Université de POITIERS

Faculté de Médecine et de Pharmacie

2022-2023

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(arrêté du 8 avril 2013)

présentée et soutenue publiquement
le 10 mai 2023 à POITIERS
par Monsieur BURBAN Ewen

Prédiction de l'évolution de l'antibiorésistance : Conséquence du portage nasal de S.Aureus dans l'évolution de l'antibiorésistance au sein de communauté.

Composition du jury :

Président : Madame la Professeur MARCHAND Sandrine

Membres : Monsieur BUYCK Julien
Monsieur TENAILLON Olivier

Directeur de thèse : Monsieur GREGOIRE Nicolas

Université de Poitiers

Faculté de Médecine et Pharmacie
de Poitiers

LISTE DES ENSEIGNANTS

Année universitaire 2022 – 2023

SECTION PHARMACIE

Professeurs des universités-praticiens hospitaliers

- COUET William, pharmacie clinique
- DUPUIS Antoine, pharmacie clinique – **Assesseur pédagogique pharmacie**
- FOUCHER Yohann, santé publique, biostatistiques et épidémiologie
- MARCHAND Sandrine, pharmacologie, pharmacocinétique
- RAGOT Stéphanie, santé publique

Professeurs des universités

- BODET Charles, microbiologie
- CARATO Pascal, chimie thérapeutique
- FAUCONNEAU Bernard, toxicologie
- GUILLARD Jérôme, pharmacochimie
- IMBERT Christine, parasitologie et mycologie médicale
- OLIVIER Jean-Christophe, pharmacie galénique, biopharmacie et pharmacie industrielle
- PAGE Guylène, biologie cellulaire, biothérapeutiques
- RABOUAN Sylvie, chimie physique, chimie analytique
- SARROUILHE Denis, physiologie humaine – **Directeur de la section pharmacie**

Maîtres de conférences des universités-praticiens hospitaliers

- BARRA Anne, immuno-hématologie
- BINSON Guillaume, pharmacie clinique
- THEVENOT Sarah, hygiène, hydrologie et environnement

Maîtres de conférences

- BARRIER Laurence, biochimie générale et clinique
- BON Delphine, biophysique
- BRILLAULT Julien, pharmacocinétique, biopharmacie
- BUYCK Julien, microbiologie
- CHAUZY Alexia, pharmacologie fondamentale et thérapeutique
- DEBORDE-DELAGE Marie, chimie analytique
- DELAGE jacques, biomathématiques, biophysique
- FAVOT-LAFORGE Laure, biologie cellulaire et moléculaire (HDR)
- GIRARDOT Marion, biologie végétale et pharmacognosie
- GREGOIRE Nicolas, pharmacologie et pharmacométrie (HDR)
- HUSSAIN Didja, pharmacie galénique (HDR)
- INGRAND Sabrina, toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile, pharmacochimie
- PAIN Stéphanie, toxicologie (HDR)
- PINET Caroline, physiologie, anatomie humaine
- RIOUX-BILAN Agnès, biochimie – **Référente CNAES – Responsable du dispositif COME'in**
- TEWES Frédéric, chimie et pharmacotechnie
- THOREAU Vincent, biologie cellulaire et moléculaire
- WAHL Anne, phytothérapie, herborisation, aromathérapie

Maîtres de conférences associés - officine

- DELOFFRE Clément, pharmacien
- ELIOT Guillaume, pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwin, pharmacien

ENSEIGNEMENT DE L'ANGLAIS

- DEBAIL Didier, professeur certifié

Plan de la thèse

Plan de la thèse **1**

Liste des abreviations **3**

Liste des figures **3**

Introduction **4**

Chapitre 1 : Antibiotiques et antibiorésistance **5**

1.1 Les antibiotiques 5

1.1.1 Les mécanismes antibiotiques 5

1.1.1.1 Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire 6

1.1.1.2 Lyse de la membrane plasmique ou altération de ses fonctions 6

1.1.1.3 Inhibition de la synthèse protéique 7

1.1.1.4 inhibition de la synthèse d'acides nucléiques 7

1.1.1.5 Blocage de la synthèse des folates 7

1.2 L'antibiorésistance 8

1.2.1 Histoire et épidémiologie de l'antibiorésistance 8

1.2.2 Mesure de l'antibiorésistance 9

1.2.2.1 Interprétation de la CMI 10

1.2.2.2 Mesure de l'antibiorésistance en milieu clinique 11

1.2.2.3 Limite des tests de sensibilité en milieu clinique 12

1.2.2.4 Mesure de l'antibiorésistance dans l'environnement 12

1.2.3 Mécanisme moléculaire de résistance aux antibiotiques 13

1.2.3.1 Limiter l'accès aux cibles 13

1.2.3.2 Altérer la cible antibiotique 13

1.2.4 Transmission de l'antibiorésistance 14

Chapitre 2 : Modélisation de l'évolution de l'antibiorésistance **15**

2.1 Évolution de l'antibiorésistance à l'échelle de l'individu 15

2.1.1 Paramètres pris en compte dans les modèles hôtes-centré 16

2.1.2 Description d'un modèle hôtes-centré 20
2.1.3 Intérêt et limite des modèles hôtes-centré 22
2.2 Évolution de l'antibiorésistance à l'échelle de communautés 24
2.2.1 Paramètres utilisés dans les modèles communautaires 24
2.2.2 Intérêts et limites des modèles communautaires 24
Chapitre 3 : Staphylococcus aureus 25
3.1 Commensalisme de S.aureus 25
3.1.1 Les déterminants du portage nasal liés à l'exposition 25
3.1.2 Les déterminants individuels du portage nasal: 26
3.2 Épidémiologie des infections à S.aureus 26
3.3 S.aureus et l'antibiorésistance 27
3.3.1 Histoire et propagation de l'antibiorésistance 27
3.3.2 Mécanismes d'antibiorésistance 28
Chapitre 4 : Effet du portage nasale sur l'évolution de l'antibiorésistance 30
4.1 Description du modèle de simulation 30
4.1.1 La partie hôtes-centrée 31
4.1.2 La partie population 33
4.1.3 Paramétrage du modèle 34
4.1.4 Outils numériques 35
4.2 Résultats et Discussion 36
4.3 Conclusion 39
References 40
Résumé 46

Liste des abreviations

- CMI ou MIC : concentration inhibitrice minimale
- MSC : concentration minimale de selection des mutants
- MSW : fenêtre de sélection des mutants
- MRSA : *staphylococcus aureus* methicillin resistant
- MDR : souche résistante à plusieur famille antibiotiques
- PK : pharmacocinétique
- PD : pharmacodynamie

Liste des figures

- figure 1 10
- figure 2 11
- figure 3 14
- figure 4 17
- figure 5 18
- figure 6 20
- figure 7 21
- figure 8 22
- figure 9 31
- figure 10 31
- figure 11 34
- figure 12 36

Introduction

L'antibiorésistance, c'est-à-dire la résistance à un antibiotique donné causant l'échec de la thérapie antibiotique, est responsable chaque année de plusieurs milliers de morts dans le monde ($\approx$ $50000 mort/ans$ pour l'UE et les États-Unis rassemblés selon le CDC, 2022) et des millions de jours de traitement supplémentaires par an. L'antibiorésistance a donc à la fois un coût financier et humain très lourd. De plus, le nombre de souches antibiorésistantes détectées augmente et le nombre de souches multirésistantes (c'est-à-dire, des souches résistantes à plusieurs familles d'antibiotiques) augmente aussi (van Duijn et al., 2011). Cette augmentation soudaine et historique de l'antibiorésistance est directement corrélée à l'usage des antibiotiques (Blanquart 2019), plus particulièrement le mésusage des antibiotiques. En effet, les antibiotiques trop largement prescrits ou mal pris par les patients, ainsi que les antibiotiques utilisés dans l'élevage et l'agriculture en préventif contribuent largement à augmenter le taux d'antibiorésistance. En présence d'une concentration suffisante d'antibiotique, toute les bactéries ciblées meurent, mais si l'une d'elle mute ou acquiert un gène de résistance, alors elle est très fortement sélectionnée et se développe largement, car seul la bactérie résistante peut se développer dans un milieu riche en antibiotiques. Mais avec cette résistance est associé un coût en vitesse de croissance, car la majorité des mécanismes de résistance nécessitent soit d'allouer une partie des ressources à la résistance (et non pas à la croissance) soit inhiber le cycle cellulaire (et donc croître moins vite)(Andersson and Hughes, 2010). Depuis plus de 40 ans, les chercheurs ont mis au point des modèles de prédiction de l'évolution de la résistance aux antibiotiques. Ces modèles ont largement contribué à la mise en place de stratégies thérapeutiques, mais aussi de prévention efficace pour réduire la dissémination et l'augmentation de l'antibiorésistance dans le monde (Blanquart 2019; Opatowski et al. 2011). Parmi les pathogènes humains, *S.aureus* s'est fait remarquer depuis les débuts de la pénicilline, par sa capacité à développer des mécanismes d'antibiorésistance jusqu'à rendre plusieurs antibiotiques de la famille des β-lactames complètement inutilisables en thérapie (90% des souches de *S.aureus* sont résistantes à la pénicilline et la méticilline) (Peacock and Paterson 2015). Une autre particularité de *S.aureus* est son commensalisme au niveau du nez, 30% de la population humaine est porteuse saine de *S.aureus* dans leurs fosses nasales (Wertheim et al., 2005). Les individus porteurs sains, par curage nasal, déposent sur leurs mains des souches de *S.aureus* ce qui entraîne des transmissions à d'autres individus, mais aussi des auto-infections. *S.aureus* est responsable de 16% des infections nosocomiales et dans plus de 80% des cas la souche de l'infection est la même que celle retrouvée dans le nez du patient. Afin de limiter le nombre d'infections nosocomiales dûes au portage nasal, plusieurs essais cliniques ont pré-traités aux antibiotiques le nez de patients avant inclusion hospitalière et observe une baisse significative des infections nosocomiales. Néanmoins, le

rôle du portage nasal dans la diffusion de l'antibiorésistance au sein de communautés humaines n'est pour l'instant pas établi. J'ai donc créé un modèle de simulation qui permet de prédire le l'évolution du taux d'antibiorésistance au sein d'un service hospitalier, avec lequel j'ai testé la contribution du portage nasal à l'évolution du taux d'antibiorésistance.

Chapitre 1 : Antibiotiques et antibiorésistance

1.1 Les antibiotiques

Les antibiotiques sont une classe de médicaments utilisés en thérapeutique afin de prévenir ou soigner des infections d'origine bactérienne. Les antibiotiques sont un large ensemble de familles médicamenteuses qui couvrent un grand panel de modes d'actions et de type de molécules. On les rassemble sous deux mécanismes globaux : un antibiotique peut soit directement tuer, soit inhiber la croissance bactérienne. Les antibiotiques sont utilisés en thérapeutique humaine, mais aussi animale avec plus de 70 % de la consommation mondiale d'antibiotiques attribuable au domaine de l'élevage en 2013 (Van Boeckel et al. 2014).

1.1.1 Les mécanismes antibiotiques

Plusieurs antibiotiques appartenant à plusieurs familles d'antibiotiques,[1] peuvent cibler le même métabolisme/fonctions bactériennes afin d'obtenir un effet antibiotique. D'où une hypothèse largement acceptée qui est la suivante : si une souche est résistante à un antibiotique donné alors elle est résistante à tous les antibiotiques qui ont le même mécanisme d'action que celui testé. Cette hypothèse est notamment utilisée lors des tests d'antibiorésistance pour lesquels tous les antibiotiques ne sont pas testés, mais seulement certains représentants des différents modes d'actions. Les modes d'actions des antibiotiques se regroupent en cinq grandes catégories :

1. inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire
2. lyse de la membrane plasmique ou altération de ses fonctions
3. inhibition de la synthèse protéique
4. lyse ou altération des fonctions des acides nucléiques
5. blocage de la synthèse des folates

[1] une famille d'antibiotiques est un groupe de molécules, similaires au niveau de la structure chimique ou bien au niveau de l'efficacité, ainsi que des toxicité et effets secondaires éventuels

1.1.1.1 Inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire

La paroi cellulaire tient un rôle central chez les bactéries (Gram + et -), en étant la principale protection contre les stresses extérieures, ainsi que pour le maintien de la forme des bactéries qui sont soumises à des pressions osmotiques très importantes. L'intégrité de la paroi cellulaire est donc nécessaire à la survie des bactéries(Scheffers and Pinho 2005). La paroi cellulaire est une paroi poreuse qui se compose, chez les bactéries gram + comme chez les gram -, de polymères de glycanes reliés entre eux par des peptides flexibles, formant ainsi des peptidoglycanes (PG). La chaîne de glycanes, qui est la même pour la majorité des bactéries, est composée de 2 sous-unités qui s'alternent : (i) β -1,4-N-acetylglucosamine (GlcNAc); (ii) acide N-acetylmuramique (MurNAc). La synthèse des PG est catalysée principalement par deux types d'enzymes : les transglycolases et les transpeptidases. Ces enzymes assurent l'élongation des chaînes de glycanes (transglycolases) et l'ajout de peptides aux peptidoglycanes immatures (transpeptidases). Ces enzymes sont aussi la cible des premiers antibiotiques connus : les pénicillines, elles ont donc été appelées PBPs pour Penicilin Binding Proteins. Les PBPs sont ainsi la cible de plusieurs familles d'antibiotiques dont la famille des β-lactames dans laquelle se trouve les pénicillines. Les pénicillines, les carbapénèmes et les céphalosporines, qui composent la famille des bêta-lactames ,sont capables de se fixer spécifiquement aux PBPs et ainsi inhiber la formation de ponts peptidiques entre les chaînes de glycanes, ce qui inhibe la formation de peptidoglycanes. Les PBPs sont des enzymes accrochées ou accolées à la membrane plasmique (dans le périplasme chez les Gram -, dans la zone pariétale intérieure pour les Gram +) (Morlot, 2003.). Ainsi les PBPs sont directement accessibles aux bêta-lactames sans passage par un pore spécifique, ou bien via des porines dans le cas des Gram -. Une seconde famille d'antibiotiques base son efficacité sur l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire : les glycopeptides. Leur action inhibitrice provient de leur capacité de fixation directe aux peptides des peptidoglycanes, bloquant ainsi l'action des transglycolases et transpeptidases(Kahne et al. 2005).Enfin, la famille des moenomycines, anciennement utilisée comme complément alimentaire dans l'industrie d'élevage en Europe et maintenant dans la composition d'antibiotiques à destination vétérinaire. Cette famille bloque la synthèse de la paroi cellulaire, en mimant le substrat des transglycolases aboutissant à un blocage de l'enzyme en se logeant à l'intérieur de l'enzyme(Ostash and Walker 2010).

1.1.1.2 Lyse de la membrane plasmique ou altération de ses fonctions

La membrane cellulaire est une bicouche lipidique poreuse grâce à des pores et canaux sélectifs, polarisée via un déséquilibre ionique entre les deux compartiments qu'elle délimite.

À sa surface se trouvent de nombreux ensemble protéiques aux diverses fonctions. La composition protéique, saccharique et lipidique change en fonction de chaque groupe microbien et chaque espèce de bactéries. Les antibiotiques qui agissent sur la membrane cellulaire, vont agir sur des éléments qui peuvent être plus ou moins spécifiques d'un groupe microbien. La daptomycine agit en dépolarisant la membrane plasmique via un mécanisme calcium-dépendant qui entraîne alors un déséquilibre ionique dans le cytoplasme cellulaire, une diminution de la synthèse d'ATP et autres métabolismes qui seront à l'origine de la mort cellulaire (Alborn, Allen, and Preston 1991). La famille des polymyxines, dont fait partie la colistine, se fixe sur les lipopolysaccharides présents à la

surface externe de la membrane plasmique. Cette action entraîne une déstabilisation et une dégradation de ou des membranes plasmiques causant l'effet antibiotique (Falagas, Rafailidis, and Matthaiou 2010).

1.1.1.3 Inhibition de la synthèse protéique

La synthèse protéique est une fonction essentielle au développement et à la vie des cellules, grâce à l'importante richesse en protéines qui les composent. Cette synthèse a lieu au sein du ribosome qui assure l'assemblage des acides aminés suivant l'ordre indiqué par l'ARNm apporté au sein du ribosome par l'ARNt. Le ribosome est donc la cible des antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique. Ce dernier se compose de deux sous-unités qui en s'assemblant autour de l'ARNm permettent la synthèse protéique. Ces sous-unités sont caractérisées par des coefficients de sédimentation différents mesurés en Svedberg (chez les cellules procaryotes : 50S pour la grande sous-unité et 30S pour la petite). On trouve, chez les antibiotiques inhibiteurs de la synthèse protéique, deux catégories : (1) les antibiotiques ciblant la sous-unité 30S ; (2) les antibiotiques ciblant la sous-unité 50S (Etebu and Arikekpar, 2016)

Les inhibiteurs de la SU 30S agissent généralement en bloquant l'accès à l'ARNt lié à un acide aminé au ribosome. Sans apport d'acide aminé, la synthèse protéique est donc bloquée. On retrouve par exemple dans cette classe les tétracyclines, la streptomycine et la spectinomycine, etc. (Etebu and Arikekpar, 2016)

Les inhibiteurs de la SU 50S, est une sous-classe dans laquelle se trouve un très grand nombre d'antibiotiques (i.e macrolides, kétolides, linezolide, clindamycine...), qui pour la majorité vont interagir avec la fente hydrophobe de la région peptyltransferase ou alors avec la fente hydrophobique proche de l'entrée du tunnel de sortie du néo-peptide. Via ces interactions, le ribosome est bloqué et ainsi non fonctionnel (Sutcliffe 2005).

1.1.1.4 inhibition de la synthèse d'acides nucléiques

L'inhibition de la synthèse des acides nucléiques bloque à la fois la réplication de l'ADN et la duplication, mais aussi le renouvellement des protéines, diminuant ainsi les chances de survie de la bactérie. Les antibiotiques qui interagissent avec cette voie bloquent soit la réplication, soit la transcription. Les cibles moléculaires des antibiotiques de cette classe sont des enzymes : l'hélicase (quinolones), et les topoisomérases 2 et 4 des bactéries.

