

# Mode d'évaluation de l'Activité Antibactérienne

➤ Dans quel cas est-il nécessaire de tester *in vitro* la sensibilité d'une bactérie donnée responsable d'une infection à un traitement antibiotique administré aux patients infectés, et avec quels paramètres est-il possible de déterminer la sensibilité de la bactérie à l'antibiotique ? (plus long le titre stp)

La réponse à cette question dépend du **type d'infection bactérienne**. Schématiquement on peut en distinguer deux :

Les **infections stéréotypées** : l'antibiotique administré est **toujours ou souvent efficace**. Par exemple l'angine à *Streptococcus pyogenes*, on sait que ce germe est toujours sensible à l'amoxicilline. De même dans le cas des infections bactériennes basses non compliquées de la jeune femme, le traitement antibiotique recommandé est **souvent efficace**. Dans ces situations d'infections stéréotypées il n'est **pas nécessaire de tester in vitro** l'efficacité de l'antibiotique.

Les **infections graves ou compliquées** (systémiques, méningites, pneumonie ou si échec du traitement antibiotique) : à partir du prélèvement, il sera nécessaire d'**isoler la bactérie** et **tester in vitro l'antibiotique** pour s'assurer de son efficacité.

## ++ RÉCAP ++

**Infections stéréotypées** : pas de test in vitro

**Infections graves** : test in vitro

⚖ Par quelles méthodes détermine-t-on l'efficacité d'un antibiotique in vitro ?

La première méthode c'est celui de la **concentration minimale inhibitrice (CMI)**. C'est une **méthode de référence** qui est réalisée en milieu liquide que l'on constitue et dans lequel on va mettre une **concentration** de bactéries à raison de **10<sup>6</sup> unités formant colonie (UFC)** par millilitre que l'on répartit dans des tubes contenant préalablement une **concentration décroissante d'antibiotiques de raison 2** (Ici de 256 mg/L à 0,125 mg/L avec également un tube témoin sans antibiotique).

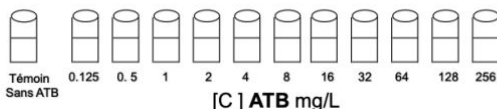
### Concentration Minimale Inhibitrice d'un antibiotique = CMI

#### Technique de référence en milieu liquide

Milieu de culture liquide + concentration de bactérie (10<sup>6</sup> UFC /ml)  
+ Contenant antibiotique (mg/L) à des concentrations décroissantes de raison 2

T=0

Milieu clair à l'œil nu

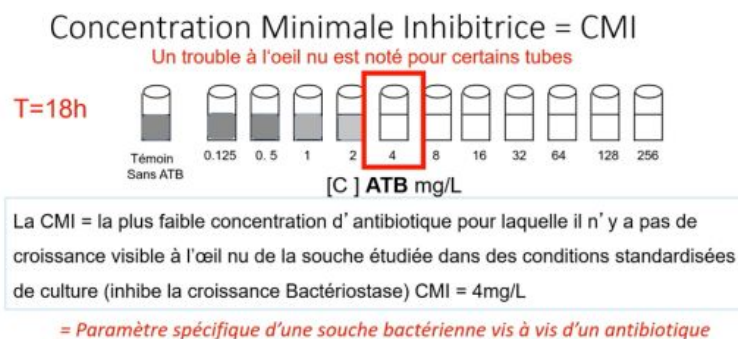


En gros c'est comme les petites expériences de chimie au lycée, on a dans chaque tube une concentration fixe de bactéries puis une concentration en antibiotiques qui part de 0 (tube témoin) et qu'on multiplie par 2 de tube en tube.

Bon alors à ce stade, tous les tubes sont **complètement limpides**. Mais que se passe-t-il si on les met **18h à 37°C** ?

On voit d'abord dans le tube témoin un **trouble** qui traduit une **pousse bactérienne** (c'est normal y'avait pas d'antibio dedans), dans plusieurs tubes autres que le témoin, on voit aussi une pousse bactérienne et dans d'autres on voit une culture qui **reste complètement limpide**.

La **CONCENTRATION MINIMALE INHIBITRICE** est en fait la plus faible concentration d'antibiotique pour laquelle il n'y a **pas de croissance visible à l'œil nu** dans des **conditions standardisées** de culture. +++



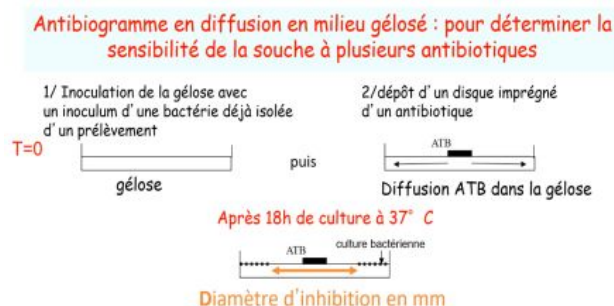
Dans le cas de la souche bactérienne présentée sur l'image le CMI est à 4 mg.

Cette CMI est un paramètre **spécifique d'une souche bactérienne vis-à-vis d'un antibiotique**. En pratique si on veut déterminer la CMI de plusieurs antibiotiques pour une souche bactérienne la réalisation sera **très chronophage**.

Une méthode plutôt **préconisée et choisie** dans les laboratoires est l'**antibiogramme en diffusion sur milieu gélosé**. Cette technique permet de tester plus facilement plusieurs antibiotiques pour une **même souche** donnée et est adaptée pour des laboratoires diagnostiquant **plusieurs infections**.

Mais enfin, comment ça marche??

