie au CH de Lens. Vous m'avez tout appris, mais surtout travailler avec vous était enrichissant et tellement plaisant.

Un immense merci à toute l'équipe du laboratoire du CH de Tourcoing de m'avoir accueillie en stage. Je remercie tous les biologistes : Pierre, Nicolas, François, Malicka, Gabrielle, Evelyne et Claire, j'ai énormément appris grâce à vous durant mon stage.

Je remercie sincèrement Claire, Sandrine et Naël pour votre accueil au CHU de La Réunion. Ce stage à vos côtés fut une merveilleuse expérience. Merci surtout pour votre confiance. Je remercie particulièrement Naël de m'avoir mis sur la piste du céfidérocol à la Réunion, et Marc pour sa précieuse aide en technique.

Merci à toute l'équipe du service de parasitologie-mycologie du CHU, et plus particulièrement Camille et Pauline pour leur gentillesse, leur disponibilité, leur écoute et leur passion communicative pour la mycologie. Merci à Rachid pour ses précieux conseils en tableur Excel.

Je souhaite également remercier et dédier cette thèse,

À mes amis,

À tous les internes avec qui j'ai pu passer de très bons moments, en after-work ou sur les stages, Alex, Maël, Gatien, Thibault, Ambroise, Micka, Geoffrey, Claire, Paupau, Laurine, Alan, Leila, Mahdi, Ibtissem, Colleen, Antoine, vous êtes de très belles rencontres lilloises ou réunionnaises. À l'ensemble de ma promo, Khalil, Quentin, Clément, Amélie, Mélanie, David, Coco, Zoé, Léa, Nico, Benjamin, Pauline, Adrien.

Mention spéciale pour **Adrien** qui m'a supporté 1an et demi et que j'ai supporté également. Nous pouvons être fiers de nous.

Amélie, nous avons découverts ensemble nos talents cachés pour la rénovation d'intérieure et je n'en suis pas peu fière. Merci pour ta relecture, tes conseils, ta rigueur, et ta passion pour les bébé *canis*.

À toute le team des vacances d'été, de Bandol à La Réunion, à **David**, pour ta franchise et ta générosité ; à **Coco** pour ta gentillesse et ton écoute.

À mes CBPipelettes, à ces soirées confinées, ces tarots par dizaines, afin de tester les meilleurs falafels de Lille mais surtout refaire nos vies en continue. **Léa**, merci d'avoir été cette première personne lilloise, une vraie, qui m'a tendue la main en octobre 2019 et qui est toujours là ; **Apo**, je sais que par amitié tu te plierais en 4 pour tout faire, merci pour ta gentillesse ; **Mel**, pour m'accompagner dans les meilleurs spots lillois et jusqu'à Wambrechies pour notre plus grand bonheur ; **Zoé**, ta soif de voyage et d'aventure m'aura toujours fascinée, même jusqu'à Besançon ; **PP**, tu es cette fille ultra stylée, tout simplement. Restez comme vous êtes.

À l'Intercaz, à la Vidalocaz pour l'organisation des soirées les plus dingues de Saint Pierre, et à mes colocataires d'amour, **Dianou**, **Philou**, **Mathou**, **Camou**, et **Drivet'** pour ces quelques mois de vie magique à La Réunion. À **Clairette**, j'espère avoir assuré mon rôle de 1^{ière}interne.

À mes amis de toujours,

Mes **mouches de Franche-Comté**, pour tous ces moments incroyables passés ensembles. Merci d'avoir toujours été là, merci pour votre soutien, des bancs de la fac de Besançon à ceux de Lille, je sais que je peux toujours compter sur vous.

Camille, mon chaton, merci d'être toujours présente pour moi, à l'écoute, dès que j'en ai besoin. Tu es cette amie forte, battante, et douce. Tu es un modèle. J'ai de la chance de t'avoir dans ma vie.

Audrey, ma DD, merci pour toutes ces années, ces nocturnes à Mallarmé, ces soirées (surtout), ces festivals, ces excursions inoubliables. Merci d'être toi et ne change surtout pas.

Chloé, malgré la distance rien ne change, tu es cette amie pleine de tendresse et de bienveillance à mon égard. Merci pour tout ce que tu m'apportes.

Alan, merci pour ta fraîcheur de vivre, ta singularité, ton honnêteté en toute circonstance, toutes ces choses qui font de toi une personne unique.

Justine, merci pour toutes ces années, toutes ces soirées où tu nous as remmené, pour ta patience à toutes épreuves.

Valentine, Valou, merci à toi, pharmacienne accomplie. Ta passion et ton investissement a toujours été un modèle pour moi. Ce qui me manque à Lille c'est ton accent évidemment.

À vous les deux, les compères infatigables, **Stéphane** et **Xavier**, merci pour ces années où je pouvais toujours compter sur vous pour ne pas finir la seule en fin de soirées, que ce soit au lac de Vouglans ou à la Mez.

Aurore, merci pour ta spontanéité, ton rire et ta détermination. Heureuse de te savoir épanouie dans les Alpes.

Juliette et **David**, merci pour ces années de dur labeur qui ont fini par payer, pour ces vacances bien méritées à Serre-Ponçon, tout est passé décidément plus vite que l'on aurait pensé.

À Camille, Guillaume et Baptiste, vous les expatriés franc-comtois désormais lillois, merci pour ces soirées Mont-d'or, ces moments de retours aux sources délocalisés.

À mon **Jeannou**, du lycée à aujourd'hui rien a changé. J'ai beaucoup de chance de t'avoir à mes côtés. On s'est battu ensemble pour faire ce qu'on fait aujourd'hui, on est heureuse et je suis si fière de nous. Tu es une amie en or.

À mes compatissantes,

Juju, merci pour ta spontanéité, pour ta sincérité et ta tendre amitié. Je suis fière de la femme que tu es devenue aux côtés de **Bastien**.

Noé, merci pour ces années, et celle qui suivront, pour ces week-end emmitouflées dans un presbytère à s'interroger sur le cycle de Krebs. Merci d'être la personne bienveillante que tu es, et si riche de connaissance. Je te dois beaucoup.

Clairette, merci pour ces excursions en montagnes, pour le génépi, et pour ces soirées Charcennaises, tu es là partout où je vais.

À **Mama**, merci pour tout. Ton soutien est infaillible et ton amitié m'est indispensable. Je suis fière de la personne que tu es devenue, fière d'être ton amie et encore plus fière d'être témoin le jour le plus important de ta vie.

Merci également à celui qui partage ta vie, Clément.

Lulu, merci pour ta gentillesse si débordante et ta fidèle amitié. On a découvert ensemble nos talents cachés pour l'organisation d'EVJF et je suis plutôt fière de nous. Reste la fille pétillante que tu es.

Aux **scouts** et aux **topeurs** que je ne peux pas tous citer, vous êtes merveilleux.

À la team des **bolosses**, merci pour ces soirées, je vous remercie pour tout ce qu'on a vécu ensemble et pour toutes les prochaines années.

À Sarah, Anne-So et Léna, merci pour tout, toujours aussi présentes malgré la distance. Je sais que je peux compter sur vous.

À mes parents,

Je ne vous remercierai jamais assez pour l'amour que vous m'avez apporté.

Vous m'avez donné toutes les chances pour réussir, et encouragé dans tous ce que j'ai voulu entreprendre. Je vous dois cette réussite.

À mes sœurs,

Merci pour votre soutien en toutes circonstances. Je suis fière des petites femmes que vous êtes devenues. Je vous aime très fort.

Valentine, merci pour ces moments passés ensembles ces derniers mois.

Anne-Charlotte, merci pour ta douceur et pour ta passion pour les bonnes choses. Je sais déjà que je pourrai toujours compter sur toi pour me conseiller un bon vin, et cela même avant papa.

Éléonore, petit canari, merci d'avoir joué pleinement ton rôle de petite sœur pendant les années pharma, je n'oublierai jamais. Merci d'avoir toujours le mot pour me faire rire.

À ma mamie,

Merci de me soutenir et d'être toujours là pour penser à moi dans les moments importants.

À ma **famille**, mon parrain, ma marraine, mes oncles et tantes, mes cousins et cousines, Merci pour votre soutien durant ces années d'étude, pour tous ces bons moments partagés ensemble, des soirées après-ski sur les pistes des Coches, aux vacances aux Issambres.

À ma belle-famille,

Merci pour votre gentillesse, votre soutien et tous les bons moments passés ensembles.

À Valentin,

Mon Valou. Merci de m'avoir soutenu tout au long de ce travail et tout au long de ces années d'études. Je ne te remercierai jamais assez de croire en moi, chaque jour, tu es ma force. Merci pour la tendresse au quotidien. Ces mots ne sont rien, je te dois énormément encore. Merci de m'avoir fait cette place dans ta vie depuis bientôt 9 ans. Le plus beau reste à venir. Je t'aime.

" On ne dit jamais assez aux gens qu'on aime, par peur de les gêner, qu'on les aime.

On ne leur dit jamais assez, que sans eux, sans elles, on ne serait même pas la moitié de nous-même "

Chedid

Table des matières

Introduction	25
I. Généralités	27
A. L'émergence de la résistance aux antibiotiques en clinique humaine	27
B. Les carbapénèmases	31
1. Classification	32
2. Spectre d'inactivation et origine	34
3. Epidémiologie	37
C. Traitements alternatifs aux carbapénèmes : données actuelles	47
1. Nouvelles associations β -lactamines et Inhibiteur de β -lactamase (IBL)	47
2. Les tétracyclines	50
3. La fosfomycine	51
4. La colistine	52
D. Le céfidérocol	53
Structure et propriétés physicochimiques	53
2. Mode d'action	54
3. Spectre	55
4. Pharmacocinétique (PK) et Pharmacodynamie (PD)	56
7. Etudes cliniques	57
8. Mécanisme de résistance	59
II. Objectif de l'étude	62
III. Matériel et méthode	63
A. Souches bactériennes	63
B. Méthode de référence par culture et test de sensibilité	63
C. Méthode de détection des BHRe	64
1. Au laboratoire	64
2. Confirmation au CNR et analyses complémentaires	64

E. Test de la sensibilité au céfidérocol	65
1. Méthodes par diffusion	65
2. Méthode par microdilution	66
3. Contrôle qualité et règles d'interprétation	68
F. Etude du phénotype des souches bactériennes	71
1. Antibiogramme	71
2. Dendrogramme	72
G. Recueil de données	72
IV. Résultats	73
A. Entérobactéries	74
1. Répartition des souches	74
2. Sensibilité in vitro au céfidérocol	76
3. Identité clonale des souches d'entérobactéries	83
B. Bacilles Gram négatif non fermentant	85
1. Répartition des souches	85
2. Sensibilité in vitro au céfidérocol	87
3. Identité clonale des souches de BGN non fermentants	91
V. Discussion	93
A. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro du céfidérocol	93
1. Efficacité <i>in vitro</i> sur les souches productrices de β-lactamase de type NDM	93
2. Analyse comparative des méthodes testant la sensibilité in vitro du céfidérocol	96
B. Place du céfidérocol	100
C. Limite de l'étude	102
Conclusion et perspective	104

Liste des tableaux

<u>l'ableau 1</u> : Dates clès de la découverte de β-lactamases depuis 1944 dans le	
monde (9)	28
Tableau 2 : Liste des bactéries pour lesquelles de nouveaux antibiotiques sont	
nécessaires de toute urgence et classées selon leur niveau de priorité (critique	∋,
élevé, moyen) (8)	31
Tableau 3: Classification d'Ambler (15)	33
Tableau 4 : Classification de Bush-Jacoby-Medeiros (9)	
<u>Tableau 5</u> : Distribution des carbapénèmases produites par des entérobactéries	
identifiées au CNR en 2020 (5)	42
Tableau 6 : Spectre d'inactivation des nouvelles associations β-lactamine-IBL sur le	
carbapénèmases	
Tableau 7 : Priorisation des associations β-lactamines-IBL en fonction des β-	
lactamases et de l'espèce bactérienne selon les recommandations de l'IDSA	
dans la prise en charge des infections compliquées (45)	50
Tableau 8 : Critères d'interprétation (CMI en mg/L et diamètres en mm) des tests d	
sensibilité au céfidérocol pour les entérobactéries selon les critères EUCAST.	69
Tableau 9 : Critères d'interprétation (CMI en mg/L et diamètres en mm) des tests d	е
sensibilité au céfidérocol pour Pseudomonas aeruginosa selon les critères	
EUCAST	70
Tableau 10 : Critères d'interprétation des tests de sensibilité au céfidérocol pour	
Acinetobacter sp. selon les critères EUCAST	70
Tableau 11 : Critères d'interprétation (CMI en mg/L et diamètres en mm) du CLSI e	∍t
de la FDA concernant la sensibilité du céfidérocol aux entérobactéries,	
Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii	
Tableau 12 : Répartition des souches d'entérobactéries par année	74
<u>Tableau 13</u> : Renseignements démographiques et cliniques des patients dont les	
souches bactériennes sont issues	
Tableau 14 : Valeurs obtenues du diamètre d'inhibition et de la CMI Cefiderocol po	
la souche ATCC Escherichia coli 25922	76
<u>Tableau 15</u> : Corrélation entre le diamètre d'inhibition (en mm) et la CMI en	
microdilution du céfidérocol (en mg/L)	79
<u>Tableau 16</u> : Corrélation entre CMI céfidérocol en microdilution (en mg/L) et CMI	
	80
<u>Tableau 17</u> : Pourcentage de sensibilité et résistance au céfidérocol selon les	
méthodes et selon les espèces	
Tableau 18 : Sensibilité au céfidérocol selon les espèces bactériennes et selon les	
critères d'interprétations du CA-SFM/EUCAST	81
<u>Tableau 19</u> : Pourcentage de souches sensibles au céfidérocol selon le sous-type	ae
carbapénèmase produite	81
Tableau 21 : Répartition des séquençage MLST réalisés par le CNR	
Tableau 22 : Répartition des souches de bacilles Gram négatif non fermentant selo	
l'année d'isolement	00
Tableau 23 : Répartition des souches de bacilles Gram négatif selon le type de	Q.E
prélèvement	00
	86
2000 DE2 O MONTENDACIEN DANINANINI 2011 1220 DE2	UÜ

<u>Tableau 25</u> : Renseignements démographiques et clinique des patients dont les	
souches de Pseudomonas aeruginosa sont issues	. 87
Tableau 26 : Résultats des mesures de diamètre d'inhibition du céfidérocol (30μg)	88
<u>Tableau 27</u> : Valeurs obtenues pour les tests de sensibilité de la souche ATCC	
27853 de Pseudomonas aeruginosa au céfidérocol	. 88
Tableau 28 : Résultats des valeurs de diamètre d'inhibition (en mm) interprétés avec	ec
les critères du CA-SFM/EUCAST, CLSI et FDA	89
Tableau 29 : Résultats des valeurs de CMI en diffusion (en mg/L) interprétées ave	
les critères du CA-SFM/EUCAST, CLSI et FDA	90
Tableau 30 : Résultats des valeurs de CMI en microdilution (en mg/L) interprétées	
avec les critères du CA-SFM/EUCAST, CLSI et FDA	90
<u>Tableau 31</u> : Phénotype de résistance aux antibiotiques pour chaque souche	
d'Acinetobacter baumannii étudiée	92
Tableau 32 : Phénotype de résistance aux antibiotiques pour chaque souche de	
Pseudomonas aeruginosa étudiée	92
Tableau 33 : Données issues de la littérature concernant la sensibilité des	
entérobactéries productrices de carbapénèmase de type NDM au céfidérocol.	94
<u>Tableau 34</u> : Données issues de la littérature pour la comparaison des différentes	
méthodes d'évaluation de la sensibilité au céfidérocol	. 98

Liste des illustrations

Figure 1 : Frise représentant l'introduction d'antibiotiques et l'apparition d'émergence	
de résistance secondairement à la surconsommation d'antibiotiques (11) 29	9
Figure 2 : Chronologie représentant l'introduction des carbapénèmes et l'apparition	
de carbapénémases dans le monde (12)	J
Figure 3 : Schéma montrant l'interaction des β-lactamines et des β-lactamases chez	
les bacilles Gram négatif (14)	
Figure 4 : Distribution mondiale des entérobactéries et Pseudomonas aeruginosa	
producteurs de métallo-β-lactamase de 2012 à 2014 (24)	ô
Figure 5 : Pourcentage de souches invasives de Acinetobacter spp. présentant une	
résistance aux carbapénèmes (imipenème/meropenem) par pays, régions	
européennes de l'OMS 2020 (28)	7
Figure 6 : Pourcentage de souches invasives de Pseudomonas aeruginosa	
présentant une résistance aux carbapénèmes (imipenème/méropénème) par	
pays, régions européennes de l'OMS, 2020 (28)	8
Figure 7 : Pourcentage de souches invasives de Klebsiella pneumoniae résistantes	-
aux carbapénèmes (imipénème/méropénème) par pays, régions européennes	
de l'OMS, 2020 (28)	9
Figure 8 : Mécanismes à l'origine de la résistance à l'imipenème chez Pseudomonas	
aeruginosa en France (2019-2020)(31)	
Figure 9 : Distribution des carbapénèmases chez <i>Pseudomonas aeruginosa</i> en	•
France (2019-2020)(31)	1
Figure 10 : Répartition géographique des souches d'EPC selon le type de	•
carbapénémases en 2020 en France (29)	3
Figure 11 : Distribution par espèce des EPC reçues en 2020 au CNR des	_
entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (31)4	4
Figure 12 : Distribution des pays ou régions ayant un lien avec les infections ou	•
colonisations à EPC à La Réunion (32)	5
Figure 13 : Nombre de patients colonisés et/ou infectés par des EPC détectées entre	_
2011 et 2016 à La Réunion (France) (32)	
Figure 14 : Mécanismes de résistance aux carbapénèmes en fonction des espèces	•
bactériennes à La Réunion en 2019 (32)	റ
Figure 15 : Structure chimique du céfidérocol (63)	
Figure 16 : Mécanisme d'action du céfidérocol sur les BGN (64)	
Figure 17 : Absorption du céfidérocol au fil du temps (minutes) par une souche de P.	
aeruginosa en condition appauvrie en fer (ronds noirs) et en condition enrichie	
en fer (ronds blancs) (65)	5
Figure 18 : Distribution des CMI de 1973 souches de bacilles Gram négatif résistants	
aux carbapénèmes, étude de surveillance mondiale (70)5	
Figure 19 : Photographie d'une gélose MH standard comportant un disque de	1
céfidérocol (30μg) et d'un disque de méropénème (10μg) ensemencée avec une	٠
souche d'entérobactérie	
Figure 20 : Photographie d'une gélose MH standard comportant une bandelette E-	ر
test de céfidérocol et d'un disque de méropénème (10µg) ensemencée avec une	_
souche d'entérobactérie	ر 7
<u>Figure 22</u> : Schéma de la plaque Sensititre™ EUSHION8 (FDC : Céfidérocol, POS :	
Contrôle positif)	

Figure 23 : Exemples de résultats susceptibles d'être obtenus avec la plaque de	
microdilution Sensitre™ EUSHION8	68
Figure 24 : Répartition de l'origine des carbapénèmases par espèce bactérienne de	de
2019 à 2021 au CHU site Sud de La Réunion	73
Figure 25 : Répartition des souches d'entérobactéries par espèce	74
Figure 26 : Répartition de la sensibilité des entérobactéries produisant une NDM a	au
céfidérocol (mesure du diamètre d'inhibition)	77
Figure 27: Répartition des CMI par méthode en microdilution (Sensititre™)	78
Figure 28 : Répartition des CMI par méthode en diffusion (E-Test®)	78
Figure 29 : Répartition de la sensibilité des souches au céfidérocol selon la	
production d'une BLSE ou AmpC	82
Figure 30 : CMI céfidérocol en microdilution de la souche ATCC Pseudomonas	
aeruginosa 27853	89
Figure 31 : Évolution et origine des EPC au CHU Sud de La Réunion de 2010 à 2	020
(33)	100

Liste des abréviations

ABRI : Acinetobacter baumannii Résistant à l'Imipénème

AMM: Autorisation de Mise sur le Marché

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament

ATCC: American Type Culture Collection

BGN: Bacilles à Gram négatif

BHRe: Bactérie Hautement Résistante émergente

BLSE: Bêta-lactamase à Spectre Etendu

BMR: Bactérie Multi-Résistante

C1G : Céphalosporine de 1^{ière} génération **C2G** : Céphalosporine de 2^{ème} génération

C3G : Céphalosporine de 3^{ème} génération

C4G : Céphalosporine de 4^{eme} génération

CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie

CAI: Commission des Anti-Infectieux

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CMI: Concentration Minimale Inhibitrice

CMI50 : médiane des CMI

CMI90 : 90ème percentile des CMI

CNR: Centre National de Référence

CHU: Centre Hospitalier Universitaire

ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control

EDTA: Ethylène Diamine Tétra-Acétique

EPC : Entérobactérie Productrice de Carbapénèmase(s)

EPI : Élement de preuve insuffisante

EUCAST: EUropean Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

EVASAN: Evacuation Sanitaire

FDA: Food and Drug Administration

FDR: Facteurs de risque

GES: Guyana extended-spectrum bêta-lactamase

HAS: Haute Autorité de Santé

KPC: Klebsiella pneumoniae carbapenemase

LBA: Liquide bronchoalvéolaire

MALDI-ToF: Matric Assisted Lazer Desorption Ionisation - Time Of Flight

MH: Mueller Hinton

NDM: New Deli Metallo-bêta-lactamase

VIM: Verona integron-encoded metallo-bêta-lactamase

IBL: Inhibiteur de Bêta-lacatamase

IMP : ImipenemIV : IntraveineuxOXA : Oxacillinase

OMS : Organisation mondiale de la Santé

ONERBA: Observatoire National d'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux

Antibiotiques

PD : Pharmacodynamie (PharmacoDynamic)PK : Pharmacocinétique (PharmacoKinetic)

PLP: Protéines Liant les Pénicillines

R : RésistantS : Sensible

SFE: Sensible forte exposition **ZIT**: Zone d'incertitude technique

Introduction

Aujourd'hui, les santés humaines et vétérinaire sont menacées par le développement des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. Depuis les années 2000, une augmentation significative de l'incidence globale des bactéries multi-résistantes (BMR) a été observée. Le principal problème à l'heure actuelle étant l'émergence et la diffusion d'entérobactéries productrices de β-lactamase à spectre étendu (E-BLSE) et d'entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC). La diffusion de ces souches est problématique dans la mesure où elles limitent fortement les alternatives thérapeutiques en cas d'infection, pouvant aboutir à terme à des impasses thérapeutiques. En France, ces EPC ont été qualifiées de bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) par le Haut Conseil de Santé Publique (HCSP). En 2019, Cassini et son équipe concluaient à partir des données de 2015 recueillies par le réseau EARS-Net (Réseau européen de surveillance de la résistance aux antimicrobiens), que l'antibiorésistance était responsable de 33 000 décès par an en Europe dont 5 500 en France (1). En France, l'étude Burden-BMR menée par Santé Publique France, alors encore nommée Institut de Veille Sanitaire (InVS) et parue en juin 2015, fait état de 158 000 cas d'infections annuelles par une BMR, et responsables de 12 500 décès (2). D'ici 2050, comme le souligne le rapport Carlet, si rien n'est fait sur le plan international, plus de dix millions de personnes pourraient mourir tous les ans dans le monde, du fait de l'antibiorésistance (3). En 2016, le Ministère de la santé a acté la création d'un "Comité interministériel pour la santé pour la maîtrise de l'antibiorésistance" dont la mission est de définir une feuille de route d'actions trans-sectorielles visant à la maitrise de l'antibiorésistance à partir des recommandations du rapport Carlet (4). Les recommandations de ce groupe comportaient quatre actions jugées prioritaires au service de quatre objectifs majeurs

- favoriser et approfondir les recherches en matière d'antibiorésistance
- renforcer la surveillance à travers des indicateurs partagés entre les secteurs d'activité
- améliorer l'usage des antibiotiques
- accroitre la sensibilisation des populations aux risques de l'antibiorésistance et au bon usage des antibiotiques

Sur l'île de La Réunion, les EPC rencontrées sont majoritairement productrices de carbapénèmase de type New Delhi Métallo-β-lactamase (NDM). Même si l'incidence d'infections invasives à bactéries productrices de carbapénèmases NDM reste faible, le nombre des épisodes d'épidémie ou d'infection en lien avec une entérobactérie productrice de NDM est en augmentation constante selon Santé Publique France(5). Les principaux problèmes posés par ces souches sont la diffusion sur un mode épidémique, et la quasi-impasse thérapeutique qu'elle représente en raison de leur multi-résistance. Du fait de leur isolement géographique et de leur taille limitée, l'île de La Réunion et les autres île de la région occidentale de l'Océan Indien (Les Comores, Mayotte, Les Seychelles, L'Île Maurice, Madagascar), les diversités biologiques et environnementales sont relativement réduites par comparaison à celles des continents. Toutefois, l'émergence de situations épidémiques peut avoir un caractère de diffusion explosif.

Concernant la recherche et le développement de nouvelles molécules antiinfectieuses, elle a été progressivement délaissée au profit d'autres domaines plus rentables. Les nouvelles molécules se font rares et le risque est de se retrouver de plus en plus souvent face à des situations d'impasses thérapeutiques pour les patients infectés par de tels micro-organismes. Un nouvel antibiotique de la classe des céphalosporines sidérophores, le céfidérocol (commercialisé sous le nom de FETCROJA® ou FETROJA®) a été développé par Shionogi et distribué en France depuis janvier 2021 (6).

Dans ce contexte, mon projet de thèse est d'évaluer la sensibilité au céfidérocol des bacilles à Gram négatif producteurs de métallo-β-lactamase de type NDM, dans une région française géographiquement isolée : l'île de La Réunion.

I. Généralités

A. L'émergence de la résistance aux antibiotiques en clinique humaine

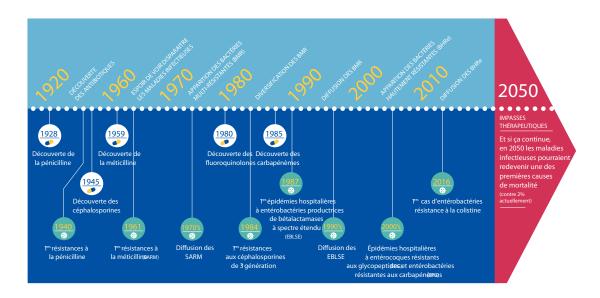
En 1929, Alexander Fleming a découvert fortuitement la pénicilline. Cette molécule a pu être produite, puis utilisée au début des années 1940 ouvrant l'ère de l'utilisation massive des antibiotiques. Cependant dès 1944, les premières souches de *Staphylococcus aureus* résistantes à la pénicilline par acquisition d'une pénicillinase plasmidique, enzyme dégradant la pénicilline, ont été détectées. Cette résistance concerne désormais plus de 90% des souches de *Staphylococcus aureus* autant en milieu hospitalier que communautaire (7). À partir de cet antibiotique primordial, 4 grandes classes chimiques ont été développées formant la famille des β-lactamines : les pénicillines, les céphalosporines, les monobactames, les carbapénèmes, afin de contrer ces phénomènes de résistance acquise.