1.1.1.5 Blocage de la synthèse des folates

Les folates sont une famille de molécules vitale pour la survie bactérienne, car utilisée dans la synthèse de l'ADN/ARN et dans la synthèse d'acide aminé. Certains antibiotiques ciblent cette voie de synthèse en mimant les substrats des enzymes qui composent la voie métabolique des folates. Les antibiotiques, tels que les sulfamidés, vont alors se fixer aux enzymes et bloquer la voie métabolique entraînant un blocage de la synthèse des folates (Etebu and Arikekpar, 2016)

1.2 L'antibiorésistance

L'antibiorésistance se définit comme la réduction ou l'absence de sensibilité d'une souche bactérienne à un antibiotique donné. Ainsi, on considère toujours l'antibiorésistance au

travers d'un couple souche bactérienne - antibiotique. Certaines espèces bactériennes sont naturellement antibiorésistantes à certains antibiotiques. Cette résistance est dite "innée" ou "naturelle". C'est le cas de *Pseudomonas aeruginosa* qui possède une β-lactamase chromosomique inductible, lui conférant une résistance naturelle à la pénicilline ainsi qu'à d'autres antibiotiques de la même famille. L'antibiorésistance peut aussi s'acquérir au cours de l'évolution d'une souche ou population bactérienne. Ce type de résistance est dite "acquise" et représente la majeure partie de l'antibiorésistance moderne. Par exemple : de nos jours, le taux d'antibiorésistance à la pénicilline dans le cas d'infection humaine au *S.aureus* est de 90% rendant l'usage de la pénicilline inutile pour ces infections (Peacock and Paterson 2015).

1.2.1 Histoire et épidémiologie de l'antibiorésistance

La découverte de la pénicilline par Alexander Fleming en 1928 et sa production en quantités industrielles dans les années 1950, eurent pour première conséquence de soigner des maladies jusque-là incurables. S'en sont suivies, pour de nombreux antibiotiques, la découverte et la production de masse, augmentant significativement les quantités d'antibiotiques dans l'environnement (Landecker 2016). La pénicilline fût administrée à un patient pour la première fois en 1940 et le premier cas d'antibiorésistance à la pénicilline fût reporté en 1941 et depuis nous connaissons pour chaque antibiotique des souches et des mécanismes de résistance. Néanmoins, les plus anciennes traces de gène codant pour une résistance aux antibiotiques remonte à plus de 30 000 ans (D'Costa et al. 2011). Cela s'explique par la présence dans l'environnement de composés aux propriétés antibiotiques (i.e la pénicilline qui est produite par le champignon *Penicillium sp*) qui permet de se défendre et/ou gagner la compétition alimentaire. Au contact de ces composés, les bactéries développent des stratégies de résistance. Avec l'arrivée massive d'antibiotiques dans l'environnement émis par l'homme, la présence de ces gènes a fortement augmenté. Par exemple, une corrélation positive et significative a été montrée entre la concentration de sulfamides dans les eaux usées et la concentration en bactéries résistantes aux sulfamides (Gao et al. 2015).

En effet, la prévalence de l'antibiorésistance a significativement augmenté depuis les années 1945. Cette augmentation est significativement corrélée à la consommation d'antibiotiques (Blanquart 2019) L'augmentation de la prévalence de l'antibiorésistance s'explique par trois phénomènes non-exclusifs qui interviennent en des proportions différentes en fonctions des souches/espèces bactériennes : (1) l'émergence de nouvelles résistances aux antibiotiques (i.e mutations) ; (2) la diffusion de gènes de résistance au sein des communautés bactériennes (plasmides, prophage) ; (3) la diffusion de souches résistantes au sein des patients (Livermore 2000). Concernant l'émergence de nouvelles résistances : une souche sensible peut devenir résistante via mutation aléatoire. L'usage des antibiotiques n'est pas à l'origine de ces mutations, mais il forme une pression de sélection sur les souches bactériennes en faveur des souches antibiorésistantes déjà existantes. Les enzymes β-lactamases sont responsables d'une large partie de la résistance au β-lactames. Entre 1970 et 2010, le nombre d'enzymes β-lactamases connues est passé de 1 à plus de 900 (Davies and Davies 2010) La capacité de certains clones à se diffuser, a largement contribué à l'augmentation de l'antibiorésistance. Le clone USA300 qui est un clone Méticilline Résistant de S.aureus (MRSA), est un bon exemple de clone qui a d'abord diffusé

aux États-Unis puis dans le monde, jusqu'à devenir le clone majoritairement responsable d'infections à MRSA dans le monde entier (Mediavilla et al. 2012).

1.2.2 Mesure de l'antibiorésistance

La mesure de l'antibiorésistance est réalisée en situations cliniques afin d'adapter l'antibiothérapie aux résistances éventuelles de la souche pathogène. L'antibiorésistance est aussi mesurée dans l'environnement à titre de surveillance épidémiologique, ainsi que durant l'élaboration de nouveaux antibiotiques. Mesurer l'antibiorésistance permet donc de caractériser la sensibilité et le degré de sensibilité de la souche (Balouiri, Sadiki, and Ibnsouda 2016). En pratique, pour déclarer une souche bactérienne sensible ou résistante, on mesure sa CMI. La CMI (ou MIC) est la Concentration Minimale Inhibitrice à partir de laquelle la croissance bactérienne est complètement inhibée.

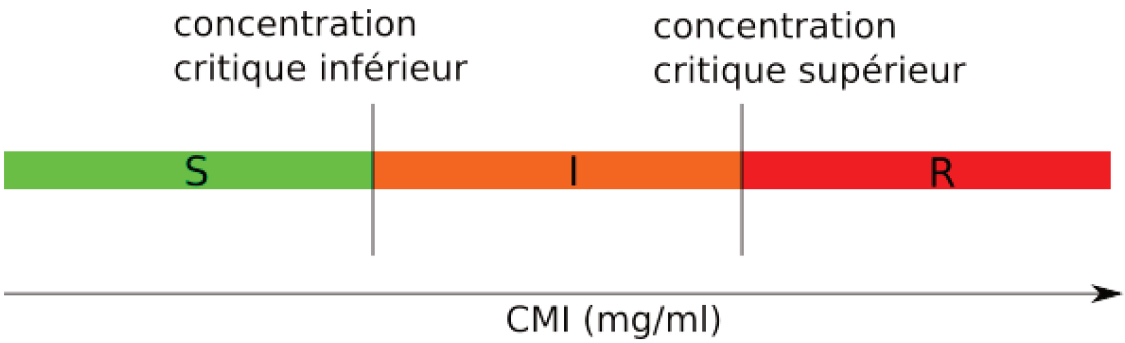

Figure 1 – Selon l'EUCAST ("EUCAST: Clinical breakpoints and dosing of antibiotics," n.d.), un microorganisme est catégorisé sensible "S" quand il y a une forte probabilité de succès thérapeutique en utilisant des doses standards. Un microorganisme est classé "I" pour "sensible à haute dose", quand il y a une forte probabilité de succès thérapeutique via une augmentation des doses antibiotiques par rapport aux doses standards. "R" pour "résistant" quand il y a une forte probabilité d'échec thérapeutique. Les concentrations critiques ne sont pas nécessairement deux, il est même courant qu'il n'y en ait qu'une seule et donc deux états possibles "S" et "R". De plus, les concentrations critiques varient en fonction de la voie d'administration ainsi que du schéma thérapeutique (nombre de doses / jour et concentration des doses)

1.2.2.1 Interprétation de la CMI

La CMI seule ne permet pas de déterminer le caractère sensible "S", intermédiaire "I" ou résistant "R" d'une souche. Pour chaque antibiotique sont déterminées des concentrations critiques à partir de données épidémiologiques et cliniques. La sensibilité de la souche est alors déterminée en fonction de la position de la CMI par rapport à ces concentrations (cf Fig 1).

1.2.2.2 Mesure de l'antibiorésistance en milieu clinique

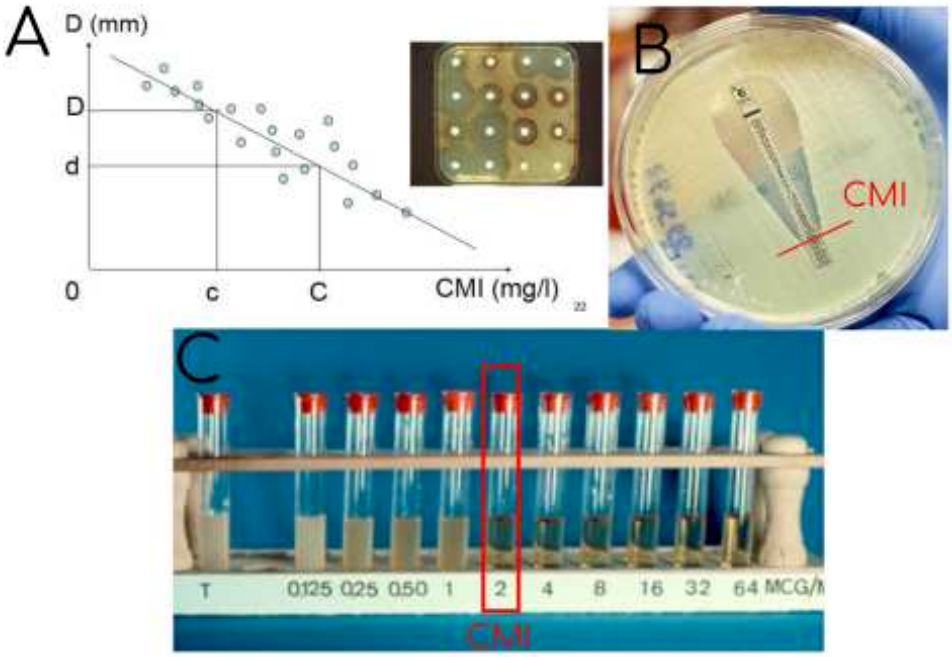

Figure 2 – L'antibiogramme est un examen qui vise à tester la sensibilité d'une souche bactérienne préalablement isolée à un ou plusieurs antibiotiques. Cet examen, peu importe la technique utilisée, se pratique toujours sur une souche bactérienne pure, et donc préalablement isolée. À partir d'un échantillon pur de la souche à tester, l'antibiogramme est réalisé dans un milieu de culture solide ou liquide en fonction des exigences de culture de la souche bactérienne.(A) La méthode de dilution sur gel est réalisé à partir d'un inoculum standardisé du pathogène placé sur le milieu de culture (gel d'agarose). Ensuite, sont ajoutés des disques de papier d'un diamètre 6mm, imbibés de l'antibiotique à tester. Les disques ainsi placés vont diffuser la substance qu'ils contiennent graduellement, créant un gradient de concentration de substance autour du disque. Le gel est alors placé en étuve, dans des conditions permettant le bon développement du pathogène. Après un temps de pousse qui dépend du pathogène (généralement 16h pour des bactéries) on peut observer autour des disques, des auréoles d'un diamètre plus ou moins grand. Les auréoles correspondent aux concentrations où le pathogène n'a pas pu se développer à cause de l'effet antibiotique de la substance d'une part, et de la sensibilité du pathogène d'autre part. La CMI est calculée à partir du diamètre du cercle d'inhibition et de la relation diamètre-CMI (préalablement établie). Une méthode très similaire au test de diffusion avec des disques est couramment utilisée, dans laquelle les disques sont remplacés par des bandelettes (B) imbibés d'une substance antibiotique (bandelettes E-Test) avec un gradient de concentration. Ainsi, le résultat obtenu est à la fois qualitatif, mais aussi quantitatif, puisque cette méthode donne accès directement à une estimation de la CMI (trait rouge)(Balouiri et al., 2016). (C) Cette dernière méthode utilise un gradient de concentration en antibiotiques répartis en différents puits en milieu liquide. Est ajouté à chaque puits un inoculum standardisé de pathogène et placé dans les conditions standards de pousse du pathogène. À la fin de la période d'incubation, la turbidité des puits est observée en suivant le gradient de concentration. Une turbidité importante correspond à un bon développement du pathogène. Ainsi la CMI est déterminée par le premier puits où la turbidité est faible voir nulle. Ici, par exemple, la CMI (rectangle rouge), est de 2 mg/ml.

Pour la majorité des infections, ni la caractérisation de la souche pathogène, ni la sensibilité aux antibiotiques n'est réalisée. En effet, la plupart du temps les infections sont traitées par

un traitement probabiliste, utilisant des antibiotiques à spectre large qui ciblent la/les espèces bactériennes les plus susceptibles d'être à l'origine de l'infection. En cas d'échec du traitement probabiliste, la souche est caractérisée et un examen clinique est réalisé afin de choisir le traitement adapté à la souche. L'examen clinique de référence pour la mesure de la sensibilité d'une souche bactérienne est l'antibiogramme (Fig 2). Un antibiogramme est aussi réalisé en cas d'infection grave ou récidivante, ou encore chez les patients immunodéprimés. Pour certaines infections où l'on sait que le taux de résistance est élevé ou alors des infections nosocomiales, un antibiogramme est réalisé de manière systématique.

1.2.2.3 Limite des tests de sensibilité en milieu clinique

Une limite importante aux tests de sensibilité est la culture des pathogènes. En effet, tous les pathogènes ne sont pas cultivables, néanmoins la majorité des pathogènes humain connus sont cultivables et ces tests restent donc utilisables dans le contexte médical, mais difficilement pour explorer l'antibiorésistance de souche environnementale, car difficilement cultivable. Une autre limite liée à la culture fait relativiser les résultats : l'antibiorésistance peut être environnement dépendante, c'est-à-dire que l'antibiorésistance peut s'exprimer uniquement en présence de certaines substances, ou uniquement sous un certain stress biotique. Or les tests se font dans un environnement de culture optimal où le pathogène n'est pas dans le même environnement que dans le patient. Ainsi l'antibiorésistance mesurable avec ces tests se réduit à l'antibiorésistance en milieu de culture standardisé. Il existe alors une différence entre la sensibilité aux antibiotiques observée lors des tests et la sensibilité du pathogène chez le patient. Seule la sensibilité du/des pathogène(s) est testée. La sensibilité aux antibiotiques du reste des bactéries contenues dans l'environnement infectieux reste inconnue. Or cet environnement peut contenir des bactéries résistantes à l'antibiotique choisi pouvant soit transmettre leur résistance au pathogène par transferts génétiques horizontaux (HGT), soit se propager, causant une deuxième infection comme dans le cas de colite à *Clostridium difficile* due à sa prolifération après la disparition des bactéries commensales et infectieuses due aux antibiotiques. Les tests de sensibilité aux antibiotiques sont biaisés par la limite de culture (toutes les souches bactériennes ne sont pas cultivables), par l'effet du milieu de culture sur le phénotype du pathogène et enfin par l'observation des pathogènes uniquement.

1.2.2.4 Mesure de l'antibiorésistance dans l'environnement

Ces mesures sont réalisées pour répondre à différents objectifs qui sont : (1) mesurer l'antibiorésistance naturelle à un nouveau composé antibiotique afin d'évaluer en partie le risque d'émergence et de propagation de souche résistante à ce nouveau composé ; (2) mesurer les impacts de l'usage des antibiotiques sur la présence des souches antibiorésistante dans l'environnement ainsi que caractériser leur distribution géographique (Gao et al. 2015) ; (3) mesurer les concentrations nécessaires au maintien de l'antibiorésistance dans l'environnement. Ces types de mesures utilisent deux approches, la culture de bactéries trouvées dans l'environnement en milieu antibiotique et la détection de séquences ADN connues comme responsables de phénotypes antibiorésistants dans des bactéries préalablement sélectionnées pour leur caractère résistant (Stanton et al. 2020).

1.2.3 Mécanisme moléculaire de résistance aux antibiotiques

On distingue deux formes principales de mécanisme de résistance :

1.2.3.1 Limiter l'accès aux cibles

Soit en augmentant l'imperméabilité de la paroi cellulaire aux antibiotiques, soit en augmentant l'efflux de molécules sortant de la bactérie. Concernant la perméabilité de la paroi, les molécules hydrophiles entrent dans la bactérie via les porines (canaux membranaires non spécifiques). En inhibant les porines ou en les remplaçant par des canaux plus sélectifs, la perméabilité aux molécules hydrophile est grandement réduite et cela augmente la résistance aux antibiotiques hydrophile. Les bactéries Gram - sont naturellement moins perméables que les Gram +, grâce à leur double membrane, les rendant naturellement plus résistantes aux antibiotiques hydrophiles. Les pompes d'efflux peuvent expulser activement un large panel d'antibiotiques et sont une source majeure d'antibiorésistance chez les Gram -. Certaines pompes d'efflux sont peu spécifiques et transportent en dehors de la bactérie un large panel de molécules très hétéroclites et sont appelées pompes d'efflux *Multidrug résistance* (MDR). Lorsque les pompes MDR sont surexprimées, elles confèrent un haut niveau d'antibiorésistance à de nombreux antibiotiques utilisés en clinique (i.e AcrB chez *E.Coli*, MexB chez *P.aeruginosa*) .