On dispose de **gélose** et de la **souche bactérienne responsable de l'infection**. Cette dernière va être mise en **suspension** puis être **étalée** grâce à un coton-tige sur la gélose sur laquelle on dispose ensuite des **disques d'antibiotiques**. Ceux-ci vont rapidement **diffuser dans la gélose selon un gradient**. **Plus on s'éloigne, plus la concentration est faible** et plus on se rapproche du disque plus la concentration est élevée.



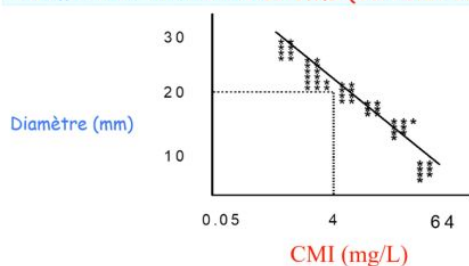
Si on mesure le diamètre d'inhibition et la CMI en différents points pour une souche donnée on va s'apercevoir qu'il y a une **corrélation inverse** entre le **diamètre en millimètre** et la **CMI en mg/L**. Pour une souche donnée par exemple qui a une CMI à 4 on aura un diamètre d'inhibition de 20mm.

### ++ À RETENIR ++

**Plus le diamètre est élevé plus la CMI va être basse.**

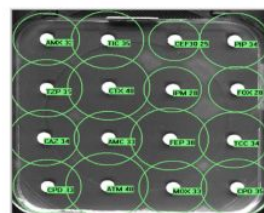
Inversement, **plus le diamètre est petit, plus la CMI va être élevée.**

Courbe de corrélation entre diamètre d'inhibition et CMI (corrélation inverse)



Antibiogramme en milieu gélosé permet de tester plusieurs antibiotiques jusqu'à 16 antibiotiques

Estimation de la CMI à partir du diamètre



AMX= Amoxicilline  
TIC= Ticarcilline  
CEF= Cefalotine  
PIP= Piperacilline  
TZP= Piperacilline + Tazobactam  
CTX= Cefotaxime  
IPM= Imipenem  
FOX= Cefoxitine  
CAZ= Cefazidime  
AMC= Augmentin  
FEP= Cefépime  
TCC= Ticarcilline + acide clavulanique

Dans certaines situations cliniques compliquées, d'**infections compliquées** ou **systématiquement** pour certaines espèces bactériennes, il n'y a **pas vraiment de bonne relation entre diamètre et CMI**. Dans ces situations on utilisera la **méthode de référence en milieu liquide** (celle qu'on a vu avant) mais on peut depuis quelques années le faire aussi par **bandelettes de CMI**.

Elles sont composées d'une **bandelette graduée et imprégnée d'un gradient d'antibiotique**. On vient la déposer sur la gélose préalablement ensemencée avec la bactérie puis on met l'ensemble à **37° pendant 18h**. Une **pousse bactérienne** tout autour de la bandelette apparaît **sauf à l'endroit où on pourra déterminer la CMI** qui pourra être lue **directement sur la bandelette** qui est graduée.

*Streptococcus pneumoniae* CMI CEFOTAXIME (E-test)

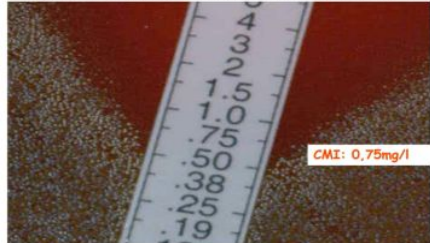


Image d'un *Streptococcus pneumoniae* avec la détermination de sa CMI à cefotaxime qui est à 0,75 mg. Si on agrandit on voit qu'à 0.75 mg/L y a pas de pousse bactérienne et donc la CMI est à 0,75mg/mL.

Souche de *Streptococcus pneumoniae* isolée de l'expectoration de Monsieur Dupont CMI céfotaxime (Etest)



Il existe une **excellente concordance** entre la méthode de référence et cette méthode en bandelette qui est **très souvent utilisée en routine** de laboratoire.

### ++ RÉCAP des 3 MÉTHODES ++

- \* Méthode de Référence en Milieu Liquide avec la CMI
- \* AntibioGramme en Diffusion en Milieu Gélosé
- \* Bandelettes de CMI

➤ **Quel est le lien entre le diamètre d'inhibition ou une concentration inhibitrice (valeurs objectives) et la prédiction qu'un traitement antibio est efficace ?**

C'est un ensemble d'études qui permettra de le prédire, des études :

- \* **Pharmacocinétiques**
- \* **Microbiologiques** : on va tester plusieurs souches d'une même espèce dans des **situations cliniques** différentes, des **régions** différentes pour déterminer la **CMI et le diamètre**
- \* **Cliniques** : à partir des diamètres obtenus on déterminera des diamètres **critiques** et des **concentrations critiques** pour catégoriser l'antibiotique en efficace ou non.

Le compromis entre les différentes études est réalisé par le **Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM)** et maintenant par l'**EUCAST** qui a apprécié ce type de démarche qui est en France depuis très longtemps. Ils déterminent ces concentrations critiques ce qui permet de réaliser une catégorisation clinique pour les antibiotiques.

Pour une infection bactérienne à *Escherichia coli* vous aurez le résultat des antibiotiques en **S, I ou R** :

S = Sensible	R = Résistant	I = Intermédiaire
Probabilité de <b>succès thérapeutique acceptable</b>	<b>Forte probabilité d'échec thérapeutique</b>	Succès thérapeutique <b>imprévisible</b> (avant 2018). Depuis 2018 le I est devenu : <b>sensible aux fortes posologies</b> ou <b>SFP</b> . C'est-à-dire qu'il y aura un <b>succès thérapeutique si on utilise une forte concentration</b> d'antibiotique surtout s'il est administré par <u>voie systémique</u> ou qu'il se <b>concentre au site de l'infection</b> .