La résistance aux antibiotiques se produit en sélectionnant les bactéries mutantes capables de survivre après être exposée à une molécule visant à inhiber leur croissance. Par conséquent, les mutants survivants se multiplient et se propagent. En raison de la prescription et de l'administration d'antibiotiques dans le monde, l'émergence de bactéries résistantes est devenue une menace et un réel enjeu de santé publique (8). Bien que la pénicillinase de *Staphylococcus aureus* ait remis en question l'utilisation de la pénicilline, ce type d'enzymes regroupées sous le terme générique de β-lactamase selon la ou les classes de molécules touchées, sont plus nombreuses chez les bacilles à Gram négatif. Les β-lactamases dont les gènes sont présents sur un plasmide, élément génétique mobile et transférable, sont les plus inquiétantes. Il s'agit des β-lactamases à spectre élargi (BLSE), des céphalosporinases de type AmpC, et des carbapénèmases.

<u>Tableau 1</u>: Dates clés de la découverte de β-lactamases depuis 1944 dans le monde (9)

Year	Enzyme	Organism	Place
1944	Penicillinase	S. aureus	-
1963	TEM-1	E. coli	Athens
1974	SHV-1	E. coli	Switzerland
1978	OXA-10	P. aeruginosa	-
1982	SME-1	S. marcescens	London
1984	IMI-1	E. cloacae	California
1988	Metallo β-lactamase	P. aeruginosa	Japan
1989	Inhibitor-resistant penicillinase	E. coli, K. pneumoniae	France, Spain, Greece
1990	NMc A	E. cloacae	Paris
1991	OXA-11		
	OXA-14	P. aeruginosa	Turkey
1991	PER-1	P. aeruginosa, S. typhimurium	Turkey
1992	MEN-1	E. coli, K. pneumoniae	France
1994	ТОНО-1	E. coli	Japan
1996	PER-2	E. coli, K. pneumoniae,	
		S. typhimurium, P. mirabilis	Germany
1997	VEB-1	E. coli	Germany

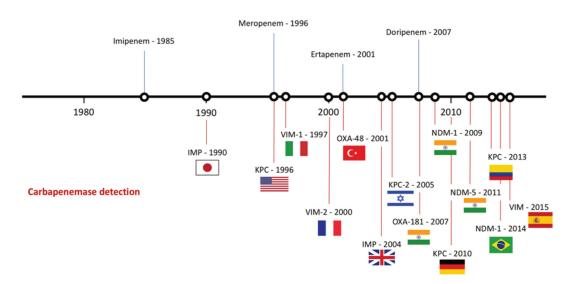
La diversité et le nombre de β-lactamases ayant émergés rapidement est décrit dans le <u>Tableau 1</u> (9). L'émergence des BLSE au sein des entérobactéries a favorisé l'utilisation des carbapénèmes pour le traitement des infections humaines. L'utilisation de ces β-lactamines à large spectre et de derniers recours est restreinte depuis une dizaine d'années du fait de la diffusion mondiale d'entérobactéries productrices de carbapénèmase (EPC)(5). Comme le montre Santé Publique France, la surconsommation d'antibiotique serait responsable de l'augmentation des résistances bactériennes aux antibiotiques, faisant craindre des impasses thérapeutiques de plus en plus fréquentes (10) (<u>Figure 1</u>).



<u>Figure 1</u>: Frise représentant l'introduction d'antibiotiques et l'apparition d'émergence de résistance secondairement à la surconsommation d'antibiotiques (11)

La première souche d'EPC a été découverte dans les années 1980. Depuis, ces bactéries se sont propagées dans le monde entier (Figure 2). Les études épidémiologiques montrent que la répartition des carbapénèmases diffèrent selon les régions du monde (12). Les entérobactéries productrices de carbapénèmase de type KPC (pour *Klebsiella Pneumoniae* Carbapenemase) sont volontiers plus présentes aux Etats Unis, en Colombie, en Argentine, en Grèce et en Italie. Tandis que les souches productrices de carbapénèmase de type OXA-48-like (pour OXAcillinase) sont très présentes en Turquie, sur l'île de Malte, au Moyen Orient, et en Afrique du Nord (12).

Carbapenem introduction



<u>Figure 2</u> : Chronologie représentant l'introduction des carbapénèmes et l'apparition de carbapénémases dans le monde (12)

En 2015, plus de 670 000 et environ 125 000 infections (dont 63,5% associées aux soins) à bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (BMR) sont recensées respectivement en Europe et en France, entrainant plus de 5 500 décès dans notre pays (13). La lutte contre l'antibiorésistance est un enjeu de santé publique majeur qui concerne l'ensemble des pays du globe (5). L'une des stratégies pour lutter contre la diffusion des BMR est d'identifier rapidement les patients porteurs (colonisés et/ou infectés) pour éviter les phénomènes de transmission, notamment en milieu hospitalier. Une attention spécifique est désormais portée sur la détection de BMR particulières que sont les bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) dont les EPC font parties. Depuis sa création en 2012, le Centre National de Référence (CNR) de la « Résistances aux antibiotiques », dont le site spécialisé dans l'analyse des EPC se situe à l'hôpital Kremlin-Bicêtre - APHP reçoit des souches d'entérobactéries de tout le territoire français pour analyse du ou des mécanismes de résistance aux carbapénèmes.

Il est nécessaire de poursuivre les efforts sur le dépistage précoce de ces BHRe à l'hôpital pour permettre le contrôle de leur diffusion à la fois dans l'environnement hospitalier mais également hors des établissements de soins.

En 2017, l'OMS a publié une liste de bactéries résistantes aux antibiotiques contre lesquelles il est urgent de développer de nouveaux antibiotiques (8). Elles sont

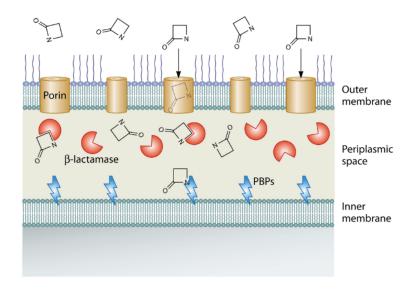
classées par niveau de priorité : critique, haute et moyenne (<u>Tableau 2</u>). Dans le groupe prioritaire critique se trouve les souches de *Acinetobacter baumannii* et de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes aux carbapénèmes ainsi que les entérobactéries productrices de BLSE (E-BLSE) et les EPC

<u>Tableau 2</u>: Liste des bactéries pour lesquelles de nouveaux antibiotiques sont nécessaires de toute urgence et classées selon leur niveau de priorité (critique, élevé, moyen) (8)

Priority level	Pathogens
Critical	Acinetobacter baumannii, carbapenem-resistant
	Pseudomonas aeruginosa, carbapenem-resistant
	Enterobacteriaceae, carbapenem-resistant & third-
	generation cephalosporin-resistant
High	Enterococcus faecium, vancomycin-resistant
	Staphylococcus aureus, methicillin-resistant, vancomycin
	intermediate and resistant
	Helicobacter pylori, clarithromycin-resistant
	Campylobacter, fluoroquinolone-resistant
	Salmonella spp., fluoroquinolone-resistant
	Neisseria gonorrhoeae, third-generation
	cephalosporin-resistant, fluoroquinolone-resistant
Medium	Streptococcus pneumoniae, penicillin-non-susceptible
	Haemophilus influenzae, ampicillin-resistant
	Shigella spp., fluoroquinolone-resistant

B. Les carbapénèmases

Les carbapénèmases sont des enzymes bactériennes qui inactivent les β -lactamines dans l'espace péri-plasmique procaryote en provoquant l'ouverture du cycle β -lactame et rendant ainsi la molécule incapable d'interagir avec ses cibles, les PLP (Protéines Liant les Pénicillines) (<u>Figure 3</u>). Le spectre d'inactivation de ces enzymes s'étend fréquemment, en plus des carbapénèmes, aux pénicillines (avec ou sans inhibiteur de pénicillinase), aux céphalosporines et aux monobactames.



<u>Figure 3</u> : Schéma montrant l'interaction des β-lactamines et des β-lactamases chez les bacilles Gram négatif (14)

La β -lactamine représentée par le cycle β -lactame entre dans la bactérie par les porines (représentées en marron). Une fois dans l'espace périplasmique, l'antibiotique est hydrolysé par la β -lactamase (représentée en rouge) l'empêchant ainsi d'interagir avec sa cible, les PLP (Protéines Liant les Pénicillines) ou PBP (Penicillin Binding Proteins).

Chaque année, le nombre de souches reçues au CNR et la proportion d'EPC n'ont cessé d'augmenter. Selon les données du CNR, les carbapénèmases de type OXA-48 représentent actuellement 63,3% des EPC circulant en France, suivies des enzymes de type NDM (New Delhi Métallo-β-lactamase), 20,1% (5). Les EPC sont majoritairement identifiées lors de dépistage de portage rectal (70%), mais les cas d'infection ne sont pas rares. L'augmentation continue de la prévalence des métallo-β-lactamases est inquiétante car les nouveaux inhibiteurs de β-lactamase (avibactam, relebactam ou vaborbactam) mis actuellement sur le marché ne sont pas actifs sur cette classe de carbapénèmase. Enfin, le séquençage quasi systématique du génome complet des EPC par le CNR a permis d'identifier certains clones plus à risque de diffusion pouvant être responsables d'épidémies hospitalières.

1. Classification

Il existe depuis 1980 une classification moléculaire ou structurelle des différentes β-lactamases basée sur la séquence nucléo-peptidique de l'enzyme : classification d'Ambler (<u>Tableau 3</u>) (15). Elle sépare les β-lactamases en enzymes de

classe A, C ou D si leur action est sérine-dépendante, et en classe B si leur action est dépendante d'ions métalliques divalents (principalement Zn²⁺).

Tableau 3: Classification d'Ambler (15)

	Classe A	Classe B	Classe C	Classe D
	Sérine-β- lactamases	Métallo-β- lactamases	Céphalosporinases	Oxacillinases
	Pénicillinases		- AmpC non inductibles	
	(K.pneumoniae et		(E. coli)	
Chromocomicus	C. koseri)		- AmpC inductibles	
Chromosomiques			(Entérobactéries du	
			groupe 3)	
			- AmpC déréprimées	
	Pénicillinases	Carbapénèmases	AmpC plasmidiques	Oxacillinases
	TEM, SHV	VIM, IMP, NDM		Oxacillinases à
Dlaamidiauaa	BLSE TEM, SHV,			spectre étroit,
Plasmidiques	CTX-M			BLSE
	Carbapénèmases			Carbapénèmases
	KPC			OXA-48-like

Il existe également une classification fonctionnelle, proposée en 1995 par Bush, Jacoby et Medeiros. Elle est basée sur la combinaison des substrats et inhibiteurs (acide clavulanique ou tazobactam; et EDTA) (16).

Cette classification compte 3 groupes principaux (Tableau 4):

- Le groupe 1 correspondant aux céphalosporinases non inhibées par l'acide clavulanique, le tazobactam ou l'EDTA. Ces enzymes sont par ailleurs inhibées par la cloxacilline.
- Le groupe 2 correspondant aux β-lactamases à sérine active : ce groupe est donc le plus étoffé intégrant les pénicillinases, les oxacillinases, les βlactamases à spectre étendu ainsi que des carbapénèmases, majoritairement inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam et non inhibées par l'EDTA.

 Le groupe 3 correspondant aux MBL à activité carbapénèmase, inhibées par l'EDTA.

<u>Tableau 4</u>: Classification de Bush-Jacoby-Medeiros (9)

Group	Enzyme Type	Inhibition by Clavulanate	Molecular Class	No. of Enzymes	Example
1	Cephalosporinase	No	С	53	E. cloacae P 99, MIR-1
2a	Penicillinase	Yes	A	20	S. aureus, S. albus
2b	Broad spectrum	Yes	A	16	TEM-1, SHV-1
2be	Extended spectrum	Yes	A	38	TEM-3, SHV-2, K. oxytoca K1
2br	Inhibitor resistant	Diminished	A	9	TEM-30, TRC-1
2c	Carbenicillinase	Yes	A	15	PSE-1, CARB-3, BRO-1
2d	Cloxacillinase	Yes	D or A	18	OXA-1, PSE-2, Streptomyces cacaoi
2e	Cephalosporinase	Yes	Α	19	Proteus vulgaris, Bacteroides fragilis Cep A
2f	Carbapenemase	Yes	A	3	E. cloacae IMI-1, NMC-A
3	Metalloenzyme	No	В	15	Xanthomonas maltophilia L1
4	Pencillinase	No		7	Pseudomonas cepacia

C'est toutefois la classification d'Ambler qui fait office de référence et qui est la plus utilisée en pratique.

2. Spectre d'inactivation et origine

Les classes de carbapénémases ont des spectres d'inactivation différents visà-vis des β -lactamines. Ces différences d'hydrolyse résultent des variations d'affinité de l'enzyme pour les substrats β -lactamines.

a. classe A : Sérine-β-lactamases

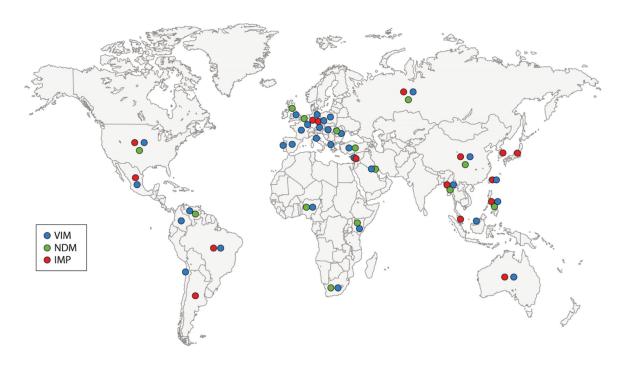
Les enzymes de type KPC inactivent toutes les β-lactamines, malgré leur association à des inhibiteurs de pénicillinases tels que l'acide clavulanique ou le tazobactam qui n'inhibent que très partiellement leur activité. Des inhibiteurs de β-lactamases de développement plus récent tel que l'avibactam, le relebactam et encore le vaborbactam y parviennent davantage. Les souches produisant cette enzyme sont souvent multi-résistantes, et possèdent des mécanismes de résistances à d'autres familles d'antibiotiques. A la fin des années 1990, la famille des KPC a émergé sur la côte est des États-Unis. Elle est depuis devenue la carbapénèmase la plus fréquemment rencontrée dans le monde (17).

b. classe B : Métallo-β-lactamases

Les métallo-enzymes inactivent toutes les β-lactamines à l'exception de l'aztréonam. Elles sont insensibles aux inhibiteurs de β-lactamases, y compris ceux récemment découverts. En 1990, des scientifiques japonais ont identifié la première carbapénèmase IMP (pour IMiPenemase) produite par *Pseudomonas aeruginosa* (18). Le gène plasmidique *bla*IMP, codant cette enzyme, a ensuite été retrouvé très rapidement chez *Serratia marcescens* ainsi que d'autres entérobactéries par sa forte dissémination (19). La résistance aux carbapénèmes au Japon et en Asie du sud est liée majoritairement à la production de cette enzyme (20), qui s'est également propagée en Australie (21).

En 1997, une nouvelle MBL, VIM-2 (pour Verona Integron-encoded Metallo-β-lactamase), a été découverte chez *Pseudomonas aeruginosa* en Italie (22). Aujourd'hui, on retrouve cette enzyme dans le monde entier, principalement chez les entérobactéries et *P. aeruginosa* (<u>Figure 4</u>).

La New-Delhi-Métallo-β-lactamase (NDM) a été mise en évidence pour la première fois en 2009 dans une souche de *Klebsiella pneumoniae* provenant d'un patient Suédois ayant été hospitalisé en Inde auparavant (23). En moins de 10 ans, après s'être propagé dans les régions de l'Inde et au Pakistan, cette carbapénèmase NDM-1 s'est répandue dans le monde entier et a été détectée dans de nombreuses espèces bactériennes dont *P. aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (24). Les souches exprimant NDM-1 sont préoccupantes car elles sont souvent multirésistantes, le gène *bla*NDM se transmettant en association à d'autres gènes de résistance. Une étude a montré la corrélation entre la présence de NDM-1 et les méthylases de l'ARN16S ArmA, RmtB ou RmtC entrainant une résistance aux aminosides (25).



<u>Figure 4</u>: Distribution mondiale des entérobactéries et Pseudomonas aeruginosa producteurs de métallo-β-lactamase de 2012 à 2014 (24)

VIM : Verona Integron-encoded Metallo-β-lactamase

NDM : New Delhi Métallo-β-lactamase

IMP: IMiPenemase

c. classe D : Oxacillinases

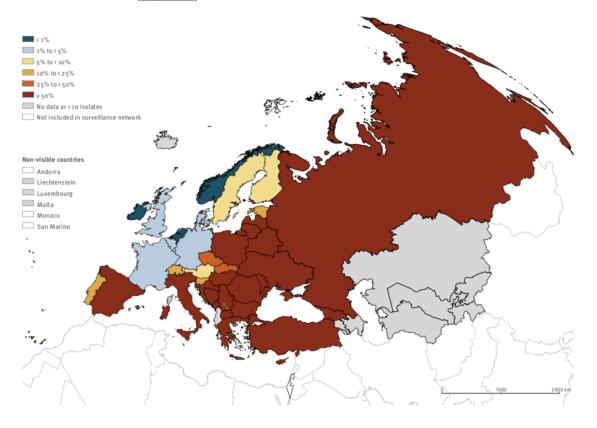
Les oxacillinases ou OXA inactivent principalement les pénicillines et les carbapénèmes. Elles sont peu sensibles aux inhibiteurs de β-lactamases à l'exception de l'avibactam. Les oxacillinases ayant une activité carbapénèmase sont les OXA-23, OXA-40 et plus fréquemment les OXA-48-like (OXA-48, OXA-162, OXA-181, OXA-232). Les souches qui expriment ces dernières peuvent être sensibles aux céphalosporines, et inactivent faiblement les carbapénèmes. C'est pourquoi il est parfois difficile de détecter les souches hébergeant ce mécanisme de résistance (26).

En 2001, l'OXA-48 a été décrite pour la première fois en Turquie chez une souche de *Klebsiella pneumoniae* d'un patient présentant une infection urinaire (26). Elle a été disséminée en Europe et dans la région méditerranéenne. Sa prévalence est faible aux Etats Unis où seulement quelques clusters ont été signalés (27).

3. Epidémiologie

- a. En Europe
- Acinetobacter baumannii résistant à l'imipénème ou ABRI

Le pourcentage d'ABRI varie considérablement selon les régions avec un gradient Nord-Sud marqué (28). L'Europe méditerranéenne et orientale est principalement touchée par la résistance aux carbapénèmes. La résistance aux carbapénèmes est expliquée, en grande partie, par des oxacillinases aux propriétés de carbapénèmases spécifiques à Acinetobacter spp. (OXA-23, OXA-40, OXA-58 et OXA-143) (29). La région des Balkans étant, quant à elle, un réservoir de souches productrices de NDM (Figure 5).

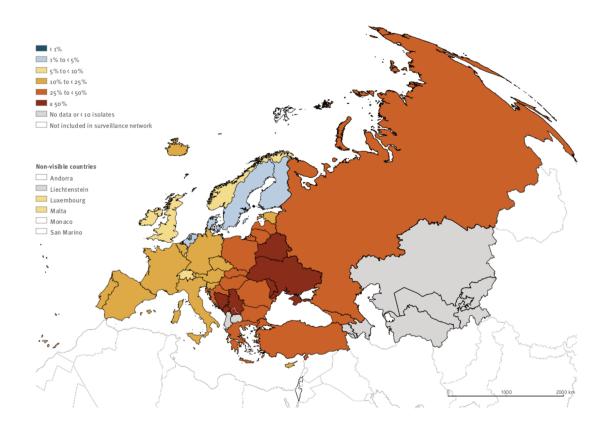


<u>Figure 5</u>: Pourcentage de souches invasives de Acinetobacter spp. présentant une résistance aux carbapénèmes (imipenème/meropenem) par pays, régions européennes de l'OMS 2020 (28)

Pseudomonas aeruginosa

En 2020, on constate que 4 des 41 pays des régions européennes de l'OMS ont un taux de résistance aux carbapénèmes chez *P. aeruginosa* inférieur à 5%. Ce

taux est supérieur à 50% dans 6 pays, il s'agit de la Bosnie-Herzégovine, le Monténégro, la Biélorussie, la Moldavie, la Serbie et l'Ukraine (28) (Figure 6).



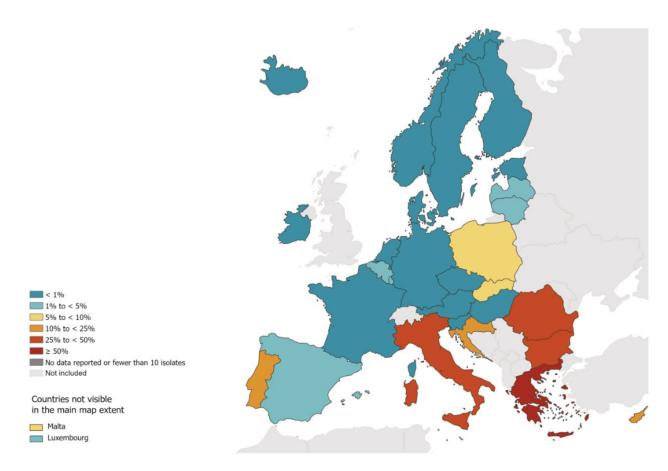
<u>Figure 6</u>: Pourcentage de souches invasives de Pseudomonas aeruginosa présentant une résistance aux carbapénèmes (imipenème/méropénème) par pays, régions européennes de l'OMS, 2020 (28)

Entérobactérales

Les données de l'ECDC sont rapportées pour *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* uniquement (28). La résistance aux carbapénèmes a été évaluée par la résistance à l'imipénème et/ou méropénème. Parmi les 134 032 souches de *E. coli* étudiées, seulement 0,2% sont résistantes aux carbapénèmes en 2020. Bien que ces isolats soient rares, on note une augmentation significative entre 2016 et 2020 dans l'Union Européenne et Espace Economique Européen (EU.EEA). Cependant, il existe des souches produisant des carbapénèmases qui restent sensibles *in vitro* au méropénème et/ou à l'imipénème. Une étude récente de l'ECDC a mis en évidence le risque de la propagation d'une souche de *E. coli* productrice d'une carbapénèmase de

type OXA-244 (30) soulignant l'importance d'étudier les réservoirs et le potentiel de diffusion de ces souches.

Parmi les 39 006 souches de *K. pneumoniae* étudiées, 10,0% sont résistantes aux carbapénèmes. En plus d'une tendance à l'augmentation significative du pourcentage de résistance aux carbapénèmes au sein de cette espèce, il a été observé une augmentation proportionnellement plus importante entre 2019 et 2020 que par rapport aux années précédentes. Les pourcentages de souches résistantes les plus élevés de résistance ont été observés dans le sud et le sud-est de l'Europe (<u>Figure 7</u>).



<u>Figure 7</u>: Pourcentage de souches invasives de Klebsiella pneumoniae résistantes aux carbapénèmes (imipénème/méropénème) par pays, régions européennes de l'OMS, 2020 (28)

En lien avec ces données, il n'a toutefois pas été possible d'évaluer la présence globale et la propagation des EPC à partir des données de l'étude EARS-Net, car certaines carbapénèmases n'ont pas un phénotype entièrement résistant aux carbapénèmes.

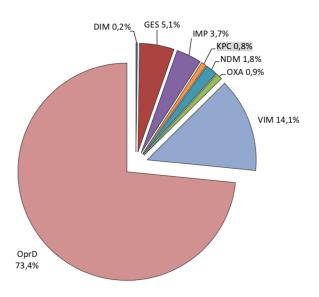
b. En France

Acinetobacter baumannii résistant à l'imipénème ou ABRI

En 2020, 3,3% des souches invasives de *A. baumannii* étaient résistantes aux carbapénèmes en France et 90,2% en 2020 des souches reçues au CNR se sont avérées héberger une carbapénèmase (principalement de type OXA-23, OXA-24/40 et NDM-1) seule ou associée à une BLSE dans 3,6% et 3,3% des cas respectivement.

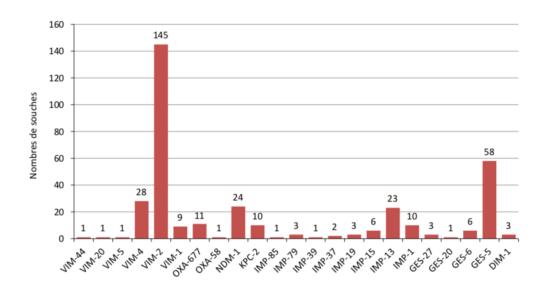
Pseudomonas aeruginosa

En 2020, 12,6% des souches invasives de *Pseudomonas aeruginosa* étaient résistantes aux carbapénèmes en France. Le mécanisme de résistance le plus fréquent est la perte de la porine par mutation du gène OprD, mécanisme non transférable. 4,7% des souches produisaient une pénicillinase isolée, 11,3% une β-lactamase à spectre élargi (BLSE appartenant en majorité aux types GES-1, PER-1, SHV-2a, VEB-1a, OXA-19 et OXA-35), 16,6% une carbapénèmase (essentiellement des types GES-5, IMP-13, NDM-1, VIM-2 et VIM-4) et 2,3% diverses associations de BLSE et de carbapénèmases (<u>Figure 8</u>). Une progression des souches produisant les enzymes GES-1, GES-5 et NDM-1 a été notée (31).



<u>Figure 8</u> : Mécanismes à l'origine de la résistance à l'imipenème chez Pseudomonas aeruginosa en France (2019-2020)(31)

L'enzyme VIM-2 est, selon ce recueil de données, la principale carbapénèmase identifiée chez *P. aeruginosa* en France (<u>Figure 9</u>).



<u>Figure 9</u>: Distribution des carbapénèmases chez *Pseudomonas aeruginosa* en France (2019-2020)(31)

Toutefois, le CNR a montré un nette augmentation du nombre de souche renfermant la métallo-β-lactamase NDM-1 sur la période 2019-2020. En effet, seulement 6 isolats avaient été identifiés de 2012 à 2018, et 24 de 2019 à 2020. La moitié proviennent d'établissements situés en Département d'Outre-Mer : Guyane, La Réunion et Mayotte.

Entérobactérales

Durant l'année 2020, le CNR a reçu 2208 souches produisant une ou plusieurs carbapénémases (31). Ces enzymes appartenaient principalement aux types OXA-48-like (63,3%), NDM (20,1%), VIM (9,2%) et KPC (2,9%) (<u>Tableau 5</u>).