1.2.3.2 Altérer la cible antibiotique

Par mutation, modification ou protection, permet aux bactéries de générer de l'antibiorésistance, car la majorité des antibiotiques se lient spécifiquement à leur cible et toute modification de structure permet (en fonction de la spécificité de l'antibiotique pour sa cible) de réduire partiellement ou intégralement l'interaction de l'antibiotique avec sa cible. Une simple mutation ponctuelle peut modifier la structure d'une cible antibiotique et donc réduire ou bloquer la liaison entre la cible et l'antibiotique. Cette mutation, chez un seul individu, va par reproduction envahir toute la population en présence d'antibiotiques qui par son action favorise et sélectionne les souches antibiorésistantes. La liaison entre la cible et l'antibiotique peut aussi être empêchée par la présence de protéines bloquant l'accès au site. Ces protéines peuvent être des protéines mutées pour se lier spécifiquement ou plus fortement au site, ou bien des protéines surexprimées. Enfin, certaines résistances se traduisent par la modification/destruction directe de la molécule antibiotique soit par hydrolyse de la molécule (ex : les β-lactamases qui viennent casser le cycle des β-lactames) soit par transfert de groupe chimique, empêchant alors l'antibiotique de se lier à sa cible. (Blair et al. 2015)

1.2.4 Transmission de l'antibiorésistance

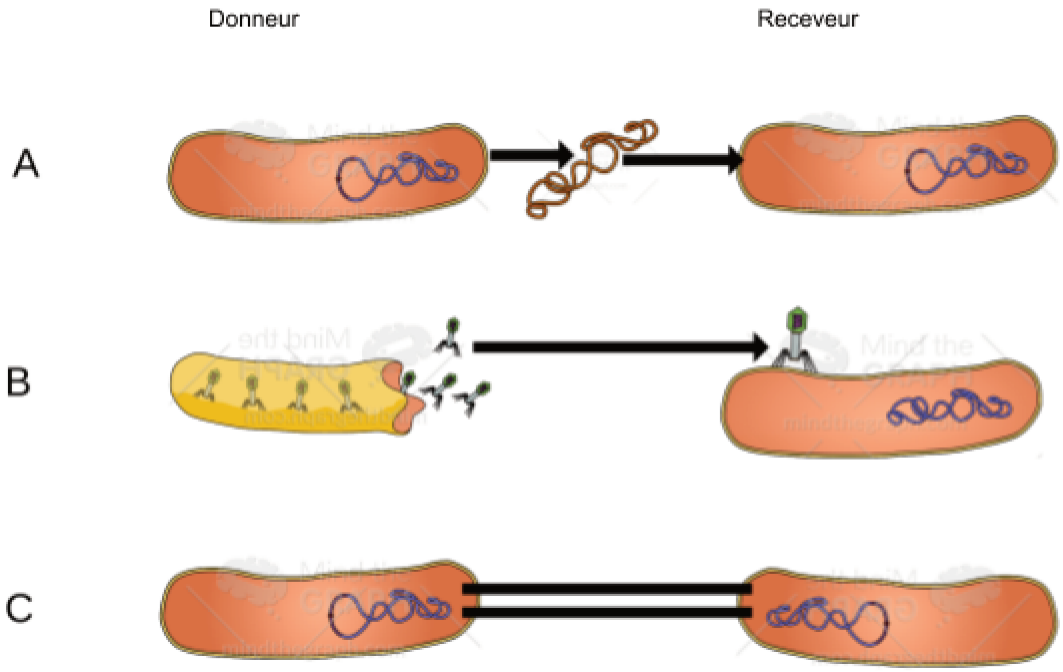

Figure 3 – Illustration des différents mécanismes de transfert horizontal de gènes chez les bactéries. (A) la transformation ; (B) la transduction ; (C) la conjugaison

Les supports dans lesquels sont stockés les gènes de résistance sont l'ADN nucléaire et les plasmides. Cette information peut être transmise de deux manières à une nouvelle cellule : (1) transmission verticale ; (2) transmission horizontale. La transmission verticale consiste en la duplication cellulaire d'une cellule mère en deux cellules filles. Au cours de la mitose bactérienne, l'ADN nucléaire et plasmidique est transmis aux cellules filles. Durant son existence, une bactérie peut acquérir de l'ADN exogène par transfert horizontal. Le transfert de gène horizontal a un énorme impact sur la plasticité des génomes et la capacité d'adaptation des bactéries. Les éléments transférés horizontalement sont impliqués dans la dissémination de l'antibiorésistance et des gènes de virulence, ce qui contribue à l'émergence de "superbugs" (i.e MRSA) (Juhas 2015). Les bactéries emploient différents mécanismes pour transmettre de l'ADN à d'autres individus de la même espèce ou non. Ces mécanismes sont la transformation ; la transduction et la conjugaison (cf Fig 3).

La transformation, consiste à intégrer de l'ADN présent dans l'environnement. C'est un procédé assez complexe qui s'exécute en deux parties : (1) l'ADN environnemental est transféré de la surface à la membrane cytoplasmique ; (2) l'ADN environnemental traverse la membrane via un canal conservé et spécifique (i.e système de sécrétion type II ou type IV)

La transduction, l'ADN est transféré à l'aide de bactériophages. En produisant des particules similaires à des phages (prophages), la bactérie diffuse une partie de son ADN au sein d'autres bactéries (sans tenir compte de l'espèce). Un exemple bien connu est le cas de *S.aureus* et de ses régions/îlot de pathogénicité (SaPIs). Ses régions génomiques codent pour des toxines ainsi que des facteurs de virulence et sont capables d'excision, réplication et de codage pour des particules de phages permettant la transduction de cette séquence.

La conjugaison, emploie un système de canaux pour transmettre de l'ADN à la cellule réceptacle. Seul de l'ADN plasmidique peut être transmis par cette méthode.
Ces différents mécanismes sont largement responsables dans la transmission de l'antibiorésistance. Ce mode de transmission n'étant pas espèce spécifique, un grand nombre de souches/espèces ont acquis des traits de résistance par ce biais-là.

Chapitre 2 : Modélisation de l'évolution de l'antibiorésistance

L'antibiorésistance est un problème croissant, à la fois en terme de prévalence des souches antibiorésistantes dans la population et les hôpitaux (Livermore 2000; Gould 2008), mais aussi en terme d'intensité, avec une fréquence croissante de souches à résistances multiples (MDR) (Opatowski et al. 2011). Chaque année, l'antibiorésistance est responsable de 25000-45000 morts en Europe (CDC ,2022). De plus, l'antibiorésistance gagne en prévalence et la multirésistance augmente, diminuant le nombre d'antibiotiques efficaces. Face à cette problématique croissante depuis les débuts de la mise sur le marché des premiers antibiotiques, la communauté scientifique a cherché des méthodes de gestion de l'antibiorésistance afin de limiter la diffusion de l'antibiorésistance au sein de la population. Les modèles mathématiques de prédiction de l'évolution de l'antibiorésistance ont largement contribué à l'amélioration des politiques publiques, des schémas et stratégies thérapeutiques. On peut séparer ces modèles mathématiques en deux catégories : (1) ceux centrés sur l'évolution de l'antibiorésistance à l'intérieur d'un patient ; (2) ceux centrés sur l'évolution de l'antibiorésistance à l'échelle de communautés humaines. Dans cette partie, je vais présenter ces deux approches, les concepts et hypothèses sous-jacents ainsi que quelques-uns des résultats majeurs apportés par ces modèles.

2.1 Évolution de l'antibiorésistance à l'échelle de l'individu

Les modèles d'évolution de l'antibiorésistance dans l'hôte visent à étudier l'effet des types d'antibiotiques , de doses et de durées de traitement sur l'évolution de l'antibiorésistance chez le patient. L'hôte est simplifié à l'extrême en un seul compartiment où l'évolution des bactéries sera modélisée. Dans cet unique compartiment, la concentration en antibiotiques est modélisée via des modèles pharmacocinétiques. Les modèles hôte-centrés ne comportent généralement que deux populations bactériennes : la population sauvage, par défaut sensible (S) et une population de clones mutants antibiorésistants (R)(Yu et al. 2018; Blanquart 2019; Day and Read 2016). Les populations bactériennes commensales autres que l'espèce ciblée ne sont que très rarement modélisées. On considère qu'au sein de ces populations, les caractéristiques sont constantes (e.g vitesse de croissance,

antibiorésistance). Les échelles de temps de simulation sont courtes (de 1 semaine à 1 mois maximum).

2.1.1 Paramètres pris en compte dans les modèles hôtes-centré

Les modèles hôtes-centré se composent d'un modèle pharmacocinétique (Pk) pour la concentration antibiotique ainsi que d'un modèle pharmacodynamique (Pd), qui prend en compte les caractéristiques des bactéries (MIC et *fitness cost*), à deux populations. Le taux de mutation des bactéries peut aussi être pris en compte.
Dans ces modèles, les souches antibiorésistantes (R) sont en compétition pour les ressources avec une population de souches sensibles (S). Leur résistance se caractérise par une concentration minimale inhibitrice supérieure à celle des souches résistantes. Le *"Fitness cost"* (ou coût en valeur sélective) (voir Box1) est un paramètre central pour expliquer la coexistence dans le temps des deux populations. Il traduit le fait que les populations résistantes ont une croissance généralement inférieure aux souches sensibles en absence d'antibiotiques , c'est-à-dire une fitness moins bonne ($w_R < w_S$). Plus la CMI est importante et plus la valeur sélective du génotype diminue (Fig4) (Melnyk AH et al, 2014). Une partie des variants (génotypes) échappent complètement à cette corrélation, car ils possèdent une fitness ≥ 1 et une CMI considérée comme résistante. Cette observation peut s'expliquer par l'apparition de mutations compensatoires qui réduisent le coût en fitness de l'antibiorésistance. Bien que la probabilité d'apparition d'une mutation compensatoire soit très faible, ces mutations offrent un avantage sélectif dans un environnement où les antibiotiques sont souvent présents, permettant à la souche de se maintenir et de se propager.

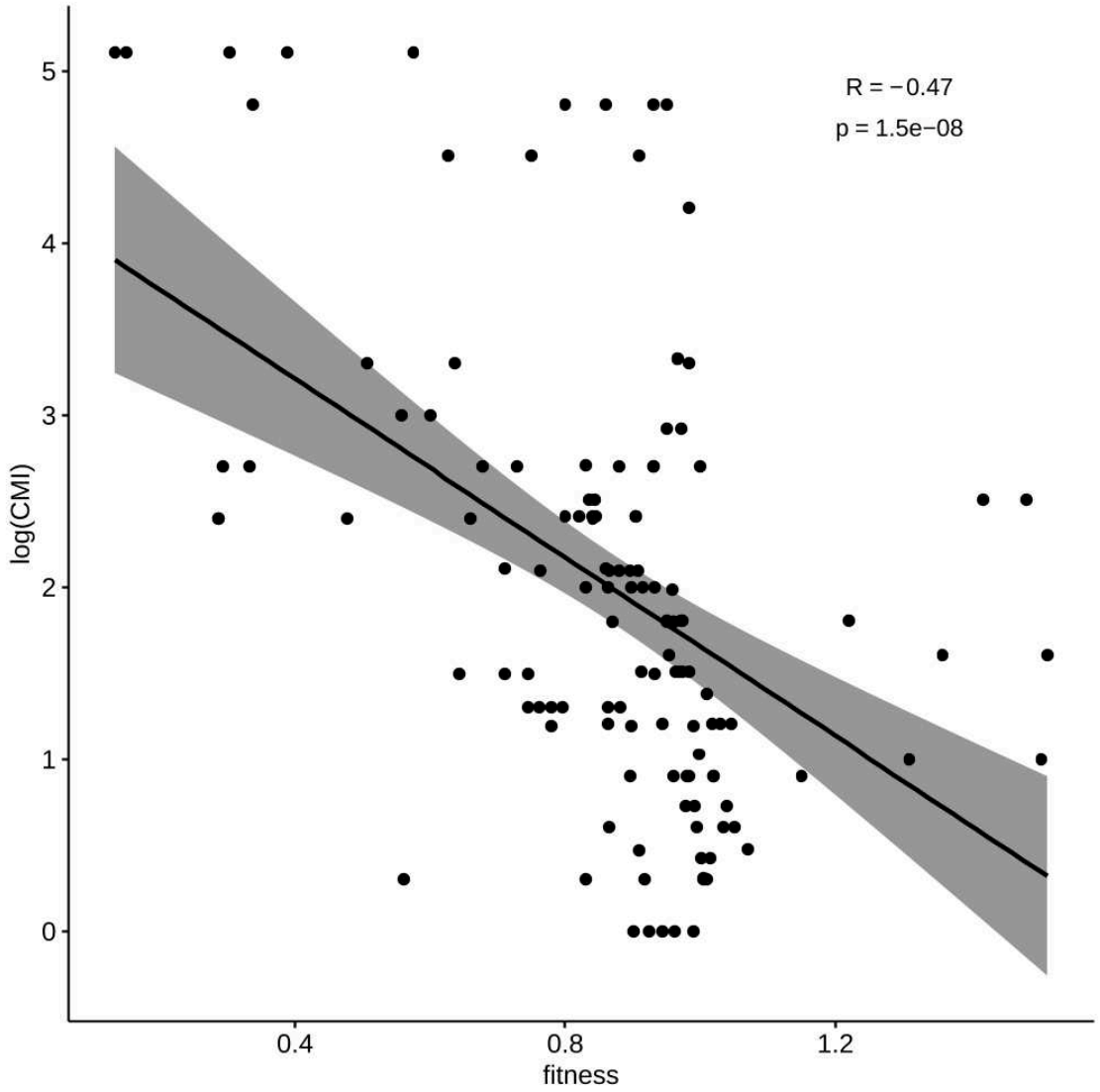

Figure 4 – Distribution du logarithme des valeurs de CMI en fonction des valeurs de fitness associées à la mutation. Plus l'antibiorésistance est importante et plus la fitness associée diminue (R=-0.47). Sont représentés en plus la régression linéaire et l'intervalle de confiance à 95%. Les données représentées proviennent de Melnyk AH et al, 2014.

Chez les bactéries, le taux de mutation[2] est estimé de l'ordre de $\approx 1.10^{-9}$ par nucléotides, par individus et par générations. Ce taux peut évoluer en présence d'antibiotiques via les voies de réponse au stress tel que SOS et rpoS pour atteindre 10^{-8} (Rodríguez-Rojas et al., 2014). L'effet de ses mutations sur la fitness est réparti comme suit : la majorité des mutations est sans effet sur la fitness (neutre), le reste est principalement délétère et une minorité à un effet bénéfique sur la fitness. La probabilité qu'une mutation bénéfique apparaisse dans un gène au cours d'une division cellulaire est de $\approx 7,6.10^{-11}$ (Kassen &

[2] Ici le taux de mutation désigne, la probabilité de mutation pour une base et pour une division cellulaire

Bataillon, 2006). Ces probabilités sont assez faibles, mais les larges tailles de population et le cycle de division extrêmement court des bactéries les rendent probables au point d'être intégrées dans les modèles d'évolution individu centré en cas de temps d'observation long (Kassen & Bataillon, 2006; Levin et al., 2000). En effet, en présence d'antibiotiques les mutations conférant une antibiorésistance et donc un avantage sélectif, sont sélectionnées. L'impact des mutations *de novo* est négligeable pour des traitements courts ($\approx$ 1 semaine), mais pas pour des traitements longs (Blanquart 2012). La longue exposition aux antibiotiques augmente les probabilités d'émergence de mutations compensatoires[3] au sein des populations bactériennes.

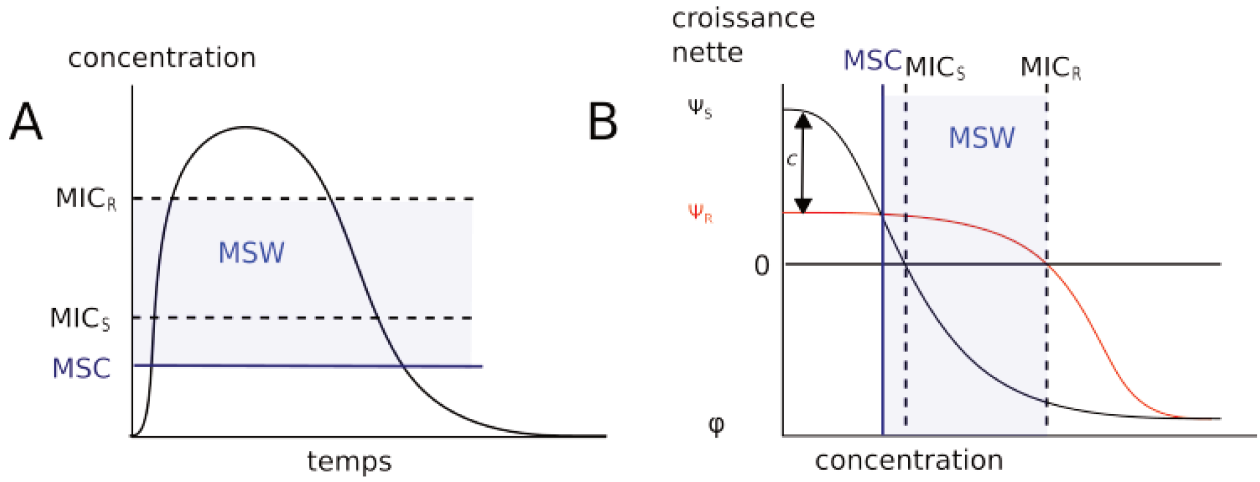

Figure 5 – Représentation graphique du concept de MSW (fenêtre de sélection des mutants). (A) Illustration de la MSW dans un système pharmacocinétique mono dose. (B) La MSW se définit par l'écart entre la MIC_R *et la MSC. La MSC est la concentration à partir de laquelle la croissance nette des souches résistantes est supérieure à celle des sauvages. La croissance nette est calculée par une fonction de pharmacodynamique (Yu et al, 2018), qui prend en compte la MIC, le paramètre de Hill k qui décrit la pente de la courbe, la croissance nette en absence d'antibiotiques* ϕ *(avec* $\phi_R = \phi_S - c$*) et enfin* φ *le taux de croissance minimale.*

[3] mutation qui restaure partiellement ou entièrement la fitness en absence d'antibiotiques chez les populations résistantes

Box1 : La Fitness :

La fitness (w), valeur sélective, mesure la capacité d'un individu (ici une bactérie) à se reproduire et survivre dans un environnement donné. Chez les bactéries, on mesure la fitness au travers du taux de croissance. La fitness s'exprime aussi en relatif, comme le ratio entre le taux de croissance de deux souches bactériennes en compétition (Lenski et al, 1991). On considère que par défaut la fitness relative d'un génotype vaut 1 et tout écart à cette valeur s'exprime dans le coefficient de sélection du génotype (s). Soit la fitness relative d'un génotype w = 1 + s. Il est important de noter que la fitness relative n'a pas d'unité.

