

**THÈSE  
POUR LE DIPLOME D'ÉTAT  
DE DOCTEUR EN PHARMACIE**

**Soutenue publiquement le 14 octobre 2024  
Par M. RAMON Thomas**

---

**ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ AU CEFTOBIPROLE DES  
ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES DE CÉPHALOSPORINASE**

---

**Membres du jury :**

**Président :** Monsieur le Professeur FOLIGNÉ Benoît  
Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille

**Assesseurs :** Madame le Docteur LEMTIRI Justine  
Pharmacien Praticien Hospitalier, CH de Valenciennes

Monsieur le Docteur BLONDIAUX Nicolas  
Pharmacien Praticien Hospitalier, CH de Tourcoing

Monsieur le Docteur MEHEUT Antoine  
Médecin Assistant spécialiste, CH de Valenciennes

**Directeur de thèse :** Monsieur le Docteur PALUCH Maxime  
Médecin Praticien Hospitalier, CH de Valenciennes



## Université de Lille

Président	Régis BORDET
Premier Vice-président	Etienne PEYRAT
Vice-présidente Formation	Corinne ROBACZEWSKI
Vice-président Recherche	Olivier COLOT
Vice-président Ressources humaines	Bertrand DÉCAUDIN
Directrice Générale des Services	Anne-Valérie CHIRIS-FABRE

## UFR3S

Doyen	Dominique LACROIX
Premier Vice-Doyen, Vice-Doyen RH, SI et Qualité	Hervé HUBERT
Vice-Doyenne Recherche	Karine FAURE
Vice-Doyen Finances et Patrimoine	Damien CUNY
Vice-Doyen International	Vincent DERAMECOURT
Vice-Doyen Coordination pluriprofessionnelle et Formations sanitaires	Sébastien D'HARANCY
Vice-Doyenne Formation tout au long de la vie	Caroline LANIER
Vice-Doyen Territoire-Partenariats	Thomas MORGENROTH
Vice-Doyen Santé numérique et Communication	Vincent SOBANSKI
Vice-Doyenne Vie de Campus	Anne-Laure BARBOTIN
Vice-Doyen étudiant	Valentin ROUSSEL

## Faculté de Pharmacie

Doyen	Delphine ALLORGE
Premier Assesseur et	
Assesseur à la Santé et à l'Accompagnement	Anne GARAT
Assesseur à la Vie de la Faculté et	
Assesseur aux Ressources et Personnels	Emmanuelle LIPKA
Responsable des Services	Cyrille PORTA
Représentant étudiant	Honoré GUISE
Chargé de mission 1er cycle	Philippe GERVOIS
Chargée de mission 2eme cycle	Héloïse HENRY
Chargé de mission Accompagnement et Formation à la Recherche	Nicolas WILLAND
Chargé de mission Relations Internationales	Christophe FURMAN
Chargée de Mission Qualité	Marie-Françoise ODOU
Chargé de mission dossier HCERES	Réjane LESTRELIN

### Professeurs des Universités - Praticiens Hospitaliers (PU-PH)

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 clinique	81
Mme	DUPONT-PRADO	Annabelle	Hématologie	82
Mme	GOFFARD	Anne	Bactériologie - Virologie	82
M.	GRESSIER	Bernard	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
M.	ODOU	Pascal	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	POULAIN	Stéphanie	Hématologie	82
M.	SIMON	Nicolas	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	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
M.	BERLARBI	Karim	Physiologie	86
M.	BERTIN	Benjamin	Immunologie	87
M.	BLANCHEMAIN	Nicolas	Pharmacotechnie industrielle	85
M.	CARNOY	Christophe	Immunologie	87
M.	CAZIN	Jean-Louis	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
M.	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

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	LIPKA	Emmanuelle	Chimie analytique	85
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	RIVIÈRE	Céline	Pharmacognosie	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
Mme	CUVELIER	Élodie	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	81
Mme	DANEL	Cécile	Chimie analytique	85
Mme	DEMARET	Julie	Immunologie	82
Mme	GARAT	Anne	Toxicologie et Santé publique	81
Mme	GENAY	Stéphanie	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
M.	GRZYCH	Guillaume	Biochimie	82
Mme	HENRY	Héloïse	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
M.	LANNOY	Damien	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	80
Mme	MASSE	Morgane	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	81
Mme	ODOU	Marie-Françoise	Bactériologie - Virologie	82

### Maîtres de Conférences des Universités (MCU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
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
M.	BERTHET	Jérôme	Biophysique - RMN	85
M.	BOCHU	Christophe	Biophysique - RMN	85
M.	BORDAGE	Simon	Pharmacognosie	86
M.	BOSC	Damien	Chimie thérapeutique	86
Mme	BOU KARROUM	Nour	Chimie bioinorganique	
M.	BRIAND	Olivier	Biochimie	87
Mme	CARON-HOUDE	Sandrine	Biologie cellulaire	87
Mme	CARRIÉ	Hélène	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	86
Mme	CHABÉ	Magali	Parasitologie - Biologie animale	87

Mme	CHARTON	Julie	Chimie organique	86
M.	CHEVALIER	Dany	Toxicologie et Santé publique	86
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
M.	FARCE	Amaury	Institut de Chimie Pharmaceutique Albert Lespagnol	86
M.	FLIPO	Marion	Chimie organique	86
M.	FRULEUX	Alexandre	Sciences végétales et fongiques	
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
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 clinique	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
M.	LIBERELLE	Maxime	Biophysique - RMN	
Mme	LOINGEVILLE	Florence	Biomathématiques	26
Mme	MARTIN	Françoise	Physiologie	86

M.	MENETREY	Quentin	Bactériologie - Virologie	
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	ROGEL	Anne	Immunologie	
M.	ROSA	Mickaël	Hématologie	
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
Mme	KUBIK	Laurence	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
M.	COUSEIN	Etienne	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
Mme	CUCCHI	Malgorzata	Biomathématiques	85
M.	DUFOSSEZ	François	Biomathématiques	85
M.	FRIMAT	Bruno	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	85
M.	GILLOT	François	Droit et Economie pharmaceutique	86
M.	MITOUMBA	Fabrice	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	86
M.	PELLETIER	Franck	Droit et Economie pharmaceutique	86

### Assistants Hospitalo-Universitaire (AHU)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	BOUDRY	Augustin	Biomathématiques	
Mme	DERAMOUDT	Laure	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
Mme	GILLIOT	Sixtine	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	
M.	GISH	Alexandr	Toxicologie et Santé publique	
Mme	NEGRIER	Laura	Chimie analytique	

### Hospitalo-Universitaire (PHU)

	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
M.	DESVAGES	Maximilien	Hématologie	
Mme	LENSKI	Marie	Toxicologie et Santé publique	

### Attachés Temporaires d'Enseignement et de Recherche (ATER)

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement	Section CNU
Mme	BERNARD	Lucie	Physiologie	
Mme	BARBIER	Emeline	Toxicologie	
Mme	COMPAGNE	Nina	Chimie Organique	
Mme	COULON	Audrey	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique	
M.	DUFOSSEZ	Robin	Chimie physique	
Mme	KOUAGOU	Yolène	Sciences végétales et fongiques	
M.	MACKIN MOHAMOUR	Synthia	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière	

### Enseignant contractuel

Civ.	Nom	Prénom	Service d'enseignement
M.	MARTIN MENA	Anthony	Biopharmacie, Pharmacie galénique et hospitalière
M.	MASCAUT	Daniel	Pharmacologie, Pharmacocinétique et Pharmacie clinique
Mme	NDIAYE-BOIDIN	Maguette	Anglais
M.	ZANETTI	Sébastien	Biomathématiques

***UFR3S-Pharmacie***

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



# REMERCIEMENTS

À mon président de jury,

**Monsieur le Professeur Benoît FOLIGNÉ,**  
*Professeur des Universités, Faculté de Pharmacie de Lille*

Vous me faites l'honneur de présider cette thèse après m'avoir enseigné la bactériologie sur les bancs de la faculté. Soyez assuré de mon profond respect et de toute ma reconnaissance.

À mes assesseurs,

**Madame le Docteur Justine LEMTIRI,**  
*Praticien Hospitalier - service de réanimation, Centre Hospitalier de Valenciennes*

Je te remercie d'avoir accepté d'évaluer ce travail et d'y apporter ton regard de pharmacienne hospitalière. Sois assurée de mon profond respect et de toute ma gratitude.

**Monsieur le Docteur Nicolas BLONDIAUX,**  
*Praticien Hospitalier, Centre Hospitalier de Tourcoing*

Je vous remercie d'avoir accepté de faire partie de mon jury de thèse, ainsi que pour vos enseignements durant mon cursus de pharmacie, qui ont éveillé et nourri mon intérêt pour la bactériologie. Recevez ici le témoignage de mon profond respect et de toute ma considération.

**Monsieur le Docteur Antoine MEHEUT,**  
*Assistant spécialiste - service d'infectiologie, Centre Hospitalier de Valenciennes*

Je suis très touché que tu aies accepté de participer à ce jury de thèse. J'ai énormément appris à tes côtés lors de mon premier stage d'internat, et c'est pour moi un honneur que tu apportes désormais ton regard d'infectiologue à l'évaluation de ce travail. Sois assuré de toute ma gratitude et de mon respect sincère.

À mon directeur de thèse,

**Monsieur le Docteur Maxime PALUCH,**  
*Praticien Hospitalier, Centre Hospitalier de Valenciennes*

Je te remercie sincèrement pour la confiance que tu m'as accordée en acceptant d'encadrer ce travail de thèse. Je te remercie également pour ta disponibilité, ton implication, ainsi que pour tout le temps précieux que tu m'as consacré tout au long de l'élaboration de cette thèse, et enfin pour la bienveillance dont tu as toujours fait preuve à mon égard. C'est un plaisir de travailler à tes côtés et de profiter de tes connaissances.

Je remercie également :

Toute l'équipe du laboratoire de microbiologie du CH de Valenciennes, techniciens et biologistes, pour leur accueil et leur bienveillance au cours de mon semestre chez eux et tout au long de la réalisation de cette thèse.

Les nombreux techniciens et biologistes que j'ai pu côtoyer à travers les différents stages de mon internat. En particulier les équipes de bactériologie au CHU, qui m'ont conforté dès le début d'internat dans le choix de la microbiologie, et des services de virologie et de parasitologie-mycologie, dont la bienveillance m'a permis d'aborder ces derniers mois dans des conditions optimales.

Enfin, je souhaite dédier cette thèse :

*À mes parents et à ma sœur,*

Merci pour votre soutien inconditionnel. Vous avez toujours été là pour moi, et c'est grâce à vous que j'en suis là aujourd'hui.

*À mes amis,*

Aurore, merci pour ta présence et tous ces moments inoubliables depuis tant d'années.

Marine et Quentin, merci pour tous ces souvenirs et votre soutien depuis les toutes premières années de fac.

Grégoire et Rémi, merci pour cette complicité et ces moments partagés, en stage comme en dehors, depuis le début de l'internat.

Mara et Beltass, mes « mamans » de Valenciennes, travailler avec vous a été un vrai plaisir. Je suis fier de vous avoir vu devenir cheffes, et j'espère pouvoir faire aussi bien que vous !

Chloé, merci pour tous tes bons plans et précieux conseils tout au long de l'internat, et en particulier dans la préparation de cette thèse.

Emma et Sarah, merci de m'avoir supporté ces derniers mois, et pour tous vos conseils et votre aide dans cette période décisive.

À toutes les autres belles rencontres de l'internat ; Ava, Nicow, Axel, Anne-Claire, Manon, Emeline, Wissal, Marc, Amine, Coco, Ronny, Denys, Guillaume, Ludo, Charlotte, Nolan, Mélinda, Pauline, Angèle, et tant d'autres. Vous avez tous contribué à rendre cette expérience plus riche et marquante.

# TABLE DES MATIÈRES

TABLE DES ILLUSTRATIONS.....	17
TABLE DES TABLEAUX.....	18
TABLE DES ANNEXES.....	19
TABLE DES ABRÉVIATIONS.....	20
INTRODUCTION .....	21
I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE.....	22
1. Résistance aux bêtalactamines chez les entérobactéries.....	22
1.1 Généralités .....	22
1.2 Classification des bêta-lactamases.....	24
1.3 Résistances naturelles.....	25
1.4 Epidémiologie des <i>Enterobacterales</i> résistantes aux C3G .....	27
2. Céphalosporinases .....	29
2.1 Généralités .....	29
2.2 Caractéristiques moléculaires.....	30
2.3 Spectre d'activité et inhibition .....	31
2.4 Céphalosporinases chromosomiques.....	33
2.5 Céphalosporinases plasmidiques (pAmpC).....	38
2.6 Céphalosporinases à spectre élargi.....	40
2.7 Méthodes de détection .....	41
2.8 Impact clinique.....	44
3. Ceftobiprole .....	46
3.1 Historique .....	46
3.2 Propriétés pharmacocinétiques .....	47
3.3 Pharmacodynamie et spectre antibiotique.....	48
4. Rationnel et objectifs de l'étude .....	50
II. MATÉRIELS ET MÉTHODES .....	51
1. Souches bactériennes .....	51

2. Vérifications des souches .....	52
3. Détermination de la sensibilité au ceftobiprole.....	52
III. RÉSULTATS.....	54
1. Répartition des souches bactériennes .....	55
2. Étude de la sensibilité au ceftobiprole.....	56
2.1 Par diffusion en milieu gélosé en disques.....	56
2.2 CMI en milieu gélosé en bandelettes.....	56
2.3 Concordance entre les méthodes .....	62
IV. DISCUSSION.....	63
1. Distribution des entérobactéries et profils de résistances .....	63
2. Sensibilité au ceftobiprole .....	64
3. Perspectives et implications cliniques.....	67
V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES .....	69
ANNEXES.....	70
BIBLIOGRAPHIE .....	73

## TABLE DES ILLUSTRATIONS

Figure 1 : Ordre des <i>Enterobacterales</i> selon la nouvelle nomenclature de 2016 (8)	22
Figure 2 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif (9) .....	23
Figure 3 : Principaux mécanismes de transfert horizontal de gènes bactériens (10)	24
Figure 4 : Classifications des bêta-lactamases (14). .....	25
Figure 5 : Structure tri-dimensionnelle de la céphalosporinase P99 (28). .....	30
Figure 6 : Origine de la résistance aux carbapénèmes de souches d'entérobactéries examinées par le CNR de la résistance aux antibiotiques en France en 2020 (33) .	33
Figure 7 : Représentation du mécanisme d'induction des AmpC chromosomiques des entérobactéries du groupe 3. Adapté de (35–37) .....	35
Figure 8 : Taux de mutations entraînant une dérégulation d' <i>ampC</i> de différentes espèces d'entérobactéries du groupe 3 (43) .....	37
Figure 9 : Algorithme de détection d'AmpC proposé par l'EUCAST (58).....	42
Figure 10 : Principe du test MAST .....	43
Figure 11 : Structures du ceftobiprole (A) et de sa prodrogue, le ceftobiprole-médocaril (B) .....	47
Figure 12 : Processus d'inclusion et critères d'exclusion des souches obtenues après extraction informatique .....	54
Figure 13 : Répartition des souches d'entérobactéries du groupe 3 incluses et leur sensibilité à la ceftazidime .....	55
Figure 14 : Répartition des souches d'entérobactéries non-groupe 3 incluses.....	56
Figure 15 : Sensibilité au ceftobiprole (A) et répartition des CMI (B) des <i>Enterobacterales</i> en fonction de leur sensibilité à la ceftazidime et au céfépime .....	58
Figure 16 : Comparaison des profils de sensibilité à la ceftazidime, au céfépime et au ceftobiprole de deux souches du complexe <i>E. cloacae</i> isolées d'hémocultures d'un même patient à J0 (A) et J37 (B).....	61
Figure 17 : Corrélation entre les valeurs de CMI et les diamètres de la zone d'inhibition du ceftobiprole pour les <i>Enterobacterales</i> .....	62

## TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Liste des bactéries prioritaires selon l’OMS, 2024 (17).....	27
Tableau 2 : Détails des critères de l’OMS pour les différentes espèces d’Enterobacterales résistantes aux C3G (17).....	28
Tableau 3 : Principales AmpC plasmidiques et année de leur découverte (44) .....	39
Tableau 4 : Critères d’interprétation des tests de sensibilité au ceftobiprole pour les entérobactéries selon les critères EUCAST (version 14.0).....	53
Tableau 5 : Distribution des CMI au ceftobiprole en fonction de l’espèce bactérienne .....	57
Tableau 6 : CMI50, CMI90 et pourcentage de sensibilité au ceftobiprole, toutes espèces confondues, en fonction du profil de sensibilité à la ceftazidime et au céfépime .....	57
Tableau 7 : CMI50, CMI90 et pourcentage de sensibilité au ceftobiprole en fonction des phénotypes intra-espèces.....	59
Tableau 8 : Profil de sensibilité aux bêta-lactamines de trois paires de souches dont le phénotype était évocateur d’une surexpression de la céphalosporinase .....	60

## TABLE DES ANNEXES

Annexe 1 : Corrélation entre les valeurs de CMI et les diamètres de la zone d'inhibition pour le ceftobiprole et différentes espèces d' <i>Enterobacterales</i> .....	70
Annexe 2 : Corrélation entre les valeurs de CMI et les diamètres de la zone d'inhibition pour le couple <i>Enterobacterales</i> /ceftobiprole – données de l'EUCAST (96) .....	72

# TABLE DES ABRÉVIATIONS

- AMM** : Autorisation de mise sur le marché
- BLSE** : Bêta-lactamase à spectre élargi
- BMR** : Bactérie multi-résistante
- CASFM** : Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
- C1G** : Céphalosporine de première génération
- C2G** : Céphalosporine de deuxième génération
- C3G** : Céphalosporine de troisième génération
- C4G** : Céphalosporine de quatrième génération
- CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute
- CMI** : Concentration minimale inhibitrice
- CMI50** : médiane des CMI
- CMI90** : 90<sup>ème</sup> percentile des CMI
- CNR** : Centre national de référence
- ECDC** : European Centre for Disease Prevention and Control
- EPC** : Entérobactérie productrice de carbapénémase
- ESAC** : Extended Spectrum AmpC beta-lactamase
- ESCMID** : European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases
- EUCAST** : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
- FDA** : Food and Drug Administration
- IBL** : Inhibiteur de bêta-lactamase
- IDSA** : Infectious Diseases Society of America
- MH** : Mueller Hinton
- OMS** : Organisation mondiale de la santé
- pAmpC** : AmpC plasmidique
- SF2H** : Société française d'hygiène hospitalière
- SARM** : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline
- SPILF** : Société de pathologie infectieuse de langue française

# INTRODUCTION

En 2019, l'Organisation mondiale de la santé (OMS) a déclaré que la résistance aux antimicrobiens est l'une des dix plus grandes menaces pour la santé publique mondiale auxquelles l'humanité est confrontée (1). Cette même année, on estime que près de 1,27 million de décès dans le monde étaient imputables à des infections causées par des bactéries résistantes aux antibiotiques (2). Les projections d'une étude publiée en septembre 2024 montrent que plus de 8 millions de décès pourraient être liés à la résistance aux antimicrobiens en 2050 si des mesures de lutte ne sont pas mises en place (3). Cette problématique concerne particulièrement les établissements de santé, puisque près de 70 % des cas d'infections par des bactéries résistantes aux antibiotiques sont des infections associées aux soins (4).

Les gènes conférant la résistance à plusieurs classes d'antibiotiques étaient présents dans la nature bien avant l'ère des antibiotiques (5). Néanmoins, le développement de bactéries résistantes est principalement attribué à l'usage abusif et excessif de ces derniers (6). Cette utilisation inappropriée crée une pression de sélection favorisant la multiplication et la propagation des souches bactériennes résistantes. D'autres facteurs incluent les voyages internationaux fréquents, facilitant la diffusion rapide des souches résistantes.

En parallèle à cette émergence de bactéries résistantes, l'investissement dans la filière de recherche et développement de nouveaux antibiotiques est paradoxalement limité (7). Cette situation est aggravée par la récente augmentation des pénuries d'antibiotiques qui met à mal les systèmes de santé à travers le monde.

Les données de 2019 et 2024 montrent que six espèces pathogènes sont principalement impliquées dans les cas de décès liés à la résistance aux antibiotiques : *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* (2,3). Le ceftobiprole est une céphalosporine à large spectre active sur les SARM (*S. aureus* résistants à la méticilline) et, à un degré variable, sur l'ensemble des espèces pathogènes susmentionnées, à l'exception de *A. baumannii*.

Dans ce contexte, nous avons cherché à étudier plus spécifiquement la sensibilité au ceftobiprole des entérobactéries productrices de céphalosporinase, l'un des mécanismes déterminant la résistance de ces bactéries à Gram négatif.

# I. SYNTHÈSE BIBLIOGRAPHIQUE

## 1. Résistance aux bêtalactamines chez les entérobactéries

### 1.1 Généralités

Les entérobactéries sont des bactéries à Gram négatif qui appartiennent à l'ordre des *Enterobacterales*, lui-même divisé en plusieurs familles (Figure 1). Les entérobactéries fréquemment rencontrées en clinique humaine incluent les genres *Escherichia*, *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Citrobacter*, *Proteus*, *Salmonella*, *Yersinia*, *Serratia*, *Morganella* et *Providencia*, entre autres.

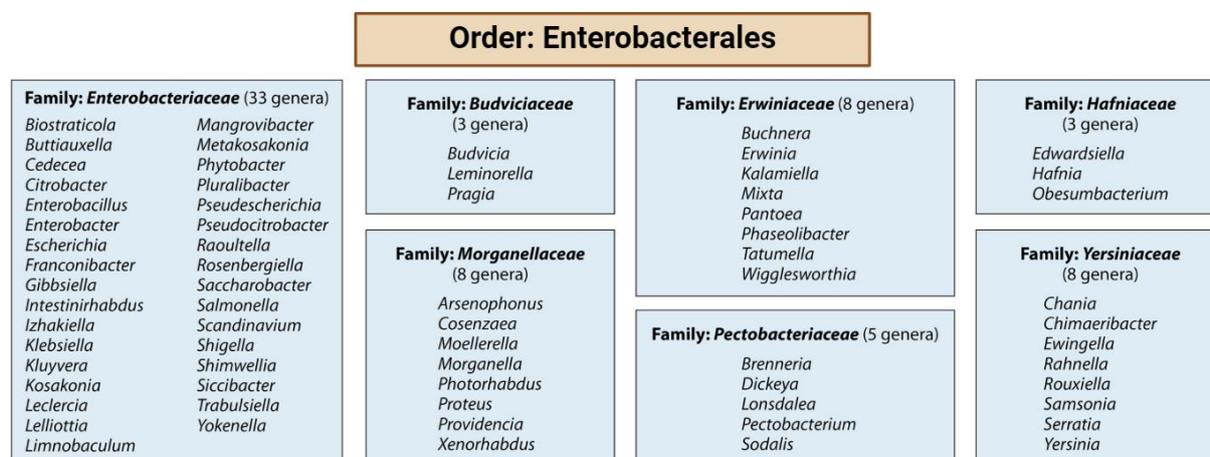


Figure 1 : Ordre des Enterobacterales selon la nouvelle nomenclature de 2016 (8)

Ces espèces partagent plusieurs caractéristiques qui les rendent particulièrement problématiques : d'une part un réservoir naturel dans le tractus gastro-intestinal, et d'autre part un génome diversifié et enrichi par des plasmides conjugatifs. Elles sont ainsi fréquemment impliquées dans les infections urinaires, intra-abdominales, respiratoires, ou encore les bactériémies (9). Le traitement de ces infections peut être compliqué car les bactéries ont développé, au cours de l'évolution, de nombreux mécanismes de résistance aux antibiotiques (Figure 2). Les bactéries à Gram négatif possèdent une membrane externe qui limite l'entrée des antibiotiques. Ces derniers traversent principalement cette membrane par le biais de porines, dont l'expression peut être réduite, contribuant ainsi à la résistance à de nombreuses familles d'antibiotiques, y compris les bêtalactamines. Ces dernières, si elles parviennent à traverser la membrane externe, peuvent être confrontées dans le périplasma à des bêta-lactamases, des enzymes capables d'hydrolyser le noyau  $\beta$ -lactame et d'inactiver

ces antibiotiques. Alternativement, l'affinité des bêta-lactamines pour leurs cibles, les PLP (protéines liant la pénicilline), peut être altérée par des mutations de ces dernières. Enfin, la bactérie peut exprimer des pompes d'efflux membranaires qui sont capables d'évacuer l'antibiotique en dehors de la cellule.

