

ANNEE 2016

Thèse n°

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Arrêté du 17 juillet 1987)
et
MEMOIRE
DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE PHARMACIE
(Décret 88-996 du 19 octobre 1988)

présentée et soutenue publiquement le 14 septembre 2016 à POITIERS par
Monsieur MAMOD Alihoussen

**ENTEROBACTERIES RESISTANTES AUX CEPHALOSPORINES
DE 3^{EME} GENERATION : QUELLES ALTERNATIVES AUX
CARBAPENEMES ?**

**Etude prospective de la sensibilité *in vitro* du céfépime, du mécillinam
et de la témocilline au CHU de Poitiers**

Composition du jury

Président : Monsieur le Professeur BURUCOA Christophe, PU-PH

Membres : - Madame le Professeur IMBERT Christine, PU-PH
- Madame le Docteur CREMNITER Julie, MCU-PH
- Madame le Docteur GARCIA Magali, AHU

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur MICHAUD Anthony, Assistant Hospitalier

ANNEE 2016

Thèse n°

THESE
POUR LE DIPLOME D'ETAT
DE DOCTEUR EN PHARMACIE
(Arrêté du 17 juillet 1987)
et

MEMOIRE
DU DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES
DE PHARMACIE
(Décret 88-996 du 19 octobre 1988)

présentée et soutenue publiquement le 14 septembre 2016 à POITIERS par
Monsieur MAMOD Alihoussen

**ENTEROBACTERIES RESISTANTES AUX CEPHALOSPORINES
DE 3^{EME} GENERATION : QUELLES ALTERNATIVES AUX
CARBAPENEMES ?**

**Etude prospective de la sensibilité *in vitro* du céfépime, du mécillinam
et de la témocilline au CHU de Poitiers**

Composition du jury

Président : Monsieur le Professeur BURUCOA Christophe, PU-PH

Membres : - Madame le Professeur IMBERT Christine, PU-PH
- Madame le Docteur CREMNITER Julie, MCU-PH
- Madame le Docteur GARCIA Magali, AHU

Directeur de thèse : Monsieur le Docteur MICHAUD Anthony, Assistant Hospitalier



PHARMACIE

Professeurs

- CARATO Pascal, Chimie Thérapeutique
- COUET William, Pharmacie Clinique
- FAUCONNEAU Bernard, Toxicologie
- GUILLARD Jérôme, Pharmaco chimie
- IMBERT Christine, Parasitologie
- MARCHAND Sandrine, Pharmacocinétique
- OLIVIER Jean Christophe, Galénique
- PAGE Guylène, Biologie Cellulaire
- RABOUAN Sylvie, Chimie Physique, Chimie Analytique
- SARROUILHE Denis, Physiologie
- SEGUIN François, Biophysique, Biomathématiques

Maîtres de Conférences

- BARRA Anne, Immunologie-Hématologie
- BARRIER Laurence, Biochimie
- BODET Charles, Bactériologie
- BON Delphine, Biophysique
- BRILLAULT Julien, Pharmacologie
- CHARVET Caroline, Physiologie
- DEBORDE Marie, Sciences Physico-Chimiques
- DEJEAN Catherine, Pharmacologie
- DELAGE Jacques, Biomathématiques, Biophysique
- DUPUIS Antoine, Pharmacie Clinique
- FAVOT Laure, Biologie Cellulaire et Moléculaire
- GIRARDOT Marion, pharmacognosie, botanique, biodiversité végétale
- GREGOIRE Nicolas, Pharmacologie
- GRIGNON Claire, PH
- HUSSAIN Didja, Pharmacie Galénique
- INGRAND Sabrina, Toxicologie
- MARIVINGT-MOUNIR Cécile Pharmaco chimie

- PAIN Stéphanie, Toxicologie
- RAGOT Stéphanie, Santé Publique
- RIOUX BILAN Agnès, Biochimie
- TEWES Frédéric, Chimie et Pharmaco chimie
- THEVENOT Sarah, Hygiène et Santé publique
- THOREAU Vincent, Biologie Cellulaire
- WAHL Anne, Pharmaco chimie, Produits naturels

PAST - Maître de Conférences Associé

- DELOFFRE Clément, Pharmacien
- HOUNKANLIN Lydwyn, Pharmacien

Professeur 2nd degré

- DEBAIL Didier

Maître de Langue - Anglais

- JORDAN Steven

Poste d'ATER

- COSTA Damien

Poste de Moniteur

- VERITE Julie

Le Doyen,

Année universitaire 2015 - 2016

LISTE DES ENSEIGNANTS DE MEDECINE
Professeurs des Universités-Praticiens Hospitaliers

- AGIUS Gérard, bactériologie-virologie (**surnombre jusqu'en 08/2018**)
- ALLAL Joseph, thérapeutique
- BATAILLE Benoît, neurochirurgie
- BRIDOUX Frank, néphrologie
- BURUOIA Christophe, bactériologie – virologie
- CARRETIER Michel, chirurgie générale
- CHEZE-LE REST Catherine, biophysique et médecine nucléaire
- CHRISTIAENS Luc, cardiologie
- CORBI Pierre, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- DEBAENE Bertrand, anesthésiologie réanimation
- DEBIAIS Françoise, rhumatologie
- DROUOT Xavier, physiologie
- DUFOUR Xavier, Oto-Rhino-Laryngologie
- EUGENE Michel, physiologie (**surnombre jusqu'en 08/2016**)
- FAURE Jean-Pierre, anatomie
- FRITEL Xavier, gynécologie-obstétrique
- GAYET Louis-Etienne, chirurgie orthopédique et traumatologique
- GICQUEL Ludovic, pédopsychiatrie
- GILBERT Brigitte, génétique
- GOMBERT Jean-Marc, immunologie
- GOUJON Jean-Michel, anatomie et cytologie pathologiques
- GUILHOT-GAUDEFFROY François, hématologie et transfusion
- GUILLET Gérard, dermatologie
- GUILLEVIN Rémy, radiologie et imagerie médicale
- HADJADJ Samy, endocrinologie et maladies métaboliques
- HAUET Thierry, biochimie et biologie moléculaire
- HERPIN Daniel, cardiologie
- HOUETO Jean-Luc, neurologie
- INGRAND Pierre, biostatistiques, informatique médicale
- JAAFARI Nematollah, psychiatrie d'adultes
- JABER Mohamed, cytologie et histologie
- JAYLE Christophe, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
- KARAYAN-TAPON Lucie, cancérologie
- KEMOUN Gilles, médecine physique et réadaptation (en détachement)
- KITZIS Alain, biologie cellulaire
- KRAIMPS Jean-Louis, chirurgie générale
- LECRON Jean-Claude, biochimie et biologie moléculaire
- LELEU Xavier, hématologie
- LEVARD Guillaume, chirurgie infantile
- LEVEQUE Nicolas, bactériologie-virologie
- LEVEZIEL Nicolas, ophtalmologie
- LEVILLAIN Pierre, anatomie et cytologie pathologiques (**surnombre jusqu'en 08/2018**)
- MACCHI Laurent, hématologie
- MARECHAUD Richard, médecine interne
- MAUCO Gérard, biochimie et biologie moléculaire
- MEURICE Jean-Claude, pneumologie
- MIGEOT Virginie, santé publique
- MILLOT Frédéric, pédiatrie, oncologie pédiatrique
- MIMOZ Olivier, anesthésiologie – réanimation
- NEAU Jean-Philippe, neurologie
- ORIOT Denis, pédiatrie
- PACCALIN Marc, gériatrie
- PAQUEREAU Joël, physiologie (**jusqu'au 31/10/2015**)
- PERAULT Marie-Christine, pharmacologie clinique
- PERDRISOT Rémy, biophysique et médecine nucléaire
- PIERRE Fabrice, gynécologie et obstétrique
- POURRAT Olivier, médecine interne (**surnombre jusqu'en 08/2018**)
- PRIES Pierre, chirurgie orthopédique et traumatologique
- RICCO Jean-Baptiste, chirurgie vasculaire
- RICHER Jean-Pierre, anatomie
- RIGOARD Philippe, neurochirurgie
- ROBERT René, réanimation
- ROBLOT France, maladies infectieuses, maladies tropicales
- ROBLOT Pascal, médecine interne
- RODIER Marie-Hélène, parasitologie et mycologie
- SENON Jean-Louis, psychiatrie d'adultes (**surnombre jusqu'en 08/2017**)
- SILVAIN Christine, hépato-gastro-entérologie
- SOLAU-GERVAIS Elisabeth, rhumatologie
- TASU Jean-Pierre, radiologie et imagerie médicale
- THIERRY Antoine, néphrologie
- THILLE Amaud, réanimation
- TOUGERON David, gastro-entérologie
- TOURANI Jean-Marc, cancérologie
- WAGER Michel, neurochirurgie

Maîtres de Conférences des Universités-Praticiens Hospitaliers

- ALBOUY-LLATY Marion, santé publique
- BEBY-DEFAUX Agnès, bactériologie – virologie
- BEN-BRIK Eric, médecine du travail
- BILAN Frédéric, génétique
- BOURMEYSTER Nicolas, biologie cellulaire
- CASTEL Olivier, bactériologie - virologie – hygiène
- CREMNITER Julie, bactériologie – virologie
- DAHYOT-FIZELIER Claire, anesthésiologie – réanimation
- DIAZ Véronique, physiologie
- FAVREAU Frédéric, biochimie et biologie moléculaire
- FRASCA Denis, anesthésiologie – réanimation
- HURET Jean-Loup, génétique
- LAFAY Claire, pharmacologie clinique
- PERRAUD Estelle, parasitologie et mycologie (ex-CATEAU)
- RAMMAERT-PALTRIE Blandine, maladies infectieuses
- SAPANET Michel, médecine légale
- SCHNEIDER Fabrice, chirurgie vasculaire
- THUILLIER Raphaël, biochimie et biologie moléculaire

Professeur des universités de médecine générale

- GOMES DA CUNHA José

Professeurs associés de médecine générale

- BINDER Philippe
- BIRAULT François
- VALETTE Thierry

Maîtres de Conférences associés de médecine générale

- ARCHAMBAULT Pierrick
- BOUSSAGEON Rémy
- FRECHE Bernard
- GIRARDEAU Stéphane
- GRANDCOLIN Stéphanie
- PARTHENAY Pascal
- VICTOR-CHAPLET Valérie

Enseignants d'Anglais

- DEBAIL Didier, professeur certifié
- JORDAN Stephen, maître de langue étrangère
- SASU Elena, contractuelle enseignante

Professeurs émérites

- DORE Bertrand, urologie (08/2016)
- GIL Roger, neurologie (08/2017)
- MAGNIN Guillaume, gynécologie-obstétrique (08/2016)
- MARCELLI Daniel, pédopsychiatrie (08/2017)
- MENU Paul, chirurgie thoracique et cardio-vasculaire (08/2017)

Professeurs et Maîtres de Conférences honoraires

- ALCALAY Michel, rhumatologie
- ARIES Jacques, anesthésiologie-réanimation
- BABIN Michèle, anatomie et cytologie pathologiques
- BABIN Philippe, anatomie et cytologie pathologiques
- BARBIER Jacques, chirurgie générale (ex-émérite)
- BARRIERE Michel, biochimie et biologie moléculaire
- BECQ-GIRAUDON Bertrand, maladies infectieuses, maladies tropicales (ex-émérite)
- BEGON François, biophysique, médecine nucléaire
- BOINOT Catherine, hématologie – transfusion
- BONToux Daniel, rhumatologie (ex-émérite)
- BURIN Pierre, histologie
- CASTETS Monique, bactériologie - virologie – hygiène
- CAVELLIER Jean-François, biophysique et médecine nucléaire
- CHANSIGAUD Jean-Pierre, biologie du développement et de la reproduction
- CLARAC Jean-Pierre, chirurgie orthopédique
- DABAN Alain, oncologie radiothérapie (ex-émérite)
- DAGREGORIO Guy, chirurgie plastique et reconstructrice
- DESMAREST Marie-Cécile, hématologie
- DEMANGE Jean, cardiologie et maladies vasculaires
- FAUCHERE Jean-Louis, bactériologie-virologie (ex-émérite)
- FONTANEL Jean-Pierre, Oto-Rhino Laryngologie (ex-émérite)
- GOMBERT Jacques, biochimie
- GRIGNON Bernadette, bactériologie
- GUILLARD Olivier, biochimie et biologie moléculaire
- JACQUEMIN Jean-Louis, parasitologie et mycologie médicale
- KAMINA Pierre, anatomie (ex-émérite)
- KLOSSEK Jean-Michel, Oto-Rhino-Laryngologie
- LAPIERRE Françoise, neurochirurgie (ex-émérite)
- LARSEN Christian-Jacques, biochimie et biologie moléculaire
- MAIN de BOISSIERE Alain, pédiatrie
- MARILLAUD Albert, physiologie
- MORICHAU-BEAUCHANT Michel, hépato-gastro-entérologie
- MORIN Michel, radiologie, imagerie médicale
- POINTREAU Philippe, biochimie
- REISS Daniel, biochimie
- RIDEAU Yves, anatomie
- SULTAN Yvette, hématologie et transfusion
- TALLINEAU Claude, biochimie et biologie moléculaire
- TANZER Joseph, hématologie et transfusion (ex-émérite)
- TOUCHARD Guy, néphrologie
- VANDERMARCO Guy, radiologie et imagerie médicale

REMERCIEMENTS

A Monsieur le Professeur BURUCOA Christophe de m'avoir fait l'honneur de présider ce jury et de m'avoir accueilli au sein du service de Bactériologie durant trois semestres. Je vous remercie profondément pour la confiance que vous m'aviez accordée durant cet internat, soyez assurée de ma profonde considération et de mon respect,

A mon directeur de thèse, le Docteur MICHAUD Anthony pour m'avoir proposé un sujet correspondant à mes attentes, merci pour votre précieuse aide dans l'élaboration de ce travail et pour votre qualité pédagogique,

A Madame le Professeur IMBERT Christine de me faire l'honneur de juger ce travail, je vous en suis sincèrement reconnaissant,

A Madame le Docteur CREMNITER Julie, pour nous avoir transmis votre savoir, toujours dans la bonne humeur, veuillez accepter mes plus sincères remerciements,

A Madame le Docteur GARCIA Magali de nous faire l'honneur d'apporter votre éclairage, votre présence dans ce jury symbolise le dialogue clinico-biologique que nous chérissons tous, soyez assurée de notre profond respect,

Au Docteur PLOUZEAU-JAYLE Chloë pour ta capacité à nous transmettre tes connaissances, merci pour ta disponibilité permanente, merci de nous avoir fait aimer la bactériologie, et surtout, merci infiniment de l'avoir fait dans la bonne humeur,

Au Docteur JAVAUGUE François qui a dévasté la forêt amazonienne en imprimant TOUS les articles consultés ; pour ces bons repas au « Bateau Ivre », merci pour tes précieux conseils dans la rédaction de ce travail,

A l'ensemble des techniciens et techniciennes du laboratoire de Bactériologie du CHU de Poitiers pour leur patience, leur sourire et leur qualité pédagogique ; merci pour votre précieuse aide dans la collecte des souches d'entérobactéries,

A toute l'équipe des laboratoires du CHU de Poitiers qui m'ont fait découvrir la biologie médicale durant cet internat,

A l'équipe du laboratoire de Châtelleraut dirigée par le Docteur PALMER Pierre, qui m'a facilitée l'élaboration de ce travail en aménageant mon emploi du temps,

A tous mes collègues internes, Manu fille, les « Professeurs » ROBERT, HEUGAS et LATAUD, le maître DUONG, Sofiane, Kevin, Andy, Samia,

A toute la famille, aux parents qui ont travaillé durement pour financer mes études en France ; à ma sœur et mon frère pour leur soutien permanent,

A mon oncle MOUSSETAFA Onnaly et ma tante MOUSSETAFA Massouma qui m'ont accueilli, héberger et financer durant de longues années à Bordeaux,

Au Docteur Jean-Paul AKBARALY, pour son aide et sa disponibilité permanente malgré un emploi du temps chargé,

A tous mes amis « LES BORDELAIS », Michael « José » et Hatim « Linda » et Rosi « tantine », Younoussou ou « Youmbax » pour les intimes, Farida, Fatema et Zenabe AKBARALY, Sherebanou, Jamila, Mariam, Akil « Foukny », Hatim « coloc », mes deux cousins Ammar et Zahir, Alafia « Battle », Fabrice et Nadia, Raoul et Cytec ; merci pour tous ces moments magiques passés dans la plus belle ville du monde !

Au Docteur Nicolas SAVAJOI, futur « papa », pour son soutien indéfectible et la qualité de « son » foie gras,

A Jacob, le plus brillant des analystes financiers de Niort,

A tous mes amis « PARISIENS », toujours prêts à m'héberger (et parfois même me nourrir) en toutes circonstances, pour ces bons moments passés et surtout « à venir », Mouss' et Nassima, Kess' et Shamira, Hatim « Khan » et Arva, Akbar et Alafiah, quel plaisir et quel honneur de vous compter parmi mes amis,

A tous les amis « KARANA » de Madagascar, les tuléarois pour leur esprit « festif » permanent, à Houssen « Bex, le spécialiste des baleines » et Alio « VISTA » qui me réservent toujours un accueil chaleureux,

A Raoul qui m'a « obligé » à passer le concours d'internat,

A Tasnime, amoureuse en cachette de « SENTOU », pour tous ces moments inoubliables passés durant cet internat,

INDEX

ASC : Aire Sous la Courbe

BLSE : Bêta-Lactamase à Spectre Elargi

BSAC : *British Society for Antimicrobial Chemotherapy*

C3G : Céphalosporine de troisième Génération

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

CHU : Centre Hospitalier Universitaire

CMI : Concentration Minimale Inhibitrice

DHPS : Dihydroptéorate Synthétase

EARS-Net : *European Antimicrobial Resistance Surveillance Network*

EBLSE : Entérobactéries de type BLSE

ECBU : Examen Cyto-Bactériologique Urinaire

ECDC : *European Centre for Disease Control and Prevention*

ES : Etablissement de Santé

EUCAST : *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*

IM : Intra Musculaire

IN : Infection Nosocomiale

IU : Infection Urinaire

IV : Intra-Veineuse

LPS : Lipopolysaccharide

ONERBA : Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques

PLP : Protéine Liant les Pénicillines

PD : Pharmacodynamique

PK : Pharmacocinétique

SARM : *Staphylococcus aureus* Résistant à la Méricilline

SLD : Soins de Longue Durée

SPILF : Société de Pathologie Infectieuse de Langue Francaise

SSR : Soins de Suite et de Réadaptation

I. LES ENTEROBACTERIES	14
A. STRUCTURE GENERALE DES BACILLES GRAM NEGATIF	14
1. LA PAROI.....	14
2. LA MEMBRANE PLASMIQUE.....	16
3. LE CYTOPLASME	16
4. LE NOYAU ET LE MATERIEL GENETIQUE	16
5. LES COMPOSANTS EXTERNES DE LA PAROI BACTERIENNE.....	17
B. CLASSIFICATION DES ENTEROBACTERIES.....	17
1. CARACTERES GENERAUX.....	18
2. CARACTERES CULTURAUX.....	18
3. CARACTERES BIOCHIMIQUES	18
4. CARACTERES ANTIGENIQUES	18
C. LES INFECTIONS A ENTEROBACTERIES	18
1. INFECTIONS URINAIRES.....	18
2. INFECTIONS INTRA-ABDOMINALES.....	19
3. PNEUMOPATHIES	19
4. BACTERIEMIES	19
5. INFECTIONS NOSOCOMIALES A ENTEROBACTERIES.....	20
D. PRINCIPAUX ANTIBIOTIQUES ACTIFS SUR LES ENTEROBACTERIES.....	20
1. LES β -LACTAMINES.....	21
2. LES QUINOLONES	22
3. LES AMINOSIDES	22
4. LES SULFAMIDES : LE COTRIMOXAZOLE.....	22
II. RESISTANCES CHEZ LES ENTEROBACTERIES : MECANISMES, METHODES DE DETECTION ET OUTILS D'INTERPRETATION	22
A. RESISTANCE AUX β -LACTAMINES CHEZ LES ENTEROBACTERIES	22
1. CLASSIFICATION DES β -LACTAMASES	22
2. PHENOTYPES DE RESISTANCES NATURELLES.....	23
3. PHENOTYPES DE RESISTANCES ACQUISES	25
B. METHODES D'ETUDE DE LA SENSIBILITE <i>IN VITRO</i> DES ANTIBIOTIQUES.....	29
1. DILUTION EN MILIEU LIQUIDE.....	29
2. DIFFUSION EN GRADIENT : TECHNIQUE DU E-TEST®	29

3.	DIFFUSION EN MILIEU GELOSE.....	29
C.	METHODES DE DETECTION DES BLSE CHEZ LES ENTEROBACTERIES	29
1.	LA DETECTION PHENOTYPIQUE.....	30
2.	LA DETECTION MOLECULAIRE	32
D.	INTERPRETATION DES CHOIX DE SENSIBILITE : PK/PD.....	32
1.	LES CONCENTRATIONS CRITIQUES.....	32
2.	CHOIX DE LA METHODE EN ROUTINE : CMI ou DIQUES ?.....	34
III.	RESISTANCES AUX C3G : COMMENT EPARGNER LES CARBAPENEMES ?	36
A.	EPIDEMIOLOGIE DE LA RESISTANCE AUX C3G	36
1.	EPIDEMIOLOGIE AU NIVEAU MONDIAL	36
2.	EPIDEMIOLOGIE EN FRANCE	39
3.	FACTEURS DE RISQUE D'ACQUISITION D'UNE BLSE.....	41
B.	PROBLEMATIQUE	42
C.	LES ALTERNATIVES THERAPEUTIQUES	43
1.	Le pivmécillinam SELEXID®	43
2.	La témocilline NEGABAN®	44
3.	Le céfépime AXEPIM®	46
IV.	OBJECTIFS DE L'ETUDE	49
1.	Objectif principal	49
2.	Objectifs secondaires	49
V.	MATERIELS ET METHODES	49
A.	POPULATION	49
B.	ANTIBIOTIQUES TESTES.....	49
C.	METHODE D'EVALUATION	50
D.	CONCENTRATIONS ET DIAMETRES CRITIQUES	50
E.	REALISATION TECHNIQUE	50
VI.	RESULTATS	52
A.	CARACTERISTIQUES DE L'ENSEMBLE DES SOUCHES	52
1.	Services prescripteurs	52
2.	Répartition des entérobactéries	53
3.	Répartition des entérobactéries selon leurs profils de résistances.....	53
4.	Sensibilité in vitro de l'ensemble des souches.....	54
5.	Répartition des CMI de l'ensemble des souches	54

6.	Concordances entre CMI-diamètre.....	55
B.	CARACTERISTIQUES DES SOUCHES BLSE.....	55
1.	Répartition des entérobactéries BLSE.....	56
2.	Sensibilité <i>in vitro</i> des entéobactéries BLSE	56
C.	CARACTERISTIQUES DES SOUCHES NON BLSE	56
1.	Répartition des entérobactéries non BLSE	57
2.	Sensibilité <i>in vitro</i> des entéobactéries non BLSE	57
D.	CARACTERISTIQUES DES SOUCHES « URINAIRES »	58
E.	CARACTERISTIQUES DES SOUCHES « PRELEVEMENTS RESPIRATOIRES ».....	58
F.	CARACTERISTIQUES DES SOUCHES « PRELEVEMENTS PROFONDS ».....	59
G.	CARACTERISTIQUES DES SOUCHES « HEMOCULTURES »	60
H.	CARACTERISTIQUES DES SOUCHES « PRELEVEMENTS OSSEUX »	60
VII.	DISCUSSION.....	61
A.	LE MECILLINAM	61
1.	SENSIBILITE <i>IN VITRO</i>	61
2.	EFFICACITE CLINIQUE	66
B.	LA TEMOCILLINE.....	67
1.	SENSIBILITE <i>IN VITRO</i>	67
2.	EFFICACITE CLINIQUE	71
C.	LE CEFEPIME	72
1.	SENSIBILITE <i>IN VITRO</i>	73
2.	EFFICACITE CLINIQUE	76
VIII.	CONCLUSION	77
IX.	REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....	78
X.	RESUME	85

LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 Classification des β -lactamines.....	21
Tableau 2 Classification simplifiée des β -lactamases d'Ambler.....	23
Tableau 3 Phénotypes sauvages des entérobactéries	24
Tableau 4 Caractéristiques de quelques BLSE de découverte récente.....	27
Tableau 5 Facteurs de risque d'infection ou de colonisation à EBLSE.....	41
Tableau 6 Concentrations tissulaires de la témocilline.....	45
Tableau 7 Concentrations tissulaires du céfépime	47
Tableau 8 Concentrations et diamètres critiques du mécillinam, de la témocilline et du céfépime.....	50
Tableau 9 Répartition des entérobactéries selon les différents pôles du CHU de Poitiers.....	52
Tableau 10 Sensibilités au mécillinam, à la témocilline et au céfépime en fonction du site d'isolement des entérobactéries	54
Tableau 11 Tableau de concordance CMI-diamètre du mécillinam, de la témocilline et du céfépime.....	55
Tableau 12 Sensibilités au mécillinam, à la témocilline et au céfépime en fonction du site d'isolement des 148 EBLSE.....	56
Tableau 13 Sensibilités au mécillinam, à la témocilline et au céfépime en fonction du site d'isolement des 134 entérobactéries non-BLSE	57
Tableau 14 Etudes françaises récentes sur la sensibilité des entérobactéries au mécillinam.	63
Tableau 15 Etudes internationales récentes sur la sensibilité des entérobactéries au mécillinam.	65
Tableau 16 Etudes françaises récentes sur la sensibilité des entérobactéries à la témocilline.....	69
Tableau 17 Etudes internationales récentes sur la sensibilité des entérobactéries à la témocilline.....	70
Tableau 18 Etudes françaises et internationales récentes sur la sensibilité des entérobactéries au céfépime.	75

LISTE DES FIGURES

Figure 1 Paroi des bactéries à Gram négatif	14
Figure 2 Distribution des principaux micro-organismes isolés des pneumopathies documentées au plan microbiologique. ENP, France, Juin, 2012.	19
Figure 3 Distribution des principaux micro-organismes isolés des infections urinaires documentées au plan microbiologique. ENP, France, juin 2012	20
Figure 4 Synergies : modalités de détection des BLSE	30
Figure 5 Détection d'une BLSE par E-test®	31
Figure 6 Détermination de la concentration critique épidémiologique d' <i>E.coli</i> vis-à-vis du céfotaxime.....	32
Figure 7 Concentrations critiques PK/PD	33
Figure 8 Droite de concordance CMI/diamètre.	34
Figure 9 Répartition des CMI et des diamètres	35
Figure 10 Graphe de confrontation CMI/diamètre.....	35
Figure 11 Répartition des CMI en fonction du phénotype	36
Figure 12 Evolution des résistances aux C3G chez <i>E.coli</i> en Europe	37
Figure 13 Evolution des résistances aux C3G chez <i>K.pneumoniae</i> en Europe.....	37
Figure 14 Résistance aux C3G et production de BLSE en France	39
Figure 15 Incidences globales régionales des EBLSE pour 1000 journées d'hospitalisation en France	40
Figure 16 Incidences globales régionales des <i>E.coli</i> BLSE pour 1000 journées d'hospitalisation en France	40
Figure 17 Gélose n°1 : souche de <i>E.coli</i> avec CMI témocilline et CMI mécillinam.....	51
Figure 18 Gélose n° 2 : souche de <i>E.coli</i> avec CMI du céfépime ; diamètres de la témocilline, du mécillinam et du céfépime	51
Figure 19 Répartition des 282 souches d'entérobactéries	53
Figure 20 Répartition des 282 souches d'entérobactéries en fonction de leurs profils de résistances.....	53
Figure 21 Répartition des CMI du mécillinam, de la témocilline et du céfépime des 282 souches.....	55
Figure 22 Répartition des 148 souches d'EBLSE	56
Figure 23 Répartition des souches d'entérobactéries non-BLSE	57

Figure 24 Répartition des CMI du mécillinam, de la témocilline et du céfépime des 149 souches urinaires.....	58
Figure 25 Répartition des CMI de la témocilline et du céfépime des 34 souches « respiratoires »	59
Figure 26 Répartition des CMI de la témocilline et du céfépime des 28 souches « prélèvements profonds »	59
Figure 27 Répartition des CMI de la témocilline et du céfépime des 33 souches « hémocultures »	60
Figure 28 Répartition des CMI de la témocilline et du céfépime des 5 souches « prélèvements osseux »	60

Les entérobactéries constituent un vaste groupe de bactéries présentant de fortes similitudes. En 1937, Rahn propose de rassembler les genres bactériens déjà décrits (tels que *Escherichia coli*, *Salmonella*, *Klebsiella*, *Shigella* etc.) au sein d'une seule grande famille : les *Enterobacteriaceae*.

Comme la plupart des bactéries, les entérobactéries possèdent une paroi qui leur confère leur forme et qui les protège de la lyse osmotique.

En 1884, Christian Gram développe une méthode de coloration des bactéries qu'on appelle aujourd'hui la coloration de Gram. Par cette technique, les entérobactéries apparaissent rose ou rouge en microscopie photonique, ces bactéries sont ainsi dénommées à Gram négatif.

I. LES ENTEROBACTERIES

A. STRUCTURE GENERALE DES BACILLES GRAM NEGATIF

1. LA PAROI

La paroi est composée de la membrane externe et de l'espace périplasmique (Figure 1) ; ce dernier est constitué d'un élément majeur, le peptidoglycane ; on y trouve également les PLP (Protéines Liant les Pénicillines), cible des antibiotiques comme les β -lactamines. Cette paroi donne leur forme aux bactéries ; elle constitue une interface d'échanges avec le milieu extérieur et surtout les protège contre toute agression extérieure.

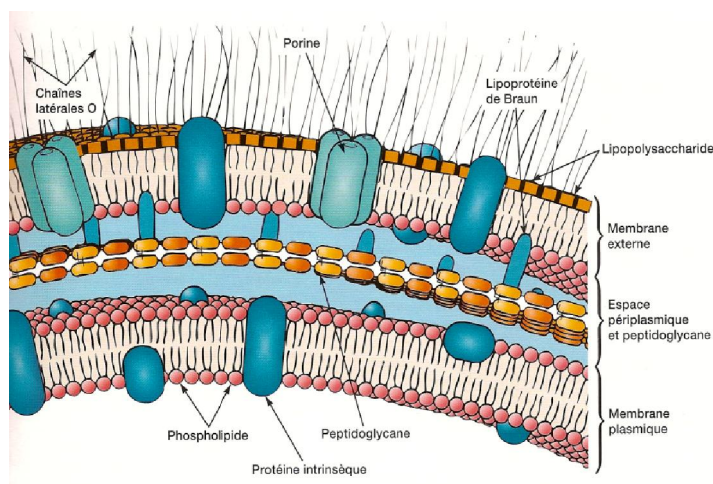


Figure 1 Paroi des bactéries à Gram négatif, d'après Prescott et *al.*

a) LA MEMBRANE EXTERNE

La membrane externe est la couche externe de l'enveloppe bactérienne. Elle sert de **barrière de protection**, régule le passage des sels biliaires, des antibiotiques et autres substances toxiques susceptibles de lyser ou d'endommager la bactérie. Elle empêche la perte des constituants comme les enzymes périsplasmiques.