La **Société Française de Microbiologie** et l'**EUCAST** mettent à jour régulièrement les **doses standards et les fortes doses**. Grâce à cela on peut **choisir** la dose d'antibiotique en fonction du résultat de catégorisation sensible, ou sensible aux fortes posologies.

### ➤ Quels sont les principaux phénotypes de résistances aux antibiotiques développés par les bactéries ?

Il y a en a 4 qui ont **plus ou moins d'importance** selon le type de bactéries :

- \* Des **enzymes** qui vont altérer ou modifier l'antibiotique pour le rendre inefficace
- \* Une **impermeabilité** qui empêche l'antibiotique de pénétrer dans la cellule
- \* Un mécanisme de **modification de la cible**
- \* Des **pompes d'efflux** : l'antibiotique pénètre dans la cellule puis est évacué à l'extérieur.

4 Principaux Mécanismes de résistance aux antibiotiques



Principaux mécanismes de résistances aux bêta-lactamines

Mécanismes de résistances	Entérobactéries	Staphylocoques	Pneumocoques Entérocoques
Défaut de pénétration de l'antibiotique - Impermeabilité	+/-	NA	NA
Inactivation par des enzymes Hydrolytique = bêta-lactamases	+++	++	NA
Diminution de l'affinité de la cible	-	++	++
Efflux actif	+/-	NA	NA

Quelques exemples :

Pour les **entérobactéries** le principal mécanisme de résistance est l'**inactivation par des enzymes hydrolytiques** qu'on appelle les **β-lactamases**.

Pour les **staphylocoques** c'est à la fois les **β-lactamases** qui **prédominent** (puisque on a tellement utilisé de pénicilline que les staphylocoques y sont résistants par une pénicillinase, qui est un type de β-lactamase) et puis il y a un **autre mécanisme** qui entraîne une **diminution de l'affinité de la cible**.

Pour certains **pneumocoques et entérocoques** il y a **exclusivement** des **diminutions de l'affinité de la cible**

Par ailleurs il est important de différencier une **résistance naturelle** d'une **résistance acquise**.

La résistance **naturelle** existe chez toutes les souches de l'espèce qui sont **stables** et qui correspondent à ce qu'on appelle un **phénotype de résistance sauvage**. Le support de cette présence naturelle est chromosomique, c'est-à-dire qu'il est **dans le chromosome de la bactérie**.

La résistance **acquise** est propre à certaines souches de l'espèce, elle est **le plus souvent instable** et c'est un **phénotype qu'on appelle anormal**. Cette dernière peut se faire par acquisition de nouveaux gènes ou de manière chromosomique par des mutations.

### ➤ Quels sont les principaux phénotypes de résistances naturelles des entérobactéries aux β-lactamines ?

Il s'agit des antibiotiques **les plus largement utilisés** et notamment pour traiter les **entérobactéries**. Si on regarde le phénotype de **résistance naturelle** des entérobactéries vis-à-vis des β-lactamines vous avez 2 types d'enzymes qui sont capables d'**hydrolyser les β-lactamines** qu'on a identifiés chez les entérobactéries :

- \* Des mécanismes de résistance de type **pénicillinase**
- \* Des mécanismes de résistance de type **céphalosporinases**

Les mécanismes de résistance de type pénicillinase vont **hydrolyser les pénicillines** (Amoxicilline, Ticarcilline et Pipéracilline) et vont être **récupérés par l'acide clavulanique**.

C'est pour ça que les souches sont **sensibles** à l'**amoxicilline + acide clavulanique**. De même la **Pipéracilline associée au Tazobactam** qui est un **inhibiteur de pénicillinase** qui y sera sensible. Les **C1G, C2G, Céfoxitine, C3G et Imipénème** sont également **sensibles**.

ce tableau c'est +++ pour comprendre!!

bêta-lactamases chez les entérobactéries Sauvages		
Antibiotiques	Penicillines	Céphalosporines
Amoxicilline	R	R
Ticarcilline	R	S
Pipéracilline	I	S
Amox +Ac clavulanique	S	R
Pipéracilline+Tazobactam	S	S
C1G (Céfalotine)	S	I/R
C2G (Céfamandole)	S	I/R
Cefamycine (Cefoxitine)	S	I/R
C3G (Céfotaxime, Cefotazidime)	S	S
Imipénème	S	S

Dans le cas des **céphalosporinases** l'enzyme va **hydrolyser** l'**amoxicilline** mais **pas la Ticarcilline ni la Pipéracilline**, et l'acide clavulanique n'a **aucun effet**. Donc l'**association amoxicilline et acide clavulanique** va être **résistante**. La **Pipéracilline + Tazobactam** est plutôt **sensible**. **C1G, C2G et la Céfamycine sont intermédiaires ou résistants** et **C3G et l'Imipénème sont sensibles**.

On a donc **deux types d'enzymes** avec des phénotypes différents.