La **concentration minimale inhibitrice**[4] est, elle aussi, un élément déterminant pour modéliser l'évolution de l'antibiorésistance chez l'individu. Plus particulièrement l'écart entre la MIC_R et la MSC (concentration sélective minimale),[5] qui définit la MSW (fenêtre de sélection des mutants) (Fig 5A), est un paramètre prédictif important qui rassemble les notions de "Fitness cost" et de MIC tel que définit dans Yu et al,2018 (Fig 5B). Dans les modèles classiques, ça n'est pas la MIC qui est utilisée, mais l'EC50 (e.g la concentration d'antibiotiques nécessaire pour diviser par 2 la concentration en bactéries dans le milieu de culture). On obtient l'EC50 à partir d'une relation MIC/EC50 obtenue préalablement dans des tests in vitro de bactéricidie (Nielsen and Friberg 2013).

[4] la MIC est la plus petite concentration en antibiotique nécessaire pour inhiber la croissance d'une bactérie

[5] La MSC est la concentration minimale à partir de laquelle les mutants sont avantagés par rapport aux souches sensibles et donc sélectionnées

2.1.2 Description d'un modèle hôtes-centré

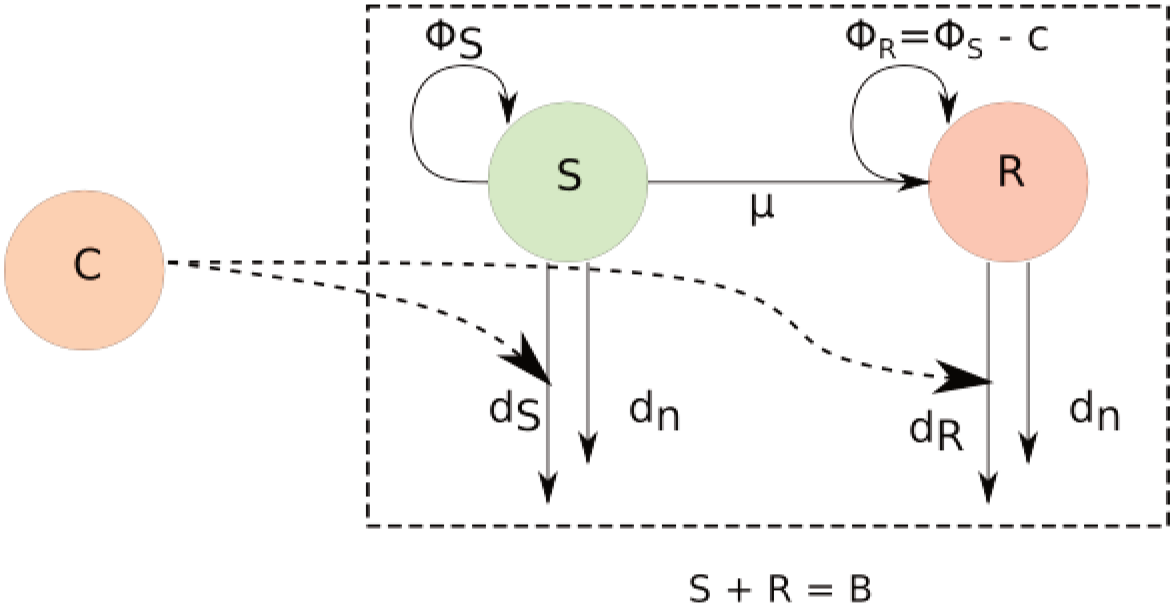

Figure 6 – Représentation de modèle à un compartiment B où se développent deux populations bactériennes R et S exposées à une concentration d'antibiotiques C.

Le modèle décrit Figure 6 est un modèle simple à un seul compartiment de capacité finie *Bmax* à l'intérieur duquel deux populations de bactéries se développent, les bactéries sensibles (S) et résistantes (R). On fait l'hypothèse que les caractéristiques des populations bactériennes sont figées durant la période de temps étudiée. Dans ce modèle, la concentration en antibiotiques (C) est constante (i.e le patient est sous perfusion d'antibiotiques). Ce modèle intègre les équations de (Yu et al. 2018), qui permettent d'utiliser directement la MIC, plutôt que de passer par l'EC50 (Nielsen and Friberg 2013). Dans ce modèle les deux populations sont en compétition, tel que :

$$\frac{dS}{dt} = G_S(1 - \mu) * S * (1 - \frac{R+S}{Bmax}) - [d_n + d_s] * S$$

$$\frac{dR}{dt} = G_R * R * (1 - \frac{R+S}{Bmax}) + G_S * \mu * S * (1 - \frac{R+S}{Bmax}) - [d_n + d_r] * R$$

Où S et R, sont respectivement la taille de la population sensible et résistante. $Bmax$ est la capacité maximale du milieu. μ est le taux de mutation, où les mutations permettent de transformer un individu sensible en résistant. G est la constante de croissance intrinsèque de la population bactérienne i et se définit comme suit :

$$G_i = \phi_i - d_n$$

Tel que ϕ_i est le taux de croissance maximale de la bactérie (soit $\phi_i = 1\ h^{-1}$ de sorte qu'au maximum la population double en une génération) et d_n le taux de mortalité naturel en h^{-1}. Pour ϕ_R (le taux de croissance maximale de la population résistante) on considère le coût de l'antibiorésistance qui réduit la croissance tel que $\phi_R = \phi_S - c$ où c est le "fitness

cost" de l'antibiorésistance. Enfin d_i est le taux de mortalité engendré par l'antibiotique à la population i tel que:

$$d_i = \frac{(\phi - \varphi) * (C_t / MIC_i)^k}{(C_t / MIC_i)^k - (\varphi / \phi_i)}$$

Avec φ le taux de croissance minimal, C_t la concentration à l'instant t (comme précédemment cité, dans ce modèle $C_t = C_0$) et enfin MIC_i est la concentration minimale inhibitrice de la population i. Pour finir k décrit la pente de la sigmoïde (appelé aussi coefficient de Hill).

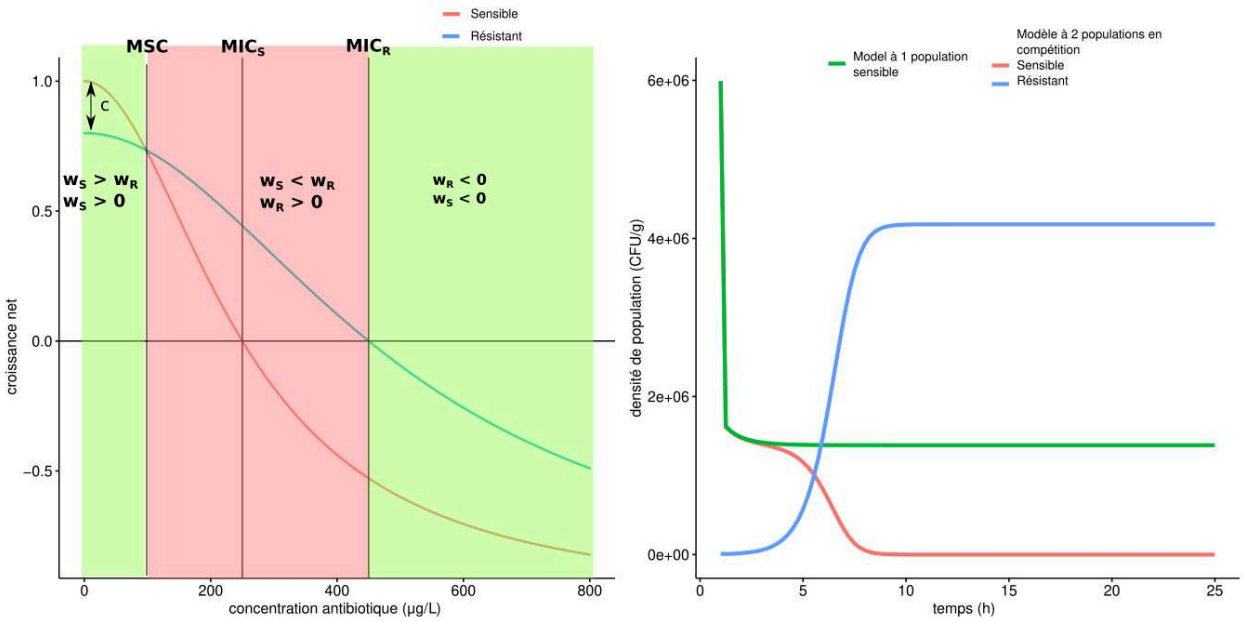

Figure 7 – Exemple de résultats produits avec l'exemple de modèle hôtes-centré. (A) Évolution de la croissance nette de chacune des deux populations en fonction de la concentration en antibiotiques (µg/L). Les régions vertes représentent les intervalles où la population résistante n'est pas sélectionnée. À l'inverse, la région rouge correspond à l'intervalle de concentration où la population résistante est sélectionnée (MSW). Les valeurs de paramètres utilisées pour ce résultat sont les suivantes : $\phi_S = 1\,h^{-1}; c = 0.2; \phi_R = 1 - c = 0.8\,h^{-1}$ $MIC_R = 450\mu g/L; MIC_S = 250\mu g/L; \mu = 1e-8; \varphi = -1\,h^{-1}; k = 2$ *(B) Comparaison de l'évolution de la population sensible, en absence (modèle à une population) ou en présence de compétition (modèle à deux populations) avec une population résistante aux antibiotiques. La concentration en antibiotiques est fixée à 200 µg/L, les autres paramètres ont les mêmes valeurs que pour (A). L'évolution des populations a été observée sur 25 h (~ jusqu'à l'équilibre). De plus* $Bmax = 1e6$ *CFU/g et* $R = 1e4$ *CFU/g à* $t = 0$

La compétition inter populations joue un rôle prépondérant dans l'évolution des populations et donc de l'antibiorésistance. En effet, Figure 7B, en absence de compétition, la population sensible stabilise rapidement sa taille de population à $\approx 1.6e6\ CFU/g$, alors qu'en présence de compétition, la population sensible disparaît complètement et se fait

remplacer par la population résistante. Ce remplacement s'explique par une croissance nette des bactéries résistantes supérieure à celle des bactéries sensibles pour une concentration (C = 200 µg/L) (cf Fig 7A quand C=200 µg/L). Le cas représenté Figure 7B est un cas particulier, car les deux populations ont un taux de croissance net positif, mais la compétition entraîne tout de même la sélection de la population résistante. Plus largement, le cas décrit Figure 7B se trouve dans la MSW (cf Fig 5B) représenté en rouge Figure 7A. La MSW désigne l'intervalle de concentration dans lequel la population résistante est sélectionné (Mutant Selection Window) et dépend uniquement du "Fitness cost" de la résistance à MIC_R et MIC_S constant.

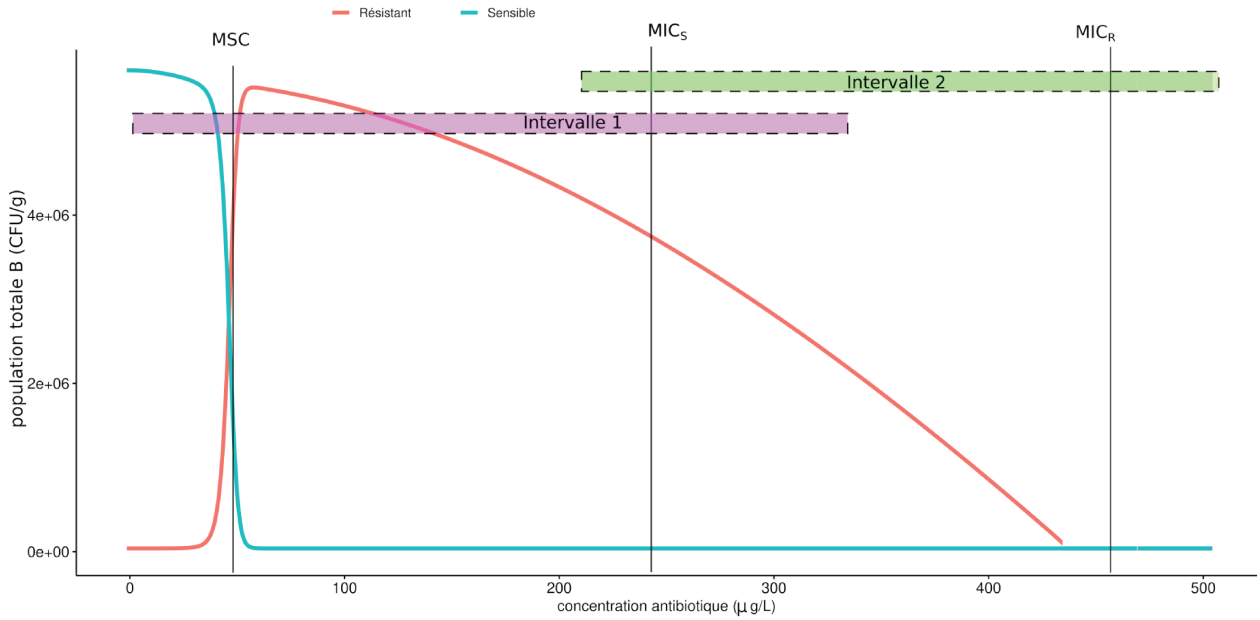

Figure 8 – Évolution des densités de population à l'équilibre (i.e après 250 h d'évolution) en fonction de la concentration en antibiotiques dans le milieu. Les intervalles 1 et 2, représentent des intervalles de concentration thérapeutique factices, choisis à titre d'illustration. Les paramètres du modèle sont les mêmes que ceux utilisés Figure 7A

2.1.3 Intérêt et limite des modèles hôtes-centré

Les modèles d'évolution hôtes-centré permettent de prédire l'efficacité de certaines stratégies et schémas thérapeutiques. Dans l'exemple présenté Figure 8, deux intervalles thérapeutiques sont représentés. Le modèle permet de choisir la meilleure stratégie en fonction de l'intervalle thérapeutique disponible. Dans le cas de l'intervalle 1, la meilleure stratégie thérapeutique est d'utiliser une concentration d'antibiotiques inférieure à la MSC$\approx 50\mu g/L$, c'est-à-dire avant que la population résistante ne soit avantagée. Toutes autres doses dans cet intervalle ne feraient que sélectionner la population résistante et entraînerait un échec thérapeutique. Il faut néanmoins que la dose soit suffisante pour générer un effet antibiotique. Dans le cas présent, l'application en thérapeutique semble très difficile, il serait judicieux de changer d'antibiotiques. Pour le second intervalle, la meilleure solution est d'utiliser une dose permettant d'obtenir des concentrations supérieures à la $MIC_R = 450\mu g/L$ afin de supprimer la population sensible et la population résistante. Ce résultat s'inscrit dans un résultat plus large qui est : quand c'est possible, la

meilleure stratégie thérapeutique consiste à "frapper fort et tôt" (synthétisé dans (Blanquart 2019)). "Frapper fort" se justifie par deux raisons. Cela permet de s'assurer que les souches résistantes présentes dans le patient ou formé *de novo*, ne puissent pas se développer. De plus, utiliser une dose trop faible augmente les probabilités de sélection d'un mutant intermédiaire, ce qui peut potentiellement mener le mutant à la mutation et l'augmentation de sa résistance. Des doses trop faibles ne sont pas toujours dues à une erreur de schéma thérapeutique. En effet, une mauvaise adhérence au traitement ou une répartition tissulaire très hétérogène de l'antibiotique (ce qui forme des "refuges" ou "sanctuaire" pour les bactéries), conduisent à des concentrations antibiotiques potentiellement trop faibles. Néanmoins, "frapper fort" n'est pas toujours la meilleure stratégie pour limiter la dissémination de l'antibiorésistance. En présence de souches très résistantes chez le patient, utiliser une forte dose va certes éliminer toutes les souches sensibles et intermédiaires, mais cela sélectionne les souches très résistantes et augmente leur vitesse de dissémination dans l'hôte.
"Frapper tôt" permet de limiter l'émergence de souches résistantes quand une petite fraction de la population a un statut de résistance intermédiaire (cf Fig 1).

Les modèles hôtes-centré reposent sur de multiples hypothèses qui limitent la portée des résultats tirés de ces modèles. Les modèles hôtes-centré, par leur nature, ne considèrent pas (ou très rarement) les facteurs extérieurs à l'hôte, tel que l'apport de résistance par contact avec un autre individu. Cette hypothèse est probable pour des temps d'observation courts ($\approx$ 1 semaine), mais plus la durée d'observation augmente et moins l'hypothèse est probable. Une autre hypothèse faite est la non-interaction des bactéries considérées (sensibles et résistantes) avec le reste de la flore commensale et/ou pathogène. Cette hypothèse est d'autant moins probable que le temps d'observation est long et la concentration en antibiotique faible. En effet, dans certains cas, le transfert horizontal de gènes modifie la pathogénicité de la flore commensale ainsi que sa résistance aux antibiotiques (e.g le cas des îlots de pathogénicité SAPI chez *S.aureus* qui peuvent se transmettre à la flore commensale par transduction (Juhas 2015)). De plus, la formation de biofilm à l'aide de bactéries commensales, permet de former des "sanctuaires" et de diminuer/échapper aux antibiotiques, ce qui à terme peut permettre le développement de nouvelles formes de résistance et augmente la probabilité de transfert de gènes horizontaux (Madsen et al. 2012). De fait, ces modèles sont donc peu adaptés pour décrire des phénomènes sur de longues durées d'observation, car trop restreints par leur champ d'observation et les hypothèses sur lesquelles ils sont construits. Par exemple, ces modèles ne peuvent expliquer comment l'antibiorésistance peut se maintenir au cours du temps.