Les **porines** représentent l'un des constituants de cette enveloppe. Elles sont constituées par l'assemblage de 3 protéines qui s'insèrent au sein de la membrane, formant ainsi des canaux étroits au sein desquels pourront traverser les molécules allant jusqu'à 600 à 700 daltons. De nombreux antibiotiques actifs sur les entérobactéries, comme les fluoroquinolones, utilisent la voie des porines pour aller jusqu'à leur site d'action.

Les **lipopolysaccharides** constituent un élément majeur la membrane externe. Ils sont constitués par trois éléments : le lipide A, le polysaccharide central et la chaîne latérale O [1]. Le lipide A s'insère dans la membrane externe. A partir de ce lipide se projettent, vers l'extérieur, le polysaccharide central et la chaîne latérale O. Le polysaccharide central est constitué par un enchaînement de sucres ; sa composition varie en fonction des bactéries. La chaîne latérale O est dans le prolongement du polysaccharide central. Elle correspond à la partie terminale du LPS et est composée par un ensemble de sucres qui varient en fonction de la souche bactérienne.

Le composant le plus abondant de la membrane externe est la lipoprotéine de Braun. Elle est insérée, dans la membrane externe par son extrémité hydrophobe, et dans le peptidoglycane par liaison covalente.

b) ESPACE PERIPLASMIQUE

Il correspond à la zone située entre la membrane externe et la membrane plasmique. Il comprend notamment le peptidoglycane et les PLP.

LE PEPTIDOGLYCANE

Les bacilles à Gram négatif comme les entérobactéries possèdent une couche mince de peptidoglycane, contrairement aux bactéries Gram positif comme les *Staphylococcus*. Il représente 5 à 10 % du poids de la paroi.

Le peptidoglycane, appelé encore muréine, est un polymère constitué de plusieurs sous-unités reliées entre elles. Chaque sous-unité est composée de 2 sucres, la N-acétylglucosamine (NAG) et la N-acétylmuramique (NAM), et d'une chaîne tétrapeptidique. Chez la plupart des bactéries à Gram négatif ainsi que de nombreuses bactéries Gram-positif, la chaîne est composée par la L-Alanine, l'acide D-glutamique, l'acide méso-diaminopimélique et la D-Alanine. Ce tétrapeptide est ensuite relié à la NAM. La liaison des tétrapeptides entre eux par un pont interpeptide permet d'obtenir un réseau dense de polymères.

Les bactéries à Gram négatif possèdent moins de ponts interpeptidiques que les bactéries à Gram positif.

LES PROTEINES LIANT LES PENICILLINES

Ce sont des enzymes (transpeptidases et carboxypeptidases) associées à la face externe de la membrane cytoplasmique. Leur rôle est d'assurer la synthèse du peptidoglycane. Pour une espèce bactérienne donnée, il existe plusieurs types de PLP ; par exemple, chez *E.coli*, il existe 7 types de PLP. Ces enzymes sont la cible des antibiotiques comme les β -lactamines.

2. LA MEMBRANE PLASMIQUE

Elle représente la partie la plus interne de l'enveloppe bactérienne (Figure 1). Elle est composée de protéines, qui sont en proportion plus abondantes, et de lipides. Au sein de la bicouche lipidique co-existent deux types de protéines :

- les protéines « **intrinsèques** » représentent 70 à 80 % des protéines de cette membrane. Leurs régions hydrophobes sont enfouies dans la bicouche lipidique et leurs régions hydrophiles se situent à l'extérieur. Ces protéines peuvent être transmembranaires avec la région hydrophile qui traverse toute la bicouche lipidique.
- les protéines « **extrinsèques** » représentent 20 à 30 % des protéines. Elles sont hydrophiles et se situent à l'extérieur de la membrane, elles sont faiblement reliées à celle-ci.

Cette membrane est une barrière perméable sélective : elle régule l'entrée et la sortie des substances nécessaires à la vie bactérienne. Des systèmes de transports permettent le rejet de déchets, les sécrétions et le passage des substances qui ne peuvent traverser directement la membrane plasmique.

3. LE CYTOPLASME

Le cytoplasme est la zone située entre la membrane plasmique et le matériel génétique. Il contient environ 15000 ribosomes représentant 90 % de l'ARN bactérien. Ce sont des organites de 20 à 30 μm de diamètre. Leur constante de sédimentation est de 70 unités Svedberg [S] ; ils sont composés de 2 sous-unités de 50 et 30S. Ils sont le lieu de la synthèse protéique.

De nombreuses inclusions de réserves énergétiques comme les granules de glycogène ou de poly- β -hydroxybutyrate se retrouvent également dans le cytoplasme

4. LE NOYAU ET LE MATERIEL GENETIQUE

a) LE NUCLEOÏDE

Support de l'information génétique, il représente le chromosome bactérien. Le plus souvent, il s'agit d'un cercle unique d'acide désoxyribonucléique double brin, surenroulé grâce aux topo-isomérases. Par exemple, chez *Escherichia coli*, le cercle d'ADN mesure 1400 μm .

L'analyse chimique du nucléoïde montre qu'il contient environ 60 % d'ADN, 30 % d'ARN et 10 % de protéines.

b) LES PLASMIDES

Il s'agit d'ADN extrachromosomique bicaténaire généralement circulaire. Ils représentent 1 à 3 % de l'ADN total. Ils peuvent s'intégrer au chromosome ou se répliquer de façon indépendante à celui-ci. Ces plasmides peuvent porter des gènes de résistances aux antibiotiques. Etant transmissibles, ils peuvent disséminer cette résistance dans toute une population bactérienne.

5. LES COMPOSANTS EXTERNES DE LA PAROI BACTERIENNE

Les bactéries possèdent à leur surface externe un grand nombre de structures parmi lesquelles on peut citer les flagelles, les fimbriae et les pilis.

Les flagelles sont responsables de la mobilité. Ce sont des structures minces qui mesurent de 15 à 20 μm avec un diamètre moyen de 20 nm. Ils s'étendent à l'extérieur de la paroi cellulaire. Cette structure n'est pas visible en microscopie photonique par la coloration de Gram. La disposition de ces flagelles varie selon l'espèce bactérienne. Par exemple, chez *Proteus vulgaris*, les flagelles sont distribués sur toute la surface bactérienne, on parle de ciliature péritriche.

Les fimbriae sont de minces appendices protéiques fins de plusieurs μm de long et 3 à 10 nm de diamètre. Ils ne sont visibles qu'en microscopie électronique. Une bactérie peut être couverte de 1000 fimbriae. Certains de ces fimbriae ont un rôle d'adhérence sur les tissus de l'hôte. Les défenses antibactériennes reconnaissent ces fimbriae comme des antigènes majeurs.

Les pilis sont les organes sexuels des bactéries. De 9 à 10 nm d'épaisseur et plus longs que les fimbriae, ils ont un rôle majeur dans les échanges génétiques entre les bactéries. Leur nombre peut varier de 1 à 10 par cellule.

B. CLASSIFICATION DES ENTEROBACTERIES

L'évolution constante des techniques d'études génomiques a profondément bouleversé la taxonomie des bactéries, et celle des entérobactéries en particulier. L'hybridation ADN/ADN, le séquençage des gènes des ARNr 5S, 16S et du rpoB (codant l'ARN polymérase B) permettent une identification précise des espèces bactériennes.

On dénombre 53 genres et plus de 170 espèces. Certains genres comme *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, *Yersinia* sont plus fréquemment isolés en bactériologie clinique.

Les entérobactéries sont définies par un ensemble de caractères généraux communs, culturels, biochimiques, antigéniques qui leur confèrent une certaine similitude. Leur sensibilité aux β -lactamines est utilisée en pratique courante pour les classer dans différents groupes.

1. CARACTERES GENERAUX

Ce sont des bacilles à Gram négatif, droits, généralement de petite taille (1-6 µm), non sporulés, le plus souvent mobiles grâce à une ciliature péritriche. Certains genres comme *Klebsiella* et *Shigella* sont immobiles.

2. CARACTERES CULTURAUX

La culture est généralement aisée sur milieux ordinaires (18-24H), sauf les genres *Yersinia* et *Shigella* qui nécessitent au moins 48H de culture. La température optimale de croissance est de 35 à 37°C, à l'exception des *Yersinia* (30-37°C), des *Pantoea* et des *Erwinia* (27 à 30°C). Elles sont majoritairement de type aéro-anaérobies facultatives.

3. CARACTERES BIOCHIMIQUES

Les entérobactéries fermentent le sucre et possèdent de nombreuses enzymes (Bêta-galactosidase, décarboxylases de la lysine et de l'ornithine, dihydrolase de l'arginine etc.) ; ces critères sont utilisés dans les galeries d'identification de type API 20E® (bioMérieux, Marcy l'Etoile, France) pour l'identification bactérienne.

Ces enzymes sont mises à profit dans les géloses chromogéniques pour identifier plus facilement les différentes bactéries.

4. CARACTERES ANTIGENIQUES

Certains genres comme les *Salmonella* nécessitent une caractérisation antigénique pour identifier le sérotype. Les entérobactéries possèdent plusieurs types d'antigènes différents :

- Antigène O : partie terminale du LPS
- Antigène H : antigène flagellaire
- Antigène K : antigène capsulaire (*Klebsiella*, certaines souches d'*E.coli*, *Shigella*, *Citrobacter* et *Salmonella* « antigène Vi »)
- Antigène de Kunin ou ECA (Enterobacteriaceae Common Antigen) : intérêt taxonomique
- Antigènes d'adhésines (pili, fimbriae)

C. LES INFECTIONS A ENTEROBACTERIES

1. INFECTIONS URINAIRES

Les infections urinaires sont des pathologies très fréquentes avec des tableaux de gravité très variables ; parmi ces différentes présentations cliniques, on peut citer les cystites (cystite aiguë simple, la cystite à risque de complication, la cystite récidivante), les pyélonéphrites (avec ou sans signes de gravité). Toutes les catégories d'âge sont touchées par ces infections.

La fréquence de ces infections est estimée à 150 millions dans le monde et à 2 millions en France générant une consommation abondante d'antibiotiques.

En milieu communautaire, les entérobactéries représentent l'essentiel des germes retrouvés dans ces infections avec *E.coli* au 1^{er} rang (70 à 95 %) ; les autres entérobactéries (dont

Proteus ssp. et *Klebsiella ssp.*) représentent 10 à 25 % des germes. Chez la femme jeune de 15 à 30 ans, 10 % des cystites sont dues à *Staphylococcus saprophyticus* [2].

2. INFECTIONS INTRA-ABDOMINALES

Elles concernent le péritoine, les organes creux et pleins intra-abdominaux. Ces infections engagent souvent le pronostic vital et nécessitent donc une prise en charge médicochirurgicale urgente. Les entérobactéries comme *E.coli* (on retrouve également des anaérobies comme *Bacteroides fragilis* et dans moins de 10 % des cas, des entérocoques) font partie des germes souvent isolés dans ce type d'infection, à partir des prélèvements peropératoires ou sur les hémocultures.

Parmi ces infections, on peut citer l'appendicite, la péritonite, la diverticulite sigmoïdienne, les infections biliaires (cholécystite et angiocholite), les abcès profonds postopératoires, les infections du liquide d'ascite et les abcès des organes pleins intra-abdominaux.

3. PNEUMOPATHIES

Les entérobactéries sont impliquées dans les pneumopathies, essentiellement dans un contexte nosocomial de pneumopathie acquise sous ventilation et de pneumonies d'inhalation.

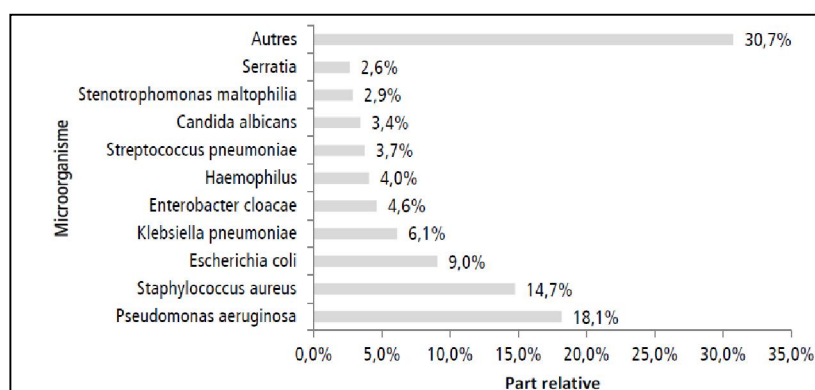


Figure 2 Distribution des principaux micro-organismes isolés (N=1262) des pneumopathies documentées au plan microbiologique (N=1022). ENP, France, Juin, 2012.

Lors de « l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012 » (Figure 2), les entérobactéries avaient représenté environ 20 % des micro-organismes isolés.

4. BACTERIEMIES

La bactériémie est définie par la présence documentée de bactéries dans le sang circulant, elle peut être symptomatique ou asymptomatique.

E.coli représentait la 2^{ème} cause de bactériémie en France, devant *Staphylococcus aureus* lors de l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé réalisée en France, en mai-juin 2012.

Ces bactériémies sont parfois associées à des localisations secondaires comme des infections ostéo-articulaires ou des spondylodiscites.

5. INFECTIONS NOSOCOMIALES A ENTEROBACTERIES

Le caractère nosocomial d'une infection est un élément essentiel dans la prise en charge médicale et surtout thérapeutique du patient.

Le rapport de « l'enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012 » présente les parts relatives des différentes infections nosocomiales. Les infections urinaires (29,9%) représentaient la première place avec comme facteur favorisant majeur, la pose de sonde urinaire ; la Figure 3 résume la distribution des principaux micro-organismes isolés dans ces infections urinaires. Les pneumonies, les infections du site opératoire (ISO) et les bactériémies/septicémies représentaient respectivement 16,7%, 13,5% et 10,1%. Ces quatre localisations d'IN représentaient 70,2 % des sites infectieux documentés.

Parmi les micro-organismes isolés dans ces infections, les entérobactéries représentaient la 1^{ère} place avec 45,4 % des germes devant les cocci à Gram positif (34%). Avec une part relative de 26%, *E.coli* était le 1^{er} germe retrouvé dans ces infections nosomiales.

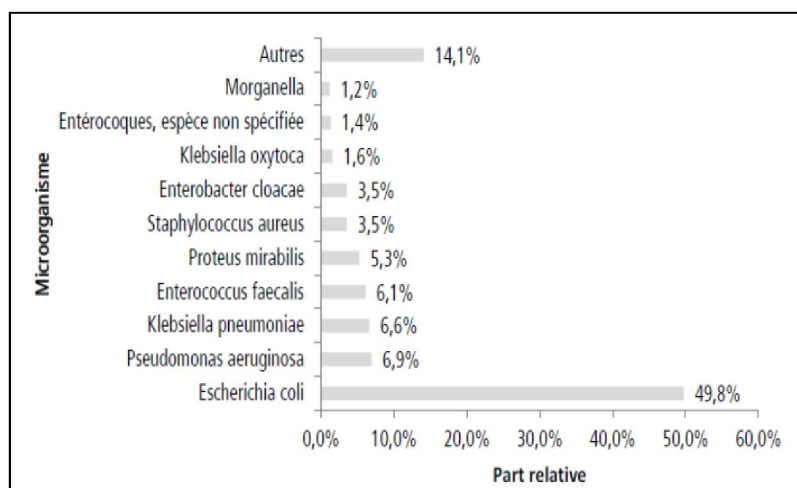


Figure 3 Distribution des principaux micro-organismes isolés (N=4737) des infections urinaires documentées au plan microbiologique (N=4295). ENP, France, juin 2012

D. PRINCIPAUX ANTIBIOTIQUES ACTIFS SUR LES ENTEROBACTERIES

Les antibiotiques sont des substances capables d'inhiber ou de détruire des bactéries. Depuis la première utilisation de la pénicilline à Oxford en 1941 pour traiter une septicémie à staphylocoque, les antibiotiques ont connu un développement considérable tout au long de la seconde moitié du XX^{ème} siècle [1].

Aujourd'hui, les trois principales familles d'antibiotiques utilisées pour traiter les infections à entérobactéries sont représentées par les β -lactamines, les fluoroquinolones et les aminosides. L'association triméthoprine/sulfaméthoxazole ou cotrimoxazole est aussi couramment utilisée.

1. LES β -LACTAMINES

A l'heure actuelle, les β -lactamines (Tableau 1) représentent la famille thérapeutique la plus utilisée dans le traitement des infections à entérobactéries [3]. Toutes les β -lactamines ont le même mécanisme d'action : après passage à travers la membrane externe par la voie des porines, elles bloquent la synthèse du peptidoglycane, constituant de la paroi bactérienne, en se liant aux PLP (Protéines de Liaison des Pénicillines) ou encore appelées PBP (Protein Binding Penicillin). Ces PLP se situent au niveau de la face externe de la membrane cytoplasmique. Il existe différents types de PLP (PLP1, PLP2 etc.) avec des affinités variables sur les différentes β -lactamines. Les β -lactamines sont des antibiotiques bactéricides et temps-dépendant [1]

PENAMES

Pénicillines sensibles aux pénicillinases : Pénicillines A ; Pénicillines G ; Pénicilline V

Pénicillines antistaphylococciques résistantes aux pénicillinases : pénicillines M semi-synthétiques
Cloxacilline ORBENINE® ; Oxacilline BRISTOPEN®

Carboxypénicillines : Ticarcilline TICARPEN® ; Temocilline NEGABAND®

Uréidopénicillines : Pipéracilline ; Pipéracilline + tazobactam TAZOCILLINE®

Aminidopénicillines : pivmécillinam (libère le mecillinam in vivo) SELEXID®

CARBAPENEMES

Imipénème + cilastatine TIENAM® ; Méropénème MERONEM® ; Ertapénème INVANZ®

OXAPENAMES ou CLAVAMES (acide clavulanique)

Amoxicilline + acide clavulanique AUGMENTIN®

Ticarcilline + acide clavulanique CLAVENTIN®

L'acide clavulanique (comme le sulbactam ou tazobactam) est utilisé comme inhibiteur de β -lactamases ; les BLSE sont sensibles à ces inhibiteurs contrairement aux céphalosporinases.

CEPHEMES ET OXACEPHEMES

Céphalosporines de 1^{ère} génération : Céfadroxil ORACEFAL® ; Céfalexine CEFACET® KEFORAL® ; Céfatrizine CEFATRIZINE® ; Céfazoline CEFAZOLINE® ; Céfradine DEXEF®

Céphalosporines de 2^{ème} génération : Céfaclor ALFATIL® ; Céfoxitine CEFOXITINE® ; Céfuroxime-axétil ZINNAT® ; Céfamandole CEFAMANDOLE®

Céphalosporines de 3^{ème} génération

- Voie injectable : Ceftriaxone ROCEPHINE® ; Céfotaxime CLAFORAN® ; Ceftazidime FORTUM®
- Voie orale : Céfixime OROKEN® ; Céfotiam TEXODIL® ; Cefpodoxime-proxétil ORELOX®

Céphalosporines de 4^{ème} génération : Céfépime AXEPIM® ; Cefpirome CEFROM®

Céphalosporines anti-SARM : Ceftaroline ZINFORO® ; Ceftobiprole MABELIO®

MONOBACTAMES

Aztréonam AZACTAM®

Tableau 1 Classification des β -lactamines, d'après Cavallo et al. 2004

2. LES QUINOLONES

Elles inhibent l'élongation de l'ADN bactérien et bloquent la réplication bactérienne en inhibant le fonctionnement de deux enzymes, la topo-isomérase II (ou ADN gyrase) et la topo-isomérase IV. Ce sont des antibiotiques bactéricides [4].

3. LES AMINOSIDES

Les aminosides sont actifs sur les entérobactéries. Ils agissent en inhibant la synthèse protéique bactérienne en se fixant sur le ribosome. Les aminosides les plus fréquemment utilisées en pratique clinique sont l'amikacine, la gentamicine, le nétilmicine et la tobramycine.

4. LES SULFAMIDES : LE COTRIMOXAZOLE

L'association d'un sulfamide (le sulfaméthoxazole, inhibiteur de la dihydroptérote synthétase DHPS) et du triméthoprim (inhibiteur dihydrofolate-réductase) permet une remarquable synergie bactéricide, notamment sur les entérobactéries.

II. RESISTANCES CHEZ LES ENTEROBACTERIES : MECANISMES, METHODES DE DETECTION ET OUTILS D'INTERPRETATION

A. RESISTANCE AUX β -LACTAMINES CHEZ LES ENTEROBACTERIES

La pénicilline, premier antibiotique, fut découvert en 1928 par Alexander Fleming (1881-1955) [5]. Rapidement après la première utilisation clinique en 1943, Edward Abraham et Ernest Chain décrivent une enzyme produite par *Escherichia coli* capable d'hydrolyser la pénicilline, ils l'appellèrent « pénicillinase ». L'introduction en 1960 de l'ampicilline s'accompagne par l'émergence rapide de résistance. A partir de 1980, l'arrivée sur le marché des céphalosporines de troisième génération produit rapidement de mutants hyperproducteurs de céphalosporinases chromosomiques chez des entérobactéries comme *Enterobacter cloacae* ou *Citrobacter freundii*. L'apparition et la diffusion mondiale de *Klebsiella pneumoniae* produisant une BLSE amène à la commercialisation de nouvelles molécules, les « carbapénèmes » ; ces molécules, actives sur les souches BLSE, sont depuis quelques années menacées par l'émergence de carbapénémases.

1. CLASSIFICATION DES β -LACTAMASES

Les β -lactamases (pénicillinases, céphalosporinases, BLSE ou carbapénémases) sont des enzymes capables d'hydrolyser les β -lactamines. Les deux classifications les plus couramment utilisées sont celles de Ambler et de Bush-Jacobi-Medeiros.

La classification de Bush repose sur les propriétés fonctionnelles de l'enzyme définies par son substrat préférentiel et son profil d'hydrolyse. Elle comprend quatre groupes divisés en sous-groupe.

La classification de Ambler (Tableau 2) est basée sur la similarité des séquences des enzymes. Elle comprend quatre groupes dont les groupes A, C et D qui sont dits à sérine active et le groupe B qui comprend les métallo- β -lactamases. La classe A comprend

notamment les enzymes de type BLSE ; elle est en général sensible à l'action de l'acide clavulanique et de l'acide boronique. La classe C comprend les céphalosporinases de type AmpC ; elle est insensible à l'acide clavulanique mais inhibée par la cloxacilline. La classe D comprend notamment les oxacillinasés ; elle est insensible à l'acide clavulanique. Enfin, la classe B comprend des enzymes utilisant un ion Zn^{2+} comme cofacteur ; elle est inhibée par l'EDTA ou l'acide dipicolinique et insensible à l'acide clavulanique.

Classe	Enzyme	Substrats préférentiels	Exemples
A	Pénicillinase	Pén +/- Céph	TEM-1, TEM-2, SHV-1
	β -lactamase à spectre étendu (BLSE)	Pén, Céph, Mono	Dérivés de TEM/SHV CTX-M, PER, VEB
	Pénicillinase résistante aux inhibiteurs	Pén	TRI
	Carbapénémase	Pén, Céph, Mono, Carb	KPC
B	Métallo- β -lactamase	Tous (sauf Mono)	IMP, VIM, NDM-1
C	Céphalosporinase	Céph	<i>AmpC</i> , CMY
D	Oxacillinase	Pén (oxacilline) +/- Céph ou Carb	OXA (notamment OXA-48 chez Ent ; OXA-23, -24, -58 chez Ab)

Tableau 2 Classification simplifiée des β -lactamases d'Ambler, d'après Cattoir et al.

Pén, pénicillines ; Céph, céphalosporines ; Mono, monobactames ; Carb, carbapénèmes ; Ent, entérobactéries ; Ab, *Acinetobacter baumannii*.

2. PHENOTYPES DE RESISTANCES NATURELLES

Ces 7 groupes de résistances (Tableau 3) sont basés sur la production de β -lactamases.

Groupe 0 : entérobactéries naturellement sensibles à toutes les β -lactamines et absence de gène codant pour une β -lactamase. Exemples : Genre *Salmonella* et l'espèce *Proteus mirabilis*.

Groupe 1 : entérobactéries produisant une **céphalosporinase constitutive** de très bas niveau appartenant à la classe C de Ambler ; elle est résistante aux inhibiteurs. Exemples : *E.coli*, *Shigella*.

Groupe 2 : entérobactéries avec une **pénicillinase de bas niveau**, chromosomique et constitutive. Le phénotype est caractérisé par une résistance aux aminopénicillines et carboxypénicillines. Exemples : *K. pneumoniae*, *K.oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Raoultella planticola*, *R. ornithinolytica*.

Groupe 3 : entérobactéries possédant une **céphalosporinase inducible** *AmpC* ; elle est régulée par un facteur de transcription *AmpR* et inducible par les β -lactamines. Le phénotype de résistance est caractérisé par une résistance aux aminopénicillines seules ou associés aux inhibiteurs et une résistance aux céphalosporines de 1^{ère} génération. La résistance aux céphalosporines de 2^{ème} génération est variable. Par exemple, *H. alvei*, *Providencia* et *P.agglomerans* sont souvent sensibles à la céfoxitine et au céfuroxime. *Serratia marcescens* et *Morganella morganii* sont plus sensibles à la céfoxitine que le genre *Enterobacter* et l'espèce *C. freundii*.

Groupe 4 : entérobactéries produisant une céphalosporinase inducible et une enzyme sensible aux inhibiteurs. Exemples : *Yersinia enterocolitica* et *Serratia fonticola*

Groupe 5 : entérobactéries avec une céfuroximase inducible chromosomique. Il comprend une résistance aux aminopénicillines, aux céphalosporines de 1^{ère} génération, au céfuroxime et une sensibilité aux inhibiteurs de β -lactamases. Exemples : *P. vulgaris* et *P. penneri*.

Groupe 6 : entérobactéries produisant une BLSE de bas niveau/ BLSE inducible ; il comprend essentiellement des espèces environnementales, rares en cliniques. Exemples : *Kluyvera ascorbata*, *Rahnella aquatilis* et *Erwinia perscinia*.

PHENOTYPES SAUVAGES							
	Groupe 0	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5	Groupe 6
Aminopénicillines	S	S/I	R	R	R	R	R
Aminopénicillines + clavulanate	S	S/I	S	R	R(S→R)	S	S
Carboxypénicillines	S	S	R	S	R	S	I/R
Carboxypénicillines + clavulanate	S	S	S	S	S	S	S
Uréidopénicillines	S	S	(S→I)/I/R	S	(S→I)/I/R	S	I/R
Uréidopénicillines + tazobactam	S	S	S	S	S	S	S
Céphalosporines de 1^{ère} génération	S	S/I	I	R	R	R	R
Céphalosporines de 2^e génération	S	S	I	S/I/R	S/R	R	R
Céfoxitine	S	S	I	S/I/R	S	S	S
Ceftazidime	S	S	S	S	S	S	S
Céfotaxime/ceftriaxone	S	S	S	S	S	S	S
Aztréonam	S	S	S	S	S	S	S
Céphalosporines de 4^e génération	S	S	S	S	S	S	S
Ertapénème	S	S	S	S	S	S	S
Imipénème	S	S	S	S	S	S	S

Tableau 3 Phénotypes sauvages des entérobactéries

Le traitement des infections dues aux entérobactéries repose essentiellement sur l'utilisation des β -lactamines. Cette utilisation entraîne l'apparition de résistances acquises qui vont ainsi s'additionner au phénotype naturel de ces bactéries.

3. PHENOTYPES DE RESISTANCES ACQUISES

a) RESISTANCES ENZYMATIQUES

Ces mécanismes correspondent à la production de β -lactamases ; ils représentent aujourd'hui l'essentiel des mécanismes de résistances retrouvés chez les entérobactéries [6]. Les β -lactamases sont des enzymes qui hydrolysent le pont amide du cycle β -lactame (correspondant à la structure de base des β -lactamines) pour donner un acylenzyme qui sera dégradé en acide inactif.

Pénicillinase acquise

Le niveau d'expression de ces enzymes est variable. Elles sont plasmidiques et de classe A, la plus fréquente est TEM-1, puis TEM-2 et SHV-1/PIT-2. L'enzyme TEM-1 est la première β -lactamase plasmidique décrite chez les entérobactéries en 1965 [7]. De bas niveau, le phénotype présente une résistance aux aminopénicillines et carboxypénicillines ; de haut niveau, la résistance concerne toutes les aminopénicillines associées ou non aux inhibiteurs de β -lactamases et aux céphalosporines de 1^{ère} génération, voire celles de 2^{ème} génération [3]. Par exemple, ce niveau d'expression est faible chez les espèces des genres *Proteus*, *Providencia* et *Morganella*.

Pénicillinase résistante aux inhibiteurs

L'utilisation excessive de l'association β -lactamine/inhibiteur de β -lactamase a conduit à l'émergence d'enzymes résistantes aux inhibiteurs appelées TRI pour TEM Résistantes aux Inhibiteurs [8]. Elles provoquent généralement une résistance aux amino- et carboxypénicillines seules ou en association avec les inhibiteurs .

Les enzymes de type OXA (classe D de Ambler) sont des oxacillinasés qui portent un niveau de résistance plus élevé sur l'association pipéracilline-tazobactam et parfois une résistance intermédiaire à la céfépime (céphalosporine de 4^{ème} génération). Une discrète image de synergie entre les disques de céfépime et d'amoxicilline-acide clavulanique permet de les identifier.

B-lactamase à spectre étendu (BLSE)

Les BLSE sont des β -lactamases de classe A qui dérivent des pénicillinases de type TEM-1, TEM-2 et SHV-1 suite à la substitution de 1 à 4 acides aminés. Elles sont caractérisées par une résistance à haut niveau à toutes les pénicillines, aux C1G, C2G ainsi qu'une résistance variable aux C3G et C4G et à l'aztréonam [9]. Ces β -lactamases sont inhibées de façon irréversible par les inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam ; l'activité des céphamycines comme la céfoxitine est conservée. Toutefois, en cas de forte production de cette enzyme, l'action de l'inhibiteur est insuffisante et peut conduire à un échec thérapeutique [10].

Plus de 300 BLSE ont été décrites à ce jour [11]. A partir de 1985, c'est-à-dire peu de temps après la commercialisation des C3G, apparaissent les 1^{ères} β -lactamases de type TEM et SHV. Le 3^{ème} grand groupe de BLSE est représenté par les CTX-M dont la première, de type FEC-1, a été découverte au Japon chez *E.coli* en 1986 [12].