Les entérobactéries sont classées en **4 groupes de phénotypes** de résistance vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines :

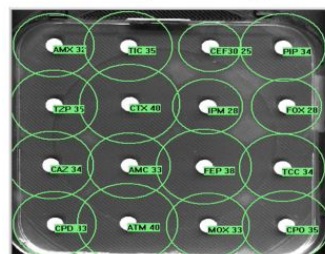
- \* **Groupe 0** = **pas de  $\beta$ -lactamases** (*Salmonella*, *Proteus mirabilis*)
- \* **Groupe 1** = **céphalosporinase non-exprimée** : ampC (*Escherichia coli*, *Shigella* sp.)
- \* **Groupe 2** = **pénicillinase chromosomique** (*Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri*)
- \* **Groupe 3** = **céphalosporinase inductible** : ampC chromosomique inductible (*Enterobacter*, *Morganella*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia*, *Serratia*, *Providencia*)

≡ **Groupes 0 et 1** : *E.coli*, *Shigella* sp., *Salmonella* sp., *Proteus mirabilis* de phénotype **SAUVAGE**

On va avoir comme antibiogramme le suivant. On voit les **différents antibiotiques testés** avec leur nom et leurs symboles. Il y a ici des représentants des pénicillines qui sont de la même famille. On remarque qu'en fait **toutes les  $\beta$ -lactamines sont sensibles à ces bactéries** puisqu'elles ont un diamètre vert (on rappelle qu'elles n'ont ni  $\beta$ -lactamases, ni céphalosporinases donc elles sont sensibles à tous les antibio)

Groupe 0 ou 1

*Proteus mirabilis*, *Salmonella* sp., *Escherichia coli* ou *Shigella* sp sauvage

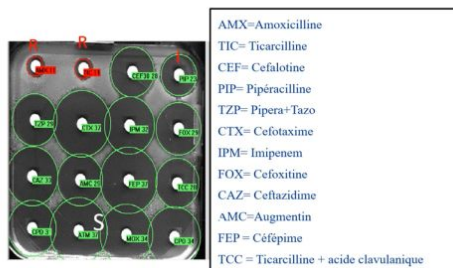


AMX= Amoxicilline  
TIC= Ticarcilline  
CEF= Cefalotine  
PIP= Pipéracilline  
TZP= Pipera+ Tazo  
CTX= Cefotaxime  
IPM= Imipenem  
FOX= Cefoxitine  
CAZ= Cefazidime  
AMC= Augmentin  
FEP= Céfépime  
TCC= Ticarcilline + acide clavulanique

≡ **Groupe 2** : *Klebsiella pneumoniae*, *Citrobacter koseri* de phénotype **SAUVAGE**

Groupe 2

*Klebsiella pneumoniae* ou *Citrobacter koseri* sauvage



Ils ont une **pénicillinase chromosomique** qui vont hydrolyser l'**Amoxicilline, la Ticarcilline, partiellement la Pipéracilline**. Par contre dès qu'on aura l'**association Amoxicilline et acide clavulanique** ils vont être **récupérés** par l'acide clavulanique (puisque'il est un inhibiteur de pénicillinase). De même si on regarde le **diamètre Ticarcilline + acide clavulanique** par rapport à la **Ticarcilline seule**, le **diamètre est augmenté** puisque l'Acide clavulanique inhibe la pénicilline (le prof dit ça mais je pense qu'il veut plutôt dire **pénicillinase**). Les **autres molécules** ne sont bien évidemment **pas touchées** du fait du phénotype.

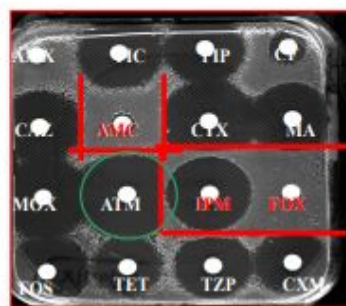
≡ **Groupe 3** : tous les autres types d'entérobactéries

Le groupe 3 concerne les bactéries qui possèdent une céphalosporinase inductible avec ampC chromosomique inductible.



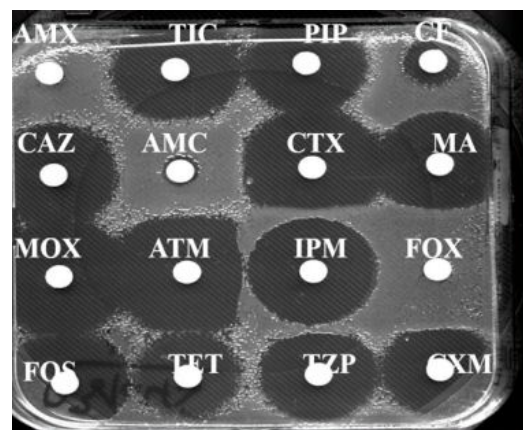
Pour rappel, lorsqu'on a un mécanisme de résistance de type céphalosporinase, l'**Amoxicilline est résistante et n'est pas récupérée**, et les C1G, C2G, Céfoxitine sont classés intermédiaires ou résistants selon le type de bactérie. Ce qui est important de remarquer c'est qu'en **présence d'inducteur** comme l'**Impipénème**, **Céfoxitine** et l'**Acide clavulanique** on va avoir une Céphalosporinase qui augmente de niveau.

Phénotype de résistance d'une entérobactérie groupe 3 = *Enterobacter cloacae*

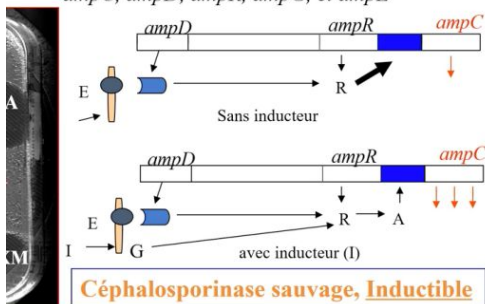


Mais il sert à quoi cet inducteur ?