2.2 Évolution de l'antibiorésistance à l'échelle de communautés

Les modèles communautaires servent à décrire l'évolution de l'antibiorésistance à l'échelle de populations de différents types : les modèles centrés sur des communautés humaines, avec pour cas particulier les communautés hospitalières, les familles ou les écoles. Ces modèles permettent de prédire et/ou de décrire l'effet de l'exposition aux antibiotiques à l'échelle de populations. Ils sont aussi utilisés pour mesurer ou prédire la capacité d'une souche à se propager dans la population ("fitness épidémique"). Enfin, ces modèles sont utiles pour évaluer et développer les actions de santé publique ainsi que les schémas thérapeutiques. La période d'observation de ces modèles est longue, elle varie de plusieurs mois à plusieurs années. Dans ces modèles, une fraction de la population peut transiter

vers plusieurs états (avec une probabilité propre à chaque transition) et les modèles décrivent la densité de population dans chaque état au cours du temps. Enfin, tout comme le modèle hôtes-centré, les deux populations (sensible et résistant) sont en compétition.

2.2.1 Paramètres utilisés dans les modèles communautaires

Contrairement aux modèles hôtes-centré, les modèles communautaires ne prennent pas en compte les différentes dynamiques à l'intérieur de l'hôte. C'est-à-dire que l'évolution de la concentration antibiotique à l'intérieur de l'hôte n'est pas considérée ainsi que la dynamique des populations bactériennes à l'interieur de l'hôte. À la place, ces modèles considèrent un taux fixe d'évolution de la résistance intra-hôte, qui fait passer un hôte porteur de population sensible à porteur de population résistante. À l'inverse le taux de réversion, intègre la probabilité de perdre la population résistante au profit de la population sensible. Le "Fitness cost" n'est pas considéré directement, mais au travers de la "fitness épidémique" qui décrit le coût de l'antibiorésistance sur la capacité des souches à se transmettre d'un hôte à l'autre. Le taux de traitement décrit les proportions d'individus traités par mois, avec à l'opposé le taux d'arrêt de traitement.

2.2.2 Intérêts et limites des modèles communautaires

Un des apports majeurs des modèles communautaires est l'évaluation des stratégies thérapeutiques. Traditionnellement, deux stratégies thérapeutiques ont coexisté afin de limiter la sélection et la diffusion de l'antibiorésistance (Blanquart 2019) : la rotation (changer à intervalle défini d'antibiotiques) et le "mixe" (donner ensemble deux antibiotiques). Les premières études à ce sujet ont montré que la stratégie du mixe antibiotique était la plus efficace (Bonhoeffer, Lipsitch, and Levin 1997). De travaux plus récents ont montré que le "mixe" était largement dépassé par des méthodes telles que "responsive cycling", qui consiste à changer d'antibiotique dès que le patient devient symptomatique (ce qui indique que le traitement a été un échec)(Kouyos et al., 2011). Cela dit, la plupart des modèles communautaires ne considèrent pas le cas de la co-infection (sensible et résistant à l'intérieur d'un même hôte) ainsi que les interactions entre populations bactériennes. C'est pourtant un des facteurs clé du maintien de la résistance au cours du temps (Opatowski et al. 2011), et montre la nécessité de prendre en compte ces interactions.

Chapitre 3 : *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) fait partie du genre Staphylococcus qui regroupe une vingtaine d'espèces connues à présent. Le genre Staphylococcus regroupe des bactéries coques – bactéries sphériques, nommées en opposition aux bacilles qui sont en forme de bâtonnet – qui se regroupent en amas en forme de « grappe de raisin ». La majeure partie des Staphylocoques sont Gram+ et c'est le cas de *S.aureus*. La teneur en caroténoïdes de S. aureus lui confère une couleur dorée à l'origine du nom de cette espèce. Naturellement, *S.aureus* est virtuellement sensible à tout type d'antibiotiques. Pourtant, 1 an après la commercialisation de la pénicilline en 1941, les premiers cas de souche pénicilline-résistante qui sont apparues correspondaient à des souches de *S.aureus*. Tout au long de l'histoire de l'antibiorésistance, *S.aureus* s'est fait remarquer par sa capacité à

acquérir de l'antibiorésistance, limitant ainsi les options thérapeutiques. Une propriété biologique fondamentale à *S.aureus* est son portage asymptomatique dans les fosses nasales d'individus normaux (non porteur de maladie chronique ou prédisposition). En effet, 30% de la population est porteuse de *S.aureus*. Ce portage est lié à un risque accru de développer des infections nosocomiales, mais aussi une probabilité de transmission bactérienne accrue par manuportage. *S.aureus*, constitue donc un pathogène de choix pour étudier l'évolution de l'antibiorésistance à la fois par sa capacité de transmission manuportée et ces divers mécanismes de résistance.

3.1 Commensalisme de *S.aureus*

S.aureus est un pathogène commensale de l'Homme, environ 30 % de la population humaine est porteuse de *S.aureus* sous forme commensale principalement au niveau des fosses nasales, de la bouche et de la gorge. S.aureus est aussi retrouvé en des proportions mineures sur la peau, le périnée, le tube digestif d'individus sains(Wertheim et al., 2005). Le portage nasal de *S.aureus* peut être (i) constant, ça concerne 20 % (de 12 à 30%) de la population humaine adulte ;(ii) intermittent pour 30 %(de 16 à 70%)(Wertheim et al., 2005 ; Belkum et al. 2009). Du fait que le portage nasal soit le plus gros réservoir à *S.aureus*, les déterminants de son portage ont été étudiés. Deux types de déterminants au portage nasal peuvent être distingués : les déterminants liés à l'exposition ; les déterminants liés à l'individu

3.1.1 Les déterminants du portage nasal liés à l'exposition

Le personnel de santé est surexposé à *S.aureus* par rapport au reste de la population, malgré les règles d'hygiène et le protocole sanitaire. Cette surexposition qui est service dépendant entraîne une augmentation du taux de portage nasal de *S.aureus* pour les personnels de santé, le taux de portage est de 45-50 % comparé au 20% de la population générale(Rongpharpi, Hazarika, and Kalita 2013). De même pour les patients, ainsi l'hospitalisation est un facteur de risque. Pendant l'enfance, le portage nasal maternel est positivement corrélé au portage nasal infantile. De plus, les mêmes souches sont retrouvées entre la mère et l'enfant. Enfin, le fait d'allaiter au sein l'enfant est positivement associé au portage nasal, et ce, indépendamment du portage nasal de la mère(Peacock et al. 2003). Plus généralement, un proche porteur sain de *S.aureus* au niveau nasal est un facteur de risque. Le portage moyen de la population évolue en fonction des années. Le taux de portage nasal dans la population saine est passé de 37 % en 1934 (Kluytmans, Belkum, and Verbrugh 1997) à 27 % dans les années 2000 (Wertheim et al., 2005). Cette évolution semble attribuable à l'amélioration de l'hygiène et la réduction de la taille des familles. Enfin, le curage nasal est positivement corrélé avec le portage nasal. Il a été observé que la probabilité de portage nasal augmente avec la fréquence de curage nasal (Wertheim et al. 2006). Cela s'explique par la résistance de *S.aureus* à l'environnement et sa facilité à être manuporté. Les mains sont le vecteur principal de *S.aureus*, apportant au niveau nasal des colonies de *S.aureus* provenant soit de l'individu, soit de son environnement. On observe une forte augmentation du portage extra-nasal chez les individus qui sont porteurs de *S.aureus* au niveau nasal (Wertheim et al., 2005).

3.1.2 Les déterminants individuels du portage nasal:

Les enfants ont un taux de portage nasal significativement plus élevé que les adultes et ce taux varie en fonction de l'âge de l'enfant (45 % à 8 semaines ; 21 à 6 mois)(Wertheim et al., 2005 ; Peacock et al. 2003 ; Armstrong-Esther and Smith 1976). De plus, le taux de portage semble décroître avec l'âge chez l'adulte (Armstrong-Esther and Smith 1976). L'origine ethnique et le sexe (Cole et al. 2001) de l'individu sont aussi des facteurs qui déterminent le portage nasal. Certaines maladies et conditions médicales affectent aussi ce portage. Les patients diabétiques (insulino dépendant ou non), obèse, sous hémodialyse ou dialyses péritonéale, patients atteints du VIH et les patients atteints d'infection de la peau à S.aureus(Wertheim et al., 2005) sont plus susceptibles d'être porteurs de *S.aureus*. Enfin, chez certains individus, *S.aureus* est systématiquement absent de la flore nasale. Il semblerait que ça soit dû à l'absence de certains récepteurs au niveau de la paroi, qui empêcherait *S.aureus* de s'accrocher à l'épithélium nasal(Cole et al. 2001).

3.2 Épidémiologie des infections à *S.aureus*

Les infections à *S.aureus* sont majoritairement nosocomiales suite à une intervention chirurgicale au niveau de la peau ou en orthopédie, plus rarement pour des interventions cardiaques. Les interventions chirurgicales créent des portes d'entrée pour *S.aureus* qui lui permettent d'infecter les patients. *S.aureus* est aussi retrouvé dans les intoxications alimentaires, notamment dans de la viande de bœuf. *S.aureus* fait partie des 3 principaux pathogènes humains et représente la seconde cause d'infection nosocomiale (16% juste derrière *E.Coli* à 26% qui est la première cause d'infection nosocomiale selon l'INSERM). Les infections nosocomiales sont généralement dues à l'auto infection des patients avec leur propre souche commensale. Être porteur sain de *S.aureus* est donc un facteur de risque d'infection à *S.aureus*. Dans 80 % des cas d'infection nosocomiale à *S.aureus*, la souche du site d'infection est la même que la souche nasale(Peacock, Silva, and Lowy 2001 ; Eiff et al. 2001). Le portage nasal a été identifié comme un facteur de risque d'infection à *S.aureus*(Wertheim et al., 2005 ; Verhoeven et al. 2014) . Certains facteurs de risque de portage nasal sont identiques à ceux d'infection à *S.aureus* à savoir VIH, diabète ou encore problème cardiaque. Enfin, en cas de traitement pré-opératoire au niveau nasal, le risque d'infection nosocomiale à *S.aureus* diminue considérablement (RR du risque d'infection en cas de pré-TTT RR=0,42 IC[0,32;0,75] et RR=0,21 IC[0,07;0,62] en cas de chirurgie profonde (Bode et al. 2010 ; Sakr et al. 2019)). La raison semble venir du fait que chez les porteurs constants, la probabilité de retrouver *S.aureus* au niveau des différentes régions de la peau est beaucoup plus élevée que pour le reste de la population. Cette forte présence de *S.aureus* au niveau de la peau augmente grandement les chances d'infection à *S.aureus* dans le contexte de plaie. Le curage nasal est le moyen par lequel les régions extra-nasales semblent être entretenues en *S.aureus*. Ainsi, le nez est le point de départ des populations bactériennes de *S.aureus*, qui migrent via le curage nasal au travers des mains pour être disséminées partout sur le reste du corps. Les populations restent commensales jusqu'à l'apparition d'une plaie dans la peau, leur permettant alors de pénétrer le corps. En France, sur l'année de 2009, les infections à *S.aureus* durant des séjours hospitaliers pour des chirurgies orthopédiques ou cardiaques ont entraîné un surcoût de 35 millions d'euros. Le portage nasal fait donc l'objet de préventions(Bode et al. 2010 ; Levy et al. 2013) afin de limiter la sur-mortalité et le surcoût entraîné par les infections à *S.aureus*.

3.3 S.aureus et l'antibiorésistance

3.3.1 Histoire et propagation de l'antibiorésistance

Les premiers cas de *S.aureus* résistant à la pénicilline sont rapportés en 1942, soit juste un an après que la pénicilline soit utilisée en thérapeutique (Wertheim et al., 2005). Le clone de *S.aureus* pénicilline résistant phage 80/81 s'est largement diffusé, atteignant une prévalence supérieure 22% parmi les prélèvements de *S.aureus* en 1947(Belkum et al. 2009), jusqu'au point de devenir pandémique(Bode et al. 2010). Leur mécanisme de résistance est la transcription du gène blaZ qui produit une enzyme capable d'hydrolyser le cycle β-lactame de la pénicilline (β-lactamase). Le gène blaZ est très souvent retrouvé dans un transposon situé dans un plasmide. Aujourd'hui, le taux de résistance à la pénicilline chez *S.aureus* est de 90 %(Perl et al. 2002), rendant la pénicilline complètement inutile pour traiter les infections à *S.aureus*. En réaction à l'émergence de cette résistance à la pénicilline, une pénicilline semi- synthétique β-lactamase résistant a été développé sous le nom de Méticilline. Introduite en clinique en 1959, le premier rapport de résistance à la méticilline arrive en 1960. Le rapport concerne des cas de *S.aureus* meticilline-résistant (MRSA) provenant d'isolats de 3 patients du même hôpital de Colindale aux Royaume-Uni. Ces patients n'avaient jamais été traités avec de la méticilline, mais le clone résistant était le même chez les 3 patients et il s'est diffusé au sein des patients hospitalisés (Bode et al. 2010). Depuis, le taux de MRSA au Royaume-Unis a continué d'augmenter, passant de 2 % en 1990 à 40 % dans les années 2000 (Révisé dans (Kluytmans, Belkum, and Verbrugh 1997)). Le mécanisme de résistance aux β-lactames des MRSA consiste à produire une PBP modifiée possédant une plus faible affinité pour les β-lactames. La PBP modifiée est appelée PBP2a et provient de la traduction du gène mecA qui se trouve à l'intérieur d'un élément génétique mobile (MGE) nommé SSCmec (Perl et al. 2002 ; Septimus and Schweizer 2016). Contrairement à blaZ qui rend résistant spécifiquement à la pénicilline, mecA rend résistant à tous les β-lactames (les pénicillines, les cephalosporines, les carbapenèmes). On peut distinguer plusieurs étapes dans la diffusion pandémique des MRSA. À partir de l'introduction de la méticilline en clinique, c'est le variant COL (en référence à l'hôpital de Colindale où il a été isolé) qui se répand d'abord dans les hôpitaux du Royaume-Uni puis de l'Europe et aux USA. COL possède un système SSCmec de type I. Début des années 1980s, les SSCmec II et III se répandent et contribuent à la diffusion épidémique des MRSA dans les hôpitaux du monde. Les raisons pour lesquelles SSCmec II et III sont meilleurs que SSCmec I sont inconnues. Enfin, à la fin des années 1990s, l'émergence du type SSCmec IV a donné lieu à la pandémie actuelle de MRSA qui se diffuse au-delà des hôpitaux, dans les communautés, on parle alors de Community-Associated MRSA (CA-MRSA) . Le type SSCmec IV prodigue une résistance aux β-lactames tout en n'ayant aucun coût en fitness, raison de sa diffusion importante dans le monde et au sein de 9 parmi les 11 complexes clonaux de *S.aureus* (CC) existant. Deux clones ont été particulièrement diffusés : USA 400 et USA 300, tous deux porteurs de SSCmec IV(Bode et al. 2010). Aujourd'hui, le taux de MRSA parmi les prélèvements de *S.aureus*, toutes sources comprises, varie entre 10 % et 80 % (Levy et al. 2013 ; Kluytmans, Belkum, and Verbrugh 1997) en fonction des pays et des prélèvements. Néanmoins, les MRSA sont devenus des pathogènes prépondérant dans la résistance aux β -lactames, mais pas uniquement. En effet, chez les souches HA-MRSA (souche associée aux milieux médical) en plus de leur résistance aux β-lactames, on observe des résistances aux glycopetides (Vancomycine). Mais ces dernières années, avec la large diffusion des CA-

MRSA, le génotype des HA-MRSA se rapproche du génotype des CA-MRSA via l'apport de patients porteurs de CA-MRSA dans le milieu médical. C'est particulièrement visible au niveau du type de SSCmec qui passe en 10 ans de 0 % type II (majoritairement associé au milieu médical) à 30 % et 20 % de type IV (associé au CA-MRSA) à 50 %(Wertheim et al. 2006).