Les TEM, les SHV et les CTX-M possèdent 40 % d'homologie structurale. La majorité des BLSE appartient à l'un de ces 3 groupes.

➤ LES BLSE DE TYPE TEM

Ces enzymes dérivent des TEM-1/2 qui sont au départ des pénicillinases ; TEM-1 a été découverte en 1965 chez *E.coli* en Grèce chez une patiente dénommée Temoneira, ce qui a donné le nom à cette enzyme [13]. Plus de 190 enzymes de type TEM de type BLSE ont été identifiées [11]. Cet élargissement de l'activité « pénicillinase » à l'activité « BLSE » est le résultat de modifications de la séquence d'acides aminés de l'enzyme.

Les mutations de ces enzymes ne donnent pas systématiquement des BLSE mais peuvent aboutir à des enzymes de type TRI (TEM Résistantes aux Inhibiteurs) ou, de façon plus rare, au CMT (Complex Mutant TEM, qui est une TRI-BLSE).

➤ LES BLSE DE TYPE SHV (SulfHydril Variable)

Les BLSE de type SHV apparaissent en même temps que les BLSE de type TEM. Les SHV-1 sont au départ des pénicillinases codées par le gène *bla*_{SHV} chromosomique naturellement présent chez *K.pneumoniae* [14]. Comme pour les BLSE de type TEM, l'élargissement de cette activité « pénicillinase » à « BLSE » est due aux substitutions d'acides aminés. Plus de 160 mutants de type SHV BLSE ont été décrits [11].

➤ LES BLSE DE TYPE CTX-M

Les BLSE de type CTX-M (Céfotaximase-Munich) sont des enzymes qui avaient à l'origine, chez les entérobactéries, une résistance de haut niveau au céfotaxime, au céfépime et à l'aztréonam. C'est en 1986, chez une souche de *E.coli* au Japon, qu'est découverte la 1^{ère} BLSE de type CTX-M ; elle est dénommée FEC-1 (pour Féc *E.Coli*) à cette époque.

Les analyses génétiques ont montré que les gènes progéniteurs appartiennent au genre *Kluyvera*, entérobactéries dont l'isolement est très rare en bactériologie médicale. Ces enzymes ont été classées en 6 groupes phylogénétiques qui regroupent plus de 110 variants actuellement.

Plus récemment, en plus de la résistance au céfotaxime, certaines enzymes comme CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-19, CTX-M-23 et CTX-M-32 ont acquis un haut niveau de résistance à la ceftazidime par mutation.

➤ LES NOUVELLES BLSE

Partout dans le monde, des BLSE continuent à être isolées (Tableau 4). Elles sont caractérisées par un haut niveau de résistance à la ceftazidime et parfois, à l'aztréonam plutôt qu'au céfotaxime [15]. Ces enzymes sont moins isolées que les TEM, SHV et CTX-M

mais elles reflètent les possibilités de mobilisation de gènes chromosomiques environnementales.

BEL-1	<i>P. aeruginosa</i>	Belgique (2004)
GES-1	<i>K.pneumoniae</i>	France-Guyane (1998), Portugal (1999), France (2001)
OXY-1	<i>K.ocytoca, K.pneumoniae</i>	Espagne (2008)
PME-1	<i>P. aeruginosa</i>	Etats-Unis (2008)
SFO-1	<i>E.cloacae</i>	Japon (1988), Espagne (2011)

Tableau 4 Caractéristiques de quelques BLSE de découverte récente, d'après Philippon et al.

Céphalosporinases de haut niveau

L'enzyme **chromosomique** de type *AmpC* (classe C de Ambler) est produite à haut niveau suite à la mutation du gène régulateur *AmpD* (gène du métabolisme du peptidoglycane) : on parle de mutant dérégulé. Cela confère une résistance à toutes les pénicillines, seules ou en association avec les inhibiteurs, à toutes les céphalosporines et aux céphamycines (sauf *H.alvei* dont la céphalosporinase de type ACC-1 n'a pas d'affinité pour les céphamycines). Le mércillinam, les C4G et les carbapénèmes ne sont généralement pas touchés [3]. Cette sélection de mutants dérégulés, fréquente, se fait *in vivo* lors de l'utilisation de C3G sur les entérobactéries du groupe 3 comme *Enterobacter cloacae* et *E. aerogenes* ; elle est beaucoup plus rare chez *Citrobacter freundii* et exceptionnelle pour les autres entérobactéries de ce groupe.

Cette céphalosporinase de type *AmpC* hyperproduite peut être modifiée, soit par mutation ponctuelle (par exemple L-293-P), soit par délétion de plusieurs bases au niveau de la région codante de l'*AmpC*, dite hélice alpha 10 ; ces modifications entraînent une résistance supplémentaire aux C4G comme le céfépime [6].

Ces céphalosporinases peuvent être également **plasmidiques**. Elles apparaissent vers 1988 aux Etats-Unis et en Europe chez des souches du genre *Klebsiella* (*K. pneumoniae* et *K. oxytoca*), appartenant au groupe 2 et ne produisant pas naturellement de céphalosporinase. Ce transfert de gènes chromosomiques, à partir d'entérobactéries en produisant naturellement, correspond à une étape majeure dans l'accroissement des résistances aux céphalosporines [16]. Plus d'une vingtaine de gènes ont été décrits (MR-1, ACT-1, CMY-1, CMY-2, LAT-1, LAT-2, DHA-1, DHA-2, ACC-1, FOX-1, MOX-2 etc.). Cette production est alors constitutive sauf pour les enzymes plasmidiques ACT-1, DHA-1 et CFE-1 dont le gène plasmidique est associé au gène de régulation *ampR* en amont du gène de structure *ampC* [6]. Cette émergence d'un mécanisme de résistance se répand à diverses espèces d'entérobactéries (notamment à *Salmonella enterica*, *Proteus mirabilis*, *E.coli*, *Shigella*, *Enterobacter cloacae* et *E. aerogenes*) et dans de nombreux pays.

Carbapénémases

Ces enzymes, en majorité transférables, représentent une menace majeure pour l'arsenal thérapeutique dont nous disposons actuellement. Les carbapénèmes sont bien souvent la

solution de dernier recours dans la prise en charge des infections résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} génération.

Trois familles principales de carbapénémases sont retrouvées chez les entérobactéries.

- Carbapénémases de type OXA-48/OXA-181 (classe D de Ambler), décrites pour la première fois en 1996 aux Etats-Unis chez *Klebsiella pneumoniae* [17], sont les plus fréquentes en France actuellement. On les retrouve principalement chez *K.pneumoniae*, *E.coli* et *Enterobacter ssp.* Le phénotype de résistance présente une résistance aux inhibiteurs de β -lactamases et aux carbapénèmes avec une sensibilité variables aux C3G. La témocilline est constamment résistante.
- Carbapénémases métallo-enzyme ou MBL (classe B de Ambler) présente un profil « intermédiaire » ou « résistantes » à presque toutes les β -lactamines sauf l'aztréonam, et à certaines, voir toutes les carbapénèmes.
- Carbapénémases de type KPC (classe A de Ambler) entraînent une résistance à toutes les β -lactamines et à certaines, voir toutes les carbapénèmes. Elles sont peu inhibées par l'acide clavulanique. Leur inhibition par l'acide boronique est mise à profit dans les tests de détection.

L'activité de ces β -lactamines vis-à-vis des entérobactéries a permis leur classification au sein de phénotypes de résistances naturelles. De quatre groupes en 1980 [18], ces phénotypes sont aujourd'hui classés au sein de sept groupes différents.

b) RESISTANCES NON ENZYMATIQUES

Modification de la cible

Ce mode de résistance est rare chez les entérobactéries. Il s'agit de modifications de PLP. Par exemple, chez *P.mirabilis*, une diminution de la production de la PLP1A entraîne une résistance à l'imipénème et au mécilinam. [19]

Diminution de la perméabilité

Les β -lactamines sont des molécules hydrophiles qui utilisent la voie des porines pour traverser la membrane externe. Cette modification de la perméabilité, assez fréquente chez les entérobactéries, entraîne une résistance de bas niveau. Une production d'une ou de plusieurs β -lactamases est souvent associée à cette imperméabilité.

Système d'efflux

Une résistance aux β -lactamines peut être la conséquence d'une surexpression de la pompe à efflux. Chez *E.coli* par exemple, on peut retrouver une surexpression de la pompe AcrAB.

B. METHODES D'ETUDE DE LA SENSIBILITE IN VITRO DES ANTIBIOTIQUES

Pour aider le clinicien dans le choix de l'antibiothérapie optimale, la réalisation d'un antibiotigramme est primordiale. Il consiste à déterminer la sensibilité aux antibiotiques d'une souche potentiellement responsable d'un processus infectieux. Le traitement d'une infection par un antibiotique catégorisé « sensible » grâce à un antibiogramme ne garantit pas le succès thérapeutique alors qu'utiliser un antibiotique catégorisé « résistant » est synonyme d'échec [20].

Deux groupes de techniques sont utilisés : la dilution en milieu liquide et la diffusion en milieu gélosé.

1. DILUTION EN MILIEU LIQUIDE

Elle permet de mesurer des CMI au sein d'un milieu liquide.

En macrométhode, elle correspond à la concentration d'antibiotique du premier tube resté limpide après 24H d'incubation avec la bactérie. Cette technique de référence ne permet de tester qu'un antibiotique par gamme.

En microméthode, la CMI est lue au niveau de la première cupule dans laquelle l'inhibition de la croissance bactérienne est observée. Cette méthode permet de tester plusieurs antibiotiques à la fois. De nombreux automates utilisent cette méthode.

2. DIFFUSION EN GRADIENT : TECHNIQUE DU E-TEST®

Il s'agit de bandelettes imprégnées par des concentrations croissantes d'antibiotique. Chaque bandelette correspond à un antibiotique donné. Le résultat est bien corrélé aux méthodes de références. Lorsque le contexte clinicomicrobiologique le justifie, les CMI sont ainsi évaluées. Cette méthode est néanmoins coûteuse.

3. DIFFUSION EN MILIEU GELOSE

Elle permet de mesurer en milieu gélosé les diamètres d'inhibition de la croissance d'une bactérie autour d'un disque imprégné d'antibiotique. Lorsqu'un disque est déposé sur la gélose, l'antibiotique qu'il contient va diffuser verticalement et horizontalement en établissant un gradient de concentration décroissant autour du disque. La valeur de ce diamètre d'inhibition va ensuite être comparé à des diamètres critiques (CA-SFM/EUCAST, BSAC etc.).

C. METHODES DE DETECTION DES BLSE CHEZ LES ENTEROBACTERIES

La prise en charge thérapeutique des patients est profondément modifiée lors de la détection d'une BLSE. Le laboratoire de microbiologie se doit de dépister ces résistances avec la méthode appropriée. La détection de ces souches est à la base du suivi épidémiologique de ces infections et des outils de prévention qui en découlent.

Le dépistage de ces BLSE se répartissent sur deux grands volets : la détection phénotypique et la détection moléculaire.

1. LA DETECTION PHENOTYPIQUE

Cette méthode est la plus utilisée en routine. Il existe différentes méthodes phénotypiques avec des sensibilité et spécificité qui vont varier, notamment en fonction des espèces.

a) LE TEST DE DOUBLE SYNERGIE

Ce test est basé sur la mise en évidence d'image de synergie caractéristique dite en « bouchon de champagne ». Il consiste à placer, à une distance centre à centre de 20 à 30 mm, un disque de C3G (céfotaxime ou ceftazidime 30 µg) ou d'aztréonam et un disque d'amoxicilline-acide clavulanique. Les niveaux variables de résistances aux C3G selon le type de BLSE (SHV, TEM ou CTX-M) entraînent des variations de ces images de synergie. La Figure 4 nous montre ces différences. En effet, sur l'image A, il n'y a pas de synergie avec la ceftazidime alors qu'elle est présente avec l'aztréonam et la céfotaxime ; sur l'image B, avec une BLSE de type CTX-M-1, la synergie est bien plus marquée avec le céfotaxime qu'avec la ceftazidime ou l'aztréonam ; enfin, l'image C montre une forte synergie à la fois sur les deux C3G et l'aztréonam.

Klebsiella oxytoca est une entérobactérie qui hyperproduit sa β -lactamase chromosomique K1 (phénotype « HyperOXY ») dans 10 à 20 % des cas, ce phénotype est à différencier des BLSE [21]. Elle est mise en évidence par une synergie entre le clavulanate et l'aztréonam, variable avec le cefotaxime et rarement visible avec la ceftazidime et le céfépime. L'hydrolyse de la ceftriaxone est beaucoup plus marquée que celle de la céfotaxime.

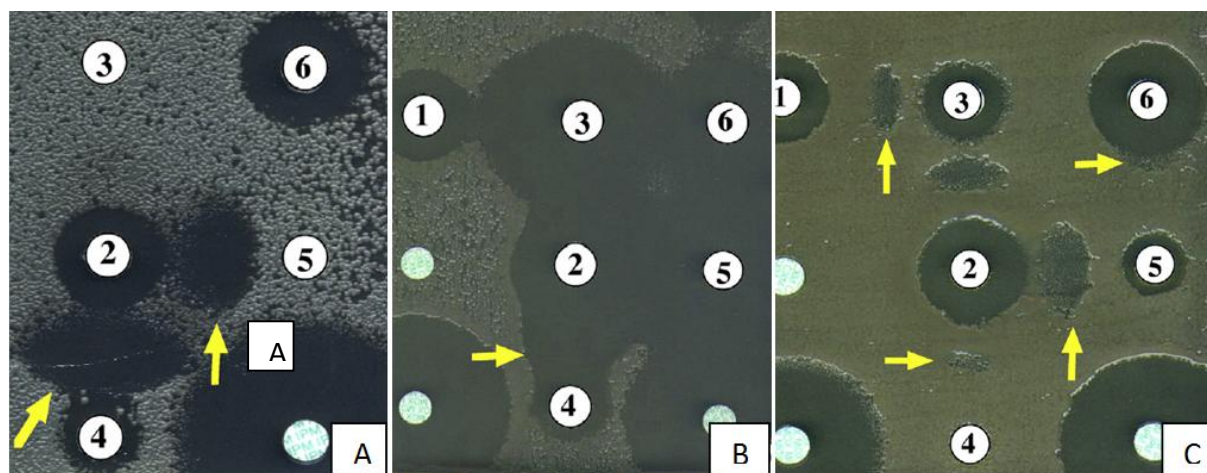


Figure 4 Synergies : modalités de détection des BLSE, d'après Philippon et *al.* 1 : amoxicilline + acide clavulanique ; 2 : ticarcilline + acide clavulanique ; 3 : ceftazidime ; 4 : céfotaxime ; 5 : aztréonam ; 6 : pipéracilline + tazobactam. Les flèches indiquent les synergies.

b) LES DISQUES COMBINES

Le principe de cette méthode repose sur la variation du diamètre d'inhibition entre une C3G seule et l'association « C3G + inhibiteur » ; l'inhibiteur utilisé est l'acide clavulanique. Les BLSE sont des β -lactamases de classe A, donc sensibles aux inhibiteurs. Une augmentation du diamètre de 5 mm sur le disque « C3G + inhibiteur » fait suspecter une BLSE [22]. En utilisant comme C3G la céfépime et le céfotaxime, la sensibilité est de 100% et la spécificité de 86% pour *Klebsiella*, *E.coli*, *Citrobacter* et *Proteus mirabilis*.

Chez les entérobactéries du groupe 3 (*Enterobacter ssp.*, *citrobacter freundii*, *Providencia ssp* etc.), la présence d'une céphalosporinase dérégulée doit être inhibée afin de pouvoir effectuer une lecture correcte. Cette inhibition s'effectue grâce à une gélose contenant 250 µg/ml de cloxacilline.

c) LE E-TEST®

Les bandelettes E-test® sont également utilisées pour la détection des BLSE. Elles sont également basées sur la capacité de l'acide clavulanique à inhiber ces β -lactamases. D'un côté, elles sont imprégnées par une C3G (céfotaxime ou ceftazidime) ou C4G (céfépime) et de l'autre côté, la même molécule est associée à l'inhibiteur, l'acide clavulanique. Les CMI sont mesurées des 2 côtés et une baisse de la CMI supérieure à trois dilutions de la céphalosporine en présence de l'inhibiteur indique une éventuelle BLSE. Cette méthode est délicate et nécessite un minimum d'expérience [22]. La déformation de l'ellipse (Figure 5) indique également la présence d'une BLSE [23].



Figure 5 Détection d'une BLSE par E-test®, d'après E.stürenburg et al.

PM : céfépime, PML : céfépime+clavulanate

d) LES TESTS IMMUNOCHROMATOGRAPHIQUES

Le Cica- β -Test (Kanto Chemical, Tokyo, Japan) permet une détection rapide des BLSE à partir d'une culture bactérienne de 24H. Ce test utilise 4 bandelettes : une bandelette ne contenant aucun inhibiteur, une deuxième contenant l'acide clavulanique (détection des BLSE), une troisième contenant l'acide boronique (détection des *AmpC*) et une quatrième contenant l'EDTA (détection des métallo- β -lactamases). L'hydrolyse de la céphalosporine chromogène HMRZ-86 entraîne un changement de coloration du jaune au rouge. Une étude de 2011 réalisée sur 200 bactéries (170 entérobactéries et 30 bactéries non fermentaires) a montré une sensibilité de 94,8 % et une spécificité de 83,6 % [24].

Le β Lacta test (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) est également basé sur l'hydrolyse du HMRZ-86 (céphalosporine de synthèse), entraînant un changement de coloration du jaune au rouge en moins de 15 minutes. Ce test permet la mise en évidence d'une résistance aux céphalosporines de troisième génération à partir d'une culture bactérienne de 24H. Renvoisé et al. [25] ont montré une sensibilité et une spécificité respectives de 87.7 % et 99.6 % sur 2.387 souches d'entérobactéries.

e) LES AUTOMATES

Différents appareils sont disponibles sur le marché : Mini-API®, Phoenix®, Vitek2®, Walkaway®. Ils permettent la réalisation d'antibiogrammes et la détection des BLSE ; la diminution de la CMI doit être supérieure à 3log₂ (CA-SFM / EUCAST 2016). Cette détection

est correcte pour les entérobactéries du groupe 1 et 2 mais pour les entérobactéries du groupe 3 avec potentielle céphalosporinase dérégulée, la détection est plus complexe. Ces automates ont des sensibilité et spécificité variables. Cette détection nécessite souvent une confirmation par une seconde technique.

2. LA DETECTION MOLECULAIRE

Cette détection est actuellement la seule méthode de certitude pour identifier une BLSE. Elle n'est pas utilisée en routine et relève de laboratoire spécialisé.

Pour les BLSE de type TEM et SHV, après amplification des gènes *bla*_{TEM} et *bla*_{SHV}, un séquençage est réalisé. Pour les BLSE de type CTX-M, l'amplification est réalisée sur le gène *bla*_{CTX-M}; le séquençage n'est pas toujours nécessaire [9].

D. INTERPRETATION DES CHOIX DE SENSIBILITE : PK/PD

1. LES CONCENTRATIONS CRITIQUES

a) LES CONCENTRATIONS CRITIQUES EPIDEMIOLOGIQUES

Elles sont établies à partir d'un très grand nombre de souches sauvages sensibles et de souches ayant des mécanismes de résistance. Chaque antibiotique sera testé sur les souches. Ainsi, on va aboutir à un histogramme de CMI à partir duquel sera défini le cut-off épidémiologique. En Europe, l'ensemble de ces données sont centralisées par l'EUCAST.

La Figure 6 représente l'histogramme de distribution des CMI du céfotaxime vis-à-vis de plus de 10.000 souches sauvages d'*E.coli*. Le *cut-off* épidémiologique est de 0.25 mg/L alors que le *break-point* clinique est fixé à 1 mg/L.

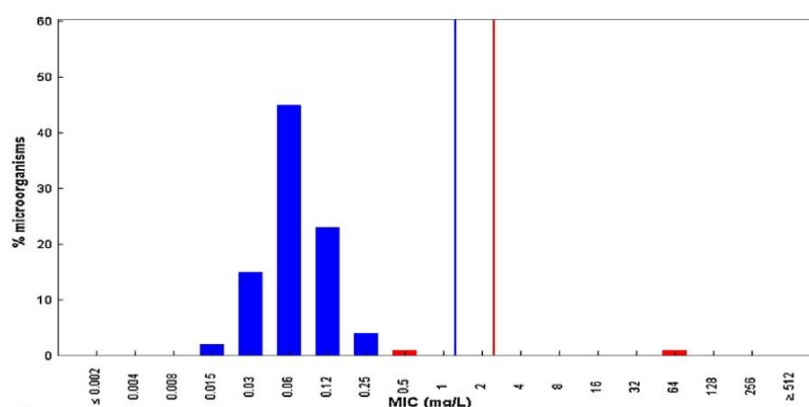


Figure 6 Détermination de la concentration critique épidémiologique d'*E.coli* vis-à-vis du céfotaxime, d'après Jehl et al.

b) LES CONCENTRATIONS CRITIQUES CLINIQUES

Ce sont les concentrations qui nous permettent, suite à la lecture d'un antibiogramme, de classer une bactérie « sensible », « intermédiaire » ou « résistante » vis-à-vis d'un antibiotique. Ces seuils sont établis à partir de différents paramètres.

Parmi ces paramètres, il y a les concentrations critiques épidémiologiques ; elles devront toujours être inférieures aux concentrations critiques cliniques. La distinction entre S, I ou R sera d'autant plus simple que ces 2 concentrations seront éloignées.

Ensuite, le second élément qui va intervenir correspond aux données PK/PD et la posologie de l'antibiotique. A partir des modèles d'infections expérimentales, il est possible de réaliser des courbes doses/effets qui vont permettre d'établir différents paramètres de PK/PD. Parmi ces paramètres (Figure 7), il y a le rapport ASC/CMI.

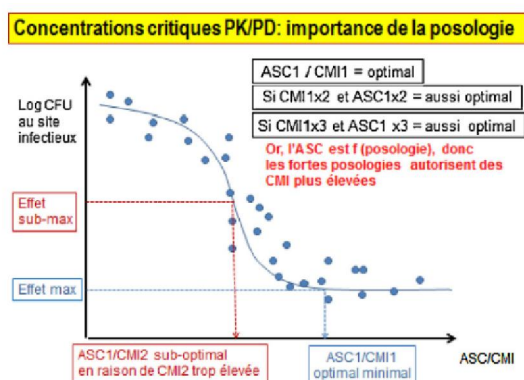


Figure 7 Concentrations critiques PK/PD, d'après F. Jehl et al.

Pour une posologie et une voie d'administration données, les paramètres ASC, Cmax et Cres sont fixes ; la CMI est donc le facteur limitant. Si on augmente la posologie, on augmente l'ASC ; le rapport ASC/CMI sera maintenu si la CMI augmente d'autant. D'où l'intérêt de fixer des CMI en fonction de la posologie pour certains antibiotiques. Ces données interviennent donc directement dans le choix des concentrations critiques cliniques. Les différences de posologie entre certains pays sont à l'origine des différences des concentrations critiques cliniques.

Les données cliniques vont également intervenir dans l'affinement de ces concentrations critiques. Par exemple, le break-point à 1 mg/L pour les C3G a été établi par le CA-SFM à partir d'une étude montrant que tous les échecs thérapeutiques étaient dues à des entérobactéries BLSE ayant des CMI supérieures à cette valeur [26]. Ces études sont parfois divergentes, et invalident les données basées sur la microbiologie et la PK/PD.

Le site infectieux joue également un rôle dans la variation des CMI. La diffusion des antibiotiques n'est pas la même pour tous les antibiotiques ; certains antibiotiques diffusent par exemple très mal dans le LCR tandis que d'autres seront à concentrations élevées dans les urines. Le couple amoxicilline-acide clavulanique illustre cette situation. La CMI est fixée à 32mg/L pour les cystites et 8 mg/L pour les autres indications.

2. CHOIX DE LA METHODE EN ROUTINE : CMI ou DIQUES ?

a) PRECISION DES MESURES

Il est admis que pour une souche donnée, la répétition n fois de l'épreuve de diffusion va aboutir à n diamètres qui vont se répartir autour d'une moyenne ± 2 mm. Plus le diamètre critique est proche du diamètre mesuré pour un antibiotique, plus le risque d'une erreur de catégorisation (S, I ou R) augmente.

La CMI est en général exacte à une dilution près. Le risque d'erreur de catégorisation augmente lorsque cette valeur est proche de la concentration critique. Les mesures effectuées sur un grand nombre de souches sauvages montrent que ces CMI se répartissent sur un nombre restreint de valeurs. Les travaux réalisés par l'EUCAST montraient par exemple que 87.000 souches de *S.aureus* testées ne se répartissaient que sur trois valeurs de CMI (0.5, 1 et 2 mg/L).

b) CORRELATION DIAMETRES/CMI

La mesure de la CMI et des diamètres sur un grand nombre de souches permettent de réaliser une droite de concordance (Figure 8). On pourra ainsi établir des paires de valeurs CMI/diamètre.

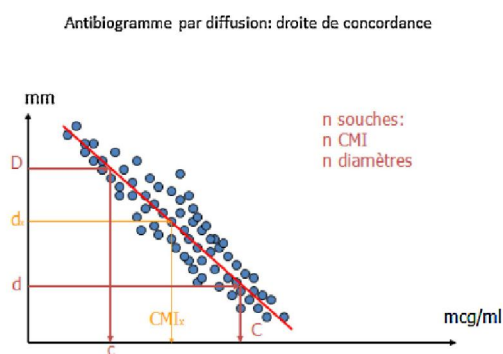


Figure 8 Droite de concordance CMI/diamètre, d'après F. Jehl et al.

Toutefois, la répartition des CMI se fait en général sur une amplitude plus faible que celle des diamètres (Figure 9).

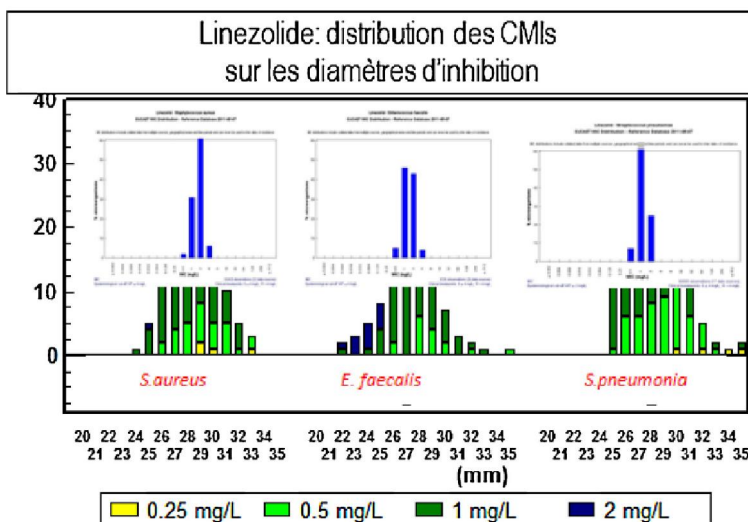


Figure 9 Répartition des CMI et des diamètres, d'après F.Jehl et al.

Comme on peut le voir sur la Figure 9, les CMI et les diamètres de *S. aureus* se répartissent respectivement sur 4 et 10 valeurs. La détermination de la CMI sera donc plus précise que celle d'un diamètre.

La confrontation des CMI et des diamètres apportent également des données supplémentaires. La Figure 10 est obtenue à partir de 442 souches de *S. aureus* ; on constate que pour une concentration critique de 1 mg/L et pour un diamètre de 17 mm, les populations sauvage et résistante sont correctement « séparées ».

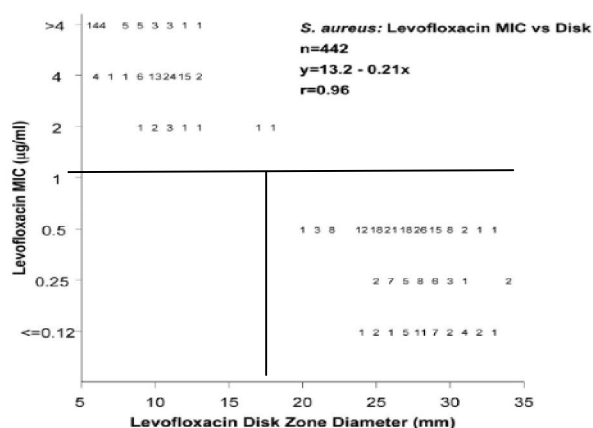


Figure 10 Graphe de confrontation CMI/diamètre, d'après F.Jehl et al.

Toutefois, on remarque que pour une CMI donnée, par exemple 0.5 mg/L, 13 différents diamètres ont été observés.

c) INFLUENCE D'UNE BLSE SUR LA CATEGORISATION D'UNE SOUCHE

Les différents phénotypes de résistance vont entraîner l'augmentation de l'amplitude des CMI. Cette situation est illustrée notamment par l'exemple d'*E. coli*. La Figure 11 montre la

répartition des CMI d'amoxicilline-acide clavulanique (« barres grises ») en fonction du phénotype de résistance.

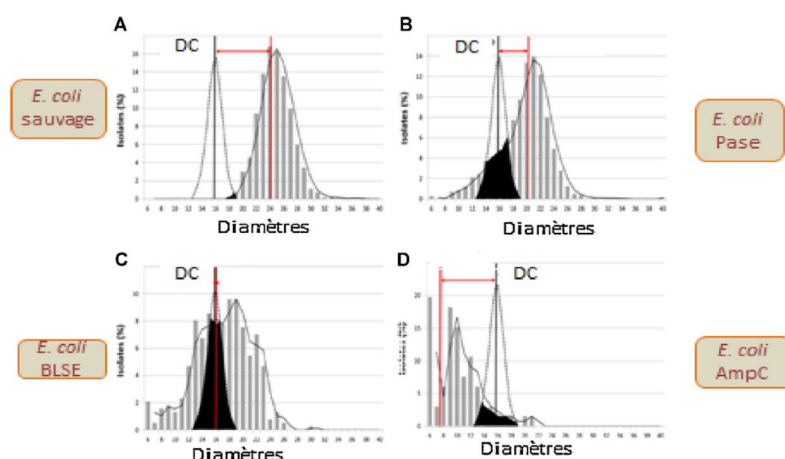


Figure 11 Répartition des CMI en fonction du phénotype, d'après F. Jehl et al.
Pase : Pénicillinase

La zone autour du diamètre critique (DC) représente la probabilité d'erreur due à l'imprécision de la mesure et la barre rouge correspond à la médiane des CMI. On constate qu'avec le phénotype BLSE, la zone noire est très importante et correspond à la probabilité d'erreurs de catégorisation.