On voit ici, l'**amoxicilline est résistante comme l'Augmentin, C1G et C2G** donc c'est une **entérobactérie de groupe 3**. Il y a donc ici une **céphalosporinase chromosomique** (par exemple chez *Enterobacter cloacae*). On peut voir aussi sur cette gélose qu'en face du disque l'**Impipénème avec C3G** le **diamètre n'est pas homogène et autour de l'Aztreonam (ATM)** non plus. En fait les bactéries qui sont à la **jonction** ont réussi à **pousser** parce que l'**Impipénème a poussé les bactéries à produire plus de Céphalosporinases** d'où la notion d'**inductibilité**. Ils produisent plus et arrivent à hydrolyser jusqu'à une certaine concentration. On le voit aussi pour les bactéries **en face de la cefotaxime**. Idem avec l'**acide clavulanique ou la cefoxitine** (les inducteurs étant, l'Augmentin, l'acide clavulanique, l'impipénème et céfoxitine).



Système de régulation inductible faisant intervenir 5 gènes *ampC*, *ampD*, *ampR*, *ampG*, et *ampE*



Comment ça fonctionne ?

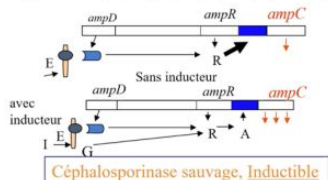
Il y a à la surface des **entérobactéries du groupe 3** un **capteur** qui est lié avec un produit de **ampD, l'ampR et au bout l'ampC**. Tout ça est **régulé et contrôlé** grâce au **promoteur de l'ampC**. Il y a donc une **production faible de céphalosporinase**. En présence d'**inducteur**, le **répresseur de l'ampC est bloqué** et donc une **production très importante de céphalosporinase inductible** qui va permettre aux bactéries de produire plus d'enzymes et donc d'**hydrolyser l'aztreonam** même si on voit qu'il y a encore une induction qui est maintenue.

### ➤ Comment chez une entérobactérie du groupe 3, une céphalosporinase sauvage inductible peut devenir une céphalosporinase dérégulée ou hyperproduite ?

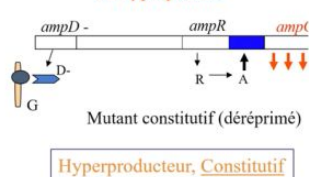
Pour rappel les **mutations** peuvent survenir assez **rarement** (une bactérie sur  $10^6$  à une bactérie sur  $10^9$ ) à **différents endroits du chromosome** bactérien. Dans des situations cliniques à **fort inoculum** ou dans le **tube digestif**, le nombre de mutants va être beaucoup **plus élevé**. L'événement de mutation est **stable et héréditaire aux cellules filles** mais **non transmissible à d'autres espèces**. La **sélection** parmi ces mutants se fait par l'**antibiothérapie**. C'est le **médecin** par l'utilisation d'antibiotiques qui **risque de sélectionner un mutant résistant** notamment sur les **entérobactéries du groupe 3** qui ont une céphalosporinase surtout dans le cadre de d'infection où l'inoculum est élevé.

Modification de la résistance chromosomique aux b-lactamines pour les entérobactéries du groupe 3

Céphalosporinase sauvage  
Système de régulation inductible faisant intervenir 5 gènes : *ampC*, *ampD*, *ampR*, *ampG*, et *ampE*



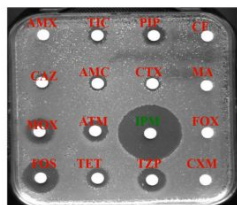
Sélection de mutants :  
céphalosporinase dérèprimée ou hyperproduite



L'*ampC* est sous la **régulation de plusieurs facteurs**, (*ampD*, *ampR*, *ampG*, *ampE*) qui contrôlent la production de la **céphalosporinase codée par *ampC*** (il répète...). En cas d'**induction** (par l'Imipénème, la céfoxitine ou l'acide clavulanique par exemple) on a un **contrôle du répresseur *ampC*** qui produit plus de céphalosporinases mais ça reste encore sous contrôle. Si on **enlève l'inhibiteur** elle revient au **phénotype complètement sauvage** avec une **production faible de *ampC***.

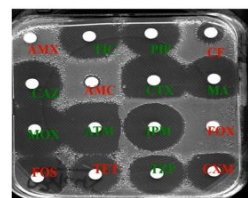
En cas de **sélection de mutants** tout le système de régulation qui ne fonctionne plus et *ampC* va produire de la céphalosporinase à très **haute quantité**. On va passer d'un **phénotype inductible** à un **phénotype constitutif** avec une **hyperproduction** ou ce qu'on appelle une **dérépression**.

Voici l'antibiogramme d'un *Enterobacter cloacae* qui sont des **entérobactéries du groupe 3** avec une **céphalosporinase sauvage**. Pour rappel, une céphalosporinase sauvage confère une **résistance à l'amoxicilline**, n'est pas récupérée par l'**acide clavulanique** donc y est résistant ainsi qu'au **C1G** (ici la Céfaloine) et au **C2G**.



AMX=Amoxicilline  
TIC= Ticarcilline  
PIP= Pipéracilline  
CF= Cefalotine  
CAZ= Cefazidime  
AMC=Augmentin  
CTX= Cefotaxime  
MA= Cefamandole  
MOX= Moxalactam  
ATM=Aztreonam  
IPM= Imipenem  
TZP= Pipera+Tazo  
CXM=Cefuroxime

*Enterobacter cloacae*  
Céphalosporinase sauvage



AMX=Amoxicilline  
TIC= Ticarcilline  
PIP= Pipéracilline  
CF= Cefalotine  
CAZ= Cefazidime  
AMC=Augmentin  
CTX= Cefotaxime  
MA= Cefamandole  
MOX= Moxalactam  
ATM=Aztreonam  
IPM= Imipenem  
TZP= Pipera+Tazo  
CXM=Cefuroxime

En **dérépression**, la céphalosporinase est tellement dérèprimée qu'elle va **hydrolyser même les pénicillines** comme la Ticarcilline ou la Pipéracilline. On peut aboutir à un antibiogramme **résistant à tout sauf à l'imipénème**.