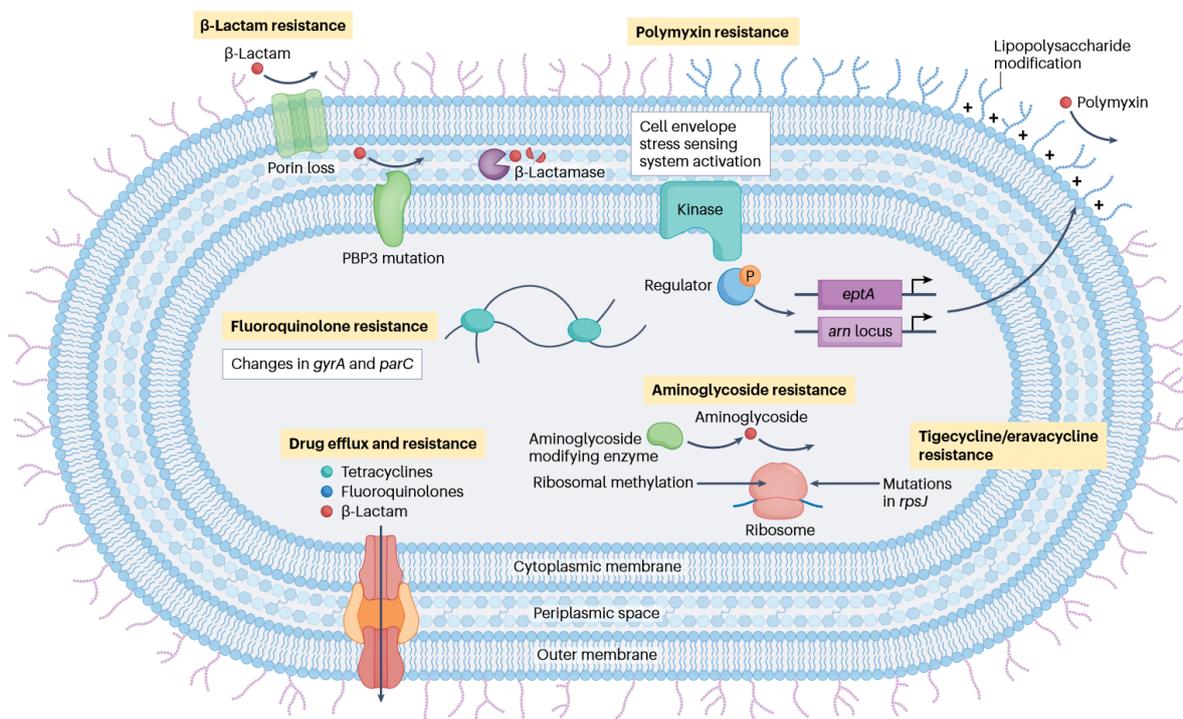


Figure 2 : Principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques des bactéries à Gram négatif (9)

Ces mécanismes et bien d'autres s'appliquent également à d'autres familles d'antibiotiques (aminosides, fluoroquinolones, macrolides, etc.). Ils peuvent être intrinsèques à une espèce bactérienne donnée (résistance naturelle) ou acquis suite à l'intégration de gènes de résistance par transfert horizontal (Figure 3). Le transfert horizontal de gènes de résistance aux antibiotiques, en particulier par des plasmides, est en grande partie responsable de l'émergence de bactéries multi-résistantes (10).

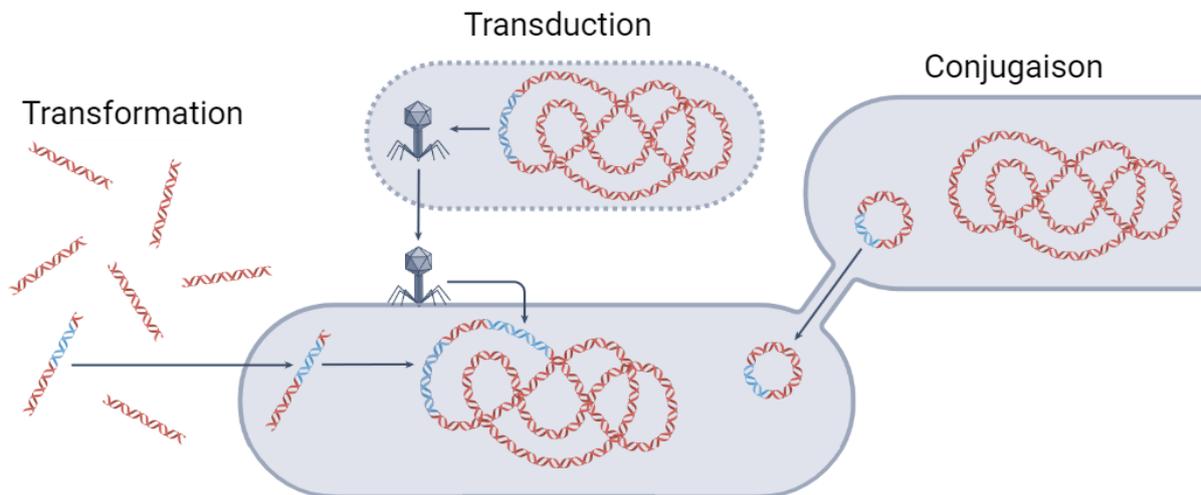


Figure 3 : Principaux mécanismes de transfert horizontal de gènes bactériens (10)

## 1.2 Classification des bêta-lactamases

La production de bêta-lactamase est le déterminant principal de la résistance aux bêtalactamines chez les bactéries à Gram négatif (11). Deux systèmes de classification de ces enzymes sont utilisés (Figure 4). La classification d'Ambler sépare les enzymes selon leur séquence nucléo-peptidique et leur mécanisme hydrolytique : les bêta-lactamases des classes A, C et D ont un site actif sérine-dépendant (12). On parle de céphalosporinases pour la classe C et d'oxacillinases pour la classe D. Les enzymes de classe B ont un site actif dépendant d'ions métalliques divalents (principalement  $Zn^{2+}$ ) : on parle alors de métallo-bêta-lactamases.

Une seconde classification a été proposée en 1995 par Bush, Jacoby et Medeiros. C'est une classification fonctionnelle qui regroupe les bêta-lactamases selon leurs substrats et leur sensibilité aux inhibiteurs (13). On y retrouve les céphalosporinases dans le groupe 1 et les métalloenzymes dans le groupe 3. Le groupe 2 et ses subdivisions rassemblent les enzymes des classes moléculaires A et D.

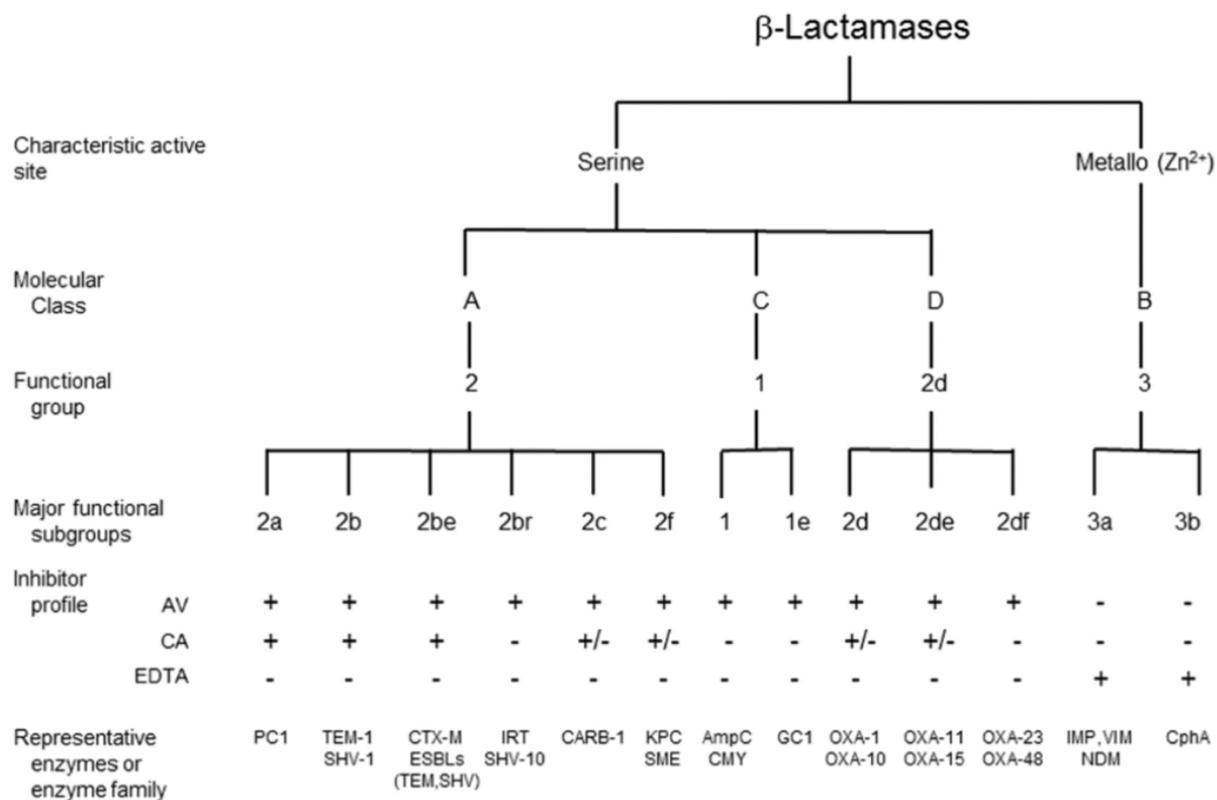


Figure 4 : Classifications des bêta-lactamases (14).

AV : avibactam ; CA : acide clavulanique

### 1.3 Résistances naturelles

Sept groupes ont été individualisés pour regrouper les principales espèces d'entérobactéries isolées en clinique humaine, selon leur phénotype naturel de résistance aux bêtalactamines (15). Dans le cadre de la lecture interprétative de l'antibiogramme, cette approche phénotypique présente à la fois un intérêt taxonomique et thérapeutique. La classification actuelle inclut les groupes suivants (16) :

- Groupe 0 : il comprend les espèces *Proteus mirabilis* et *Salmonella* spp., dépourvues de bêta-lactamase naturelle.
- Groupe 1 : il est composé des espèces *Escherichia coli* et *Shigella* spp., productrices d'une céphalosporinase chromosomique de bas niveau et non inductible, qui restent sensibles aux bêtalactamines dont l'amoxicilline.
- Groupe 2 : il rassemble des espèces productrices de pénicillinases chromosomiques de bas niveau, non inductibles et sensibles aux inhibiteurs. On y

retrouve *Klebsiella oxytoca* et *Klebsiella pneumoniae*, ainsi que *Citrobacter koseri*, *Citrobacter amalonaticus* et *Escherichia hermannii*. Ces souches sont ainsi résistantes à l'amoxicilline, à la ticarcilline et à la pipéracilline, mais sensibles aux associations avec les inhibiteurs telle que l'amoxicilline/acide clavulanique.

- Groupe 3 : il est composé de nombreuses espèces ayant en commun la production d'une céphalosporinase chromosomique de bas niveau mais inducible. Elles présentent une résistance à l'amoxicilline même en association avec l'acide clavulanique, ainsi qu'aux céphalosporines de première génération (C1G). Leur comportement vis-à-vis des C2G et des céphamycines permet de les répartir en trois sous-groupes (15) : (i) *Hafnia alvei*, *Providencia stuartii* et *Providencia rettgeri* sont sensibles aux C2G (céfuroxime) et à la céfoxitine (céphamycine) ; (ii) *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii* et *Klebsiella aerogenes* sont plus résistants à la céfoxitine qu'au céfuroxime ; et (iii) *Serratia marcescens* et *Morganella morganii* sont plus résistants au céfuroxime qu'à la céfoxitine.

- Groupe 4 : il individualise l'espèce *Yersinia enterocolitica*, qui exprime de façon concomitante une pénicillinase constitutive de classe A et une céphalosporinase inducible de classe C.

- Groupe 5 : il comprend les espèces *Proteus vulgaris*, *Proteus hauseri* et *Proteus penneri*, productrices d'une bêta-lactamase inducible de classe A de type « céfuroximase ». Celle-ci leur confère une résistance à l'amoxicilline, récupérée par les inhibiteurs, ainsi qu'aux C1G et au céfuroxime, mais pas aux céphamycines (comme la céfoxitine). L'espèce *Serratia fonticola* produit une bêta-lactamase chromosomique de classe A qui confère un phénotype naturel proche des trois espèces citées ci-dessus.

- Groupe 6 : il s'agit d'espèces principalement environnementales, telles que celles du genre *Kluyvera*, qui sont productrices et réservoirs naturels de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE) chromosomiques (notamment de la famille des CTX-M).

## 1.4 Épidémiologie des *Enterobacterales* résistantes aux C3G

Les *Enterobacterales* sont au premier plan de la liste des bactéries résistantes prioritaires de l'OMS mise à jour en 2024 (Tableau 1). Cette liste inclut, avec un niveau de priorité critique, les espèces résistantes aux carbapénèmes et aux céphalosporines de troisième génération (C3G) (17).

Les données de l'ECDC (European Centre for Disease Prevention and Control) montrent que ces phénotypes de résistance sont loin d'être isolés, en particulier dans les infections liées aux soins. Par exemple, la résistance aux C3G était retrouvée chez 22 % des souches de *E. coli*, 20 % des souches de *Proteus* spp. et 52,5 % des souches de *Klebsiella* spp. (données 2022-2023). Chez les entérobactéries du groupe 3, ce taux était compris entre 23 et 43 % selon les espèces (18,19).

Tableau 1 : Liste des bactéries prioritaires selon l'OMS, 2024 (17)

Niveau de priorité	Pathogènes
Critique	<b><i>Enterobacterales</i></b> résistantes aux carbapénèmes <b><i>Enterobacterales</i></b> résistantes aux C3G <b><i>Acinetobacter baumannii</i></b> résistant aux carbapénèmes <b><i>Mycobacterium tuberculosis</i></b> résistants à la rifampicine
Élevée	<b><i>Salmonella</i> spp.</b> résistants aux fluoroquinolones <b><i>Shigella</i> spp.</b> résistants aux fluoroquinolones <b><i>Enterococcus faecium</i></b> résistants à la vancomycine <b><i>Pseudomonas aeruginosa</i></b> résistants aux carbapénèmes <b><i>Neisseria gonorrhoeae</i></b> résistants aux C3G et/ou aux fluoroquinolones <b><i>Staphylococcus aureus</i></b> résistants à la méticilline
Moyenne	<b>Streptocoques du groupe A</b> et <b><i>Streptococcus pneumoniae</i></b> résistants aux macrolides <b>Streptocoques du groupe B</b> résistants à la pénicilline <b><i>Haemophilus influenzae</i></b> résistants à l'ampicilline

En pratique, ces phénotypes concernent majoritairement des souches qui ont acquis des gènes codant certaines bêta-lactamases. En ce qui concerne la résistance aux C3G, elle est principalement médiée par la production de deux types de bêta-lactamases chez les entérobactéries : les BLSE (majoritaires) et les céphalosporinases (AmpC).

Ainsi, dans une étude portant sur 1 696 isolats de *E. coli* résistants aux C3G, provenant d'Europe et d'Amérique du Nord, près de la moitié étaient producteurs de BLSE de

type CTX-M-1 ou CTX-M-15 (20). La troisième bêta-lactamase la plus fréquente était la céphalosporinase plasmidique CMY-2 (19 %).

Chez les entérobactéries du groupe 3, le rôle des céphalosporinases dans la résistance aux C3G est généralement plus important. Une étude menée entre 2020 et 2022 en Europe montrait que près de 16 % des souches surexprimaient leur céphalosporinase, tandis que 6 % produisaient une BLSE (21). En France, une étude menée sur des souches d'*Enterobacterales* isolées lors d'infections urinaires montrait que 46,6 % des isolats de *E. cloacae* étaient résistants aux C3G, mais que seuls 18,2 % des isolats de cette espèce produisaient une BLSE (22). Des résultats similaires ont été obtenus pour *C. freundii* (35,2 % de souches C3G-R, 5,9 % de BLSE) et *K. aerogenes* (27,5 % de souches C3G-R, 2,4 % de BLSE).

Le détail, espèce par espèce, des critères utilisés par l'OMS dans sa liste montre que l'émergence de la résistance aux C3G est plus préoccupante chez *E. coli* et *K. pneumoniae* en termes de dynamique (Tableau 2). En revanche, toutes les espèces présentent un taux de mortalité non négligeable et sont concernées par une insuffisance des outils de prévention disponibles.

Tableau 2 : Détails des critères de l'OMS pour les différentes espèces d'Enterobacterales résistantes aux C3G (17)

Critères	<i>Escherichia coli</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	<i>Proteus spp.</i>	<i>Morganella spp.</i>	<i>Citrobacter spp.</i>	<i>Serratia spp.</i>	<i>Enterobacter spp.</i>
Mortalité	Moyenne	Moyenne-élevée	Moyenne	Basse-moyenne	Moyenne	Moyenne	Moyenne
Incidence	Elevée	Moyenne-élevée	Basse-moyenne	Basse	Basse-moyenne	Basse-moyenne	Moyenne
Tendance de résistance*	Niveau 5	Niveau 3	Niveau 2	Niveau 2	Niveau 2	Niveau 2	Niveau 2
Transmissibilité	Elevée	Elevée	Basse-moyenne	Basse-moyenne	Moyenne	Moyenne	Moyenne
Prévention possible	Basse	Basse	Basse	Basse	Basse	Basse	Basse

\* Niveau 2 : Stable ; Niveau 3 : En augmentation dans 1 région OMS ; Niveau 5 : en augmentation dans ≥ 3 régions OMS

## 2. Céphalosporinases

### 2.1 Généralités

La découverte des céphalosporinases remonte à 1940, lorsque la première enzyme bactérienne inactivant la pénicilline fut décrite, avant même la commercialisation de l'antibiotique. Il s'agit de la céphalosporinase naturelle de *E. coli* qui sera ensuite nommée AmpC (23,24). Ces enzymes précèdent donc largement l'introduction des antibiotiques et la pression de sélection qu'ils exercent ; on estime d'ailleurs qu'elles existent depuis plus de 2 milliards d'années (14,25). Tout comme les autres bêta-lactamases, elles sont le reflet de l'évolution des mécanismes de résistance des bactéries à des bêtalactamines naturelles, produites par des microorganismes en compétition dans un même environnement.

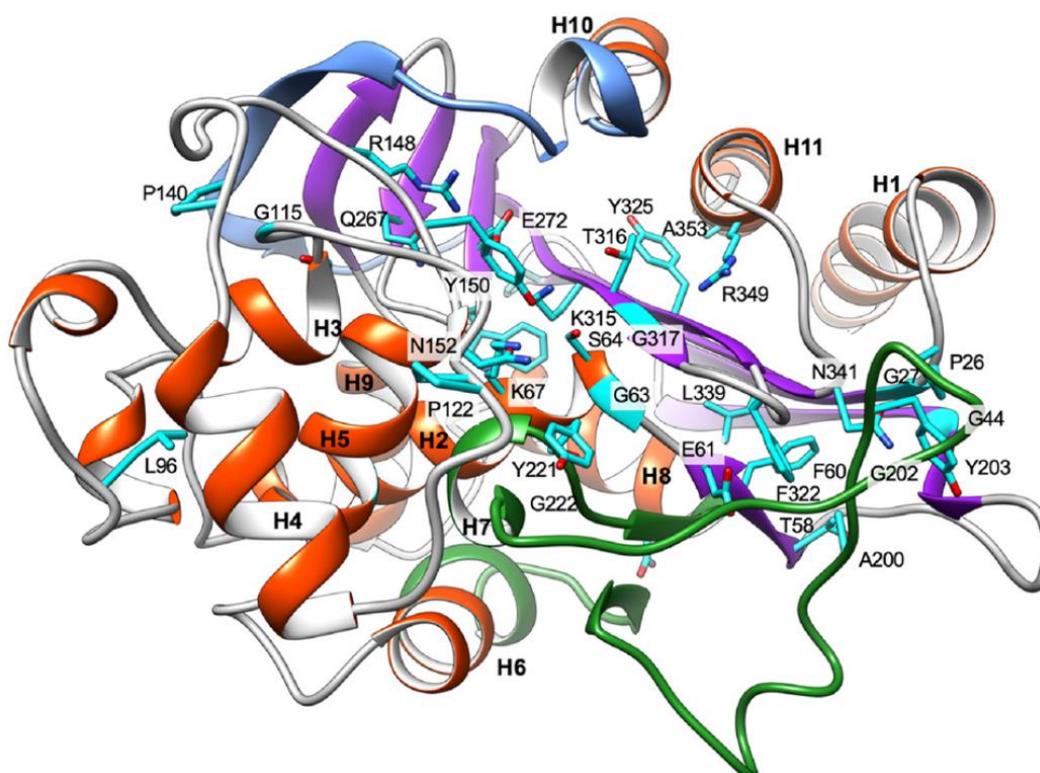
Le terme AmpC (ou céphalosporinase) définit aujourd'hui une classe d'enzyme appartenant à la classe C d'Amblar (12), par opposition aux BLSE, généralement de classe A. Comme ces dernières, les céphalosporinases sont caractérisées par un résidu sérine au niveau de leur site actif. Elles ont cependant une structure, un mécanisme d'action et un spectre d'inactivation bien distincts. Dans la classification fonctionnelle, basée sur le spectre d'hydrolyse des bêta-lactamases et le profil d'inhibition des enzymes, les céphalosporinases sont assignées au groupe 1 (13,26). Elles sont ainsi caractérisées par une hydrolyse préférentielle des céphalosporines par rapport à la pénicilline G d'une part, et une résistance à l'inhibition par les inhibiteurs de bêta-lactamase (IBL) classiques, tel que l'acide clavulanique, d'autre part.

Le gène qui encode les céphalosporinases, noté *ampC*, est le plus souvent situé sur les chromosomes des bactéries productrices (27). Une caractéristique remarquable de ces céphalosporinases est la variabilité d'expression du gène *ampC* par les différentes espèces. Chez les *Enterobacterales* du groupe 3 ou chez *Pseudomonas aeruginosa*, cette expression est inductible par des mécanismes complexes que nous développerons plus tard. En revanche, chez *E. coli* ou *Acinetobacter baumannii* par exemple, l'expression est constitutive, à plus ou moins haut niveau. Enfin, certaines espèces naturellement non productrices de céphalosporinase peuvent acquérir des gènes *ampC*, par transfert horizontal de plasmides par exemple. C'est donc un mécanisme de résistance susceptible d'affecter de très nombreuses espèces bactériennes et qu'il convient de savoir identifier pour anticiper des échecs thérapeutiques.

## 2.2 Caractéristiques moléculaires

Les différentes céphalosporinases se distinguent entre elles par une grande diversité moléculaire, avec environ 20 % d'identité entre les séquences (28). L'identification des céphalosporinases est basée sur trois motifs catalytiques clés et conservés : un motif S<sup>64</sup>XXK (où Ser64 correspond au résidu sérine du site actif), ainsi que les motifs Y<sup>150</sup>XN et K<sup>315</sup>TG (où Y et K représentent respectivement un résidu tyrosine et lysine) (28,29). Au total, plus de 70 sites catalytiques conservés ont également été identifiés, concentrés pour la plupart autour du site actif.

La structure tridimensionnelle des AmpC est bien conservée et comporte typiquement deux domaines mixtes  $\alpha/\beta$  de part et d'autre du site actif, situé en position N-terminale de l'hélice  $\alpha$  centrale (Figure 5). Ce site actif peut lui-même être divisé en deux sites R1 et R2, qui prennent en charge respectivement les chaînes latérales R1 et R2 de part et d'autre du noyau  $\beta$ -lactame d'un substrat donné. Le site R1 est délimité par la boucle  $\Omega$ , tandis que le site R2 est entouré par la boucle R2. Ces deux composants jouent un rôle majeur dans l'interaction avec les substrats. Des modifications structurelles de ces domaines sont donc susceptibles d'altérer l'efficacité catalytique des enzymes envers certains substrats.



*Figure 5 : Structure tri-dimensionnelle de la céphalosporinase P99 (28).*

Orange : hélices  $\alpha$  ; violet : feuillets  $\beta$  ; vert : boucle  $\Omega$  ; bleu : boucle R2 ; cyan : résidus conservés

La structure finale des céphalosporinases reste proche de celle des bêta-lactamases de classe A, à cela près que le site de fixation au substrat est plus ouvert chez les AmpC, traduisant leur capacité accrue à accueillir les chaînes latérales plus volumineuses des céphalosporines (23).

### **2.3 Spectre d'activité et inhibition**

Les céphalosporinases ont un spectre d'activité large, caractérisé comme leur nom l'indique par une hydrolyse préférentielle des céphalosporines par rapport aux pénicillines. En pratique cependant, les pénicillines sont également de bons substrats pour les AmpC, qui hydrolysent aussi bien la pénicilline G que les aminopénicillines (amoxicilline, ampicilline), carboxypénicillines (ticarcilline) et uréidopénicillines (pipéracilline). La témocilline, connue pour sa stabilité aux bêta-lactamases, semble retenir une activité *in vitro* contre les BLSE et les AmpC chez les entérobactéries (25), même si en pratique des taux de résistances importants ont été relevés en France (entre 12 et 38% selon les espèces) pour des isolats cliniques responsables d'infections urinaires (22).

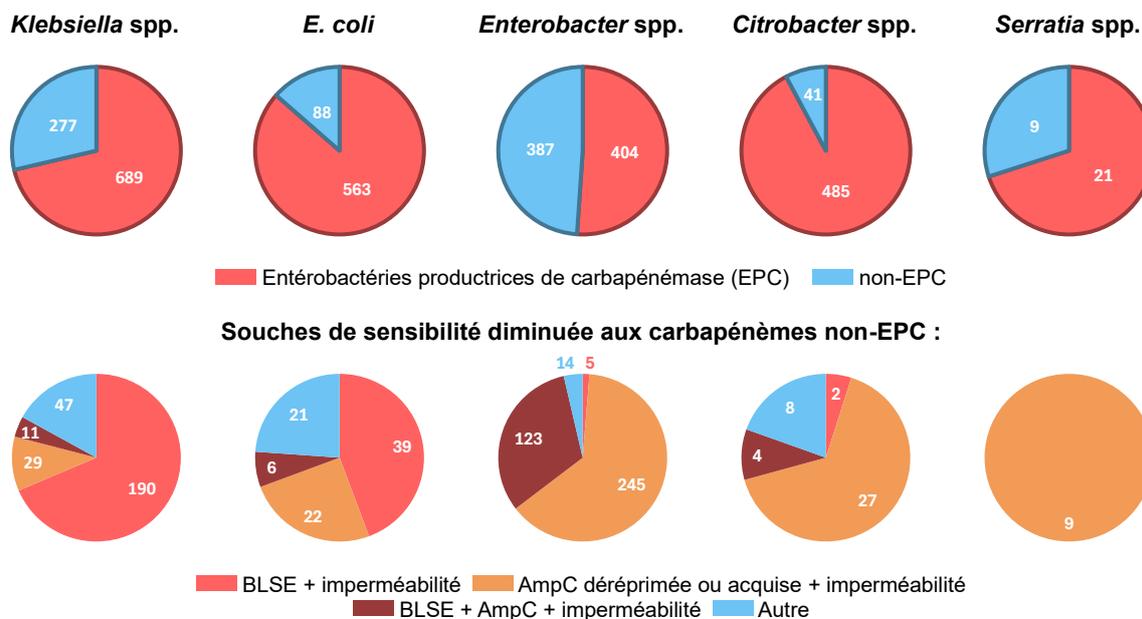
Les C1G et les céphamycines telle que la céfoxitine sont par définition d'excellents substrats des AmpC. Selon le niveau d'activité de l'enzyme, les C3G de type oxyiminocéphalosporines (céfoxitine, ceftazidime ou ceftriaxone) et l'aztréonam sont plus ou moins hydrolysées. Les C4G (céphalosporines de quatrième génération), dont le principal représentant utilisé en clinique humaine est le céfépime, présentent un taux d'hydrolyse très faible et une constante de Michaelis ( $K_m$ ) élevée, reflétant l'affinité moindre de l'enzyme pour ces molécules, ce qui se traduit par une bonne stabilité de ces dernières. Il en va de même pour les carbapénèmes, généralement stables à l'hydrolyse par les céphalosporinases (23,25,30).