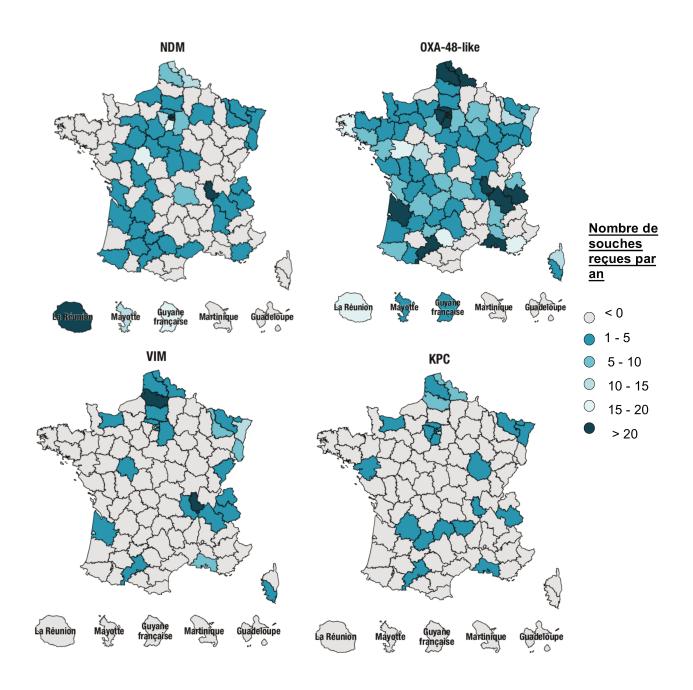
<u>Tableau 5</u> : Distribution des carbapénèmases produites par des entérobactéries identifiées au CNR en 2020 (5)

Classe de Ambler	Type de carbapénémase	Nombre de souches	%
Classe A	KPC	65	2,9
	GES-5	1	0,05
	IMI	20	0,9
	NMC-A	2	0,1
Classe B	NDM	443	20,1
	VIM	204	9,2
	NDM + VIM	6	0,3
Classe D	OXA-48-like	1 398	63,3
	0XA-23	11	0,5
Classe A + Classe D	KPC + OXA-48-like	1	0,05
Classe B + Classe D	NDM + OXA-48-like	46	2,1
	VIM+ OXA-48-like	10	0,5
	NDM + VIM+ OXA-48-like	1	0,05
TOTAL		2 208	100

Les métallo-β-lactamases représentaient 32,1% des carbapénèmases identifiées en 2020 (21,4% en 2017 ; 25,0% en 2018 ; 25,4% en 2019). Cette augmentation est d'autant plus inquiétante que les nouvelles associations ceftazidime-avibactam, meropenem-vaborbactam et imipenème-relebactam restent inefficaces sur les EPC produisant ces enzymes.

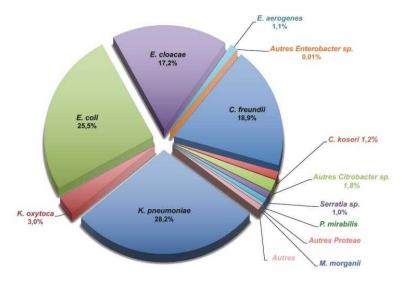
Au total, la répartition géographique des EPC est relativement stable depuis 2012 (5). Elles sont principalement identifiées dans quatre régions à forte densité de population : Île-de-France, la région Provence-Alpes-Côte d'Azur (PACA), les Hauts-de-France et la région Auvergne-Rhône-Alpes. C'est dans la région des Hauts-De-France que le plus grand nombre d'EPC est isolé.

La carbapénèmase produite par les entérobactéries la plus fréquente est l'OXA-48-like loin devant les carbapénèmases de type NDM, VIM et KPC. Les souches produisant une carbapénémase de type NDM sont, elles, principalement isolées en Île-de-France, en PACA et en Auvergne-Rhône-Alpes. Quant aux EPC de type VIM, leur prévalence est plus importante dans les Hauts-de-France et en Auvergne-Rhône-Alpes (Figure 10).



<u>Figure 10</u> : Répartition géographique des souches d'EPC selon le type de carbapénémases en 2020 en France (29)

Les différentes espèces reçues au CNR pour analyse du phénotype sont en majorité des souches de *Escherichia coli* (25,5%) et de *Klebsiella pneumoniae* (28,2%) suivi de près par des souches de *Enterobacter cloacae* (17,2%) et de *Citrobacter freundii* (18,9%) (Figure 11).



<u>Figure 11</u>: Distribution par espèce des EPC reçues en 2020 au CNR des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes (31)

c. Dans l'Océan Indien

L'île de La Réunion est un département français d'outre-mer situé à proximité de Madagascar et relié à l'Afrique australe, au sous-continent Indien et à l'Europe, par plusieurs vols hebdomadaires.

Le réseau de surveillance régionale des résistances aux antibiotiques de La Réunion a analysé et rédigé un rapport pour l'année 2019 (32). Ce réseau du CPIAS Océan Indien comprend des microbiologistes ainsi que des hygiénistes.

Acinetobacter baumannii résistant à l'imipénème ou ABRI

Le taux global de résistance à l'imipenème reste stable depuis 2016, et est de 11 à 12%. Il est de 12,6% en 2019, ce qui reste supérieur aux données métropolitaines. Cette résistance est essentiellement retrouvée dans les gros établissements de santé de la région.

Les clones retrouvés sont différents selon les archipels (33) :

- Clone comorien ST1 OXA-23 + NDM-1 (résistant au céfidérocol, sensible à la tobramycine)
- Clone de Madagascar (34): OXA-23 ou OXA-24 (potentiellement sensible à la ceftazidime)

Clone de l'île Maurice OXA-23 ± ArmA (méthylase arn16s) (sensible au céfidérocol, résistant à la tobramycine)

Pseudomonas aeruginosa

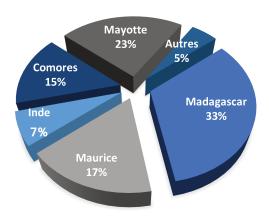
En 2019, le taux de résistance à l'imipenème pour *P. aeruginosa* était de 8,73% en moyenne.

Une épidémie de *P. aeruginosa* producteur de NDM a eu lieu entre 2020-2021 au CHU Sud de La Réunion provoquant 3 cas d'infections et ayant entrainé 2 décès.

Entérobactérales

La Réunion était relativement préservée de ce type d'isolats jusqu'en 2014, mais une forte augmentation d'EPC a été détectée à partir de 2015 sur 4 établissements.

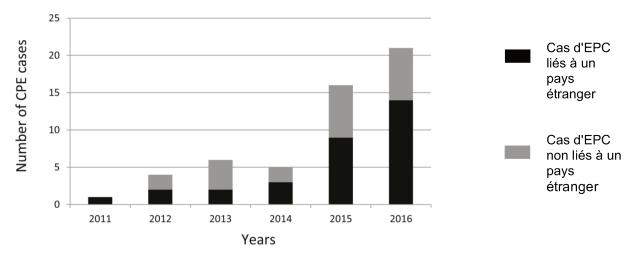
En 2019, 53 des patients infectés ou colonisés (63%) ont un lien en dehors de l'île, et le plus souvent avec Les Comores, Mayotte ou Madagascar (<u>Figure 12</u>).



<u>Figure 12</u>: Distribution des pays ou régions ayant un lien avec les infections ou colonisations à EPC à La Réunion (32)

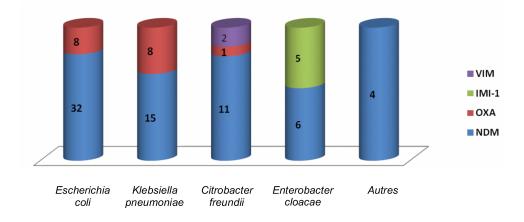
Une étude observationnelle, menée par Miltgen et son équipe sur la circulation des EPC dans le sud-ouest de l'Océan indien de 2011 à 2016, a recensé 61 EPC (53 patients) (35). Parmi les patients infectés ou colonisés par ces EPC, 69,8% avaient un lien hors de La Réunion, dont presque la moitié (47,2%) par le biais d'évacuations sanitaires. Au cours des années allant de 2012 à 2016, la proportion de patients colonisés ou infectés par des EPC et ayant voyagé à l'étranger était de 50% en 2012

; 33,3% en 2013 ; 60% en 2014 ; 56,3% en 2015 et 66,7% en 2016 (<u>Figure 13</u>). Par ailleurs, la plupart des isolats qui n'ont pas de lien hors de l'île n'ont pas de relation clonale, ce qui montre la propagation locale des gènes codant pour la carbapénémase prédominante (*blaNDM*) au sein de la population bactérienne insulaire.



<u>Figure 13</u>: Nombre de patients colonisés et/ou infectés par des EPC détectées entre 2011 et 2016 à La Réunion (France) (32).

Les carbapénèmases majoritaires chez les entérobactéries sont des métallo-β-lactamases de type NDM; principalement NDM-1, et de NDM-5, concernant *Escherichia coli*. Les souches de *Enterobacter cloacae* produisant une IMI-1 étaient en lien avec une épidémie survenue à Mayotte depuis 2016 (<u>Figure 14</u>).



<u>Figure 14</u> : Mécanismes de résistance aux carbapénèmes en fonction des espèces bactériennes à La Réunion en 2019 (32)

De manière singulière, il a été remarqué que les cas importés étaient retrouvés majoritairement au CHU Nord, et les cas autochtones au CHU Sud (33).

En juin 2020, un cluster de *E. cloacae* produisant une carbapénèmase de type NDM-1 a été décrit en unité de soins intensifs au CHU Nord de La Réunion (36). Les facteurs favorisant étaient le mauvais usage de gants, ainsi que l'absence de changement de protection individuelle dans un contexte de pénurie lié à l'épidémie de SARS-CoV-2. En effet, 5 isolats appartenaient au même clone ST90.

C. Traitements alternatifs aux carbapénèmes : données actuelles

Les carbapénèmes sont des antibiotiques à large spectre qui jouent un rôle essentiel en tant en tant qu'agents anti-infectieux de dernier recours dans les infections à E-BLSE et bacilles à Gram négatif (BGN) multirésistants. Malheureusement, lorsque les BGN font l'acquisition d'un mécanisme de résistance touchant cette classe d'antibiotiques, les alternatives thérapeutiques se font très rares. Quelques molécules de découverte récente ainsi que d'autres plus anciennes restent actives, toutefois leur activité dépend très souvent du type de mécanisme de résistance et de l'espèce bactérienne concernée.

1. Nouvelles associations β-lactamines et Inhibiteur de β-lactamase (IBL)

Ces dernières années, de nouvelles associations de β-lactamines - IBL ont été développées. Elles combinent soit une β-lactamine déjà existante avec un nouvel IBL, soit une nouvelle β-lactamine avec un IBL déjà utilisé. Leur spectre d'activité va dépendre de la classe de la carbapénèmase visée ainsi que de l'espèce bactérienne hébergeant l'enzyme (Tableau 6).

Parmi ces nouvelles combinaisons, l'association ceftazidime-avibactam a été la première disponible. Elle est active sur la majorité des entérobactéries ; l'avibactam permettant de contrer l'activité de la plupart des β-lactamases (BLSE, β-lactamases de classe A, C, et certaines D). Néanmoins il reste inefficace sur les bactéries productrices de MBL, les ABRI ainsi que sur la majorité des bactéries à Gram positif et anaérobies strictes. Elle a montré son intérêt dans la prise en charge des infections intra-abdominales ou infections urinaires dans le cadre d'une stratégie d'épargne des carbapénèmes (37).

<u>Tableau 6</u> : Spectre d'inactivation des nouvelles associations β-lactamine-IBL sur les carbapénèmases

Antibiotique	(El Classe (PC (Amble	r)	P. aeruginosa	A. baumannii	
, anabioaque	А	В	С	D	R aux carbapénèmes	R aux carbapénèmes	
Ceftolozane/tazobactam	-	-	+	-	±	-	
Ceftazidime/avibactam	+	-	+	+	±	-	
lmipénème/relebactam	+	-	+	-	±	±	
Méropénème/vaborbactam	+	-	+	-	±	±	
Aztréonam/avibactam	+	+	+	+	±	±	
Céfidérocol	+	±	+	+	+	±	
Méropénème/nacubactam	+	-	+	-	+	-	
Céfépime/taniborbactam	+	+	+	+	+	-	
Céfépime/enmetazobcatam	-	-	+	-	±	-	
Céfépime/zidébactam	+	-	+	+	+	-	
Ceftaroline/avibactam	+	-	+	+	-	-	
Durlobactam/sulbacatam	+	-	+	+	-	+	

Actif
Inactif
Variable

L'association ceftolozane-tazobactam combine une céphalosporine de 5^e génération à un ancien IBL. Cette association est principalement active sur les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, et de E-BLSE, mais reste inactive sur quasiment toutes les souches productrices de carbapénèmases. Elle est indiquée dans le traitement des infections intra-abdominales et urinaires compliquées, ainsi que dans le traitement des pneumopathies nosocomiales (38)(39).

Deux nouvelles associations, méropénème-vaborbactam et imipénème-relebactam, ont également fait leur preuve dans le traitement des infections intra-abdominales et infections urinaires compliquées. Le relebactam et le vaborbactam servent à préserver l'imipénème et le méropénème respectivement de l'action des carbapénèmases de classe A et C (44).

Encore très peu d'antibiotiques sont développées contre les souches productrices de MBL (classe B). L'association aztréonam-avibactam, actuellement en cours d'essais cliniques, associe une monobactame non hydrolysée par les MBL, à un inhibiteur de β-lactamase de classe A, C et D. Cette combinaison serait efficace sur l'ensemble des EPC (41). En effet, les souches produisant une MBL, sensibles à l'aztréonam, coproduisent souvent des enzymes pouvant inactiver cet antibiotique (céphalosporinase de type AmpC, BLSE). Son association permettrait de soustraire l'aztréonam à l'action de ces enzymes. Dans l'étude de Emeraud, sur 58 souches de BGN dont 50 entérobactéries productrices de MBL, 3 *P. aeruginosa* et 5 *Stenotrophomonas maltophilia,* l'association a restauré l'activité de l'aztréonam dans 86% des cas. Une revue de la littérature a montré que pour 94 patients traités par l'association ceftazidime-avibactam + aztréonam, une amélioration clinique dans les 30 jours était constatée chez 80% des patients traités (42).

Enfin, des essais cliniques ont montré une efficacité et non-infériorité par rapport au méropénème de l'association céfépime-taniborbactam dans la prise en charge des infections urinaires compliquées (43)(44). D'autres associations β-lactamines-IBL sont en développement comme le méropénème-xeruborbactam, ou encore le durlobactam-sulbactam.

À la lumière de ces données, il apparaît essentiel de positionner les associations β -lactamines-IBL en fonction des espèces bactériennes et des β -lactamases qu'elles produisent, comme le recommande l'IDSA (<u>Tableau 7</u>).

<u>Tableau 7</u>: Priorisation des associations β -lactamines-IBL en fonction des β -lactamases et de l'espèce bactérienne selon les recommandations de l'IDSA dans la prise en charge des infections compliquées (45)

	1 ^{ière} intention	Alternatives
Classe A (KPC, GES)	Ceftazidime-avibactam	Imipénème-relebactam (en 2 ^{ème} intention)
		Méropénème-vaborbactam (en 2ème intention)
		Céfidérocol (en 3 ^{ème} intention)
Classe B (NDM, VIM, IMP)	Aztréonam-avibactam	Céfidérocol
Classe C (AmpC)	Ceftolozane-tazobactam	Ceftazidime-avibactam
Classe D	Ceftazidime-avibactam	Céfidérocol
P. aeruginosa Résistant	Ceftolozane-tazobactam	Ceftazidime-avibactam (en 2 ^{ème} intention)
aux carbapénèmes		Imipénème-relebactam (en 3 ^{ème} intention)
A. baumannii Résistant	Aztréonam-avibactam	Céfidérocol
aux carbapénèmes		

2. Les tétracyclines

Les cyclines ou tétracyclines sont des antibiotiques qui se fixent sur la sousunité 30S des ribosomes bactériens. En s'opposant à la fixation de l'aminoacyl-ARNt sur le site constitué par le complexe ARNm-ribosome, elles stoppent la phase d'élongation de la synthèse protéique.

La tigécycline, dernière cycline commercialisée et premier membre de la famille des glycylcyclines, a une affinité environ cinq fois plus puissante que les tétracyclines "historiques" au niveau de la sous-unité ribosomale 30S. Il s'agit d'un antibiotique bactériostatique à large spectre avec un grand volume de distribution (>12L/kg). En effet, la tigécycline possède un spectre d'activité efficace sur l'ensemble des *cocci* à Gram positif et sur une très grande partie des BGN, même multirésistants. Elle est inefficace sur les souches de *P. aeruginosa* naturellement résistantes à cette famille d'antibiotiques. Dans une étude de 2015, Sader et son équipe rapporte une sensibilité de 88,6% des souches d'EPC provenant de 18 pays européens à la tigécycline (46). Néanmoins, la tigécycline a été associée à un sur-risque d'échecs cliniques et de mortalité probablement dû aux faibles concentrations sériques obtenues. En effet, en raison de sa large distribution dans les tissus, son taux sanguin est bas, étant peu favorable dans la prise en charge des bactériémies (47). Dans une stratégie d'épargne

des carbapénèmes dans les infections à *K. pneumoniae* KPC en réanimation, Sbrana et son équipe montrent dans une étude observationnelle que l'utilisation d'une forte posologie de tigécycline associées à la colistine ou à la gentamicine (et à la fosfomycine dans certains cas) permettait un succès clinique dans 92% des cas (48). C'est pourquoi, la posologie de tigécycline actuellement recommandée comporte une dose de charge de 200mg suivie de 100mg toutes les 12heures, pouvant toutefois entrainer une tolérance digestive limitée. Son efficacité imprévisible sur les entérobactéries, quel que soit leur phénotype de résistance aux β-lactamines, ne permet pas d'envisager son utilisation sans avoir, au préalable, déterminé sa sensibilité au laboratoire (49).

L'eravacycline, un dérivé synthétique de la tigécycline, est un nouvel antibiotique à large spectre sous forme intra-veineuse ou orale. Elle est active sur les *Staphylococcus aureus* résistantes à la méticilline (SARM), les entérocoques résistants aux glycopeptides (ERG), ABRI, *Stenotrophomonas maltophilia*, les bactéries anaérobies strictes, les EPC de classe A et B, et les E-BLSE. Dans l'essai IGNATE 1 et IGNATE 4, sa non infériorité *vs* ertapénème et méropénème respectivement a été prouvée dans la prise en charge des infections intra-abdominales (50). Elle semble stable vis-à-vis des mécanismes de résistances habituels aux cyclines (efflux, mutation de cible).

3. La fosfomycine

La fosfomycine est un antibiotique ancien qui possède une activité bactéricide avec un large spectre vis-à-vis des bactéries à Gram positif et négatif. Agissant au niveau de la synthèse du peptidoglycane, sa faible masse moléculaire lui confère une bonne diffusion tissulaire (51). L'utilisation de la fosfomycine en monothérapie est déconseillée en raison de la probabilité élevée de sélectionner des mutants résistants responsables d'échecs thérapeutiques, mais elle représente une synergie d'action en association avec les β-lactamines ou la colistine (52). Dans une étude multicentrique observationnelle prospective menée au sein de plusieurs services de réanimation, l'évolution clinique et microbiologique a été évaluée chez 48 patients présentant principalement des pneumopathies acquises sous ventilation mécanique et des bactériémies. La fosfomycine était administrée en IV à 24 g/j pour une durée médiane de 14 jours en monothérapie (37,5 % des cas), en bithérapie (54,2 % des cas) ou en

trithérapie (8,3 % des cas) avec la colistine, la tigécycline ou la gentamicine. Le taux de succès clinique à J14 était de 54,2 %, avec un taux d'éradication microbiologique de 56,3 %. L'effet secondaire le plus rencontré était une hypokaliémie chez environ 20 à 25 % des patients (53).

Dans une étude portant sur des souches de *K. pneumoniae* productrices d'OXA-48, une synergie était retrouvée dans 30 à 40 % des cas avec les carbapénèmes ou la tigécycline mais pas avec la colistine (54).

4. La colistine

La colistine a été utilisée en clinique à partir de 1959 puis délaissée dans les années 1970 en raison de sa néphrotoxicité. L'émergence de BGN multirésistants et l'absence de molécules actives a conduit à reconsidérer cette molécule en thérapeutique. La colistine est administrée sous forme d'une prodrogue inactive (colistiméthate). En raison de sa conversion lente en forme active, il est recommandé d'administrer une dose de charge afin d'atteindre les taux thérapeutiques dans les plus brefs délais. Ces taux sont atteints en 12 à 24 heures lors de l'utilisation d'une dose de charge, alors que plus de 48 heures seront nécessaires dans le cas contraire (55) (56). Elle se fixe sur une partie du LPS, et altère la perméabilité membranaire, lui conférant une action bactéricide.

Le risque de toxicité rénale connue de la colistine est majoré en cas d'utilisation de fortes doses et d'association à d'autres médicaments néphrotoxiques. La variation interindividuelle de la concentration et la fenêtre thérapeutique étroite démontrent l'intérêt de monitorer les concentrations sériques. Dans le cadre de la prise en charge des patients de réanimation, l'optimisation de l'hydratation peut permettre de diminuer ce risque (57) (58). Par ailleurs, des sous-dosages peuvent être à l'origine d'échec thérapeutique et constituent un des facteurs de risque d'émergence de résistance. Cette dernière est aussi en partie expliquée par l'utilisation croissante de la colistine, notamment en monothérapie, ces dernières années, et certains travaux évoquent un terrain génétique sous-jacent. La résistance à la colistine constituerait un facteur de risque indépendant de mortalité (59) (60). C'est pourquoi elle est désormais utilisée en association, notamment avec les carbapénèmes du fait d'une synergie *in vitro* dans le traitement des EPC sensibles à la colistine.

Reconnue comme l'une des molécules les plus actives *in vitro*, la colistine est une alternative thérapeutique de choix sous réserve d'une optimisation de la dose, et

d'une surveillance de la fonction rénale et en association avec d'autres antibiotiques (61).

D. Le céfidérocol

1. Structure et propriétés physicochimiques

Le céfidérocol (anciennement S-649266) est un antibiotique de la classe des céphalosporines couplé à un groupement sidérophore développé par Shionogi & Co. (Japon). Comme illustrée dans la <u>Figure 15</u>, la structure est similaire à la ceftazidime et au céfépime. Il est composé de deux chaines latérales en position 7 (groupement carboxypropanoxyimino), qui renforcent la stabilité vis à vis des β-lactamases, et en position 3 (groupement pyrrollidinium) qui facilite le passage à travers la membrane externe des BGN et limite l'affinité pour les β-lactamases, ainsi que d'un groupement catéchol (62) ou groupement sidérophore qui a deux intérêts :

- fixer le fer libre extracellulaire et permettre une pénétration dans la bactérie à
 Gram négatif par transport actif
- protéger la molécule de l'activité inactivatrice de la plupart des β-lactamases,
 dont les Métallo-β-lactamase.

Figure 15 : Structure chimique du céfidérocol (63)

Le groupement en position 7 (rouge) est le groupement carboxypropanoxyimino commun avec la ceftazidime, le groupement en position 3 (bleu) est le groupement pyrrollidinium commun avec le céfépime, et le groupement sidérophore (vert) est le groupement catéchol

2. Mode d'action

La plupart des β-lactamines traversent la membrane externe des BGN par diffusion passive via des porines. Le céfidérocol, quant à lui, a un mécanisme d'action unique ; en plus d'utiliser la diffusion passive, ce sont les transports actifs du fer de la bactérie qui libèrent l'antibiotique dans l'espace périplasmique, Il se lie aux protéines de liaison à la pénicilline (PLP3), ce qui inhibe la synthèse du peptidoglycane de la paroi cellulaire bactérienne et entraîne la lyse et la mort de la bactérie. Les transporteurs de fer sont régulés à la hausse dans des conditions d'appauvrissement en fer, comme c'est le cas *in vivo* en cas d'infection systémique (<u>Figure 16</u>). Par exemple les transporteurs PiuA chez *P. aeruginosa*, délivrent le céfidérocol à travers la membrane externe et dans l'espace périplasmique, où l'atome de fer se dissocie et entre dans le cytoplasme en traversant la membrane cytoplasmique.

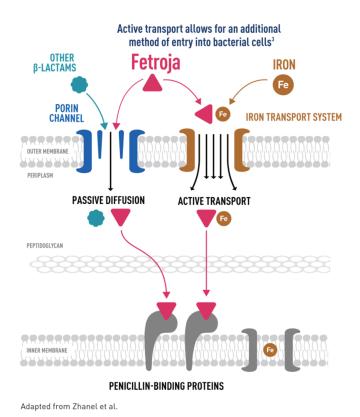
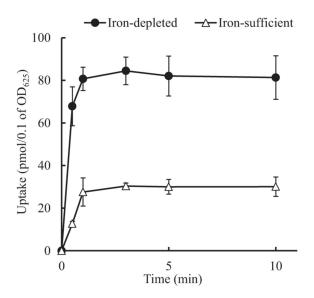


Figure 16 : Mécanisme d'action du céfidérocol sur les BGN (64)

Le céfidérocol ou Fetroja® (représenté par le triangle rose) traverse la paroi bactérienne par diffusion passive via les porines (représentées en couleur bleue), et par diffusion active via le système de transport du fer (représenté en couleur marron). Une fois dans l'espace périplasmique, le céfidérocol se lie à sa cible, les PLP (Protéines Liant les Pénicillines) ou PBP (Penicillin Binding Proteins) (représentées en couleur grise).

Les autres β -lactamines (représentées en couleur verte) traverse la paroi bactérienne uniquement par diffusion passive via les porines.

Cette stratégie de type "Cheval de Troie" permet d'avoir de très fortes concentrations en antibiotiques sur le site d'action. De plus, le groupement sidérophore protège la molécule et permet d'être stable vis à vis de presque toutes les β-lactamases y compris les sérines et métallo-β-lactamases. A l'aide de céfidérocol radiomarqué, Ito et son équipe ont montré que l'absorption de l'antibiotique était bien plus importante chez les souches de *P. aeruginosa* cultivées en milieu appauvris en fer qu'en milieu supplémenté en fer, améliorant ainsi son efficacité antibactérienne (65) (Figure 17).



<u>Figure 17</u>: Absorption du céfidérocol au fil du temps (minutes) par une souche de P. aeruginosa en condition appauvrie en fer (ronds noirs) et en condition enrichie en fer (ronds blancs) (65)

3. Spectre

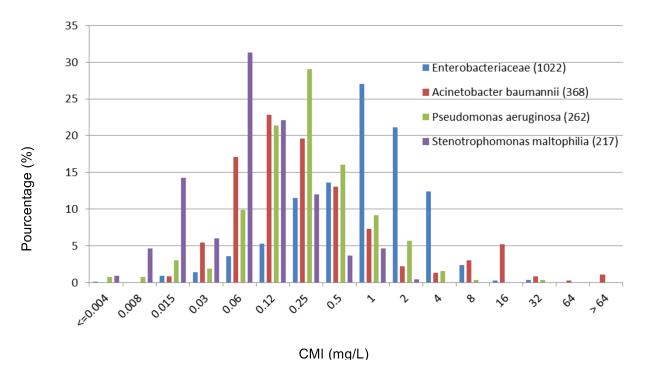
Le céfidérocol, céphalosporine parentérale, présente une activité *in vitro* sur un large spectre de bactéries à Gram négatif, telles les entérobactéries, et *Pseudomonas aeruginosa* avec un intérêt certain pour les souches résistantes aux carbapénèmes par production de carbapénémases de type KPC, oxacillinase ou métallo-β-lactamases de tout type. Il présente également une activité sur d'autres BGN non fermentants tel *Acinetobacter baumannii*, ou *Stenotrophomonas maltophilia* qui représentent d'authentiques défis thérapeutiques de par leur résistance acquise ou intrinsèque.