Ce risque d'erreur de catégorisation est également majoré pour les C3G chez les *E. coli* BLSE [27].

Pour conclure, on peut dire que le faible coût de l'antibiogramme par diffusion rend cette technique incontournable. Elle permet de visualiser notamment les interactions entre les différents antibiotiques. Dans certaines situations cliniques particulières, il est indispensable de déterminer la CMI pour affiner un choix thérapeutique. Il est primordial pour le biologiste de connaître les limites inhérentes à chacune de ces techniques.

III. RESISTANCES AUX C3G : COMMENT EPARGNER LES CARBAPENEMES ?

A. EPIDEMIOLOGIE DE LA RESISTANCE AUX C3G

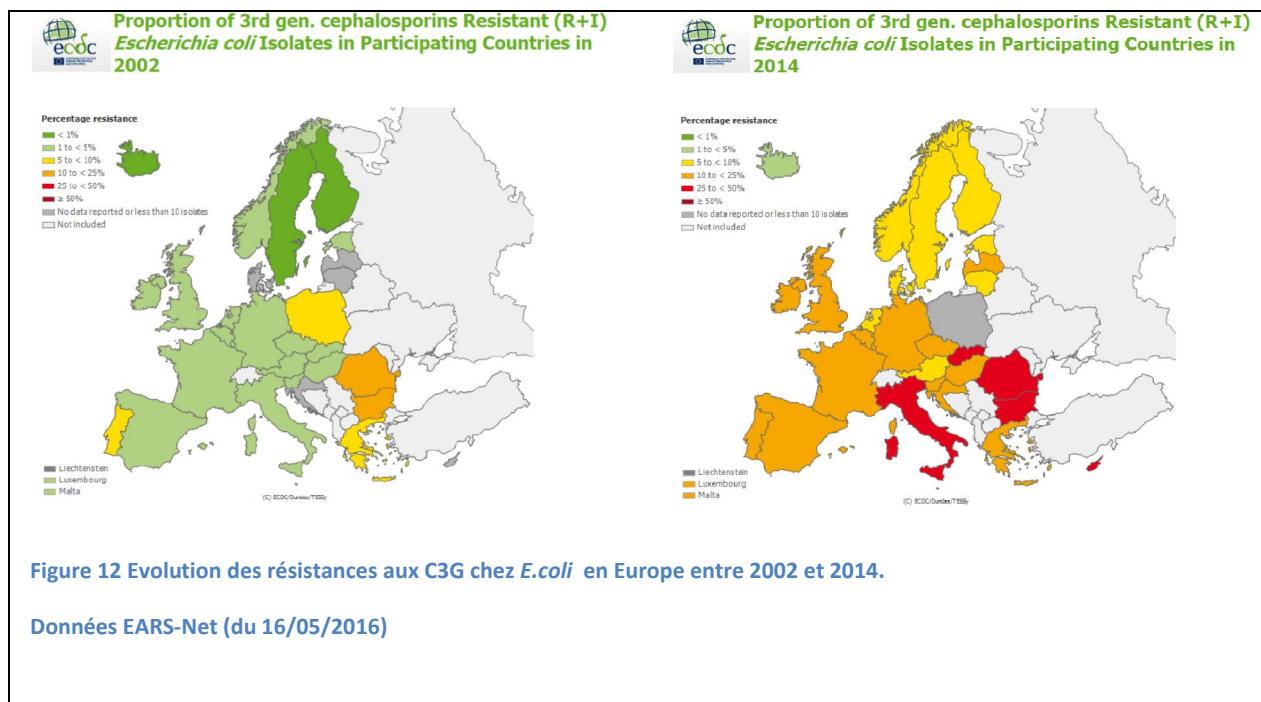
1. EPIDEMIOLOGIE AU NIVEAU MONDIAL

Tous les continents sont concernés par l'augmentation de la résistance aux C3G, en particulier par la diffusion pandémique des CTX-M, avec des fréquences variables qui dépendent des pays et de la catégorie de la population concernée par les études.

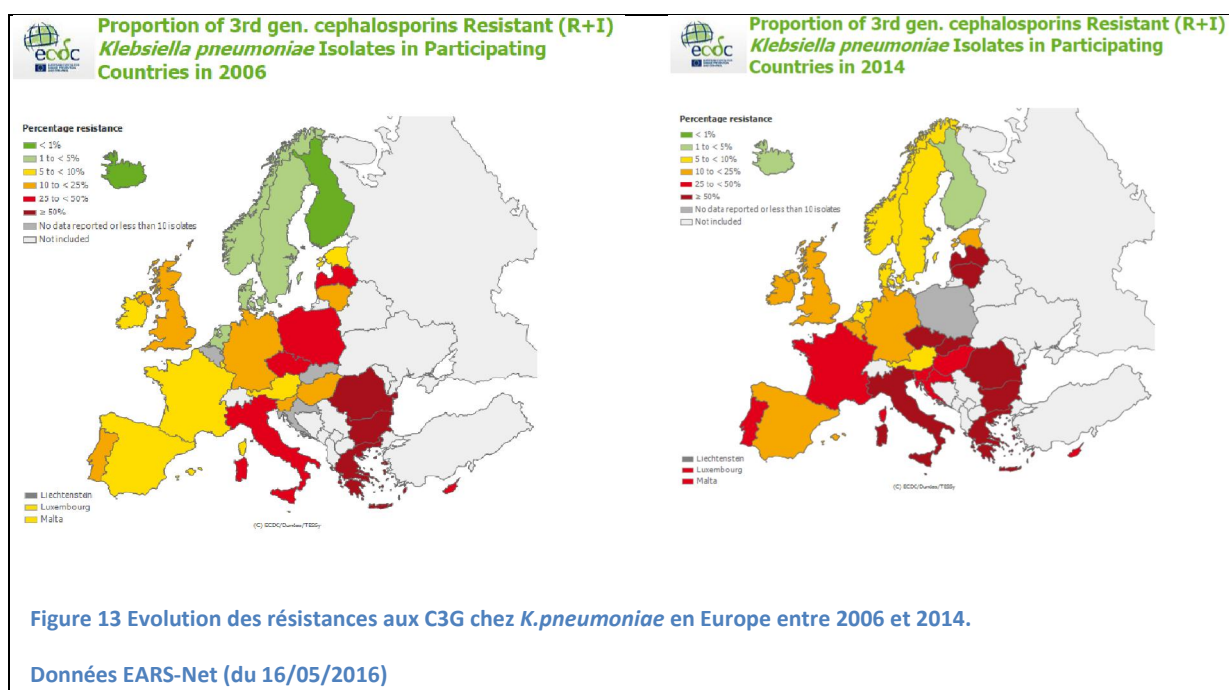
a) EPIDEMIOLOGIE SUR LE CONTINENT EUROPEEN

RESISTANCE AUX C3G

L'ECDC réalise une cartographie annuelle de la prévalence des résistances aux antibiotiques à travers l'Europe. Chez *E.coli* (Figure 12), on constate dans toute l'Europe une augmentation de la résistance aux C3G entre 2002 et 2014.



Le même phénomène est observé pour *K.pneumoniae* entre 2006 et 2014 (Figure 13).



EPIDEMIOLOGIE DES BLSE

En Europe, les premières souches communautaires ont été isolées en **Pologne**, dans un hôpital à Varsovie, en 1996 : il s'agissait d'un *E.coli* et d'un *C.freundii* de type CTX-M-3 [28]. En **Espagne**, une étude a comparé la prévalence du portage digestif chez des patients communautaires entre 1991 et 2003 [29]. Ce taux passait de 0.7 % en 1991 à 5.5 % en 2003. En **Italie**, une étude nationale a été réalisée de septembre à décembre 2003 par 11 laboratoires hospitaliers répartis dans tout le pays [30]. Elle a inclu 9076 souches (6850 hospitalières et 2226 considérées comme communautaires). La prévalence des BLSE était de 7.4 % parmi les souches hospitalières et de 3.5 % pour les souches communautaires. Parmi les souches hospitalières BLSE, *E.coli* était l'espèce majoritaire (n=161/504) suivi de *P.mirabilis* (n=132/504) et de *K.pneumoniae* (n=76/504). Ces souches provenaient majoritairement des urines. Parmi toutes les souches BLSE isolées (hospitalières et communautaires), les CTX-M dominaient chez *E.coli* (103/188) suivi de TEM (50/188) et de SHV (22/188) ; chez *P.mirabilis*, la majorité des BLSE était de type TEM (158/163). Cette étude a montré également l'émergence de souches BLSE communautaires en Italie car l'étude nationale précédente de 1999 n'avait montré aucune BLSE.

b) EPIDEMIOLOGIE SUR LES AUTRES CONTINENTS

En Amérique du sud, la présence de CTX-M-2 a été signalée en 1992 chez des souches de *S. typhimurium* chez des patients ayant des entérites, méningites et septicémies dans deux hôpitaux de Buenos Aires, en **Argentine** [31]. En Bolivie et au Pérou, deux études [32] ont comparé la prévalence des BLSE chez des enfants sains dans deux zones urbaines différentes. En 2002, l'étude comportait 3208 enfants et la prévalence était de 0.13% (n=4) avec uniquement des *E.coli* (3 CTX-M-2 et 1 CTX-M-15). Trois ans plus tard, le même protocole est utilisé et 3193 enfants sont dépistés. La prévalence est multipliée par 17 passant de 0.13 % à 1.7 % (n=54/31393). Sur les 54 souches, 44 étaient de type CTX-M, six étaient de type SHV (SHV-2 et SHV-12) et quatre avaient un profil de céphalosporinase à haut niveau.

En Asie, au **Cambodge**, entre 2004 et 2005, 93 patients ayant une infection urinaire à *E.coli* sont inclus dans une étude à l'Institut Pasteur du Cambodge. Parmi ces souches, 34 étaient des BLSE en majorité de type CTX-M. De plus, elles étaient résistantes aux fluoroquinolones dans deux tiers des cas [33].

En Afrique, dans un village isolé du **Sénégal** où la consommation d'antibiotiques était quasiment nulle, des *E.coli* BLSE CTX-M-15 sont retrouvés sur les coprocultures chez deux enfants sur les 20 prélevés. Le gène était situé au sein d'une région de multirésistance très similaire à celle diffusant mondialement [34]. A **Madagascar**, la prévalence du portage des entérobactéries BLSE dans une unité pédiatrique passait de 21.2 % à l'entrée à 57.1 % à la sortie [35].

Au Moyen-Orient, dans une étude réalisée dans un hôpital **israélien**, la prévalence du portage était de 8 % (n=13/167) [36]. En **Arabie Saoudite**, le portage digestif sur 860 patients (communautaires et hospitaliers) a montré une prévalence de 17.7 % de BLSE [37].

2. EPIDEMIOLOGIE EN FRANCE

a) LA RESISTANCE AUX C3G

La résistance des entérobactéries aux C3G est en constante augmentation en France notamment chez *E.coli* et *K.pneumoniae* (souches isolées d'hémocultures et LCR, Réseau EARS-Net). La Figure 14 montre qu'en France, en 2014, cette résistance était de 9.9 % (dont 78.5 % de BLSE) chez *E.coli* et de 29.6% (dont 71.6 % de BLSE) chez *K.pneumoniae*.

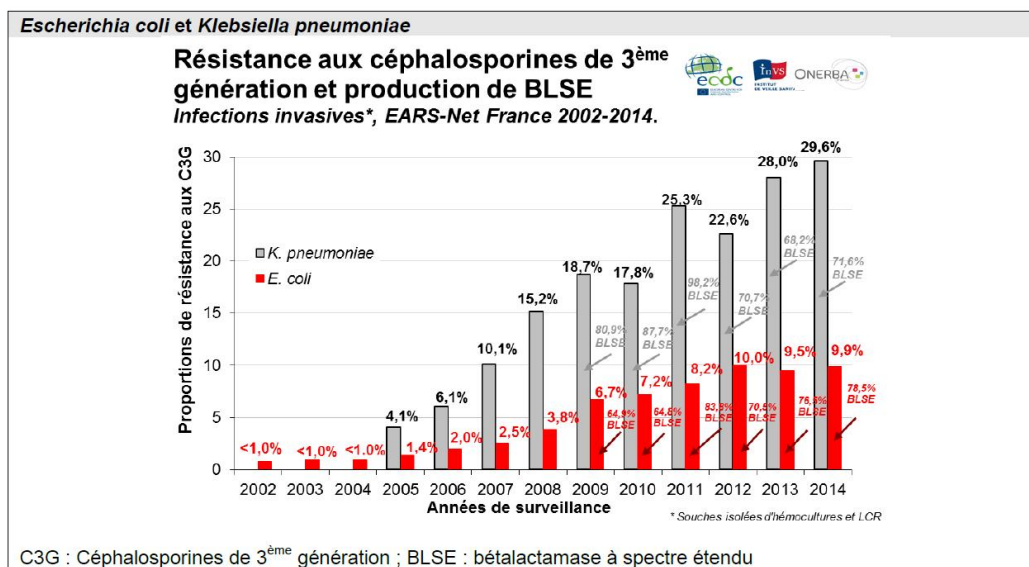


Figure 14 Résistance aux C3G et production de BLSE en France, EARS-Net, 2014

Dans les établissements de santé, parmi les 4904 souches d'entérobactéries issues d'infections nosocomiales : 23 % étaient résistantes aux C3G et 13.6 % étaient de type BLSE (ENP, France, 2012).

La consommation de C3G ne cesse d'augmenter en France. En effet, la part relative de la consommation de ceftriaxone est passé de 6.9 % en 2006 à 12 % en 2012, soit une évolution de la consommation de 82.7 % (ENP, France, 2006 et 2012).

b) EPIDEMIOLOGIE DES BLSE EN FRANCE

MILIEU HOSPITALIER

➤ SITUATION EN 2013

La surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé (ES) est réalisée grâce au réseau BMR-Raisin (Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales). La surveillance des SARM et EBLSE est menée par les Centres de Coordination de la lutte contre les infections nosocomiales (CClin).

Ce réseau inclus 1347 ES, correspondant à 78.3 % des lits d'hospitalisations disponibles en France. Les prélèvements inclus sont ceux provenant des patients hospitalisés depuis au moins 24H (Rapport BMR-Raisin 2013, www.invs.sante.fr).

Le nombre de cas incidents d'EBLSE était de 12 234 en 2013 dont 36 % en médecine, 20 % en chirurgie, 20 % en SSR/SLD, 11 % en réanimation et 2 % en gynécologie-obstétrique et pédiatrie. La proportion des EBLSE provenant des urines était la plus élevée (69 %) suivie de

celles des hémocultures (8 %), des séreuses et des pus profonds (6 %). La Figure 15 montre les différences régionales de l'incidence des infections à EBLSE ; l'incidence est plus faible dans toutes les régions de l'interrégion Ouest et en Champagne-Ardenne et plus élevée dans les DOM, en Ile de France, au Nord Pas de Calais et dans une partie du Sud-Est.

En 2013, *E. coli* était de loin la première espèce isolée parmi les entérobactéries productrices de BLSE (58,8 %), devant *K. pneumoniae* (22,9 %) et *E. cloacae* (11,0 %).

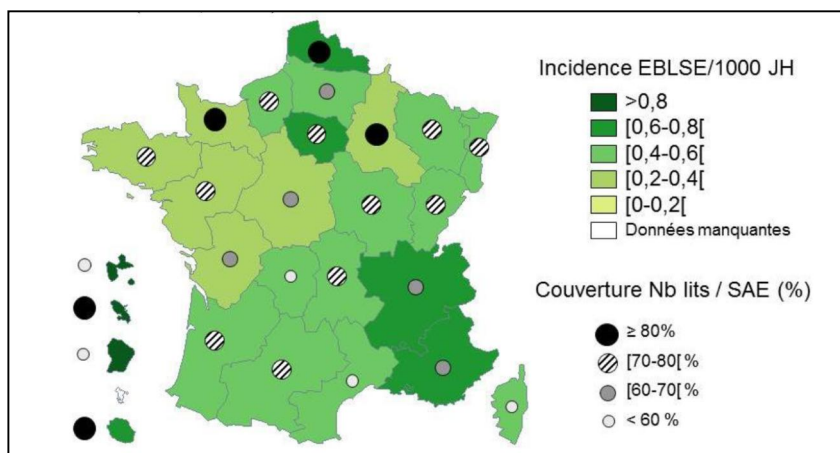


Figure 15 Incidences globales régionales des EBLSE pour 1000 journées d'hospitalisation (tous ES, n=1347). BMR-Raisin 2013.

La Figure 16 montre que les incidences des *E. coli* BLSE sont plus faibles dans l'Ouest et en Champagne-Ardenne, dans les DOM, en Corse et dans le Poitou-Charentes. Elles sont les plus élevées en Ile de France.

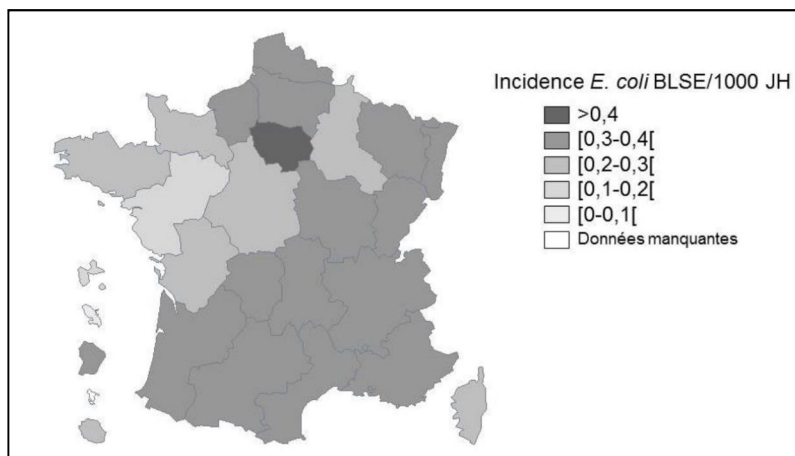


Figure 16 Incidences globales régionales des *E.coli* BLSE pour 1000 journées d'hospitalisation (tous ES, n=1347). BMR-Raisin 2013.

➤ EVOLUTION 2002-2013

Les données sur l'évolution et la progression de ces EBLSE montrent de façon très nette une augmentation très importante de ces résistances. En effet, si on compare les densités

d'incidence (DI) par jour d'hospitalisation, on constate qu'il est multiplié par 4.3 au niveau global, par 4.1 pour les courts séjours et SSR/SLD et par 3.1 en réanimation.

Tous types de séjours confondus, les évolutions selon les inter-régions montrent une augmentation importante en douze ans dans toutes les régions : Est (x 9,6), Ouest (x 8,3), Paris-Nord (x 3,5), Sud-Ouest (x 3,0) et Sud-Est (x 2,8).

La répartition par espèce d'entérobactéries a beaucoup évolué et le pourcentage représenté par *E. coli* a régulièrement augmenté : 18,5 % en 2002 à 58,8 % en 2013.

INFECTIONS COMMUNAUTAIRES

La proportion des EBLSE en milieu communautaire est moindre qu'en milieu hospitalier. Toutefois, on assiste à une augmentation croissante de ces souches résistantes. En effet, en 1999, la prévalence des EBLSE était de 1.5 % sur les 2599 souches collectées [38]. Une étude nationale était effectuée en 2006 par 25 laboratoires de ville répartis dans toute la France ; 6771 entérobactéries provenant d'infections urinaires étaient collectées. Elle montrait que 1.1 % des entérobactéries isolées des prélèvements en milieu communautaire à visée diagnostique étaient productrices de BLSE [39] . En 2013, une enquête était réalisée par l'ONERBA grâce à un réseau de 500 laboratoires qui a collecté 51463 souches dans toute la France. Elle montrait une prévalence de 3.3 % d'EBLSE. La proportion de souches de type BLSE était plus importante chez les hommes que chez les femmes et les patients de plus de 60 ans.

3. FACTEURS DE RISQUE D'ACQUISITION D'UNE BLSE

Les facteurs de risque d'acquisition de BLSE en milieu hospitalier et communautaire sont résumés dans le Tableau 5. La notion de voyages à l'étranger et d'infections urinaires à répétitions sont des éléments de risques supplémentaires en milieu communautaire [40].

Age élevé et dépendance
Comorbidités (dont le diabète, une maladie hépatique, une transplantation ou un ulcère gastrique)
Séjour en réanimation
Durée d'hospitalisation avant la colonisation ou l'infection
Notion d'une hospitalisation récente
Procédures invasives (sonde urinaire, sonde nasogastrique, cathéter, intubation ou chirurgie)
Utilisation préalable d'antibiotiques dont
- Les fluoroquinolones
- Les β -lactamines seules ou en association avec les inhibiteurs des bêta-lactamases
- Les céphalosporines (dont la ceftazidime ou les C3G)
- Les carbapénèmes
- La vancomycine
- Les aminosides
- La métronidazole
- Le cotrimoxazole

Tableau 5 Facteurs de risque d'infection ou de colonisation à EBLSE, d'après Vodovar et al.

B. PROBLEMATIQUE

Les entérobactéries représentent près de trois quarts des bactéries impliquées en pathologie humaine. Les céphalosporines de troisième génération constituent un pilier essentiel dans le traitement des infections dues à ces bactéries.

L'introduction des céphalosporines de troisième génération en thérapeutique en 1980 a été suivie par la sélection de mutants dérégulant leurs céphalosporinases chromosomiques naturelles notamment chez *Enterobacter ssp.* et *Citrobacter freundii*. Quelques années plus tard, l'apparition et la diffusion des entérobactéries à BLSE va être une étape majeure dans l'augmentation des résistances aux céphalosporines de troisième génération.

La première période est marquée essentiellement par la diffusion des BLSE de type TEM-1/2 et SHV-1 avec une prévalence plus forte chez *K.pneumoniae* que chez *E.coli*. Cette période va durer jusqu'à la fin des années 1990. Ces souches étaient isolées dans un contexte d'épidémies nosocomiales, responsables notamment d'épidémies hospitalières [45,46] ou encore dans des structures de soins de long séjour.

La seconde période commence à la fin des années 1980 avec l'isolement des BLSE de type CTX-M. Plusieurs cas sont signalés : Japon (SFO-1, Toho-1), Europe (MEN-1, CTX-M-1, PER-1) et Argentine (CTX-M-2). A partir de 1995, les BLSE de type CTX-M diffuse mondialement chez les entérobactéries et deviennent majoritaires d'où le terme de «pandémie CTX-M ».

L'émergence et la diffusion mondiale des CTX-M peut s'expliquer par la combinaison d'au moins 2 éléments. Tout d'abord, les épidémies hospitalières par les BLSE TEM-1/2 et SHV-1 ont poussé à la mise en place de lutte contre les infections nosocomiales et les bactéries multirésistantes. Une diminution rapide de ces clones BLSE (essentiellement *K.pneumoniae* et *Enterobacter sp.*) a été constatée notamment grâce à l'isolement des patients porteurs et l'utilisation des solutés hydroalcooliques. Enfin, alors que ces BLSE n'étaient que rarement retrouvées en milieu extrahospitalier, l'apparition et la diffusion des BLSE de type CTX-M (essentiellement chez *E.coli*) se fait aussi bien en milieu hospitalier et communautaire sous un mode polyclonal . Ces BLSE de type CTX-M colonise les patients même en l'absence de pression antibiotique majeure, ce qui explique également son succès [43].

En parallèle, la consommation de C3G ne cesse de croître. Les données collectées par le réseau ATB Raisin sur la consommation d'antibiotiques en France (518 établissements de santé) montre une augmentation de la consommation de la ceftriaxone, du céfotaxime et de la ceftazidime respectivement de 58.7 %, de 3,2 % et de 1.5 % entre 2008 et 2013.

L'enquête nationale de prévalence de 2012 montre que les C3G ont représenté 21.6 % de l'ensemble des antibiotiques utilisés pour le traitement des pneumonies (communautaire et nosocomiale) en établissement de santé.

Les C3G sont prescrites dans de nombreuses situations cliniques. Dans les suspicions de septicémies à entérobactéries, le traitement comprend souvent une C3G. Dans les infections intra-abdominales, du fait de la fréquence des entérobactéries, le traitement probabiliste

comprend fréquemment une C3G (associée au métronidazole et éventuellement un aminoside). Le traitement probabiliste des pyélonéphrites et des infections urinaires masculines comprend des C3G (Recommandations pour le traitement des infections urinaires, www.spilf.fr).

Toutefois, dans les infections à entérobactéries résistantes aux C3G, le traitement par des carbapénèmes peut être nécessaire. Par exemple, dans les pyélonéphrites, en cas d'antécédent de BLSE (IU ou colonisation urinaire < 6 mois), il est recommandé d'utiliser des carbapénèmes (imipénème ou méropénème) ; cette recommandation est valable en cas de choc septique avec présence d'au moins un facteur de risque d'EBLSE.

L'utilisation des carbapénèmes a entraîné l'apparition des carbapénémases. Les données collectées par le réseau ATB Raisin ont montré une augmentation de 57 % de la consommation des carbapénèmes entre 2008 et 2013 sur 518 établissements de santé. Les carbapénèmes représentent aujourd'hui une alternative thérapeutique menacée par l'apparition des carbapénémases.

Devant l'absence de perspectives de nouvelles thérapeutiques efficaces contre ces entérobactéries résistantes aux C3G et afin de préserver ces molécules, il est urgent d'optimiser la prise en charge des patients et de mettre à profit l'efficacité des molécules existantes pour le traitement de ces infections.

C. LES ALTERNATIVES THERAPEUTIQUES

1. Le pivmécillinam SELEXID®

Devant l'augmentation de la prévalence de *E.coli* BLSE dans les IU communautaires, le pivmecillinam apparaît également comme une alternative thérapeutique dans le traitement de ces infections. Le taux de sensibilité de cette molécule est estimé à 70-90 % sur les *E.coli* BLSE.

Il est recommandé :

- dans le traitement probabiliste de la cystite simple en 2^{ème} intention (Fosfomycine-trométamol en 1^{ère} intention)
- dans la cystite à risque de complication, selon les résultats de l'antibiogramme (Amoxicilline en 1^{ère} intention)
- dans le traitement de la colonisation urinaire gravidique (Amoxicilline en 1^{ère} intention)

a) PHARMACOCINETIQUE

Après administration orale (comprimés de 200 mg), le bioprécurseur, le pivmecillinam, est absorbé à 75 %, puis complètement et rapidement hydrolysé en mecillinam que l'on retrouve dans le compartiment vasculaire. Le taux et la vitesse d'absorption ne sont pas modifiés par la prise de nourriture.

Après la phase de distribution, les concentrations dans la bile et les urines sont respectivement de plus 10 fois et 50 fois la CMI des germes sensibles. La diffusion est

également importante dans le foie et la prostate ; elle est faible dans le LCR. A dose thérapeutique, la passage placentaire est faible et quasiment nul dans le lait maternel. Il est excrété principalement dans les urines et la bile.

b) PHARMACODYNAMIE

Le pivmecillinam est bactéricide et agit par inhibition de la paroi bactérienne par fixation sélective sur l'enzyme PBP2 des entérobactéries [44].

Les entérobactéries sont considérées comme résistantes pour une CMI > 8mg/L et pour un diamètre < 15mm (CA-SFM/EUCAST 2015).

c) POSOLOGIE ET MODE D'ADMINISTRATION

Chez les sujets normorénaux, la posologie est de 600 à 800 mg par voie orale, en 2 ou 3 prises par jour. La durée du traitement est de cinq jours dans la cystite simple et de sept jours dans la cystite à risque de complication.

Chez les insuffisantes rénaux, du fait de l'élimination urinaire, des ajustements posologiques sont nécessaires.

d) EFFETS SECONDAIRES ET CONTRE-INDICATIONS

Le pivmécillinam est un antibiotique qui a une très bonne tolérance. De rares manifestations digestives et cutanées peuvent survenir. Très rarement et à forte posologie, il existe un risque d'élévation modérée et transitoire des transaminases et des phosphatases alcalines ainsi qu'une irritation vaginale.

Il est contre-indiqué en cas d'allergie aux pénicillines et aux céphalosporines ; il existe un risque accru d'accidents cutanés en cas d'utilisation de la molécule lors d'infections virales, notamment la mononucléose infectieuse.

Aucun effet significatif n'a été observé par Sullivan et *al.* [45] sur la microflore aérophile du tube digestif chez 50 patients traités par mécillinam. Dans un modèle intestinal humain, le pivmécillinam n'est pas apparu comme une molécule sélectionnant *Clostridium difficile* [46]. Des modifications mineures sur la flore vaginale ont été observées lors d'utilisation du mécillinam [47].

2. La témocilline NEGABAN®

La témocilline est un dérivé semi-synthétique 6- α -méthoxylé de la ticarcilline disponible en Belgique et au Luxembourg depuis 1986. Cette molécule a un spectre limité aux bacilles Gram négatif ; elle n'a aucune activité vis-à-vis des cocci Gram positif, des anaérobies et de *Pseudomonas aeruginosa*. Les BLSE et céphalosporinases de haut niveau (*AmpC*) n'ont pas d'activité enzymatique sur la témocilline d'où le regain d'intérêt actuel pour cette molécule et l'obtention de l'AMM en France en 2014 par reconnaissance mutuelle avec la Belgique.

En France, elle est indiquée « Chez les adultes et chez les enfants, pour le traitement des infections suivantes : des voies urinaires compliquées incluant les pyélonéphrites ; des voies respiratoires basses, des bactériémies et des infections des plaies ».

a) PHARMACOCINETIQUE

Après injection IV de 2 g de témocilline (dose unitaire actuellement recommandée), le pic sérique atteint est de 269 mg/L et les concentrations à 6H et 12H sont respectivement de 47 mg/L et 16 mg/L. La demie-vie est de 5H, permettant une injection toutes les 12H. L'aire sous la courbe de la concentration sérique en fonction du temps (AUC) est d'environ 800 mg.h/L et le volume de distribution est estimé entre 0,2 à 0,3 L/kg, ce qui est comparable à la majorité des β -lactamines [48]. La témocilline est excrétée principalement par voie urinaire avec plus de 70 % de la dose retrouvée sous forme inchangée dans les urines durant les 24h suivant l'injection. Les concentrations urinaires dépendent de la diurèse mais varient en moyenne entre 300 et 800 mg/L à la dose de 500 mg IM toutes les 12 heures [49]. La clairance rénale de la témocilline augmente avec sa concentration plasmatique et dépend en particulier de la fraction libre de l'antibiotique [50]. Chez l'insuffisant rénal, l'ajustement de la posologie est nécessaire et s'effectue en espaçant les doses. La témocilline est fortement liée aux protéines plasmatiques, ce qui contribue à sa longue demi-vie, et la fraction libre de la molécule dépend de la concentration sérique totale. À forte concentration, de l'ordre de 200 mg/L, le taux de liaison est de 63 % et passe à 86 % à 100 mg/L et à 88 % à 50 mg/L.

b) OBJECTIFS PK/PD

La témocilline, comme la majorité des β -lactamines, nécessite une concentration de la forme libre supérieure à la CMI sur un temps minimum de 35-40 % entre deux doses [51].