Les AmpC sont généralement stables à l'action des inhibiteurs de bêta-lactamase classiques que sont l'acide clavulanique, le sulbactam et le tazobactam. Cette résistance aux inhibiteurs est typique des AmpC et constitue d'ailleurs un critère d'identification et de différenciation important par rapport aux BLSE (voir Méthodes de détection). Elles sont néanmoins sensibles aux nouveaux inhibiteurs : ceux de la famille des diazabicyclooctanes, comme l'avibactam, le relebactam ou le zidebactam, et des boronates, comme le taniborbactam ou, dans une moindre mesure, le vaborbactam (31,32).

Ces traits généraux sont susceptibles de varier entre les différentes enzymes, aussi bien en termes de spécificité de substrat que de profil d'inhibition. Par exemple, la céphalosporinase naturelle de *H. alvei* n'hydrolyse pas les céphamycines (elle est d'ailleurs inhibée par la céfoxitine), tandis que le tazobactam inhibe la céphalosporinase naturelle de *M. morganii* (25).

Les AmpC sont classiquement situées dans l'espace périplasmique où elles interceptent et hydrolysent les bêta-lactamines avant que ces dernières n'interagissent avec leur cible, les PLP. En plus de leur activité intrinsèque, d'autres déterminants de leur spectre de résistance incluent la quantité d'enzyme produite ou la vitesse d'arrivée du substrat vers l'enzyme. Or, la concentration en substrat dans le périplasme est fonction de la perméabilité membranaire des bactéries. Cette perméabilité membranaire dépend d'une part de la présence de porines, qui sont utilisées par de nombreuses bêta-lactamines comme voie d'entrée, et d'autre part de systèmes d'efflux qui éjectent ces dernières de la cellule. Ainsi, la diminution du nombre de porines et/ou l'augmentation de l'expression des pompes d'efflux peut facilement exacerber l'efficacité de l'enzyme. En pratique, la résistance aux carbapénèmes des souches cliniques productrices de céphalosporinase implique majoritairement ces associations de mécanismes. Par exemple, le mécanisme le plus fréquent de résistance aux carbapénèmes chez *Pseudomonas aeruginosa* est une combinaison d'hyperproduction de son AmpC naturelle, de la diminution de la production des porines OprD, et de l'activation de systèmes d'efflux, principalement MexAB-OprM. Chez les entérobactéries, les données 2020 du centre national de référence (CNR) de la résistance aux antibiotiques montrent qu'en France, la production de céphalosporinase joue un rôle important dans la résistance aux carbapénèmes de souches non-productrices de carbapénémase (Figure 6).

Les céphalosporines zwitterioniques comme le céfépime, qui possèdent à la fois une charge positive et une charge négative, ont l'avantage de pénétrer la membrane externe plus rapidement que les molécules à charge nette positive (céfotaxime, ceftriaxone, etc.). En plus de leur stabilité intrinsèque aux AmpC, cette propriété participe à l'activité préservée des C4G contre les céphalosporinases (23,25).



**Figure 6 : Origine de la résistance aux carbapénèmes de souches d'entérobactéries examinées par le CNR de la résistance aux antibiotiques en France en 2020 (33)**

## 2.4 Céphalosporinases chromosomiques

### 2.4.1 Caractère inductible

Comme nous l'avons vu précédemment, l'expression d'un gène *ampC* chromosomique peut se faire sur un mode constitutif ou inductible, en fonction des espèces. Quand l'expression est inductible, plusieurs bêta-lactamines peuvent agir comme inducteurs et rendre cliniquement significatif le mécanisme de résistance. Il est possible de distinguer plusieurs situations selon la propension des molécules à induire l'expression d'AmpC et leur stabilité à l'hydrolyse par l'enzyme (25) :

- Inducteurs labiles : cette catégorie regroupe les aminopénicillines, les C1G et les céphamycines comme la céfoxitine. Ces molécules induisent fortement l'expression du gène *ampC* et sont inactivées par l'enzyme même à l'état basal. Les souches productrices de céphalosporinase, inductible ou constitutive, sont intrinsèquement résistantes à ces molécules. L'acide clavulanique induit également fortement la production d'AmpC et n'a aucune activité inhibitrice sur celle-ci.
- Inducteurs stables : on y retrouve les carbapénèmes, puissants inducteurs de l'expression d'*ampC* mais stables à l'hydrolyse. Les souches productrices restent donc généralement sensibles à cette classe d'antibiotiques, sauf en cas d'accumulation de mécanismes de résistance (par exemple un certain niveau d'imperméabilité) ou de mutations au niveau du site actif (11).

- Faibles inducteurs labiles : cette catégorie concerne entre autres les uréidopénicillines (pipéracilline), la plupart des C3G et l'aztréonam. Les souches productrices d'AmpC inductibles apparaissent le plus souvent sensibles à ces molécules alors que les souches exprimant leur céphalosporinase de façon constitutive sont généralement résistantes (34). De plus, les concentrations minimales inhibitrices (CMI) de ces antibiotiques sont fortement augmentées en cas d'hyperproduction de la céphalosporinase.
- Faibles inducteurs stables : Il s'agit des C4G comme le céfépime. Ils retiennent une activité contre les producteurs d'AmpC, à l'exception de certains variants mutés dont le spectre peut être élargi même à ces molécules.

#### 2.4.2 Mécanisme d'induction

Le mécanisme d'induction des céphalosporinases chromosomiques est complexe et implique trois protéines majeures qui participent aux voies de recyclage du peptidoglycane (ou muréine), composant clé de la paroi bactérienne (35–37) :

- AmpR, un régulateur de transcription de type LysR qui, à l'état basal, réprime l'expression du gène *ampC*
- AmpD, une amidase cytosolique
- AmpG, une perméase située au niveau de la membrane interne

Pour rappel, les bêta-lactamines sont des antibiotiques bactéricides qui entraînent une interruption de la synthèse de la paroi bactérienne (38). Pour ce faire, elles se lient de façon covalente à des protéines essentielles, les PLP, impliquées dans les étapes terminales de réticulation du peptidoglycane.

Selon le modèle qui fait actuellement consensus chez les entérobactéries (Figure 7), la dégradation du peptidoglycane entraîne un relargage d'oligopeptides d'acide N-acétylglucosamine-1,6-N-acétylmuréine (NAG-1,6-NAM) dans l'espace périplasmique. Ces oligopeptides rejoignent le cytoplasme via le transporteur AmpG, où la partie NAG sera rapidement clivée (39). Les muropeptides de 1,6-NAM restants sont ensuite clivés par AmpD dans le but d'être recyclés, afin de servir de nouveau à la synthèse du peptidoglycane. Au cours de ce processus, les muropeptides sont convertis en UDP-pentapeptides (uridine-diphosphate-NAM). Ceux-ci sont capables

d'interagir avec AmpR, qui adopte alors une conformation dans laquelle il réprime la transcription d'*ampC*.

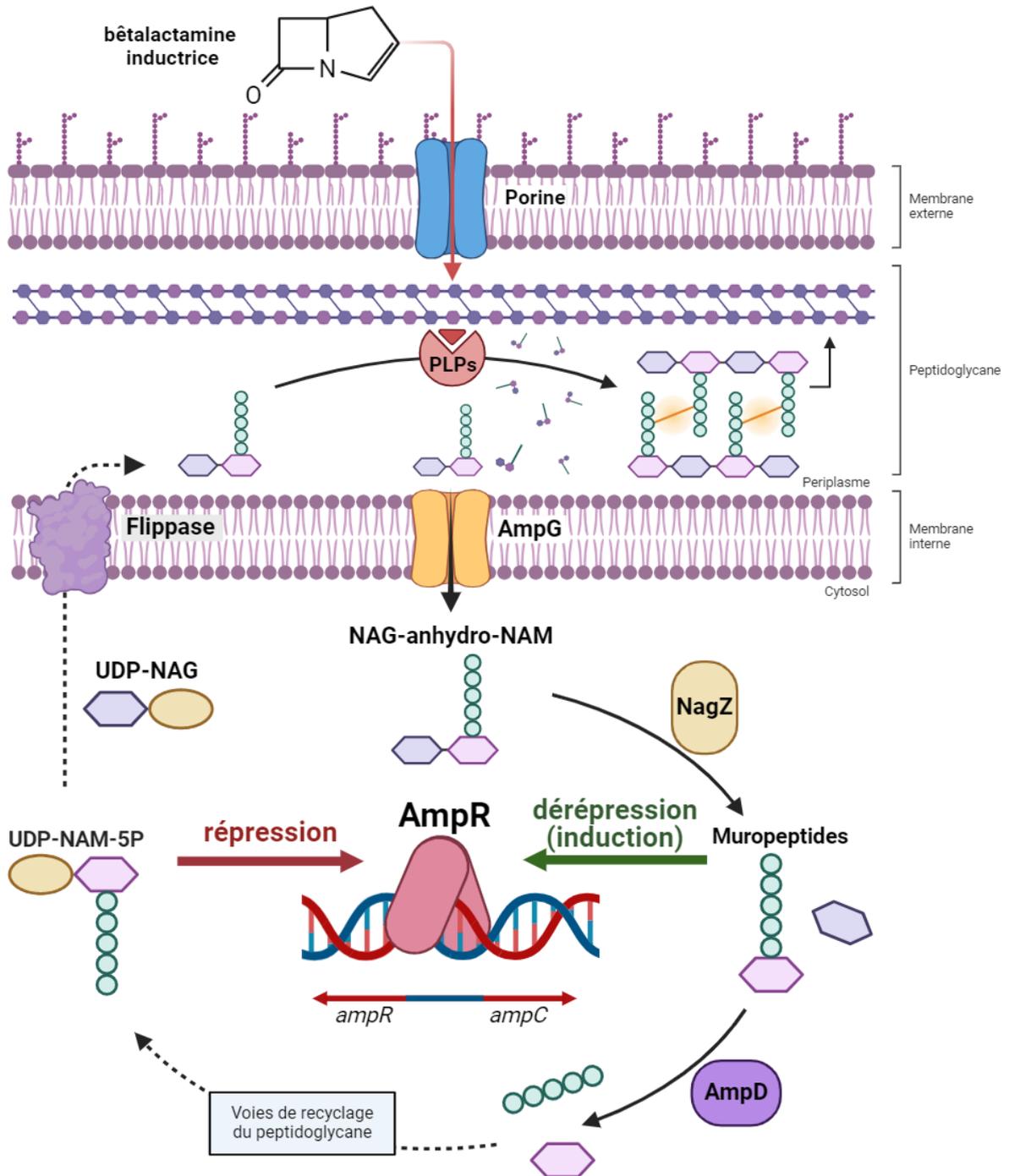


Figure 7 : Représentation du mécanisme d'induction des AmpC chromosomiques des entérobactéries du groupe 3. Adapté de (35–37)

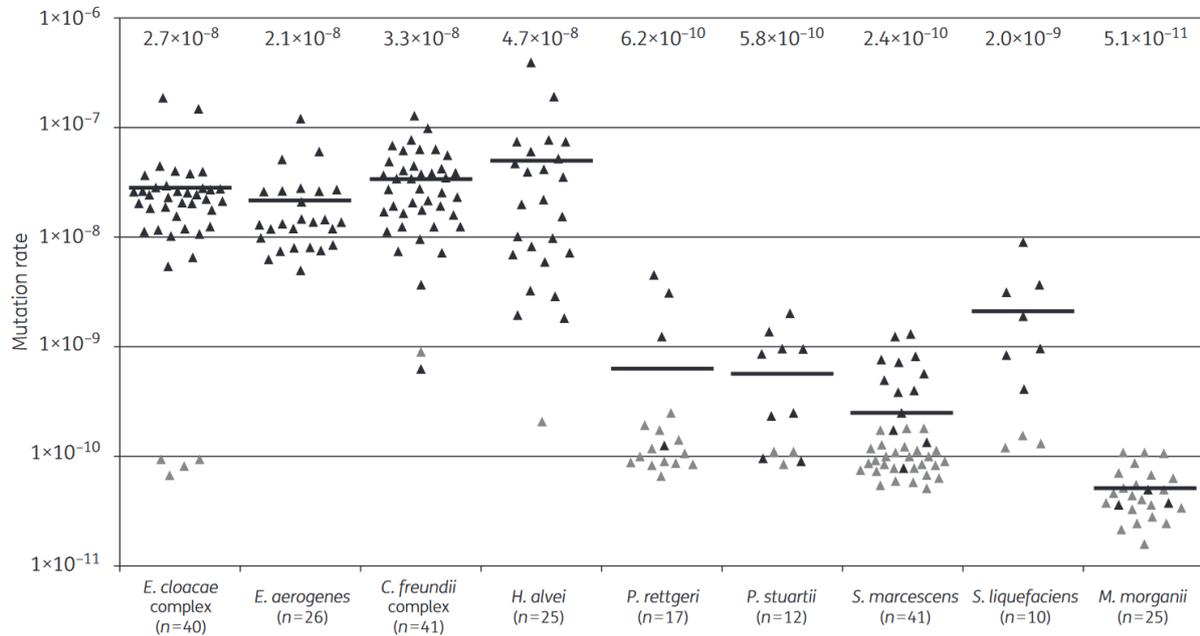
Le phénomène d'induction apparaît lorsqu'en présence de bêtalactamines inductrices, la disruption du peptidoglycane entraîne un relargage massif de mucopeptides dans le cytoplasme. AmpD sera alors rapidement dépassée et incapable de recycler l'ensemble de ces peptides, qui entreront en compétition avec les UDP-NAM pour la fixation à AmpR. Le déplacement des UDP-NAM face à l'accumulation de mucopeptides entraîne un changement de conformation d'AmpR, qui va alors activer la transcription du gène *ampC*.

### 2.4.3 Mécanismes de surexpression

Les causes les plus fréquentes de surexpression d'AmpC dans les isolats cliniques sont des mutations du gène *ampD* ; des mutations ponctuelles, des troncations et des insertions qui peuvent entraîner une diminution de son expression ou une inactivation de la protéine AmpD, en modifiant le plus souvent l'extrémité C-terminale de cette dernière (35,40–42). Il en résulte une surexpression constitutive d'*ampC* par un phénomène de dérégulation, responsable par exemple d'une résistance à haut niveau aux C3G, même en l'absence d'exposition préalable aux bêtalactamines. Les mutations du gène *ampR* sont plus rares mais peuvent également donner des phénotypes d'hyperinductibilité ou d'hyperproduction constitutive (43). Enfin, les mutations du gène *ampG* sont encore moins décrites, et entraînent une expression constitutive à faible niveau du gène *ampC* (23). En l'absence de mutation, le niveau d'expression d'*ampC* revient progressivement à l'état basal à l'arrêt de l'exposition aux bêtalactamines.

Ce mécanisme de régulation s'applique particulièrement aux entérobactéries du groupe 3, producteurs d'une céphalosporinase chromosomique inductible. Il explique le phénotype classique de ces espèces qui apparaissent sensibles aux C3G à l'état basal, mais où une résistance peut se développer à la suite d'une exposition aux bêtalactamines, et ce dès les 24 heures suivant l'initiation de l'antibiothérapie (25). L'émergence de résistance aux C3G sous traitement de souches d'*Enterobacter* spp. a été rapportée dans plusieurs études avec une fréquence de 8 à 19 % (30). Toutes les entérobactéries du groupe 3 ne sont pas équivalentes en termes de niveau d'expression basal d'*ampC* ou de susceptibilité à produire des mutants dérégulés (Figure 8). Le taux de mutation est particulièrement élevé chez les espèces des complexes *E. cloacae* et *C. freundii*, ainsi que chez *K. aerogenes* et *H. alvei*, avec un taux de mutation moyen de  $3 \times 10^{-8}$  (43). Ces taux sont sensiblement plus faibles pour les autres entérobactéries du groupe 3 :  $6 \cdot 10^{-9}$  pour *Providencia* spp.,  $2 \cdot 10^{-10}$  pour *S.*

*marcescens* et  $5.10^{-11}$  pour *M. morgani*. Même déréprimées, les souches de *S. marcescens*, *M. morgani* ou *P. stuartii* expriment leur céphalosporinase à des taux restant environ dix fois inférieurs à ceux que l'on peut retrouver pour les souches de *E. cloacae* ou *C. freundii* (30).



**Figure 8 : Taux de mutations entrainant une dérèpression d'ampC de différentes espèces d'entérobactéries du groupe 3 (43)**

D'autres espèces bactériennes se distinguent par un mécanisme de régulation de l'expression d'*ampC* différent ou comportant certaines subtilités. Nous évoquons plus haut le cas de certaines espèces dont la céphalosporinase chromosomique est exprimée de façon non inductible, comme chez *E. coli* ou *A. baumannii*. Ces espèces sont en effet dépourvues de gène *ampR*. Leur production d'AmpC est néanmoins régulée par des systèmes de promoteurs/atténuateurs. C'est pourquoi une souche sauvage de *E. coli* produit une AmpC à un niveau stable mais négligeable, qui ne pose pas de risque de résistance significative sur le plan clinique. Cependant, certaines souches peuvent là aussi, via des mécanismes de duplication de gène, de mutations de promoteurs ou d'atténuateurs, présenter un niveau de production augmenté de façon constitutive (23).

Le mécanisme de régulation d'AmpC varie également chez d'autres espèces productrices qui ne font pas partie des *Enterobacterales*, notamment chez *P. aeruginosa* où le mécanisme a été particulièrement étudié. Ainsi, les souches de cette espèce possèdent naturellement 3 gènes *ampD*, ce qui explique une hyperproduction

d'AmpC en marche d'escalier, correspondant à l'inactivation successive de chaque gène (23,28).

## **2.5 Céphalosporinases plasmidiques (pAmpC)**

La première description d'un gène *ampC* transmis par des plasmides remonte à 1989 (44). Ils ont depuis été retrouvés dans des isolats aussi bien communautaires que nosocomiaux. Des différences mineures dans les séquences d'acides aminés de ces céphalosporinases ont donné naissance à différents clusters selon l'espèce d'origine (45) :

- Le groupe *C. freundii* inclut les pAmpC de type LAT et certaines CMY dont CMY-2
- Le groupe *Enterobacter* spp. avec MIR-1 et ACT-1
- Le groupe *M. morgani* comprend DHA-1 et DHA-2
- Le groupe *H. alvei* représenté par ACC-1
- Le groupe *Aeromonas* inclut les enzymes de type MOX, FOX et les autres CMY

Le Tableau 3 rassemble les principales pAmpC et l'année de leur découverte, ainsi que le pourcentage d'homologie des séquences d'acides aminés avec le gène chromosomique dont elles sont issues. Les enzymes des groupes DHA et ACC présentent une séquence quasiment identique à leur équivalent chromosomique chez *M. morgani* et *H. alvei* respectivement. Elles présentent de ce fait les mêmes caractéristiques en termes de spectre d'hydrolyse, ce qui explique par exemple que ACC-1 n'hydrolyse pas la céfoxitine (46).

Tableau 3 : Principales AmpC plasmidiques et année de leur découverte (44)

pAMPC-BL Enzyme	Country of Discovery	Year of Isolation	First Species in Which It Was Isolated	Chromosomal Origin Species	% Similarity (with Respect to the Chromosomal Gene)
CMY-1	South Korea	1989	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. hydrophila</i>	82
CMY-2	Greece	1996	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. freundii</i>	96
MIR-1	USA	1990	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	99
MOX-1	Japan	1993	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. hydrophila</i>	80
LAT-1	Greece	1993	<i>K. pneumoniae</i>	<i>C. freundii</i>	95
FOX-1	Argentina	1994	<i>K. pneumoniae</i>	<i>A. caviae</i>	99
DHA-1	Saudi Arabia	1997	<i>S. enteritidis</i>	<i>M. morgani</i>	99
ACT-1	USA	1997	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. asburiae</i>	98
ACC-1	Germany	1999	<i>K. pneumoniae</i>	<i>H. alvei</i>	99
CFE-1	Japan	2004	<i>E. coli</i>	<i>C. freundii</i>	99

L'expression des AmpC plasmidiques est généralement constitutive, ce qui confère un phénotype de résistance similaire aux espèces du groupe 3 surexprimant leur AmpC chromosomique, avec une résistance aux C3G et à l'aztréonam le plus souvent, et une sensibilité conservée au céfépime et aux carbapénèmes (45). Certains gènes *ampC* plasmidiques sont en revanche associés à un gène *ampR*, comme c'est le cas pour les enzymes de type DHA, ACT-1 et CYM-13, qui sont donc exprimées de façon inductible (44,47).

L'enzyme CMY-2 est la plus fréquemment isolée en pathologie humaine, suivie par DHA-1 (44). L'hospitalisation prolongée – notamment en réanimation – et l'exposition aux céphalosporines ont été identifiées comme étant des facteurs de risque d'infection par des bactéries productrices de pAmpC. Leur fréquence d'isolement reste limitée en Europe même si une grande variation existe dans les chiffres rapportés selon les différents pays, avec une prévalence allant de 0,06 % à 19 % pour *E. coli* et entre 0,5 et 1,04 % pour *K. pneumoniae*. Cette variation peut s'expliquer par les différentes méthodes de détection utilisées. Il est par exemple impossible de différencier une AmpC plasmidique d'une hyperproduction d'AmpC chromosomique chez *E. coli* ou chez les entérobactéries du groupe 3, en l'absence d'outils de biologie moléculaire. Les taux de prévalence les plus élevés ont été retrouvés en Asie, mais les études sur les AmpC plasmidiques restent très limitées en comparaison des études sur les BLSE, bien plus fréquentes, ou sur les carbapénémases, plus problématiques d'un point de vue thérapeutique. Néanmoins, plusieurs isolats nosocomiaux producteurs de pAmpC ont été décrits comme responsables d'épidémies, comme MIR-1, CMY-2, ACT-1 ou encore ACC-1 (27,45).

Les plasmides qui portent des pAmpC sont de tailles variables, entre 7 et 180 kb (45). La plupart de ces plasmides sont conjugatifs et peuvent se transférer de manière autonome à une autre cellule par conjugaison. D'autres ne sont pas auto-transmissibles, mais peuvent se propager par mobilisation, transduction ou transformation (48). Ces plasmides sont souvent également porteurs d'autres gènes de résistance, notamment aux aminosides, aux sulfonamides ou aux fluoroquinolones. La co-production plasmidique de BLSE et d'AmpC est également décrite (49), avec une prévalence comprise entre 0,7 et 2 % sur deux études portant sur des souches de *E. coli* résistantes aux C3G (20,50) et jusqu'à 4 % dans une étude portant sur des souches de *E. coli* résistantes à la céfoxitine (51).

## **2.6 Céphalosporinases à spectre élargi**

Tout comme pour les bêta-lactamases de classe A, des insertions, délétions ou substitutions d'acides aminés élargissant le spectre d'activité des céphalosporinases ont été décrites (28). Les souches productrices de ces céphalosporinases mutées peuvent ainsi voir leur efficacité catalytique augmentée envers certains substrats, dont les C3G. De telles mutations ont été décrites dès les années 1990, aussi bien sur des AmpC chromosomiques que plasmidiques (52). Elles surviennent le plus souvent au niveau de la boucle  $\Omega$ , rendant l'enzyme plus accessible pour des substrats avec une chaîne R1 plus encombrante, ou de la boucle R2, en particulier au niveau des hélices  $\alpha$  H-10 et H-2, élargissant là aussi le site de fixation.

Ces variants ont été regroupés sous le terme d'ESAC (Extended Spectrum AmpC beta lactamases). Dans la classification fonctionnelle des bêta-lactamases, le sous-groupe 1e a été ajouté pour inclure ce type de céphalosporinases à spectre étendu. Il s'agit de variants du groupe 1 qui ont donc acquis une activité augmentée envers la ceftazidime ou d'autres oxyiminocéphalosporines, voire envers les C4G. On y retrouve entre autres la céphalosporinase GC1 de *E. cloacae* ou les AmpC plasmidiques CMY-10 et CMY-19 (26). Cette capacité accrue d'hydrolyse peut même s'étendre aux carbapénèmes (comme l'imipénème), comme cela a été rapporté pour l'enzyme CMY-10 (11), dont la délétion de 3 acides aminés au niveau de la boucle R2 contribue à un site actif élargi, atténuant l'encombrement stérique habituellement associé aux chaînes latérales volumineuses des carbapénèmes (52). D'autres phénotypes d'ESAC ont cette fois été attribués à des insertions d'acides aminés, au niveau de résidus clés de la boucle R2, comme chez des souches de *E. coli* qui étaient catégorisées résistantes au céfépime (53,54).

La plupart de ces variants d'enzymes sont rapportés dans la littérature comme des isollements sporadiques, et le céfépime maintient une excellente activité sur les AmpC. L'isolement de variants issus de la céphalosporinase plasmidique CMY-2, la plus fréquemment retrouvée dans les isolats cliniques, montre néanmoins le potentiel non négligeable de développement d'ESAC avec une sensibilité diminuée au céfépime, notamment au décours d'un traitement par cet antibiotique (55). C'est donc un mécanisme émergent important qu'il convient de prendre en compte et de surveiller, au vu des limitations de l'arsenal thérapeutique actuel efficace contre certains de ces variants (56).

## **2.7 Méthodes de détection**

À l'heure actuelle, il n'y a pas de critères approuvés par le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) pour la détection d'AmpC sur des isolats cliniques. L'approche phénotypique est un moyen simple de dépister les souches productrices d'une céphalosporinase, à condition que son expression soit suffisante pour être repérée in vitro.