Il a obtenu l'AMM uniquement en dernier recours pour le traitement des patients atteints d'infections à bactéries à Gram négatifs multi-résistantes (notamment à EPC et à *P. aeruginosa* producteur de carbapénèmase) et lorsque le recours aux autres options disponibles n'est pas envisageable (66).

4. Pharmacocinétique (PK) et Pharmacodynamie (PD)

Le céfidérocol a montré une pharmacocinétique linéaire avec une demi-vie moyenne de 2 à 3 heures (67). La liaison aux protéines plasmatiques est de 58%, et la clairance totale du médicament est de 4,6 à 6 L/heure. Une étude a montré que le volume de distribution était augmenté de 36% dans le groupe de patient infecté, par rapport aux groupe de patients non infectés (68). Son élimination est principalement urinaire, on retrouve 60 à 70% de la molécule sous forme inchangée dans les urines. Il est donc recommandé d'adapter la dose chez les patients souffrant d'insuffisance rénale.

Le céfidérocol a une activité antibactérienne temps-dépendante comme toutes les β-lactamines. Le temps passé au-dessus de la CMI est le principal facteur prédictif de son efficacité. L'étude de phase 1 rapporte que la cible de ≥ 75 % de l'intervalle d'administration pendant lequel la concentration libre du médicament dépasse la CMI pour les souches bactériennes ayant une CMI ≤ 4 µg/mL est susceptible d'être atteinte à la dose thérapeutique de 2g en perfusion de 3 heures toutes les 8 heures chez la plupart des patients. Une deuxième étude montre que des doses intraveineuses uniques et multiples de céfidérocol allant jusqu'à 2 000 mg sont bien tolérées chez les sujets sains et présentent une pharmacocinétique linéaire (69). Les simulations basées sur la modélisation pharmacocinétique de la population suggèrent que les schémas posologiques doivent être ajustés en fonction de la fonction rénale afin d'optimiser l'exposition thérapeutique au céfidérocol (67). Aucun évènement indésirable grave ou cliniquement significatif n'a été observé dans les deux études. Néanmoins, on ne dispose pas de données concernant la pharmacocinétique du céfidérocol dans des populations de patients particulières, telles que les personnes obèses, les femmes enceintes, ou les enfants de moins de 18 ans. Enfin dans une étude de surveillance mondiale, 1973 CMI au céfidérocol de bacilles à Gram négatif ont été mesurées. 96,2% des souches étaient sensibles au céfidérocol avec des CMI \leq 4 mg/L (Figure 18).



<u>Figure 18</u>: Distribution des CMI de 1973 souches de bacilles Gram négatif résistants aux carbapénèmes, étude de surveillance mondiale (70)

7. Etudes cliniques

Une étude de phase II et deux études de phases III ont permis l'obtention de l'AMM.

La première étude, APEKS-cUTI, a été menée par Portsmouth et son équipe et publiée en octobre 2018 (71). Il s'agissait d'une étude multicentrique, contrôlée, randomisée, en double aveugle pour démontrer la non-infériorité du céfidérocol versus l'imipénème/cilastatine sur l'éradication microbienne et la réponse clinique chez les patients atteints d'infections des voies urinaires compliquées avec ou sans pyélonéphrite et ayant un risque d'infection par des BGN multirésistants. 452 patients ont été inclus, dont 303 dans le groupe céfidérocol et 149 dans le groupe imipénème/cilastatine. Les uropathogènes étaient *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, et *Proteus mirabilis* en proportion équivalente dans les deux groupes. La non-infériorité a été démontrée avec une réponse au traitement évaluée à 72,6% dans le groupe céfidérocol *versus* 52,6% dans le groupe imipénème/cilastatine.

La deuxième est celle de Wunderink et son équipe, APEKS-NP, publiée en octobre 2019. Il s'agissait d'une étude randomisée multicentrique internationale en double aveugle réalisée chez des patients adultes hospitalisées atteints de pneumopathie nosocomiale, de pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) ou de pneumopathie associée aux soins causée par des bactéries à Gram négatif (72). Elle comparait la mortalité à J14 principalement, la réponse clinique et l'éradication microbiologique des patients traités par céfidérocol (2g en IV, toutes les 8 heures, perfusé sur 3 heures) versus méropénème à forte dose (MFD) (2g en IV, toutes les 8 heures, perfusé sur 3 heures). 300 patients ont été inclus, dont 148 dans le groupe céfidérocol et 152 dans le groupe méropénème à forte dose. Les bactéries en cause d'infections étaient Klebsiella pneumoniae (31,5%), Pseudomonas aeruginosa (16,4%), Acinetobacter baumannii (16,1%), Escherichia coli (14,0%), et Enterobacter cloacae (5,1%). La non-infériorité du céfidérocol a été démontrée par rapport au groupe comparateur sur la mortalité toutes causes confondues à J14 avec des taux à 12,4% et 11,6% respectivement. Les réponses cliniques et microbiologiques sont apparues du même ordre dans les groupes de traitement : 64,8% et 66,7% de guérison clinique, et 47,6% et 48% d'éradication microbiologique dans le groupe céfidérocol, et MFD respectivement.

La troisième étude, CREDIBLE-CR, de Basseti et son équipe, a été publiée en octobre 2020 (73). Il s'agissait d'une étude descriptive multicentrique internationale randomisée en ouvert. Elle comparait l'efficacité et la tolérance du céfidérocol par rapport à la meilleure thérapie disponible (MTD) chez des patients adultes atteints d'infections nosocomiales bactériennes à Gram négatif documentées et résistantes aux carbapénèmes. Le groupe céfidérocol recevait 2g en IV toutes les 8 heures perfusé sur 3 heures, tandis que le groupe MTD recevait 1 à 3 antibiotiques actifs contre les bactéries à Gram négatif résistantes aux carbapénèmes ; il s'agissait d'une polymyxine ou d'un autre antibiotique associé ou non aux aminoglycosides, carbapénèmes, fluroroquinolones, ou tigécycline. 152 patients ont été inclus, dont 101 dans le groupe céfidérocol et 51 dans le groupe MTD. Les bactéries à Gram négatif isolées à l'inclusion dans le groupe céfidérocol étaient *Klebsiella pneumoniae* (40%), *Pseudomonas aeruginosa* (21,3%), *Acinetobacter baumannii* (46,3%), *Escherichia coli* (6,3%), et *Stenotrophomonas maltophilia* (6,3%).

Dans la prise en charge des :

- pneumonies nosocomiales, le succès clinique était de 50 % vs 52,6 % dans le groupe céfidérocol et MTD respectivement.
- bactériémie/sepsis, le succès clinique était de 43,5 % vs 42,9 % dans le groupe céfidérocol et MTD respectivement.
- infections urinaires compliquées, le succès clinique était de 52,9 % vs 20 % dans le groupe céfidérocol et MTD respectivement.

La mortalité toute cause à J28 était de 27,5% dans le groupe céfidérocol *vs* 21,1% dans le groupe contrôle. Dans le groupe céfidérocol, il a été constaté une association entre la mortalité et les infections à *Acinetobacter sp.* qui représentaient la majorité des infections dues à des bactéries non fermentantes.

8. Mécanisme de résistance

Une revue bibliographique des résistances au céfidérocol depuis 2018 (52 études) a été publiée en mai 2022 (74). Plusieurs mécanismes de résistances, enzymatiques ou non, ont été incriminés.

Production de β-lactamases

Plusieurs β-lactamases ont montré un lien avec la résistance au céfidérocol. La prévalence de résistance au céfidérocol dans les études est plus élevée pour les souches productrices de NDM (75)(76). Lan et son équipe ont montré une modification de la CMI du céfidérocol pour une souche de *Klebsiella pneumoniae* productrice de NDM-1 résistante au céfidérocol. Suite à l'ajout d'avibactam et d'acide dipicolinique, la CMI de céfidérocol a été divisée par 16, passant de 4 mg/L à 0,25 mg/L (77). Ils ont également étudié les souches mutantes de *K. pneumoniae* et de *E. coli* en intégrant un plasmide codant pour NDM-5. Les CMI de céfidérocol étaient alors multipliées par 8 (de 0,25 mg/L à 4 mg/L) et par 16 (de 0,125mg/L à 16 mg/L) respectivement. D'autres études menées par Poirel ont montré des résultats similaires pour des souches d'*Acinetobacter baumannii* producteurs de NDM-1 et NDM-9, et pour des souches de *Pseudomonas aeruginosa* producteurs de NDM-1, NDM-5, NDM-7 et NDM-9 (78)(79). Les CMI de céfidérocol étaient augmentées de plusieurs fois chez ces mutants.

En dehors des résistances acquises ou naturelles, l'exposition des bactéries au médicament peut engendrer le développement de résistance. Kohira et son équipe ont mené une étude de passage en série sur dix générations en utilisant le céfidérocol, la ceftazidime et le méropénème sur trois souches de *K. pneumoniae* et deux souches de *P. aeruginosa*. Les CMI de céfidérocol ont été multipliées par quatre pour les cinq souches testées. Les chercheurs ont signalé que l'acquisition/sélection de la résistance au céfidérocol était similaire à celle de la ceftazidime et du méropénème (80). L'émergence de résistance *in vivo* au céfidérocol lors du traitement d'une infection à *Escherichia coli* producteur de NDM-5 chez un patient atteint de leucémie aigue lymphoblastique a été décrite en 2021 aux Etats Unis. La résistance a évolué en deux semaines, et les valeurs des CMI de céfidérocol sur les différentes souches d'*Escherichia coli* retrouvées étaient de 2mg/L, de 4mg/L puis de plus de 32 mg/L. La biologie moléculaire a montré que l'émergence de cette résistance était associée à une augmentation du nombre de copies du gène *bla*NDM-5.

De plus, l'expression de la NDM semble faciliter la sélection d'isolats résistants l'émergence au céfidérocol par des mécanismes supplémentaires, tels que des mutations dans les récepteurs des sidérophores (77) (81).

D'autres enzymes sont associées à une sensibilité diminuée au céfidérocol : notamment des variant de KPC (79), OXA-427(82), et BLSE de type PER ou SHV (78).

Mutation affectant les récepteurs des sidérophores

Plusieurs études basées sur la création de souches mutantes ont prouvé le rôle des mutations des récepteurs des sidérophores dans la résistance au céfidérocol. Chez les entérobactéries, les mutations des récepteurs des sidérophores CirA et/ou Fiu semblent être les plus importantes surtout en présence de métallo-β-lactamases de type NDM (81). Une étude menée par Ito a examiné l'effet de la déficience du transporteur de fer PiuA sur l'absorption périplasmique du céfidérocol par *P. aeruginosa*. Une mutation du transporteur PiuA a augmenté la CMI de céfidérocol de 0,12 à 2 mg/L, constituant un mécanisme potentiel de développement de la résistance au céfidérocol chez *P. aeruginosa*. L'absorption du céfidérocol a également été évaluée chez une souche de *E. coli* présentant des mutations dans les gènes des transporteurs de fer CirA et Fiu (83). Les CMI de céfidérocol sont restées inchangées ou ont été multipliées par deux lorsque les mutations de chaque gène codant pour un

transporteur de fer ont été évaluées individuellement (CMI souche sauvage = 0,06 mg/L; CMI souche mutée CirA = 0,06 mg/L; CMI souche mutée Fiu = 0,12 mg/L).

• Imperméabilité ou mutations de porines

Le mécanisme singulier du céfidérocol, via des systèmes actifs de transport du fer, permet en théorie de surmonter la résistance aux β-lactamines associée à des mutations de perméabilité de la membrane externe. Pourtant, Ito, et al a montré que chez des souches de *P. aeruginosa* déficientes en porine OprD, la CMI de céfidérocol a été multipliée par deux, passant de 0,12 mg/l chez le *P. aeruginosa* sauvage à 0,25 mg/l chez le mutant déficient en OprD (83). Des mutations des porines ont été également détectées dans des souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* (OmpK35, OmpK36, OmpK37) et *de Enterobacter spp.* (OmpC, OmpF) résistants au céfidérocol, en combinaison avec l'expression de diverses β-lactamases (84).

• Surexpression de la pompe à efflux

Les pompes d'efflux peuvent contribuer à la résistance au céfidérocol d'après des études utilisant des souches mutantes de *Klebsiella pneumoniae* résistantes au céfidérocol *in vitro* car productrices des pompes à efflux SugE et ChrA (85), et de *Pseudomonas aeruginosa* productrices de la pompe MexAB-OprM (83).

II. Objectif de l'étude

Mon travail a été réalisé au laboratoire de microbiologie du Centre Hospitalier Universitaire (CHU) site Sud de La Réunion. Il repose sur le questionnement de la Commission des Anti-Infectieux (CAI) du CHU quant au référencement du céfidérocol dans le livret thérapeutique de l'établissement. Étant donnée l'épidémiologie dans ce département d'outre-mer, et le choix limité d'antibiotiques dans le traitement des infections à bactéries produisant une carbapénémase, il est apparu pertinent de déterminer la sensibilité d'un échantillon ciblé de bacilles à Gram négatif à cette nouvelle molécule. L'objectif de mon travail a été de comparer les différentes méthodes disponibles (dont certaines sont toujours en cours d'évaluation) pour mesurer la sensibilité au céfidérocol sur ces souches, afin de positionner cet antibiotique dans l'arsenal thérapeutique de l'établissement Réunionnais.

III. Matériel et méthode

A. Souches bactériennes

Un grand nombre d'échantillons est analysé chaque année, conformément aux recommandations du Centre de Lutte des Infections Nosocomiales (CLIN), dans le but de détecter et isoler des souches productrices de carbapénèmases. Le but de cette activité est la prévention de la diffusion des BHRe en centre hospitalier.

Nous avons collecté tous les BGN producteurs de carbapénèmases de janvier 2019 à décembre 2021.

Les souches isolées provenaient soit de dépistage rectal, soit de prélèvement diagnostic lorsqu'une diminution de la sensibilité à un des carbapénèmes était constatée à l'antibiogramme.

Les écouvillons rectaux de dépistage provenaient de patients soit :

- provenant d'un service à haut risque d'acquisition de BMR (réanimation) d'un autre établissement de l'île.
- rapatriés sanitaires (patient EVASAN).
- hospitalisés dans les services pour lesquels un cas de colonisation et/ou d'infection à EPC avait été identifié durant la période d'étude (dépistages autour d'un cas).

B. Méthode de référence par culture et test de sensibilité

Pour la détection des BHRe, les écouvillons ont été mis en culture sur une gélose bi-compartiment sélective chromogène ChromID® CARBA SMART (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) permettant d'un côté la détection des EPC et de l'autre celle des souches productrices d'OXA-48. Une gélose Mc Conkey était également ensemencée comme témoin de présence de flore fécale. Les colonies suspectes ont été identifiées par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Bruker Daltonics, Brême, Allemagne).

Si une entérobactérie cultivait sur le milieu CARB ou OXA, un test rapide de détection de carbapénèmase était réalisé ainsi qu'un antibiogramme. S'il s'agissait de *A. baumannii* ou d'une autre espèce de *Acinetobacter sp.*, la souche était réisolée avec

un inoculum de 0,5 McFarland sur milieu Muller Hinton (MH) standard (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) avec un disque d'imipénème (10µg) pour confirmer la résistance aux carbapénèmes.

L'antibiogramme a été réalisé en utilisant le système automatisé Vitek 2® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France). Les concentrations minimales inhibitrices (CMI) des carbapénèmes, de l'aztréonam ont été déterminées par la méthode E-test® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France), et la CMI de la colistine déterminée par microdilution (UMIC, Biocentric, Bandol, France) et interprétées conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM).

C. Méthode de détection des BHRe

1. Au laboratoire

La caractérisation des β-lactamases a été réalisée directement sur colonies, par biologie moléculaire multiplex (BD MAX™ ECP, Becton Dickinson, Franklin Lakes, États-Unis) pour les souches isolées en 2019 et 2020, puis par test immunochromatographique (NGTest® CARBA-5, Eurobio Scientific, Les Ulis, France) et test colorimétrique (Rapidec® Carba NP, bioMérieux, Marcy L'Étoile, France) pour les souches isolées en 2021.

2. Confirmation au CNR et analyses complémentaires

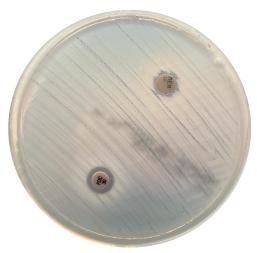
Chaque souche d'entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, ou *Acinetobacter baumannii* a été adressée pour expertise aux CNR respectifs (CNR Hôpital Bicêtre APHP pour les EPC et CHU de Besançon pour les non fermentants) afin de confirmer le mécanisme de résistance par PCR.

Un séquençage MLST est réalisé à visée épidémiologique pour des souches d'EPC envoyées depuis 2020. Un typage des souches est réalisé par Multiple Loca CNTR Analysis, ou après séquençage à haut débit pour les BGN non fermentants.

E. Test de la sensibilité au céfidérocol

1. Méthodes par diffusion

Nous disposions de différentes méthodes pour évaluer la sensibilité des souches bactériennes au céfidérocol. La méthode de diffusion par mesure du diamètre d'inhibition (Disk Cefiderocol® 30 µg, Liofilchem) a été utilisée pour les souches d'entérobactéries, de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (<u>Figure 19</u>).



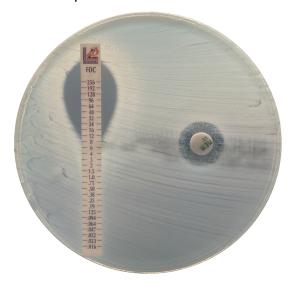
<u>Figure 19</u>: Photographie d'une gélose MH standard comportant un disque de céfidérocol $(30\mu g)$ et d'un disque de méropénème $(10\mu g)$ ensemencée avec une souche d'entérobactérie

La méthode par bandelette de diffusion en milieu gélosé E-test (IMC Strip Test Cefiderocol®, Liofilchem) a été utilisée pour déterminer les CMI des souches de *Pseudomonas aeruginosa* et également à titre expérimental pour les souches d'entérobactéries. Les bandelettes E-test de céfidérocol permettaient d'obtenir des CMI allant de 0,016 à 256 mg/L pour des souches ensemencées sur géloses MH standard (bioMérieux) (<u>Figure 20</u>).

Après réalisation de la suspension bactérienne ajustée au 0,5 McFarland, celleci est ensuite ensemencée à l'aide d'un écouvillon stérile sur une gélose MH. L'ensemencement est réalisé en trois fois en faisant tourner la gélose d'un tiers à chaque fois pour permettre une répartition homogène de l'inoculum. Une fois la souche ensemencée sur la gélose, un disque de céfidérocol 30 µg ou une bandelette E-test de céfidérocol est déposé à l'aide d'une pince en appuyant légèrement sur la gélose

pour éviter la formation de bulles d'air, avant d'être mise en incubation pendant 18 à 24h dans une étuve à 35±2°C en aérobiose.

La lecture de la CMI se fera de manière visuelle après la période d'incubation. La CMI se lit au niveau de l'intersection entre la culture bactérienne et la bandelette en fonction de l'ellipse d'inhibition de culture obtenue. Lorsque l'intersection s'effectue entre 2 graduations, la valeur supérieure de CMI doit être lue.



<u>Figure 20</u> : Photographie d'une gélose MH standard comportant une bandelette E-test de céfidérocol et d'un disque de méropénème ($10\mu g$) ensemencée avec une souche d'entérobactérie

2. Méthode par microdilution

La méthode de microdilution en milieu liquide a été utilisée pour déterminer les CMI de céfidérocol des isolats d'entérobactéries et de *Pseudomonas aeruginosa* avec les plaques Sensititre™ EUSHION8 (<u>Figure 21</u>, ThermoFisher Scientific, Waltham, États-Unis). Les plaques sont composées de 96 puits permettant d'étudier la sensibilité au céfidérocol avec des dilutions allant de 0,03 à 32 mg/L pour 8 souches différentes (<u>Figure 22</u>). Chaque puit comporte préalablement une concentration fixée en céfidérocol ainsi qu'un chélateur de fer. Chaque ligne contient un puit contrôle positif ne comportant ni antibiotique ni chélateur permettant de vérifier la viabilité de la bactérie. Nous avons utilisé un bouillon MH ajusté en cations (CA-MHB).



Figure 21 : Photographie d'une plaque Sensititre EUSHION8

	1	2	3	4	s	6	7	9	9	10	11	12
A	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	POS
	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4.	8	16	32	Self.
8	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	POS
	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	*
c	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	PO8
-	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	Į.
D	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	P08
1	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	. 4	В	16	32	14
E	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	P08
- [0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	В	16	32	
F	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	POS
1	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	
9	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	POS
-	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	7.
H	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	FDC	POS
1	0.03	0.06	0.12	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32 .	

<u>Figure 22</u> : Schéma de la plaque Sensititre™ EUSHION8 (FDC : Céfidérocol, POS : Contrôle positif)

A partir des suspensions bactériennes ajustées à l'indice de turbidité 0,5 de McFarland pour chacune des souches, 10 μL ont été prélevés puis transférés dans un tube de 11 ml de CA-MHB. Après homogénéisation par retournements, le bouillon a ensuite été versé dans une cuve d'ensemencement stérile puis 50 μL de suspension ont été transférés dans chacun des puits de la plaque. Toutes les cupules ont ensuite été recouvertes à l'aide d'une feuille adhésive puis incubées dans une étuve à 35±2°C en aérobiose pendant 24h. Pour chaque test, un test de pureté par repiquage sur une gélose BCP a été réalisé à partir du bouillon d'ensemencement.

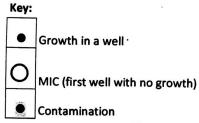
La lecture des CMI a été effectuée de manière manuelle. Le puit de contrôle de croissance doit être lu en premier. Si aucune croissance n'est présente, les résultats

sont invalides. La CMI lue est la concentration la plus faible du puit au-dessus duquel il n'y a pas de croissance. Les CMI des souches d'entérobactéries se lisaient à 100% d'inhibition, tandis que les CMI des souches de *Pseudomonas aeruginosa* se lisaient à 80% d'inhibition selon les recommandations du fabricant.

Occasionnellement, un "saut" ou puits ne montrant aucune croissance entourée par des puits montrant une croissance peut être observé. Cela peut être dû à une contamination, une mutation, et/ou à un dosage mal aligné. Un seul saut peut être ignoré.

La contamination peut se traduire par un puit entouré de plusieurs puits ne montrant aucune croissance. La contamination d'un seul puits peut être ignorée, mais si plusieurs contaminations sont suspectées, le test doit être répété (Figure 23).

1		•	•	•	•	0			Acceptable
2.	•	•	•		•	0			One well skip (Acceptable)
3.	•	•	•	•	•	0			One well of contamination (Acceptable)
4.	•	•	•	0					One well of contamination (Acceptable)
5.	•	•	•	•	• ,	10 to 10	•		Two wells of contamination (Not acceptable)
6.	•	•	•	•	•			•	Three wells of contamination (Not acceptable)



<u>Figure 23</u>: Exemples de résultats susceptibles d'être obtenus avec la plaque de microdilution Sensitre™ EUSHION8

3. Contrôle qualité et règles d'interprétation

Des contrôles de qualité ont été réalisés grâce aux souches de l'American Type Culture Collection (ATCC) d'*Escherichia coli* 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* 27853. Ces contrôles consistaient à tester la CMI du céfidérocol en bandelette E-Test

sur le *Pseudomonas aeruginosa* 27853, ainsi que le diamètre d'inhibition et les CMI en microdilution du céfidérocol sur *Escherichia coli* 25922 et *Pseudomonas aeruginosa* 27853.

Nous avons utilisé les recommandations de l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (86) pour la réalisation de l'inoculum (0,5 McFarland), le choix des milieux de culture, la mesure de CMI, ainsi que la mesure des diamètres d'inhibition. Les résultats ont été interprétés également avec les concentrations et diamètres critiques donnés dans le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et la Food and Drug Administration (FDA).

Les valeurs critiques proposées par l'EUCAST sont présentées dans les tableaux ci-dessous pour les entérobactéries (<u>Tableau 8</u>), pour *Pseudomonas aeruginosa* (<u>Tableau 9</u>), et pour *Acinetobacter sp* (<u>Tableau 10</u>).

Entérobactéries

<u>Tableau 8</u>: Critères d'interprétation (CMI en mg/L et diamètres en mm) des tests de sensibilité au céfidérocol pour les entérobactéries selon les critères EUCAST

Céphalosporines	Cond	centra	tions	Charge	Diar	nètres	;	Notes			
	critiq	ues (r	ng/L)	du	critiques (mm)			Chiffre : commentaires généraux			
	S≤	R >	ZIT	disque	S ≤	R >	ZIT	ou portant sur les concentrations			
				(μ g)				critiques			
Céfidérocol	2 ¹	2 ¹		30	22	22	18-	1. La détermination de la CMI par			
							22	microdilution en milieu liquide doit			
								être réalisée dans un bouillon			
								Mueller-Hinton déplété en fer et une			
								lecture spécifique doit être réalisée			
								(instructions techniques et			
								conditions de lecture consultables			
								sur le site de l'EUCAST).			

• Pseudomonas aeruginosa

<u>Tableau 9</u>: Critères d'interprétation (CMI en mg/L et diamètres en mm) des tests de sensibilité au céfidérocol pour Pseudomonas aeruginosa selon les critères EUCAST

Céphalosporines	Concentrations		Charge	Diar	nètres	;	Notes				
	critiques (mg/L) S ≤ R > ZIT			critiques (mg/L) du				Chiffre : commentaires généraux			
				disque	S ≤	R>	ZIT	ou portant sur les concentrations			
				(μg)				critiques			
Céfidérocol	2 ¹	2 ¹		30	22	22	14-	1. La détermination de la CMI par			
	22					22	microdilution en milieu liquide doit				
								être réalisée dans un bouillon			
								Mueller-Hinton déplété en fer et une			
								lecture spécifique doit être réalisée			
								(instructions techniques et			
								conditions de lecture consultables			
								sur le site de l'EUCAST).			

· Acinetobacter sp.

<u>Tableau 10</u> : Critères d'interprétation des tests de sensibilité au céfidérocol pour Acinetobacter sp. selon les critères EUCAST

Céphalosporines	centra	tions	Charge	Diamè	tres cri	tiques	Notes					
	critiq	ues (r	ng/L)	du	(mm)			Chiffre : commentaires				
	S≤	R >	ZIT	disque	S ≤	R>	ZIT	généraux ou portant sur les				
				(μ g)				concentrations critiques				
								Lettre : commentaires portant				
								sur les diamètres critiques				
Céfidérocol	EPI	EPI			Note ^A	Note ^A		A. Un diamètre d'inhibition ≥ 17				
								mm pour un disque chargé à 30				
								μg de céfidérocol correspond à				
								des CMI inférieures aux valeurs				
								des concentrations critiques				
								PK/PD (≤ 2 mg/L).				

Les breackpoints établis par le CLSI et la FDA sont résumés dans le tableau cidessous (<u>Tableau 11</u>).