Le Tableau 6 résume les concentrations tissulaires en fonction des doses utilisées.

Liquides biologiques et tissus	Dose (g)	Voie d'administration	Délai après administration (min)	Concentrations
Poumon	2	i.v	30	45 mg/kg
Péritoine	1	i.v	240	17.2 mg/kg
Foie	2	i.v	240	34.3 mg/kg
Vésicule biliaire	2	i.v	240	80.2 mg/kg
Bile	1	i.v	90-120	483 mg/kg
Estomac	2	i.v	240	44 mg/kg
Trompe de Fallope	1	i.v	60	4.5 mg/kg
Ovaires	1	i.v	60	9.0 mg/kg
Prostate	2	i.v	ND	38 mg/kg
Testicules	1	i.v	240	7.1 mg/kg
Peau	2	i.v	240	9.3 mg/kg
Muscle	2	i.v	240	17.6 mg/kg
Lymphes périphériques	1	i.v	90-120	30.6 mg/kg
Vésicule	1	i.v	180	44.3 mg/kg

Tableau 6 Concentrations tissulaires de la témocilline, d'après Soubirou et al., ND : Non Disponible.

Dans la majorité des cas, la concentration est supérieure d'au moins 1 à 2 fois la CMI et ce, de manière prolongée. La témocilline diffuse peu dans le LCR, même en cas de méningite [52].

c) POSOLOGIE ET ADMINISTRATION

La témocilline n'est pas absorbée par voie orale. Elle est disponible sous forme d'ampoule de 1 et 2 g de poudre à dissoudre pour une injection par voie IM ou IV. La perfusion continue est possible, du fait de sa stabilité, et permet de maintenir des concentrations à l'équilibre stables. La témocilline présente en revanche un certain nombre d'incompatibilités chimiques ou physiques, en particulier avec les autres β -lactamines, la ciprofloxacine, la vitamine K, la vancomycine, la clarithromycine, la clindamycine, le propofol, le midazolam et la nicardipine [53].

La posologie actuellement recommandée chez l'adulte dans les infections urinaires est de 2g/12h, soit en injection directe, soit en perfusion continue après une dose de charge de 2 g, avec une adaptation de la posologie chez l'insuffisant rénal [53]. Dans les situations pathologiques où le volume de distribution est augmenté (comme en réanimation), la posologie peut être augmentée à 3 g /12h sans risques de toxicité [54].

d) EFFETS INDESIRABLES ET CONTRE-INDICATIONS

La témocilline est une molécule qui a une bonne tolérance. Comme tout médicament, elle peut entraîner des réactions allergiques. Elle est contre-indiquée en cas d'allergie à la pénicilline. En cas de surdosage, des manifestations neurologiques peuvent apparaître. Il existe un risque de phlébite au point d'injection.

L'administration de la témocilline entraîne une diminution importante de la population des entérobactéries au profit des entérocoques et des levures suivie d'une reconstitution de la flore dans les dix à quinze jours suivant l'arrêt du traitement [55]. La témocilline favorise peu l'apparition d'une colite pseudomembraneuse [56].

Il n'y a pas de données sur l'utilisation de la témocilline durant la grossesse ou la lactation. Les études animales n'ont pas montré d'effet tératogène aux doses recommandées.

3. Le céfépime AXEPIM®

Il s'agit d'une céphalosporine dite de « 4^{ème} génération ». Contrairement aux céphalosporines de 3^{ème} génération, le céfépime est actif contre les entérobactéries du groupe 3 ayant déréprimée leur céphalosporinase naturelle. Le céfépime est recommandé (CA-SFM/EUCAST 2015) en systématique sur les entérobactéries du groupe 3 « sauvages » afin d'éviter la sélection de ces mutants résistants.

En France, il est indiqué :

- chez l'adulte
 - septicémies et bactériémies
 - infections respiratoires basses communautaires et pneumonies sévères
 - infections urinaires compliquées et non compliquées
 - épisodes fébriles chez les patients neutropéniques

- infections biliaires
- Chez le nourrisson de plus de deux mois et l'enfant
- épisodes fébriles au cours des neutropénies lorsque la durée prévisible de neutropénie est courte

Le céfépime se présente sous forme de poudre pour usage parentéral (IM ou IV) de 500mg, 1 g et 2 g.

a) PHARMACOCINETIQUE

La résorption est rapide et totale après l'administration IM. Le Tableau 7 (www.vidal.fr) résume les concentrations tissulaires obtenues après injection IV du céfépime.

Concentration moyenne de céfépime dans les tissus et liquides biologiques				
Tissus ou liquides	Dose/Voie d'administration	Prélèvement : intervalle de temps moyen (h)	Concentration moyenne Tissus (µg/g) Liquides biologiques (µg/ml)	Concentration plasmatique moyenne (µg/ml)
Urine	500 mg IV	0-4*	292	4.9**
	1 g IV	0-4*	926	10.5**
	2 g IV	0-4*	3120	20.1**
Bile	2 g IV	9	11.2	9.2
Liquide péritonéal	2 g IV	4.4	18.3	24.8
Liquide interstitiel	2 g IV	1.5	81.4	72.5
Muqueuse bronchique	2 g IV	4.8	24.1	40.4
Appendice	2 g IV	5.7	5.2	17.8
Vésicule biliaire	2 g IV	9.6	8.1	8.5

Tableau 7 Concentrations tissulaires du céfépime, d'après www.vidal.fr

* : Urines prélevées dans l'intervalle 0-4h après administration

** : Plasma prélevé 4h après l'injection

La métabolisation du céfépime est faible. Il est transformé en N-méthylpyrrolidine N-oxyde qui est excrété dans les urines, correspondant à 7 % de la dose administrée.

La fixation aux protéines plasmatiques est inférieure à 19 % et est indépendante de la concentration sérique en céfépime.

L'élimination s'effectue essentiellement par voie rénale, par filtration glomérulaire. 85 % de la dose administrée est retrouvée sous forme inchangée dans les urines. Cela nécessite une adaptation de la posologie chez les insuffisants rénaux. La demi-vie d'élimination du céfépime est de 2 heures en moyenne et est augmentée chez l'insuffisant rénal et chez les dialysés ($T_{1/2}$ vie de 13 à 17H).

b) PHARMACODYNAMIE

Le céfépime est une β -lactamine bactéricide qui agit en bloquant la synthèse du peptidoglycane en se liant aux PLP.

c) POSOLOGIE ET MODE D'ADMINISTRATION

Chez l'adulte, la posologie recommandée est de 2 g en IV, 2 à 3 fois par jour selon le type d'infections. La posologie est de 1 g en IV ou IM, 2 fois par jour pour les infections respiratoires communautaires et les pyélonéphrites non compliquées.

Le céfépime peut être administré par voie IV (500 mg, 1 g et 2 g), en IV lente de 3 à 5 minutes, en perfusion de 30 minutes ou par voie intramusculaire profonde (500 mg et 1 g).

Chez le nourrisson de plus de 2 mois et les enfants, la posologie est de 50 mg/kg IV, 3 fois par jour. Les données cliniques disponibles chez le nourrisson et l'enfant ne permettent pas de recommander l'utilisation du céfépime en monothérapie.

Chez l'insuffisant rénal, une adaptation posologique est nécessaire.

d) EFFETS INDESIRABLES ET CONTRE-INDICATIONS

Manifestations hématologiques modérées et transitoires

Manifestations allergiques

Manifestations neurologiques

Manifestations digestives, hépatiques et cutanées

Le céfépime est contre-indiqué en cas d'allergie aux céphalosporines.

IV. OBJECTIFS DE L'ETUDE

1. Objectif principal

L'objectif principal était d'étudier la sensibilité *in vitro* de 3 antibiotiques (le mécillinaam, la témocilline et le céfépime) représentant des alternatives thérapeutiques dans le traitement des infections à entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération.

2. Objectifs secondaires

Cette étude prospective permettait de caractériser l'épidémiologie des résistances des patients du CHU de Poitiers.

La sensibilité des 3 antibiotiques a été évaluée par la mesure à la fois de la CMI et des diamètres d'inhibition permettant ainsi d'évaluer la concordance entre ces deux méthodes.

V. MATERIELS ET METHODES

A. POPULATION

L'étude prospective a été réalisée au CHU de Poitiers du 27 septembre 2015 au 5 mars 2016. Le CHU de Poitiers regroupe le site de Poitiers et deux sites périphériques, celui de Montmorillon et de Lusignan. Nous avons colligé toutes les entérobactéries résistantes (CMI ou diamètres d'inhibition recommandées par le CA-SFM/EUCAST version 2015) à au moins une céphalosporine de 3^{ème} génération (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) et ce, quel que soit l'origine du prélèvement. Cette résistance aux céphalosporines 3^{ème} génération a été mise en évidence, soit par le système automatisé Vitek 2 (bioMérieux®), soit par la mesure des diamètres d'inhibition (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) sur milieu gélosé. La mise en évidence des BLSE a été confirmée, si nécessaire, par la méthode des disques combinés (Bio-Rad, Marnes-la-Coquette, France) sur milieu gélosé en utilisant le céfotaxime, la ceftazidime et le céfépime.

Pour les entérobactéries des groupes 0, 1 et 2, lorsque la ticarcilline était « R » (CMI > 64 mg/L ou diamètre d'inhibition à 6 mm) et que la ceftaxime était « S » (CMI < 8 mg/L ou diamètre d'inhibition ≥ 15 mm), la souche était considérée comme porteuse d'une BLSE sans test supplémentaire.

B. ANTIBIOTIQUES TESTES

Les sensibilités *in vitro* au mécillinaam, à la témocilline et au céfépime ont été évaluées à la fois en disque (charge respective de 10 µg, 30 µg et 30 µg, Bio-Rad) et E-test® (bioMérieux®). Elle a été réalisée selon les recommandations du CA-SFM/EUCAST 2015 par la méthode de diffusion en milieu gélosé sur milieu Mueller-Hinton avec un inoculum de 0.5 Mc Farland. L'incubation, sous atmosphère normale, a été de 20 +/- 4 heures à une température de 35 +/- 2°C.

Afin de s'assurer de la maîtrise technique et de la conformité des disques et E-test®, un contrôle a été réalisé grâce à la souche *Escherichia coli* ATCC 25922. Les valeurs obtenues ont été conformes aux recommandations du CA-SFM/EUCAST 2015.

C. METHODE D'EVALUATION

La lecture a été réalisée systématiquement par deux biologistes et toute discordance a fait l'objet d'une relecture par un troisième biologiste. La lecture des diamètres d'inhibition était considérée comme discordante lorsque la différence entre les deux diamètres était supérieure à deux mm ; les discordances entre les valeurs de la CMI ne devait pas excéder « une dilution ». Enfin, lorsque la discordance entre les deux lectures modifiait la catégorisation de la résistance (S, R ou I), une troisième lecture était réalisée.

D. CONCENTRATIONS ET DIAMETRES CRITIQUES

Les sensibilités au mécillinaam, à la témocilline et au céfépime ont été déterminées selon les recommandations du CA-SFM/EUCAST V.2.0 de Juillet 2015 (Tableau 8).

	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Mécillinaam (cystites)	8	8	10	15 ^A	15 ^A
Témocilline	8	8	30	20	20
Céfépime	1	4	30	24	21

Tableau 8 Concentrations et diamètres critiques du mécillinaam, de la témocilline et du céfépime, d'après CA-SFM/EUCAST 2015 ; A : Ignorer les colonies situées dans la zone d'inhibition pour les isolats de l'espèce *E.coli*.

E. REALISATION TECHNIQUE

Les sensibilités de toutes les souches ont été évaluées comme indiquée sur les Figure 17 et Figure 18. Chaque souche a été testée sur 2 géloses Mueller-Hinton, l'une permettant la lecture des CMI de la témocilline et du mécillinaam et l'autre, évaluant la CMI du céfépime et des diamètres d'inhibition des trois antibiotiques.

La mesure du diamètre d'inhibition (Figure 18) s'est faite à l'aide d'une règle graduée par la mesure du diamètre d'inhibition. Cette mesure peut être rendue délicate lors des repousses à l'intérieur du halo.

La détermination de la CMI (Figure 18) s'est faite au niveau de la zone de contact entre la bandelette et l'ellipse formée par la culture bactérienne. Cette lecture n'est pas toujours aisée et nécessite l'expérience du lecteur.

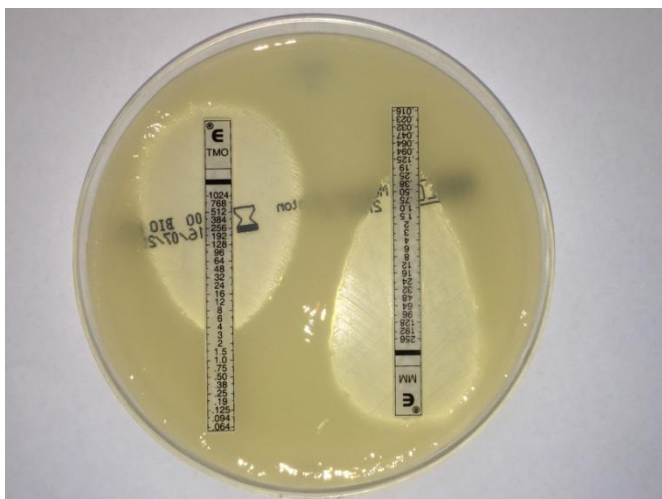


Figure 17 : Gélose n°1 : souche de *E.coli* avec CMI témocilline à 4 mg/L et CMI mécillinam à 0.25 mg/L.

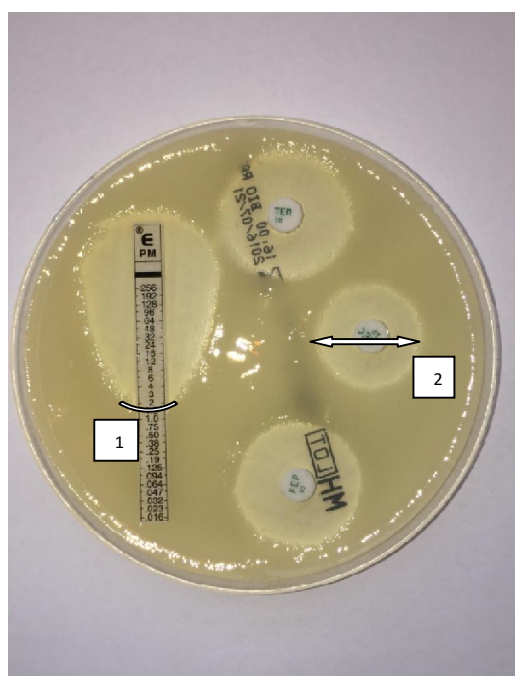


Figure 18 : Gélose n° 2 : souche de *E.coli* avec CMI du céfépime à 2 mg/L (n°1) ; diamètres de la témocilline, du mécillinam (n°2) et du céfépime respectivement à 22, 19 et 24 mm.

VI. RESULTATS

Du 27 septembre 2015 au 5 mars 2016, 282 souches ont été incluses. L'âge médian de l'ensemble des patients était de 67 ans. Le Tableau 9 indique la répartition des souches en fonction des services.

Parmi toutes les entérobactéries collectées, il y avait 148 souches (52 %) de type BLSE et 134 (48 %) de type non-BLSE (souches dont la recherche de BLSE était négative ou présence de céphalosporinase de haut niveau ou autres mécanismes de résistances aux C3G).

A. CARACTERISTIQUES DE L'ENSEMBLE DES SOUCHES

1. Services prescripteurs

Les services ont été regroupés en « pôles », selon l'organigramme défini par le CHU de Poitiers. Le pôle « URGENCES SAMU SMUR ANESTHESIE REANIMATIONS » est le plus représenté avec 1 souche sur 5 (Tableau 9).

POLES	Age median (par an)	Nombre de souches	Répartition (%)
POLE URGENCES SAMU SMUR ANESTHESIE REANIMATIONS	68	55	19.5
Urgences, Réanimation médicale, Réanimation chirurgicale, Réanimation chirurgie cardio-thoracique, Unité de soins continus			
POLE DUNE	61.5	46	16
Chirurgie viscérale, Hépto-gastro-entérologie, Endocrinologie, Néphrologie et transplantation rénale, Hémodialyse, Urologie			
POLE NEUROSCIENCES, LOCOMOTEUR	72	38	13.5
Neurologie, Rhumatologie, Neurochirurgie, Orthopédie-traumatologie, Médecine physique et réadaptation			
POLE MEDIPOOL	72	35	12.5
Médecine interne et maladies infectieuses, Dermatologie, Ophtalmologie, Hospitalisation à domicile, Service post-Urgences ; ORL			
POLE CANCEROLOGIE, HEMATOLOGIE ET PATHOLOGIE TISSULAIRE	60	33	12
Hématologie, Oncologie médicale, Soins palliatifs			
POLE FEMME MERE ENFANT	0.4	26	9
Urgences pédiatriques, gynécologie-obstétrique, réanimation pédiatrique, Réanimations pédiatriques			
POLE GERIATRIE	88.5	18	6
Gériatrie, EHPAD Lusignan			
POLE CŒUR POUMONS VASCULAIRE	70.5	16	6
Pneumologie, Cardiologie, Chirurgie vasculaire			
POLE MONTMORILLON	84	11	4
EHPAD, Urgences, Service de Médecine, USLD			
AUTRES SERVICES	75	4	1.5
Centre de prélèvement, chirurgie ambulatoire			
TOTAL	67	282	100

Tableau 9 Répartition des entérobactéries selon les différents pôles du CHU de Poitiers

2. Répartition des entérobactéries

La Figure 19 représente la répartition des différentes souches d'entérobactéries. *E.coli* (entérobactérie du groupe 1) représente l'espèce majoritaire avec 44 % de l'ensemble des souches. Les entérobactéries du groupe 2 et 3 représentent respectivement 17 % et 37 % de l'ensemble des souches.

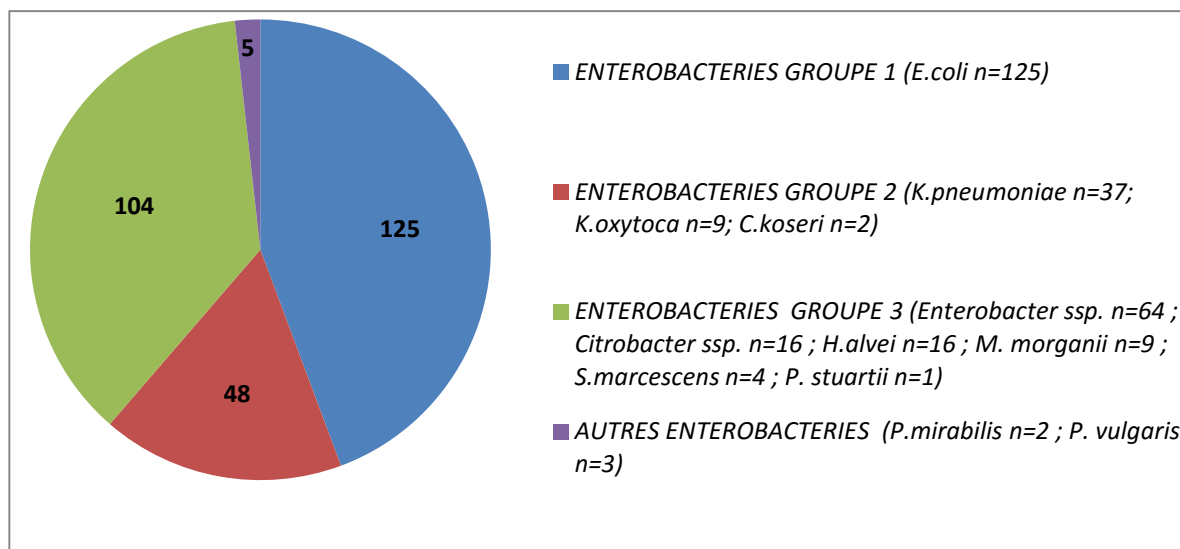


Figure 19 Répartition des 282 souches d'entérobactéries

3. Répartition des entérobactéries selon leurs profils de résistances

Les 282 souches d'entérobactéries ont été réparties en deux groupes :

- Le groupe « BLSE+ » présentant une BLSE ; ce groupe comprend au total 148 souches avec une majorité de germes appartenant aux groupes 1 et 2
- Le groupe « BLSE - » pour lequel aucune BLSE n'a été mise en évidence; ce groupe comprend 134 souches avec une majorité de germes appartenant au groupe 3

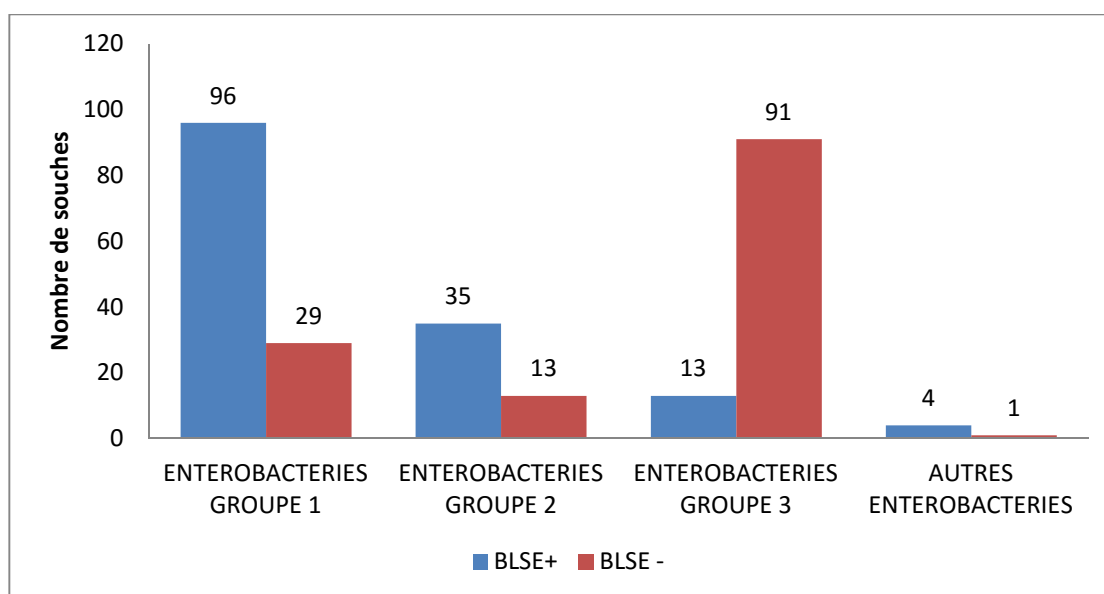


Figure 20 Répartition des 282 souches d'entérobactéries en fonction de leurs profils de résistances

4. Sensibilité in vitro de l'ensemble des souches

Le Tableau 10 ci-dessous présente les sensibilités au mécillinam, à la témocilline et au céfépime des 282 souches d'entérobactéries en fonction du site de prélèvement ; les résultats de sensibilité indiqués sont ceux obtenus par la méthode de mesure du diamètre d'inhibition et par la mesure de la CMI (E-test®).

Les ECBU ont représenté le premier site d'isolement des entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération suivi par les prélèvements respiratoires et les hémocultures.

	Nombre de souches isolées	SOUCHES SENSIBLES n (%)					
		TEMOCILLINE		MECILLINAM		CEFEPIME	
		Disque	E-test®	Disque	E-test®	Disque	E-test®
ECBU	149	88 (59%)	93 (62%)	105 (70%)	133 (89%)	52 (35%)	48 (32%)
Prélèvements respiratoires	34	18 (53%)	21 (62%)	26 (76%)	28 (82%)	25 (74%)	23 (68%)
Hémocultures	33	17 (52%)	18 (55%)	20 (61%)	24 (73%)	21 (64%)	18 (55%)
Pus profonds	28	14 (50%)	16 (57%)	21 (75%)	22 (79%)	21 (75%)	18 (64%)
Selles-Rectum	16	13 (81%)	11 (73%)	10 (67%)	14 (93%)	6 (40%)	4 (27%)
Os	5	3 (60%)	3 (60%)	2 (40%)	2 (40%)	2 (40%)	2 (40%)
Cathéter	2	1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)
Divers	15	8 (53%)	10 (67%)	10 (67%)	11 (73%)	10 (67%)	10 (67%)
TOTAL	282	163 (58%)	174 (62%)	197 (70%)	237 (84%)	140 (50%)	126 (45%)

Tableau 10 Sensibilités au mécillinam, à la témocilline et au céfépime en fonction du site d'isolement des entérobactéries ECBU n=149 ; Prélèvements respiratoires (Prélèvement distal protégé n=9 ; Aspiration trachéale n=8 ; Aspiration bronchique n=6 ; Expectoration n=5 ; Liquide Broncho-alvéolaire n=4 ; Gorge n=2) ; Hémocultures n=33 ; Pus profonds (Abscess n=6 ; Bile n=5 ; Péritonéal n=3 ; Biopsie n=3 ; Autres n=11) ; Selles-Rectum (Selles n=9 ; colonisation rectale n=7) ; Divers (liquide gastrique n=1 ; liquide pleural n=1 ; vaginal n=2 ; Endocol n=1 ; Autres n=10).

5. Répartition des CMI de l'ensemble des souches

La Figure 21 représente la répartition des CMI des trois molécules étudiées. Les deux barres verticales représentent les seuils définis par le CA-SFM/EUCAST 2015. Les « cut-off » sont à 1 mg/L pour le céfépime ($S \leq 1\text{mg/L}$) et à 8 mg/L ($S \leq 8\text{mg/L}$) pour le mécillinam et la témocilline.

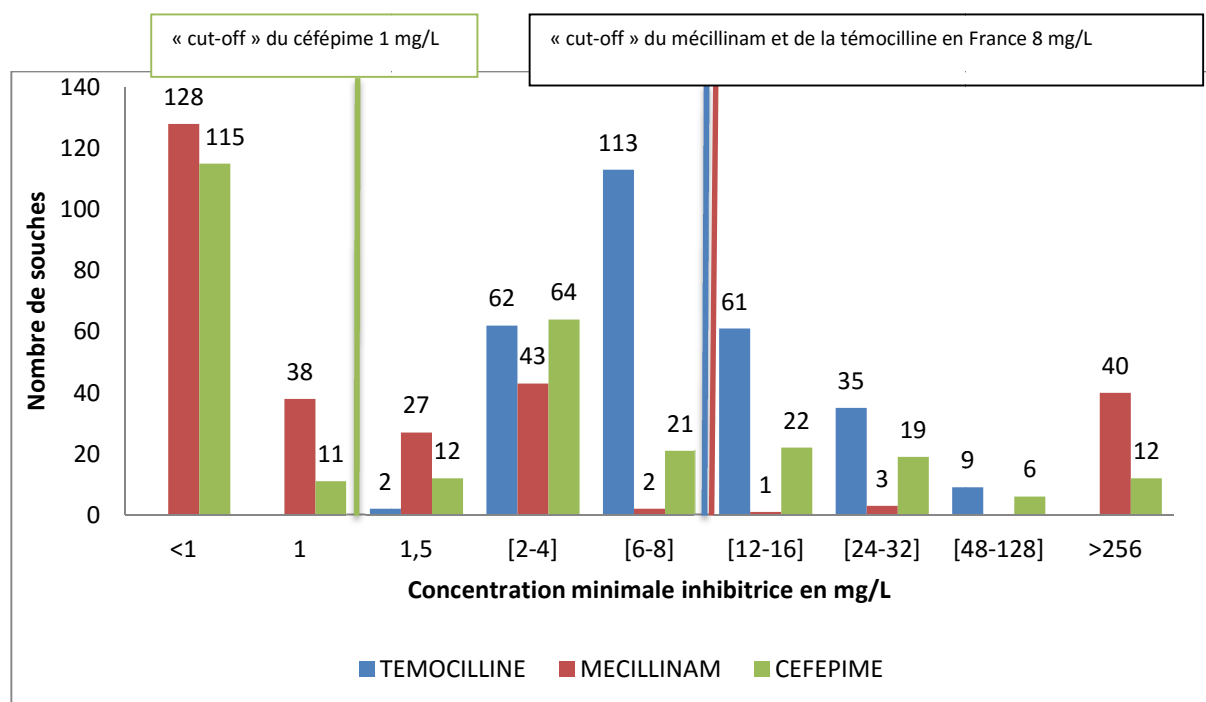


Figure 21 Répartition des CMI du mécillinaam, de la témocilline et du céfépime des 282 souches

6. Concordances entre CMI-diamètre

La sensibilité des souches aux trois antibiotiques testés a été déterminée à la fois par la mesure du diamètre d'inhibition et par la lecture des CMI. La détermination de la CMI reste aujourd'hui la technique de référence. Trois niveaux de discordances ont été définies :

- Discordance « très majeure » : souche « résistante » par la lecture de la CMI et « sensible » par la mesure du diamètre d'inhibition
- Discordance « majeure » : souche « intermédiaire » par la lecture de la CMI et « sensible » par la mesure du diamètre d'inhibition ; souche « résistante » par la lecture de la CMI et « intermédiaire » par la mesure du diamètre d'inhibition
- Discordance « mineure » : souche « sensible » par la lecture de la CMI et « résistante » par la mesure du diamètre d'inhibition

Trois erreurs « très majeures » ont été mises en évidence sur la témocilline et dix-neuf erreurs « majeures » sur le céfépime (Tableau 11).

	Discordances n (%)		
	Très majeure	Majeure	Mineure
Mécillinaam	0	NA	41 (14.5%)
Témocilline	3 (1%)	NA	17 (6%)
Céfépime	0	19 (6.75%)	0

Tableau 11 Tableau de concordances CMI-diamètre du mécillinaam, de la témocilline et du céfépime ; NA : Non Applicable par l'absence de sensibilité « intermédiaire » selon le CA-SFM/EUCAST 2015

B. CARACTERISTIQUES DES SOUCHES BLSE

Sur les 282 souches colligées, 148 souches présentaient une BLSE.

1. Répartition des entérobactéries BLSE

Parmi les entérobactéries à BLSE, ce sont les entérobactéries du groupe 1 et 2 qui représentaient la majorité (respectivement 65 % et 23 %) des souches isolées.