En pratique, pour des raisons de surveillance épidémiologique des bactéries multi-résistantes (BMR), toute souche d'entérobactérie présentant une résistance à une ou plusieurs C3G doit faire l'objet d'une attention particulière. Selon les recommandations nationales de la Société française d'hygiène hospitalière (SF2H), le dépistage des agents infectieux « à haut potentiel de transmission croisée » comme les BLSE doit être privilégié. Ce n'est pas le cas des BMR sous la « dépendance principale de la pression de sélection », dont les premiers représentants sont les entérobactéries hyperproductrices de céphalosporinase (57). Néanmoins plusieurs approches permettent de détecter simultanément ces deux mécanismes.

Une première approche phénotypique à partir de la lecture interprétative de l'antibiogramme peut permettre de distinguer la production d'une BLSE d'une hyperproduction de céphalosporinase :

- La céfoxitine est très largement hydrolysée par la majorité des céphalosporinases et donc rendue inefficace, tandis que les espèces productrices de BLSE restent souvent sensibles. Les recommandations actuelles de l'EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) proposent ainsi d'utiliser la céfoxitine pour la détection des entérobactéries hyperproductrices de

céphalosporinase, tout en précisant que si ce test est sensible, il reste peu spécifique, l'activité de la céfoxitine étant également affectée par d'autres mécanismes potentiels (dont des altérations de perméabilité) (58). Un algorithme de détection d'AmpC proposé par l'EUCAST pour les entérobactéries des groupes 0, 1 et 2 est disponible en Figure 9.

- Le céfépime conserve son activité sur la plupart des AmpC, alors qu'il est facilement hydrolysé par une majorité des BLSE. Ce test a également ses limites puisque certaines souches productrices de BLSE peuvent apparaître sensibles in vitro au céfépime (34).

L'interprétation basée sur l'activité des autres bêta-lactamines est moins fiable.

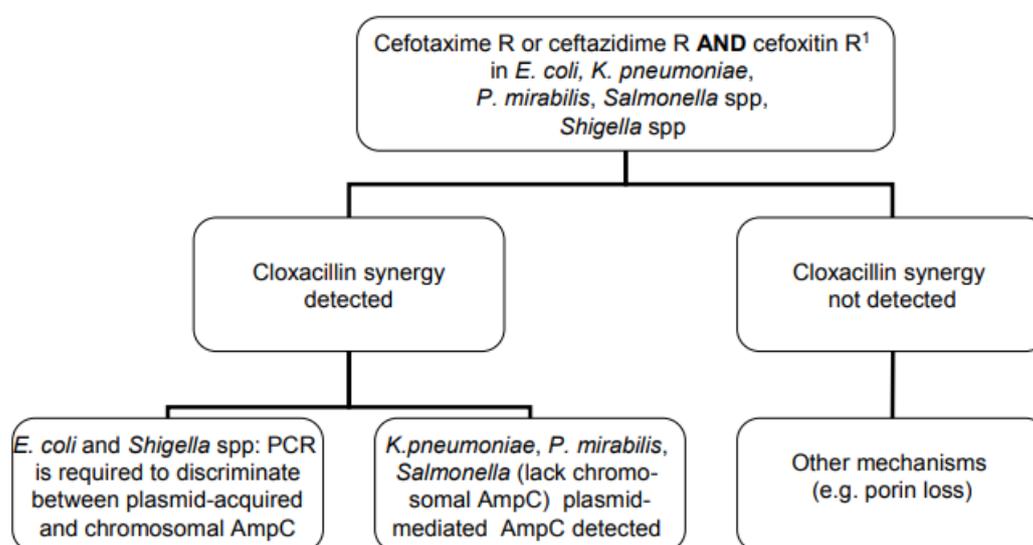
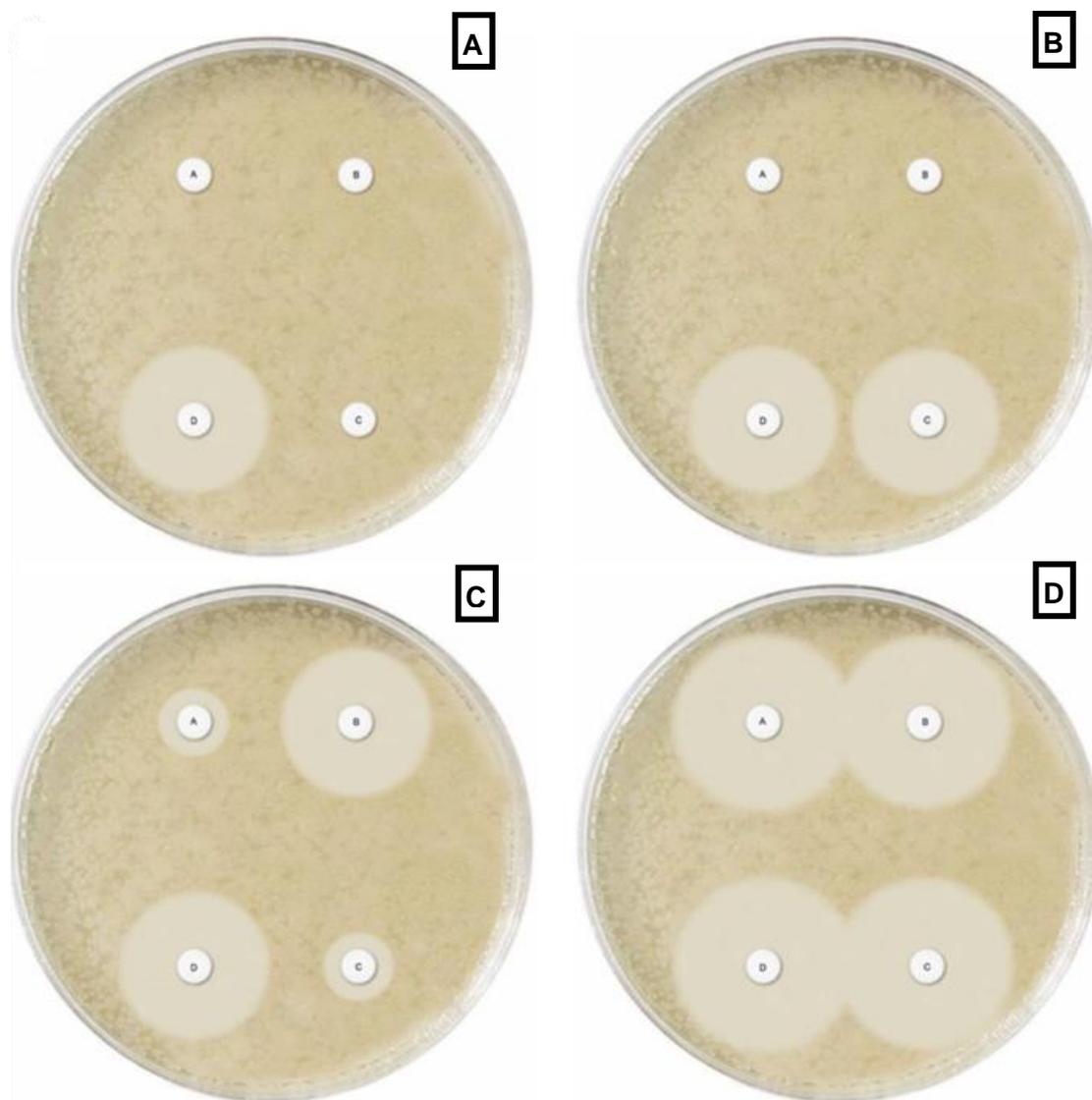


Figure 9 : Algorithme de détection d'AmpC proposé par l'EUCAST (58)

Une limite évidente à cette première identification d'AmpC, qui reste avant tout présomptive, est la possibilité de la coexistence de multiples mécanismes de résistance. De plus, la sensibilité à la céfoxitine a un intérêt limité pour les entérobactéries de groupe 3 qui sont, à quelques exceptions près, naturellement résistantes à cette molécule. Elle ne permet pas non plus de dépister des souches productrices d'ACC-1, qui n'hydrolyse pas la céfoxitine. Dans ces situations, la réalisation de tests complémentaires est nécessaire pour aller plus loin et mettre en évidence les différents mécanismes mis en jeu.

Pour la recherche des BLSE, de nombreux tests sont basés sur l'observation d'une synergie entre des antibiotiques de type C3G, céfépime et/ou aztréonam, et un inhibiteur de bêta-lactamase comme l'acide clavulanique. Ces tests peuvent être réalisés sur des milieux contenant de la cloxacilline afin d'inhiber une éventuelle AmpC associée et de « démasquer » la BLSE, le cas échéant (59). Une autre méthode utilisée est le test MAST (44), qui permet de distinguer la production de BLSE, d'AmpC ainsi que la co-production des deux mécanismes. Il repose sur l'utilisation de disques de cefpodoxime, seul (disque A) ou combiné à un inhibiteur de BLSE (disque B), d'AmpC (disque C) ou aux deux (disque D), pour détecter ces enzymes. Si la différence de diamètre d'inhibition entre les disques avec et sans inhibiteur est supérieure à 5 mm, le résultat est positif (Figure 10).



***Figure 10 : Principe du test MAST***

A : Co-production d'AmpC et de BLSE ; B : production d'AmpC  
C : production de BLSE ; D : Absence d'AmpC et de BLSE

D'autres techniques utilisent le principe d'inhibition par la cloxacilline ou l'acide boronique (bien que ce dernier inhibe également des bêta-lactamases de classe A) pour identifier spécifiquement les AmpC (30,58,60) :

- Le test des disques combinés (ou DPT pour Disc Potentiation Test), basé sur la comparaison du diamètre d'inhibition autour d'un disque imprégné d'une bêtalactamine labile d'une part, et autour d'un disque contenant le même antibiotique associé à une certaine concentration de cloxacilline d'autre part.
- Le test de synergie avec doubles disques (ou DDST pour Double Disc Synergy Test), à l'image de ceux utilisés pour les BLSE, permettant d'objectiver une synergie en cas de production d'AmpC entre un disque imprégné d'une C3G par exemple, et un disque contenant de l'acide boronique placé à une distance bien déterminée.
- Le test en gradient de concentration, représenté par les bandelettes E-Test (BioMérieux, Marcy l'Étoile, France) qui consiste à déposer une bandelette contenant deux gradients de concentration d'un substrat de céphalosporinase (comme la céfoxitine ou le céfotétan) sur chaque moitié, associé à une concentration constante en cloxacilline sur un des côté. La positivité du test repose sur une diminution de la CMI de la bêtalactamine de trois dilutions en présence d'inhibiteur, ou sur une déformation de l'ellipse d'inhibition.

Quels que soient les tests phénotypiques mis en œuvre, ceux-ci ne permettent pas de distinguer une hyperproduction de céphalosporinase chromosomique d'une céphalosporinase plasmidique. L'approche par biologie moléculaire est possible pour identifier les AmpC plasmidiques les plus courantes, mais son utilisation en pratique reste limitée à certains centres spécialisés ou à des activités de recherche (30). Plusieurs méthodes basées sur la PCR multiplex en temps réel ont été développées depuis 2002 (61) et permettent aujourd'hui de détecter et de différencier les différentes familles d'AmpC ainsi que leur origine (plasmidique ou chromosomique). Certaines PCR permettent aussi la détection simultanée de plusieurs types de bêta-lactamases (BLSE, pAmpC, carbapénémases)(44).

## **2.8 Impact clinique**

Dans sa version en vigueur en 2024, le CASFM (Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie) précise que pour les entérobactéries du groupe 3, l'utilisation des C3G expose au risque de sélection de mutants résistants. Ainsi, si une

de ces espèces est sensible in vitro à une C3G, il est recommandé de joindre au résultat de l'antibiogramme un commentaire expliquant que l'utilisation en monothérapie des C3G est déconseillée et qu'il faut privilégier l'utilisation du céfépime. De plus, en cas de souche hyperproductrice de céphalosporinase chromosomique ou plasmidique, il est désormais recommandé d'interpréter « résistant » tout résultat « sensible » ou « sensible à forte posologie » aux C3G ou à l'aztréonam (62).

Dans ses recommandations de 2022, l'IDSA (Infectious Diseases Society of America) sépare les entérobactéries du groupe 3 en deux sous-groupes. Les espèces des complexes *E. cloacae* et *C. freundii* ainsi que *K. aerogenes* sont individualisées du fait du risque élevé de surexpression de leur AmpC naturelle en cas d'exposition à une bêtalactamine inductrice. Il est donc suggéré d'éviter l'utilisation de C3G, même en cas de rendu « sensible » sur l'antibiogramme, pour traiter des infections causées par ces espèces, en dehors de cystites simples. Il en est de même pour ce qui concerne l'association pipéracilline/tazobactam. Il est recommandé d'opter pour le céfépime ou un antibiotique d'une autre famille (fluoroquinolones, aminosides, etc.). Les nouvelles bêtalactamines (céfidérol) ou nouvelles associations avec IBL (ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam) sont actives in vitro sur les AmpC mais à réserver au traitement des infections par entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC)(63).

Pour les autres espèces (*S. marcescens*, *M. morgani*, *Providencia* spp.), moins susceptibles de surexprimer leur AmpC, il est suggéré de choisir l'antibiothérapie en se basant sur la sensibilité rendue sur l'antibiogramme. Il est néanmoins recommandé de considérer plutôt le céfépime, quelle que soit la susceptibilité in vitro des C3G, pour le traitement d'endocardites (63).

Les recommandations européennes de l'ESCMID (European Society of Microbiology and Infectious Diseases) de 2022 préconisent l'utilisation des carbapénèmes pour traiter les infections sévères à entérobactéries résistantes aux C3G, et des associations pipéracilline/tazobactam ou amoxicilline/acide clavulanique en cas d'infections non graves. Ces recommandations tiennent compte de la part majoritaire de producteurs de BLSE parmi les souches d'entérobactéries C3G-R, et il est précisé que le céfépime présente une bonne activité en cas de production d'AmpC (64).

Les recommandations de la SPILF (Société de pathologie infectieuse de langue française) d'octobre 2023, qui s'appuient sur les référentiels précédents, confirment

que le céfépime peut être utilisé dans le cadre d'une désescalade après usage d'un carbapénème pour traiter les souches résistantes aux C3G par hyperproduction de céphalosporinase, sans BLSE associée (65).

### **3. Ceftobiprole**

#### **3.1 Historique**

L'émergence épidémique à l'hôpital de souches de *S. aureus* résistantes à la méticilline (SARM) dans les années 1990 en a fait des cibles principales de l'industrie pharmaceutique. C'est dans ce contexte que sont sortis les premiers articles décrivant une nouvelle bêtalactamine ayant une CMI inférieure à 4 µg/ml pour de telles souches (38). Le ceftobiprole, d'abord nommé Ro 63-9141 (66) ou BAL-9141 (67), est une céphalosporine à large spectre de cinquième génération, qui dispose notamment d'une affinité élevée pour la PLP2a, PLP modifiée impliquée dans la résistance aux bêtalactamines des SARM. Il a d'abord été approuvé et commercialisé dans plusieurs pays d'Europe dès 2014 sous le nom commercial de MABELIO™ ou ZEVTERA™. Il est alors indiqué dans le traitement des pneumonies communautaires et des pneumonies nosocomiales, à l'exception des pneumonies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) (68). En avril 2024, il est ensuite autorisé par la FDA (Food and Drug Administration) aux Etats-Unis pour le traitement des bactériémies documentées à *S. aureus* chez l'adulte, pour le traitement des infections aiguës de la peau et autres tissus mous chez l'adulte, ainsi que pour les pneumonies communautaires chez l'adulte et l'enfant (69).

En pratique courante, le ceftobiprole a également été utilisé en dehors des indications de son AMM, ou avant l'obtention de celle-ci aux Etats-Unis, dans des cas de bactériémies, d'infections de la peau et autres tissus mous, d'endocardites, et d'infections ostéoarticulaires, avec des résultats satisfaisants (70–72). En France, le ceftobiprole est notamment utilisé dans certains centres dans le cadre du protocole mecOS-2 (73). Ce protocole concerne la gestion des infections postopératoires chez les patients opérés avec du matériel implanté (comme des prothèses articulaires) qui sont alors mis sous traitement probabiliste par ceftobiprole. Les prélèvements per-opératoires sont soumis à la détection de résistance à la méticilline par biologie moléculaire. En cas de test négatif, le ceftobiprole est alors rapidement remplacé par l'association céfépime + clindamycine, en attendant les résultats des cultures. Si le test est positif, le traitement est remplacé par l'association céfépime + daptomycine.

L'objectif de ce protocole est de réduire la consommation des antibiotiques à couverture anti-Gram positif totale pour des questions de coût, de pression écologique (daptomycine) et de toxicité (vancomycine).

### 3.2 Propriétés pharmacocinétiques

Le ceftobiprole est une céphalosporine parentérale qui fait partie du groupe des pyrrolidinone-3-ylidenemethyl céphèmes (66). Il est commercialisé sous forme d'une prodrogue hydrosoluble, le ceftobiprole médocaril (Figure 11), qui une fois absorbée est rapidement clivée par des estérases plasmatiques de type A pour libérer le principe actif. Sa cinétique après infusion est linéaire et, à l'état d'équilibre, son volume de distribution est proche du volume du compartiment extracellulaire chez l'adulte (18 à 20 L) (74). Sa fixation aux protéines plasmatiques est relativement faible, autour de 16 %. Le ceftobiprole n'est ni inducteur, ni inhibiteur des cytochromes P450, et n'est également ni substrat, ni inhibiteur de la glycoprotéine P (75). Il est excrété majoritairement par voie rénale sous forme inchangée, avec une demi-vie d'élimination d'environ trois heures.

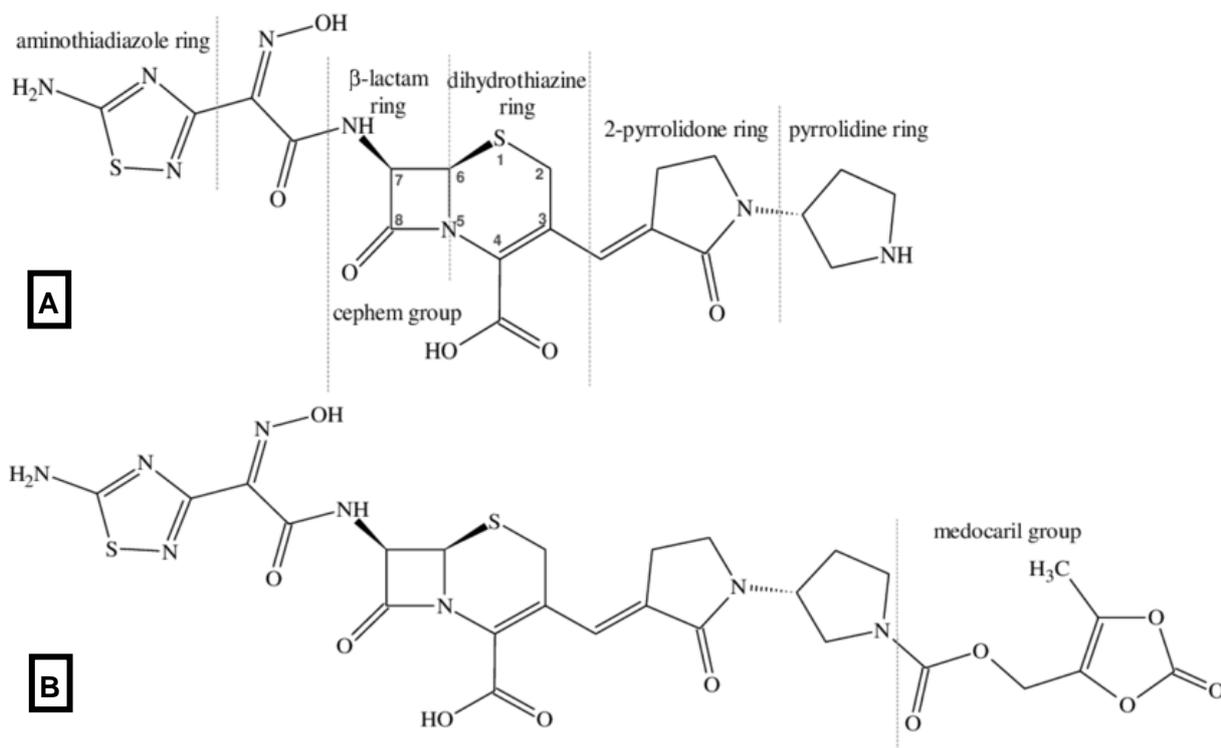


Figure 11 : Structures du ceftobiprole (A) et de sa prodrogue, le ceftobiprole-médocaril (B)

Comme toutes les bêtalactamines, le ceftobiprole exerce une activité bactéricide temps-dépendante, et son efficacité clinique est corrélée au pourcentage de temps

passé à une concentration supérieure à la CMI des germes ciblés (74). Il est usuellement administré à une posologie de 500 mg en infusion lente (2 heures) toutes les 8 heures, avec une adaptation recommandée à la fonction rénale (par réduction de la dose à 250 mg ou par espacement des infusions à toutes les 12 heures) en cas de débit de filtration glomérulaire (DFG) inférieur à 30 ml/min. Ces schémas d'administration ont montré une probabilité d'atteinte de la cible satisfaisante dans les simulations de Monte Carlo pour une action bactéricide dans des infections par des bactéries à Gram négatif et Gram positif sensibles (74,76).

### **3.3 Pharmacodynamie et spectre antibiotique**

Comme les autres bêtalactamines, le ceftobiprole agit en se fixant de manière covalente aux PLP, qui sont impliquées dans l'étape terminale de la formation du peptidoglycane des bactéries (38). À l'instar des autres molécules antibactériennes, le spectre antibiotique du ceftobiprole est déterminé d'une part par son affinité pour les différentes PLP, et d'autre part par sa stabilité aux différentes classes de bêta-lactamases.

L'une des principales caractéristique du ceftobiprole est son affinité pour les PLP des principales bactéries à Gram positif impliquées en pathologie humaine, y compris celles qui sont habituellement de sensibilité diminuée aux bêtalactamines. Ainsi son activité anti-staphylococcique s'étend même aux SARM et autres staphylocoques résistants à la méticilline grâce à sa capacité à inhiber la PLP2a de ces isolats, déterminant majeur de la résistance à la méticilline, en plus des PLP sauvages (77).

Le ceftobiprole possède également une excellente activité sur *Streptococcus pneumoniae*, ayant une affinité importante pour les PLP essentielles que sont les PLP1a, PLP2x et PLP1b chez cette espèce. Cette activité est conservée chez des souches présentant des modifications des PLP résistantes à la pénicilline, voire à la ceftriaxone (77,78), bien que des augmentations de la CMI soient décrites avec l'augmentation du nombre de modifications des PLP.

Le ceftobiprole se montre également actif in vitro sur les autres streptocoques (streptocoques  $\alpha$ -hémolytiques et  $\beta$ -hémolytiques) ainsi que sur *Enterococcus faecalis*, une propriété qui l'individualise au sein des céphalosporines, avec une activité comparable à celle de l'ampicilline. Néanmoins, tout comme cette dernière, le ceftobiprole ne présente pas d'affinité pour la PLP5 de *E. faecium* (66).

Ainsi, pour les bactéries à Gram positif, dont le principal mécanisme de résistance aux bêtalactamines repose sur la modification de leurs cibles, le ceftobiprole se distingue par son excellente affinité, y compris envers les PLP modifiées. Cette caractéristique confère au ceftobiprole une efficacité remarquable contre les principales espèces impliquées en pathologie humaine, y compris les souches résistantes à la méticilline. Notamment, plus de 99 % des isolats de SARM testés dans diverses études se sont révélés sensibles au ceftobiprole, avec une CMI<sub>90</sub> moyenne de 2 mg/L (79–84), correspondant au seuil critique établi par l'EUCAST pour cette espèce.

Une autre particularité du ceftobiprole réside dans l'extension de son spectre d'activité à de nombreuses bactéries à Gram négatif. Il possède notamment une bonne affinité pour les PLP essentielles des *Enterobacterales* (PLP1a et PLP1b, PLP2 et PLP3) et possède une activité comparable aux C3G sur les souches sauvages (66,77,85).

Le ceftobiprole présente une activité comparable à celle du céfépime contre *P. aeruginosa*, avec une bonne efficacité sur les souches sensibles à la ceftazidime, mais diminuée en cas de résistance à cette dernière (66). Par ailleurs, le ceftobiprole est également actif sur *H. influenzae*, *M. catarrhalis*, *N. gonorrhoeae* et *N. meningitidis*.

Le principal facteur déterminant de l'activité du ceftobiprole contre les bactéries à Gram négatif est sa résistance à l'hydrolyse par différentes classes de bêta-lactamases. Le ceftobiprole est stable vis-à-vis de certaines bêta-lactamases de classe A, telles que TEM-1 ou SHV-1 (86). En revanche, il est hydrolysé par les BLSE de cette classe, notamment par les souches épidémiques CTX-M-15 ou en cas de surexpression de la pénicillinase K1 de *K. oxytoca* (phénotype hyperOXY). La céfuroximase de *P. vulgaris* et celles des autres entérobactéries du groupe 5 hydrolysent également le ceftobiprole (66). Il est aussi sensible aux bêta-lactamases de classe B (métallo-bêta-lactamases) et de classe D (oxacillinases) (86).

En ce qui concerne les céphalosporinases, le ceftobiprole montre une stabilité à l'hydrolyse comparable à celle du céfépime envers les AmpC chromosomiques des entérobactéries de groupe 3 et de *P. aeruginosa* (86). Une étude a montré une diminution de l'activité du ceftobiprole en cas de dérégulation de la céphalosporinase des entérobactéries du groupe 3 (87). Cette diminution était plus marquée que pour le céfépime en termes de CMI<sub>50</sub> et CMI<sub>90</sub> obtenues pour les différentes souches, même si l'activité du ceftobiprole restait néanmoins supérieure à celle des autres céphalosporines. À l'instar du céfépime, il a été montré qu'en plus de sa relative

stabilité aux AmpC, le ceftobiprole a un faible pouvoir d'induction sur les céphalosporinases chromosomiques (87), ainsi qu'une structure zwitterionique (88) qui lui confère également une bonne capacité à pénétrer dans le périplasme de ses cibles pour y exercer son activité bactéricide (86).