<u>Tableau 11</u>: Critères d'interprétation (CMI en mg/L et diamètres en mm) du CLSI et de la FDA concernant la sensibilité du céfidérocol aux entérobactéries, Pseudomonas aeruginosa et Acinetobacter baumannii

Microorganism e			C	LSI (87	·)		FDA (88)					
	CI	ИI (m	g/L)	Dia	CM	11 (m	g/L)	Diamètres (mm)				
C	S	ı	R	S	I	R	S I R		S	I	R	
Entérobactérie	≤ 4	8	≥ 16	≥ 16	9-15	≤ 8	≤ 4	8	≥ 16	≥ 16	9-15	≤ 8
S												
P. aeruginosa	≤ 4	8	≥ 16	≥ 18	13-17	≤ 12	≤ 1	2	≥ 4	≥ 22	13-21	≤ 12
A. baumannii	≤ 4	8	≥ 16	≥ 15	_	_	≤ 1	2	≥ 4	≥ 19	12-18	≤ 11

Selon les recommandations du CLSI, les diamètres ≤ 14 mm ne doivent pas être interprétés pour *A. baumannii*. Il a été rapporté des diamètres ≤ 14 mm pour des souches résistantes, intermédiaires et sensibles au céfidérocol. Il convient donc alors nécessaire de réaliser une CMI pour ces souches.

Concernant les souches se retrouvant dans la zone d'incertitude technique ou ZIT avec les critères EUCAST, elles ont été recontrôlées une deuxième fois par la même technique.

F. Etude du phénotype des souches bactériennes

Afin de visualiser si les souches bactériennes étudiées possédaient une identité clonale, plusieurs analyses supplémentaires ont été réalisées.

1. Antibiogramme

Un antibiogramme en diffusion, ainsi que des CMI (E-test) d'autres antibiotiques ont été déterminées afin d'obtenir un phénotype de résistance de toutes les souches. La CMI de la colistine par microdilution a été également mesurée (UMIC, Biocentric, Bandol, France). Les résultats de ces tests de sensibilité ont été interprétés avec les recommandations de l'EUCAST 2022 ainsi que celles du CA-SFM de 2013, seules encore disponibles pour les molécules suivantes : minocycline, fosfomycine, et rifampicine.

2. Dendrogramme

Pour chaque espèce bactérienne, un dendrogramme a été généré grâce à l'outil MBT Compass Explorer (MALDI Biotyper®, Brucker) en utilisant les spectres des bactéries identifiées par MALDI-ToF en utilisant la méthode de regroupement des liaisons moyennes. Préalablement, nous avons réalisé une extraction protéique des bactéries avec de l'éthanol à 70%. La suspension a été centrifugée, puis le culot a été remis en suspension dans l'acide formique et l'acétonitrile selon le protocole décrit en Annexe 8.

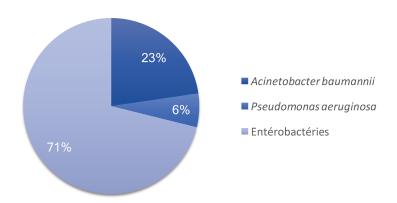
G. Recueil de données

Les données démographiques et géographiques de chaque patient ont été recueillies grâce au système d'information de laboratoire (SIL) : Inlog® (EdgeLab™) après extraction de la banque de résultats. L'origine géographique des patients a été déterminée selon le code postal ou le pays de résidence signalé dans leur dossier médical. Cette information a été croisée avec l'histoire de la maladie de chaque patient pour déterminer si un voyage récent avait été réalisé à l'étranger. Les données caractérisant les souches de bactéries étudiées (antibiogramme, type et sous-type de carbapénèmase) ont été recueillies grâce au middleware SIRxpert® ainsi qu'aux comptes rendus des CNR présents dans le SIL. Concernant les informations cliniques et géographiques, elles ont été consultées à partir du Dossier Patient Informatisé hébergé dans le logiciel médical Crossway® (Cegedim Santé).

Toutes les données ont été saisies sur des tableurs sur le logiciel Excel® (Microsoft, Redmond, WA).

IV. Résultats

Durant trois années (de 2019 à 2021), et parmi toutes les souches de BGN présentant une diminution de sensibilité à une des carbapénèmes, 97 souches isolées au CHU Sud de La Réunion produisant une ou plusieurs carbapénémases ont été envoyées au CNR. Parmi les entérobactéries, il s'agissait de carbapénémases de la classe B d'Ambler essentiellement de type NDM-1 (n=48), NDM-5 (n=9), VIM-4 (n=1), de la classe D d'Ambler de type OXA-181 (n=8), OXA-48 (n=1), et producteurs de carbapénèmases multiples (n=2). Parmi les autres BGN, il s'agissait de bacilles non fermentants ; 22 *Acinetobacter baumannii* producteur de carbapénèmase de la classe B d'Ambler de type OXA-23 (n=8), OXA-48 (n=1) et producteurs de carbapénèmases multiples OXA-23 + NDM-1 (n=13) ; et 6 *Pseudomonas aeruginosa* producteurs de carbapénèmase de type NDM-1 (Figure 24). Ces souches proviennent dans 58% des cas de prélèvements anaux de patients hospitalisées, et dans 41% des cas de prélèvements à visée diagnostique (hémocultures, expectorations, liquides bronchoalvéolaires, prélèvement distal protégé, urines, prélèvement ostéo-articulaires, liquide péritonéal, cathéters, autres prélèvements profonds).



<u>Figure 24</u> : Répartition de l'origine des carbapénèmases par espèce bactérienne de 2019 à 2021 au CHU site Sud de La Réunion

Disposant d'un nombre limité de tests permettant de mesurer la sensibilité au céfidérocol de ces souches, 51 d'entre elles ont été sélectionnées. Le travail a consisté à évaluer la sensibilité au céfidérocol des isolats producteurs de métallo-β-lactamase de type NDM uniquement. Parmi ces dernières, ont été choisies de manière homogène sur les trois années 38 entérobactéries productrices de NDM, 7 *Acinetobacter*

baumannii, et 6 Pseudomonas aeruginosa. Parmi les 38 entérobactéries, 9 produisaient une NDM-5 et 29 produisaient une NDM-1.

A. Entérobactéries

- 1. Répartition des souches
- a. Par année et espèce bactérienne

Nous avons étudié 38 souches d'entérobactéries produisant une carbapénèmase de type NDM. Le <u>Tableau 12</u> détaille la répartition des souches d'entérobactéries selon l'année d'isolement de ces dernières au CHU du site Sud de La Réunion. Les espèces isolées étaient *Escherichia coli* (n=14), *Klebsiella pneumoniae* (n=9), *Klebsiella aerogenes* (n=1), *Citrobacter freundii* (n=7) et *Enterobacter cloacae* (n=7), dont les proportions sont détaillées dans la <u>Figure 25</u>.

Tableau 12 : Répartition des souches d'entérobactéries par année

Espèce	2019	2020	2021	Total
E. coli	5	3	6	14
C. freundii	3	3	1	7
E. cloacae	2	2	3	7
K. aerogenes	0	0	1	1
K. pneumoniae	3	4	2	9
Total	13	12	13	38

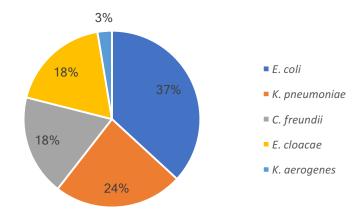


Figure 25 : Répartition des souches d'entérobactéries par espèce

b. Par données démographiques et cliniques

La majorité des souches ont été isolées à partir de la mise en culture d'écouvillons rectaux dans le cadre de dépistage systématiques de BMR (n=29) ; c'est à dire pour les cas contacts de patients porteurs d'EPC ou pour les patients ayant bénéficié d'un rapatriement sanitaire sur l'île (patient EVASAN).

<u>Tableau 13</u> : Renseignements démographiques et cliniques des patients dont les souches bactériennes sont issues

Renseignements démographiques et cliniques	Nombre de souches (%)
Origine géographique/Voyage récent (n=38)	
Mayotte	2 (5%)
Ile Maurice	1 (3%)
Madagascar	4 (10%)
Comores	4 (10%)
Inde	1 (3%)
Seychelles	1 (3%)
La Réunion	25 (66%)
Contexte d'hospitalisation (n=38)	
Autochtone	28 (74%)
Évacuation sanitaire (EVASAN)	10 (26%)
Service d'hospitalisation (n=38)	
Hématologie	11(29%)
Réanimation	19 (47%)
Chirurgie	5 (13%)
Autres	2 (5%)
Non renseigné	2 (5%)
Prélèvement (n=38)	
Urine	3 (8%)
Prélèvement profond	2 (5%)
Sang	4 (10%)
Écouvillon rectal	29 (77%)
Infection et/ou colonisation (n=38)	
Infection	9 (24%)
Colonisation	26 (68%)
Infection et colonisation	3 (8%)

Concernant les souches isolées de prélèvements diagnostiques, elles provenaient de flacons d'hémocultures (n=4), d'urine (n=3) et de 2 prélèvements profonds : un prélèvement ostéo-articulaire, et un liquide péritonéal (<u>Tableau 13</u>). Chaque souche étudiée est détaillée plus amplement dans l'Annexe 1.

Les souches ont été isolées chez des patients hospitalisés en unité de réanimation polyvalente (n=18) ou unité de chirurgie (n=5), ainsi qu'un grand nombre de patients suivis en unité d'hématologie clinique (n=11). Concernant l'origine géographique des patients, 28 résidaient sur l'île de La Réunion, 3 avaient voyagés dans des zones à forte prévalence de carbapénèmases (Inde, Madagascar, Seychelles). Pour le reste des patients, ils avaient pour origine d'autres Îles de l'Océan Indien : les Comores (n=4), Mayotte (n=2), Île Maurice (n=1) et Madagascar (n=2) hormis un patient venant de France métropolitaine et ayant voyagé à Madagascar.

2. Sensibilité in vitro au céfidérocol

a. Pour toutes les entérobactéries

i. Contrôles qualité

Les résultats des tests de sensibilités pour la souche d'*Escherichia coli* 25922 acceptables (<u>Tableau 14</u>).

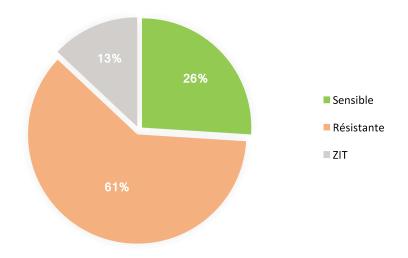
<u>Tableau 14</u>: Valeurs obtenues du diamètre d'inhibition et de la CMI Cefiderocol pour la souche ATCC Escherichia coli 25922

ATCC Escherichia coli 25922	Résultats	Valeur cible	Limite acceptable
Diamètre d'inhibition (disque 30µg)	29 mm	27 mm	24-30 mm
CMI (microdilution)	0,5 mg/L	0,125-0,25 mg/L	0,06-0,5 mg/L

ii. Résultats du test de sensibilité par diffusion en milieu gélosé en disque

En utilisant les recommandations du CA-SFM/EUCAST (89), et la technique d'évaluation de la sensibilité par disques chargé en céfidérocol, 10 des 38 (26%) souches d'entérobactéries productrices de NDM étaient catégorisées sensibles au céfidérocol et 28 (74%) résistantes (Figure 26).

Parmi les souches résistantes, 7 (25%) étaient présentes dans la zone d'incertitude technique (ZIT) lors de la première détermination, puis 5 (18%) restaient dans la ZIT lors de la deuxième détermination ou contrôle.



<u>Figure 26</u>: Répartition de la sensibilité des entérobactéries produisant une NDM au céfidérocol (mesure du diamètre d'inhibition)

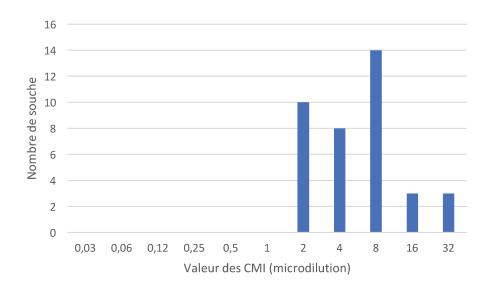
ii. Résultats des mesures de CMI

Méthode de microdilution (Sensititre™)

L'analyse des CMI par la méthode de microdilution Sensititre™ a pu être réalisée pour toutes les souches d'entérobactéries étudiées (n=38) (<u>Figure 27</u>). Il s'agit de la méthode de référence.

Selon les recommandations du CA-SFM/EUCAST 2022, 10 (26%) des 38 souches testées ont été catégorisées comme sensibles au céfidérocol, et 28 (74%) d'entre elles résistantes. Les études décrites dans la littérature utilisant régulièrement les critères d'interprétation du CLSI, nous avons voulu également interpréter nos résultats avec ces recommandations. Ainsi, 18 (47%) des 38 souches testées étaient catégorisées comme sensibles au céfidérocol, 6 (16%) d'entre elles résistantes et 14 (37%) intermédiaires avec les recommandations du CLSI.

La FDA utilise pour les entérobactéries les mêmes critères d'interprétation des CMI que le CLSI.



<u>Figure 27</u> : Répartition des CMI par méthode en microdilution (Sensititre™)

La médiane de CMI avec cette technique est 8 mg/L.

Méthode de diffusion (E-test)

L'analyse des CMI par la méthode E-Test a été réalisée pour les souches d'entérobactéries à titre expérimental car non recommandée par le CA-SFM/EUCAST. La répartition des CMI lues par cette méthode est représentée sur la <u>Figure 28</u>.

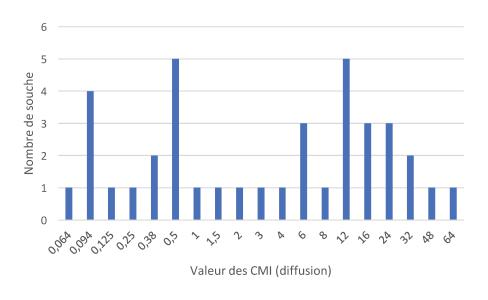


Figure 28 : Répartition des CMI par méthode en diffusion (E-Test®)

La médiane de CMI avec cette technique est 5 mg/L.

iii. Concordance entre les différentes méthodes

En comparant les résultats de CMI obtenus par la méthode de microdilution en milieu liquide et les diamètres d'inhibition obtenus par la méthode de diffusion en milieu gélosé, ceux-ci sont concordants pour 31 des 38 souches étudiées, soit 82%, quant à leur catégorisation "sensible" ou "résistante". Cette analyse montre que 8 souches sur 10 sont catégorisées comme sensibles au céfidérocol avec la méthode en disque, en accord avec la microdilution, et que 4 souches présentent une discordance. Parmi les souches discordantes, 2 sont situées dans la ZIT.

Parmi toutes les souches situées dans la ZIT, 3 sont résistantes, et 2 sont sensibles avec la technique de microdilution (<u>Tableau 15</u>).

<u>Tableau 15</u>: Corrélation entre le diamètre d'inhibition (en mm) et la CMI en microdilution du céfidérocol (en mg/L)

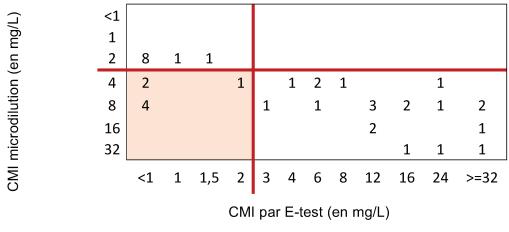
<1																
1																
2									1	1		3	2	1	1	1
4					1	2		3	1			1				
8		2	1	1	1	1	2	3	1		1			1		
16	1	2														
32	2				1											
	<10	10	11	12	13	15	16	17	18	19	20	22	23	24	25	26

Diamètre de la zone d'inhibition autour du disque de céfidérocol 30 microgramme (en mm)

Breackpoints fixés par le CA-SFM/EUCAST

De la même manière, nous avons comparé les résultats de CMI obtenus par la méthode E-test et ceux obtenus en microdilution. L'analyse montre que 31 des 38 souches analysées par ces deux méthodes sont concordantes, soit 82%. 10 souches sont catégorisées comme sensibles au céfidérocol avec les deux méthodes, et que 7 souches présentent une discordance (<u>Tableau 16</u>).

<u>Tableau 16</u>: Corrélation entre CMI céfidérocol en microdilution (en mg/L) et CMI céfidérocol en diffusion par E-test (en mg/L)



Breackpoints fixés par le CA-SFM/EUCAST

Les souches discordantes concernent des souches catégorisées sensibles en diffusion et catégorisées résistantes en microdilution.

En considérant, la méthode de microdilution en milieu liquide comme la méthode de référence, une sous-estimation globale des valeurs de CMI semble être obtenue par la méthode E-test. En effet, même pour les 10 souches catégorisées sensibles avec les deux techniques, pour 8 souches, la méthode E-test donne des valeurs < 1mg/L alors que la microdilution donne des valeurs égales à 2mg/L.

Les résultats de sensibilité ou résistance au céfidérocol sont présentés dans le <u>Tableau 17</u> selon les espèces d'entérobactéries et selon les recommandations de l'EUCAST. Cette comparaison met en évidence la discordance entre la méthode Etest et microdilution.

Tableau 17 : Pourcentage de sensibilité et résistance au céfidérocol selon les méthodes

Souches	Mesure d	iamètre	d'inhibition	CMI (E	E-test)	CMI (Micro	odilution)
	< 18 mm	18-22	≥ 22 mm	≤ 2 mg/L	> 2 mg/L	≤ 2 mg/L	> 2 mg/L
	Sensible	ZIT	Résistant	Sensible	Résistant	Sensible	Résistant
Total (n=38) (%)	10 (26%)	5 (13%)	23 (61%)	17 (45%)	21 (55%)	10 (26%)	28 (74%)

b. Par espèce d'entérobactérie

Les sensibilités au céfidérocol par espèce bactérienne sont présentées dans le <u>Tableau</u> <u>18</u>.

<u>Tableau 18</u>: Sensibilité au céfidérocol selon les espèces bactériennes et selon les critères d'interprétations du CA-SFM/EUCAST

Espèces	Nombre de souches sensibles (%)
Escherichia coli (n=14)	3 (21%)
Klebsiella pneumoniae (n=9)	4 (44%)
Enterobacter cloacae (n=7)	1 (14%)
Citrobacter freundii (n=7)	2 (29%)
Klebsiella aerogenes (n=1)	0 (0%)

b. Par phénotype de résistance

Sous-type de NDM

33% (n=9) des souches produisant une NDM-1 sont sensibles au céfidérocol, contre 11% (n=1) des souches produisant une NDM-5 (<u>Tableau 19</u>) avec la méthode de microdilution et mesure du diamètre d'inhibition.

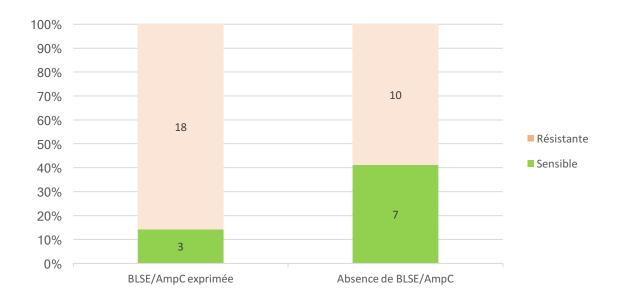
<u>Tableau 19</u> : Pourcentage de souches sensibles au céfidérocol selon le sous-type de carbapénèmase produite

Souches	NDM-1 (n=29) (%)	NDM-5 (n=9) (%)
Mesure diamètre d'inhibition	9 (33%)	1 (11%)
CMI (E-test)	14 (48%)	3 (33%)
CMI (Microdilution)	9 (33%)	1 (11%)

Mécanisme de résistance associé

Le spectre d'inactivation des carbapénèmases NDM épargne, en théorie, l'aztréonam. Or, parmi les 38 souches d'entérobactéries testées, 19 sont résistantes à l'aztréonam. Parmi elles, 17 souches sont sensibles à l'association aztréonam-avibactam, faisant suspecter la production d'une β-lactamase supplémentaire, pouvant s'agir d'une BLSE ou d'une céphalosporinase de type AmpC (acquise ou par hyperproduction d'une enzyme naturelle).

Dès lors, nous avons déterminé si la production d'une β-lactamase supplémentaire avait un impact sur la sensibilité au céfidérocol selon les données obtenues par microdilution en milieu liquide.



<u>Figure 29</u> : Répartition de la sensibilité des souches au céfidérocol selon la production d'une BLSE ou AmpC

Comme montré dans la <u>Figure 29</u>, 86% des entérobactéries produisant une enzyme supplémentaire à la carbapénèmase sont résistantes au céfidérocol. Ce chiffre passe à 59% pour les entérobactéries productrices uniquement d'une carbapénèmase de type NDM.

Parmi les souches résistantes au céfidérocol, et produisant une BLSE ou hyperproduisant une AmpC, la médiane des CMI retrouvées était de 8 mg/L.

Parmi les souches résistantes et n'exprimant pas de β-lactamase supplémentaire, la médiane des CMI retrouvées était de 6 mg/L.

Parmi les souches sensibles au céfidérocol, et produisant une BLSE ou hyperproduisant une AmpC, la médiane des CMI retrouvées était à 2mg/L que les souches expriment une enzyme supplémentaire ou non.

Il faut donc noter une plus grande proportion de souches résistantes au céfidérocol dans le groupe produisant une enzyme supplémentaire, sans qu'un lien formel puisse être fait entre les différentes combinaisons d'enzymes.

3. Identité clonale des souches d'entérobactéries

a. Antibiogramme

Après avoir réalisé un antibiogramme élargi pour chaque isolat, aucun phénotype de résistance ne semble être majoritaire. Ces résultats n'orientent donc pas vers une similitude clonale pour tout ou partie des souches étudiées. Les résultats de ces antibiogrammes sont consultables en annexes (<u>Annexe 2</u>; <u>Annexe 3</u>; <u>Annexe 4</u>; <u>Annexe 5</u>; <u>Annexe 6</u>).

b. Séquençage MLST

Depuis 2020, le CNR rend systématiquement les résultats du séquençage MLST pour chaque souche. Ces résultats ne sont pas exhaustifs pour notre étude (<u>Tableau 20</u>), mais pour les isolats typés, nous pouvons remarquer qu'il n'y a pas de séquence type (ST) prédominante. Nous pouvons noter, toutefois, que 3 des 5 souches de *Escherichia coli* produisant une NDM-5 ont le même ST (ST-167).

Tableau 20 : Répartition des séquençage MLST réalisés par le CNR

Souche	Sous type	Typage MLST
EC1	NDM-5	ST-167
EC2	NDM-5	ST-361
EC3	NDM-5	ST-2301
EC4	NDM-5	ST-167
EC6	NDM-5	ST-167
EC8	NDM-1	ST-410
EC9	NDM-1	ST-224
EC10	NDM-1	ST-196
EC12	NDM-1	ST-410
KP1	NDM-1	ST-410
KP2	NDM-1	ST-15
KP3	NDM-1	ST-440
KP8	NDM-5	ST-15
CF1	NDM-1	ST-116
ENTC1	NDM-1	ST-279
ENTC2	NDM-1	ST-78
ENTC3	NDM-1	ST-114
ENTC5	NDM-1	ST-90
ENTC6	NDM-1	ST-1013
KAER	NDM-1	ST-208-like

c. Dendrogramme

Le dendrogramme est un diagramme de regroupement hiérarchique, permettant d'organiser les données en arborescence selon leurs similitudes. Chaque groupe ou nœud de l'arborescence contient un groupe de données similaires.

Comme attendu, les spectres des BGN non fermentants étaient suffisamment distincts de ceux des entérobactéries permettant de les situer en dehors du groupe des entérobactéries afin d'enraciner le dendrogramme.

Au sein des entérobactéries, aucune souche n'a été retrouvée en dehors de leur clade d'espèce respectif avec une faible distance phyloprotéique (*Annexe 7*).

Les dendrogrammes réalisés pour les entérobactéries ne montrent pas de population clonale de souches produisant une carbapénèmase NDM.

Les espèces bactériennes présentant une pénicillinase chromosomique étaient séparées de celles possédant une céphalosporinase chromosomique.

B. Bacilles Gram négatif non fermentant

1. Répartition des souches

a. Par année et espèce bactérienne

Nous avons étudié 7 souches d'*Acinetobacter baumannii* productrices de deux carbapénèmases (OXA-23+NDM-1) et 6 souches de *Pseudomonas aeruginosa* produisant une carbapénèmase NDM-1. Les espèces sont dispersées de manière homogène sur les trois années de recueil (Tableau 21).

<u>Tableau 21</u> : Répartition des souches de bacilles Gram négatif non fermentant selon l'année d'isolement

Espèces	2019	2020	2021	Total
A. baumannii	2	2	3	7
P. aeruginosa	1	3	2	6
Total	3	5	5	13

b. Par type de prélèvement

Comme décrit le <u>Tableau 22</u>, les souches de BGN non fermentant proviennent de différents prélèvements. Les souches de *P. aeruginosa* productrices de carbapénèmase ne sont pas recherchées sur les écouvillons rectaux. De ce fait, les souches étudiées sont principalement isolées d'échantillons à visée diagnostique tels que hémocultures (n=3), prélèvements respiratoires (n=4), urines (n=2), liquide péritonéal (n=1) et pus superficiel (n=1). Deux souches d'*Acinetobacter baumannii* ont été retrouvées en portage rectal.

Tableau 22 : Répartition des souches de bacilles Gram négatif selon le type de prélèvement

Type de prélèvement	Nombre
Ecouvillon rectal	2
Hémoculture	3
Urine	2
Prélèvements respiratoire	4
Pus superficiel	1
Liquide péritonéal	1
Total	13

c. Par contexte clinique et géographique

• Acinetobacter baumannii

Les souches ont été isolées en majorité chez des patients hospitalisés en unité de réanimation polyvalente (n=2) ou unité de neurochirurgie ou neuroréanimation (n=4), ainsi qu'un patient en unité de gastro-entérologie (<u>Tableau 23</u>). Parmi les 7 patients, 4 étaient des patients EVASAN, venant de Mayotte (n=2) et des Comores (n=2).

Chaque souche étudiée est détaillée plus amplement dans l'Annexe 1.

<u>Tableau 23</u> : Renseignements démographiques et clinique des patients dont les souches d'Acinetobacter baumannii sont issues

Renseignements démographiques et géographiques des patients	Nombre de cas
Origine géographique (n=7)	
Mayotte	2
Comores	2
La Réunion	3
Contexte d'hospitalisation (n=7)	
Autochtone	3
Évacuation sanitaire (EVASAN)	4
Service d'hospitalisation (n=7)	
Réanimation	4
Chirurgie	2
Autres	1
Prélèvement (n=7)	
Urine	1
Respiratoire	2
Écouvillon rectal	2
Autres	2
Infection et/ou colonisation (n=7)	
Infection	5
Colonisation	2

Pseudomonas aeruginosa

Les souches ont été isolées en majorité chez des patients hospitalisés en unité d'hématologie clinique (n=5), et en unité de maladie infectieuse (n=1). Parmi ceux-ci, seulement un patient était originaire des Comores (Tableau 24).

Chaque souche étudiée est détaillée plus amplement dans l'Annexe 1.