### ➤ Que signifie résistance par acquisition de gènes de type $\beta$ -lactamase à spectre étendu ou BLSE ?

On dit que **5% de la population** possède dans son tube digestif des *Escherichia coli* qui ont des  **$\beta$ -lactamases à spectre étendu** avec un **phénotype acquis**, par acquisition de nouveaux gènes. Le **support génétique** de la résistance est **exogène, très variable** et est composé **essentiellement** d'**éléments mobiles** qui peuvent être portés sur **plusieurs types de supports** :

\* Les **PLASMIDES** : pour rappel, ce sont ces petits **morceaux de chromosomes** dont la **division** est **indépendante du chromosome** de la bactérie. Le plasmide est **instable, petit**, parfois en **multicopies** et peut **se transmettre** d'une bactérie à une autre. Ils peuvent porter des **gènes de résistance** et sont **transmissibles à des espèces différentes**.

\* Les **TRANSPOSONS** : il en existe **plusieurs familles**, c'est un **ensemble de gènes encadrés par des séquences d'insertions** qui portent des gènes qui codent pour des **transposases et résolvases** (des petites enzymes qui leur donne la capacité de "se déplacer"). Entre ces séquences se trouvent des **gènes de résistance**. Les transposons ont été appelé **gène sauteur** car ils peuvent **s'insérer dans un chromosome bactérien ou un plasmide** et **s'en extraire** grâce à ses enzymes. Il s'agit d'un système **très efficace** de **transmission de gène de résistance**.

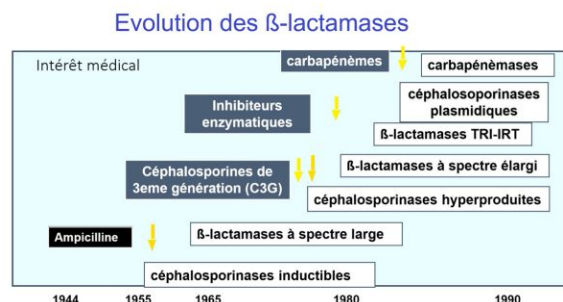


\* Les **INTÉGRONS** : une **intégrase** va **intégrer** un morceau de gène qui peut être de **résistance**. Il peut y avoir des **gènes les uns derrière les autres** sous **contrôle de l'expression** du gène de l'**intégrase**. Il peut donc y avoir **plusieurs gènes** de résistances différents.

Bien sûr, les bactéries peuvent **mettre un intégron au sein d'un transposon qui peut passer d'un plasmide à un autre puis à un chromosome** (jamais trop compliqué vous avez vu). On aboutit à des **phénomènes riches et divers**, parfois **associés entre eux** et à des transmissions de types **horizontales et verticales** (coucou la génétique), responsables de **phénomènes épidémiques**.

On parle d'**épidémie de gènes de résistances**.

A chaque fois qu'il y a eu utilisation d'**antibiotiques** (l'ampicilline, les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, les carbapénèmes...), la bactérie a développé et acquis des **gènes de résistances** de types **céphalosporines inductibles**, **β-lactamase à spectre large ou élargi**, des **céphalosporinases inductibles ou plasmidiques**.



La **β-lactamase à spectre élargi de type CTX-M** a diffusé partout dans le monde et est responsable actuellement de l'**épidémie communautaire** d'*Escherichia Coli* qui porte des **BLSE**.

Comme dit précédemment, **5% de la population** possède dans son **tube digestif** des *Escherichia coli* qui ont une **résistance de type β-lactamases à spectre élargi**. Ce sont des gènes que l'on retrouve dans la **communauté** chez des patients n'ayant **jamais été au contact direct ou indirect avec l'hôpital** et qui ont été retrouvés chez des souches *Escherichia coli*. C'est un gène qu'on a retrouvé chez une **entérobactérie** qui s'appelle *Kluyvera ascorbata* et qui est **strictement identique au CTX-M 5** et différents CTX-M qu'on retrouve chez les entérobactéries. De la communauté il est **rentré à l'hôpital** et a **largement diffusé**.

Pour rappel on a le phénotype de Pénicillinase sauvage, de céphalosporinase sauvage et le phénotype de β-lactamase à spectre élargi.

Avec les **BLSE**, il y a une **résistance à toutes les pénicillines**, et il est **recupéré partiellement à l'acide clavulanique et tazobactam**. Il est **résistant au C1G, C2G et C3G** mais **l'imipénème reste sensible** pour ces entérobactéries.

Béta-lactamases chez les entérobactéries sauvages / Béta-lactamases acquises de type BLSE

Antibiotiques	Penicillines	Céphalosporines	Betalactamase à spectre élargi BLSE Acquis
Amoxicilline	R	R	R
Ticarcilline	R	S	R
Pipéracilline	I	S	R
Amox +Ac clavulanique	S	R	S/R
Pipéracilline+Tazobactam	S	S	S/R
C1G (Céfalotine)	S	I/R	R
C2G (Céfamandole)	S	I/R	R
Cefamycine (Cefoxitine)	S	I/R	S pour entérobactérie Groupe 0,1,2 mais pas 3
C3G (Céfotaxime, Ceftazidime)	S	S	R
Imipénème	S	S	S

Mais que se passerait-il si les différents groupes d'entérobactéries devenaient porteurs de ces BLSE ?