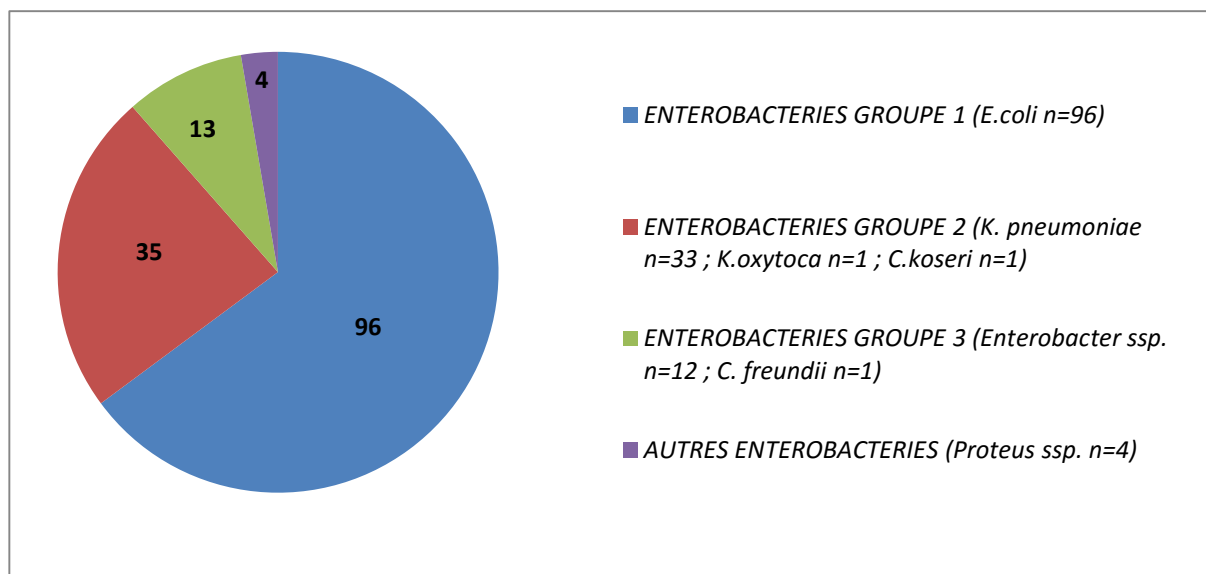


Figure 22 Répartition des 148 souches d'EBLSE

2. Sensibilité in vitro des entéobactéries BLSE

Le Tableau 12 présente les sensibilités au mécillinam, à la témocilline et au céfépime des 148 souches d'entérobactéries à BLSE en fonction du site de prélèvement ; les résultats de sensibilité indiqués sont ceux obtenus par la méthode de mesure du diamètre d'inhibition (Disque) et par la mesure de la CMI (E-test®).

Le céfépime présente le plus faible taux de sensibilité parmi les trois molécules testées.

	Nombre de souches	TEMOCILLINE		MECILLINAM		CEFEPIME	
		SOUCHES SENSIBLES n (%)					
		Disque	E-test®	Disque	E-test®	Disque	E-test®
ECBU	95	57 (60%)	61 (64%)	70 (74%)	91 (96%)	8 (8%)	5 (4%)
Prélèvements respiratoires	11	7 (64%)	8 (73%)	9 (82%)	10 (91%)	2 (18%)	1 (9%)
Hémocultures	11	7 (64%)	8 (73%)	6 (55%)	10 ()	3 (27%)	2 (18%)
Pus profonds	6	4 (67%)	4 (67%)	6 (100%)	6 (100%)	1 (17%)	0 (0%)
Selles-Rectum	13	11 (85%)	10 (77%)	8 (62%)	12 (92%)	3 (23%)	2 (15%)
Os	4	2 (50%)	2 (50%)	1 (25%)	1 (25%)	1 (25%)	1(25%)
Divers	8	4 (50%)	5 (63%)	6 (75%)	7 (88%)	3 (38%)	3 (38%)
TOTAL	148	92 (62%)	98 (66%)	106 (72%)	137 (93%)	21 (14%)	14 (9%)

Tableau 12 Sensibilités au mécillinam, à la témocilline et au céfépime en fonction du site d'isolement des 148 EBLSE
 EBCU n=95 ; Selles-Rectum (Selles n=6; colonisation rectale n =7) ; Prélèvements respiratoires (Prélèvement distal protégé n=3 ; Aspiration trachéale n=2 ; Aspiration bronchique n=2 ; Expectorations n=2 ; Liquide Broncho-alvéolaire n=2);
 Hémocultures n=11 ; Divers (vaginal n=2 ; Endocol n=1 ; Autres n=5) ; Pus profonds (Abscess n=1 ; Péritonéal n=2 ; Biopsie n=1 ; Autres n=2) ; Os n=4

C. CARACTERISTIQUES DES SOUCHES NON BLSE

Sur les 282 souches colligées, 134 étaient de type non BLSE.

1. Répartition des entérobactéries non BLSE

Parmi les entérobactéries non BLSE, ce sont les entérobactéries du groupe 3 (68 %) qui représentaient la majorité des souches isolées.

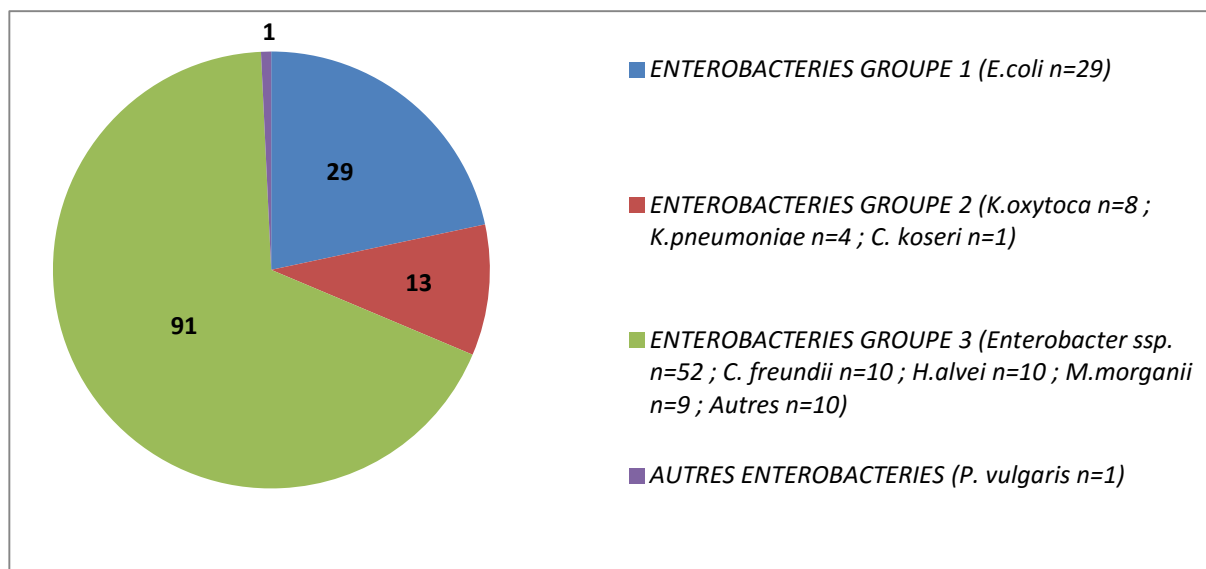


Figure 23 Répartition des souches d'entérobactéries non-BLSE

2. Sensibilité *in vitro* des entéobactéries non BLSE

Le Tableau 13 présente les sensibilités au mécillinaam, à la témocilline et au céfépime des 134 souches d'entérobactéries non BLSE en fonction du site de prélèvement ; les résultats de sensibilité indiqués sont ceux obtenus par la méthode de mesure du diamètre d'inhibition (disque) et par la mesure de la CMI (E-test®).

Les ECBU ont représenté le premier site d'isolement des entérobactéries non BLSE.

		Nombre de souches	TEMOCILLINE		MECILLINAM		CEFEPIME	
			SOUCHES SENSIBLES n (%)					
			Disque	E-test®	Disque	E-test®	Disque	E-test®
ECBU	54		31 (57%)	32 (59%)	35 (65%)	42 (78%)	44 (81%)	43 (78%)
Prélèvements respiratoires	23		11 (48%)	13 (57%)	17 (74%)	18 (78%)	23 (100%)	22 (96%)
Hémocultures	22		11 (50%)	11 (50%)	14 (64%)	15 (68%)	19 (86%)	17 (77%)
Pus profonds	22		10 (45%)	12 (55%)	15 (68%)	16 (73%)	20 (91%)	18 (77%)
Selles	3		2 (67%)	2 (67%)	3 (100%)	3 (100%)	3(100%)	2 (67%)
Os	1		1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)	1 (100%)
Cathéter	2		1 (50%)	1 (50%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)	2 (100%)
Divers	7		4 (57%)	5 (71%)	4 (57%)	4 (57%)	7 (100%)	7 (100%)
TOTAL	134		71 (53%)	77 (57%)	91 (68%)	101 (75%)	119 (89%)	112 (82%)

Tableau 13 Sensibilités au mécillinaam, à la témocilline et au céfépime en fonction du site d'isolement des entérobactéries non-BLSE

ECBU n=54 ; Prélèvements respiratoires (Prélèvement distal protégé n=6 ; Aspiration trachéale n=6 ; Aspiration bronchique n=4 ;Expectoration n=3 ; Liquide Broncho-alvéolaire n=2, Gorge n=2) ; Hémocultures n=22 ; Pus profonds (Abscess n=5 ; Bile n=5 ; Biopsie n=2 ;Péritonéal n=1 ; Autres n=9) ; Divers (liquide gastrique n=1 ; liquide pleural n=1 ; Autres n=5) ; Selles n=3 ; Cathéter n=2 ; Os n=1

D. CARACTERISTIQUES DES SOUCHES « URINAIRES »

Cette étude prospective a permis de collecter 149 souches provenant de prélèvements urinaires. Au seuil recommandé par le CA-SFM/EUCAST 2015 ($S \leq 8\text{mg/L}$) pour la témocilline, 62 % des souches étaient sensibles à cet antibiotique. Au seuil recommandé au Royaume-Uni ($S \leq 32\text{ mg/L}$), la sensibilité de la témocilline passait de 62 % à 96 %.

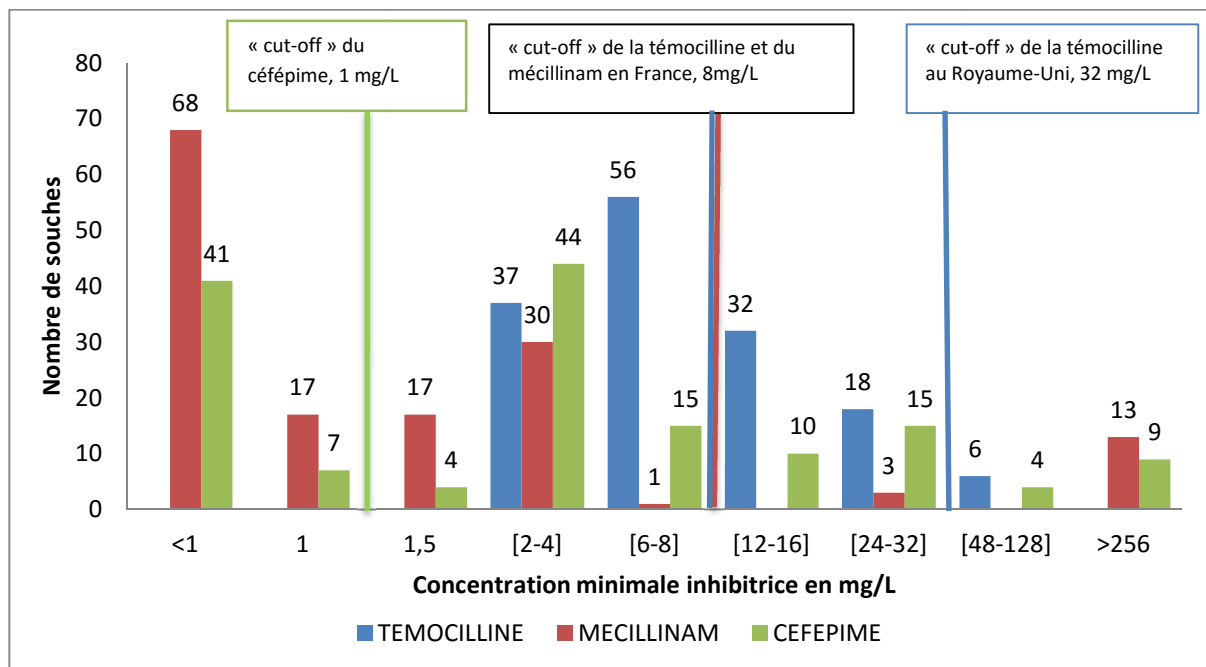


Figure 24 Répartition des CMI du mécillinam, de la témocilline et du céfépime des 149 souches urinaires

E. CARACTERISTIQUES DES SOUCHES « PRELEVEMENTS RESPIRATOIRES »

Trentre-quatre souches ont été collectées parmi les « prélèvements respiratoires ». Parmi ces souches, onze (32 %) étaient de type BLSE. Les taux de sensibilités du céfépime et de la témocilline ont été respectivement de 68 % et de 62 %.

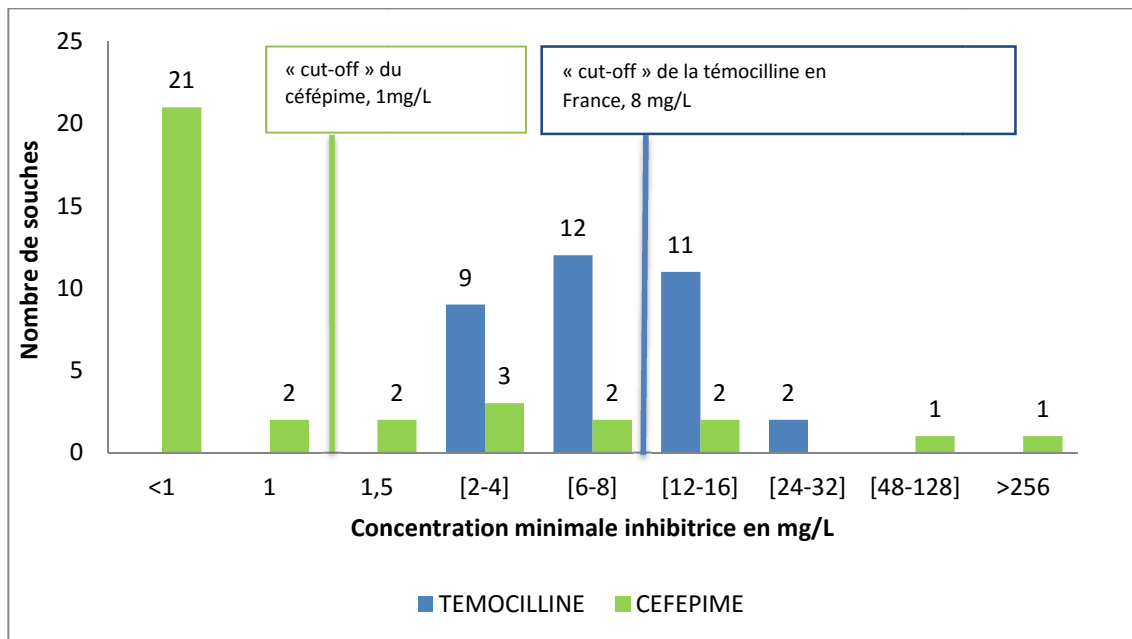


Figure 25 Répartition des CMI de la témocilline et du céfépime des 34 souches « respiratoires »

F. CARACTERISTIQUES DES SOUCHES « PRELEVEMENTS PROFONDS »

Parmi les 28 souches issues des « prélèvements profonds », six souches (21 %) étaient de type BLSE. Les taux de sensibilités du céfépime et de la témocilline ont été respectivement de 64 % et de 57 %. Aucune souche de type BLSE n'était sensible au céfépime parmi les « prélèvements profonds ».

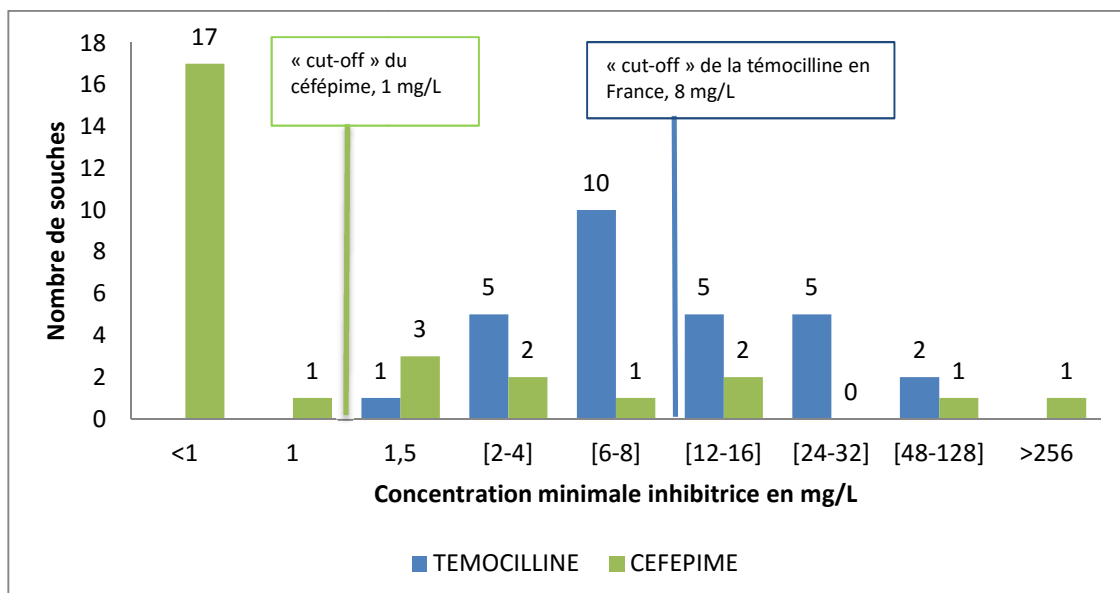


Figure 26 Répartition des CMI de la témocilline et du céfépime des 28 souches « prélèvements profonds »

G. CARACTERISTIQUES DES SOUCHES « HEMOCULTURES »

Trente-trois souches ont été collectées sur des hémocultures. Onze (33%) étaient de type BLSE. Les taux de sensibilités du céfépime et de la témocilline ont été respectivement de 58% et de 61%.

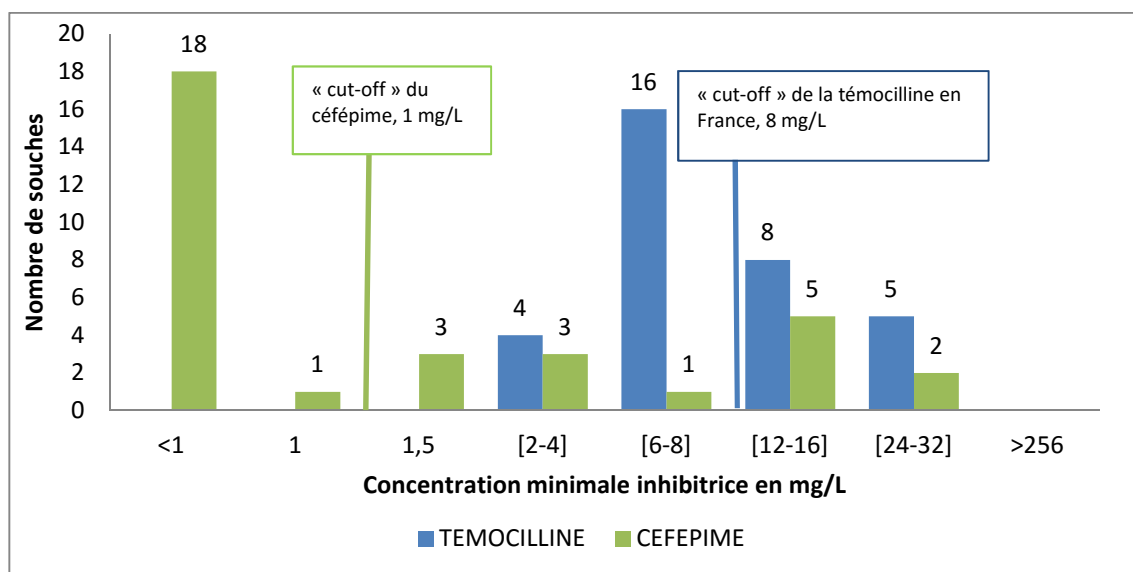


Figure 27 Répartition des CMI de la témocilline et du céfépime des 33 souches « hémocultures »

H. CARACTERISTIQUES DES SOUCHES « PRELEVEMENTS OSSEUX »

Sur les cinq souches provenant de prélèvements osseux, quatre (80 %) étaient de type BLSE. Les taux de sensibilités du céfépime et de la témocilline ont été respectivement de 40 % et de 60 %.

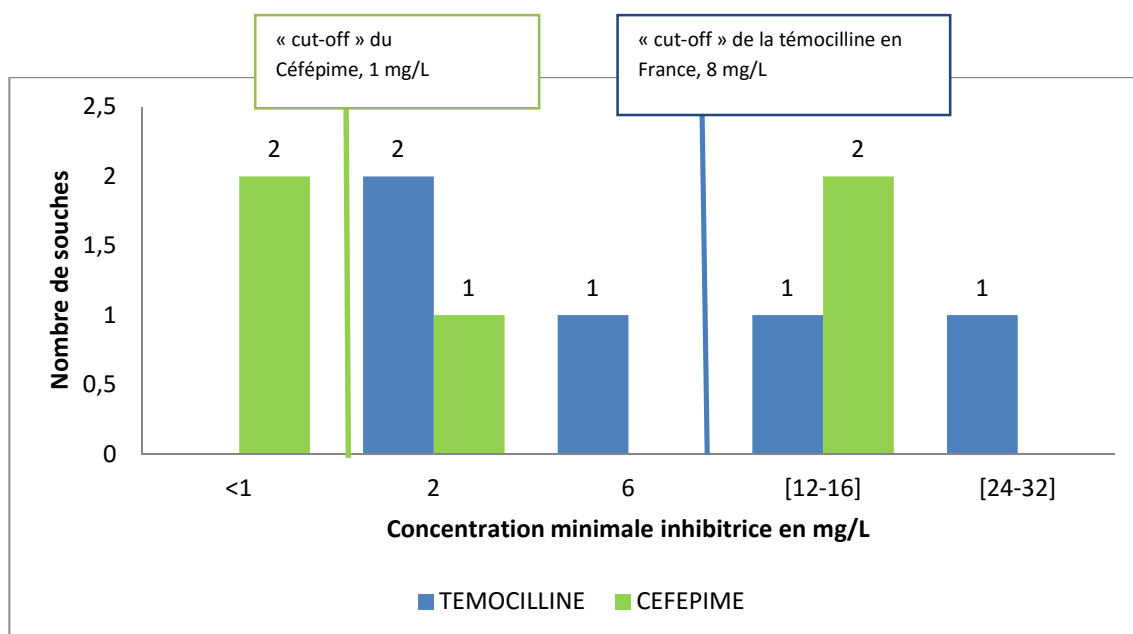


Figure 28 Répartition des CMI de la témocilline et du céfépime des 5 souches « prélèvements osseux »

VII. DISCUSSION

Notre étude prospective a permis de collecter 282 souches d'entérobactéries résistantes aux C3G. La recherche d'alternatives thérapeutiques aux carbapénèmes s'est matérialisée par la détermination de la sensibilité *in vitro* au mécillinam, à la témocilline et au céfépime.

A. LE MECILLINAM

Le mécillinam est actuellement recommandé en France dans le traitement probabiliste des cystites simples (en seconde intention après la fosfomycine-trométamol, y compris chez la femme enceinte) et dans le traitement de la cystite à risque de complication (uniquement après les résultats de l'antibiogramme). Il est également recommandé dans le traitement de la colonisation urinaire gravidique. En France, dans les infections communautaires, la résistance d'*E.coli* aux C3G est inférieure à 5 % ; cette résistance est portée principalement par les BLSE.

1. SENSIBILITE IN VITRO

Notre étude prospective réalisée au CHU de Poitiers sur 149 souches d'entérobactéries résistantes aux C3G provenant d'infections urinaires a montré une sensibilité globale de 89 % au mécillinam, passant même à 96 % de souches sensibles parmi les 95 EBLSE. Ces résultats sont comparables aux différentes études publiées récemment.

Le Tableau 14 présente les résultats d'études sur la sensibilité *in vitro* du mécillinam en France. De 2013 à 2016, trois études ont montré que la sensibilité des *E.coli* BLSE était supérieure à 90%. Ces souches provenaient aussi bien du milieu hospitalier que communautaire.

En effet, en 2013, au CHU de Besançon, sur une série de 100 *E.coli* BLSE, Fournier et *al.* [57] ont étudié la sensibilité des alternatives thérapeutiques aux carbapénèmes et ont montré une sensibilité de 90 % au mécillinam. En 2014, sur une série de 80 souches d'*E.coli* BLSE, la sensibilité au mécillinam était de 91% ; les sensibilités des souches hospitalières et communautaires étaient comparables, respectivement 94 % et 89 % [58]. En 2015, dans trois centres hospitaliers du Nord de la France, les auteurs montraient que la sensibilité de *K.pneumoniae* (81,1 %) était bien inférieure à celle d'*E.coli* (93 %) [59].

Dans d'autres pays européens (Tableau 15), des résultats similaires ont été retrouvés. En 2010, dans un centre hospitalier de Cardiff [60], 325 souches d'*E.coli* résistantes aux C3G présentaient une sensibilité de 93.5 % au mécillinam. En 2011, dans un centre hospitalier suédois, Titelman et *al.* [61] ont étudié la sensibilité de 169 souches de type BLSE dont 130 provenaient d'infections urinaires et 11 souches d'hémocultures. La sensibilité au mécillinam par E-test® était de 85 % avec respectivement 87 % et 75 % de sensibilité chez *E.coli* et *K.pneumoniae*. La différence de sensibilité entre ces deux espèces a également été retrouvée par Deshpande et *al.* [62] et Duployez et *al.* [59], respectivement au Royaume-Uni et en France. Dans notre étude, nous n'avons pas retrouvé cette différence de sensibilité. Des études complémentaires seraient nécessaires pour déterminer d'éventuels génotypes de BLSE associés à une résistance plus élevée au mécillinam chez *K.pneumoniae*. En

revanche, la comparaison de la sensibilité au mécillina^m en fonction du type de BLSE a montré que les souches présentaient une sensibilité élevée au mécillina^m, que la BLSE soit de type CTX-M groupe 1 ou CTX-M groupe 9 (Tableau 15).

Malgré un faible niveau de résistance, le taux de résistances des souches BLSE est plus élevée. Les données collectées auprès de cinq pays [63], de 2011 à 2013, montre que la résistance au mécillina^m était de 4 à 5 % sur des *E.coli* non BLSE (22142 à 23941 souches) et de 5 à 7 % sur des *E.coli* BLSE (637 à 830 souches).

Une étude anglaise a également montré qu'il n'y avait pas d'association significative entre la sensibilité au mécillina^m et la présence de BLSE [62]. Le mécillina^m est relativement stable vis-à-vis de l'hydrolyse par les β -lactamases [64]. Le mécillina^m est utilisé dans les pays scandinaves depuis les années 1980 et il n' a pas été observé d'augmentation significative de la résistance à cet antibiotique.

Les recommandations de la SPILF sur l'utilisation du mécillina^m dans les cystites sont basées sur les résultats de sensibilité issus d'études européennes (ARESC et ECO.SENS II) et françaises (réseau REUSSIR et étude BACYST).

L'étude ARES^c (Antimicrobial Resistance Epidemiological Survey on Cytitis) réalisée dans neuf pays européens et au Brésil de 2003 à 2006 [65] montrait une sensibilité d'*E.coli* de 95.8 % au mécillina^m. La série française présentait une sensibilité de 97.1 %. En 2012, dans l'étude ECO.SENS II [66], la sensibilité de 903 souches d'*E.coli* issues d'infections urinaires communautaires était de 99.1 %; cette étude n'incluait pas la France (Tableau 15).

En France, en 2010, les 7000 souches d'*E.coli* collectées par le réseau REUSSIR avaient une sensibilité au mécillina^m de 85.5 %. Dans l'étude française BACYST [67], cette sensibilité s'établissait à 88 % pour *E.coli* [67] (Tableau 14).

Dans notre étude, la sensibilité au mécillina^m a été réalisée à la fois par la méthode des disques et par E-test[®]. Nous avons constaté une discordance « mineure » de 14.5 % (41/282) au mécillina^m. Les sensibilités par E-test[®] et par disques étaient respectivement de 96 % et 74 % sur les EBLSE urinaires. Ces discordances sont le résultat de très nombreuses « repousses » observées autour du disque de mécillina^m. Le CA-SFM/EUCAS^t 2015 recommande d'« ignorer les colonies situées dans la zone d'inhibition pour les isolats de l'espèce *E. coli* » mais ces « repousses » n'étaient pas limitées à cette espèce. Ce phénomène a également été observé lors des lectures de CMI mais aucune recommandation n'a été émise sur cette difficulté d'interprétation. Cette discordance a été retrouvée par une étude australienne réalisée de 2004 à 2008 sur une série de 100 souches d'*E.coli* à BLSE provenant d'IU majoritairement communautaires. La sensibilité au mécillina^m par E-test[®] était de 85 % et de 77 % par la méthode des disques sur milieu gélosé [68]. Il existe très peu d'études dans la littérature ayant comparé ces deux méthodes. Il paraît donc judicieux d'ignorer ces « repousses » lors de la lecture de l'antibiogramme.

ANNEE	AUTEURS	PAYS	N	ESPECES	PHENOTYPES	PRELEVEMENTS	ORIGINE	S ≤ 8 mg /L
2009-2010	Réseau REUSSIR	France	7000	<i>E. coli</i>	-	Urinaires	-	5985 (85.5%)
	Etude BACYST [67]	France	141	<i>E. coli</i>	-	Urinaires	Communautaire	124 (88%)
2013	Fournier et al. [57]	France (CHU de Besançon)	100	<i>E. coli</i>	BLSE	Urinaires	Hospitalière	90 (90 %)
2015	Illes et al. [58]	France (Besançon)	80	<i>E. coli</i>	BLSE	Urinaires	Hospitalière et communautaire	73 (91%)
			dont 33				Hospitalière	31 (94%)
			dont 47				Communautaire	42 (89%)
2016	Duployez et al. [59]	France (Centres hospitaliers Nord de France)	252		BLSE	Urinaires	Hospitalière	
			dont 157	<i>E. coli</i>				146 (93%)
			dont 95	<i>K.pneumoniae</i>				77 (81.1%)

Tableau 14 Etudes françaises récentes sur la sensibilité des entérobactéries au mé�illinam.