<u>Tableau 24</u> : Renseignements démographiques et clinique des patients dont les souches de Pseudomonas aeruginosa sont issues

Renseignements démographiques et géographiques	Nombre de cas
Origine géographique (n=6)	
Comores	1
La Réunion	5
Contexte d'hospitalisation (n=6)	
Autochtone	6
Évacuation sanitaire (EVASAN)	0
Service d'hospitalisation (n=6)	
Hématologie	5
Maladie infectieuse	1
Prélèvement (n=6)	
Urine	1
Respiratoire	2
Sang	3
Infection et/ou colonisation (n=6)	
Infection	6
Colonisation	0

2. Sensibilité in vitro au céfidérocol

a. Acinetobacter baumannii

Toutes les souches d'*Acinetobacter baumannii* ont un diamètre d'inhibition pour le céfidérocol inférieur à 17mm (<u>Tableau 25</u>) qui est le diamètre critique décrit par l'EUCAST. Nos souches productrices de carbapénèmase OXA-23 et NDM-1 sont donc toutes catégorisées comme résistantes selon ce référentiel.

Tableau 25 : Résultats des mesures de diamètre d'inhibition du céfidérocol (30μg)

Acinetobacter baumannii	Diamètre d'inhibition (mm)	Interprétation CA-SFM/ EUCAST	Interprétation CLSI	Interprétation FDA
AC1	14	R	-	I
AC2	14	R	-	I
AC3	6	R	-	R
AC4	10	R	-	R
AC5	12	R	-	1
AC6	15	R	S	I
AC7	15	R	S	1

Selon les recommandations de la CLSI, nous ne pouvons pas conclure avec des diamètres d'inhibition < 15mm. Pour notre étude, nous pouvons uniquement conclure à 2 souches sensibles en suivant leurs critères d'interprétations.

Contrairement aux données du CLSI, nos souches sont catégorisables avec les critères CA-SFM/EUCAST et FDA. La FDA catégorise 5 souches "intermédiaires" que le CA-SFM/EUCAST catégorise "résistantes".

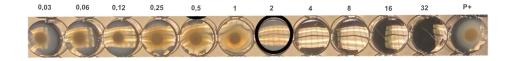
b. Pseudomonas aeruginosa

i. Contrôles qualité

Les résultats des tests de sensibilités pour la souche de *Pseudomonas* aeruginosa 27853 sont acceptables pour la valeur du diamètre d'inhibition et la valeur de CMI en diffusion (E-test) (<u>Tableau 26</u>). Néanmoins, la valeur de CMI en microdilution pour cette souche n'est pas correcte. Elle a été contrôlée et est toujours hors limite acceptable par le CA-SFM/EUCAST (<u>Figure 30</u>). Par conséquent, les résultats de CMI en microdilution ne sont pas interprétables pour nos souches de *Pseudomonas* aeruginosa étudiées.

<u>Tableau 26</u>: Valeurs obtenues pour les tests de sensibilité de la souche ATCC 27853 de Pseudomonas aeruginosa au céfidérocol

ATCC Pseudomonas aerugii	nosa Résultats	Valeur cible	Limite acceptable
27853			
Diamètre d'inhibition (disque 30µg) 25 mm	26 mm	23-29 mm
CMI (diffusion)	0,25 mg/L	0,125-0,25 mg/L	0,06-0,5 mg/L
CMI (microdilution)	2 mg/L	0,125-0,25 mg/L	0,06-0,5 mg/L



<u>Figure 30</u> : CMI céfidérocol en microdilution de la souche ATCC Pseudomonas aeruginosa 27853

ii. Résultats par méthode de diffusion en milieu gélosé en disque

En utilisant les recommandations du CA-SFM/EUCAST (89), 1 seule des 6 souches de *P. aeruginosa* productrices de NDM étai catégorisable comme sensible au céfidérocol et 5 étaient situées dans la ZIT (<u>Tableau 27</u>).

<u>Tableau 27</u>: Résultats des valeurs de diamètre d'inhibition (en mm) interprétés avec les critères du CA-SFM/EUCAST, CLSI et FDA

Pseudomonas aeruginosa	Diamètre d'inhibition (mm)	Interprétation CA-SFM/ EUCAST	Interprétation CLSI	Interprétation FDA
PA1	19	ZIT	S	
PA2	18	ZIT	S	I
PA3	18	ZIT	S	I
PA4	19	ZIT	S	I
PA5	24	S	S	I
PA6	20	ZIT	S	I

Si on considère les critères d'interprétation décrit par le CLSI, l'ensemble des souches était catégorisé comme sensible. Si on considère les critères d'interprétation décrit par la FDA, l'ensemble des souches était catégorisé comme intermédiaire.

ii. Résultats par mesure de CMI

Méthode de diffusion (E-test)

L'analyse des CMI par la méthode E-Test a pu être réalisée pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa*. En utilisant les recommandations du CA-SFM/EUCAST (89), toutes les souches étaient catégorisées comme sensibles (<u>Tableau 28</u>).

<u>Tableau 28</u>: Résultats des valeurs de CMI en diffusion (en mg/L) interprétées avec les critères du CA-SFM/EUCAST, CLSI et FDA

Pseudomonas aeruginosa	CMI (mg/L)	Interprétation CMI CA-SFM/ EUCAST	Interprétation CMI CLSI	Interprétation CMI FDA
PA1	2	S	S	
PA2	1,5	S	S	I
PA3	1,5	S	S	1
PA4	2	S	S	
PA5	0,5	S	S	S
PA6	2	S	S	

Si on considère les critères d'interprétation décrit par le CLSI, l'ensemble des souches était catégorisé comme sensible. Si on considère les critères d'interprétation décrit par la FDA, 5 des 6 souches étaient catégorisées comme intermédiaires. La souche de *PA5* présentant une CMI à 0,5 mg/L est catégorisée sensible.

Méthode de microdilution en milieu liquide (Sensititre™)

L'analyse des CMI par la méthode de microdilution Sensititre™ a pu être testée pour toutes les souches de *Pseudomonas aeruginosa* producteur de NDM. Néanmoins, les résultats obtenus ne peuvent pas être interprétés car la souche contrôle ATCC n'a pas rendu un résultat acceptable avec cette méthode. Ils sont décrits uniquement à titre indicatif dans le Tableau 29.

<u>Tableau 29</u> : Résultats des valeurs de CMI en microdilution (en mg/L) interprétées avec les critères du CA-SFM/EUCAST, CLSI et FDA

Pseudomonas aeruginosa	CMI (mg/L)	Interprétation CMI CA-SFM/ EUCAST	Interprétation CMI CLSI	Interprétation CMI FDA
PA1	16	R	R	R
PA2	16	R	R	R
PA3	16	R	R	R
PA4	8	R	1	R
PA5	8	R	1	R
PA6	16	R	R	R

iii. Concordance entre les différentes méthodes

En comparant les résultats obtenus par la méthode de diffusion en disque et ceux de la méthode E-test, 1 seule des 6 souches testées par ces deux méthodes donne des résultats concordants. Les souches discordantes concernent celles

présentes dans la ZIT. En effet, les résultats discordants concernent 5 souches se trouvant dans la ZIT avec la méthode de diffusion en disque selon les recommandations du CA-SFM/EUCAST, et peuvent être considérées comme sensibles au regard des résultats obtenus avec la 2^e méthode (ce qui est recommandé pour les résultats dans la ZIT) et selon les critères de l'EUCAST et du CLSI.

3. Identité clonale des souches de BGN non fermentants

a. Phénotype de résistances associées

Toutes les souches d'Acinetobacter baumannii étudiées présentaient le même phénotype de résistance aux autres classes antibiotiques : bêta-lactamines, aminosides, fluoroquinolones, cyclines, et aux molécules rifampicine et colistine ($\underline{\text{Tableau }30}$). Toutes les souches de $\underline{Pseudomonas}$ aeruginosa présentaient le même phénotype de résistance aux autres classes antibiotiques à l'exception d'une souche résistante à l'aztréonam probablement par production d'une β -lactamase de type AmpC ou BLSE ($\underline{\text{Tableau }31}$).

La résistance aux aminosides était liée pour toutes les souches à la production d'une méthylase de l'ARN-16S de type RmtB comme l'a confirmé l'expertise du CNR. Toutefois, la multi-résistance constatée ne permet pas d'identifier un clone majoritaire dans les 2 groupes bactériens.

b. Dendrogramme

On peut voir sur le dendrogramme des bacilles à Gram négatif non fermentants (Annexe 7) que les isolats de *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumanii* sont relativement proches au sein de chacune des espèces. Cette homogénéité laissant supposer un lien clonal entre les différentes souches étudiées.

<u>Tableau 30</u>: Phénotype de résistance aux antibiotiques pour chaque souche d'Acinetobacter baumannii étudiée

Souches	Type de carbapénèmases	TIC	тсс	PIP	PTZ	CAZ	CEF	GTM	AMK	SXT	CIP	LVX	IMP	MEM	TIG	MIN	RIF	COL	CFD
AB1	NDM-1 + OXA-23	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
AB2	NDM-1 + OXA-23	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
AB3	NDM-1 + OXA-23	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
AB4	NDM-1 + OXA-23	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
AB5	NDM-1 + OXA-23	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
AB6	NDM-1 + OXA-23	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R
AB7	NDM-1 + OXA-23	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R

<u>Tableau 31</u>: Phénotype de résistance aux antibiotiques pour chaque souche de Pseudomonas aeruginosa étudiée

Souches	Type de carbapénèmase	TIC	тсс	PTZ	PIP	CAZ	ТМ	GM	AMK	SXT	CEF	CIP	LEV	IMI	MEM	АТМ	ATM + AVI	CZA	СΖТ	FOS	COL	CFD (DD)	CFE (CMI
PA1	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	SFE	R	R	R	S	ZIT	S
PA2	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	SFE	R	R	R	S	ZIT	S
PA3	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	R	R	R	S	ZIT	S
PA4	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	SFE	R	R	R	S	ZIT	S
PA5	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	SFE	R	R	R	S	S	S
PA6	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	SFE	R	R	R	S	ZIT	S

V. Discussion

Le principal enjeu de ce travail a été d'évaluer la sensibilité au céfidérocol des bacilles à Gram négatif producteurs de métallo-β-lactamase de type NDM isolés au CHU site Sud de La Réunion. En effet, l'île de La Réunion est un véritable réservoir de bactéries produisant cette β-lactamase. La première étude épidémiologique publiée par Holman et son équipe montrait déjà une forte progression des EPC à La Réunion depuis 2011, dont plus de 80% des souches produisaient des enzymes de types NDM-1 (90). Ces souches catégorisées comme BHRe sont une source d'inquiétude constante dans les centres hospitaliers ou centres de soins, du fait de leur diffusion, ainsi que des difficultés de leur prise en charge lors d'infections invasives. La plupart des patients infectés par ces bactéries se retrouvent malheureusement en situation d'impasse thérapeutique.

A. Evaluation de l'activité antibactérienne in vitro du céfidérocol

1. Efficacité *in vitro* sur les souches productrices de β-lactamase de type NDM

Concernant les entérobactéries, nous avons constaté que l'activité *in vitro* du céfidérocol n'était pas optimale sur les souches de bactéries productrices de NDM sélectionnées dans notre étude.

La microdilution, en milieu liquide, technique de référence pour déterminer la CMI, nous permet d'obtenir seulement 26% de sensibilité au céfidérocol pour les souches d'EPC de type NDM selon les critères d'interprétation du CA-SFM/EUCAST. Bonnin et son équipe ont mené une étude comparative comprenant entre autres 118 entérobactéries produisant une carbapénèmase de type NDM (91). Ils ont retrouvé un taux de sensibilité au céfidérocol de 70,3% avec la technique de microdilution (Sensititre™ EUMDROXF, Thermofisher) et de diffusion en disques (Disque de Céfidérocol 30 µg, Liofilchem, Italie). Les CMI de céfidérocol étaient toutefois élevées chez ces entérobactéries, avec une médiane à 2mg/L. Au Royaume-Uni, Mushtaq a également mené une étude comparative comprenant 305 souches d'entérobactéries dont 61 produisant une MBL de type NDM (76). Quarante et un pourcents des souches étaient sensibles au céfidérocol avec un seuil décisionnel à 2mg/L (critères EUCAST), et 72,1% si le seuil est de 4 mg/L (critères CLSI et FDA) avec une technique de

microdilution (plaque Sensititre™ et bouillon appauvri en fer/ajusté en cations). La distribution des CMI des souches d'entérobactéries productrices de NDM était étendue et élevée par rapport à celle des isolats possédant d'autres MBL et cela indépendamment de la résistance à l'aztréonam (association avec BLSE ou AmpC). Dans l'étude européenne multinationale, 49% des souches d'entérobactéries produisant une NDM (18/37) étaient résistantes au céfidérocol (92).

<u>Tableau 32</u>: Données issues de la littérature concernant la sensibilité des entérobactéries productrices de carbapénèmase de type NDM au céfidérocol

		Pourcentage d'I	EPC sensibles
Auteurs	Années	CMI <=2 mg/L	CMI <= 4 mg/L
		(EUCAST)	(CLSI)
Bonnin, et al (91)	2022	70,3% (83/118)	-
Mushtaq, et al (76)	2020	41% (25/61)	72,1% (44/61)
Kazmierczak, et al			
(75)			
(SIDERO-WT-2014)	2018	43% (6/14)	64% (9/14)
(dont 2 Acinetobacter			
baumannii)			
Longshaw, et al (92)	2020	51,4% (19/37)	-

Par ailleurs, nous avons remarqué que les souches de *Enterobacter cloacae* présentaient une sensibilité diminuée au céfidérocol en comparaison aux autres espèces d'entérobactéries. Une résistance croisée au céfidérocol a été décrite chez deux patients traités par ceftazidime-avibactam pour des infections à *E. cloacae*. Cette résistance était attribuable à une mutation de l'enzyme AmpC chromosomique (93). Bonnin décrit une distribution des CMI de céfidérocol significativement plus élevée au céfidérocol pour les souches de *Klebsiella spp.*, suivie des souches de *Enterobacter cloacae*, bien que les enzymes NDM ne soient pas plus nombreuses chez ces dernières (91).

Nous avons retrouvé une sensibilité au céfidérocol moins bonne chez les souches d'entérobactéries productrices de NDM-5 en comparaison aux souches productrices de NDM-1. En considérant le faible effectif de chaque sous-groupe, nous ne pouvons pas établir un lien attribuable à ce sous-type d'enzyme dans la résistance au céfidérocol.

Pour conclure, nous ne pouvons pas affirmer que les CMI plus élevées au céfidérocol étaient dues aux enzymes NDM elles-mêmes ou à l'association à d'autres enzymes : BLSE ou hyperproduction d'AmpC. En revanche, nous remarquons une plus grande proportion de souches résistantes au céfidérocol dans le groupe produisant une enzyme supplémentaire.

Concernant les bacilles à Gram négatifs non fermentants, nos données sont rendues à titre indicatif du fait de leur faible effectif.

Pour les souches de Pseudomonas aeruginosa, nous avons obtenu 100% de sensibilité (6/6) mais avec des CMI dans la limite haute en technique E-test. En effet, pour 5 souches sur 6, les CMI étaient comprises entre 1,5 et 2 mg/L, le seuil du CA-SFM/EUCAST étant fixé à 2mg/L. Mushtaq étudie également 111 P. aeruginosa dont 11 produisant une carbapénèmase de type NDM. En effet, les CMI étaient élevées par rapport aux souches ayant d'autres mécanismes de résistances (VIM, IMP, GES (Guyana Extended Spectrum β -lactamase), VEB (Vietnam Extended Spectrum β lactamase)). Ils ont retrouvé 45,5% et 72,7% de sensibilité au céfidérocol en prenant les seuils de 2mg/L (EUCAST) et 4mg/L (CLSI) respectivement. Dans l'étude de Longshaw et son équipe, pour les 6 Pseudomonas aeruginosa producteurs de NDM étudiés, tous étaient sensibles au céfidérocol (92). Les résistances au céfidérocol décrites dans la littérature sont également en lien avec leur transporteur de fer. Une étude montre une augmentation des CMI de céfidérocol associée à des mutations dans les régions en amont du régulateur de la synthèse de la pyoverdine ou de l'opéron FecIRA régulateur de la synthèse des protéines sidérophores. La surexpression de ces protéines peut entraîner une augmentation supérieure à 4 fois la CMI du céfidérocol (94). Ces protéines sidérophores dépendent de trois protéines de la membrane interne, TonB, ExbB, ExbD. Leur expression est régulée par des systèmes à 2 composants. Les mutations diminuant la fonction des composants de cette voie peuvent entraîner des augmentations spectaculaires des CMI au céfidérocol.

Pour Acinetobacter baumannii, nos données sont semblables à celles de la littérature. Nous avons obtenu 100% de résistance au céfidérocol. En effet, Mushtag qui a également étudié 20 A. baumannii producteurs de NDM rapportait une sensibilité de 50% et 80% en prenant les seuils de 2mg/L et 4mg/L (CLSI) respectivement. 41 A. baumannii producteurs de OXA-23 étaient étudiés. Ces souches étaient sensibles au céfidérocol, avec un taux à 85,5% et 87,8% en prenant les seuils de 2mg/L et 4mg/L respectivement. La résistance est davantage liée à la carbapénèmase de type NDM que de type OXA-23. D'autres mécanismes de résistance ont été décrits. La modification de la cible (PLP-3), la modification du transport ionique, les défauts de perméabilité et/ou la surexpression de l'efflux pourraient contribuer à la résistance au céfidérocol chez A. baumannii (95). Malik et son équipe ont examiné les mécanismes de résistance de 12 A. baumannii dont la sensibilité a été évaluée pour le céfidérocol (<=0,03 mg/L à 32mg/L). Aucune β-lactamase n'est ressortie majoritairement dans l'étude des mécanismes de résistances. De plus, ils ont montré que la résistance au céfidérocol des isolats d'A. baumannii était associée à une expression réduite du gène pirA codant le récepteur des sidérophores (95).

Poirel et son équipe ont montré l'implication des β -lactamases PER et NDM dans la résistance au céfidérocol (78). Les 16 souches d'*A. baumannii* (NDM-1 (n=6), NDM-5 (n=1), NDM-9 (n=1), OXA-23 + PER (n=8)) étudiés ont toute présentées des CMI allant de 2mg/L à > 8mg/L. Il a été décrit également par Oinuma qu'une souche d'*A. baumannii* producteurs de NDM-1 et TMB-1 (Tripoli Metallo- β -lactamase) présentait une CMI de céfidérocol à 32mg/L (96).

2. Analyse comparative des méthodes testant la sensibilité *in vitro* du céfidérocol

Pour les souches d'entérobactéries, les résultats obtenus avec les méthodes de diffusion - détermination du diamètre d'inhibition et détermination de la CMI - montrent respectivement 82% et 82% de concordance à la méthode de référence, la microdilution en milieu liquide. En effet, nous avons remarqué quelques discordances avec chacune des techniques.

Il y a une sous-estimation des valeurs de CMI avec la technique E-test en comparaison à la technique en microdilution. Les médianes des deux séries sont discordantes, une à 5mg/L (CMI E-test) et une à 8mg/L (CMI Sensititre™). Une étude comparative menée par Bonnin et son équipe a montré des résultats similaires. Parmi les 100 souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmase étudiées, ils ont retrouvé 63% de concordance avec la microdilution. Ils affirment que la fiabilité de cette méthode est limitée pour les entérobactéries (91). En effet, la méthode E-test est dédiée à la catégorisation des souches de *Pseudomonas aeruginosa* au céfidérocol. Ils ont montré par cette étude que le risque d'utiliser le E-test® sur ces souches était de rendre de fausse sensibilité.

Concernant nos souches d'EPC, nous avons obtenu 25% puis 18% des souches dans la ZIT après contrôle. Cet aléa n'est pas négligeable et nécessite d'être systématiquement contrôlé par une CMI. En effet, 2 et 3 souches étaient retrouvées sensibles et résistantes respectivement après catégorisation définitive. Pour les 100 entérobactéries testées dans l'étude de Bonnin, 21,3% des souches ne sont pas catégorisables étant présentes dans la ZIT. Une et 11 souches étaient retrouvées sensibles et résistantes respectivement après catégorisation définitive. Nos résultats sont semblables et confirment que la technique en diffusion par disque pourrait être mise en place comme technique de dépistage. Seule la technique en microdilution pouvant donner la catégorisation définitive.

D'autres auteurs ont réalisé des études comparatives des différents tests disponibles pour évaluer la sensibilité au céfidérocol de divers bacilles à Gram négatif. Morris a comparé la technique en microdilution à la diffusion en disque par deux méthodes. Il a remarqué que la concordance des méthodes était dépendante également du référentiel choisi (CLSI, EUCAST, FDA).

Tous les résultats sont résumés dans le <u>Tableau 33</u>.

<u>Tableau 33</u>: Données issues de la littérature pour la comparaison des différentes méthodes d'évaluation de la sensibilité au céfidérocol

Auteurs	Année	Souches	Technique	EUCAST	CLSI	FDA	Méthode de
							référence
Bonnin	2022	Entérobactéries	Sensititre™	95.0 % CA			
		(n=100)	EUMDROXF	87.0% EA			
				2.8% VME	-	-	Microdilution
				1.6% ME			Sensititre™
			E-test®	63% CA			(plaque
			(Liofilchem)	6% EA			congelée
				94,9% VME	-	-	préparée) +
				0% ME			Bouillon MH
			Diffusion en	77% CA			appauvri en
			disque	1,6% ME			fer
			(Liofilchem®)	56,4 VME	-	-	
Morris	2020	Entérobactéries	Diffusion en	85% CA	89% CA	75%CA	
		(n=58),	disque	17%ME	8%mE	25% mE	Microdilution
		Pseudomonas	(HardyDisks®)	12%VME	3% ME	0%VME	Sensititre™
		aeruginosa				0%ME	(plaque
		(n=14),	Diffusion en	90% CA	87% CA	79% CA	contenant un
		Acinetobacter	disque	13% ME	13% mE	19% mE	chélateur de
		baumnannii	(Mastdisc®)	12% VME	0% VME	0% VME	fer)
		(n=14)			0%ME	0%ME	

CA : concordance catégorique ; EA : concordance essentielle ; ME : erreurs importantes ; mE : erreurs mineures ; VME : erreurs très importantes.

Les performances attendues étaient une CA \geq 90%, EA \geq 90%, VME \leq 1,5%, ME \leq 3% dans l'étude de Bonnin, et CA \geq 90%, mE \leq 10%, VME et ME \leq 3% dans celle de Morris.

Pour les souches de *Pseudomonas aeruginosa*, on a remarqué que la méthode de diffusion par disque n'était pas assez précise également. La ZIT couvre une zone de 8mm ce qui contraint à rendre des résultats résistants en absence de deuxième

méthode lorsque le diamètre est compris entre de 14mm et 22mm. Par ailleurs, nous n'avons pas pu comparer les résultats de CMI en diffusion et en microdilution.

Grâce aux données de cette étude et aux données de la littérature, nous pouvons mettre en évidence les divers avantages et inconvénients de chaque technique.

La méthode de microdilution semble la plus pertinente et intéressante. Néanmoins, elle nécessite l'utilisation d'un bouillon MH déplété en fer et ajusté en cations. De plus, la lecture de cette technique nécessite une expertise particulière. Des trainées de pousse peuvent être visibles dans certains cas, une lecture à 80% est nécessaire pour les isolats de *P. aeruginosa* où nous devons nous fier à la taille du culot de pousse (> ou < 1mm). La lecture n'est pas toujours évidente et les tests à renouveler en cas de doute non négligeables.

La bandelette E-Test a un usage limité, elle est précise uniquement pour *P. aeruginosa* et doit être évitée pour d'autres souches bactériennes.

La technique de diffusion en disque pourrait être utilisée comme technique de dépistage, mais un nombre non négligeable de souches devra être testé par une deuxième technique afin de pouvoir rendre une catégorisation définitive. Cela implique qu'il est nécessaire de référencer les deux techniques en pratique au laboratoire. Début 2022, les mesures des CMI ont été remise en cause suite à une l'alerte ANSM survenue en janvier concernant les seules plaques de microdilution disponibles (Sensititre™) sur le marché. Cette technique a été suspendue de la distribution en raison d'un mauvais rendement de bouillon et du risque de fausse sensibilité pour certaines espèces à Gram négatif (97). De ce fait, la mesure de CMI a été impossible sur les souches de bacilles à Gram négatifs sélectionnées.

D'autres techniques ont été développées et sont en cours de déploiement dans les laboratoires. Il s'agit de deux techniques de microdilution :

- UMIC® Cefiderocol (Biocentric, Bruker Daltonics) :
 - 40 tests par boîte (chaque bandelette contient du céfidérocol à des concentrations finales de 0,03 à 32 mg/L), associés à des bouillons MH déplété en fer (Iron-depleted CAMHB (E2-333-020), Bruker Daltonics)
- ComASP® Cefiderocol 0,008-128 µg/mL (Liofilchem®) :

4 panels emballés individuellement de 2 tests, associés à 8 bouillons MH déplété en fer et ajusté en cations

B. Place du céfidérocol

La Réunion est le point de passage de nombreux " flux migratoires " dans la zone de l'Océan Indien le liant à la France métropolitaine, mais surtout à l'Afrique australe et au sous-continent Indien. On peut séparer ces flux selon 2 principaux motifs d'échanges de populations : le tourisme, surtout familial, et les migrations de patients liés à des motifs médicaux comme des évacuations sanitaires vers le CHU de La Réunion pour des patients atteints de pathologies sévères. La Réunion est ainsi un DOM soumis à une forte pression d'importation en EPC, et les EVASAN sont un des canaux par lesquels ces souches parviennent sur ce territoire (98).

À La Réunion l'émergence des EPC était plus tardive qu'en France métropolitaine : 2011 vs 2004. Au CHU Sud et depuis 2016, une émergence d'EPC de cas autochtones émergent majoritairement en comparaison au cas d'EPC ayant un lien avec l'étranger (Figure 31) (33).

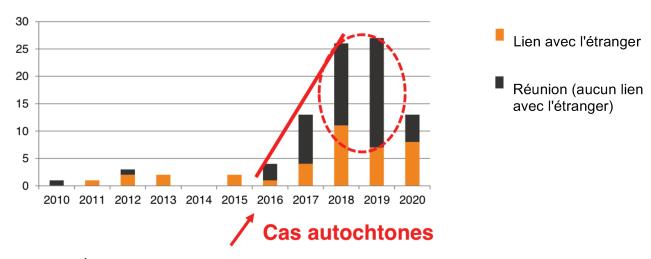


Figure 31 : Évolution et origine des EPC au CHU Sud de La Réunion de 2010 à 2020 (33)

Cette analyse se confirme car nous avions un lien avec l'étranger parmi les souches de l'étude dans 34% des cas pour les souches cliniques d'entérobactéries, et dans 4 cas sur 13 pour les bacilles à Gram négatifs non fermentants. Miltgen a montré dans son étude de thèse que la population des souches sans aucun lien direct ou indirect avec l'étranger était génotypiquement différente (STs et pulsotypes),

suggérant de multiples acquisitions indépendantes. Néanmoins, cela fait craindre un début de dissémination communautaire à La Réunion (98). Notre étude phénotypique, et l'étude non exhaustive du CNR par séquençage MLST des souches semblent concordantes avec ces observations.