Une étude menée sur des souches de *P. aeruginosa* a révélé que le ceftobiprole maintenait une meilleure activité que le céfépime et la ceftazidime contre des mutants surexprimant leur AmpC chromosomique (89). De plus, cette même étude a montré que, contrairement aux deux autres céphalosporines, les souches exposées au ceftobiprole ne réagissaient pas en surexprimant leur céphalosporinase, mais en augmentant la transcription de l'opéron mexXY, entraînant ainsi la surexpression de ce système d'efflux actif. Cela renforce, au moins chez cette espèce, la notion de faible pouvoir d'induction du ceftobiprole sur les céphalosporinases chromosomiques.

#### **4. Rationnel et objectifs de l'étude**

Le ceftobiprole semble posséder des caractéristiques similaires à celles qui font du céfépime une option thérapeutique de choix contre les entérobactéries produisant une céphalosporinase : un faible pouvoir d'induction et une bonne résistance à l'hydrolyse, associés à une pénétration rapide à travers la membrane externe. En s'intéressant à la sensibilité des entérobactéries productrices de céphalosporinase au ceftobiprole, nous avons cherché à évaluer l'impact éventuel du niveau d'expression de la céphalosporinase sur la sensibilité au ceftobiprole. Nous avons également voulu vérifier la corrélation entre deux méthodes de détermination de la sensibilité au ceftobiprole : la diffusion en milieu gélosé en disques et la détermination de la CMI en milieu gélosé par bandelettes à gradient de concentration.

## II. MATÉRIELS ET MÉTHODES

### 1. Souches bactériennes

Les souches bactériennes sélectionnées pour cette étude ont été initialement identifiées par extraction informatique, en fonction de plusieurs critères. Les isolats retenus devaient (i) être présents dans la collection de souches du laboratoire et (ii) présenter un phénotype compatible avec la production d'une céphalosporinase, caractérisé par une résistance à l'ampicilline et à la céfalexine sur l'antibiogramme. Cette extraction a été effectuée le 29 mai 2024 à la suite de l'avis favorable de la CERC (Commission Ethique de la Recherche Clinique) du Centre Hospitalier de Valenciennes, qui vérifie également l'éthique et la méthodologie de l'étude. Elle incluait les isolats collectés depuis le 1er mars 2021, date de mise en place du système d'information de laboratoire (SIL) actuel au Centre Hospitalier de Valenciennes. Les données extraites concernaient l'identification des souches, la date et le type de prélèvement, les résultats de l'antibiogramme (uniquement les valeurs brutes : « sensible », « sensible à forte posologie » ou « résistant »), ainsi que les résultats d'éventuels tests complémentaires effectués sur les souches (recherche de BLSE, de carbapénémase, etc.).

Les souches sélectionnées ont ensuite été filtrées pour ne garder que les *Enterobacterales* et exclure les isolats provenant d'unités fonctionnelles non cliniques. Les isolats préalablement identifiés comme producteurs de BLSE ou de carbapénémase ont également été exclus. Ces phénotypes sont recherchés en routine en fonction de l'antibiogramme et identifiés respectivement par recherche de synergie sur milieu gélosé de Mueller Hinton (MH) enrichi de cloxacilline (250mg/L, Oxoid, Thermo Fisher Scientific, Illkirch, France) et par test immunochromatographique (NG-Test® CARBA-5, NG Biotech, Guipry, France).

En cas de doublons, une seule combinaison patient/espèce bactérienne avec le même antibiotype était conservée, conformément aux recommandations de l'Observatoire national de l'épidémiologie de la résistance bactérienne aux antibiotiques (ONERBA). Les souches d'une même espèce présentant un phénotype différent mais isolées d'un même patient étaient identifiées, afin d'étudier précisément l'impact de la surexpression éventuelle de la céphalosporinase. Les isolats étaient ensuite anonymisés.

Les souches retenues ont ensuite été classées selon leur identification et leur phénotype de résistance aux bêta-lactamines. Les souches appartenant au groupe 5 étaient exclues. Les souches de phénotype C3G-S, ne présentant aucune résistance aux C3G (céfotaxime, ceftriaxone et ceftazidime) ni au céfépime, ont été exclues si elles appartenaient aux groupes 0, 1 ou 2. Celles du groupe 3 étaient étiquetées comme sauvages.

La résistance à la ceftazidime a été utilisée comme indicateur de la surexpression d'une céphalosporinase (pour les espèces possédant une AmpC chromosomique) et/ou de la présence d'une céphalosporinase plasmidique (notamment pour les espèces ne possédant pas d'AmpC chromosomique). Ces souches ont été classées dans le phénotype C3G-R. Dans le cadre de ce travail, les souches interprétées comme sensibles à forte posologie (SFP) à la ceftazidime ont également été classées dans le phénotype C3G-R. En effet, bien qu'elles ne présentent pas de résistance au sens d'échec thérapeutique, la catégorisation SFP suggère une surexpression possible de la céphalosporinase naturelle chez les espèces des groupes 1 et 3, ainsi que la possible présence d'une céphalosporinase acquise chez les espèces des autres groupes.

Les souches présentant un phénotype fortement évocateur de l'hyperproduction d'une pénicillinase chromosomique (tel que le phénotype hyperOXY pour *K. oxytoca*) étaient exclues.

## **2. Vérifications des souches**

Les souches retenues ont été repiquées à partir des géloses de conservation en tube (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) sur milieu gélosé enrichi au sang de mouton (Oxoid, Thermo Fisher Scientific, Illkirch, France). L'identification de chaque souche a été contrôlée par MALDI-TOF (Sirius, Bruker Daltonique). Les souches ne donnant pas de subculture après repiquage ou dont l'identification ne correspondait pas à celle attendue étaient exclues.

## **3. Détermination de la sensibilité au ceftobiprole**

A partir de chaque repiquage, une suspension titrée à 0,5 McF était réalisée en suspension saline suivant les recommandations de l'EUCAST (version 14.0). Celle-ci était ensemencée sur gélose de Mueller-Hinton (Oxoid, Thermo Fisher Scientific,

Illkirch, France), amenée à température ambiante, à l'aide d'un écouvillon sec préalablement trempé dans la suspension titrée à 0,5 McF.

Une première gélose MH a été ensemencée avec dépôt d'un disque de ceftazidime 10µg et de céfépime 30µg de part et d'autre d'un disque d'amoxicilline-acide clavulanique 20-10µg (Oxoid, Thermo Fisher Scientific, Illkirch, France) afin, d'une part, de contrôler que la souche repiquée correspondait bien à la souche d'intérêt sélectionnée informatiquement, et d'autre part, de vérifier l'absence de synergie évocatrice d'une production de BLSE ou d'une surexpression de pénicillinase chromosomique.

Un disque de ceftobiprole 5µg et une bandelette à gradient de concentration en ceftobiprole (Liofilchem, Roseto delli Abruzzi, Italie) ont été déposés sur une seconde gélose MH, après avoir été préalablement amenés à température ambiante.

Après une incubation à  $35 \pm 2^\circ\text{C}$  en aérobiose pendant  $20 \pm 4$  h, les diamètres d'inhibition ont été mesurés à l'aide du lecteur d'antibiogramme semi-automatisé Adagio (Bio-Rad, Marne-la-Coquette, France). La CMI par ellipsométrie a été relevée à l'intersection entre l'ellipse et la bandelette, en relevant d'une part la valeur « brute », puis en rapportant la valeur de CMI supérieure la plus proche si besoin pour comparaison ultérieure avec la méthode de référence en micro-dilution. Une double lecture a été systématiquement effectuée, et en cas de discordance, une lecture supplémentaire a été réalisée par un troisième intervenant. Les résultats ont été interprétés selon les recommandations de l'EUCAST (version 14.0) présentées dans le Tableau 4.

Tableau 4 : Critères d'interprétation des tests de sensibilité au ceftobiprole pour les entérobactéries selon les critères EUCAST (version 14.0)

Céphalosporine	Concentrations critiques (mg/L)			Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		
	S ≤	R >	ZIT		S ≥	R <	ZIT
Ceftobiprole	0.25	0.25		5	23	23	

### III. RÉSULTATS

Au total, 785 souches bactériennes ont été obtenues après l'extraction informatique. Parmi ces souches, 382 ont été retenues pour l'étude après application des critères d'exclusion et identification des doublons (Figure 12). Parmi les 382 souches, 303 ont finalement été retenues après les différentes étapes de vérification : exclusion des isolats non retrouvés en souchothèque, des souches ne donnant pas de subculture après repiquage, et des identifications discordantes avec celles attendues. De plus, certaines souches productrices de BLSE ou hyperproductrices d'une pénicillinase chromosomique ont été identifiées par l'observation de synergies entre les disques de ceftazidime et/ou de céfépime et celui d'amoxicilline-acide clavulanique sur la gélose MH de contrôle, et ont également été exclues.

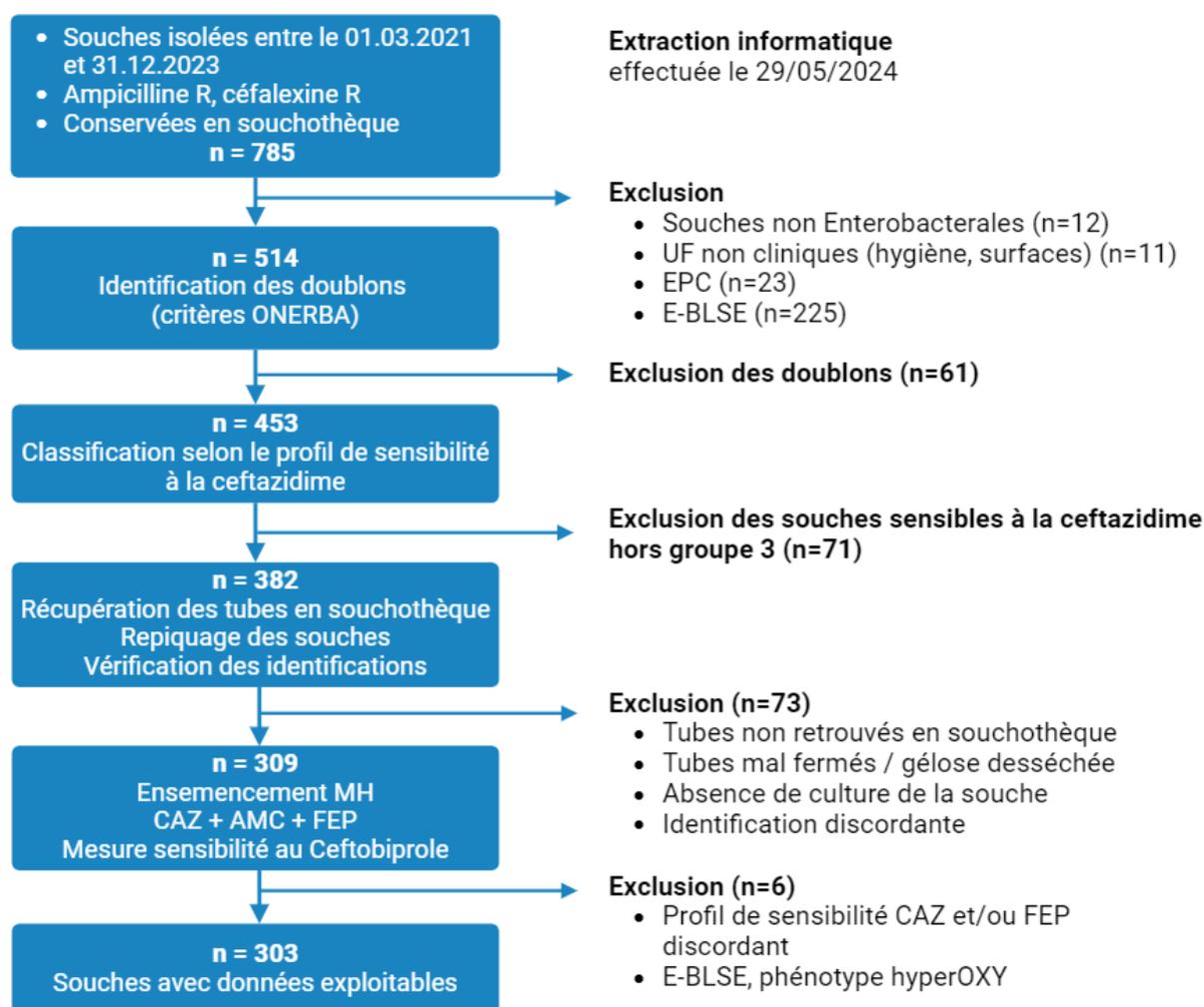


Figure 12 : Processus d'inclusion et critères d'exclusion des souches obtenues après extraction informatique

CAZ : ceftazidime ; AMC : amoxicilline/acide clavulanique ; FEP : céfépime

## 1. Répartition des souches bactériennes

La distribution des souches d'entérobactéries de groupe 3 retenues et leur phénotype de résistance à la ceftazidime est détaillée sur la Figure 13. Les espèces les plus représentées étaient *E. cloacae* complex (n = 122 ; 40,3 %), suivie de *S. marcescens* (n = 42 ; 13,9 %), *M. morganii* (n = 42 ; 13,9 %) et *K. aerogenes* (n = 35 ; 11,5 %). Bien que la majorité des isolats de ces espèces aient un phénotype sauvage envers les bêtalactamines, on relève toutefois un taux de résistance à la ceftazidime plus élevé chez *K. aerogenes* (17/35, 48,6 %), *E. cloacae* complex (35/122, 28,7 %) et *C. freundii* complex (8/24, 33,3 %) par rapport à *M. morganii* (8/42, 19%) et *S. marcescens* (1/42, 2,4 %). La totalité des souches de *Providencia* spp. (n = 4) et de *S. liquefasciens* (n = 2) incluses étaient de phénotype sauvage.

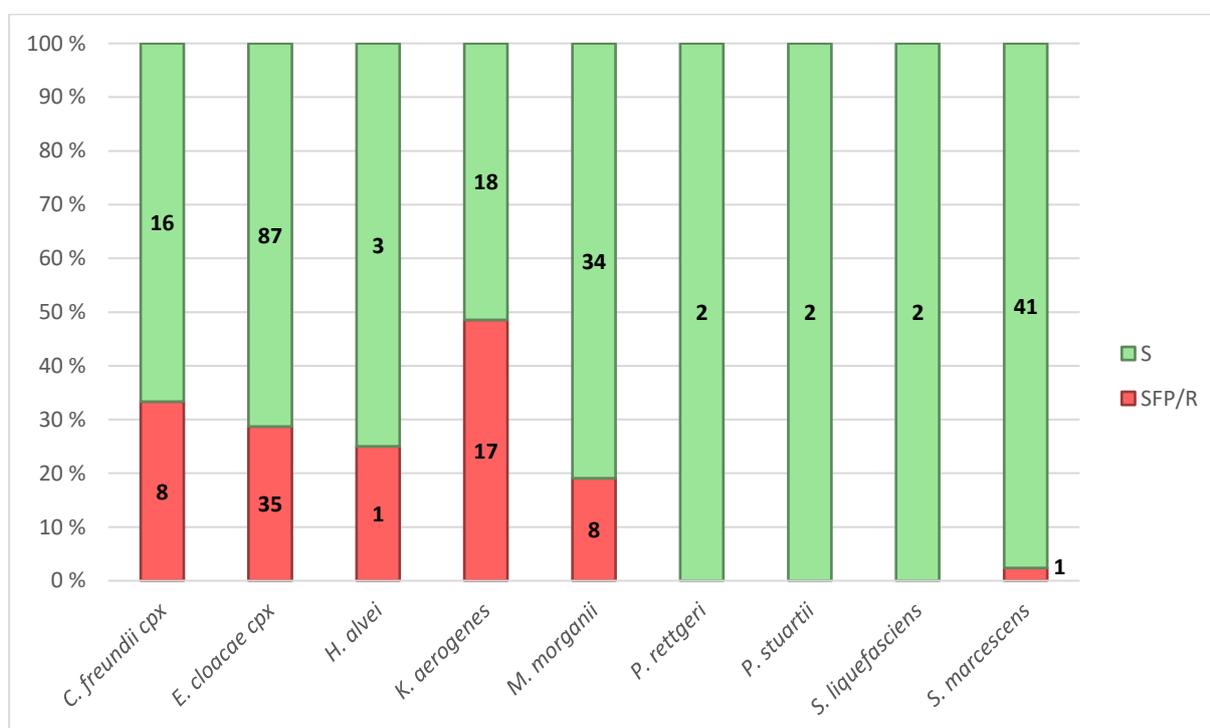


Figure 13 : Répartition des souches d'entérobactéries du groupe 3 incluses et leur sensibilité à la ceftazidime

Pour *E. coli*, seule espèce représentante du groupe 1, 17 souches présentaient un phénotype compatible avec l'hyperproduction de la céphalosporinase naturelle ou la présence d'une AmpC plasmidique. Deux de ces souches, sensibles à la céfoxitine, étaient plutôt évocatrices d'une AmpC plasmidique de type ACC. Concernant les autres groupes d'entérobactéries, une seule souche de *P. mirabilis* répondait aux

critères permettant de suspecter une céphalosporinase acquise, ainsi que 8 souches de *K. pneumoniae* et 2 souches de *K. oxytoca* (Figure 14).

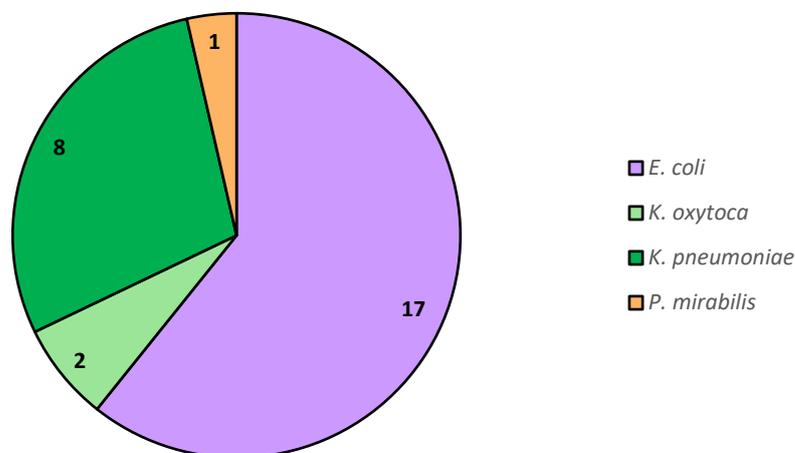


Figure 14 : Répartition des souches d'entérobactéries non-groupe 3 incluses

Compte tenu du critère de sélection qu'était la présence de la souche dans la collection du laboratoire, la majorité des isolats cliniques provenaient d'hémocultures. Les autres types de prélèvements étaient des liquides d'ascite (8 isolats), des liquides articulaires (2 isolats) et des urines (2 isolats).

## 2. Étude de la sensibilité au ceftobiprole

### 2.1 Par diffusion en milieu gélosé en disques

Disposant d'un nombre limité de disques de ceftobiprole, seules 245 souches, déterminées aléatoirement, ont pu être testées. Parmi ces souches, 209 (85,3 %) étaient catégorisées comme sensibles au ceftobiprole (diamètre d'inhibition supérieur ou égal à 23mm), contre 36 (14,7 %) résistantes.

### 2.2 CMI en milieu gélosé en bandelettes

Sur les 303 souches étudiées, 257 (84,8 %) étaient catégorisées sensibles au ceftobiprole (CMI inférieure ou égale à 0,25 mg/L), contre 46 (15,2 %) résistantes (Tableau 5). Toutes espèces confondues, les valeurs de CMI étaient comprises entre 0,008 et 32 mg/L, avec une CMI<sub>50</sub> de 0,125 mg/L et une CMI<sub>90</sub> de 1 mg/L (Tableau 7).

Tableau 5 : Distribution des CMI au ceftobiprole en fonction de l'espèce bactérienne

Espèces	CMI Ceftobiprole (mg/L)													Isolats
	0.008	0.016	0.03	0.06	0.125	0.25	0.5	1	2	4	8	16	32	
<i>C. freundii</i> cpx				15	2	1		3	2	1				24
<i>E. cloacae</i> cpx				51	33	8	3	4	7	10	4	1	1	122
<i>E. coli</i>				12	3	1			1					17
<i>H. alvei</i>					2					2				4
<i>K. aerogenes</i>			2	19	9	4	1							35
<i>K. oxytoca</i>					2									2
<i>K. pneumoniae</i>				4	2	2								8
<i>M. morgani</i>			3	26	12	1								42
<i>P. mirabilis</i>				1										1
<i>P. rettgeri</i>	1	1												2
<i>P. stuartii</i>		2												2
<i>S. liquefaciens</i>				1	1									2
<i>S. marcescens</i>				8	17	11	5			1				42
<b>Total</b>	<b>1</b>	<b>3</b>	<b>5</b>	<b>136</b>	<b>83</b>	<b>28</b>	<b>10</b>	<b>7</b>	<b>10</b>	<b>14</b>	<b>4</b>	<b>1</b>	<b>1</b>	<b>303</b>

<sup>1</sup> Le complexe *C. freundii* inclut les espèces *C. freundii* et *C. braakii*

<sup>2</sup> Le complexe *E. cloacae* inclut les espèces *E. cloacae*, *E. hormaechei*, *E. ludwigii* et *E. kobei*

En ce qui concerne les entérobactéries sensibles à la ceftazidime, représentées dans notre étude par 205 souches d'entérobactéries de groupe 3, la CMI<sub>50</sub> était de 0,06 mg/L et la CMI<sub>90</sub> de 0,25 mg/L. Les valeurs de CMI étaient comprises entre 0,008 et 4 mg/L. Pour les souches résistantes à la ceftazidime, les valeurs de CMI étaient comprises entre 0,06 et 32 mg/L avec une CMI<sub>50</sub> de 0,25 mg/L, et une CMI<sub>90</sub> de 4 mg/L.

Tableau 6 : CMI<sub>50</sub>, CMI<sub>90</sub> et pourcentage de sensibilité au ceftobiprole, toutes espèces confondues, en fonction du profil de sensibilité à la ceftazidime et au céfépime

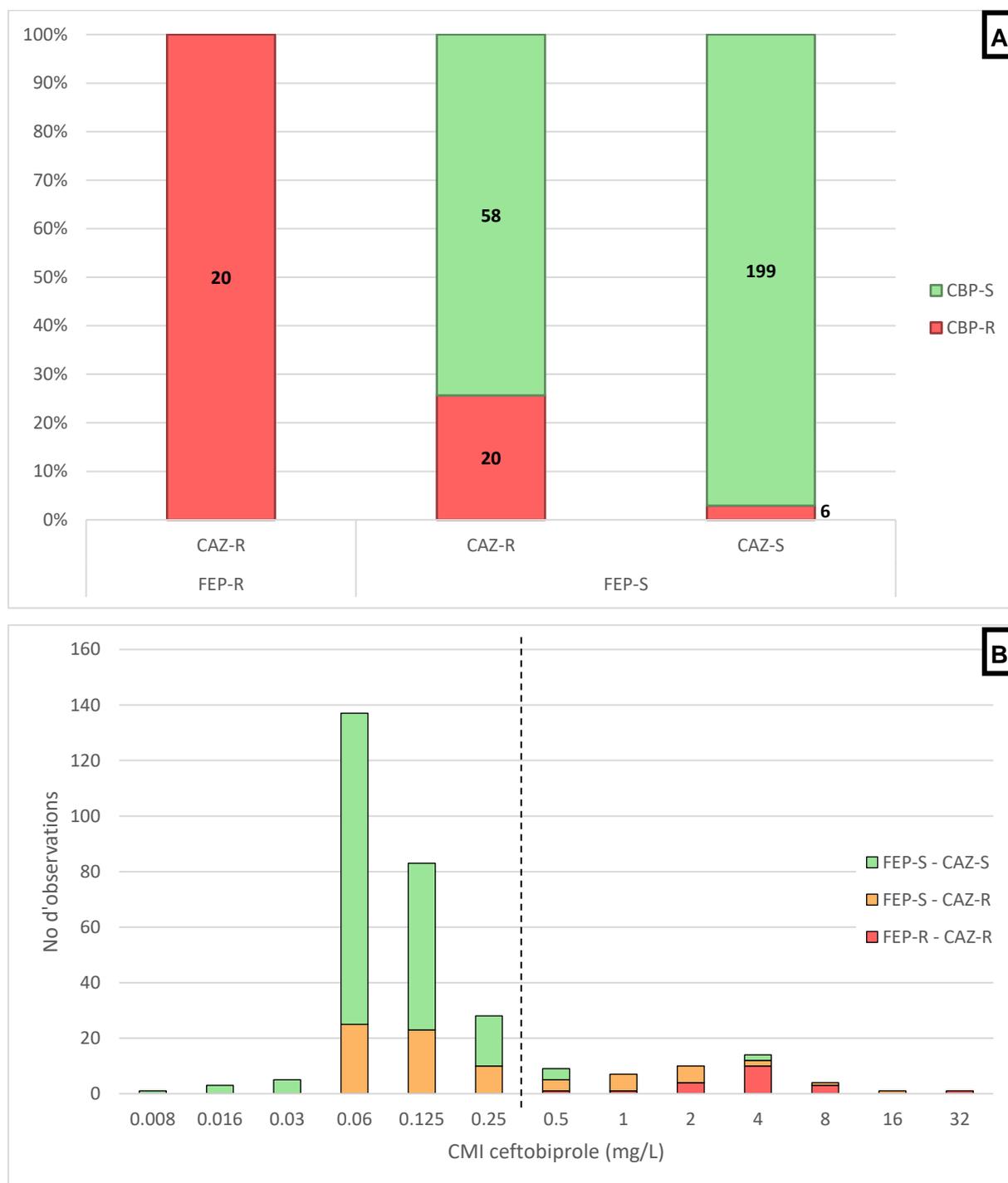
Phénotype	No d'isolats	CMI <sub>50</sub> (mg/L)	CMI <sub>90</sub> (mg/L)	Intervalle CMI (mg/L)	% Sensibilité
CAZ-S	205	0.06	0.25	0.008 - 4	97.1 %
CAZ-R	98	0.25	4	0.06 - 32	59.2 %
FEP-S	283	0.06	0.25	0.008 - 16	90.8 %
FEP-R	20	4	8	0.5 - 32	0 %

CAZ : ceftazidime ; FEP : céfépime

S : sensible ; R : résistant ou sensible à forte posologie

Aucune des souches résistantes au céfépime (n = 20) n'était sensible au ceftobiprole (CMI<sub>50</sub> = 4 mg/L ; CMI<sub>90</sub> = 8 mg/L ; intervalle 0,5 – 32 mg/L). En revanche, parmi les souches sensibles au céfépime, la CMI médiane était de 0,06 mg/L et la CMI<sub>90</sub> de 0,25 mg/L. Les valeurs de CMI étaient comprises entre 0,008 et

16 mg/L. Parmi ces souches sensibles au céfépime, le taux de résistance au ceftobiprole était de 2,9 % (6/205) pour les souches également sensibles à la ceftazidime, et de 25,6 % (20/78) pour les souches résistantes, toutes espèces confondues (Figure 15). La résistance au ceftobiprole des souches sensibles à la ceftazidime concernait 5 isolats de *S. marcescens* ainsi qu'un isolat de *H. alvei*.