N : nombre de souches ;

ANNEE	AUTEURS	PAYS	N	ESPECES	PHENOTYPES	PRELEVEMENTS	ORIGINE	S ≤ 8 mg/L
2009	Schito et al. ARESC [65]	10 pays dont la France	2313	<i>E. coli</i>	dont 39 BLSE	Urines	Hospitalière et communautaire	2215 (95.8%)
		France	dont 409	<i>E. coli</i>				397 (97.1%)
2010	Wootton et al. [60]	Pays de Galles Cardiff	325	<i>E. coli</i>	C3G-R	Réseau de surveillance résistances d'antibiotiques	Hospitalière	304 (93.5%)
			29	<i>E.coli</i>	BLSE	Collection souches internationales	NR	29 (100%)
2011	Titelman et al. [61]	Suède (Centre Hospitalier)	169	<i>E.coli</i> <i>K. pneumoniae</i>	BLSE	Urinaires (n=130) Hémocultures (n=11) Autres (n=28)	Hospitalière	144 (85%)
			dont 149	<i>E. coli</i>				130 (87%)
			dont 20	<i>K. pneumoniae</i>				15 (75%)
2011	Tärnberg et al. [69]	Suède	198	<i>E.coli</i>	BLSE	Urinaires (n=125) Hémocultures (n=12) Autres (n=61)		181 (91.4%)
			dont 132	CTX-M grp. 1				125 (94.7%)
			dont 55	CTX-M grp. 9				48 (87.3%)

Tableau 15 Etudes internationales récentes sur la sensibilité des entérobactéries au mécilinam

ANNEE	AUTEURS	PAYS	N	ESPECES	PHENOTYPES	PRELEVEMENTS	ORIGINE	S ≤ 8 mg/L
2012	Kahlmeter et al. [66] ECO.SENS II	Australie, Grèce, Portugal, Suède, UK	903	<i>E.coli</i>		Urines	communautaire	895 (99.1%)
			dont 11					11 (100%)
2013	Deshpande et al. [62]	Royaume-Uni	499		C3G-R	Urinaires	Hospitalière et communautaire	428 (85.8%)
			dont 336					295 (87.8%)
			dont 388					535 (91%)
			dont 46					35 (76%)
2015	Zykov et al.[70]	Norvège	105	<i>E.coli</i>	BLSE	Urinaires (n=24)	NORM*	99 (94%)
			dont 24			Hémocultures (n=81)		20 (83%)
			dont 81			Urinaires		79 (97%)

Tableau 15 (Suite) Etudes internationales récentes sur la sensibilité des entérobactéries au méicillinam.

*NORM : Organisation Norvégienne de surveillance des Résistances aux antibiotiques

2. EFFICACITE CLINIQUE

Le taux de sensibilité des entérobactéries de type BLSE au mécillinam reste élevé en Europe. Diverses études ont évalué l'efficacité clinique du mécillinam.

Le traitement des IU basses par mécillinam est recommandé par l'Infectious Diseases Society of America, l'European Society for Clinical Microbiology and Infectious Diseases mais aussi par l'European Association of Urology. Entre 20 et 30 % des cystites aiguës sont traités par mécillinam au Danemark, en Suède et en Norvège. En Suède, la prescription du mécillinam dans les IU communautaires est passé de 31 % (2002) à 51 % (2005) ; cette augmentation de prescription n'a, à ce jour, pas été suivie d'une augmentation de résistance bactériologique [71].

De nombreuses études ont bien documenté l'efficacité du mécillinam dans le traitement des cystites dans les pays scandinaves [72] ; cette utilisation n'a pas entraîné d'augmentation de la résistance au mécillinam [73].

Il y a peu de données dans la littérature sur l'efficacité *in vivo* du mécillinam sur les souches productrices de BLSE. Nicolle et *al.* [74] ont décrit le cas d'une patiente traitée avec succès par le mécillinam pour le traitement d'une pyélonéphrite.

Dans une étude prospective danoise, 39 patients présentant une IU basse à EBLSE ont été inclus. Toutes les souches étaient sensibles au mécillinam. Deux schémas posologiques ont été mis en place : 200 mg et 400 mg trois fois par jour. Les guérisons clinique et bactériologique étaient respectivement de 84 % et de 79 %. Il n'a pas été observé de différence significative d'efficacité entre les deux posologies [75].

Dans une étude norvégienne cas-témoin [76] qui a comparé l'efficacité clinique du mécillinam dans les infections urinaires communautaires, 343 malades ont été inclus dont 81 présentant une infection à *E.coli* BLSE (6,2% de souches mécillinam-R) et 262 avec un *E.coli* non-BLSE (0.4% de souches mécillinam-R). Cette étude montre que le risque d'échec thérapeutique au mécillinam est plus important avec les souches BLSE (44% d'échec) qu'avec les souches non-BLSE (14% d'échec); ce risque d'échec est croissant avec l'augmentation de la CMI du mécillinam. La posologie utilisée dans cette étude était de 200mg*2 / jour par voie orale. Les auteurs proposaient alors d'augmenter la posologie pour les souches ayant des CMI hautes, connaissant l'inocuité du mécillinam. On peut noter que la posologie recommandée en France est de 400mg*2 / jour. Les résultats de cette étude contredisent ceux d'une autre étude [77] qui montre 100 % de succès chez sept patients présentant une IU communautaire à *E.coli* BLSE mais on peut remarquer que les CMI étaient basses (6 souches avec une CMI < 1 mg/L et 1 souche avec une CMI à 2mg/L).

L'association du mécillinam au clavulanate apparaît également comme une option thérapeutique à étudier prochainement [78].

AU TOTAL :

Ces résultats nous indiquent que le taux de sensibilité au mécillinam reste très élevé pour les souches présentant une résistance aux C3G et ne font que confirmer le rôle d'alternative du mécillinam dans le traitement des cystites à entérobactéries résistantes aux C3G. Lorsque l'on compare les résultats de résistance au mécillinam de l'ensemble des souches isolées dans les infections urinaires aux souches présentant une résistance aux C3G, on constate que dans les deux cas, ces valeurs sont inférieures à 20 % (seuil retenu par la SPILF), permettant son utilisation en probabiliste dans les cystites simples.

B. LA TEMOCILLINE

La témocilline est utilisée en Belgique et au Luxembourg depuis les années 80 dans les infections à entérobactéries documentées microbiologiquement. En Belgique, elle est recommandée dans le traitement des pyélonéphrites par le Belgium Antibiotic Politic Coordination Committee guidelines [79].

La témocilline est indiquée « Chez les adultes et chez les enfants, pour le traitement des infections suivantes : des voies urinaires compliquées incluant les pyélonéphrites ; des voies respiratoires basses, des bactériémies et des infections des plaies ».

La SPILF recommande la témocilline dans le traitement des pyélonéphrites à EBLSE, après confirmation de la sensibilité à la témocilline (y compris pyélonéphrite à risque de complication ou grave) et dans les infections urinaires masculines à EBLSE, après confirmation de la sensibilité à la témocilline, en l'absence d'alternative [80]. En l'absence de données, son utilisation chez la femme enceinte n'est pas recommandée en France.

1. SENSIBILITE IN VITRO

Dans notre étude, la sensibilité à la témocilline était de 62 % pour une CMI ≤ 8 mg/L (seuil recommandé par le CA-SFM/EUCAST 2015) sur les souches provenant d'infections urinaires, ne permettant pas un traitement probabiliste par cette molécule. Cette sensibilité passe à 96% pour une CMI ≤ 32 mg/L (seuil urinaire recommandé par la *British Society for Antimicrobial Chemotherapy*). Des résultats similaires ont été publiés dans différents pays, notamment en France.

Le Tableau 16 présente les résultats de sensibilité à la témocilline obtenus en France récemment sur des EBLSE.

En 2010, au CHU de Besançon, sur une série de 100 *E.coli* urinaires de type BLSE, Fournier et al. [57] ont étudié la sensibilité des alternatives thérapeutiques aux carbapénèmes et ont montré que la sensibilité de la témocilline passait de 61 % ($S \leq 8$ mg/l) à 99 % ($S \leq 32$ mg/l) en modifiant le seuil. En 2015, dans trois centres hospitaliers du Nord de la France, 157 *E.coli* et 95 *K.pneumoniae* urinaires de type BLSE ont montré une sensibilité à témocilline respectivement de 71.3 % (112/157) et de 77.9 % (74/95) [59] ; sur la même période, à Dijon, le taux de sensibilité à la témocilline sur 109 EBLSE urinaires était de 58 % avec 61 % de sensibilité pour *E.coli* (51/84) [81].

Les résultats de sensibilité à la témocilline obtenus dans différents pays sont présentés dans le Tableau 17.

Entre 2010 et 2011, sur une collection de 105 souches d'*E.coli* présentant une BLSE, issue de l'Organisation norvégienne de surveillance des résistances aux antibiotiques, la sensibilité à la témocilline était de 100% au seuil de 32 mg/L [70].

La sensibilité de la témocilline ne paraît pas être influencée par le mécanisme de résistance aux C3G. Une étude anglaise réalisée en 2006 [82] sur 845 souches d'entérobactéries provenant d'un réseau de surveillance de la résistance aux C3G a montré une sensibilité à la témocilline de 64% pour une CMI $\leq$ 8mg/L et de 98 % pour une CMI $\leq$ 32 mg/L. Les souches provenaient de 16 sites différents ; cette série d'entérobactéries comprenaient aussi bien des souches de type BLSE que des souches avec des céphalosporinases dérégulées de type *AmpC*. Les taux de sensibilité à la témocilline étaient de 63 % et de 99 % pour les EBLSE et de 67 % et de 99 % pour les entérobactéries de type *AmpC*, respectivement pour une CMI $\leq$ 8mg/L et une CMI $\leq$ 32 mg/L.

Des études suggèrent également l'influence du type de BLSE sur la sensibilité à la témocilline. En 2011, Titelman et al.[61] ont étudié la sensibilité de 169 souches (souches urinaires et hémocultures) présentant une BLSE dans un centre hospitalier suédois. La sensibilité à la témocilline était de 76 % ($S \leq 8$ mg/L). Les auteurs remarquaient que la sensibilité était meilleure chez les souches de type CTX-M-14 (respectivement 93 % et 100 % chez *E.coli* et *K. pneumoniae*) plutôt que chez les souches de type CTX-M-15 (respectivement 70 % et 82 % chez *E.coli* et *K. pneumoniae*). Toujours en Suède, Tärnberg et al. [69] ont étudié la sensibilité de 198 souches d'*E.coli* BLSE de type CTX-M (souches urinaires et hémocultures) et ont montré que les souches présentant une BLSE de type CTX-M du groupe 9 avait une meilleure sensibilité à la témocilline que ceux du groupe 1. En revanche, une étude belge qui a étudiée la sensibilité de 162 souches d'*E.coli* de type BLSE de 2000 à 2003 a montré l'absence d'influence du type de BLSE sur la sensibilité de la témocilline. La proportion de sensibilité est restée stable durant les 3 années de cette étude.

Les entérobactéries de type BLSE ou *AmpC* ont une bonne sensibilité vis-à-vis de la témocilline. Néanmoins, on constate une augmentation des résistances. Une récente étude de 2014 [83] en Corée du Sud décrit une résistance à la témocilline de 12.5 % sur des souches d'*E.coli* BLSE ou *AmpC* contre 2.5 % sur des *E.coli* « sauvages ».

Dans notre étude, la sensibilité à la témocilline a été réalisée à la fois par la méthode des disques et par E-test®. Trois (1 %) discordances « majeures » ont été retrouvées sur les 282 souches testées : CMI = 12 mg/L ($S \leq 8$ mg/L) et diamètres = 20 mm pour deux souches et 21 mm pour la troisième ($S \geq 20$ mm). Ces résultats confirment la difficulté d'interprétation lorsque les valeurs observées sont proches des seuils recommandés. Des résultats similaires ont été retrouvés par Vanstone et al. [84] avec un taux de discordance « majeure » à 1.9 % (10/519).

ANNEE	AUTEURS	PAYS	N	ESPECES	PHENOTYPES	PRELEVEMENTS	ORIGINE	S ≤ 8mg/L	S ≤ 32mg/L
2013	Fournier et al. [57]	France (CHU de Besançon)	100	<i>E. coli</i>	BLSE	Urinaires	Hospitalière	61 (61%)	99 (99%)
2016 JN1	Duployez et al.[59]	France (Centres hospitaliers Nord de France)	252		BLSE	Urinaires	Hospitalière		
			dont 157	<i>E. coli</i>				112 (71.3%)	
			dont 95	<i>K.pneumoniae</i>				74 (77.9%)	
2016 JN1	Nicolas et al. [81]	France (CHU de Dijon)	109		BLSE	Urinaires	Hospitalière	63 (58%)	
			dont 84	<i>E. coli</i>				51 (61%)	
			dont 19	<i>K.pneumoniae</i>				11 (58%)	

Tableau 16 Etudes françaises récentes sur la sensibilité des entérobactéries à la témocilline.

ANNEE	AUTEURS	PAYS	N	ESPECES	PHENOTYPES	PRELEVEMENTS	ORIGINE	S ≤ 8mg/L	S ≤ 32 mg/L
2006	Livermore et al. [82]	Angleterre	845	Entérobactéries	C3G-R	Réseau surv C3G-R	Hospitalière	542 (64%)	827 (98%)
			dont 499	<i>E. coli</i>				345 (69%)	496 (99%)
2006	Rodriguez-Villalobos et al. [85]	Belgique	162	<i>E. coli</i>	BLSE		Hospitalière	132 (81%)	160 (99%)
2011	Titelman et al. [86]	Suède	169	<i>E.coli</i> et <i>K. pneumoniae</i>	BLSE	Urinaires (n=130) Hémocultures (n=11)	Hospitalière	128 (76%)	
			dont 149	<i>E. coli</i>				110 (74%)	
			dont 20	<i>K. pneumoniae</i>				18 (90%)	
2011	Tärnberg et al.[69]	Suède	198	<i>E.coli</i>	BLSE	Urinaires (n=125) Hémocultures (n=12)		165 (83%)	198 (100%)
			dont 132		CTX-M grp. 1			104 (79%)	
			dont 55		CTX-M grp. 9			50 (91%)	
2014	Seo et al.[83]	Corée du Sud	346	<i>E.coli</i>	24 C3G-R	Urinaires et Hémocultures	Hospitalière	309 (89%)	340 (98%)
2015	Zykov et al.[70]	Norvège	105	<i>E.coli</i>	BLSE	Urinaires (n=24) Hémocultures (n=81)	NORM	75 (71%)	105 (100%)

Tableau 17 Etudes internationales récentes sur la sensibilité des entérobactéries à la témocilline

2. EFFICACITE CLINIQUE

Des taux de succès supérieurs à 90 % ont été retrouvés dans les infections urinaires par différentes études cliniques sur des germes sensibles à la témocilline pour des posologies supérieures à 1g /24h [88,89]. Mais ces études n'ont pas été réalisées spécifiquement sur des entérobactéries résistantes aux C3G. En France, la posologie recommandée dans les infections urinaires est de 2*2 g /24h.

Au Royaume-Uni, une patiente de 63 ans a été traitée avec succès par la témocilline à la posologie de 2*2g/24h pour un abcès épidural cervical à *K.pneumoniae* de type BLSE. La souche avait une CMI < 4 mg/L et la témocilline représentait la seule alternative thérapeutique, la patiente ayant développée une neutropénie sous carbapénèmes [89].

Une étude rétrospective publiée en 2009 montre l'efficacité de la témocilline sur cinq des six patients ayant reçu la témocilline comme antibiothérapie de première ligne. Deux d'entre eux présentaient un urosepsis à point de départ urinaire à *Klebsiella pneumoniae* de type BLSE. Les CMI de la témocilline étaient respectivement de 4 et de 6 mg/L. Dans les 2 cas, l'ECBU et les hémocultures se sont stérilisés au bout de 4 jours [90].

Balakrishnan et *al.* ont publié deux cas de pneumopathies nosocomiales à entérobactéries de type BLSE/*AmpC* traitées par témocilline [91]. Deux autres cas de pneumopathies nosocomiales (*E.aerogenes* de type *AmpC* avec CMI à 6 mg/L et *E.coli* de type BLSE avec CMI à 12 mg/L) ont été également traités favorablement par la témocilline [90]. Notre étude prospective a montré une sensibilité de 62 % (21/34) sur les souches issues des prélèvements respiratoires. Les concentrations pulmonaires 30 min après injection de 2g i.v de témocilline sont de 45 mg/kg. Le rôle potentiel de la témocilline dans les pneumopathies à entérobactéries serait donc à étudier dans de prochaines études cliniques.

En 2011, dans une étude rétrospective anglaise, cinquante-trois patients présentant des infections urinaires (n=28), des bactériémies (n=23) et des pneumonies nosocomiales (n=2) à entérobactéries de type BLSE/*AmpC* ont été traités par la témocilline. Les succès cliniques et microbiologiques ont été respectivement de 86 % et de 84 % [91].

Dans cette étude, les succès cliniques et microbiologiques sur les bactérièmes ont été respectivement de 83 % et de 82 %. Notre étude prospective nous a permis d'isoler 11 souches de type BLSE issues de bactérièmes avec une sensibilité de 73 % (8/11) à la témocilline. Chez le volontaire sain, après administration de 2 g i.v, les pics sériques à 1h, 6h et 12h sont respectivement de 269, 47 et 16 mg/L mais ces concentrations sont à pondérer à la forte fixation protéique de la témocilline, de 63 % à la concentration de 200 mg/L. Néanmoins, la relative tolérance de la témocilline autorise des doses supérieures allant jusqu'à 6 g /24h (patient ayant une fonction rénale normale) [54]. Des études complémentaires seraient nécessaires afin de mieux étayer ces résultats cliniques.

Enfin, les guérisons cliniques et microbiologiques étaient respectivement de 93 % (26/28) et de 85 % (23/27) dans le traitement d'infections urinaires à entérobactéries de type BLSE/AmpC. La résistance des souches aux C3G ne diminuait pas les efficacités clinique et microbiologique de la témocilline. De meilleurs résultats étaient obtenus pour une posologie à 2*2 g /24H [91]. Une étude prospective française est actuellement en cours pour déterminer l'efficacité clinique de la témocilline à la posologie de 6 g /24h dans les infections urinaires à entérobactéries résistantes aux C3G. Le seuil de sensibilité choisi dans cette étude est celui utilisé au Royaume-Uni ($S \leq 32$ mg/L).

De Jongh et *al.* ont comparé la perfusion continue de la témocilline par IVSE (4 g/jour) à l'injection de 2*2 g/24h chez douze patients de réanimation. En IVSE, la concentration à l'équilibre (C_{ss}) était de 73 mg/L avec une concentration de la fraction libre (fC_{ss}) à 29 mg/L. Le temps passé au-dessus (fT>CMI) de la CMI (CMI ≤ 16 mg/L) était de 100 %. Dans le second cas, la fT>CMI (CMI ≤ 16 mg/L) était de 51 % avec un pic/résiduel de 147/12 mg/L. Mais en tenant compte des variations inter-individuelles, un seuil à 16 mg/L apparaissait à la limite acceptable à ces posologies. En 2015, Laterre et *al.* ont montré qu'à la dose de 6 g / jour, le seuil de 16 mg/L était largement acceptable [54].

Les données sur l'utilisation de la témocilline dans la prostatite sont insuffisantes, réservant ainsi cette molécule pour les cas où aucune autre alternative n'est possible.

Enfin, un effet inoculum de la témocilline a été montré *in vitro* avec des CMI multipliées par quatre en passant de 10^3 UFC/mL à 10^7 UFC/mL. Sur un modèle murin de pyélonéphrite, il n'a pas été détecté de mutants résistants [92].

AU TOTAL :

La témocilline est actuellement recommandée en France dans le traitement des pyélonéphrites à BLSE à 2*2 g / 24H après les résultats de l'antibiogramme. Le seuil retenu par le CA-SFM/EUCAST 2015 est de 8 mg/L. L'ensemble de ces données suggèrent que ce seuil pourrait être relevé à 16 mg/L (Belgique) ou à 32 mg/L (Royaume-Uni) au vu de la forte concentration urinaire de cette molécule ; La relative tolérance vis-à-vis de cette molécule permettrait ainsi d'utiliser une posologie de 6 g /24H. La témocilline est indiquée également dans les bactériémies, les infections respiratoires basses et les infections des plaies ; son utilisation dans ces indications nécessiteront d'études supplémentaires.

La relative stabilité de cette molécule vis-à-vis des entérobactéries résistantes aux C3G en fait une alternative prometteuse pour épargner les carbapénèmes.

C. LE CEFEPIME

Le céfépime est une céphalosporine dite de « 4^{ième} génération » car elle conserve son efficacité vis-à-vis des entérobactéries exprimant une céphalosporinase de haut niveau, notamment les entérobactéries du groupe 3.

Jusqu'en 2011, le CA-SFM recommandait la lecture interprétative des C3G (y compris le céfépime) et donc toutes les entérobactéries productrices de BLSE étaient catégorisées « I »

aux C3G. Mais l'émergence des carbapénémases et la nécessité d'épargner les carbapénèmes ont amené à la modification de ces recommandations. Depuis, toute souche d'entérobactérie dont la CMI à une C3G est inférieure ou égale à 1 mg/L est catégorisée « S », quelle que soit son phénotype de résistance.

Le céfépime (CMI $\leq$ 1 mg/L) est actuellement recommandé en France dans le traitement des pyélonéphrites aiguës (y compris « gravidiques ») et dans les infections urinaires masculines documentées à EBLSE, lorsque le germe est résistant aux fluoroquinolones et au cotrimoxazole.

1. SENSIBILITE *IN VITRO*

Dans notre étude prospective, la sensibilité au céfépime des souches urinaires résistantes aux C3G a été de 32 % (48/149) avec 4 % (5/95) et 78 % (43/54) de sensibilité respectivement pour les souches de type BLSE et de type non-BLSE. Le céfépime apparaît donc comme une réelle alternative dans les infections urinaires dues aux entérobactéries résistantes aux C3G par dérégulation de leur céphalosporinases chromosomiques, permettant ainsi dans certaines situations d'épargner les carbapénèmes.

Les résultats d'études de la sensibilité de souches BLSE au céfépime sont présentés dans le Tableau 18.

En France, en 2010, au CHU de Besançon, sur une série de 100 *E.coli* BLSE urinaires, Fournier et al. [57] ont étudié la sensibilité des alternatives thérapeutiques aux carbapénèmes et le céfépime avait une sensibilité de 23 %.

En 2011, Titelman et al.[61] ont étudié la sensibilité de 169 souches présentant une BLSE dans un centre hospitalier de Stockholm. La sensibilité du céfépime était de 8%. Sur la même période, en Suède, sur une série de 198 souches d'*E.coli* de type BLSE (63% de souches urinaires et 6% de souches provenant d'hémocultures), Tärnberg et al. [69] ont également montré une sensibilité au céfépime de 8%. Ces données sont comparables au taux de 9% (14/148) que nous avons trouvée sur l'ensemble de nos EBLSE. Ces taux de 8 et 9 % de sensibilité sont bien inférieurs aux 28 et 34 % de sensibilité retrouvés par une étude anglaise [93] et une étude belge [76]. Les auteurs expliquent cette différence par la présence d'une majorité de BLSE du groupe CTX-M-1 dans l'étude suédoise considérée comme moins sensible au céfépime. La caractérisation par biologie moléculaire des EBLSE collectées dans notre étude prospective pourrait apporter des éléments supplémentaires pour étayer ces différences.

Le céfépime demeure parfois la seule alternative aux carbapénèmes chez les EBSLE. Sur les quatre céphalosporines étudiées (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime et céfépime) dans une étude anglaise, 5% (9/169) des souches étaient uniquement sensibles au céfépime. Malgré un faible niveau de sensibilité, ces résultats montrent que dans certains cas, il existe des alternatives thérapeutiques aux carbapénèmes.

La sensibilité au céfépime dans notre étude été réalisée à la fois par la méthode des disques et par E-test®. Dix-neufs « erreurs majeures » ont été mises en évidence. Parmi celles-ci, trois erreurs n'auraient pas conduit à un traitement car les souches étaient catégorisées « R » par la CMI et « I » par la mesure du diamètre d'inhibition. Les seize autres souches étaient catégorisées « I » par la CMI et « S » par la mesure du diamètre d'inhibition. Dix souches avaient des diamètres de 24 à 25 mm, donc très proches du seuil ($S \geq 24$ mm) ; les autres ayant des diamètres supérieurs allant jusqu'à 31 mm. Il apparaît donc indispensable de déterminer la CMI du céfépime pour les souches résistantes aux C3G, à chaque fois que cette molécule est utilisée en thérapeutique.

ANNEE	AUTEURS	PAYS	N	ESPECES	PHENOTYPES	PRELEVEMENTS	ORIGINE	S ≤1 mg /L
2006	Rodriguez-Villalobos et al. [85]	Belgique	162	<i>E. coli</i>	BLSE	-	Hospitalière	55 (34%)
2008	Livermore et al. [93]	Royaume-Uni	380	<i>E. coli</i>	BLSE	-	Hospitalière	106 (28%)
2011	Titelman et al. [86]	Suède (centre hospitalier)	169	<i>E.coli</i> et <i>K. pneumoniae</i>	BLSE	Urinaires (n=130)	Hospitalière	13 (8%)
			dont 149	<i>E. coli</i>		Hémocultures (n=11)		12 (8%)
			dont 20	<i>K. pneumoniae</i>				1 (5%)
2011	Tärnberg et al. [69]	Suède	198	<i>E.coli</i>	BLSE	Urinaires (n=125)	-	16 (8.1%)
			dont 132			Hémocultures (n=12)		4 (3%)
			dont 55			CTX-M grp. 1		6 (10.9%)
2013	Fournier et al.[94]	France (CHU de Besançon)	100	<i>E. coli</i>	BLSE	Urinaires	Hospitalière	23 (23%)

Tableau 18 Etudes françaises et internationales récentes sur la sensibilité des entérobactéries au céfépime

2. EFFICACITE CLINIQUE

Le céfépime n'est pas hydrolysé par la céphalosporinase chromosomique hyperproduite des entérobactéries du groupe 3 et reste donc une molécule active lorsque les autres C3G (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) ne sont plus utilisables. Il empêche ou diminue le risque de sélection de ces mutants déréprimés. En revanche, il existe très peu d'études cliniques ayant évalué l'efficacité clinique du céfépime dans le traitement d'infections par des EBLSE.

Deux cas de sepsis à entérobactéries BLSE ont été décrits et traités avec succès par céfépime ($S \leq 1$ mg/L) [95]. Nous avons isolé 33 entérobactéries résistantes aux C3G à partir d'hémocultures. La sensibilité au céfépime était de 55% (18/33) avec 18 % (2/11) et 77 % (17/22) sensibilité respectivement pour les souches de type BLSE et de type *AmpC*. Ces résultats nous indiquent que dans les cas où les C3G seraient résistantes, des alternatives tel que le céfépime éviterait l'utilisation des carbapénèmes.

Labombardi et *al.* ont publié, sur une étude rétrospective, plusieurs cas de pneumonies à *E.coli* et à *K.pneumoniae* de type BLSE traités par céfépime ($CMI \leq 1$ mg/L) [95]. Zanetti et *al.* ont également montré l'efficacité du céfépime dans le traitement de pneumonies nosocomiales à EBLSE [96]. Dans notre étude prospective, parmi les 34 entérobactéries issues des prélèvements respiratoires, 23 (68%) étaient sensibles au céfépime. Ce taux de sensibilité s'explique par le fait que la majorité des souches étaient de type non-BLSE (23/34) avec une sensibilité de 96% (22/23) ; la sensibilité des souches de type BLSE était de 9% (1/11). Le céfépime permettrait ainsi d'épargner les carbapénèmes dans le traitement des pneumonies à entérobactéries résistantes aux C3G.

Une étude rétrospective taiwanaise sur la période 2002-2007 a évalué l'efficacité clinique du céfépime par rapport à un traitement par carbapénèmes. Les 472 patients inclus présentaient des infections (pneumonies, infections sur cathéter, infections urinaires, infections des tissus mous) avec une bactériémie à EBLSE. Cette étude montre que le risque d'échec thérapeutique augmente avec la CMI et qu'un traitement par céfépime ne peut être envisagé que lorsque la CMI est inférieure ou égale à 1 mg/L. L'efficacité des carbapénèmes apparaissait supérieure à celle du céfépime mais l'effectif des patients inclus traités par céfépime était trop faible pour soutenir cette conclusion [97].

AU TOTAL :

Le céfépime conserve une bonne sensibilité vis-à-vis des souches présentant une céphalosporinase de haut niveau. Son utilisation permet d'éviter ou de diminuer le risque de sélection de mutants résistants aux C3G. Son efficacité épargne ainsi les carbapénèmes. Dans les infections à EBLSE, le céfépime ne peut être utilisé que lorsque les CMI sont inférieures ou égales à 1 mg/L. Bien que le niveau de sensibilité des EBLSE au céfépime reste faible, son utilisation dans certaines situations permet d'épargner les carbapénèmes.

VIII. CONCLUSION

Les entérobactéries font partie des bactéries les plus isolées en pathologie clinique. L'utilisation croissante des β -lactamines, notamment des C3G, a favorisé l'émergence et l'expansion rapide des résistances vis-à-vis de cette famille d'antibiotiques. Ces résistances sont majoritairement le fait des β -lactamases (BLSE et céphalosporinase de haut niveau). Aujourd'hui, les carbapénèmes sont considérées comme le dernier recours thérapeutique mais leur efficacité est aujourd'hui menacée par l'expansion de nouvelles carbapénémases.

Dans cette étude prospective, nous avons confirmé qu'il existe de réelles alternatives thérapeutiques aux carbapénèmes. Parmi ces alternatives, nous avons étudié la sensibilité du mécillinam, de la témocilline et du céfépime.

La sensibilité de 89 % au mécillinam dans les infections urinaires devrait lui permettre d'être plus largement utilisé dans le traitement probabilité des cystites simples. La sensibilité des souches à la témocilline était de 62 % avec des variabilités selon le site d'isolement des entérobactéries. Dans les infections urinaires, ce taux de sensibilité pourrait être proche de 100 % si l'on retenait le seuil anglo-saxon de 32 mg/L. Une étude clinique prospective est en cours en France pour déterminer son efficacité clinique à la dose de 6 g / jour ; comme au Royaume-Uni, le seuil utilisé dans cette étude est de 32 mg/L. D'autres études cliniques seront nécessaires pour démontrer l'efficacité de la témocilline dans les infections respiratoires basses, les bactériémies et les infections des plaies. Quant au céfépime, il reste un traitement de choix sur les entérobactéries résistantes aux C3G par dérégulation de leur céphalosporinase chromosomique, sa sensibilité sur les souches de type BLSE étant très faible.

Au-delà des alternatives que nous avons étudiées, d'autres antibiotiques comme les fluoroquinolones, l'amoxicilline-clavulanate ou le triméthoprim-sulfaméthoxazole font partie de l'arsenal thérapeutique pour traiter les infections à EBLSE. De nouvelles associations d'antibiotiques de β -lactamines à des inhibiteurs (ceftaroline ou ceftazidime + avibactam ; ceftolozane + tazobactam) pourraient à l'avenir contribuer à lutte contre ces infections.