Par conséquent, l'utilisation du céfidérocol ne semble pas pertinente dans ce département d'outre-mer. Le céfidérocol n'est pas systématiquement stable vis-à-vis de l'hydrolyse de la carbapénèmase de type NDM, qui est la principale enzyme hydrolysant les carbapénèmes présente dans ce département. Il trouve sa place dans les infections à *Pseudomonas aeruginosa* producteurs de NDM, mais elles représentent une minorité des infections à BGN producteurs de carbapénèmases. De plus, des études sont en cours à ce sujet et il s'agirait probablement de la diffusion épidémique d'un même clone.

Concernant les entérobactéries, des résistances suite à l'instauration d'un traitement par céfidérocol ont été mise en évidence, comme chez ce patient traité pour une infection intra-abdominale à *Escherichia coli* (99).

D'autre part, quelques épidémies clonales ont été décrites dans le Sud-Ouest de l'Océan Indien. La première épidémie a sévi à Mayotte entre octobre 2015 et janvier 2017 impliquant des isolats de *Enterobacter cloacae* producteurs de carbapénèmase de type IMI-1. 16 des 18 souches étaient liées par clonage et appartenaient au ST820.

En 2021, une seconde épidémie de *Acinetobacter baumannii* producteurs de NDM-1 et OXA-23 résistants aux carbapénèmes et à la colistine a été décrit (ABRI-Co)(100). 13 patients admis au CHU de La Réunion ont été impliqués dans cette épidémie, le premier cas était un patient venant de Mayotte dans un contexte d'évacuation sanitaire. Un lien épidémiologique a pu être établi pour 11 des 13 patients. Tous les isolats se sont révélés appartenir au complexe clonal ST^{Pas}1/ST^{Ox}231 et identique sur le plan phylogénétique.

Dans une étude d'évaluation de la prévalence d'EPC en Chine, il a été montré que *Escherichia coli* ST167, porteur de *blaNDM* pourrait participer à la dissémination clonale de cette famille de carbapénémases (101). En effet, dans notre étude, 3 souches de *Escherichia coli* font partie de ce clone, le ST167. Poirel et son équipe ont décrit le cas d'un isolat clinique de *Escherichia coli* multirésistant producteur de NDM-35 et faisant partie du clone ST167. Il présentait une hydrolyse pour le céfidérocol importante. L'étude de cette résistante a montré que cette souche avait acquis en plus

de sa MBL, une β -lactamase de type CMY, une modification de la PLP3, ainsi qu'une mutation de la protéine transportant le fer CirA.

C. Limite de l'étude

Cette étude a permis d'évaluer l'activité antibactérienne du céfidérocol sur une population de bactéries spécifiques, et dans un département français possédant une épidémiologie bactérienne de la résistance particulière : l'île de La Réunion. Nous présentons donc ici des données qui peuvent s'avérer utiles aux praticiens de ce département d'outre-mer. Les résultats tiennent compte de contraintes locales contrairement aux études nationales ou internationales (tests et souches disponibles).

Les souches étudiées étaient toutes des BGN et produisaient toutes une métallo-β-lactamase, remplissant donc les critères de l'AMM du céfidérocol. Néanmoins, ces souches n'étaient pas toutes issues d'infections sévères car nous avons choisi d'étudier également les souches BHRe isolées de portage chez des patients à risques ou patients évacués sur l'île de La Réunion pour urgence médicale (patient EVASAN). Le but de l'étude était de positionner le céfidérocol par rapport à un échantillon représentatif de l'écologie bactérienne du CHU Sud de La Réunion. Une étude plus complète pourrait inclure les souches de BHRe isolées au CHU Nord, au CHOR (entre Hospitalier de l'Ouest de La Réunion) et également celles isolées dans les laboratoires privés travaillant avec les cliniques.

Nous disposions d'une petite quantité de tests d'évaluation de la sensibilité au céfidérocol, donc l'effectif des souches bactériennes était faible. Cela a pu restreindre l'interprétation de certains résultats de sous-groupes.

Les méthodes nous permettant d'évaluer la sensibilité des bactéries à la molécule sidérophore étaient la diffusion de disques pour tous les BGN. Nous avions également à disposition la microdilution et bandelettes de diffusion E-test pour les entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa*. Nous avons utilisé comme méthode de référence la plaque de microdilution Sensititre™ où le céfidérocol présent dans chaque cupule était additionné d'un chélateur spécifique permettant l'utilisation d'un bouillon MH ordinaire. Ces plaques étaient mises à disposition pour la recherche uniquement. Nous n'avions pas de méthode parallèle de comparaison utilisant des bouillons

CAMHB préalablement traités par une résine chélatrice (Chelex®, BioRad) puis ajustés en ions Ca²⁺, Zn²⁺ et Mg²⁺ contenant du céfidérocol. En effet, le fer est un nutriment essentiel pour l'Homme ainsi que pour les microorganismes pathogènes. Une facette importante du système immunitaire inné consiste à limiter la disponibilité du fer au cours d'un processus infectieux pour les agents pathogènes. Par conséquent, la faible disponibilité du fer in vivo pendant l'infection doit être assimilée in vitro par une déplétion en fer dans le bouillon (102). Comme l'a montré Albano et son équipe, les CMI du céfidérocol sur les bacilles Gram négatif sélectionnés étaient plus élevées avec la technique de microdilution dans un bouillon Muller Hinton standard (> 0,03 μg/mL de fer) qu'avec le bouillon Muller Hinton appauvri en fer ($\leq 0.03 \,\mu \text{g/mL}$ de fer) (103). En effet, les systèmes d'absorption du fer chez les bactéries sont réprimés lors du transfert dans des milieux de bouillons riches en fer. Concernant les milieux gélosés, peu de chercheurs ont examiné les profils protéiques de la membrane externe d'organismes cultivés à la surface de ces milieux. Une étude de 1988 a montré que le milieu gélosé standard comportait également des propriétés de chélation du fer (104). Ils ont comparé les protéines de la membrane externe de bactéries cultivées dans des milieux chimiquement définis et limités en fer avec celles cultivées dans des milieux utilisés en laboratoire. Une substance chélatrice a pu être détectée dans les extraits de gélose après croissance bactérienne ; elle a été produite dans une moindre mesure dans les cultures en bouillon.

Conclusion et perspective

L'émergence des EPC à la suite de la commercialisation et de l'utilisation massive des carbapénèmes représente un enjeu majeur de santé publique pour les prochaines décennies. Les nouvelles spécialités antibiotiques permettant de contrer ce phénomène reposent principalement sur des associations β-lactamines et inhibiteurs de β-lactamases et les molécules présentant un mécanisme d'action réellement innovant sont encore trop peu nombreuses. Nous avons évalué et comparé l'activité d'une d'entre elles, le céfidérocol, sur un panel de BGN multirésistants producteurs de MBL de type NDM isolés chez des patients hospitalisés au CHU Sud de La Réunion. La Réunion est un DOM non seulement fortement touché par la diffusion des EPC (4ème position en France en nombre de cas par rapport à la population) mais également soumis à une forte pression d'importation de ces BHRe (105). Nous avons obtenu des CMI pour les souches entérobactéries et *Pseudomonas aeruginosa* que nous avons interprété avec les concentrations critiques du CA-SFM/EUCAST 2022, mais également du CLSI et FDA.

Dans ce travail, nous avons répondu à l'objectif principal qui consistait à évaluer la sensibilité au céfidérocol des souches de BGN producteurs de NDM isolées au CHU Sud de La Réunion. L'efficacité *in vitro* et par conséquent *in vivo* de cette nouvelle molécule semble compromise sur ces souches. Confrontant nos données à celles de la littérature, la β-lactamase de type NDM produite semble être la raison. Cette molécule semble donc être d'un intérêt limité en première intention pour la prise en charge d'infections à EPC au CHU Sud de La Réunion. Comme le préconise l'IDSA, l'association Ceftazidime-Avibactam + Aztréonam serait préférable. Dans l'attente du déploiement de l'association Aztréonam-Avibactam et en situation d'impasse thérapeutique, le recours au céfidérocol est une alternative qui ne doit être envisagée qu'à la suite d'une évaluation de sa sensibilité au laboratoire et à condition d'avoir accès à la méthode de détermination la plus pertinente en fonction du groupe bactérien.

Annexes

<u>Annexe 1</u> : Répartition des souches bactériennes de l'étude par contexte clinique et géographique

Espèce	Prélèvement	Origine géographique	Service d'hospitalisation	Contexte clinique
EC1	Ecouvillon rectal	Madagascar	Réanimation	Patient EVASAN Pneumopathie bilatérale
EC2	Ecouvillon rectal	Mayotte	Cardiologie Unité de Soins Intensifs	Patient EVASAN Trouble du rythme cardiaque
EC3	Ecouvillon rectal	Comores	Chirurgie	Patient EVASAN Vertébrectomie cervicale sur spondylodiscite
EC4	Ecouvillon rectal	France, vacances à Madagascar	Chirurgie	Patient EVASAN Accident de la voie publique (AVP), plaie nécrotique surinfectée
EC5	Ecouvillon rectal	La Réunion, vacances en Inde	Urgences	Diarrhées, amaigrissement, fièvre
EC6	Ecouvillon rectal	La Réunion, vacances à Madagascar	Neurochirurgie	Patient EVASAN Hématome sous dural
EC7	Ecouvillon rectal	Madagascar	Réanimation	Patient EVASAN Post opératoire d'une péritonite
EC8	Ecouvillon rectal	La Réunion	Hématologie	Aplasie médullaire
EC9	Ecouvillon rectal	La Réunion	Hématologie	Lymphome
EC10	Hémoculture	Comores (Anjouan)	Réanimation	Patient EVASAN Bactériémie à <i>K. pneumoniae</i> NDM, <i>E. coli</i> NDM et <i>Streptococcus anginosus</i>
ECi11	Ecouvillon rectal	La Réunion	Hématologie	Leucémie aiguë myéloïde (LAM)
EC12	Ecouvillon rectal	La Réunion	Hématologie	LAM
EC13	Ecouvillon rectal	La Réunion	Hématologie	Myélome
EC14	Ecouvillon rectal	La Réunion	Réanimation	Méningite et pneumonie bactériémiante à pneumocoque

KP1	Ecouvillon rectal	La Réunion	Hématologie	Aplasie médullaire
KP2	Hémoculture	La Réunion	Hématologie	Aplasie médullaire (LAM), Pneumonie nosocomiale à K. pneumoniae NDM
KP3	Ecouvillon rectal	Comores	Non renseigné	Patient EVASAN
KP4	Ecouvillon rectal	La Réunion	Hématologie	Patiente allogreffée post-LAM
KP5	Ecouvillon rectal	Île Maurice, voyage en Inde	Réanimation	Patient EVASAN Choc septique: Enterococcus faecalis, A. baumannii et K. pneumoniae NDM
KP6	Ecouvillon rectal	Mayotte	Réanimation	Patient EVASAN Suspicion de spondylodiscite
KP7	Hémoculture	La Réunion	Réanimation	Patient contact EPC Infection de la chambre implantable à <i>K. pneumoniae</i> NDM
KP8	Urine	La Réunion	Réanimation	Prostatite à <i>K. pneumoniae</i> NDM (Cancer laryngé)
KP9	Ecouvillon rectal	La Réunion, vacances Seychelles	Réanimation	Patient EVASAN PAVM à <i>Acinetobacter baumannii</i> OXA-23 et <i>K. pneumoniae</i> BLSE
CF1	Ecouvillon rectal	La Réunion	Non renseigné	Métastases hépatiques, osseuses et ganglionnaires
CF2	Ecouvillon rectal	La Réunion	Chirurgie	Amputation hallux gauche (diabétique)
CF3	Ecouvillon rectal	Comores	Hématologie	Patient EVASAN Découverte de syndrome myélodysplasique (SMD) chez patient polyinfecté
CF4	Ecouvillon rectal	La Réunion	Réanimation	LAM en échec de traitement Fongémie à <i>Candida tropicalis</i> et Bactériémie à <i>Citrobacter freundii</i> NDM
CF5	Ecouvillon rectal	La Réunion	Hématologie	Lymphome de Burkitt Infection de cathéter à <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
CF6	Ecouvillon rectal	La Réunion	Réanimation	Détresse respiratoire chez patient hémodialysé et polyvasculaire
CF7	Urine	La Réunion	Réanimation	Dengue et infection urinaire à Citrobacter freundii NDM et Pseudomonas aeruginosa

ENTC1	Ecouvillon rectal	La Réunion	Hématologie	Rechute post-allogreffe d'une leucémie à mastocytes
ENTC2	Ecouvillon rectal	La Réunion	Réanimation	Choc septique sur angiocholite à Enterobacter cloacae
ENTC3	Liquide péritonéal	La Réunion	Réanimation	Péritonite récidivante à Enterobacter cloacae NDM
ENTC4	Os	La Réunion	Chirurgie	Ostéite du fémur à Enterobacter cloacae NDM chez patient polytraumatisé
ENTC5	Ecouvillon rectal	La Réunion	Réanimation	Leptospirose grave et choc septique
ENTC6	Urine	La Réunion	Réanimation	Coma sur encéphalomyélite aigue disséminée, Infection de cathéter et infection urinaire à <i>Enterobacter cloacae NDM</i>
ENTC7	Ecouvillon rectal	La Réunion	Réanimation	Prostatite à Enterobacter cloacae NDM (cancer prostate)
KA1	Hémoculture	La Réunion	Réanimation	Choc septique à <i>Klebsiella aerogenes</i> NDM chez patient en aplasie post chimiothérapie (LAM)
AB1	PDP	Mayotte (Mamoudzou)	Neuroréanimation	Patient EVASAN Traumatisme crânien grave aggravé par un choc septique sur Pneumopathie acquise sous ventilation mécanique (PAVM) à <i>Enterobacter cloacae</i> et <i>Acinetobacter baumannii</i>
AB2	Urine	Comores (Île de Moheli)	Neuroréanimation	Patient EVASAN AVC hémorragique compliquée d'une ventriculite à <i>Klebsiella aerogenes</i> et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
AB3	PDP	La Réunion	Réanimation polyvalente	Syndrome de détresse respiratoire aigue (SDRA) sur pneumopathie à SarsCov2, surinfecté par <i>Staphylococcus aureus</i> multisensible et <i>Pseudomonas aeruginosa</i>
AB4	Liquide péritonéal	La Réunion	Réanimation polyvalente	Pleuropneumopathie sur fistule à A. baumannii
AB5	Rectal	Comores	Neurochirurgie	Patient EVASAN
AB6	Rectal	Mayotte	Neurochirurgie	Patient EVASAN Hémorragie sous arachnoïdienne compliquée d'un hématome temporale droit
AB7	Pus superficiel	La Réunion	Gastrologie	Suivi pour fibrose pulmonaire, sous antibiotique pour Mycobacterium fortuitum

PA1	LBA	La Réunion	Hématologie clinique	Syndrome de détresse respiratoire aigue (SDRA) sévère sur pneumopathie à SarsCov2 chez patient immunodéprimé
PA2	Hémoculture	Comores (Anjouan)	Hématologie clinique	Lymphome de Hodgkin réfractaire à la première ligne de traitement
PA3	Hémoculture	La Réunion	Maladies infectieuses	Infection de piccline à <i>Pseudomonas aeruginosa</i> lors de la prise en charge par méropénème d'une méningite à <i>Escherichia coli</i> BLSE
PA4	Hémoculture	La Réunion	Hématologie clinique	Prise en charge d'une LAM
PA5	Crachat	La Réunion	Hématologie clinique	Syndrome de détresse respiratoire aiguë sur pneumopathie à SarsCov2 et surinfectée par un <i>Pseudomonas aeruginoa</i> multirésistant chez patiente immunodéprimée (myélome multiple)
PA6	Urines	La Réunion	Hématologie soins intensifs	Prise en charge d'une LAL

Annexe 2 : Phénotype de résistance des souches de Escherichia coli étudiées

Souche	Type de carbapénèmas e	AMC	TIC	PTZ	FOX	СТХ	CAZ	CEF	TEM	MEM	ETM	IMI	ATM	ATM + AVB	COL	AMK	GEM	LEV	CIP	SXT	CHL	TIG	MIN	FOS	NIT	CFD	Phénc identi
EC1	NDM-5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	R	R	S	R	S	R	R	no
EC2	NDM-5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	S	S	S	R	R	R	S	S	R	S	S	R	no
EC3	NDM-5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	s	S	s	s	R	R	R	R	S	S	s	S	S	R	no
EC4	NDM-5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	R	S	R	S	R	R	no
EC5	NDM-5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	SFE	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	no
EC6	NDM-5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R	S	R	R	no
EC7	NDM-5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	S	S	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	no
EC8	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	S	R	no
EC9	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	R	S	S	s	no
EC10	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	R	S	s	no
EC11	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	S	S	SFE	R	S	R	no
EC12	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	R	no
EC13	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	no
EC14	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	s	no

AMC : Amoxicilline-Acide clavulanique; TIC : Ticarcilline ; PTZ : Piperacilline-Tazobactam ; FOX : Cefoxitine ; CTX : Cefotaxime ; CAZ : Ceftazidime ; CEF : Cefepime ; TEM : Témocilline ; MEM : Méropénème ; ETM : Ertapénème ; IMI : Imipénème ; ATM : Aztréonam ; AVB : Avibactam ; COL : Colistine ; AMK : Amikacine ; GEM : Gentamicine ; LEV : Lévofloxacine ; CIP : Ciprofloxacine ; SXT : Cotrimoxazole ; CHL :

Chloramphenicol; TIG: Tigécycline; MIN: Minocycline; FOS: Fosfomycine; NIT: Nitrofurantoïne; CFD: Céfidérocol

<u>Annexe 3</u> : Phénotype de résistance des souches de Klebsiella pneumoniae étudiées

Souche	Type de carbapénèmase	AMC	TIC	PTZ	FOX	СТХ	CAZ	CEF	TEM	MEM	ETM	IMI	ATM	ATM+AVB	COL	AMK	GEM	LEV	CIP	SXT	CHL	TIG	MIN	FOS	NIT	CFD	Phénotype identique
KP1	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	R	S	S	SFE	R	R	S	Non
KP2	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Oui
KP3	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	R	ZIT	S	R	R	R	R	R	s	Non
KP4	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	R	R	S	R	Non
KP5	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	R	R	s	Non
KP6	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	S	R	Non
KP7	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	R	S	S	R	R	R	R	Non
KP8	NDM-5	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	Non
KP9	NDM-5	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	s	Oui

<u>Annexe 4</u> : Phénotype de résistance des souches de Citrobacter freundii étudiées

Souche	Type de carbapénèmase	AMC	TIC	PTZ	FOX	СТХ	CAZ	CEF	TEM	MEM	ETM	IMI	ATM	ATM+AVB	COL	AMK	GEM	LEV	CIP	SXT	CHL	TIG	MIN	FOS	NIT	CFD	Phénotype identique
CFRE1	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	S	S	R	S	S	R	Non
CFRE2	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	S	R	S	S	s	Non
CFRE3	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	NR	S	R	Non
CFRE4	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	R	S	R	S	R	S	S	R	Non
CFRE5	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	Non
CFRE6	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	S	S	R	S	R	R	S	S	S	R	S	R	s	Non
CFRE7	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	ZIT	S	R	S	R	S	S	R	Non

<u>Annexe 5</u> : Phénotype de résistance des souches de Enterobacter cloacae étudiées

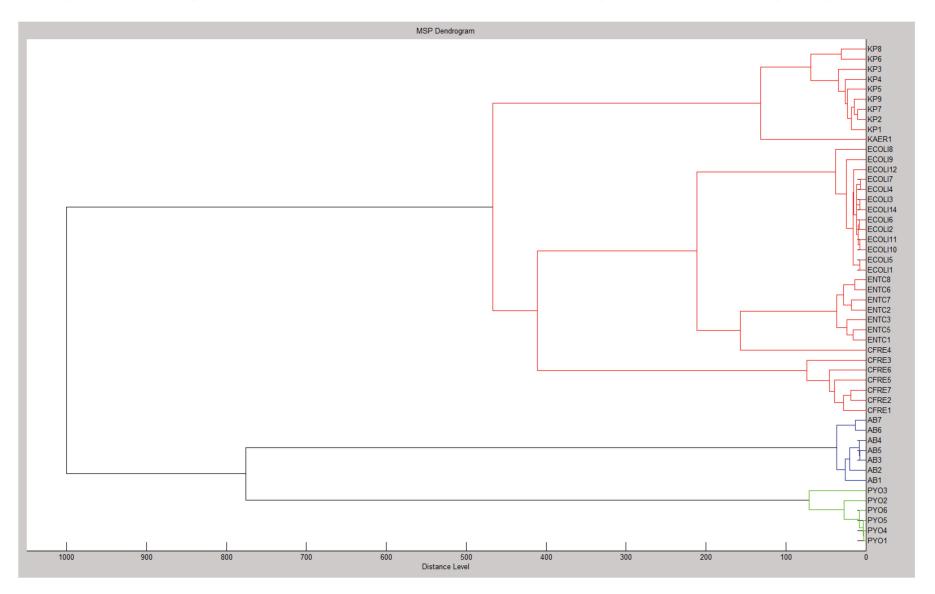
Souche	Type de carbapénèmase	AMC	TIC	PTZ	FOX	СТХ	CAZ	CEF	TEM	MEM	ETM	IMI	ATM	ATM+AVB	COL	AMK	GEM	LEV	CIP	SXT	CHL	TIG	MIN	FOS	NIT	CFD	Phénotype identique
ECLO1	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	s	S	R	R	Non
ECLO2	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	R	S	R	Non
ECLO3	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	S	S	R	R	R	R	R	S	S	R	S	R	R	Non
ECLO5	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	R	R	R	ZIT	R	R	S	SFE	S	S	R	Non
ECLO6	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	s	S	S	R	R	S	R	Non
ECLO7	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	S	S	S	s	Non
ECLO8	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	SFE	S	S	R	R	R	R	R	R	R	R	S	R	R	Non

Annexe 6 : Phénotype de résistance de la souche de Klesiella aerogenes étudiée

Souche	Type de carbapénèmase	AMC	TIC	PTZ	FOX	СТХ	CAZ	CEF	TEM	MEM	ETM	IMI	ATM	ATM+AVB	COL	AMK	GEM	LEV	CIP	SXT	CHL	TIG	MIN	FOS	NIT	CFD	Phéno identi
KAER	NDM-1	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	S	S	S	R	R	S	S	S	S	S	SFE	S	R	R	Noi

AMC : Amoxicilline-Acide clavulanique; TIC : Ticarcilline ; PTZ : Piperacilline-Tazobactam ; FOX : Cefoxitine ; CTX : Cefotaxime ; CAZ : Ceftazidime ; CEF : Cefepime ; TEM : Témocilline ; MEM : Méropénème ; ETM : Ertapénème ; IMI : Imipénème ; ATM : Aztréonam ; AVB : Avibactam ; COL : Colistine ; AMK : Amikacine ; GEM : Gentamicine ; LEV : Lévofloxacine ; CIP : Ciprofloxacine ; SXT : Cotrimoxazole ; CHL : Chloramphenicol ; TIG : Tigécycline ; MIN : Minocycline ; FOS : Fosfomycine ; NIT : Nitrofurantoïne ; CFD : Céfidérocol

<u>Annexe 7</u>: Dendrogramme des BGN étudiés réalisé avec le module MSP Dendrogram de Brucker MBT Compass Explorer



Annexe 8 : Méthode de préparation d'extraction protéique de l'échantillon



Protocoles et préparation des réactifs V2.4 MALDI Biotyper®

Méthode de préparation d'extraction de l'échantillon

Préambule : ce protocole se réfère au chapitre 3.9.5 du manuel « IVD_MALDI_Biotyper_2.3_Manuel_utilisateur_fr_Rev1 » ou au chapitre C.10.5 du « MBT Compass IVD Manuel Utilisateur Revision A ».

Préparation de l'échantillon par extraction.

Vérifier que l'échantillon à analyser dispose d'un numéro d'identification en accord avec l'organisation de votre laboratoire.

- 1. Pour un suivi optimal, s'assurer que l'identification de l'échantillon et la position sur la cible MALDI sont bien confirmées et documentées.
- Transférer le matériel biologique (une à plusieurs colonies, oëse stérile de 1 ou 10µL)
 dans un tube Eppendorf contenant 300µl d'eau qualité HPLC, puis mélanger. <u>Une</u>
 suspension trouble doit être obtenue.

<u>Note</u>: Il est possible d'utiliser des micropilons Eppendorf pour écraser les colonies (#Ref : 0030 120.973)

- 3. Ajouter 900µl d'éthanol absolu et mélanger la solution.
- 4. Centrifuger 2 minutes à 13 000-15 000 rpm
- 5. Retirer totalement le surnageant en utilisant une pipette.
- 6. Répéter l'étape 4 et retirer l'ethanol résiduel en pipetant.
- 7. Laisser sécher à l'air et à température ambiante le culot pendant 5 min.
- 8. Ajouter 25µL d'acide formique à 70% et mélanger à l'aide de la pipette jusqu'à ce que le culot soit dissout.
- Ajouter 25µL d'Acétonitrile à 100% en mélangeant le tout 2 à 3 fois par aspiration refoulement.
- 10.Centrifuger 2 minutes à 13 000-15 000rpm.
- 11.Déposer 1µl du surnageant sur la cible MALDI.

Utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque position de l'échantillon, afin d'éviter

Protocoles et préparation des réactifs V2.4 *MALDI Biotyper*®

toute contamination croisée.

Remarque : Les extraits d'échantillons peuvent être stockés jusqu'à 4 heures à température ambiante avant utilisation. S'il s'est écoulé plus de 4 heures depuis l'extraction, répétez la procédure d'extraction à partir d'échantillons récents

- 12. Laisser sécher le dépôt à l'air et à température ambiante.
- 13. Déposer 1 μ L de IVD BTS aux différentes positions de **QC BTS** attribuées. Séchez à l'air et à température ambiante les dépôts.
- 14. Déposer sur chaque position de l'échantillon et sur chaque position de **QC BTS**, 1 μ L de solution IVD HCCA pour matrice.

Utiliser un nouvel embout de pipette pour chaque position de l'échantillon, afin d'éviter toute contamination croisée.