**Figure 15: Sensibilité au ceftobiprole (A) et répartition des CMI (B) des Enterobacterales en fonction de leur sensibilité à la ceftazidime et au céfépime**

CAZ : ceftazidime ; CBP : ceftobiprole ; FEP : céfépime  
S : sensible ; R : résistant ou sensible à forte posologie (SFP)

Pour chaque espèce d'entérobactérie, la CMI50 du ceftobiprole était inférieure à la concentration critique sauf pour *H. alvei* (4 isolats, CMI50 de 2 mg/L) (Tableau 7). Toutes les espèces des groupes 0, 1 et 2 étaient sensibles au ceftobiprole à l'exception d'une souche de *E. coli* qui présentait une CMI de 2 mg/L. Il s'agissait également de la seule souche d'entérobactérie hors groupe 3 qui n'était pas rendue « sensible » au céfépime mais « sensible à forte posologie » (SFP).

Tableau 7 : CMI50, CMI90 et pourcentage de sensibilité au ceftobiprole en fonction des phénotypes intra-espèces

Espèces	No d'isolats	CMI50 (mg/L)	CMI90 (mg/L)	Intervalle CMI (mg/L)	% Sensibilité
<i>P. mirabilis</i>	1	0.06	0.06	0.06 - 0.06	100 %
<i>E. coli</i>	17	0.06	0.25	0.06 - 2	94.1 %
<i>K. pneumoniae</i>	8	0.125	0.25	0.06 - 0.25	100 %
<i>K. oxytoca</i>	2	0.125	0.125	0.125 - 0.125	100 %
<i>C. freundii</i> cpx <sup>1</sup>	24	0.06	2	0.06 - 4	75.0 %
CAZ-S	16	0.06	0.060	0.06 - 0.125	100 %
CAZ-R	8	1	2	0.125 - 4	25.0 %
<i>E. cloacae</i> cpx <sup>2</sup>	122	0.125	4	0.06 - 32	74.6 %
CAZ-S	87	0.06	0.125	0.06 - 0.25	100 %
CAZ-R	35	2	8	0.125 - 32	14.3 %
<i>K. aerogenes</i>	35	0.06	0.25	0.03 - 0.5	97.1 %
CAZ-S	18	0.06	0.125	0.03 - 0.125	100 %
CAZ-R	17	0.125	0.25	0.06 - 0.5	94.1 %
<i>M. morgani</i>	42	0.06	0.125	0.03 - 0.25	100 %
CAZ-S	34	0.06	0.125	0.03 - 0.25	100 %
CAZ-R	8	0.125	0.125	0.06 - 0.125	100 %
<i>S. marcescens</i>	42	0.125	0.5	0.06 - 4	85.7 %
CAZ-S	41	0.125	0.5	0.06 - 4	87.8 %
CAZ-R	1	0.5	0.5	0.5 - 0.5	0 %
<i>S. liquefasciens</i>	2	0.125	0.125	0.06 - 0.125	100 %
<i>H. alvei</i>	4	2	4	0.125 - 4	50.0 %
CAZ-S	3	0.125	4	0.125 - 4	66.7 %
CAZ-R	1	4	4	0.125 - 4	0 %
<i>Providencia</i> spp. <sup>3</sup>	4	0.016	0.016	0.008 - 0.016	100 %
<b>Enterobacterales</b>	<b>303</b>	<b>0.125</b>	<b>1</b>	<b>0.008 - 32</b>	<b>84.8 %</b>

CAZ : ceftazidime ; S : sensible ; R : résistant ou sensible à forte posologie

<sup>1</sup> Le complexe *C. freundii* inclut les espèces *C. freundii* et *C. braakii*

<sup>2</sup> Le complexe *E. cloacae* inclut les espèces *E. cloacae*, *E. hormaechei*, *E. ludwigii* et *E. kobei*

<sup>3</sup> Rassemble les espèces *P. stuartii* et *P. rettgeri*

En ce qui concerne les entérobactéries de groupe 3 sensibles à la ceftazidime, la totalité des souches des espèces *E. cloacae* complex, *C. freundii* complex, *K. aerogenes*, *M. morgani*, *S. liquefasciens* et *Providencia* spp. étaient sensibles au

ceftobiprole (CMI comprises entre 0,03 et 0,25 mg/L). Pour les autres espèces, *S. marcescens* et *H. alvei*, on notait la présence de souches résistantes au ceftobiprole même en l'absence de résistance à la ceftazidime, avec une CMI90 supérieure à la concentration critique (respectivement 0,5 et 4 mg/L). Les 4 espèces du genre *Providencia* présentaient les CMI les plus faibles, comprises entre 0,008 et 0,016 mg/L.

Pour les souches du groupe 3 résistantes à la ceftazidime, la CMI50 du ceftobiprole était systématiquement augmentée par rapport aux souches sensibles, avec une valeur supérieure à la concentration critique pour les espèces *C. freundii* complex, *E. cloacae* complex, *S. marcescens* (1 seul isolat) et *H. alvei* (1 seul isolat). Seules les espèces *K. aerogenes* et *M. morgani* présentaient une CMI90 inférieure ou égale à cette concentration critique (0,25 et 0,125 mg/L respectivement).

Parmi les souches étudiées, trois paires de souches d'entérobactéries du groupe 3, isolées à partir d'hémocultures de trois patients différents à quelques jours d'intervalle, ont été identifiées. L'évolution de leur profil de sensibilité aux bêta-lactamines suggérait une surexpression de la céphalosporinase chromosomique. Le détail de ces souches est résumé dans le Tableau 8.

Tableau 8 : Profil de sensibilité aux bêta-lactamines de trois paires de souches dont le phénotype était évocateur d'une surexpression de la céphalosporinase

Espèce	Isolement	Antibiogramme							Ceftobiprole		
		TZP	CTX	CAZ	FEP	ATM	ETP	IMI	DZI <sup>1</sup> (mm)	CMI (mg/L)	Rendu
<i>K. aerogenes</i>	J0	S	S	S	S	S	S	S	29	0.06	S
<i>K. aerogenes</i>	J1	S	R	R	S	SFP	S	S	29	0.06	S
<i>E. cloacae</i> complex	J0	S	S	S	S	S	S	S	29	0.06	S
<i>E. cloacae</i> complex	J37	S	R	R	S	SFP	R	S	n/a	1	R
<i>E. cloacae</i> complex	J0	S	S	S	S	S	S	S	24	0.06	S
<i>E. cloacae</i> complex	J13	SFP	R	R	S	SFP	SFP	S	16	0.5	R

TZP : pipéracilline/tazobactam ; CTX : céfotaxime ; CAZ : ceftazidime ; ATM : aztréonam ; ETP : ertapénème ; IMI : imipénème ; n/a : non mesuré

<sup>1</sup> Diamètre de la zone d'inhibition

Dans un cas qui concernait deux souches de *K. aerogenes* isolées à un jour d'intervalle, il n'y avait aucune différence concernant la sensibilité au ceftobiprole, les deux souches présentant un diamètre d'inhibition de 29 mm et une CMI de 0,06 mg/L.

La sensibilité diminuée à la ceftazidime de la seconde souche était vérifiée sur la boîte MH de contrôle.

Les deux autres cas concernaient des souches de *E. cloacae* isolées à 13 et 37 jours d'intervalle respectivement. Dans les deux cas, le premier isolat était de phénotype sauvage et sensible au ceftobiprole (CMI de 0,06 mg/L), tandis que le second isolat, résistant aux C3G, était également résistant au ceftobiprole (CMI de 0,5 et 1 mg/L respectivement). Les photos des deux isolats d'un de ces cas sont présentées en Figure 16. L'ensemble de ces isolats, y compris les phénotypes d'hyperproduction de céphalosporinase, étaient sensibles au céfépime.

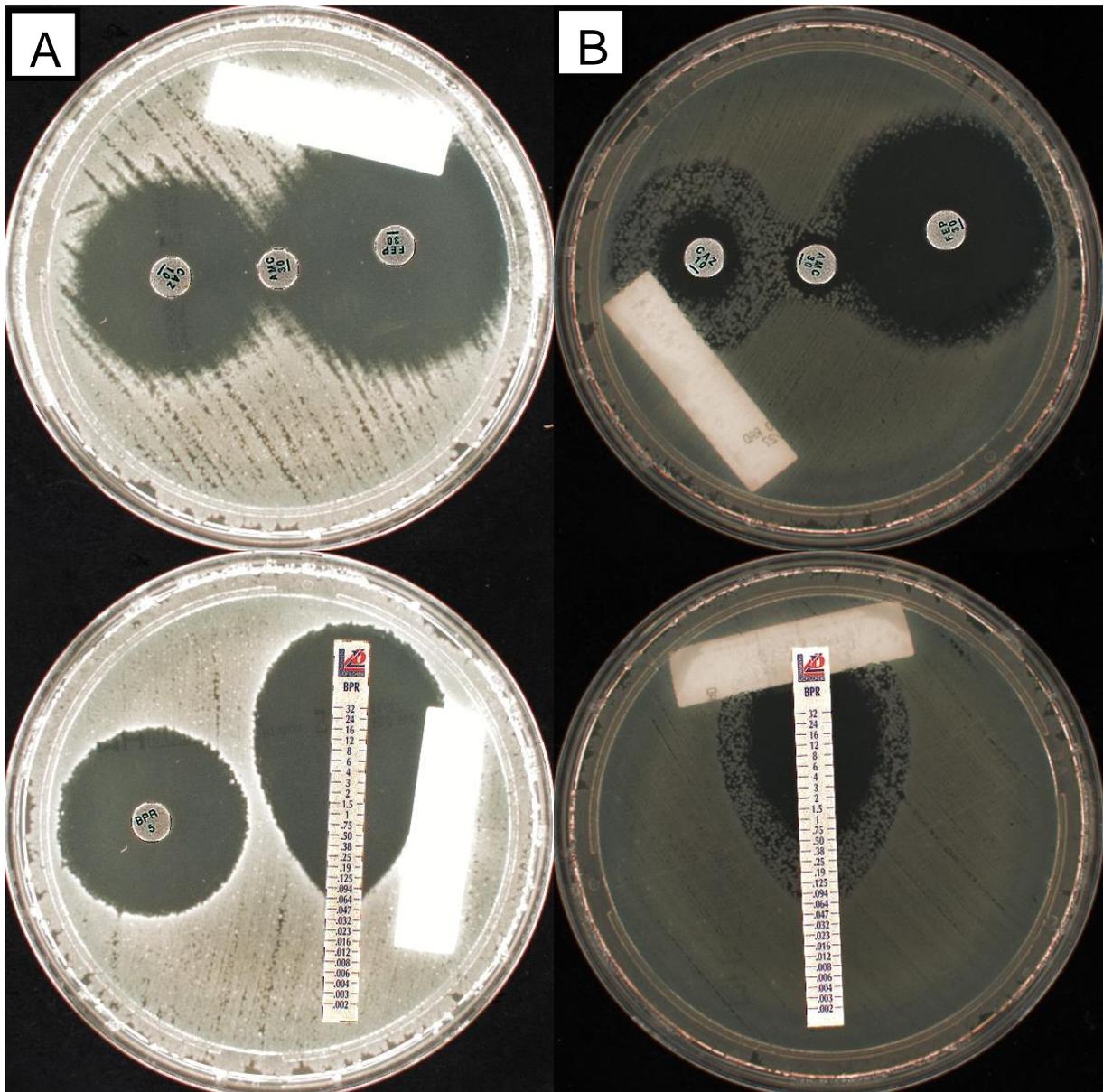
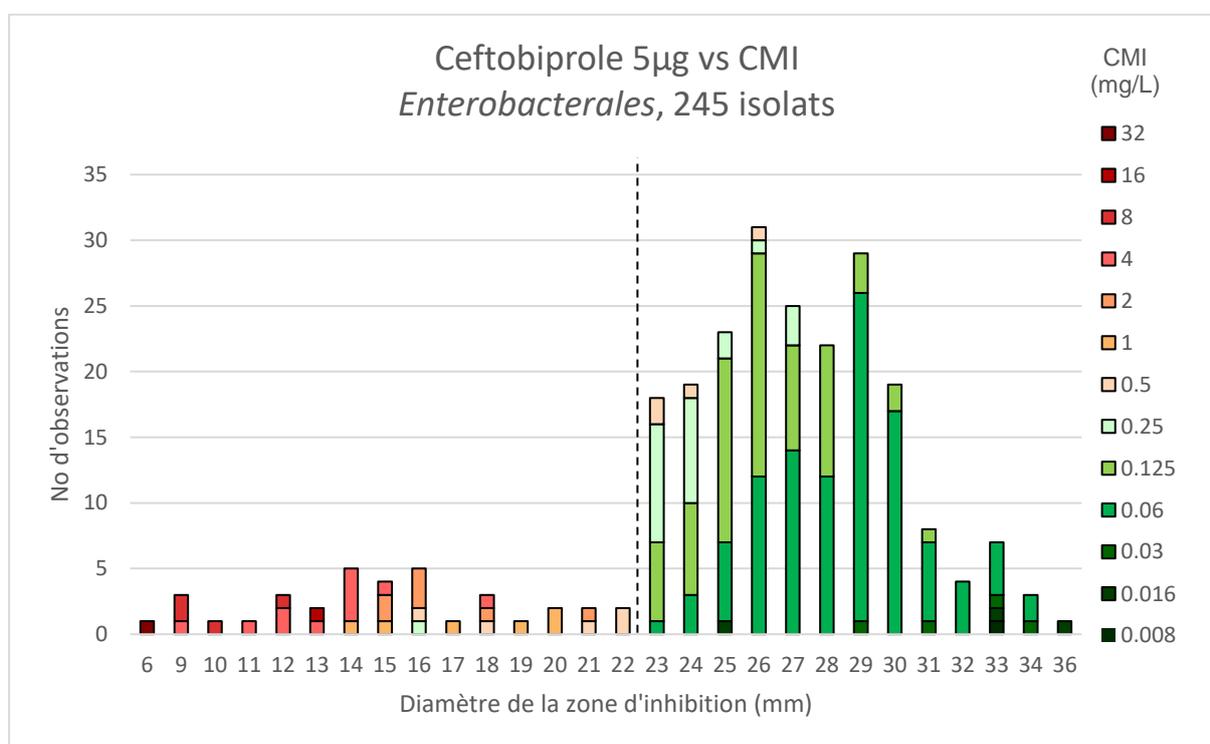


Figure 16 : Comparaison des profils de sensibilité à la ceftazidime, au céfépime et au ceftobiprole de deux souches du complexe *E. cloacae* isolées d'hémocultures d'un même patient à J0 (A) et J37 (B)

### 2.3 Concordance entre les méthodes

La Figure 17 montre la corrélation entre les valeurs de CMI du ceftobiprole et le diamètre de la zone d'inhibition obtenus, pour les 245 souches qui ont été testées par les deux techniques. Des cas de discordance ont été observés, notamment 1 souche rendue résistante par la méthode des disques (diamètre d'inhibition de 16 mm) alors qu'elle présentait une CMI de 0,25 mg/L. À l'inverse, 3 souches ont été rendues sensibles par la méthode des disques (diamètres respectifs de 23, 24 et 26 mm) alors que la valeur de CMI était supérieure à la concentration critique (CMI lue à 0,5 mg/L pour les trois cas). La corrélation spécifique d'espèce entre les deux méthodes a été étudiée pour les espèces dont l'effectif était supérieur à 20 : *C. freundii* complex (n = 21), *E. cloacae* complex (n = 93), *K. aerogenes* (n = 31), *M. morgani* (n = 34) et *S. marcescens* (n = 35). Ces données sont disponibles en Annexe 1.



**Figure 17 : Corrélation entre les valeurs de CMI et les diamètres de la zone d'inhibition du ceftobiprole pour les Enterobacterales**

## IV. DISCUSSION

### 1. Distribution des entérobactéries et profils de résistances

Notre étude a permis d'analyser plus de 300 souches d'entérobactéries, principalement issues d'hémocultures, en majorité des espèces du groupe 3. Parmi ces espèces, la répartition des souches obtenues était cohérente avec l'épidémiologie des bactéries de ce groupe en Europe retrouvée par Boattini *et al.* dans leur analyse de 6774 souches, isolées d'hémocultures à travers 27 hôpitaux entre 2020 et 2022 (21). La proportion de *M. morganii* était néanmoins plus importante dans notre étude (15,3 % contre 8,3 %). Cette différence peut être attribuée à notre échantillon de souches moins important, ainsi qu'à notre biais de sélection puisque les souches productrices de BLSE et/ou de carbapénémase étaient exclues. De plus, un nombre non négligeable de souches n'a pas pu être étudié, soit car les tubes de conservation en souchothèque n'ont pas été retrouvés ou étaient mal conservés, soit parce que les repiquages n'ont pas permis de récupérer les souches.

Parmi les souches retenues du groupe 3, nous avons également mis en évidence un taux plus élevé de résistance à la ceftazidime chez les espèces des complexes *E. cloacae* et *C. freundii* ainsi que chez *K. aerogenes*, confirmant des données antérieures qui présentent ces espèces comme plus à risque de surexpression d'AmpC (43,63). Nous avons cependant un taux relativement important de résistance à la ceftazidime pour *M. morganii* (19 %), alors que la littérature place généralement cette espèce au même rang que *S. marcescens*, avec un taux d'hyperproduction d'AmpC inférieur à 5 % et un taux de mutation *in vitro* inférieur aux espèces citées précédemment. Boattini *et al.* rapportaient néanmoins un taux de résistance aux C3G similaire pour cette espèce (> 15 %)(21). Le choix d'utiliser la ceftazidime comme marqueur d'hyperproduction d'AmpC a pu entraîner une sous-estimation de ces souches pour *S. marcescens* (n = 1), des souches surexprimant leur AmpC mais restant sensibles à la ceftazidime ayant été décrites dans la littérature (43). Ainsi, dans notre étude, 5 souches de *S. marcescens* étaient sensibles à la ceftazidime mais présentaient une sensibilité diminuée ou une résistance au céfotaxime. Les données concernant *H. alvei* et *Providencia* spp. ne sont pas généralisables en raison des faibles effectifs.

Le faible nombre d'espèces des autres groupes incluses dans notre étude est cohérent avec la faible prévalence des AmpC plasmidiques rapportée dans la littérature (44), la

proportion plus élevée de *E. coli* étant probablement liée à des souches hyperproductrices de leur AmpC chromosomique. Ces données ne sont néanmoins pas représentatives de la fréquence potentielle de ces mécanismes chez ces espèces. D'une part, nos souches proviennent majoritairement d'hémocultures, et une autre épidémiologie est probable pour des souches isolées d'infections urinaires, par exemple. D'autre part, nos données ne tiennent pas compte des potentielles souches coproductrices d'autres bêta-lactamases, qui ont été exclues. Il existe probablement une sous-évaluation de la fréquence de telles souches dans la littérature, mais les données disponibles montrent que ces cas restent très minoritaires (20,49–51).

## **2. Sensibilité au ceftobiprole**

Notre travail apporte de nouvelles données par rapport aux précédentes études réalisées sur la sensibilité au ceftobiprole des entérobactéries : nous avons sélectionné uniquement les souches présentant une forte suspicion de production de céphalosporinase, bien qu'il ne soit pas possible de confirmer, pour toutes les souches retenues, la présence exclusive d'une céphalosporinase simplement par les méthodes phénotypiques utilisées. Nous sommes en mesure d'exclure de nos données toute espèce productrice de BLSE ou de carbapénémase, deux bêta-lactamases qui hydrolysent le ceftobiprole, contrairement à des travaux précédents où la distinction n'était pas faite (79,83,84), ou seulement pour les espèces *E. coli* et *K. pneumoniae* (67,79–81,90).

L'analyse de la sensibilité au ceftobiprole a révélé une sensibilité globale élevée (84,8 % des isolats). Ce chiffre est à nuancer car une grande partie des souches étudiées étaient des espèces du groupe 3 au phénotype sauvage, pour lequel la sensibilité au ceftobiprole a déjà été établie.

Nous avons montré que l'activité du ceftobiprole sur ces souches d'entérobactéries productrices de céphalosporinase était inférieure à celle du céfépime, mais globalement meilleure que celle de la ceftazidime. La proportion de souches non « sensibles » à la ceftazidime était de 32,3 %, contre 6,6 % pour le céfépime et 15,2 % pour le ceftobiprole. La moindre proportion de souches résistantes au ceftobiprole par rapport à celles résistantes à la ceftazidime était plus évidente que dans les travaux de Rossolini *et al.*, qui retrouvaient 4,9 % de résistance au ceftobiprole, contre 6,1 % de résistance à la ceftazidime, sur 2560 souches d'*Enterobacterales* non-BLSE (91).

Nous avons trouvé un taux de sensibilité au ceftobiprole de 97,1 % pour les souches sensibles à la ceftazidime, et de 59,2 % en cas de résistance à la ceftazidime. En particulier, toutes les espèces du groupe 3, à l'exception de *H. alvei* et *S. marcescens*, étaient systématiquement sensibles au ceftobiprole en cas de sensibilité à la ceftazidime. Les travaux de Canton *et al.* publiés en 2022 distinguaient également la sensibilité au ceftobiprole selon la sensibilité à la ceftazidime, mais les souches productrices de BLSE n'étaient pas exclues (82). Pour les souches sensibles, les résultats obtenus étaient similaires : 91,3 % de sensibilité au ceftobiprole toutes espèces d'*Enterobacterales* confondues, 97,7 % pour *Enterobacter* spp., 94 % pour *E. coli* et 92,2 % pour *S. marcescens*. Les résultats obtenus pour les souches résistantes à la ceftazidime ne sont pas comparables puisqu'ils incluaient également des souches productrices de BLSE.

Nous avons identifié 6 souches sensibles à la ceftazidime, mais résistantes au ceftobiprole. Dans quatre cas, qui concernaient des souches de *S. marcescens*, la CMI au ceftobiprole était de 0,5 mg/L, soit à une dilution du seuil de sensibilité. Une surestimation de la CMI lors de la lecture était probable, d'autant plus que 3 de ces souches étaient rendues sensibles au ceftobiprole par la méthode des disques. Les deux autres souches présentaient des CMI respectives de 1 et 4 mg/L : une souche de *H. alvei* sauvage et une souche de *S. marcescens*. Cette dernière présentait des résistances à l'antibiogramme aux aminosides et aux fluoroquinolones, témoignant de la présence de certains gènes d'antibiorésistance, et laissant penser qu'un autre mécanisme sous-jacent pourrait être responsable du profil observé pour le ceftobiprole.

Aucune souche qui n'était pas rendue « sensible » au céfépime ne l'était pour le ceftobiprole. Ces données confirment que le ceftobiprole est plus sensible à l'hydrolyse par les céphalosporinases que le céfépime, comme le suggéraient les travaux *in vitro* de Queenan *et al.* qui rapportaient, pour les AmpC chromosomiques de différentes entérobactéries, un Km plus élevé pour le céfépime (donc une affinité plus faible) que pour le ceftobiprole (86). Il est également possible que des mécanismes autres que la production de céphalosporinase soient responsables de la résistance au céfépime et/ou au ceftobiprole pour ces souches.

La différence d'affinité intrinsèque des céphalosporinases pour ces molécules peut également expliquer, sur nos trois modèles probables de surexpression d'AmpC

(Tableau 8), l'extension de l'hydrolyse au ceftobiprole dans deux cas, alors que le céfépime reste sensible. Plus généralement, nous avons décrit une augmentation des CMI du ceftobiprole pour les entérobactéries du groupe 3 résistantes à la ceftazidime, c'est-à-dire susceptibles d'hyperproduire leur AmpC. Ce phénomène était particulièrement visible pour les espèces *E. cloacae* complex et *C. freundii* complex pour lesquelles les CMI50 passaient de 0,06 mg/L pour les deux espèces à 2 et 1 mg/L respectivement. Pillar *et al.* faisaient dans leurs travaux la distinction entre les souches hyperproductrices d'AmpC et les souches non déréprimées, pour les espèces *Citrobacter* spp. et *E. cloacae* (87). Des résultats similaires étaient obtenus avec une CMI50 pour *Citrobacter* spp. passant de 0,06 à 2 mg/L, et pour *E. cloacae* de 0,06 à 8 mg/L.

Le taux relativement élevé de résistance à la ceftazidime chez *K. aerogenes* ne semblait pas avoir d'impact sur la sensibilité au ceftobiprole, puisqu'une seule des 17 souches suspectées de surexprimer leur céphalosporinase était résistante au ceftobiprole. Pour *M. morgani*, les 8 souches résistantes à la ceftazidime étaient toutes sensibles au ceftobiprole. Des variations spécifiques d'espèce en termes de niveau d'expression d'AmpC ou d'affinité pour le ceftobiprole peuvent expliquer ces résultats, et démontrent l'intérêt de distinguer les différentes espèces d'*Enterobacterales*, même au sein d'un même groupe, dans ce type d'étude.