*Escherichia coli* (Enterobactérie Groupe 1)



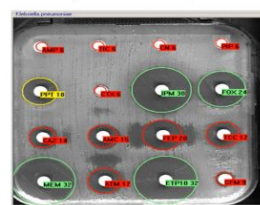
- AMP = Amoxicilline
- TIC = Ticarcilline
- CNI = Cefazoline
- PIP = Pipéracilline
- PPT = Pipéracilline-tazobactam
- CTX = Cefotaxime
- IPM = Imipénème
- FOX = Cefoxitine
- CAZ = ceftazidime
- AUC = Augmentin
- FEP = Cefepime
- TCC = Ticarcilline+Ac Clav
- MEK = Méropénème
- ATM = Aztreonam, CFM = cefixime
- ETP = ertapénème

Voici une image de synergie concernant une bactérie du groupe 1. Ici **les bactéries ne poussent pas**, parce que l'**acide clavulanique** et l'**Aztreonam** ont diffusé ce qui entraîne une **synergie d'action** donc les bactéries n'arrive plus à pousser. Idem pour **Cefepime et acide clavulanique**. Il s'agit typiquement de ce qu'on pourrait voir pour une **entérobactérie résistante aux C3G et aux C4G**.



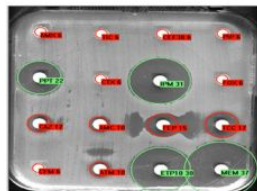
Voici un autre exemple de *Klebsiella pneumoniae* (groupe 2) qui a acquis une  **$\beta$ -lactamase à spectre élargi de type CTX-M** qui lui confère une **résistance** pour Céfotaxime, Ceftazidime et Cefepime. On voit bien les synergies avec l'**acide clavulanique** et la Cefepime, la Céfotaxime et le Ceftazidime. C'est ce qu'on appelle une **synergie en bouchon de champagne**.

*Klebsiella pneumoniae* (Entérobactérie groupe 2)



- AMP = Ampicilline
- TIC = Ticarcilline
- Cln = Cefaloxine
- PIP = Piperacilline
- PPT = Piperacilline+azobactam
- CTX = Cefotaxime
- IPM = Imipénème
- Fox = Cefoxime
- CAZ = ceftazidime
- Amc = Augmentin
- CEP = Cefepime
- TCC = Ticarcilline+Ac Clav
- MeM = Méropénème
- ATM = Aztreonam, CFM = cefixime
- ETP = ertapénème

*Enterobacter cloacae* (Entérobactérie groupe 3)



- AMP = Ampicilline
- TIC = Ticarcilline
- Cln = Cefaloxine
- PIP = Piperacilline
- PPT = Piperacilline+azobactam
- CTX = Cefotaxime
- IPM = Imipénème
- Fox = Cefoxime
- CAZ = ceftazidime
- Amc = Augmentin
- CEP = Cefepime
- TCC = Ticarcilline+Ac Clav
- MeM = Méropénème
- ATM = Aztreonam, CFM = cefixime
- ETP = ertapénème

Elle peut aussi être transmise à des **entérobactéries de groupe 3** type *Enterobacter cloacae*. On voit encore la **Céfotaxime résistante**, la **Ceftazidime** et l'**Augmentin qui est naturellement résistant** chez les groupes 3. On voit la **synergie entre Céfépime + Augmentin** ou avec **Ticarcliline + acide clavulanique**.

➤ **Que signifie une résistance par acquisition de gènes qui codent pour une enzyme de type carbapénémase (KPC, NDM, OXA-48) ?**

Les **carbapénémases** confèrent la **résistance à plusieurs  $\beta$ -lactamines** et touchent **systématiquement toutes les pénicillines** : l'**Augmentin**, la **Pipéracilline + Tazobactam**, les **C1G, C2G**, et les **C3G, Cefamycine** et l'**imipénème** au **minimum intermédiaire**.

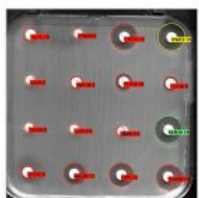
≅ **3 types de carbapénémases identifiés :**

### CLASSE A : KPC

Majoritairement à **New-York**, en **Grèce**, en **Israël**

Comprend **50%** des *Klebsiella pneumoniae*, des *Enterobacter cloacae*, des *Escherichia coli*...

*Enterobacter cloacae* KPC



- AMP = Ampicilline
- TIC = Ticarcilline
- Cln = Cefaloxine
- PIP = Piperacilline
- PPT = Piperacilline+azobactam
- CTX = Cefotaxime
- IPM = Imipénème
- Fox = Cefoxime
- CAZ = ceftazidime
- Amc = Augmentin
- CEP = Cefepime
- TCC = Ticarcilline+Ac Clav
- MeM = Méropénème
- ATM = Aztreonam
- ETP = ertapénème
- CFM = cefixime

Cet antibiogramme réalisé chez l'*Enterobacter cloacae* possède une carbapénémase de type KPC. On voit une résistance à quasi toutes les  $\beta$ -lactamines, une hydrolyse partielle de l'imipénème et moins du Méropénème. On est bien en présence d'une carbapénémase KPC.

### CLASSE B : NDM-1

Concerne des **cas importés** de l'**Inde**, du **Pakistan**...

Comprend les **entérobactéries**

*Klebsiella pneumoniae* NDM



- AMP = Ampicilline
- TIC = Ticarcilline
- Cln = Cefaloxine
- PIP = Piperacilline
- PPT = Piperacilline+azobactam
- CTX = Cefotaxime
- IPM = Imipénème
- Fox = Cefoxime
- CAZ = ceftazidime
- Amc = Augmentin
- CEP = Cefepime
- TCC = Ticarcilline+Ac Clav
- MeM = Méropénème
- ATM = Aztreonam
- ETP = ertapénème
- CFM = cefixime

Il y a à l'exemple d'une carbapénémase de type NDM qui donne une résistance à l'ertapénème (qui est la première carbapénème), à l'imipénème et à toutes les autres  $\beta$ -lactamines sauf une molécule : l'aztreonam.