3.3.2 Mécanismes d'antibiorésistance

Certains clones de *S.aureus* arbore une résistance aux pénicillines, anciennement mise en évidence par un test de sensibilité à la méticilline, nommé MRSA. Ils possèdent une enzyme PBP avec une plus faible affinité pour les β-lactames. Cette faible affinité diminue fortement les chances de former le complexe PBPs – β-lactame. Il existe plusieurs sources de PBPs modifiées, soit par mutation des gènes des PBPs mais c'est très rare, soit par acquisition d'un gène codant pour une PBPs modifié et c'est le plus courant. Dans la majorité des cas, c'est donc l'enzyme modifiée nommée PBP2a qui est retrouvée chez les clones de *S.aureus* résistants à la méticilline . Cette protéine est encodée par le gène mecA qui est un gène complètement absent des clones sensibles (MSSA) et donc spécifique des MRSA. Le gène mecA est compris dans une cassette chromosomique nommée SSCmec (Panchal et al. 2020) qui est en fait un élément génomique mobile. La cassette comprend d'autres gènes aux fonctions diverses (M.Juhas .2013) : le complexe de gène mecA ainsi que ses gènes de régulation mecI et mecR ; une recombinase de cassette chromosomique **ccr** nécessaire à la mobilité de la cassette SSCmec ; ainsi que 3 régions J qui codent pour des résistances additionnelles comme à la Vancomycine ou aux métaux lourds par exemple. mecA n'est pas le seul gène spécifique au MRSA, puisqu'un ensemble de gènes impliqués, eux aussi, dans la résistance et sa dissémination sont présents (M.Juhas .2013). Comme indiqué, mecA possède des régulateurs de son expression, rendant l'expression de mecA dépendante de la présence de β-lactame. En absence de β-lactame, l'expression de mecA est réprimée par mecI qui se lie au promoteur de mecA et empêche sa transcription. En présence de β -lactames, ces derniers vont venir se fixer sur le site récepteur de mecR1 qui va entraîner son autolyse. L'autolyse de mecR1 va, par un moyen inconnu pour l'instant, entraîner la transcription de mecR2 qui va former un complexe avec mecI et libérer le promoteur de mecA et ainsi permettre la transcription de mecA. Un mécanisme complémentaire existe : la présence de β- Lactame entraîne la fragmentation de la paroi. Certains de ces fragments peuvent se complexer avec mecI et libérer le promoteur de mecA. Au sein de cultures de MRSA, une minorité de clones exhibe une résistance très élevée aux β- lactames 0,01-0,1 % (CMI > 250 **µ**g/ml d'oxacilline), le reste a une résistance relativement faible (CMI < 2 **µ**g/ml)Panchal et al., 2020). En exposant les colonies à des sous-doses de β-lactames, il est possible de changer le phénotype majoritaire vers l'antibiorésistance forte. Cette transition ne serait pas causée par la modification de l'expression de mecA en présence de β-lactame, mais par sélection des individus les plus résistants. La minorité très résistante se caractérise par des mutations rares au niveau des voies métaboliques qui amplifient la transcription et l'efficacité de mecA (Panchal et al., 2020). C'est le cas de la mutation non-sens de relA qui induit la production de l'alarmone (p)ppGpp créant une réponse stringente. Quand la mutation de relA est concomitante à la présence de mecA une forte résistance aux β-lactames est observée. Étonnamment, alors que la réponse stringente bloque tous les métabolismes, la voie métabolique de mecA semble être positivement régulée chez les populations très résistantes(Panchal et al., 2020). La propriété de ce genre

de résistance est qu'elle est fonctionnelle à haute concentration d'antibiotique, mais pas pour de faibles concentrations. Ainsi, mecA contribue partiellement à l'acquisition du caractère très résistant des MRSA. Néanmoins, son mécanisme de régulation, bien que peu impliqué dans la réponse au β- lactame, contribue à ne pas rendre la présence de mecA coûteuse en absence de d'antibiotiques. En effet, dans certains cas le « fitness cost » de mecA est nul, mais celui-ci dépend du fond génétique. Dans le cas de mecA présent chez des clones de USA400, aucune différence de fitness n'est observée avec les MSSA. Pourtant, la disparition de HA-MRSA dans certains hôpitaux laisse supposer qu'il y a bien un coût potentiel à mecA (Nielsen et al., 2012). Il n'y a pas d'estimation claire sur le coût en fitness de mecA mais certaines études montrent qu'en absence d'autres mutations, mecA n'a aucun coût (Lee et al., 2007). Cette absence de coût a très sûrement joué un rôle majeur dans la large diffusion des MRSA dans les hôpitaux du monde et même au-delà. La mobilité de mecA au travers de la cassette SSCmec est aussi un atout pour se diffuser. Néanmoins, bien que SSCmec soit capable de mobilité entre individus via transfection, le taux de transfection reste relativement bas. En condition in vitro , le taux de transfert via des phages 80α et 29 chez des clones de USA300 MSSA est de l'ordre de 10 -9 à 10 -10 transfection/PFU/ml (Phage Forming Unit par millilitres)(Scharn et al., 2013). De plus, cette transfection semble nécessiter la présence de β-lactamases, plus particulièrement blaR, chez l'individu receveur sans que les bases moléculaires soient réellement connues. La transfection à d'autres individus de SSCmec est restreinte à certains complexes clonaux (CC) et donc la diffusion de SSCmec telle que décrite est limitée à ces CC. Pourtant, des équivalents de SSCmec sont retrouvés parmi les 50 différentes espèces de Staphylocoques. Le taux de transfert in vivo n'est pas connu, mais la capacité des bactéries à bloquer les transferts de gènes provenant des phages (i.e système CAS9) et donc la transfection, doit probablement réduire encore plus ce taux de transfection et expliquer la restriction du transfert de SSCmec à certains CC.

Chapitre 4 : Effet du portage nasale sur l'évolution de l'antibiorésistance

Le portage nasal est associé à un plus grand risque d'infection postopératoire ainsi que d'infections nosocomiales. Pour diminuer ce risque, certains protocoles ont été mis en place. Le protocole consiste à appliquer localement un antibiotique (mupirocine) dans le nez des patients avant admission en service hospitalier (Perl et al. 2002; Bode et al. 2010). La mesure a un effet significatif sur le taux d'infection nosocomiale à S.aureus. Bien que l'effet du portage nasal sur les chances d'infection au cours d'une hospitalisation ait été démontré, le rôle du portage nasal dans la diffusion de l'antibiorésistance est inconnu. En utilisant un modèle de simulation pour recréer l'évolution d'une communauté de patients d'un service hospitalier, j'ai pu tester dans différentes situations la contribution du portage nasal dans la diffusion et le maintien de l'antibiorésistance au sein de la communauté simulée.

4.1 Description du modèle de simulation

Le modèle utilisé pour répondre à ma problématique est un modèle hybride entre un modèle communautaire et hôte-centré. Le modèle décrit l'évolution de l'antibiorésistance au sein d'une communauté d'individus de taille *N* pendant une période de temps longue (1

an). Le cycle de vie des individus représente celui de patients dans un service hospitalier, c'est-à-dire qu'un individu intègre la communauté durant un laps de temps, puis à la fin de son traitement, l'individu quitte la communauté et est remplacé par un nouvel individu. Durant toute la durée du séjour de l'individu, il est en contact avec les autres individus. Les contacts permettent le transfert de bactéries d'un individu à l'autre. À l'échelle d'un hôte, le modèle décrit l'évolution d'une population bactérienne dans le nez de l'hôte. La partie hôtes-centrée reprend les équations décrites dans la Partie 2, en y ajoutant quelques transformations supplémentaires. Ce modèle de simulation a été développé sur SliM v4 (Haller and Messer, 2019).

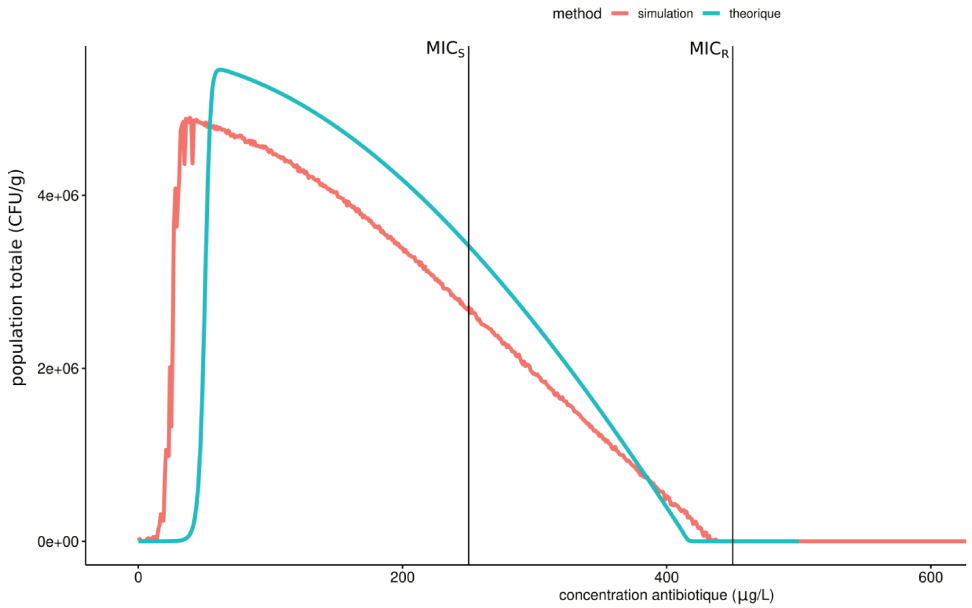

Figure 9 – Évolution des densités de population à l'équilibre en fonction de la concentration en antibiotiques dans le milieu. Comparaison entre les résultats théoriques produits avec le modèle présenté partie 2 et les résultats de simulation. Les deux modèles utilisent les mêmes paramètres que ceux utilisés 8.

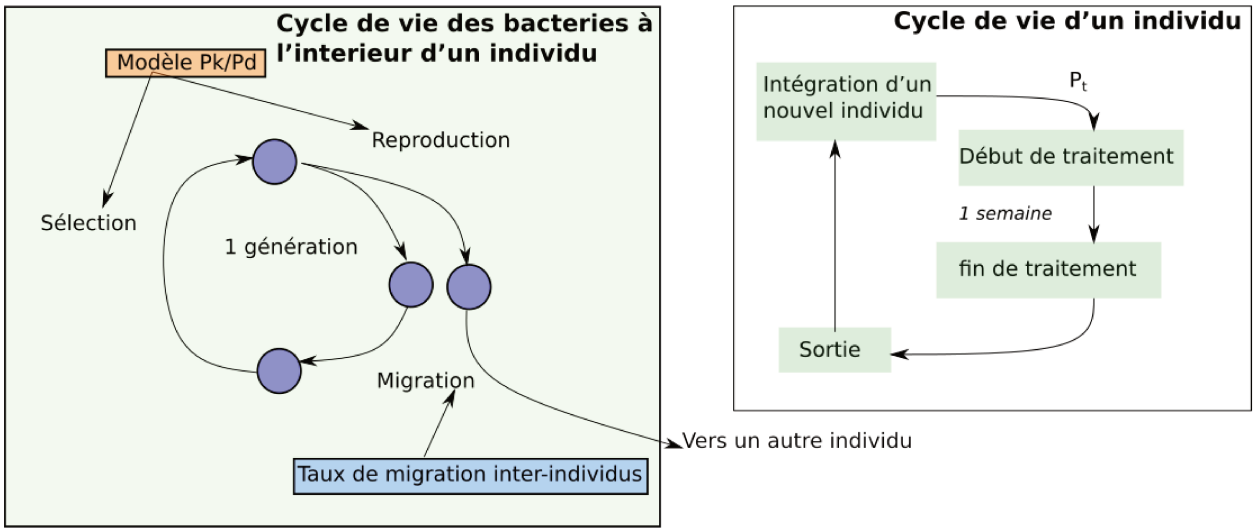

Figure 10 – Représentation graphique du modèle de simulation

4.1.1 La partie hôtes-centrée

La partie hôtes-centrée du modèle, est un modèle de PK/PD tel que décrit partie 2 mais adapté à un système de simulation centré sur les bacteries. Ainsi, le pas de temps est la génération et non plus l'heure, avec un rythme de reproduction de 2 génération en une heure. De plus, le modèle intègre une concentration en antibiotique variable qui simule des doses répétées.

Le cycle de vie d'une bactérie se décompose en 3 parties : (1) la bactérie se reproduit avec une probabilité dépendante de sa fitness relative (aux autres bactéries) ; (2) les bacteries filles peuvent migrer vers d'autres colonies bactériennes se trouvant dans un autre hôte suivant une probabilité décrite ci-après ; (3) la fitness de chaque individu pour la génération suivante est calculée en utilisant le modèle Pd.

Le modèle de Pd est le même que decrit partie 2 avec pour seule différence qu'il utilise la fitness à la place du taux de croissance net (G_i), dont les valeurs sont bornées $[-\varphi; +\infty]$.

Pour transformer le taux de croissance en fitness w (bornée entre 0 et 1), j'utilise la transformation suivante :

$$w = 0.5 * tanh(G_i) + 0.5$$

où, $w = 0.5$ signifie un taux de croissance de 0. Une "fitness" de moins de 0.5 entraîne une diminution de la taille de la population et inversement pour les valeurs comprises entre $]0.5, 1]$. En utilisant les mêmes paramètres que le modèle décrit partie 2, mais adapté à une unité de temps en génération , j'ai pu confirmer que le modèle de simulation (simplifié pour ne garder que l'échelle hôte-centré) donne les mêmes prédictions que le modèle théorique. En effet, on obtient des résultats très similaires entre le modèle théorique et ce modèle simulé (Fig 9), bien qu'une différence en termes de taille de population soit observable, cette dernière peut être expliquée par la transformation du taux de croissance en fitness.

Le modèle pharmacocinétique est un modèle mono-compartimental utilisé publié (Yu et al. 2018), où le compartiment décrit est le milieux de croissance des bactéries d'intérêt , ici le nez. Le modèle considère que la concentration nasale est proportionnelle à la concentration sanguine tel que montré pour la doxycycline et la roxithromycine (les ratios C_{nasal}/C_{serum} sont respectivement 0.16 et 0.37) (Siu et al. 2020). ka est la constante d'absorption du compartiment bactérien en $mg.gen^{-}1$ et ke la constante d'élimination de l'antibiotique en $mg.gen^{-}1$. L'antibiotique est donné par voie orale, la dose d'antibiotique D est donnée toute les π heures et la concentration en antibiotique C_t est définie tel que :

$$C_t = \sum_{n=k}^{n=1} D * \frac{ka}{ka-ke} * (e^{-ke*(t-(n-1)*\pi)} - e^{-ka*(t-(n-1)*\pi)})$$

(Yu et al. 2018) a est le nombre de doses d'antibiotique données au patient au temps t :

$$a = \lceil \frac{t}{\pi} \rceil$$

et π est l'intervalle de temps (en génération) entre deux doses.

4.1.2 La partie population

La partie population, décrit l'évolution de l'antibiorésistance au sein d'une population d'individus explicitement simulés et de taille constante. Le cycle de vie des individus se décompose en 4 phases : (1) un nouvel individu intègre la communauté ; (2) l'individu est sous un traitement antibiotique ; (3) l'individu arrête le traitement antibiotique ; (4) l'individu quitte la communauté et retour à l'étape 1.

Quand un nouvel individu intègre la communauté, un certain nombre de traits qui lui sont propres sont définis. Tout d'abord, le portage nasal : l'individu a une probabilité P_p d'être porteur sain de *S.aureus*. Si un individu est porteur sain de *S.aureus*, il entre dans la communauté avec une taille initiale de population bactérienne B_0, sinon la taille est $B_0 = 0$. Si l'individu est porteur de *S.aureus*, il a une probabilité P_r de porter des souches résistantes à l'antibiotique utilisé, une fraction R_r de ses bactéries seront résistantes. Ainsi, quand un individu entre dans la communauté, il peut être soit : porteur de *S.aureus* et porteur de souches résistantes (avec une probabilité $p = P_p * P_r$), soit porteur de *S.aureus* mais non porteur de souche résistante ($p = P_p * (1 - P_r)$), soit non porteur de *S.aureus* ($p = 1 - P_p$). Un autre facteur est défini à cette étape : le taux de curage nasal R_c. Ce taux définit le nombre de fois que l'individu se cure le nez , ainsi que la probabilité qu'il a de transmettre aux autres membres de la communauté ses bactéries. Le taux de curage est tiré dans une loi de Poisson et donc $R_c \in [0; +\infty]$. Dans ce modèle, je fait l'hypothèse que la quantité de bactéries transmises par générations (M_{tij}) d'un individu i à un individu j au moment t est proportionnelle au plus faible taux de curage nasale entre R_{cI} et R_{cJ} (respectivement le taux de curage nasale de l'individu i e j) tel que :

$$M_{tij} = B_{ti} * M_b * (1 + 10 * min(R_{cI}, R_{cJ}))$$

où B_{ti} est la taille de la population bactérienne de l'individu émetteur i au moment t et M_b le taux de migration basale en absence de curage nasal. Il est important de noter que le coefficient multiplicateur d'une valeur de 10, n'a pas de fondement direct et sert à titre d'exemple, en dehors de la corrélation significative et positive entre le manuportage de S.aureus et le curage nasal (Wertheim et al., 2005). De plus, je fais l'hypothèse que tous les individus sont en contact et donc tous les individus peuvent transmettre aux autres individus leurs bactéries (du moment que leur $B > 0$). Ensuite, l'individu va suivre un traitement pendant une semaine, avec une probabilité P_t de commencer un traitement. La concentration en antibiotique durant le traitement est décrite ci-dessus dans la partie hôtes-centré du modèle. Après une semaine de traitement, le traitement s'arrête et l'individu quitte la communauté pour se faire remplacer par un nouvel individu.