- 15. Sécher à l'air et à température ambiante les dépôts.
- 16. Charger la cible MALDI dans le spectromètre de masse. La lecture doit se faire dans les 24h maximum

Bibliographie

- 1. Cassini A, Högberg LD, Plachouras D, Quattrocchi A, Hoxha A, Simonsen GS, et al. Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. Lancet Infect Dis. janv 2019;19(1):56-66.
- 2. Coignard DB. Morbidité et mortalité des infections à bactéries multirésistantes aux antibiotiques en France en 2012 : étude Burden BMR. 2012;19.
- 3. Rapport du groupe de travail spécial pour la préservation des antibiotiques. :150.
- 4. Première réunion du comité interministériel pour la santé Maîtriser la résistance bactérienne aux antibiotiques.
- 5. Jousset AB. Caractéristiques et évolution des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) isolées en France, 2012-2020 / Characteristics and evolution of carbapenemase-producing Enterobacterales in France, 2012-2020. 2021;8.
- 6. Commission de la transparence Synthèse d'avis Céfidérocol FETCROJA 1g.
- 7. Kirby WMM. Extraction of a Highly Potent Penicillin Inactivator from Penicillin Resistant Staphylococci. Science. 2 juin 1944;99(2579):452-3.
- 8. World Health Organization. WHO Priority Pathogens List for R&D of New Antibiotics. 2017.
- 9. Chaudhary U, Aggarwal R. Extended spectrum -lactamases (ESBL) an emerging threat to clinical therapeutics. Indian J Med Microbiol. juin 2004;22(2):75-80.
- 10. Engrenage : de la surconsommation d'antibiotiques à l'impasse thérapeutique Santé Publique France.
- 11. Santé Publique France. Engrenage : de la surconsommation d'antibiotiques à l'impasse thérapeutique.
- 12. Suay-García, Pérez-Gracia. Present and Future of Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Infections. Antibiotics. 19 août 2019;8(3):122.
- 13. Consommation d'antibiotiques en secteur de ville en France de 2009 à 2019. Synthèse des indicateurs mis en ligne sur Géodes. 2009;7.
- 14. Bush K, Bradford PA. Epidemiology of β-Lactamase-Producing Pathogens. Clin Microbiol Rev. 18 mars 2020;33(2):e00047-19.
- 15. Ambler RP. The structure of β-lactamases. Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci.

- 16 mai 1980;289(1036):321-31.
- 16. Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of β -Lactamases. Antimicrob Agents Chemother. mars 2010;54(3):969-76.
- 17. Yigit H, Queenan AM, Anderson GJ, Domenech-Sanchez A, Biddle JW, Steward CD, et al. Novel Carbapenem-Hydrolyzing β -Lactamase, KPC-1, from a Carbapenem-Resistant Strain of *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. avr 2001;45(4):1151-61.
- 18. Watanabe M, Iyobe S, Inoue M, Mitsuhashi S. Transferable imipenem resistance in Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. janv 1991;35(1):147-51.
- 19. Osano E, Arakawa Y, Wacharotayankun R, Ohta M, Horii T, Ito H, et al. Molecular characterization of an enterobacterial metallo beta-lactamase found in a clinical isolate of Serratia marcescens that shows imipenem resistance. Antimicrob Agents Chemother. janv 1994;38(1):71-8.
- 20. Matsumura Y, Peirano G, Motyl MR, Adams MD, Chen L, Kreiswirth B, et al. Global Molecular Epidemiology of IMP-Producing Enterobacteriaceae. Antimicrob Agents Chemother. avr 2017;61(4):e02729-16.
- 21. Stewart AG, Price EP, Schabacker K, Birikmen M, Harris PNA, Choong K, et al. Molecular Epidemiology of Third-Generation-Cephalosporin-Resistant Enterobacteriaceae in Southeast Queensland, Australia. Antimicrob Agents Chemother. 18 mai 2021;65(6):e00130-21.
- 22. Poirel L, Naas T, Nicolas D, Collet L, Bellais S, Cavallo JD, et al. Characterization of VIM-2, a Carbapenem-Hydrolyzing Metallo-β-Lactamase and Its Plasmid- and Integron-Borne Gene from a *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolate in France. Antimicrob Agents Chemother. avr 2000;44(4):891-7.
- 23. Yong D, Toleman MA, Giske CG, Cho HS, Sundman K, Lee K, et al. Characterization of a New Metallo-β-Lactamase Gene, *bla* NDM-1, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 from India. Antimicrob Agents Chemother. déc 2009;53(12):5046-54.
- 24. Kazmierczak KM, Rabine S, Hackel M, McLaughlin RE, Biedenbach DJ, Bouchillon SK, et al. Multiyear, Multinational Survey of the Incidence and Global Distribution of Metallo-β-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. févr 2016;60(2):1067-78.
- 25. Livermore DM, Mushtaq S, Warner M, Zhang JC, Maharjan S, Doumith M, et al. Activity of aminoglycosides, including ACHN-490, against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae isolates. J Antimicrob Chemother. 1 janv 2011;66(1):48-53.
- 26. Poirel L, Héritier C, Tolün V, Nordmann P. Emergence of Oxacillinase-Mediated Resistance to Imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother.

janv 2004;48(1):15-22.

- 27. Lascols C, Peirano G, Hackel M, Laupland KB, Pitout JDD. Surveillance and Molecular Epidemiology of Klebsiella pneumoniae Isolates That Produce Carbapenemases: First Report of OXA-48-Like Enzymes in North America. Antimicrob Agents Chemother. janv 2013;57(1):130-6.
- 28. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 (202 Data).
- 29. Poirel L, Naas T, Nordmann P. Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother. janv 2010;54(1):24-38.
- 30. OXA-244-producing-E-coli-in-EU-EEA-since-2013-first-update.pdf.
- 31. Rapport d'activité 2019-2020 Centre National de Référence de la Résistance aux Antibiotiques.
- 32. Simac C, Avril C. Rapport de 2019 -Réseau de surveillance régionale des résistances aux antibiotiques La Réunion. 2019;29.
- 33. Miltgen G. Épidémiologie des bactéries multirésistantes à La Réunion et dans l'Océan Indien.
- 34. Simo Tchuinte PL, Rabenandrasana MAN, Kowalewicz C, Andrianoelina VH, Rakotondrasoa A, Andrianirina ZZ, et al. Phenotypic and molecular characterisations of carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii strains isolated in Madagascar. Antimicrob Resist Infect Control. déc 2019;8(1):31.
- 35. Miltgen G, Cholley P, Martak D, Thouverez M, Seraphin P, Leclaire A, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae circulating in the Reunion Island, a French territory in the Southwest Indian Ocean. Antimicrob Resist Infect Control. déc 2020;9(1):36.
- 36. Miltgen G, Garrigos T, Cholley P, Deleume M, Allou N, Allyn J, et al. Nosocomial cluster of carbapenemase-producing Enterobacter cloacae in an intensive care unit dedicated COVID-19. Antimicrob Resist Infect Control. déc 2021;10(1):151.
- 37. Wagenlehner FM, Sobel JD, Newell P, Armstrong J, Huang X, Stone GG, et al. Ceftazidime-avibactam Versus Doripenem for the Treatment of Complicated Urinary Tract Infections, Including Acute Pyelonephritis: RECAPTURE, a Phase 3 Randomized Trial Program. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 15 sept 2016;63(6):754-62.
- 38. Eckmann C, Solomkin J. Ceftolozane/tazobactam for the treatment of complicated intra-abdominal infections. Expert Opin Pharmacother. févr 2015;16(2):271-80.
- 39. Wagenlehner FM, Umeh O, Darouiche RO. Ceftolozane-tazobactam versus levofloxacin in urinary tract infection Authors' reply. Lancet Lond Engl. 26 sept 2015;386(10000):1242.

- 40. Zhanel GG, Lawrence CK, Adam H, Schweizer F, Zelenitsky S, Zhanel M, et al. Imipenem-Relebactam and Meropenem-Vaborbactam: Two Novel Carbapenem-β-Lactamase Inhibitor Combinations. Drugs. janv 2018;78(1):65-98.
- 41. Emeraud C, Escaut L, Boucly A, Fortineau N, Bonnin RA, Naas T, et al. Aztreonam plus Clavulanate, Tazobactam, or Avibactam for Treatment of Infections Caused by Metallo- β -Lactamase-Producing Gram-Negative Bacteria. Antimicrob Agents Chemother. mai 2019;63(5):e00010-19.
- 42. Mauri C, Maraolo AE, Di Bella S, Luzzaro F, Principe L. The Revival of Aztreonam in Combination with Avibactam against Metallo-β-Lactamase-Producing Gram-Negatives: A Systematic Review of In Vitro Studies and Clinical Cases. Antibiot Basel Switz. 20 août 2021;10(8):1012.
- 43. Mushtaq S, Vickers A, Doumith M, Ellington MJ, Woodford N, Livermore DM. Activity of β -lactam/taniborbactam (VNRX-5133) combinations against carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. J Antimicrob Chemother. 1 janv 2021;76(1):160-70.
- 44. Hamrick JC, Docquier JD, Uehara T, Myers CL, Six DA, Chatwin CL, et al. VNRX-5133 (Taniborbactam), a Broad-Spectrum Inhibitor of Serine- and Metallo-β-Lactamases, Restores Activity of Cefepime in Enterobacterales and Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 21 févr 2020;64(3):e01963-19.
- 45. Infectious Diseases Society of America 2022 Guidance on the Treatment of ExtendedSpectrum β-lactamase Producing Enterobacterales (ESBL-E), Carbapenem-Resistant Enterobacterales (CRE), and Pseudomonas aeruginosa with Difficult-to-Treat Resistance (DTRP. aeruginosa).
- 46. Sader HS, Castanheira M, Flamm RK, Mendes RE, Farrell DJ, Jones RN. Tigecycline activity tested against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae from 18 European nations: results from the SENTRY surveillance program (2010-2013). Diagn Microbiol Infect Dis. oct 2015;83(2):183-6.
- 47. Freire AT, Melnyk V, Kim MJ, Datsenko O, Dzyublik O, Glumcher F, et al. Comparison of tigecycline with imipenem/cilastatin for the treatment of hospital-acquired pneumonia. Diagn Microbiol Infect Dis. oct 2010;68(2):140-51.
- 48. Sbrana F, Malacarne P, Viaggi B, Costanzo S, Leonetti P, Leonildi A, et al. Carbapenem-sparing antibiotic regimens for infections caused by Klebsiella pneumoniae carbapenemase-producing K. pneumoniae in intensive care unit. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. mars 2013;56(5):697-700.
- 49. Gauzit R, Friggeri A. Quelle place pour la tigécycline aujourd'hui? Médecine Intensive Réanimation [Internet]. 4 mai 2017 [cité 31 août 2022]; Disponible sur: http://link.springer.com/10.1007/s13546-017-1281-4
- 50. Solomkin JS, Gardovskis J, Lawrence K, Montravers P, Sway A, Evans D, et al. IGNITE4: Results of a Phase 3, Randomized, Multicenter, Prospective Trial of Eravacycline vs Meropenem in the Treatment of Complicated Intraabdominal Infections. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 30 août 2019;69(6):921-9.

- 51. Raz R. Fosfomycin: an old--new antibiotic. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. janv 2012;18(1):4-7.
- 52. Mikhail S, Singh NB, Kebriaei R, Rice SA, Stamper KC, Castanheira M, et al. Evaluation of the Synergy of Ceftazidime-Avibactam in Combination with Meropenem, Amikacin, Aztreonam, Colistin, or Fosfomycin against Well-Characterized Multidrug-Resistant Klebsiella pneumoniae and Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. août 2019;63(8):e00779-19.
- 53. Pontikis K, Karaiskos I, Bastani S, Dimopoulos G, Kalogirou M, Katsiari M, et al. Outcomes of critically ill intensive care unit patients treated with fosfomycin for infections due to pandrug-resistant and extensively drug-resistant carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. Int J Antimicrob Agents. janv 2014;43(1):52-9.
- 54. Saidel-Odes L, Polachek H, Peled N, Riesenberg K, Schlaeffer F, Trabelsi Y, et al. A randomized, double-blind, placebo-controlled trial of selective digestive decontamination using oral gentamicin and oral polymyxin E for eradication of carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae carriage. Infect Control Hosp Epidemiol. janv 2012;33(1):14-9.
- 55. Cattoir V. Traitement des infections dues à entérobactéries productrices de carbapénèmases. J Anti-Infect. sept 2014;16(3):99-105.
- 56. Plachouras D, Karvanen M, Friberg LE, Papadomichelakis E, Antoniadou A, Tsangaris I, et al. Population pharmacokinetic analysis of colistin methanesulfonate and colistin after intravenous administration in critically ill patients with infections caused by gram-negative bacteria. Antimicrob Agents Chemother. août 2009;53(8):3430-6.
- 57. Kim J, Lee KH, Yoo S, Pai H. Clinical characteristics and risk factors of colistin-induced nephrotoxicity. Int J Antimicrob Agents. nov 2009;34(5):434-8.
- 58. Rocco M, Montini L, Alessandri E, Venditti M, Laderchi A, De Pascale G, et al. Risk factors for acute kidney injury in critically ill patients receiving high intravenous doses of colistin methanesulfonate and/or other nephrotoxic antibiotics: a retrospective cohort study. Crit Care Lond Engl. 14 août 2013;17(4):R174.
- 59. Giacobbe DR, Del Bono V, Trecarichi EM, De Rosa FG, Giannella M, Bassetti M, et al. Risk factors for bloodstream infections due to colistin-resistant KPC-producing Klebsiella pneumoniae: results from a multicenter case-control-control study. Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis. déc 2015;21(12):1106.e1-8.
- 60. Wright MS, Suzuki Y, Jones MB, Marshall SH, Rudin SD, van Duin D, et al. Genomic and transcriptomic analyses of colistin-resistant clinical isolates of Klebsiella pneumoniae reveal multiple pathways of resistance. Antimicrob Agents Chemother. janv 2015;59(1):536-43.
- 61. Mootien JY, Zahar JR. Entérobactéries productrices de carbapénémases en médecine intensive: thérapeutique. Vincent F, éditeur. Médecine Intensive

Réanimation. juill 2018;27(4):372-80.

- 62. Zhanel GG, Golden AR, Zelenitsky S, Wiebe K, Lawrence CK, Adam HJ, et al. Cefiderocol: A Siderophore Cephalosporin with Activity Against Carbapenem-Resistant and Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. Drugs. févr 2019;79(3):271-89.
- 63. Fetroja® (cefiderocol) The world's only siderophore cephalosporin—uses iron to gain bacterial cell entry, along with passive porin entry.
- 64. Shionogi. Fetroja® (cefiderocol) The world's only siderophore cephalosporin—uses iron to gain bacterial cell entry, along with passive porin entry.
- 65. Ito A, Nishikawa T, Matsumoto S, Yoshizawa H, Sato T, Nakamura R, et al. Siderophore Cephalosporin Cefiderocol Utilizes Ferric Iron Transporter Systems for Antibacterial Activity against Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. déc 2016;60(12):7396-401.
- 66. Commission de la transparence synthèse d'avis céfiderocol FETCROJA 1g.
- 67. Katsube T, Echols R, Wajima T. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Profiles of Cefiderocol, a Novel Siderophore Cephalosporin. Clin Infect Dis. 13 nov 2019;69(Supplement 7):S552-8.
- 68. Kawaguchi N, Katsube T, Echols R, Wajima T. Population Pharmacokinetic Analysis of Cefiderocol, a Parenteral Siderophore Cephalosporin, in Healthy Subjects, Subjects with Various Degrees of Renal Function, and Patients with Complicated Urinary Tract Infection or Acute Uncomplicated Pyelonephritis. Antimicrob Agents Chemother. févr 2018;62(2):e01391-17.
- 69. Saisho Y, Katsube T, White S, Fukase H, Shimada J. Pharmacokinetics, Safety, and Tolerability of Cefiderocol, a Novel Siderophore Cephalosporin for Gram-Negative Bacteria, in Healthy Subjects. Antimicrob Agents Chemother. mars 2018;62(3):e02163-17.
- 70. Mode of action of cefiderocol, a novel siderophore cephalosporin, active against highly resistant Gram-negative bacteria including carbapenem-resistant strains of Enterobacteriaceae and non-fermenting bacteria.
- 71. Portsmouth S, van Veenhuyzen D, Echols R, Machida M, Ferreira JCA, Ariyasu M, et al. Cefiderocol versus imipenem-cilastatin for the treatment of complicated urinary tract infections caused by Gram-negative uropathogens: a phase 2, randomised, double-blind, non-inferiority trial. Lancet Infect Dis. déc 2018;18(12):1319-28.
- 72. Wunderink RG, Matsunaga Y, Ariyasu M, Clevenbergh P, Echols R, Kaye KS, et al. Cefiderocol versus high-dose, extended-infusion meropenem for the treatment of Gram-negative nosocomial pneumonia (APEKS-NP): a randomised, double-blind, phase 3, non-inferiority trial. Lancet Infect Dis. févr 2021;21(2):213-25.

- 73. Bassetti M, Echols R, Matsunaga Y, Ariyasu M, Doi Y, Ferrer R, et al. Efficacy and safety of cefiderocol or best available therapy for the treatment of serious infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria (CREDIBLE-CR): a randomised, open-label, multicentre, pathogen-focused, descriptive, phase 3 trial. Lancet Infect Dis. févr 2021;21(2):226-40.
- 74. Karakonstantis S, Rousaki M, Kritsotakis EI. Cefiderocol: Systematic Review of Mechanisms of Resistance, Heteroresistance and In Vivo Emergence of Resistance. Antibiotics. 27 mai 2022;11(6):723.
- 75. Kazmierczak KM, Tsuji M, Wise MG, Hackel M, Yamano Y, Echols R, et al. In vitro activity of cefiderocol, a siderophore cephalosporin, against a recent collection of clinically relevant carbapenem-non-susceptible Gram-negative bacilli, including serine carbapenemase- and metallo-β-lactamase-producing isolates (SIDERO-WT-2014 Study). Int J Antimicrob Agents. févr 2019;53(2):177-84.
- 76. Mushtaq S, Sadouki Z, Vickers A, Livermore DM, Woodford N. *In Vitro* Activity of Cefiderocol, a Siderophore Cephalosporin, against Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria. Antimicrob Agents Chemother. 17 nov 2020;64(12):e01582-20.
- 77. Lan P, Lu Y, Chen Z, Wu X, Hua X, Jiang Y, et al. Emergence of High-Level Cefiderocol Resistance in Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae from Bloodstream Infections in Patients with Hematologic Malignancies in China. Khursigara CM, éditeur. Microbiol Spectr. 27 avr 2022;10(2):e00084-22.
- 78. Poirel L, Sadek M, Nordmann P. Contribution of PER-Type and NDM-Type β -Lactamases to Cefiderocol Resistance in Acinetobacter baumannii. Antimicrob Agents Chemother. 17 sept 2021;65(10):e00877-21.
- 79. Poirel L, Ortiz de la Rosa JM, Sadek M, Nordmann P. Impact of Acquired Broad-Spectrum β -Lactamases on Susceptibility to Cefiderocol and Newly Developed β -Lactamase Inhibitor Combinations in Escherichia coli and Pseudomonas aeruginosa. Antimicrob Agents Chemother. 19 avr 2022;66(4):e0003922.
- 80. Kohira N, West J, Ito A, Ito-Horiyama T, Nakamura R, Sato T, et al. *In Vitro* Antimicrobial Activity of a Siderophore Cephalosporin, S-649266, against Enterobacteriaceae Clinical Isolates, Including Carbapenem-Resistant Strains. Antimicrob Agents Chemother. févr 2016;60(2):729-34.
- 81. Nurjadi D, Kocer K, Chanthalangsy Q, Klein S, Heeg K, Boutin S. New Delhi Metallo-Beta-Lactamase Facilitates the Emergence of Cefiderocol Resistance in Enterobacter cloacae. Antimicrob Agents Chemother. 15 févr 2022;66(2):e02011-21.
- 82. Jacob AS, Chong GL, Lagrou K, Depypere M, Desmet S. No in vitro activity of cefiderocol against OXA-427-producing Enterobacterales. J Antimicrob Chemother. 12 nov 2021;76(12):3317-8.
- 83. Ito A, Sato T, Ota M, Takemura M, Nishikawa T, Toba S, et al. *In Vitro* Antibacterial Properties of Cefiderocol, a Novel Siderophore Cephalosporin, against Gram-Negative Bacteria. Antimicrob Agents Chemother. janv 2018;62(1):e01454-17.

- 84. Poirel L, Sadek M, Kusaksizoglu A, Nordmann P. Co-resistance to ceftazidime-avibactam and cefiderocol in clinical isolates producing KPC variants. Eur J Clin Microbiol Infect Dis Off Publ Eur Soc Clin Microbiol. avr 2022;41(4):677-80.
- 85. Simner PJ, Beisken S, Bergman Y, Ante M, Posch AE, Tamma PD. Defining Baseline Mechanisms of Cefiderocol Resistance in the Enterobacterales. Microb Drug Resist Larchmt N. févr 2022;28(2):161-70.
- 86. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Recommandations 2022 V1.0.
- 87. Recommandations CLSI Breackpoints Cefiderocol.
- 88. FDA Identified Breackpoints Cefiderocol. 2022.
- 89. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Recommandations 2022. Available online: http://www.sfm-microbiologie.org; 2022.
- 90. Holman AM, Allyn J, Miltgen G, Lugagne N, Traversier N, Picot S, et al. Surveillance of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the Indian Ocean Region between January 2010 and December 2015. Med Mal Infect. sept 2017;47(5):333-9.
- 91. Bonnin RA, Emeraud C, Jousset AB, Naas T, Dortet L. Comparison of disk diffusion, MIC test strip and broth microdilution methods for cefiderocol susceptibility testing on carbapenem-resistant enterobacterales. Clin Microbiol Infect. mai 2022;S1198743X2200221X.
- 92. Longshaw C, Manissero D, Tsuji M, Echols R, Yamano Y. *In vitro* activity of the siderophore cephalosporin, cefiderocol, against molecularly characterized, carbapenem-non-susceptible Gram-negative bacteria from Europe. JAC-Antimicrob Resist. 1 sept 2020;2(3):dlaa060.
- 93. Shields RK, Iovleva A, Kline EG, Kawai A, McElheny CL, Doi Y. Clinical Evolution of AmpC-Mediated Ceftazidime-Avibactam and Cefiderocol Resistance in Enterobacter cloacae Complex Following Exposure to Cefepime. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 17 déc 2020;71(10):2713-6.
- 94. Simner PJ, Beisken S, Bergman Y, Posch AE, Cosgrove SE, Tamma PD. Cefiderocol Activity Against Clinical *Pseudomonas aeruginosa* Isolates Exhibiting Ceftolozane-Tazobactam Resistance. Open Forum Infect Dis. 1 juill 2021;8(7):ofab311.
- 95. Malik S, Kaminski M, Landman D, Quale J. Cefiderocol Resistance in Acinetobacter baumannii: Roles of β -Lactamases, Siderophore Receptors, and Penicillin Binding Protein 3. Antimicrob Agents Chemother. 20 oct 2020;64(11):e01221-20.
- 96. Oinuma KI, Suzuki M, Sakiyama A, Tsubouchi T, Saeki K, Sato K, et al.

- Genomic characterization of triple-carbapenemase-producing Acinetobacter baumannii. JAC-Antimicrob Resist. déc 2021;3(4):dlab191.
- 97. Avis de sécurité sur site urgent (ASS) Plaques Sensititre au Céfiderocol.
- 98. Miltgen G. Émergence et dynamique de diffusion des entérobactéries résistantes aux antibiotiques dans les DOM du Sud-Ouest de l'Océan Indien dans une approche One Health.
- 99. Simner PJ, Mostafa HH, Bergman Y, Ante M, Tekle T, Adebayo A, et al. Progressive Development of Cefiderocol Resistance in *Escherichia coli* During Therapy is Associated With an Increase in *bla* NDM-5 Copy Number and Gene Expression. Clin Infect Dis. 7 oct 2021;ciab888.
- 100. Miltgen G, Bour M, Allyn J, Allou N, Vedani T, Vuillemenot JB, et al. Molecular and epidemiological investigation of a colistin-resistant OXA-23-/NDM-1-producing Acinetobacter baumannii outbreak in the Southwest Indian Ocean Area. Int J Antimicrob Agents. oct 2021;58(4):106402.
- 101. Zhang R, Liu L, Zhou H, Chan EW, Li J, Fang Y, et al. Nationwide Surveillance of Clinical Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae (CRE) Strains in China. EBioMedicine. mai 2017;19:98-106.
- 102. Cassat JE, Skaar EP. Iron in Infection and Immunity. Cell Host Microbe. mai 2013;13(5):509-19.
- 103. Albano M, Karau MJ, Schuetz AN, Patel R. Comparison of Agar Dilution to Broth Microdilution for Testing *In Vitro* Activity of Cefiderocol against Gram-Negative Bacilli. Burnham CAD, éditeur. J Clin Microbiol. 17 déc 2020;59(1):e00966-20.
- 104. Critchley IA, Basker MJ. Conventional laboratory agar media provide an iron-limited environment for bacterial growth. FEMS Microbiol Lett. avr 1988;50(1):35-9.
- 105. Santé Publique France. Episodes impliquant des entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) en France, de 2004 à 2015. Situation épidémiologique au 31 décembre 2015.

Université de Lille

FACULTÉ DE PHARMACIE DE LILLE

DIPLOME D'ÉTAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Année universitaire 2021/2022

Nom: PERNET

Prénom : Marie-Amélie

Titre de la thèse : Étude de la sensibilité *in vitro* au céfidérocol des bacilles à Gram négatif producteurs de métallo-β-lactamases de type NDM au CHU Sud de La Réunion

Mots-clés : NDM - BHRe - Céfidérocol - Océan Indien - Sensibilité - E-test - Sensititre™ - 30

μg Disc

Résumé : Aujourd'hui, les santés humaines et vétérinaire sont menacées par le développement des bactéries pathogènes résistantes aux antibiotiques. Le céfidérocol, un nouvel antibiotique au mécanisme singulier, a été développé pour le traitement en dernier recours des patients atteints d'infections à BGN multirésistants. Dans un département français géographiquement isolée, l'île de La Réunion, les EPC rencontrées sont majoritairement productrices de carbapénèmase de type NDM. L'objectif de l'étude a été d'évaluer la sensibilité à cette nouvelle molécule sur un échantillon pertinent de BGN dans ce DOM. 38 souches d'entérobactéries productrices, 7 souches d'Acinetobacter baumanii, et 6 souches de Pseudomonas aeruginosa tous producteurs de carbapénèmase de type NDM ont été étudiées. Seulement 26% des entérobactéries étaient sensibles au céfidérocol contre 100% des souches de Pseudomonas aeruginosa, néanmoins avec des CMI élevées. Les souches d'Acinetobacter baumannii étaient toutes résistantes avec la seule méthode utilisée. Puis, nous avons comparé les différentes méthodes d'évaluation de la sensibilité disponibles actuellement : diffusion en disque, E-test et microdilution. La méthode de diffusion en disque a montré 82% de concordance avec la méthode Sensititre™. La méthode de CMI en E-test 82% de concordance avec la méthode Sensititre™. Les CMI étaient sous-estimée avec le technique E-test pour les entérobactéries. La méthode en disque rendait 18% de résultats non catégorisable. Les résultats montrent une résistance importante au céfidérocol sur ces souches de BGN isolées au CHU Sud de La Réunion, sans qu'un lien clonal ait pu être établi concernant les entérobactéries. Dans ce contexte, le recours au céfidérocol pour le traitement de première intention des infections à EPC à La Réunion ne peut être recommandé.

Membres du jury:

Président : Monsieur le Professeur FOLIGNÉ Benoît

Professeur des Universités, Université de Lille

Assesseurs: Monsieur le Docteur PATOZ Pierre

Pharmacien Praticien hospitalier, CH Tourcoing

Monsieur le Docteur PETITGAS Paul

Médecin Assistant spécialiste, CHU Sud La Réunion

Directeur de thèse: Monsieur le Docteur BLONDIAUX Nicolas

Maître de conférences des Universités Université de Lille

Pharmacien Praticien hospitalier, CH Tourcoing