La sensibilité quasi-totale des entérobactéries autres que du groupe 3 au ceftobiprole est difficilement interprétable. D'abord, en raison du faible effectif de ces souches dans l'étude. Ensuite, il n'existe pas à notre connaissance d'étude évaluant soit la sensibilité du ceftobiprole de souches exprimant une AmpC plasmidique, soit l'affinité pour le ceftobiprole ou son niveau d'hydrolyse par ce type d'enzyme. Des travaux complémentaires, avec un échantillon de souches plus important, nous semblent nécessaires pour confirmer la bonne activité du ceftobiprole sur les souches produisant une AmpC plasmidique et/ou, dans le cas de *E. coli*, sur les souches mutées surexprimant leur AmpC chromosomique. Cependant, au vu des résultats obtenus pour les espèces de groupe 3, qui sont souvent les réservoirs naturels des AmpC plasmidiques, il nous semble raisonnable d'extrapoler et de déduire que l'activité du céfépime resterait supérieure à celle du ceftobiprole.

La répartition globale des CMI au ceftobiprole parmi les différentes espèces était cohérente avec les données déjà disponibles sur le site de l'EUCAST (92). Notre étude

apporte notamment des données supplémentaires pour les espèces du complexe *C. freundii* (n = 24), pour lesquelles aucun consensus d'ECOFF (cut-off épidémiologique, la valeur de CMI qui sépare les bactéries sauvages des bactéries ayant acquis un mécanisme de résistance) n'a été défini, l'EUCAST ne disposant que de 86 observations.

Nous avons également confirmé la bonne corrélation entre la sensibilité au ceftobiprole déterminée par diffusion en milieu gélosé par la méthode des disques et la mesure de la CMI, malgré quatre cas de discordance. En plus des trois cas évoqués précédemment, qui concernaient des souches de *S. marcescens*, une dernière discordance concernait une souche de *E. cloacae*, sensible en CMI (0,25 mg/L) mais résistante selon la méthode des disques (diamètre de la zone d'inhibition de 16 mm). La présence de micro-colonies dans les zones d'inhibition rendait la lecture plus difficile, et il n'est pas exclu que la sensibilité au ceftobiprole de cette souche ait été sous-évaluée ou surestimée, dans un sens comme dans l'autre. Dans tous les cas discordants, la lecture de la CMI était effectuée à une dilution de la concentration critique. La bonne corrélation entre les deux méthodes pour la détermination de la sensibilité au ceftobiprole chez les Enterobacterales est cohérente avec les données de l'EUCAST (Annexe 2). Nos résultats concernaient majoritairement des espèces du groupe 3, contrairement à leurs données qui incluaient principalement des souches de *E. coli* et *K. pneumoniae*. Des travaux supplémentaires utilisant la méthode de référence – la micro-dilution en milieu liquide – sont à envisager pour s'assurer de la bonne corrélation entre les trois techniques et résoudre les cas discordants, ce qui constitue une autre limite de notre étude.

### **3. Perspectives et implications cliniques**

Le positionnement actuel du ceftobiprole dans l'arsenal antibiotique repose avant tout sur son excellente couverture des bactéries à Gram positif, notamment des SARM. Dans cette seule indication, son utilisation est cependant rarement justifiée devant l'existence d'alternatives à spectre plus étroit toutes aussi efficaces (vancomycine, daptomycine). L'extension de son spectre à certaines bactéries à Gram négatif, y compris des souches classées BMR, est intéressante dans l'optique d'un traitement probabiliste et dans un contexte nosocomial.

Le niveau d'activité du ceftobiprole sur les entérobactéries productrices de céphalosporinase obtenu dans nos travaux confirme qu'il permet de récupérer un

nombre non négligeable de souches résistantes aux C3G en raison de ce mécanisme. Néanmoins, l'activité du ceftobiprole était inférieure au céfépime, qui est déjà le traitement de référence des infections par des entérobactéries à risque de production significative d'AmpC (65). D'autant plus que trois associations impliquant le céfépime sont actuellement en étude de phase III : céfépime + enmetazobactam, céfépime + taniborbactam, et céfépime + zidebactam (9). La première association permet de récupérer l'activité du céfépime sur les souches productrices de BLSE, l'enmetazobactam n'étant pas un bon inhibiteur d'AmpC (32). Les deux autres inhibiteurs ont montré une très bonne activité sur les céphalosporinases, en plus d'une bonne activité sur les carbapénémases pour le taniborbactam. En attendant l'arrivée sur le marché de ces nouvelles associations, la ceftazidime associée à l'avibactam présente d'ores et déjà une excellente activité sur les souches productrices de céphalosporinase (21), mais cette association est plutôt réservée au traitement des infections dues à des bactéries extrêmement résistantes comme les EPC (65). L'avantage de l'approche utilisant des associations de bêtalactamines avec des IBL est qu'elle permet généralement de restaurer l'activité sur les souches productrices de BLSE, bêta-lactamases les plus fréquentes en pratique et sur lesquelles le ceftobiprole n'a aucune activité.

Ces éléments restreignent donc l'intérêt du ceftobiprole dans le traitement des infections à entérobactéries. Cependant, un point à considérer est la toxicité neurologique bien documentée du céfépime. Des données issues de services de réanimation rapportent des effets indésirables neurologiques chez près de 15 % des patients traités, et le nombre de cas recensés dans la littérature a augmenté ces dernières années (93,94). Bien que son utilisation soit plus limitée, de tels effets indésirables n'ont pas été observés avec le ceftobiprole (71,74). Il n'est pas exclu que de telles situations puissent justifier l'utilisation du ceftobiprole, après détermination de sa sensibilité, ainsi que dans d'autres cas spécifiques en tant que traitement d'épargne des carbapénèmes. Son large spectre pourrait également s'avérer utile pour le traitement d'infections polymicrobiennes compliquées. Les recommandations de la SPILF de 2023 suggèrent d'ailleurs une association ceftobiprole + métronidazole en deuxième ligne pour les infections de plaies du pied diabétique de grade 4 (95). Une évaluation du ceftobiprole dans ces indications spécifiques – hors AMM en France – ou une extension de ces indications, semble donc pertinente.

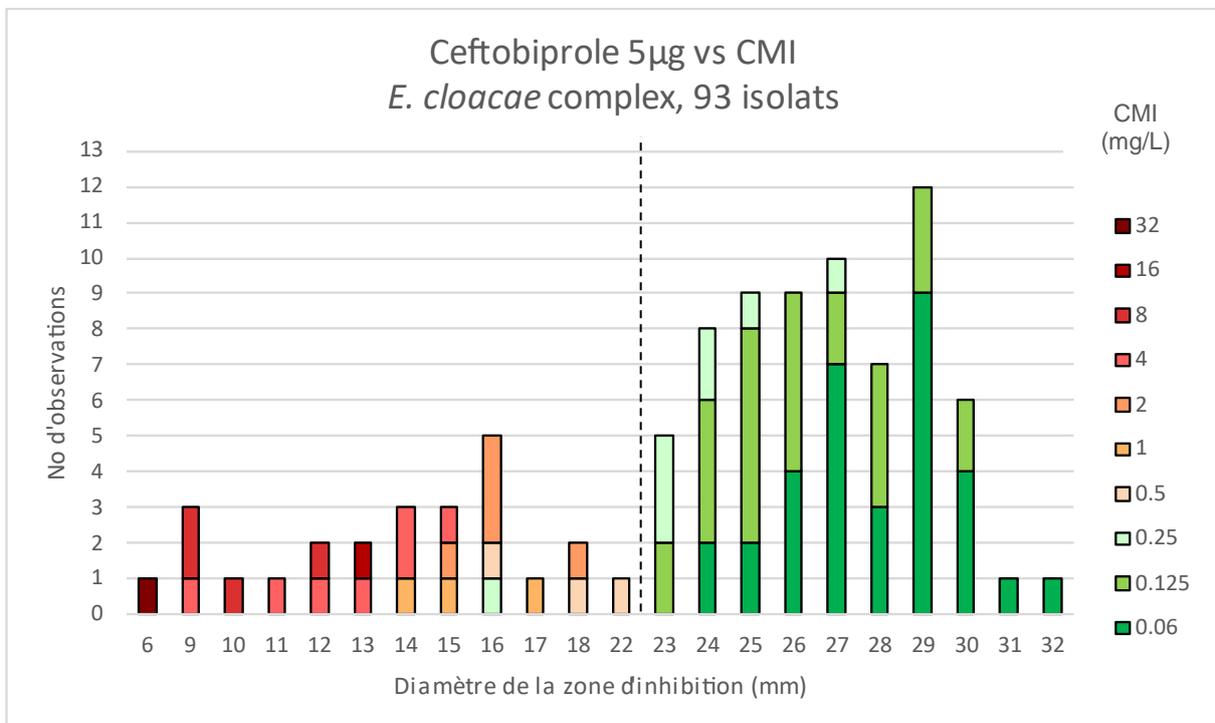
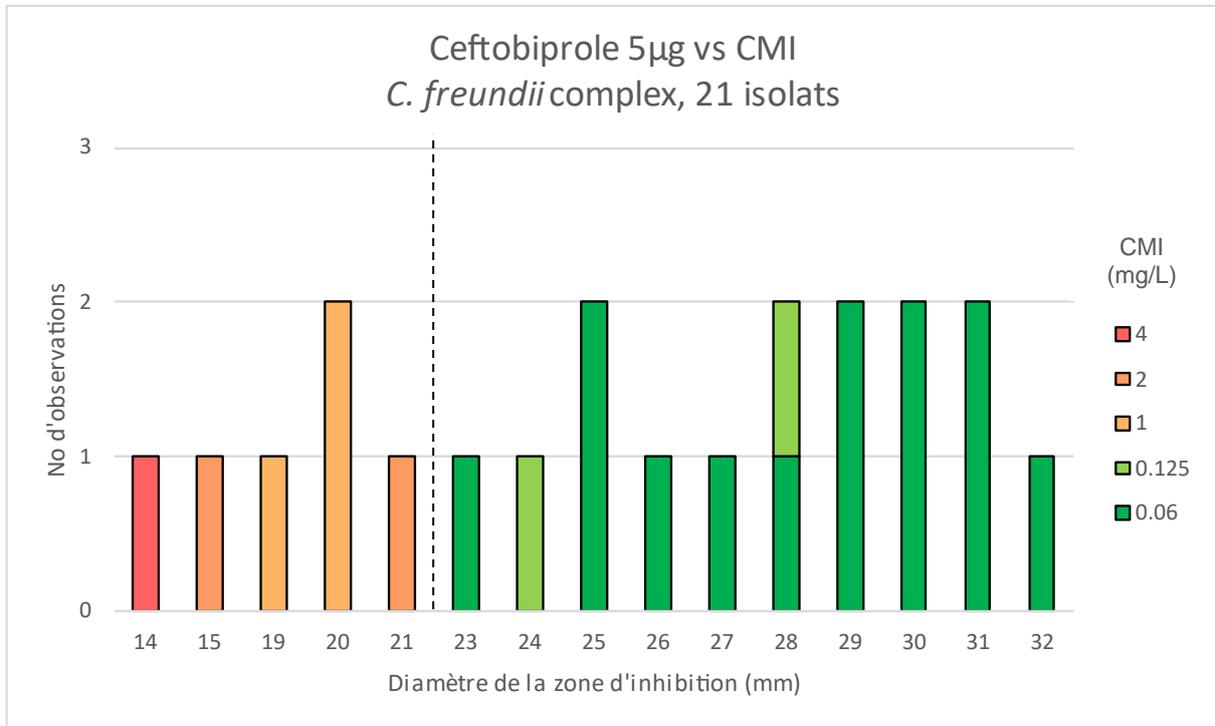
## V. CONCLUSION ET PERSPECTIVES

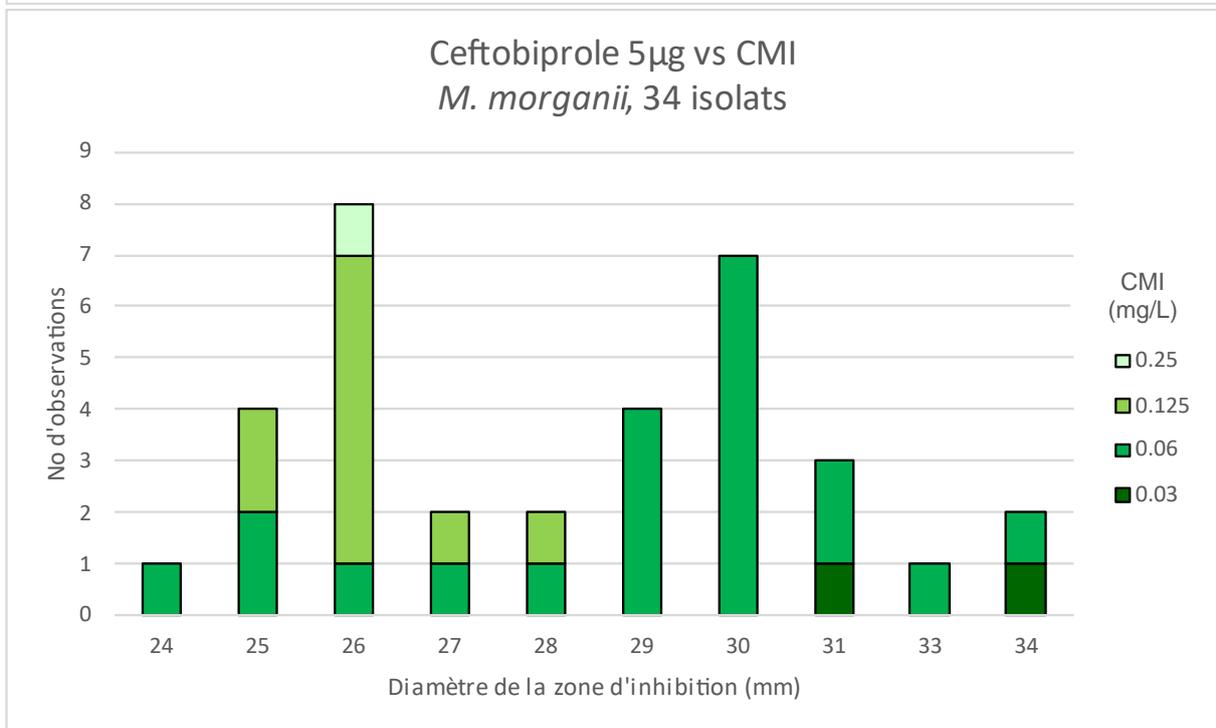
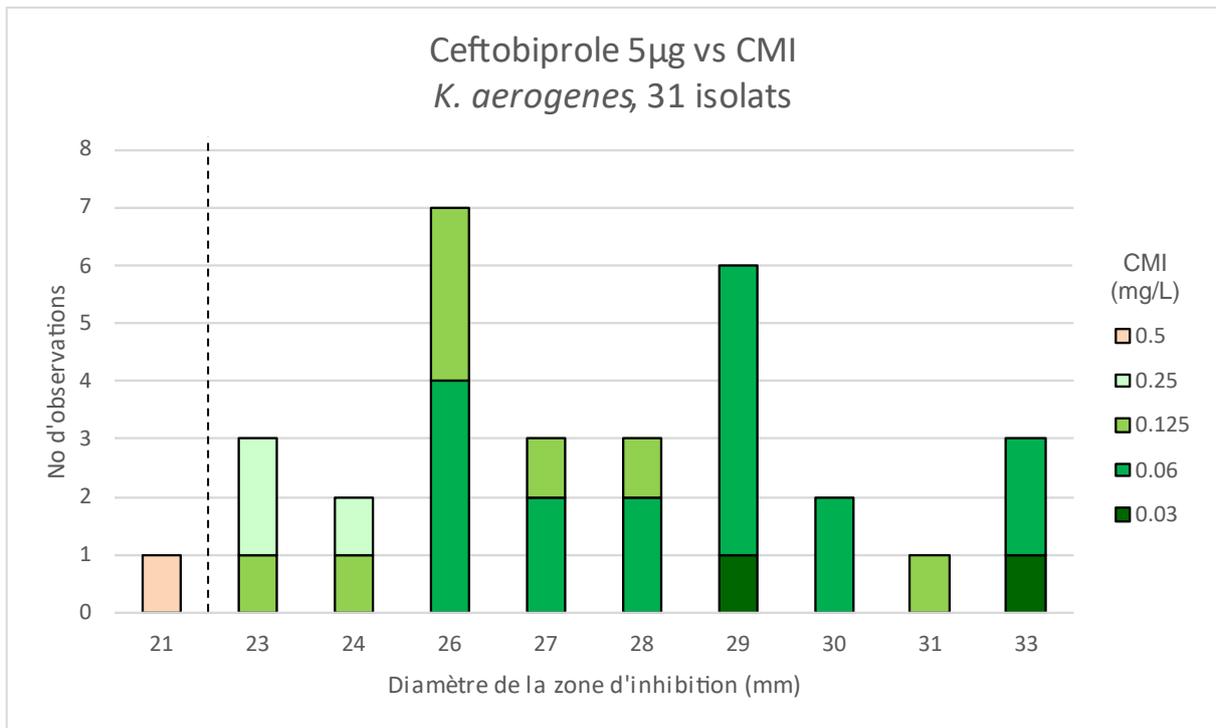
Nous avons évalué la sensibilité au ceftobiprole de 303 souches d'entérobactéries productrices de céphalosporinase. Nous avons obtenu des CMI pour l'ensemble de ces souches, ainsi que des diamètres de zone d'inhibition pour 245 d'entre elles. Les résultats ont été interprétés à l'aide des concentrations et des diamètres critiques de l'EUCAST (version 14.0 de janvier 2024). Le taux de sensibilité au ceftobiprole était de 84,8 % toutes espèces confondues. La sensibilité au ceftobiprole était excellente pour les souches des groupes 0, 1 et 2 (96,4 % ; n = 28) et pour les souches du groupe 3 sensibles à la ceftazidime (97,1% ; n = 205). En termes d'activité, le ceftobiprole était supérieur à la ceftazidime (59,1 % des souches CAZ-R étaient sensibles au ceftobiprole), mais pas au céfépime (aucune des souches FEP-R n'était sensible au ceftobiprole). Pour les entérobactéries du groupe 3, les souches présentant une hyperproduction d'AmpC avaient des CMI au ceftobiprole augmentées par rapport aux souches sauvages. Pour les espèces des complexes *E. cloacae* et *C. freundii*, cette augmentation des CMI se traduisait le plus souvent par une résistance au ceftobiprole (85,7 % et 75 % des cas respectivement) contrairement aux espèces *M. morganii* et *K. aerogenes*, qui restaient majoritairement sensibles au ceftobiprole.

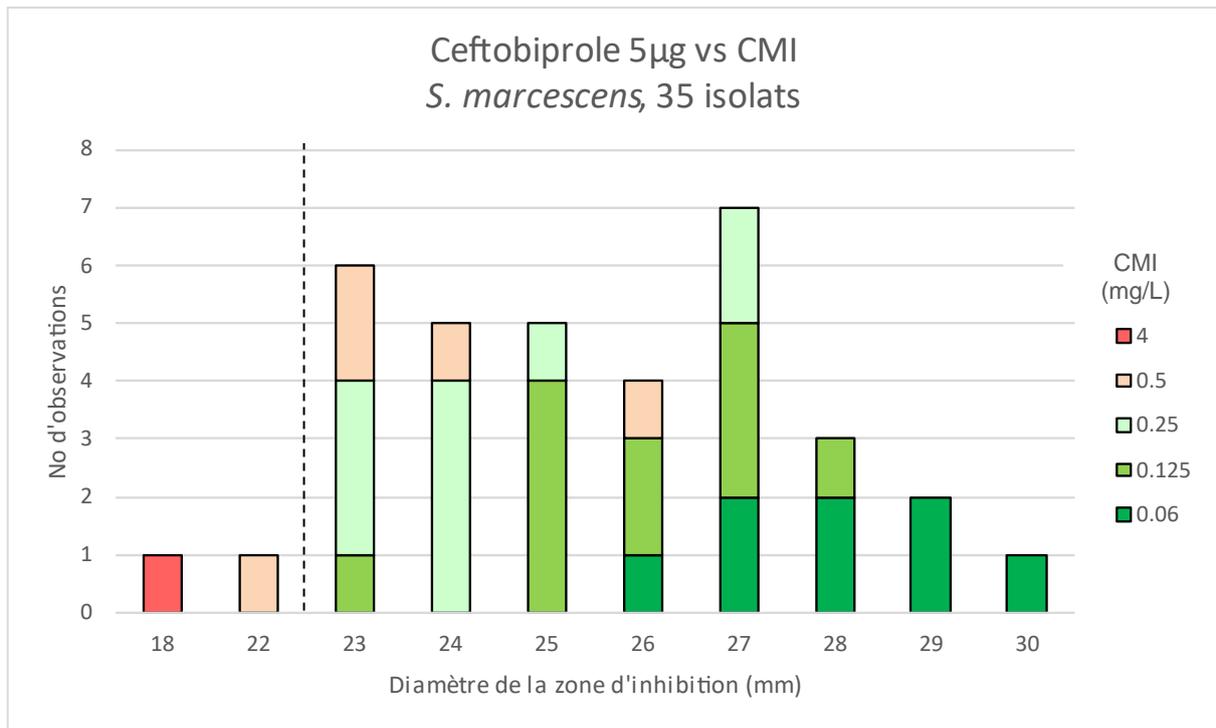
Des travaux complémentaires sont à envisager pour consolider et approfondir ces résultats : d'une part, la détermination de la sensibilité au ceftobiprole des souches par micro-dilution en milieu liquide, méthode de référence, et d'autre part, la confirmation par biologie moléculaire de la production de céphalosporinase plasmidique des souches étudiées, et l'évaluation de l'activité du ceftobiprole sur les différentes familles d'AmpC identifiées. L'inclusion de souches supplémentaires de certaines espèces, notamment *H. alvei*, et des groupes 0, 1 et 2, permettrait de mieux interpréter certaines des données obtenues. Nos résultats semblent limiter la place du ceftobiprole dans l'arsenal thérapeutique contre les entérobactéries, en particulier avec l'arrivée des nouvelles associations de bêtalactamines avec inhibiteurs. Néanmoins, son spectre large l'individualise parmi les céphalosporines et certaines circonstances spécifiques pourraient justifier son utilisation.

# ANNEXES

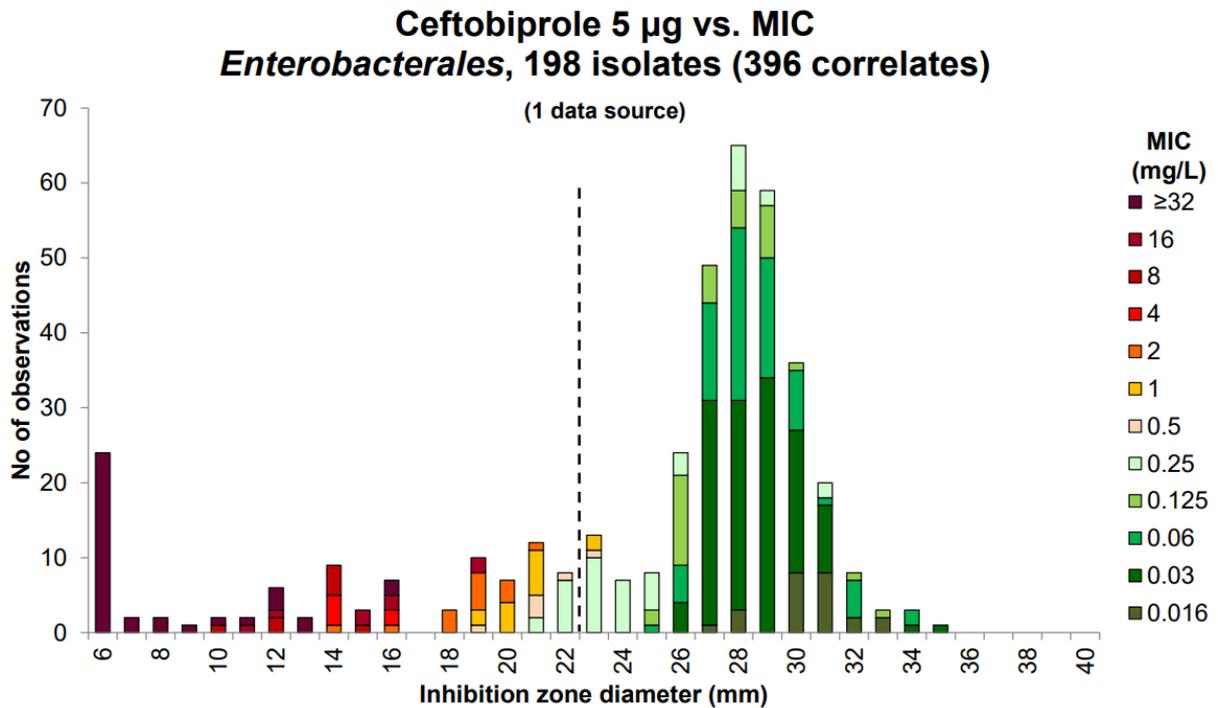
## Annexe 1 : Corrélation entre les valeurs de CMI et les diamètres de la zone d'inhibition pour le ceftobiprole et différentes espèces d'Enterobacterales







Annexe 2 : Corrélation entre les valeurs de CMI et les diamètres de la zone d'inhibition pour le couple Enterobacterales/ceftobiprole – données de l'EUCAST (96)



## BIBLIOGRAPHIE

1. World Health Organization (WHO). Résistance aux antimicrobiens [Internet]. Disponible sur: <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antimicrobial-resistance>
2. Murray CJL, Ikuta KS, Sharara F, Swetschinski L, Robles Aguilar G, Gray A, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*. févr 2022;399(10325):629-55.
3. Naghavi M, Vollset SE, Ikuta KS, Swetschinski LR, Gray AP, Wool EE, et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance 1990–2021: a systematic analysis with forecasts to 2050. *The Lancet*. sept 2024;S0140673624018671.
4. Assessing the health burden of infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU/EEA, 2016-2020 [Internet]. 2022 [cité 22 sept 2024]. Disponible sur: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/health-burden-infections-antibiotic-resistant-bacteria-2016-2020>
5. Aminov RI. A Brief History of the Antibiotic Era: Lessons Learned and Challenges for the Future. *Front Microbiol*. 8 déc 2010;1:134.
6. Antimicrobial Resistance : Tackling a crisis for the health and wealth of nations [Internet]. [cité 9 sept 2024]. Disponible sur: [https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations\\_1.pdf](https://amr-review.org/sites/default/files/AMR%20Review%20Paper%20-%20Tackling%20a%20crisis%20for%20the%20health%20and%20wealth%20of%20nations_1.pdf)
7. Blaskovich MAT, Butler MS, Cooper MA. Polishing the tarnished silver bullet: the quest for new antibiotics. *Essays Biochem*. 3 mars 2017;61(1):103-14.
8. Janda JM, Abbott SL. The Changing Face of the Family *Enterobacteriaceae* (Order: “ *Enterobacterales* ”): New Members, Taxonomic Issues, Geographic Expansion, and New Diseases and Disease Syndromes. *Clin Microbiol Rev*. 17 mars 2021;34(2):e00174-20.
9. Miller WR, Arias CA. ESKAPE pathogens: antimicrobial resistance, epidemiology, clinical impact and therapeutics. *Nat Rev Microbiol* [Internet]. 3 juin 2024 [cité 7 sept 2024]; Disponible sur: <https://www.nature.com/articles/s41579-024-01054-w>
10. Castañeda-Barba S, Top EM, Stalder T. Plasmids, a molecular cornerstone of antimicrobial resistance in the One Health era. *Nat Rev Microbiol*. janv 2024;22(1):18-32.
11. Tooke CL, Hinchliffe P, Bragginton EC, Colenso CK, Hirvonen VHA, Takebayashi Y, et al.  $\beta$ -Lactamases and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors in the 21st Century. *J Mol Biol*. 23 août 2019;431(18):3472-500.
12. Ambler RP. The structure of beta-lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*. 16 mai 1980;289(1036):321-31.

13. Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA. A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 1995;39(6):1211-33.
14. Bush K. Past and Present Perspectives on  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 24 sept 2018;62(10):e01076-18.
15. Courvalin P, éditeur. *Antibiogram.* Portland, Or: ESKA Publ., ASM Press; 2010. 705 p.
16. Philippon A, Arlet G. Entérobactéries et bêta-lactamines : phénotypes de résistance naturelle. *Pathol Biol.* 1 avr 2012;60(2):112-26.
17. WHO Bacterial Priority Pathogens List, 2024 [Internet]. [cité 9 sept 2024]. Disponible sur: <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/376776/9789240093461-eng.pdf?sequence=1>
18. Antimicrobial resistance of microorganisms reported in healthcare-associated infections [Internet]. 2024 [cité 9 sept 2024]. Disponible sur: <https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data/antimicrobial-resistance-microorganisms-reported-healthcare-associated-infections>
19. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) - Annual epidemiological report for 2022. 2022;
20. Zamudio R, Boerlin P, Beyrouthy R, Madec JY, Schwarz S, Mulvey MR, et al. Dynamics of extended-spectrum cephalosporin resistance genes in *Escherichia coli* from Europe and North America. *Nat Commun.* 12 déc 2022;13(1):7490.
21. Boattini M, Bianco G, Llorente LI, Acero LA, Nunes D, Seruca M, et al. Enterobacterales carrying chromosomal AmpC  $\beta$ -lactamases in Europe (EuESCPM): Epidemiology and antimicrobial resistance burden from a cohort of 27 hospitals, 2020–2022. *Int J Antimicrob Agents.* 1 mai 2024;63(5):107115.
22. Farfour E, Dortet L, Guillard T, Chatelain N, Poisson A, Mizrahi A, et al. Antimicrobial Resistance in Enterobacterales Recovered from Urinary Tract Infections in France. *Pathogens.* 15 mars 2022;11(3):356.
23. Jacoby GA. AmpC  $\beta$ -Lactamases. *Clin Microbiol Rev.* janv 2009;22(1):161-82.
24. Abraham EP, Chain E. An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin. *Nature.* déc 1940;146(3713):837-837.
25. Meini S, Tascini C, Cei M, Sozio E, Rossolini GM. AmpC  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacterales: what a clinician should know. *Infection.* juin 2019;47(3):363-75.
26. Bush K, Jacoby GA. Updated Functional Classification of  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* mars 2010;54(3):969-76.
27. Bush K, Bradford PA. Epidemiology of  $\beta$ -Lactamase-Producing Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 26 févr 2020;33(2):e00047-19.

28. Philippon A, Arlet G, Labia R, Iorga BI. Class C  $\beta$ -Lactamases: Molecular Characteristics. *Clin Microbiol Rev.* 2022;35(3):e00150-21.
29. Mack AR, Barnes MD, Taracila MA, Hujer AM, Hujer KM, Cabot G, et al. A Standard Numbering Scheme for Class C  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 21 févr 2020;64(3):10.1128/aac.01841-19.
30. Tamma PD, Doi Y, Bonomo RA, Johnson JK, Simner PJ. A Primer on AmpC  $\beta$ -Lactamases: Necessary Knowledge for an Increasingly Multidrug-resistant World. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 oct 2019;69(8):1446-55.
31. Lahiri SD, Giacobbe RA, Johnstone MR, Alm RA. Activity of avibactam against *Enterobacter cloacae* producing an extended-spectrum class C  $\beta$ -lactamase enzyme. *J Antimicrob Chemother.* 1 nov 2014;69(11):2942-6.
32. Terrier CL, Mlynářčik P, Sadek M, Nordmann P, Poirel L. Relative inhibitory activities of newly-developed diazabicyclooctanes, boronic acid derivatives, and penicillin-based sulfone  $\beta$ -lactamase inhibitors, against broad-spectrum AmpC  $\beta$ -lactamases.
33. Jousset AB. Caractéristiques et évolution des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) isolées en France, 2012-2020 / Characteristics and evolution of carbapenemase-producing Enterobacteriales in France, 2012-2020. 2021;
34. Goossens H, Grabein B. Prevalence and antimicrobial susceptibility data for extended-spectrum  $\beta$ -lactamase- and AmpC-producing Enterobacteriaceae from the MYSTIC Program in Europe and the United States (1997–2004). *Diagn Microbiol Infect Dis.* déc 2005;53(4):257-64.
35. Guérin F, Isnard C, Cattoir V, Giard JC. Complex Regulation Pathways of AmpC-Mediated  $\beta$ -Lactam Resistance in *Enterobacter cloacae* Complex. *Antimicrob Agents Chemother.* déc 2015;59(12):7753-61.
36. Hanson N, Sanders C. Regulation of inducible AmpC  $\beta$ -lactamase expression among. *Curr Pharm Des.* 1 déc 1999;5:881-94.
37. Acebrón I, Mahasenan KV, De Benedetti S, Lee M, Artola-Recolons C, Heseck D, et al. Catalytic Cycle of the N-Acetylglucosaminidase NagZ from *Pseudomonas aeruginosa*. *J Am Chem Soc.* 24 mai 2017;139(20):6795-8.
38. Bush K, Bradford PA.  $\beta$ -Lactams and  $\beta$ -Lactamase Inhibitors: An Overview. *Cold Spring Harb Perspect Med.* août 2016;6(8):a025247.
39. Yang X, Zeng J, Zhou Q, Yu X, Zhong Y, Wang F, et al. Elevating NagZ Improves Resistance to  $\beta$ -Lactam Antibiotics via Promoting AmpC  $\beta$ -Lactamase in *Enterobacter cloacae*. *Front Microbiol.* 4 nov 2020;11:586729.
40. Kopp U, Wiedemann B, Lindquist S, Normark S. Sequences of wild-type and mutant ampD genes of *Citrobacter freundii* and *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob Agents Chemother.* févr 1993;37(2):224-8.

41. Schmidtke AJ, Hanson ND. Model System To Evaluate the Effect of ampD Mutations on AmpC-Mediated  $\beta$ -Lactam Resistance. *Antimicrob Agents Chemother.* juin 2006;50(6):2030-7.
42. Babouee Flury B, Ellington MJ, Hopkins KL, Turton JF, Doumith M, Loy R, et al. Association of Novel Nonsynonymous Single Nucleotide Polymorphisms in ampD with Cephalosporin Resistance and Phylogenetic Variations in ampC, ampR, ompF, and ompC in *Enterobacter cloacae* Isolates That Are Highly Resistant to Carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 25 mars 2016;60(4):2383-90.
43. Kohlmann R, Bähr T, Gatermann SG. Species-specific mutation rates for ampC derepression in *Enterobacterales* with chromosomally encoded inducible AmpC  $\beta$ -lactamase. *J Antimicrob Chemother.* 1 juin 2018;73(6):1530-6.
44. Rodríguez-Guerrero E, Callejas-Rodelas JC, Navarro-Marí JM, Gutiérrez-Fernández J. Systematic Review of Plasmid AmpC Type Resistances in *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* and Preliminary Proposal of a Simplified Screening Method for ampC. *Microorganisms.* 14 mars 2022;10(3):611.
45. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-Determined AmpC-Type  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* janv 2002;46(1):1-11.
46. Bauernfeind A, Schneider I, Jungwirth R, Sahly H, Ullmann U. A Novel Type of AmpC  $\beta$ -Lactamase, ACC-1, Produced by a *Klebsiella pneumoniae* Strain Causing Nosocomial Pneumonia. *Antimicrob Agents Chemother.* août 1999;43(8):1924-31.
47. Hennequin C, Chlilek A, Beyrouthy R, Bonnet R, Robin F. Diversity of DHA-1-encoding plasmids in *Klebsiella pneumoniae* isolates from 16 French hospitals. *J Antimicrob Chemother.* 1 nov 2018;73(11):2981-9.
48. Smillie C, Garcillán-Barcia MP, Francia MV, Rocha EPC, de la Cruz F. Mobility of Plasmids. *Microbiol Mol Biol Rev MMBR.* sept 2010;74(3):434-52.
49. Ghosh B, Mukherjee M. Emergence of co-production of plasmid-mediated AmpC beta-lactamase and ESBL in cefoxitin-resistant uropathogenic *Escherichia coli*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1 sept 2016;35(9):1449-54.
50. Harris PNA, Ben Zakour NL, Roberts LW, Wailan AM, Zowawi HM, Tambyah PA, et al. Whole genome analysis of cephalosporin-resistant *Escherichia coli* from bloodstream infections in Australia, New Zealand and Singapore: high prevalence of CMY-2 producers and ST131 carrying blaCTX-M-15 and blaCTX-M-27. *J Antimicrob Chemother.* 1 mars 2018;73(3):634-42.
51. Drinković D, Morris AJ, Dyet K, Bakker S, Heffernan H. Plasmid-mediated AmpC beta-lactamase-producing *Escherichia coli* causing urinary tract infection in the Auckland community likely to be resistant to commonly prescribed antimicrobials. *N Z Med J.* 128(1410).
52. Nordmann P, Mammeri H. Extended-spectrum cephalosporinases: structure, detection and epidemiology. *Future Microbiol.* juin 2007;2(3):297-307.

53. Mammeri H, Poirel L, Nordmann P. Extension of the hydrolysis spectrum of AmpC  $\beta$ -lactamase of *Escherichia coli* due to amino acid insertion in the H-10 helix. *J Antimicrob Chemother.* 1 sept 2007;60(3):490-4.
54. Crémet L, Caroff N, Giraudeau C, Dauvergne S, Lepelletier D, Reynaud A, et al. Occurrence of ST23 Complex Phylogroup A *Escherichia coli* Isolates Producing Extended-Spectrum AmpC  $\beta$ -Lactamase in a French Hospital. *Antimicrob Agents Chemother.* mai 2010;54(5):2216-8.
55. Doi Y, Paterson DL, Adams-Haduch JM, Sidjabat HE, O'Keefe A, Endimiani A, et al. Reduced Susceptibility to Cefepime among *Escherichia coli* Clinical Isolates Producing Novel Variants of CMY-2  $\beta$ -Lactamase. *Antimicrob Agents Chemother.* juill 2009;53(7):3159-61.
56. Mammeri H, Nordmann P, Berkani A, Eb F. Contribution of extended-spectrum AmpC (ESAC)  $\beta$ -lactamases to carbapenem resistance in *Escherichia coli*: ESAC  $\beta$ -lactamases reduced susceptibility to carbapenems. *FEMS Microbiol Lett.* 4 avr 2008;282(2):238-40.
57. Recommandations nationales - Prévention de la transmission croisée : précautions complémentaires contact - Consensus formalisé d'experts - 2009.
58. EUCAST\_detection\_of\_resistance\_mechanisms\_170711.pdf [Internet]. [cité 1 avr 2024]. Disponible sur: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Resistance\\_mechanisms/EUCAST\\_detection\\_of\\_resistance\\_mechanisms\\_170711.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf)
59. Denis F, Ploy MC, Martin C, Cattoir V. *Bactériologie médicale: techniques usuelles.* Issy-les-Moulineaux: Elsevier Masson; 2016.
60. Polsfuss S, Bloemberg GV, Giger J, Meyer V, Böttger EC, Hombach M. Practical Approach for Reliable Detection of AmpC Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol.* août 2011;49(8):2798-803.
61. Pérez-Pérez FJ, Hanson ND. Detection of Plasmid-Mediated AmpC  $\beta$ -Lactamase Genes in Clinical Isolates by Using Multiplex PCR. *J Clin Microbiol.* juin 2002;40(6):2153-62.
62. CASFM2024\_V1.0.pdf [Internet]. [cité 1 sept 2024]. Disponible sur: [https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2024/06/CASFM2024\\_V1.0.pdf](https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2024/06/CASFM2024_V1.0.pdf)
63. Tamma PD, Aitken SL, Bonomo RA, Mathers AJ, van Duin D, Clancy CJ. Infectious Diseases Society of America Guidance on the Treatment of AmpC  $\beta$ -Lactamase-Producing Enterobacteriales, Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii*, and *Stenotrophomonas maltophilia* Infections. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 6 juill 2022;74(12):2089-114.
64. Paul M, Carrara E, Retamar P, Tängdén T, Bitterman R, Bonomo RA, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID) guidelines for the treatment of infections caused by multidrug-resistant Gram-negative bacilli (endorsed by European society of intensive care medicine). *Clin Microbiol Infect.* avr 2022;28(4):521-47.

65. SPILF. Recommandations : Traitement des infections à BGN multirésistantes [Internet]. [cité 12 sept 2024]. Disponible sur: <https://www.infectiologie.com/fr/recommandations.html>
66. Hebeisen P, Heinze-Krauss I, Angehrn P, Hohl P, Page MGP, Then RL. In Vitro and In Vivo Properties of Ro 63-9141, a Novel Broad-Spectrum Cephalosporin with Activity against Methicillin-Resistant Staphylococci. *Antimicrob Agents Chemother.* mars 2001;45(3):825-36.
67. Issa NC, Rouse MS, Piper KE, Wilson WR, Steckelberg JM, Patel R. In vitro activity of BAL9141 against clinical isolates of gram-negative bacteria. *Diagn Microbiol Infect Dis.* janv 2004;48(1):73-5.
68. CT-13417\_MABELIO\_INS\_PIC\_Avis2\_CT13417.pdf [Internet]. [cité 30 juin 2024]. Disponible sur: [https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-13417\\_MABELIO\\_INS\\_PIC\\_Avis2\\_CT13417.pdf](https://www.has-sante.fr/upload/docs/evamed/CT-13417_MABELIO_INS_PIC_Avis2_CT13417.pdf)
69. Commissioner O of the. FDA. FDA; 2024 [cité 30 juin 2024]. FDA Approves New Antibiotic for Three Different Uses. Disponible sur: <https://www.fda.gov/news-events/press-announcements/fda-approves-new-antibiotic-three-different-uses>
70. Lupia T, Pallotto C, Corcione S, Boglione L, De Rosa FG. Ceftobiprole Perspective: Current and Potential Future Indications. *Antibiotics.* 8 févr 2021;10(2):170.
71. Giacobbe DR, De Rosa FG, Del Bono V, Grossi PA, Pea F, Petrosillo N, et al. Ceftobiprole: drug evaluation and place in therapy. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2 sept 2019;17(9):689-98.
72. Gentile I, Buonomo AR, Corcione S, Paradiso L, Giacobbe DR, Bavaro DF, et al. CEFTO-CURE study: CEFTObiprole Clinical Use in Real-life – a multi-centre experience in Italy. *Int J Antimicrob Agents.* juill 2023;62(1):106817.
73. 7\_MecOs\_M\_TITECAT\_CRIOAC\_2018.pdf [Internet]. [cité 11 sept 2024]. Disponible sur: [https://www.crioac.org/sites/default/files/pdf/7\\_MecOs\\_M\\_TITECAT\\_CRIOAC\\_2018.pdf](https://www.crioac.org/sites/default/files/pdf/7_MecOs_M_TITECAT_CRIOAC_2018.pdf)
74. Anderson SD, Gums JG. Ceftobiprole: An Extended-Spectrum Anti-Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus Cephalosporin. *Ann Pharmacother.* juin 2008;42(6):806-16.
75. Murthy B, Schmitt-Hoffmann A. Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Ceftobiprole, an Anti-MRSA Cephalosporin with Broad-Spectrum Activity: *Clin Pharmacokinet.* 2008;47(1):21-33.
76. Lodise TP, Pypstra R, Kahn JB, Murthy BP, Kimko HC, Bush K, et al. Probability of Target Attainment for Ceftobiprole as Derived from a Population Pharmacokinetic Analysis of 150 Subjects. *Antimicrob Agents Chemother.* juill 2007;51(7):2378-87.
77. Davies TA, Page MGP, Shang W, Andrew T, Kania M, Bush K. Binding of Ceftobiprole and Comparators to the Penicillin-Binding Proteins of Escherichia

- coli, *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, and *Streptococcus pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* juill 2007;51(7):2621-4.
78. Davies TA, Shang W, Bush K. Activities of Ceftobiprole and Other  $\beta$ -Lactams against *Streptococcus pneumoniae* Clinical Isolates from the United States with Defined Substitutions in Penicillin-Binding Proteins PBP 1a, PBP 2b, and PBP 2x. *Antimicrob Agents Chemother.* juill 2006;50(7):2530-2.
79. Farrell DJ, Flamm RK, Sader HS, Jones RN. Ceftobiprole Activity against over 60,000 Clinical Bacterial Pathogens Isolated in Europe, Turkey, and Israel from 2005 to 2010 [Internet]. 2014 [cité 30 avr 2024]. Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/epdf/10.1128/aac.02465-14>
80. Fritsche TR, Sader HS, Jones RN. Antimicrobial activity of ceftobiprole, a novel anti-methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* cephalosporin, tested against contemporary pathogens: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2005–2006). *Diagn Microbiol Infect Dis.* mai 2008;61(1):86-95.
81. Pfaller MA, Flamm RK, Mendes RE, Streit JM, Smart JI, Hamed KA, et al. Ceftobiprole Activity against Gram-Positive and -Negative Pathogens Collected from the United States in 2006 and 2016. *Antimicrob Agents Chemother.* 21 déc 2018;63(1):e01566-18.
82. Canton R, Hamed K, Wiktorowicz T, Redder N, Jemmely N, Quevedo J, et al. In vitro activity of ceftobiprole and comparator antibiotics against contemporary European isolates (2016–19). *JAC-Antimicrob Resist.* 24 mars 2022;4(2):dlac030.
83. Duncan LR, Hamed KA, Smart JI, Pfaller MA, Flamm RK, Mendes RE. Ceftobiprole activity against Gram-positive and Gram-negative pathogens causing bone and joint infections in the United States from 2016 to 2020. *Diagn Microbiol Infect Dis.* juill 2022;103(3):115713.
84. Hawser S, Kothari N, Jemmely N, Redder N. Susceptibility of ceftobiprole against Gram-positive and Gram-negative clinical isolates from 2019 from different European territories. *J Glob Antimicrob Resist.* juin 2022;29:393-7.
85. Morosini MI, Díez-Aguilar M, Cantón R. Mechanisms of action and antimicrobial activity of ceftobiprole. *Rev Esp Quimioter.* 2019;32(Suppl 3):3-10.
86. Queenan AM, Shang W, Kania M, Page MGP, Bush K. Interactions of Ceftobiprole with  $\beta$ -Lactamases from Molecular Classes A to D. *Antimicrob Agents Chemother.* sept 2007;51(9):3089-95.
87. Pillar CM, Aranza MK, Shah D, Sahm DF. In vitro activity profile of ceftobiprole, an anti-MRSA cephalosporin, against recent Gram-positive and Gram-negative isolates of European origin. *J Antimicrob Chemother.* 4 févr 2008;61(3):595-602.
88. Smith PW, Zuccotto F, Bates RH, Martinez-Martinez MS, Read KD, Peet C, et al. Pharmacokinetics of  $\beta$ -Lactam Antibiotics: Clues from the Past To Help Discover Long-Acting Oral Drugs in the Future. *ACS Infect Dis.* 12 oct 2018;4(10):1439-47.
89. Queenan AM, Shang W, Bush K, Flamm RK. Differential Selection of Single-Step AmpC or Efflux Mutants of *Pseudomonas aeruginosa* by Using Cefepime,

Ceftazidime, or Ceftobiprole. *Antimicrob Agents Chemother.* oct 2010;54(10):4092-7.

90. Pfaller MA, Flamm RK, Duncan LR, Streit JM, Castanheira M, Sader HS. Antimicrobial activity of ceftobiprole and comparator agents when tested against contemporary Gram-positive and -negative organisms collected from Europe (2015). *Diagn Microbiol Infect Dis.* mai 2018;91(1):77-84.
91. Rossolini GM, Dryden MS, Kozlov RS, Quintana A, Flamm RK, L  uffer JM, et al. Comparative activity of ceftobiprole against Gram-positive and Gram-negative isolates from Europe and the Middle East: the CLASS study. *J Antimicrob Chemother.* 1 janv 2011;66(1):151-9.
92. EUCAST. MIC distributions for Ceftobiprole, 2024 [Internet]. [cité 12 sept 2024]. Disponible sur:  
[https://mic.eucast.org/search/?search%5Bmethod%5D=mic&search%5Bantibiotic%5D=54&search%5Bspecies%5D=-1&search%5Bdisk\\_content%5D=-1&search%5Blimit%5D=50](https://mic.eucast.org/search/?search%5Bmethod%5D=mic&search%5Bantibiotic%5D=54&search%5Bspecies%5D=-1&search%5Bdisk_content%5D=-1&search%5Blimit%5D=50)
93. Ajibola O, Aremu TO, Dada SO, Ajibola O, Adeyinka KO, Ajibola A, et al. The Trend of Cefepime-Induced Neurotoxicity: A Systematic Review. *Cureus.* 15(6):e40980.
94. Payne LE, Gagnon DJ, Riker RR, Seder DB, Glisic EK, Morris JG, et al. Cefepime-induced neurotoxicity: a systematic review. *Crit Care.* 14 nov 2017;21:276.
95. Bonnet E, Maulin L, Senneville E, Castan B, Fourcade C, Loubet P, et al. Clinical practice recommendations for infectious disease management of diabetic foot infection (DFI) – 2023 SPILF. *Infect Dis Now.* févr 2024;54(1):104832.
96. EUCAST. Enterobacterales : Calibration of zone diameter breakpoints to MIC values. Version 12.0 January 2024.

Université de Lille  
UFR3S-Pharmacie  
**DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
Année Universitaire 2023/2024

**Nom : RAMON**  
**Prénom : Thomas**

**Titre de la thèse : ÉVALUATION DE LA SENSIBILITÉ AU CEFTOBIPROLE  
DES ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES DE CÉPHALOSPORINASE**

**Mots-clés :** Antibiorésistance, céphalosporinase, ceftobiprole, bactériologie, entérobactéries

---

**Résumé :** La résistance aux antibiotiques est un enjeu majeur de la santé publique humaine. Elle concerne particulièrement les entérobactéries résistantes aux C3G. Cette résistance est principalement médiée par deux types de bêta-lactamases : les BLSE et les céphalosporinases. Le ceftobiprole est une céphalosporine à large spectre, efficace aussi bien contre des bactéries à Gram positif (*S. aureus* résistant à la méticilline, *E. faecalis*) que contre des bactéries à Gram négatif (entérobactéries, *P. aeruginosa*) en l'absence de BLSE. L'objectif de l'étude était d'évaluer la sensibilité au ceftobiprole des entérobactéries productrices de céphalosporinase. La sensibilité au ceftobiprole a été déterminée par de diffusion en milieu gélosé en disques et en CMI. Le taux de sensibilité au ceftobiprole était de 84,8 % toutes espèces confondues. La sensibilité au ceftobiprole était excellente pour les souches des groupes 0, 1 et 2 (96,4 %) et pour les souches du groupe 3 sensibles à la ceftazidime (97,1 %). En termes d'activité, le ceftobiprole était supérieur à la ceftazidime, mais inférieur au céfépime. Pour les entérobactéries du groupe 3, les souches présentant une hyperproduction d'AmpC avaient des CMI au ceftobiprole augmentées par rapport aux souches sauvages. Pour les espèces des complexes *E. cloacae* et *C. freundii*, cette augmentation des CMI se traduisait le plus souvent par une résistance au ceftobiprole, contrairement aux espèces *M. organii* et *K. aerogenes*, qui restaient majoritairement sensibles. Les résultats obtenus sont cohérents avec la littérature existante et apportent de nouvelles données, que des travaux complémentaires devront confirmer et approfondir.

---

**Membres du jury :**

**Président :** Monsieur le Professeur FOLIGNÉ Benoît

**Assesseurs :** Madame le Docteur LEMTIRI Justine

Monsieur le Docteur BLONDIAUX Nicolas

Monsieur le Docteur MEHEUT Antoine

**Directeur de thèse :** Monsieur le Docteur PALUCH Maxime