4.1.3 Paramétrage du modèle

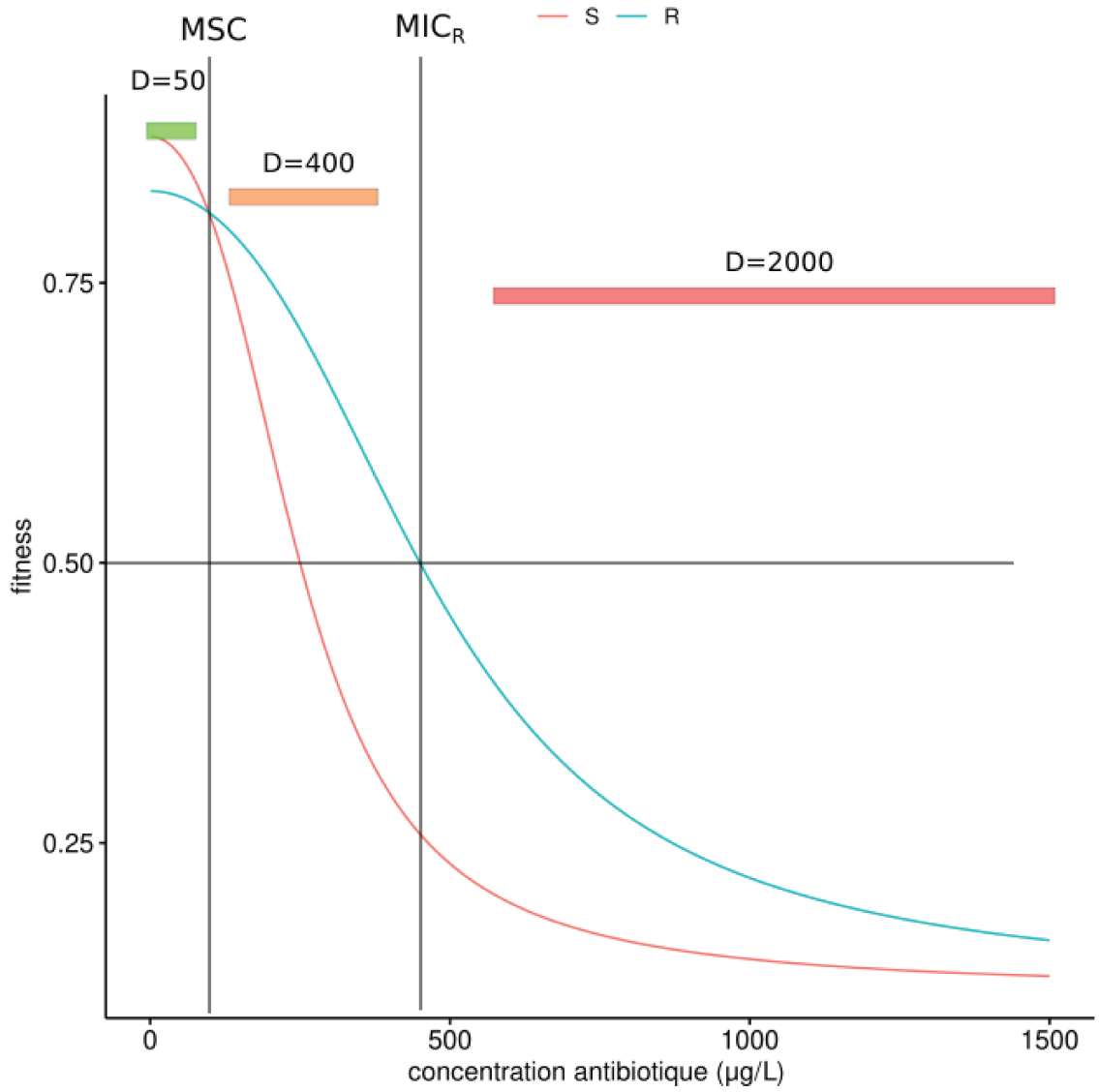

Figure 11 – Évolution de la fitness des souches sensibles en fonction de la concentration d'antibiotique. Les intervalles de concentrations représentent les intervalles de concentration pendant le traitement (concentration minimale et maximale) pour chacune de valeurs de dose explorée. Ces intervalles de valeurs sont construits à partir du modèle pharmacocinétique dont les valeurs de paramètres sont $ka = 0.5h^{-1}; ke = h^{-1}; \pi = 8h$. *Les valeurs de pharmacodynamie utilisées sont les suivantes :* $MIC_S = 250\mu g.L^{-1}; MIC_R = 450\mu g.L^{-1}$ *et le fitness cost* $c = 0.2; \varphi = -1\,h^{-1}; dn = 0.01; k = 2; Bmax = 1e4$. *Les intervalles obtenus sont les suivants : (1) pour* $D = 50\mu g$, $\overline{C} = 30\mu g.L^{-1} \in [15, 39]$ *; (2) pour* $D = 400\mu g$, $\overline{C} = 246\mu g.L^{-1} \in [122, 310]$*; (3) pour* $D = 2000\mu g$ *;* $\overline{C} = 1200\mu g.L^{-1} \in [610, 1500]$ *sachant que Vd=1L*

J'ai voulu simuler l'évolution de l'antibiorésistance dans des conditions inspirées de celles observées dans la réalité hospitalière d'un service de $N = 30$ patients. Néanmoins,

certaines valeurs ont été choisies à titre d'exemple. Ainsi la probabilité qu'un individu porteur de *S.aureus* soit porteur d'une souche résistante est de $P_r = 0.2$(Pan et al. 2005). La proportion initiale de bactéries résistante est de $R_r = 0.01$. Le taux de curage nasal suit une loi de poisson $R_c\ P(\lambda_c)$ où $\lambda_c = 0.71$ tel que $P(R_c = 0) = 0.5$ (Wertheim et al. 2006). Enfin, la probabilité de commencer un traitement sachant que l'individu n'est pas sous traitement est de $P_t = 1/3$ par semaine. Pour la partie pharmacocinétique, il est nécessaire de rappeler que ici, l'unité de temps est la génération noté *gen* (ici je considère un rythme de croissance de deux génération par heure). Ainsi $ka = 0.25; ke = 0.1; \pi = 16\ gen$ et pour la partie pharmacocinétique, les valeurs de mic utilisées sont $MIC_S = 250\mu g.L^{-1}; MIC_R = 450\mu g.L^{-1}$ et le fitness cost $c = 0.2$ (ces valeurs sont certes arbitraires mais un fitness cost de 0.2 associé à un doublement de la MIC reste dans les proportions observées dans *Melnyk AH et al, 2014*). De plus $\varphi = -1\ gen^{-1}; dn = 0.01\ gen^{-1}; k = 2; Bmax = 1e4$ bactéries. Afin d'explorer l'effet du portage nasal, j'ai fait varier le taux de portage nasal entre 2 valeurs : la valeur moyenne de la population $P_p = 0.3$ (Wertheim et al., 2005) et une valeur qui simule l'effet d'une méthode de prévention du portage nasal par traitement antibiotique avant le séjour hospitalier $P_p = 0.03$, soit dix fois moins de chances de portage nasal . Afin de couvrir toutes les possibilités pharmacodynamiques, j'ai utilisé trois concentrations d'antibiotique moyenne $\overline{C}$ (où *Vd=1L*) indirectement contrôlé par la dose antibiotique donnée D, tel que les trois cas suivants soit couverts et représentés dans la figure 11 : (1) $\overline{C} < MSC$ soit $D = 50\mu g$, dans ce cas la souche sensible gagne la compétition ; (2)$\overline{C} > MSC\ \&\ \overline{C} < MIC_R$ soit $D = 400\mu g; \overline{C} = 246\mu g.L^{-1}; MSC = 91\mu g.L^{-1}$ tel que la souche résistante soit sélectionné ; (3) $\overline{C} >> MIC_R$ soit $D = 2000\mu g; \overline{C} = 1200\mu g.L^{-1}$ tel que les deux souches soient supprimées théoriquement (observées avec le modèle théorique hôtes-centré). Enfin, afin d'avoir un cas contrôle (sans migration pour supprimer l'effet communauté) et de vérifier l'impact de la migration sur les résultats, j'ai testé trois valeurs de quantité basale de bactérie migre par génération depuis un individu porteur de *S.aureus M* tel que : $M = 0$ (cas control), $M = 0.1$ (migration faible), $M = 1$ (migration forte). La durée des simulations est de 1 an et les 18 combinaisons de paramètres ont été répliquées 10 fois.

4.1.4 Outils numériques

Le modèle de simulation a été développé sur SLiM v4 (Haller and Messer, 2019), les analyses graphiques et statistiques ont été réalisées sur R v4.0.4 (R core, 2021) et les simulations ont été exécutées sur le cluster de calcul Genouest.

4.2 Résultats et Discussion

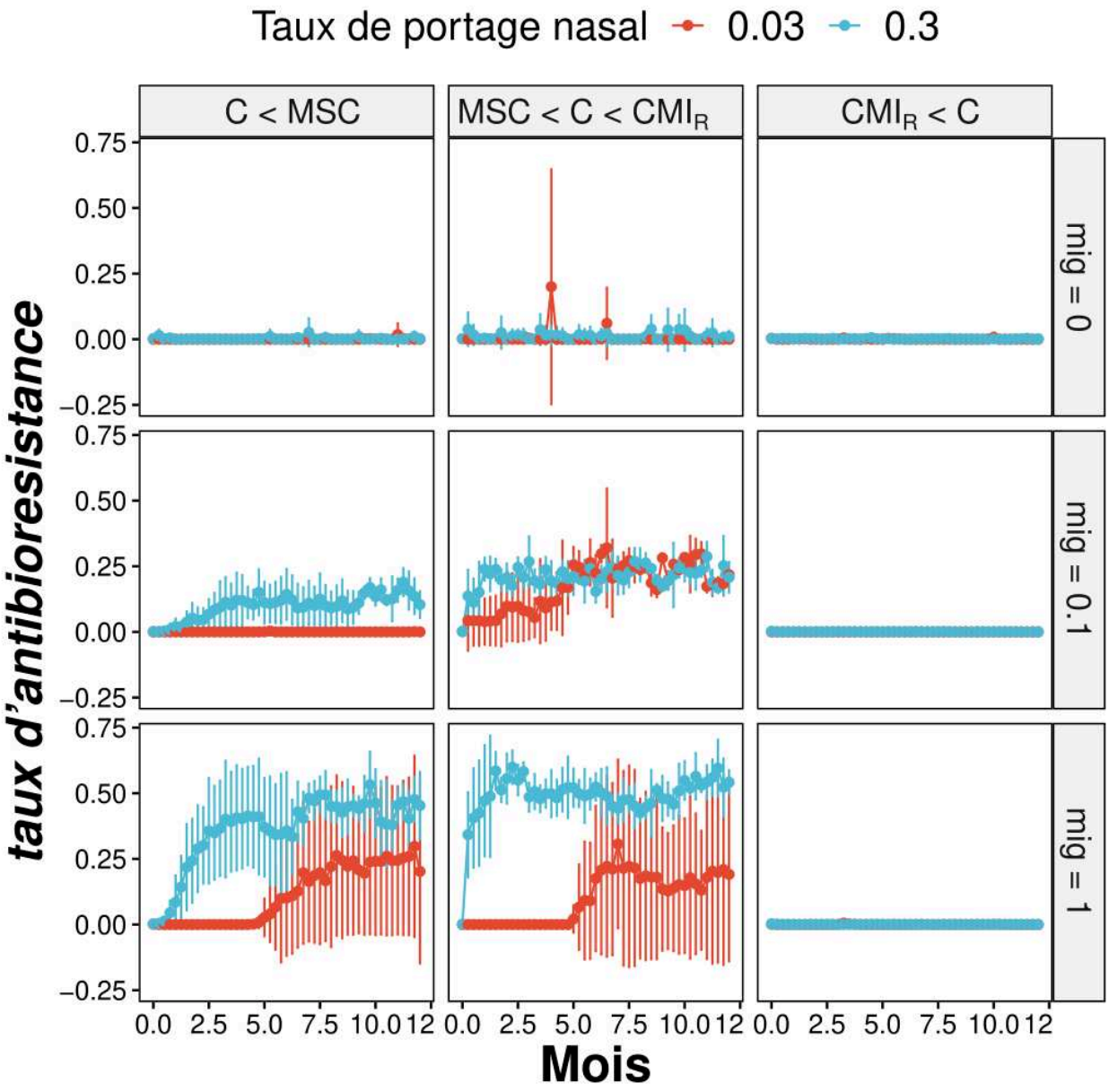

Figure 12 – Évolution du taux d'antibiorésistance (c'est-à-dire, la proportion de bactéries résistantes dans l'ensemble des bactéries réparties entre tous les individus de la communauté) en fonction du temps en mois et en fonction de la dose moyenne $\overline{C}$ et du taux de migration basal M_b (ici nommé mig) . Chaque point représente la moyenne au temps t pour 10 réplicats entourée par l'écart-type.

La dimension population générée par la migration bactérienne est à l'origine du maintien de la résistance antibiotique dans la communauté. En effet, en absence de migration (Fig 12), le taux d'antibiorésistance reste aux valeurs attendues en théorie, c'est à dire quasi nul en dehors de la MSW soit $MSC > \overline{C}$ *ou* $\overline{C} > MIC_R$, et à un taux théorique attendu de $P_p * P_r = 0.3 * 0.2 = 0.06$ dans la MSW qui est confirmé par mes résultats (taux observé

= 0.05 +- 0.03). En présence de migration et de $\overline{C} < MIC_R$, le taux d'antibiorésistance est significativement plus élevé qu'en absence de migration, et sort des attendus théoriques du simple modèle centré sur un seul hôte. Plus la migration est élevée et plus le taux d'antibiorésistance est élevé.

En termes de gestion de l'antibiorésistance, la meilleure stratégie semble être d'utiliser de forte doses d'antibiotiques tels que $\overline{C} >> MIC_R$, car les bactéries résistantes sont très rapidement éliminées par l'antibiotique .À l'inverse, si les concentrations nasales sont faible ($\overline{C} < MSW$), malgré la compétition entre souche sensible et résistance, l'apport constant de nouveaux porteur de souche résistance combiné à la migration permet à l'antibiorésistance de se maintenir.

Le portage nasal à un fort effet sur la dynamique de l'antibiorésistance au sein de la communauté. En présence d'un fort taux de portage nasal et de migration, pour une concentration $\overline{C} < MIC_R$, le portage nasal augmente considérablement la vitesse à laquelle s'établit l'antibiorésistance au sein de la communauté.

Ces résultats (produits via modèle de simulation) présentent plusieurs limites. Tout d'abord, le modèle fait l'hypothèse que *S.aureus* est la seule bactérie au sein du nez, ce qui n'est pas le cas en réalité. Cette hypothèse affranchit le modèle des potentielles interactions type transfert horizontal de gènes entre les populations commensale et *S.aureus*. En effet, la flore bactérienne commensale peut jouer le rôle de réservoir à gènes, voire exacerber la résistance aux antibiotiques avec la formation de biofilm. Je m'attends donc à ce qu'en réalité l'antibiorésistance se maintienne mieux dans le temps, que ce que prédit mon modèle. Le modèle fait aussi l'hypothèse qu'il n'y a qu'un seul type de résistance à l'antibiotique dans la population. Or, il est connu que plusieurs formes de résistance peuvent coexister au sein d'une même culture bactérienne et donc une multitude de valeurs de MIC. De même , une seule valeur de "fitness cost" est considérée, alors que si on admet une multitude de valeurs de MIC, on admet aussi une multitude de valeurs de "fitness cost". L'effet de cette diversité de valeur de MIC est peu connu dans la littérature, mais peut avoir un effet significatif, notamment si les gènes de résistance se combinent ensemble via transfert de gènes. Le modèle ne prend pas en compte de potentielles mutations compensatoires qui permettent de réduire le "fitness cost". Ces mutations, bien que peu probables ($\approx 1e^{-12}$) à l'échelle d'un individu, deviennent probables à l'échelle d'une population qui évolue sur une année. En présence de mutations compensatoires, les prédictions à $\overline{C} < MSC$ serait grandement affectées, car les mutations compensatoires diminuent le "fitness cost" est donc déplacée vers des valeurs plus faibles voir nulle la MSC (cf Fig 5), et donc réduisent à zéro la fenêtre de concentration où les souches sensibles gagnent la compétition. Enfin, une partie du paramétrage du modèle est arbitraire, bien que grandement inspiré de valeurs observées, ces choix de valeur peuvent avoir une influence significative sur les résultats que je n'ai pas caractérisée. Et donc cela limite l'interprétation de mes résultats à l'espace de paramètres que j'ai exploré.

4.3 Conclusion

À l'aide de mon modèle de simulation, j'ai pu montrer que le portage nasal contribue fortement au développement de l'antibiorésistance au sein d'une communauté. Néanmoins, l'effet du portage nasal ne s'observe qu'en présence de migration (i.e des contacts entre individu) et qu'en condition favorable à la survie des bactéries résistantes ($\overline{C} < CMI_R$). La migration est semble être un paramètre central dans l'évolution de l'antibiorésistance dès que $\overline{C} < CMI_R$, et la migration est dépendante du curage nasal. Donc pour limiter l'évolution de l'antibiorésistance à l'échelle d'une population il faut à la fois procéder à un traitement nasal pré-admission comme décrit dans (Bode et al. 2010) ainsi que de minimiser les contacts entre les individus appartenant à la communauté et si possible, limiter le curage nasal. Enfin, ces résultats ne permettent pas de répondre entièrement à la problématique, car il faut procéder à des tests supplémentaires permettant de tester les différentes limites et l'effet du paramétrage sur la robustesse des résultats et donc leur capacité à être généralisés.

References

Alborn, W E, N E Allen, and D A Preston. 1991. "Daptomycin Disrupts Membrane Potential in Growing Staphylococcus Aureus." *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 35 (11): 2282–7. https://doi.org/10.1128/AAC.35.11.2282.

Armstrong-Esther, C.a., and J.e. Smith. 1976. "Carriage Patterns of Staphylococcus Aureus in a Healthy Non-Hospital Population of Adults and Children." *Annals of Human Biology* 3 (3): 221–27. https://doi.org/10.1080/03014467600001381.

Andersson, D.I., Hughes, D., 2010. Antibiotic resistance and its cost: is it possible to reverse resistance? Nat Rev Microbiol 8, 260–271. https://doi.org/10.1038/nrmicro2319

Balouiri, Mounyr, Moulay Sadiki, and Saad Koraichi Ibnsouda. 2016. "Methods for in Vitro Evaluating Antimicrobial Activity: A Review." *Journal of Pharmaceutical Analysis* 6 (2): 71–79. https://doi.org/10.1016/j.jpha.2015.11.005.

Belkum, Alex van, Nelianne J. Verkaik, Corné P. de Vogel, Hélène A. Boelens, Jeroen Verveer, Jan L. Nouwen, Henri A. Verbrugh, and Heiman F. L. Wertheim. 2009. "Reclassification of Staphylococcus Aureus Nasal Carriage Types." *The Journal of Infectious Diseases* 199 (12): 1820–6. https://doi.org/10.1086/599119.

Blair, Jessica M. A., Mark A. Webber, Alison J. Baylay, David O. Ogbolu, and Laura J. V. Piddock. 2015. "Molecular Mechanisms of Antibiotic Resistance." *Nature Reviews Microbiology* 13 (1): 42–51. https://doi.org/10.1038/nrmicro3380.

Blanquart, François. 2019. "Evolutionary Epidemiology Models to Predict the Dynamics of Antibiotic Resistance." *Evolutionary Applications* 12 (3): 365–83. https://doi.org/10.1111/eva.12753.

Bode, Lonneke G. M., Jan A. J. W. Kluytmans, Heiman F. L. Wertheim, Diana Bogaers, Christina M. J. E. Vandenbroucke-Grauls, Robert Roosendaal, Annet Troelstra, et al. 2010. "Preventing Surgical-Site Infections in Nasal Carriers of Staphylococcus Aureus." *New England Journal of Medicine* 362 (1): 9–17. https://doi.org/10.1056/NEJMoa0808939.

Bonhoeffer, Sebastian, Marc Lipsitch, and Bruce R. Levin. 1997. "Evaluating Treatment Protocols to Prevent antibiotic resistance." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 94 (22): 12106–11. https://doi.org/10.1073/pnas.94.22.12106.