### CLASSE D : OXA 48

Le plus souvent en **France**

Comprend **certaines** *Klebsiella pneumoniae* et *Escherichia coli*

*Escherichia coli* OXA-48



- AMP = Ampicilline
- TIC = Ticarcilline
- Cln = Cefaloxine
- PIP = Piperacilline
- PPT = Piperacilline+azobactam
- CTX = Cefotaxime
- IPM = Imipénème
- Fox = Cefoxime
- CAZ = ceftazidime
- Amc = Augmentin
- CEP = Cefepime
- TCC = Ticarcilline+Ac Clav
- MeM = Méropénème
- ATM = Aztreonam
- ETP = ertapénème
- CFM = cefixime

Ici l'hydrolyse est beaucoup plus partielle parmi les  $\beta$ -lactamines : celle de l'ertapénème est résistante, mais elle ne l'est que partiellement pour l'imipénème. On voit que pour l'OXA-48 il reste encore des possibilités thérapeutiques notamment avec la ceftazidime, le céfépime, l'aztreonam et la cefoxitine.

Si on regarde les données du **centre national de référence** des épisodes impliquants des entérobactéries ayant une carbapénémase, on voit que celle qui prédomine en France est OXA-48 suivi par **NDM-1** et **beaucoup moins par KPC** et autres carbapénémases.

Les carbapénémases ont été **identifiées dès 2010** et ont progressivement augmenté avec une certaine **saisonnalité**. Elles sont apparues au début chez des **patients qui venaient de l'étranger** et maintenant chez des patients qui sont **autochtones** et **qui n'ont jamais voyagé à l'étranger**.

Figure 2 | Répartition des épisodes impliquant des EPC en France signalés entre 2009 et 2016, selon les mécanismes de résistance impliqués et l'année de signalement (N=3 595)

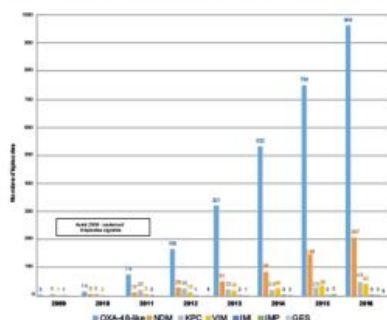
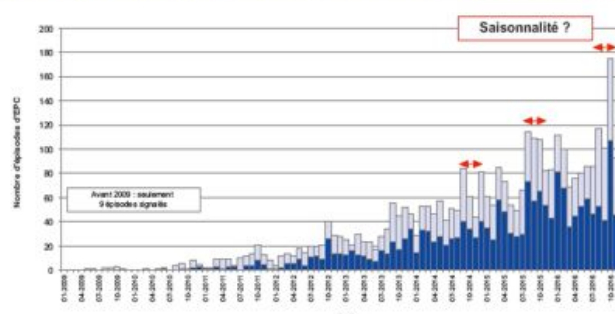


Figure 1 | Évolution par mois du nombre d'épisodes impliquant des EPC en France signalés entre 2009 et 2016, selon la mise en évidence ou non d'un lien avec un pays étranger (N=)



**Conclusion** : Il est important de savoir que l'on a des **outils simples** pour **prédire l'efficacité d'un traitement antibiotique**. Les outils étant la concentration minimale inhibitrice (CMI), les diamètres d'inhibition qu'on observe sur un antibiogramme. Il est important de **distinguer résistance naturelle de la résistance acquise** en phénotype et en génotype parce que la **résistance acquise** est un **indicateur de l'émergence et de la diffusion potentielle** de gènes de résistance. Dans la population communautaire comme on l'a vu dans les **BLSE**, puis dans la **population hospitalière** qu'on a vu dans les **BLSE et les carbapénémases**. Il est par ailleurs important de noter qu'il y a **4 grands types de mécanismes de résistance** dont la prévalence varie selon les espèces bactériennes. Les **entérobactéries** peuvent être aussi **classées en 4 groupes selon leurs phénotypes de résistance sauvage**. Les **céphalosporinases, BLSE ou carbapénémases** peuvent être à l'origine de difficultés de choix traitement et c'est pour ça que reconnaître et détecter ces mécanismes sont importants.

Et voilààà c'est la fin de ce cours, je vous sors une fiche récap sur tout ça bientôt histoire que ça soit un peu plus clair dw <3

dédi à mes fillots Jad et Thibo

dédi à mon PC qui stocke 50000 photos de bactéries après les fiches

dédi à mes vieux Anthony et Manon <3 (pas dédié à l'adresse mail par contre quelle galère)

dédi à Iris (la fausse), c'est moi ou t'as fait genre 56 tutcast?? (slay en vrai)

dédi à Meyli qui est tut d'une matière trop incr en plus d'être une super kiné

dédi à Nahélé et au lycée qui a pas voulu nous laisser rentrer pendant 40 min #menace

dédi à Anaëlle

redédi à Anaëlle

reredédi à Anaëlle (elle m'a mis un uno +2 j'ai rien pu faire) (jtm)

dédi à Yacine qui marche mieux en talons que la plupart des meufs

dédi à Houcine aka le monteur vidéo officiel du tut (j'ai pas la place de mettre une page entière de dédié mais le coeur y est)

(bon il est tard ils arrêtent pas d'envoyer des citrons sur le groupe messenger aled)

dédi à vous tous, j'espère que mes fiches vous plaisent, hésitez pas à me faire des retours <3