Plus que jamais, face à l'augmentation des entérobactéries résistantes aux C3G, biologistes et cliniciens devront travailler en étroite collaboration afin d'optimiser la juste prescription des antibiothérapies . La lutte contre l'émergence des carbapénémases est aujourd'hui un véritable enjeu de santé publique, un défi à relever !

IX. REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] J.-D. Cavallo, R. Fabre, F. Jehl, C. Rapp, et E. Garrabé, « Bêtalactamines », *EMC - Mal. Infect.*, vol. 1, n° 3, p. 129-202, août 2004.
- [2] C. Bertholom, « Épidémiologie des infections urinaires communautaires et nosocomiales », *Option/Bio*, vol. 27, n° 541–542, p. 23-24, avr. 2016.
- [3] F. Robin, L. Gibold, et R. Bonnet, « Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? », *Rev. Francoph. Lab.*, vol. 2012, n° 445, p. 47-58, sept. 2012.
- [4] D. C. Hooper, « Mechanisms of action and resistance of older and newer fluoroquinolones », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 31 Suppl 2, p. S24-28, août 2000.
- [5] K. Gould, « Antibiotics: from prehistory to the present day », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 71, n° 3, p. 572-575, mars 2016.
- [6] A. Philippon et G. Arlet, « β -Lactamases de bacilles à Gram négatif : le mouvement perpétuel ! », *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, vol. 64, n° 1, p. 37-51, janv. 2006.
- [7] A. Philippon, « Les bêta-lactamases à spectre élargi ou étendu (BLSE) », *Immuno-Anal. Biol. Spéc.*, vol. 28, n° 5–6, p. 287-296, oct. 2013.
- [8] E. B. Chaïbi, D. Sirot, G. Paul, et R. Labia, « Inhibitor-resistant TEM β -lactamases: phenotypic, genetic and biochemical characteristics », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 43, n° 4, p. 447-458, janv. 1999.
- [9] D. Elhani, « [The widening challenge of extended spectrum β -lactamases] », *Ann. Biol. Clin. (Paris)*, vol. 70, n° 2, p. 117-140, avr. 2012.
- [10] S. M. Drawz et R. A. Bonomo, « Three Decades of β -Lactamase Inhibitors », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 23, n° 1, p. 160-201, janv. 2010.
- [11] « β -Lactamase Classification and Amino Acid Sequences for TEM, SHV and OXA Extended-Spectrum and Inhibitor Resistant Enzymes ». [En ligne]. Disponible sur: <http://www.lahey.org/Studies/>. [Consulté le: 01-sept-2016].
- [12] Y. Matsumoto, F. Ikeda, T. Kamimura, Y. Yokota, et Y. Mine, « Novel plasmid-mediated beta-lactamase from Escherichia coli that inactivates oxyimino-cephalosporins. », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 32, n° 8, p. 1243-1246, août 1988.
- [13] N. Datta et P. Kontomichalou, « Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae », *Nature*, vol. 208, n° 5007, p. 239-241, oct. 1965.
- [14] S. Hæggman, S. Löfdahl, A. Paauw, J. Verhoef, et S. Brisse, « Diversity and Evolution of the Class A Chromosomal Beta-Lactamase Gene in Klebsiella pneumoniae », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, n° 7, p. 2400-2408, juill. 2004.
- [15] T. Naas, L. Poirel, et P. Nordmann, « Minor extended-spectrum β -lactamases », *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 14, Supplement 1, p. 42-52, janv. 2008.
- [16] A. Philippon, G. Arlet, et G. A. Jacoby, « Plasmid-Determined AmpC-Type β -Lactamases », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 46, n° 1, p. 1-11, janv. 2002.
- [17] P. Nordmann et A. Carrer, « Les carbapénèmes des entérobactéries », *Arch. Pédiatrie*, vol. 17, Supplement 4, p. S154-S162, sept. 2010.
- [18] P. Courvalin et R. Leclercq, *Antibiogramme*. Éd. Eska, 2012.
- [19] C. Neuwirth, E. Siébor, J.-M. Duez, A. Péchinot, et A. Kazmierczak, « Imipenem resistance in clinical isolates of Proteus mirabilis associated with alterations in penicillin-binding proteins », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 36, n° 2, p. 335-342, janv. 1995.

- [20] F. Jehl, A. Chabaud, et A. Grillon, « L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? », *J. Anti-Infect.*, vol. 17, n° 4, p. 125-139, déc. 2015.
- [21] D. M. Livermore, « beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 8, n° 4, p. 557-584, oct. 1995.
- [22] L. Drieux, F. Brossier, W. Sougakoff, et V. Jarlier, « Phenotypic detection of extended-spectrum β -lactamase production in Enterobacteriaceae: review and bench guide », *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 14, Supplement 1, p. 90-103, janv. 2008.
- [23] E. Stürenburg, I. Sobottka, D. Noor, R. Laufs, et D. Mack, « Evaluation of a new cefepime–clavulanate ESBL Etest to detect extended-spectrum β -lactamases in an Enterobacteriaceae strain collection », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 54, n° 1, p. 134-138, janv. 2004.
- [24] J.-P. Lavigne, C. Pfeiffer, L. Vidal, et A. Sotto, « Rapid detection of multidrug resistant Gram-negative bacilli by Cica-Beta-Test strips », *Pathol. Biol.*, vol. 59, n° 1, p. e7-e11, févr. 2011.
- [25] A. Renvoisé, D. Decré, R. Amarsy-Guerle, T.-D. Huang, C. Jost, I. Podglajen, L. Raskine, N. Genel, P. Bogaerts, V. Jarlier, et G. Arlet, « Evaluation of the β Lacta Test, a Rapid Test Detecting Resistance to Third-Generation Cephalosporins in Clinical Strains of Enterobacteriaceae », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 51, n° 12, p. 4012-4017, déc. 2013.
- [26] D. L. Paterson, W.-C. Ko, A. Von Gottberg, J. M. Casellas, L. Mulazimoglu, K. P. Klugman, R. A. Bonomo, L. B. Rice, J. G. McCormack, et V. L. Yu, « Outcome of Cephalosporin Treatment for Serious Infections Due to Apparently Susceptible Organisms Producing Extended-Spectrum β -Lactamases: Implications for the Clinical Microbiology Laboratory », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 39, n° 6, p. 2206-2212, juin 2001.
- [27] F. P. Maurer, P. Courvalin, E. C. Böttger, et M. Hombach, « Integrating Forecast Probabilities in Antibiograms: a Way To Guide Antimicrobial Prescriptions More Reliably? », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 52, n° 10, p. 3674-3684, oct. 2014.
- [28] M. Gniadkowski, I. Schneider, A. Pałucha, R. Jungwirth, B. Mikiewicz, et A. Bauernfeind, « Cefotaxime-Resistant Enterobacteriaceae Isolates from a Hospital in Warsaw, Poland: Identification of a New CTX-M-3 Cefotaxime-Hydrolyzing β -Lactamase That Is Closely Related to the CTX-M-1/MEN-1 Enzyme », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 42, n° 4, p. 827-832, avr. 1998.
- [29] A. Valverde, T. M. Coque, M. P. Sánchez-Moreno, A. Rollán, F. Baquero, et R. Cantón, « Dramatic Increase in Prevalence of Fecal Carriage of Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae during Nonoutbreak Situations in Spain », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 42, n° 10, p. 4769-4775, oct. 2004.
- [30] F. Luzzaro, M. Mezzatesta, C. Mugnaioli, M. Perilli, S. Stefani, G. Amicosante, G. M. Rossolini, et A. Toniolo, « Trends in Production of Extended-Spectrum β -Lactamases among Enterobacteria of Medical Interest: Report of the Second Italian Nationwide Survey », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 44, n° 5, p. 1659-1664, mai 2006.
- [31] P. D. A. Bauernfeind, M. Holley, R. Jungwirth, P. Mangold, T. Röhnisch, S. Schweighart, R. Wilhelm, P. D. J. M. Casellas, et D. M. Goldberg, « A new plasmidic cefotaximase from patients infected with *Salmonella typhimurium* », *Infection*, vol. 20, n° 3, p. 158-163, mai 1992.
- [32] L. Pallecchi, A. Bartoloni, C. Fiorelli, A. Mantella, T. Di Maggio, H. Gamboa, E. Gotuzzo, G. Kronvall, F. Paradisi, et G. M. Rossolini, « Rapid Dissemination and Diversity of CTX-M Extended-Spectrum β -Lactamase Genes in Commensal *Escherichia coli* Isolates from Healthy Children from Low-Resource Settings in Latin America », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 51, n° 8, p. 2720-2725, août 2007.

- [33] E. Ruppé, S. Hem, S. Lath, V. Gautier, F. Arieu, J.-L. Sarthou, D. Monchy, et G. Arlet, « CTX-M β -Lactamases in *Escherichia coli* from Community-acquired Urinary Tract Infections, Cambodia », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 15, n° 5, p. 741-748, mai 2009.
- [34] E. Ruppé, P.-L. Woerther, A. Diop, A.-M. Sene, A. Da Costa, G. Arlet, A. Andreumont, et B. Rouvereux, « Carriage of CTX-M-15-Producing *Escherichia coli* Isolates among Children Living in a Remote Village in Senegal », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 53, n° 7, p. 3135-3137, juill. 2009.
- [35] T. Andriatahina, F. Randrianirina, E. R. Hariniana, A. Talarmin, H. Raobijaona, Y. Buisson, et V. Richard, « High prevalence of fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric unit in Madagascar », *BMC Infect. Dis.*, vol. 10, p. 204, juill. 2010.
- [36] R. Friedmann, D. Raveh, E. Zartzer, B. Rudensky, E. Broide, D. Attias, et A. M. Yinnon, « Prospective evaluation of colonization with extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing enterobacteriaceae among patients at hospital admission and of subsequent colonization with ESBL-producing enterobacteriaceae among patients during hospitalization », *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 30, n° 6, p. 534-542, juin 2009.
- [37] A. A. Kader, A. Kumar, et K. A. Kamath, « Fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in patients and asymptomatic healthy individuals », *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 28, n° 9, p. 1114-1116, sept. 2007.
- [38] C. Quentin, C. Arpin, V. Dubois, C. André, I. Lagrange, I. Fischer, J.-P. Brochet, F. Grobost, J. Jullin, B. Dutilh, G. Larribet, et P. Noury, « Antibiotic Resistance Rates and Phenotypes Among Isolates of Enterobacteriaceae in French Extra-Hospital Practice », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 23, n° 3, p. 185-193, févr. 2004.
- [39] C. Arpin, C. Quentin, F. Grobost, E. Cambau, J. Robert, V. Dubois, L. Coulanges, et C. André, « Nationwide survey of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in the French community setting », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 63, n° 6, p. 1205-1214, janv. 2009.
- [40] D. Vodovar, G. Marcadé, L. Raskine, I. Malissin, et B. Mégarbane, « Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention », *Rev. Médecine Interne*, vol. 34, n° 11, p. 687-693, nov. 2013.
- [41] A. P. Johnson, M. J. Weinbren, B. Ayling-Smith, S. K. Du Bois, S. G. B. Amyes, et R. C. George, « Outbreak of infection in two UK hospitals caused by a strain of *Klebsiella pneumoniae* resistant to cefotaxime and ceftazidime », *J. Hosp. Infect.*, vol. 20, n° 2, p. 97-103, févr. 1992.
- [42] H. Mammeri, G. Laurans, M. Eveillard, S. Castelain, et F. Eb, « Coexistence of SHV-4- and TEM-24-producing *Enterobacter aerogenes* strains before a large outbreak of TEM-24-producing strains in a French hospital », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 39, n° 6, p. 2184-2190, juin 2001.
- [43] E. Ruppé, « Épidémiologie des bêta-lactamases à spectre élargi : l'avènement des CTX-M », *Antibiotiques*, vol. 12, n° 1, p. 3-16, mars 2010.
- [44] B. G. Spratt, « The mechanism of action of mecillinam », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 3, n° suppl B, p. 13-19, janv. 1977.
- [45] Å. Sullivan, C. Edlund, et C. E. Nord, « Effect of antimicrobial agents on the ecological balance of human microflora », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 1, n° 2, p. 101-114, sept. 2001.
- [46] « Mecillinam: a low-risk antimicrobial agent for induction of *Clostridium difficile* infection in an in vitro human gut model ». [En ligne]. Disponible sur : <http://jac.oxfordjournals.org/content/63/4/838.long>. [Consulté le: 12-juin-2016].

- [47] Å. Sullivan, A. Fianu-Jonasson, B.-M. Landgren, et C. E. Nord, « Ecological Effects of Perorally Administered Pivmecillinam on the Normal Vaginal Microflora », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 49, n° 1, p. 170-175, janv. 2005.
- [48] B. Hampel, M. Feike, P. Koeppe, et H. Lode, « Pharmacokinetics of temocillin in volunteers », *Drugs*, vol. 29 Suppl 5, p. 99-102, 1985.
- [49] B. Slocombe, M. J. Basker, P. H. Bentley, J. P. Clayton, M. Cole, K. R. Comber, R. A. Dixon, R. A. Edmondson, D. Jackson, D. J. Merrikin, et R. Sutherland, « BRL 17421, a novel beta-lactam antibiotic, highly resistant to beta-lactamases, giving high and prolonged serum levels in humans. », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 20, n° 1, p. 38-46, janv. 1981.
- [50] D. Overbosch, C. van Gulpen, et H. Mattie, « Renal clearance of temocillin in volunteers », *Drugs*, vol. 29 Suppl 5, p. 128-134, 1985.
- [51] W. A. Craig, « Basic pharmacodynamics of antibacterials with clinical applications to the use of beta-lactams, glycopeptides, and linezolid », *Infect. Dis. Clin. North Am.*, vol. 17, n° 3, p. 479-501, sept. 2003.
- [52] O. Brückner, M. Trautmann, et K. Borner, « A study of the penetration of temocillin in the cerebrospinal fluid », *Drugs*, vol. 29 Suppl 5, p. 162-166, 1985.
- [53] R. D. Jongh, R. Hens, V. Basma, J. W. Mouton, P. M. Tulkens, et S. Carryn, « Continuous versus intermittent infusion of temocillin, a directed spectrum penicillin for intensive care patients with nosocomial pneumonia: stability, compatibility, population pharmacokinetic studies and breakpoint selection », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 61, n° 2, p. 382-388, janv. 2008.
- [54] P.-F. Laterre, X. Wittebole, S. Van de Velde, A. E. Muller, J. W. Mouton, S. Carryn, P. M. Tulkens, et T. Dugernier, « Temocillin (6 g daily) in critically ill patients: continuous infusion versus three times daily administration », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 70, n° 3, p. 891-898, mars 2015.
- [55] H. W. Mittermayer, « Influence of temocillin on human bowel flora », *Drugs*, vol. 29 Suppl 5, p. 43-48, 1985.
- [56] R. J. Boon et A. S. Beale, « Studies with temocillin in a hamster model of antibiotic-associated colitis. », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 27, n° 6, p. 980-981, janv. 1985.
- [57] D. Fournier, C. Chirouze, J. Leroy, P. Cholley, D. Talon, P. Plésiat, et X. Bertrand, « Alternatives to carbapenems in ESBL-producing *Escherichia coli* infections », *Médecine Mal. Infect.*, vol. 43, n° 2, p. 62-66, févr. 2013.
- [58] H. Illes et C. Chirouze, « Résistance au mécilinam des souches urinaires d'*Escherichia coli* productrices de BLSE », *JNI 2015 – Nancy– 10 au 12 juin 2015*.
- [59] C. Duployez, C. Loiez, C. Cattoen, F. Wallet, et A. Vachée, « BMR-01 - Sensibilité in vitro d'*Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* producteurs de BLSE aux antibiotiques proposés en alternative aux carbapénèmes dans la prise en charge des infections urinaires », *Médecine Mal. Infect.*, vol. 46, n° 4, Supplement 1, p. 24, juin 2016.
- [60] M. Wootton, T. R. Walsh, L. Macfarlane, et R. A. Howe, « Activity of mecillinam against *Escherichia coli* resistant to third-generation cephalosporins », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 65, n° 1, p. 79-81, janv. 2010.
- [61] E. Titelman, A. Iversen, G. Kahlmeter, et C. G. Giske, « Antimicrobial susceptibility to parenteral and oral agents in a largely polyclonal collection of CTX-M-14 and CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* », *APMIS*, vol. 119, n° 12, p. 853-863, déc. 2011.

- [62] A. Deshpande, T. Inkster, A. Speekenbrink, et L. Cottom, « Susceptibility of Gram-negative urinary tract isolates to mecillinam in a large Glasgow teaching hospital », *J. Glob. Antimicrob. Resist.*, vol. 1, n° 1, p. 47-48, mars 2013.
- [63] C. G. Giske, « Contemporary resistance trends and mechanisms for the old antibiotics colistin, temocillin, fosfomycin, mecillinam and nitrofurantoin », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 21, n° 10, p. 899-905, oct. 2015.
- [64] W. Sougakoff et V. Jarlier, « Comparative potency of mecillinam and other beta-lactam antibiotics against *Escherichia coli* strains producing different beta-lactamases », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 46 Suppl 1, p. 9-14-65, sept. 2000.
- [65] G. C. Schito, K. G. Naber, H. Botto, J. Palou, T. Mazzei, L. Gualco, et A. Marchese, « The ARESC study: an international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 34, n° 5, p. 407-413, nov. 2009.
- [66] G. Kahlmeter et H. O. Poulsen, « Antimicrobial susceptibility of *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections in Europe: the ECO·SENS study revisited », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 39, n° 1, p. 45-51, janv. 2012.
- [67] M. Etienne, E. Lefebvre, N. Frebourg, H. Hamel, M. Pestel-Caron, et F. Caron, « Antibiotic treatment of acute uncomplicated cystitis based on rapid urine test and local epidemiology: lessons from a primary care series », *BMC Infect. Dis.*, vol. 14, p. 137, mars 2014.
- [68] S. Auer, A. Wojna, et M. Hell, « Oral Treatment Options for Ambulatory Patients with Urinary Tract Infections Caused by Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 54, n° 9, p. 4006-4008, janv. 2010.
- [69] M. Tärnberg, Å. Östholm-Balkhed, H.-J. Monstein, A. Hällgren, H. Hanberger, et L. E. Nilsson, « In vitro activity of beta-lactam antibiotics against CTX-M-producing *Escherichia coli* », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 30, n° 8, p. 981-987, févr. 2011.
- [70] I. N. Zikov, A. Sundsfjord, L. Småbrekke, et Ø. Samuelsen, « The antimicrobial activity of mecillinam, nitrofurantoin, temocillin and fosfomycin and comparative analysis of resistance patterns in a nationwide collection of ESBL-producing *Escherichia coli* in Norway 2010–2011 », *Infect. Dis.*, vol. 48, n° 2, p. 99-107, févr. 2016.
- [71] « Emerging clinical role of pivmecillinam in the treatment of urinary tract infection in the context of multidrug-resistant bacteria ». [En ligne]. Disponible sur: <http://jac.oxfordjournals.org/content/69/2/303.long>. [Consulté le: 12-juin-2016].
- [72] null Nicolle, « Pivmecillinam in the treatment of urinary tract infections », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 46 Suppl A, p. 35-39, août 2000.
- [73] W. Graninger, « Pivmecillinam--therapy of choice for lower urinary tract infection », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 22 Suppl 2, p. 73-78, oct. 2003.
- [74] L. E. Nicolle et M. R. Mulvey, « Successful treatment of ctx-m ESBL producing *Escherichia coli* relapsing pyelonephritis with long term pivmecillinam », *Scand. J. Infect. Dis.*, vol. 39, n° 8, p. 748-749, janv. 2007.
- [75] F. Jansåker, N. Frimodt-Møller, I. Sjögren, et J. D. Knudsen, « Clinical and bacteriological effects of pivmecillinam for ESBL-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumoniae* in urinary tract infections », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 69, n° 3, p. 769-772, janv. 2014.
- [76] A. Søråas, A. Sundsfjord, S. B. Jørgensen, K. Liestøl, et P. A. Jenum, « High rate of per oral mecillinam treatment failure in community-acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing *Escherichia coli* », *PloS One*, vol. 9, n° 1, p. e85889, 2014.

- [77] E. Titelman, A. Iversen, M. Kalin, et C. G. Giske, « Efficacy of pivmecillinam for treatment of lower urinary tract infection caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* », *Microb. Drug Resist. Larchmt. N*, vol. 18, n° 2, p. 189-192, avr. 2012.
- [78] D. M. Livermore, R. Hope, S. Mushtaq, et M. Warner, « Orthodox and unorthodox clavulanate combinations against extended-spectrum beta-lactamase producers », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 14 Suppl 1, p. 189-193, janv. 2008.
- [79] Y. Glupczynski, T.-D. Huang, C. Berhin, G. Claeys, M. Delmée, L. Ide, G. Ieven, D. Pierard, H. Rodriguez-Villalobos, M. Struelens, et J. Vaneldere, « In vitro activity of temocillin against prevalent extended-spectrum beta-lactamases producing Enterobacteriaceae from Belgian intensive care units », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 26, n° 11, p. 777-783, août 2007.
- [80] SPILF, « Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte ». 2015.
- [81] B. Nicolas, L. Amoureux, A. Péchinot, A. Chapuis, J. Bador, S. Aho, L. Piroth, C. Neuwirth, et C. de Curraize, « BMR-02 - Étude de la sensibilité à la témocilline chez les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi isolées des urines et facteurs de risque de résistance liés au patient », *Médecine Mal. Infect.*, vol. 46, n° 4, Supplement 1, p. 24, juin 2016.
- [82] D. M. Livermore, R. Hope, E. J. Fagan, M. Warner, N. Woodford, et N. Potz, « Activity of temocillin against prevalent ESBL- and AmpC-producing Enterobacteriaceae from south-east England », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 57, n° 5, p. 1012-1014, janv. 2006.
- [83] M.-R. Seo, S.-J. Kim, Y. Kim, J. Kim, T. Y. Choi, J. O. Kang, S.-H. Wie, M. Ki, Y. K. Cho, S.-K. Lim, J. S. Lee, K. T. Kwon, H. Lee, H. J. Cheong, D. W. Park, S. Y. Ryu, M.-H. Chung, et H. Pai, « Susceptibility of *Escherichia coli* from Community-Acquired Urinary Tract Infection to Fosfomycin, Nitrofurantoin, and Temocillin in Korea », *J. Korean Med. Sci.*, vol. 29, n° 8, p. 1178-1181, août 2014.
- [84] G. L. Vanstone, R. Dilley, S. Schwenk, A. Williams, et I. Balakrishnan, « Temocillin disc diffusion susceptibility testing by EUCAST methodology », *J. Antimicrob. Chemother.*, p. dkt248, juill. 2013.
- [85] H. Rodriguez-Villalobos, V. Malaviolle, J. Frankard, R. de Mendonça, C. Nonhoff, et M. J. Struelens, « In vitro activity of temocillin against extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 57, n° 4, p. 771-774, janv. 2006.
- [86] E. Titelman, A. Iversen, G. Kahlmeter, et C. G. Giske, « Antimicrobial susceptibility to parenteral and oral agents in a largely polyclonal collection of CTX-M-14 and CTX-M-15-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* », *APMIS Acta Pathol. Microbiol. Immunol. Scand.*, vol. 119, n° 12, p. 853-863, déc. 2011.
- [87] H. W. Asbach, E. Becker-Boost, et M. D. Melekos, « Clinical evaluation of temocillin in urinary tract infections », *Drugs*, vol. 29 Suppl 5, p. 175-177, 1985.
- [88] J. Kosmidis, « The treatment of complicated and uncomplicated urinary tract infections with temocillin », *Drugs*, vol. 29 Suppl 5, p. 172-174, 1985.
- [89] E. Barton, P. Flanagan, et S. Hill, « Spinal infection caused by ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* treated with Temocillin », *J. Infect.*, vol. 57, n° 4, p. 347-349, oct. 2008.
- [90] N. D. Gupta, R. E. Smith, et I. Balakrishnan, « Clinical efficacy of temocillin », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 64, n° 2, p. 431-433, janv. 2009.

- [91] I. Balakrishnan, F. M. Awad-El-Kariem, A. Aali, P. Kumari, R. Mulla, B. Tan, D. Brudney, D. Ladenheim, A. Ghazy, I. Khan, N. Virgincar, S. Iyer, S. Carryn, et S. V. de Velde, « Temocillin use in England: clinical and microbiological efficacies in infections caused by extended-spectrum and/or derepressed AmpC β -lactamase-producing Enterobacteriaceae », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 66, n° 11, p. 2628-2631, janv. 2011.
- [92] J. F. Soubirou, B. Rossi, C. Couffignal, E. Ruppé, F. Chau, L. Massias, R. Lepeule, F. Mentre, et B. Fantin, « Activity of temocillin in a murine model of urinary tract infection due to *Escherichia coli* producing or not producing the ESBL CTX-M-15 », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 70, n° 5, p. 1466-1472, mai 2015.
- [93] D. M. Livermore, R. Hope, S. Mushtaq, et M. Warner, « Orthodox and unorthodox clavulanate combinations against extended-spectrum β -lactamase producers », *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 14, p. 189-193, janv. 2008.
- [94] D. Fournier, C. Chirouze, J. Leroy, P. Cholley, D. Talon, P. Plésiat, et X. Bertrand, « Alternatives to carbapenems in ESBL-producing *Escherichia coli* infections », *Médecine Mal. Infect.*, vol. 43, n° 2, p. 62-66, févr. 2013.
- [95] V. J. Labombardi, A. Rojzman, et K. Tran, « Use of cefepime for the treatment of infections caused by extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* », *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 56, n° 3, p. 313-315, nov. 2006.
- [96] G. Zanetti, F. Bally, G. Greub, J. Garbino, T. Kinge, D. Lew, J.-A. Romand, J. Bille, D. Aymon, L. Stratchounski, L. Krawczyk, E. Rubinstein, M.-D. Schaller, R. Chiolerio, M.-P. Glauser, et A. Cometta, « Cefepime versus Imipenem-Cilastatin for Treatment of Nosocomial Pneumonia in Intensive Care Unit Patients: a Multicenter, Evaluator-Blind, Prospective, Randomized Study », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 47, n° 11, p. 3442-3447, nov. 2003.
- [97] N.-Y. Lee, C.-C. Lee, W.-H. Huang, K.-C. Tsui, P.-R. Hsueh, et W.-C. Ko, « Cefepime therapy for monomicrobial bacteremia caused by cefepime-susceptible extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: MIC matters », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 56, n° 4, p. 488-495, févr. 2013.

X. RESUME

Titre : ENTEROBACTERIES RESISTANTES AUX CEPHALOSPORINES DE 3^{EME} GENERATION : QUELLES ALTERNATIVES AUX CARBAPENEMES ? Etude prospective de la sensibilité *in vitro* du céfépime, du mécilinam et de la témocilline au CHU de Poitiers

Objet : Détermination de la sensibilité *in vitro* au céfépime, au mécilinam et à la témocilline des entérobactéries résistantes aux C3G au CHU de Poitiers.

Méthodes : Etude prospective réalisée de septembre 2015 à mars 2016 au CHU de Poitiers sur toutes les entérobactéries résistantes à au moins une céphalosporine de troisième génération (cefotaxime, ceftriaxone ou ceftazidime) sur tout type de prélèvements cliniques. Les sensibilités au mécilinam, au céfépime et à la témocilline ont été déterminées par la méthode des disques et par la réalisation de E-test® en diffusion sur milieu gélosé (CA-SFM/EUCAST 2015).

Résultats : Nous avons collecté 282 souches d'entérobactéries dont 148 (52%) étaient de type BLSE ; *E.coli* (44%) était l'espèce majoritaire. Les taux de sensibilité à la témocilline, au mécilinam et au céfépime étaient respectivement de 62 %, 84 % et 45 %. Parmi les 149 souches urinaires, les taux de sensibilité à la témocilline et au mécilinam étaient respectivement de 62 % et de 89 %. La sensibilité au céfépime était de 82 % sur les souches de type non-BLSE et de 9 % sur les EBLSE.

Conclusion : Les résistances des entérobactéries aux C3G sont en constante augmentation et épargner les carbapénèmes devient une nécessité pour éviter l'émergence des carbapénémases. Le céfépime, le mécilinam et la témocilline représentent de réelles alternatives thérapeutiques pour traiter les infections à entérobactéries résistantes aux C3G. L'utilisation clinique de ces molécules nécessite un dialogue clinico-biologique afin d'individualiser la thérapeutique de chaque patient.

Mots-clés : entérobactéries, résistances aux C3G, BLSE, céphalosporinase, mécilinam, témocilline, céfépime

SERMENT DE GALIEN

~~~~~

Je jure, en présence des maîtres de la faculté et de mes condisciples :

**D'honorer** ceux qui m'ont instruit dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle à leur enseignement.

**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 l'honneur, de la probité et du désintéressement.

**De ne jamais oublier** ma responsabilité, mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine, de respecter le secret professionnel.

**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 d'opprobre et méprisé** de mes confrères si j'y manque.

## Résumé et mots clés

**Objet :** Détermination de la sensibilité *in vitro* au céfépime, au mécillinam et à la témocilline des entérobactéries résistantes aux C3G au CHU de Poitiers.

**Méthodes :** Etude prospective réalisée de septembre 2015 à mars 2016 au CHU de Poitiers sur toutes les entérobactéries résistantes à au moins une céphalosporine de troisième génération (cefotaxime, ceftriaxone ou ceftazidime) sur tout type de prélèvements cliniques. Les sensibilités au mécillinam, au céfépime et à la témocilline ont été déterminées par la méthode des disques et par la réalisation de CMI en diffusion sur milieu gélosé (CA-SFM/EUCAST 2015).

**Résultats :** Nous avons collecté 282 souches d'entérobactéries dont 148 (52%) étaient de type BLSE ; *E.coli* (44%) était l'espèce majoritaire. Les taux de sensibilité à la témocilline, au mécillinam et au céfépime étaient respectivement de 62 %, 84 % et 45 %. Parmi les 149 souches urinaires, les taux de sensibilité à la témocilline et au mécillinam étaient respectivement de 62 % et de 89 %. La sensibilité au céfépime était de 82 % sur les souches de type non-BLSE et de 9% sur les EBLSE.

**Conclusion :** Les résistances des entérobactéries aux C3G sont en constante augmentation et épargner les carbapénèmes devient une nécessité pour éviter l'émergence des carbapénémases. Le céfépime, le mécillinam et la témocilline représentent de réelles alternatives thérapeutiques pour traiter les infections à entérobactéries résistantes aux C3G. L'utilisation clinique de ces molécules nécessite un dialogue clinico-biologique afin d'individualiser la thérapeutique de chaque patient.

**Mots-clés :** entérobactéries, résistances aux C3G, BLSE, céphalosporinase, mécillinam, témocilline, céfépime