Cole, Alexander M., Samuel Tahk, Ami Oren, Dawn Yoshioka, Yong-Hwan Kim, Albert Park, and Tomas Ganz. 2001. "Determinants of Staphylococcusaureus Nasal Carriage." *Clinical and Diagnostic Laboratory Immunology* 8 (6): 1064–9. https://doi.org/10.1128/CDLI.8.6.1064-1069.2001.

CDC, 2022. National Infection & Death Estimates for AR [WWW Document]. Centers for Disease Control and Prevention. URL https://www.cdc.gov/drugresistance/national-estimates.html (accessed 10.6.22).

Davies, Julian, and Dorothy Davies. 2010. "Origins and Evolution of Antibiotic Resistance." *Microbiology and Molecular Biology Reviews : MMBR* 74 (3): 417–33. https://doi.org/10.1128/MMBR.00016-10.

Day, Troy, and Andrew F. Read. 2016. "Does High-Dose Antimicrobial Chemotherapy Prevent the Evolution of Resistance?" *PLOS Computational Biology* 12 (1): e1004689. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1004689.

D'Costa, Vanessa M., Christine E. King, Lindsay Kalan, Mariya Morar, Wilson W. L. Sung, Carsten Schwarz, Duane Froese, et al. 2011. "Antibiotic Resistance Is Ancient." *Nature* 477 (7365): 457–61. https://doi.org/10.1038/nature10388.

Eiff, Christof von, Karsten Becker, Konstanze Machka, Holger Stammer, and Georg Peters. 2001. "Nasal Carriage as a Source of Staphylococcus Aureus Bacteremia." *New England Journal of Medicine* 344 (1): 11–16. https://doi.org/10.1056/NEJM200101043440102.

Etebu, Ebimieowei, and Ibemologi Arikekpar. 2016. "Antibiotics: Classification and Mechanisms of Action with Emphasis on Molecular Perspectives," 12.

"EUCAST: Clinical Breakpoints and Dosing of Antibiotics." n.d. Accessed June 26, 2022. https://www.eucast.org/clinical_breakpoints/.

Falagas, Matthew E., Petros I. Rafailidis, and Dimitrios K. Matthaiou. 2010. "Resistance to Polymyxins: Mechanisms, Frequency and Treatment Options." *Drug Resistance Updates* 13 (4): 132–38. https://doi.org/10.1016/j.drup.2010.05.002.

Gao, Pin, Shi He, Shenglin Huang, Kanzhu Li, Zhenhong Liu, Gang Xue, and Weimin Sun. 2015. "Impacts of Coexisting Antibiotics, Antibacterial Residues, and Heavy Metals on the Occurrence of Erythromycin Resistance Genes in Urban Wastewater." *Applied Microbiology and Biotechnology* 99 (9): 3971–80. https://doi.org/10.1007/s00253-015-6404-9.

Gould, I. M. 2008. "The Epidemiology of Antibiotic Resistance." *International Journal of Antimicrobial Agents* 32 (November): S2–S9. https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2008.06.016.

Haller, B.C., Messer, P.W., 2019. SLiM 3: Forward Genetic Simulations Beyond the Wright–Fisher Model. Molecular Biology and Evolution 36, 632–637. https://doi.org/10.1093/molbev/msy228

Juhas, Mario. 2015. "Horizontal Gene Transfer in Human Pathogens." *Critical Reviews in Microbiology* 41 (1): 101–8. https://doi.org/10.3109/1040841X.2013.804031.

Kahne, Dan, Catherine Leimkuhler, Wei Lu, and Christopher Walsh. 2005. "Glycopeptide and Lipoglycopeptide Antibiotics." *Chemical Reviews* 105 (2): 425–48. https://doi.org/10.1021/cr030103a.

Kassen, R., Bataillon, T., 2006. Distribution of fitness effects among beneficial mutations before selection in experimental populations of bacteria. Nat Genet 38, 484–488. https://doi.org/10.1038/ng1751

Kluytmans, Jan, Alex Van Belkum, and Henri Verbrugh. 1997. "Nasal Carriage of Staphylococcus Aureus: Epidemiology, Underlying Mechanisms, and Associated Risks." *CLIN. MICROBIOL. REV.* 10: 16.

Kouyos, R.D., Wiesch, P.A. zur, Bonhoeffer, S., 2011. Informed Switching Strongly Decreases the Prevalence of Antibiotic Resistance in Hospital Wards. PLOS Computational Biology 7, e1001094. https://doi.org/10.1371/journal.pcbi.1001094

Landecker, Hannah. 2016. "Antibiotic Resistance and the Biology of History." *Body & Society* 22 (4): 19–52. https://doi.org/10.1177/1357034X14561341.

Lee, S.M., Ender, M., Adhikari, R., Smith, J.M.B., Berger-Bächi, B., Cook, G.M., 2007. Fitness Cost of Staphylococcal Cassette Chromosome mec in Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus by Way of Continuous Culture. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 51, 1497–1499. https://doi.org/10.1128/AAC.01239-06

Levin, B.R., Perrot, V., Walker, N., 2000. Compensatory Mutations, Antibiotic Resistance and the Population Genetics of Adaptive Evolution in Bacteria. Genetics 154, 985–997. https://doi.org/10.1093/genetics/154.3.985

Levy, P. -Y., M. Ollivier, M. Drancourt, D. Raoult, and J. -N. Argenson. 2013. "Relation Between Nasal Carriage of Staphylococcus Aureus and Surgical Site Infection in Orthopedic Surgery: The Role of Nasal Contamination. A Systematic Literature Review and Meta-Analysis." *Orthopaedics & Traumatology: Surgery & Research* 99 (6): 645–51. https://doi.org/10.1016/j.otsr.2013.03.030.

Livermore, D. M. 2000. "Epidemiology of Antibiotic Resistance." *Intensive Care Medicine* 26 (1): S014–S021. https://doi.org/10.1007/s001340051113.

Madsen, Jonas Stenløkke, Mette Burmølle, Lars Hestbjerg Hansen, and Søren Johannes Sørensen. 2012. "The Interconnection Between Biofilm Formation and Horizontal Gene

Transfer." *FEMS Immunology & Medical Microbiology* 65 (2): 183–95. https://doi.org/10.1111/j.1574-695X.2012.00960.x.

Mediavilla, José R, Liang Chen, Barun Mathema, and Barry N Kreiswirth. 2012. "Global Epidemiology of Community-Associated Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus (CA-MRSA)." *Current Opinion in Microbiology*, Antimicrobials • Genomics, 15 (5): 588–95. https://doi.org/10.1016/j.mib.2012.08.003.

Morlot, Cécile. 2003. "Etude Structurale de PBP3 et Localisation Des Six ' Penicillin-Binding Proteins ' de Streptococcus Pneumoniae: Implication Dans La Croissance et La Division Bactérienne." 237.

Nielsen, Elisabet I., and Lena E. Friberg. 2013. "Pharmacokinetic-Pharmacodynamic Modeling of Antibacterial Drugs." Edited by Dan Andersson. *Pharmacological Reviews* 65 (3): 1053–90. https://doi.org/10.1124/pr.111.005769.

Nielsen, K.L., Pedersen, T.M., Udekwu, K.I., Petersen, A., Skov, R.L., Hansen, L.H., Hughes, D., Frimodt-Møller, N., 2012. Fitness cost: a bacteriological explanation for the demise of the first international methicillin-resistant Staphylococcus aureus epidemic. Journal of Antimicrobial Chemotherapy 67, 1325–1332. https://doi.org/10.1093/jac/dks051

Opatowski, Lulla, Didier Guillemot, Pierre-Yves Boëlle, and Laura Temime. 2011. "Contribution of Mathematical Modeling to the Fight Against Bacterial Antibiotic Resistance:" *Current Opinion in Infectious Diseases* 24 (3): 279–87. https://doi.org/10.1097/QCO.0b013e3283462362.

Ostash, Bohdan, and Suzanne Walker. 2010. "Moenomycin Family Antibiotics : Chemical Synthesis, Biosynthesis , and Biological Activity." *Natural Product Reports* 27 (11): 1594–1617. https://doi.org/10.1039/C001461N.

Pan, Erica S., Binh An Diep, Edwin D. Charlebois, Colette Auerswald, Heather A. Carleton, George F. Sensabaugh, and Françoise Perdreau-Remington. 2005. "Population Dynamics of Nasal Strains of Methicillin-Resistant Staphylococcus Aureus—and Their Relation to Community-Associated Disease Activity." *The Journal of Infectious Diseases* 192 (5): 811–18. https://doi.org/10.1086/432072.

Panchal, V.V., Griffiths, C., Mosaei, H., Bilyk, B., Sutton, J.A.F., Carnell, O.T., Hornby, D.P., Green, J., Hobbs, J.K., Kelley, W.L., Zenkin, N., Foster, S.J., 2020. Evolving MRSA: High-level β-lactam resistance in Staphylococcus aureus is associated with RNA Polymerase alterations and fine tuning of gene expression. PLOS Pathogens 16, e1008672. https://doi.org/10.1371/journal.ppat.1008672

Peacock, Sharon J., Anita Justice, D. Griffiths, G. D. I. de Silva, M. N. Kantzanou, Derrick Crook, Karen Sleeman, and Nicholas P. J. Day. 2003. "Determinants of Acquisition and Carriage of Staphylococcus Aureus in Infancy." *Journal of Clinical Microbiology* 41 (12): 5718–25. https://doi.org/10.1128/JCM.41.12.5718-5725.2003.

Peacock, Sharon J., and Gavin K. Paterson. 2015. "Mechanisms of Methicillin Resistance in Staphylococcus Aureus." *Annual Review of Biochemistry* 84 (1): 577–601. https://doi.org/10.1146/annurev-biochem-060614-034516.

Peacock, Sharon J, Ishani de Silva, and Franklin D Lowy. 2001. “What Determines Nasal Carriage of Staphylococcus Aureus?” 6.

Perl, Trish M., Joseph J. Cullen, Richard P. Wenzel, M. Bridget Zimmerman, Michael A. Pfaller, Deborah Sheppard, Jennifer Twombley, Pamela P. French, and Loreen A. Herwaldt. 2002. “Intranasal Mupirocin to Prevent Postoperative Staphylococcus Aureus Infections.” *New England Journal of Medicine* 346 (24): 1871–7. https://doi.org/10.1056/NEJMoa003069.

R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria. URL https://www.R-project.org/

Rongpharpi, Sharon Rainy, Naba Kumar Hazarika, and Hitesh Kalita. 2013. “The Prevalence of Nasal Carriage of Staphylococcus Aureus Among Healthcare Workers at a Tertiary Care Hospital in Assam with Special Reference to MRSA.” *Journal of Clinical and Diagnostic Research : JCDR* 7 (2): 257–60. https://doi.org/10.7860/JCDR/2013/4320.2741.

Sakr, Adèle, Fabienne Brégeon, Jean-Marc Rolain, and Olivier Blin. 2019. “Staphylococcus Aureus Nasal Decolonization Strategies: A Review.” *Expert Review of Anti-Infective Therapy* 17 (5): 327–40. https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1604220.

Scharn, C.R., Tenover, F.C., Goering, R.V., 2013. Transduction of Staphylococcal Cassette Chromosome mec Elements between Strains of Staphylococcus aureus. Antimicrobial Agents and Chemotherapy 57, 5233–5238. https://doi.org/10.1128/AAC.01058-13

Scheffers, Dirk-Jan, and Mariana G. Pinho. 2005. “Bacterial Cell Wall Synthesis: New Insights from Localization Studies.” *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 69 (4): 585–607. https://doi.org/10.1128/MMBR.69.4.585-607.2005.

Septimus, Edward J., and Marin L. Schweizer. 2016. “Decolonization in Prevention of Health Care-Associated Infections.” *Clinical Microbiology Reviews* 29 (2): 201–22. https://doi.org/10.1128/CMR.00049-15.

Siu, Joey, Lilian Klingler, Yi Wang, Cheung-Tak Hung, Soo Hee Jeong, Susan Smith, Malcolm Tingle, Brett Wagner Mackenzie, Kristi Biswas, and Richard Douglas. 2020. “Antibiotic Concentrations in the Sinonasal Secretions and Tissue in CRS Patients After Oral Therapy: A Randomized Trial.” *bioRxiv*, June, 2020.06.17.158535. https://doi.org/10.1101/2020.06.17.158535.

Stanton, Isobel C., Aimee K. Murray, Lihong Zhang, Jason Snape, and William H. Gaze. 2020. “Evolution of Antibiotic Resistance at Low Antibiotic Concentrations Including Selection Below the Minimal Selective Concentration.” *Communications Biology* 3 (1): 1–11. https://doi.org/10.1038/s42003-020-01176-w.

Sutcliffe, Joyce A. 2005. “Improving on Nature: Antibiotics That Target the Ribosome.” *Current Opinion in Microbiology*, Antimicrobials / Edited by Malcolm Page and Christopher T Walsh · Genomics / Edited by Stephan C Schuster and Gerhard Gottschalk, 8 (5): 534–42. https://doi.org/10.1016/j.mib.2005.08.004.

Van Boeckel, Thomas P, Sumanth Gandra, Ashvin Ashok, Quentin Caudron, Bryan T Grenfell, Simon A Levin, and Ramanan Laxminarayan. 2014. “Global Antibiotic Consumption 2000 to

2010: An Analysis of National Pharmaceutical Sales Data." *The Lancet Infectious Diseases* 14 (8): 742–50. https://doi.org/10.1016/S1473-3099(14)70780-7.

van Duijn, P.J., Dautzenberg, M.J.D., Oostdijk, E.A.N., 2011. Recent trends in antibiotic resistance in European ICUs. Current Opinion in Critical Care 17, 658–665. https://doi.org/10.1097/MCC.0b013e32834c9d87

Verhoeven, Paul O, Julie Gagnaire, Elisabeth Botelho-Nevers, Florence Grattard, Anne Carricajo, Frédéric Lucht, Bruno Pozzetto, and Philippe Berthelot. 2014. "Detection and Clinical Relevance of Staphylococcus Aureus Nasal Carriage: An Update." *Expert Rev. Anti Infect. Ther.*, 15.

Wertheim, Heiman F. L., Menno van Kleef, Margreet C. Vos, Alewijn Ott, Henri A. Verbrugh, and Wytske Fokkens. 2006. "Nose Picking and Nasal Carriage of Staphylococcus Aureus." *Infection Control & Hospital Epidemiology* 27 (08): 863–67. https://doi.org/10.1086/506401.

Wertheim, Heiman F L, Damian C Melles, Margreet C Vos, Willem van Leeuwen, Alex van Belkum, Henri A Verbrugh, and Jan L Nouwen. n.d. "The Role of Nasal Carriage in Staphylococcus Aureus Infections," 12.

Yu, Guozhi, Desiree Y. Baeder, Roland R. Regoes, and Jens Rolff. 2018. "Predicting Drug Resistance Evolution: Insights from Antimicrobial Peptides and Antibiotics." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 285 (1874): 20172687. https://doi.org/10.1098/rspb.2017.2687.

Résumé

Mots-clé : antibiorésistance ; Staphylococus aureus ; modélisation de l'antibiorésistance ; portage nasale

L'antibiorésistance est responsable chaque année de plusieurs milliers de morts dans le monde ($\approx 50000 mort/ans$ pour l'UE et les États-Unis rassemblés selon le CDC, 2022) et des millions de jours de traitement supplémentaires par an. Le nombre de souches antibiorésistantes détectées et le nombre de souches multirésistantes augmentent (van Duijn et al., 2011). Cette augmentation soudaine et historique de l'antibiorésistance est directement corrélée à l'usage des antibiotiques (Blanquart 2019). Mais avec cette résistance est associé un coût qui ce traduit par une plus faible capacité de reproduction en absence d'antibiotique (Andersson and Hughes, 2010). Les chercheurs ont mis au point des modèles de prédiction de l'évolution de la résistance aux antibiotiques. Ces modèles ont largement contribué à la mise en place de stratégies thérapeutiques, mais aussi de prévention efficace pour réduire la dissémination et l'augmentation de l'antibiorésistance dans le monde (Blanquart 2019; Opatowski et al. 2011). Parmi les pathogènes humains, *S.aureus* s'est fait remarquer par sa capacité à développer des mécanismes d'antibiorésistance (90% des souches de *S.aureus* sont résistantes à la pénicilline et la méticilline) (Peacock and Paterson 2015). Une autre particularité de *S.aureus* est son commensalisme au niveau du nez, 30% de la population humaine est porteuse saine de *S.aureus* dans leurs fosses nasales (Wertheim et al., 2005). Les individus porteurs sains, par curage nasal, déposent sur leurs mains des souches de *S.aureus* ce qui entraîne des transmissions à d'autres individus, mais aussi des auto-infections. *S.aureus* est responsable de 16% des infections nosocomiales et dans plus de 80% des cas la souche de l'infection est la même que celle retrouvée dans le nez du patient. Afin de limiter le nombre d'infections nosocomiales dûes au portage nasal, plusieurs essais cliniques ont pré-traités aux antibiotiques le nez de patients avant inclusion hospitalière et observe une baisse significative des infections nosocomiales. Néanmoins, le rôle du portage nasal dans la diffusion de l'antibiorésistance au sein de communautés humaines n'est pour l'instant pas établi. J'ai donc créé un modèle de simulation qui permet de prédire le l'évolution du taux d'antibiorésistance au sein d'un service hospitalier, avec lequel j'ai testé la contribution du portage nasal à l'évolution du taux d'antibiorésistance. Mes résultats montrent que la réduction du portage nasal réduit le développement de l'antibiorésistance au sein de communauté.

Université de Poitiers

Faculté de Médecine et Pharmacie

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances,

D'exercer, dans l'intérêt de la santé publique, ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur, mais aussi les règles de Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement,

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité,

De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession,

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens,

De coopérer avec les autres professionnels de santé.

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

Signature de l'étudiant	du Président du jury
Nom :	Nom :
Prénom :	Prénom :

Version validée par la conférence des Doyens de facultés de Pharmacie le 7 février 2018