

Bacterio 3

mode d'évaluation de l'activité anti bactérienne



I) Test de la sensibilité d'une bactérie

L'objectif du cours est de répondre à la question suivante : 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 ?

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

A) Les 2 types d'infections

1. **Les infections stéréotypées** : l'antibiotique administré est toujours ou souvent efficace. Par exemple l'angine à **Streptococcus pyogenes (ou le A c'est le même)**, on sait que ce germe est **toujours sensible à l'amoxicilline+++**. De même dans le cas des infections bactériennes basses non compliquées (comme les infections urinaires) 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**.
2. **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.

Pour être sûr de ne pas se tromper RETENEZ :
Infections stéréotypées → pas de test in vitro
Infections graves → test in vitro

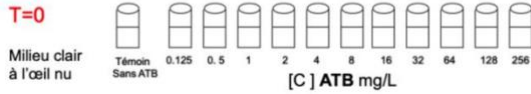
B) Par quelles méthodes détermine-t-on l'efficacité d'un antibiotique in vitro ?

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 10^6 unités formant colonie (UFC) par millilitre que l'on répartit dans des tubes contenant préalablement une concentration décroissante d'antibiotiques de raison 2

Concentration Minimale Inhibitrice d'un antibiotique = CMI

Technique de référence en milieu liquide

Milieu de culture liquide + concentration de bactérie (10^8 UFC /ml)
+ Contenant antibiotique (mg/L) à des concentrations décroissantes de raison 2



(Ici de 256 mg/L à 0,125 mg/L avec également un tube témoin sans antibiotique cf. schéma)

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** (totalement normal vu qu'il n'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. +++**

En gros on va regarder le premier tube ou il n'y a pas de pousse bactérienne (ça voudra dire que l'antibiotique à marché) et ça s'appelle la concentration minimale inhibitrice

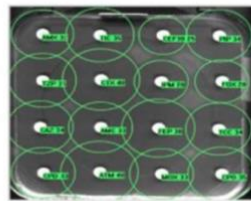
Dans le cas de la souche bactérienne présentée sur l'image le CMI est à 4 mg.

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.**

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
 BPM= Imipenem
 FOX= Cefoxitine
 CAZ= Ceftazidime
 AMC= Augmentin
 FEP= Cefépime
 TCC= Ticarcilline + acide clavulanique

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**. Ça ressemble à ça

Pour cela, 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. ++

Antibiogramme en diffusion en milieu gélosé : pour déterminer la sensibilité de la souche à plusieurs antibiotiques



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.

En gros, plus le diamètre est élevé plus la CMI va être basse. Inversement, plus le diamètre est petit, plus la CMI va être élevée. ++ (on comprend bien que si l'antibio est efficace il va tuer sur une plus grande zone)

Cependant, **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 (cmi) 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 préalablementensemencée 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)



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

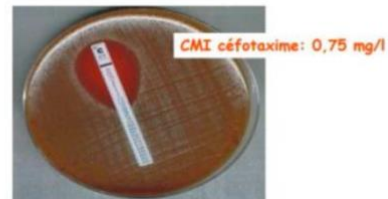


Image d'un *Streptococcus pneumoniae* avec la détermination de sa CMI à cefotaxime qui est à 0,75 mg. Si on agrandit on voit qu'à 0,75 mg/L il n'y a pas de pousse bactérienne et donc la CMI est à 0,75mg/mL.

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

A RETENIR : LES 3 MÉTHODES ++
Méthode de Référence en Milieu Liquide avec la CMI
Antibiogramme en Diffusion en Milieu Gélosé
Bandelettes de CMI (utilisé en routine)

on retient + un antb est puissant + sa cmi est basse et son diamètre est élevés sauf dans certains cas.++

II) Lien entre diamètre d'inhibition ou CMI et l'efficacité d'un traitement

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, R ou I** :

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

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.

III les principaux mécanismes de résistances d'enveloppes par les bactéries

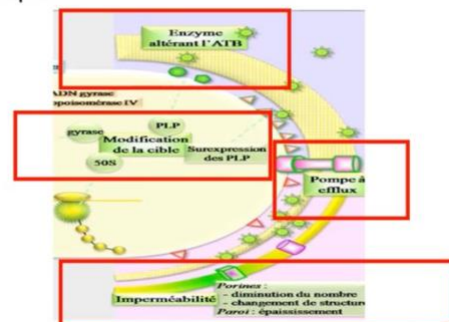
A) Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques

Quels sont les principaux phénotypes de résistance aux antibiotiques développés par les bactéries ?

Il y a 4 principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques.++ *Tout dépend de la paroi de la bactérie=>*

- ◆ 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



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 (puisqu'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**

(Apprenez le tableau où c'est sensible)

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

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

Résistance naturelle	Résistance acquise
<ul style="list-style-type: none"> ♣ Existe chez toutes les souches de l'espèce qui sont stables ♣ Ce qu'on appelle un phénotype de résistance sauvage ♣ Support de cette présence naturelle est chromosomique donc dans le chromosome de la bactérie 	<ul style="list-style-type: none"> ♠ Propre à certaines souches de l'espèce ♠ Le plus souvent instable ♠ Phénotype qu'on appelle anormal ♠ Peut se faire par acquisition de nouveaux gènes ou de manière chromosomique par des mutations.

B les phénotype de résistances naturelles des entérobactéries au B-lactamines

1. Les B-lactamases chez les entérobactéries sauvages

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

Les B-lactamines sont les 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 identifié chez les entérobactéries :

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

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

C'est pour ça que les souches sont **sensibles à l'amoxicilline + acide clavulanique**(=augmentin !! on oublie pas les gars).

De même la **Pipéracilline associée au Tazobactam** (qui est un inhibiteur de pénicillinase), qui va être sensible .

Les C1G, C2G, Céfoxitinee, C3G et Imipénème sont également sensibles.

Ok en gros les bactéries vont produire une enzyme (des penicillinases) qui va hydrolyser la pénicilline (ce qui veut dire que la pénicilline va etre détruite par csq elle n'aura plus d'effet)

=> DONC on met de l'acide clavulanique (avec l'amox) pour recupérer l'antibio c'est-à-dire pour inhiber les pénicillases

Même principes avec pipéracilline avec tazobactam

- 2- 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 (on le rappelle mais c'est un inhibiteur de pénicilinase). 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**. Les C3G et l'Imipénème sont **sensibles**.

La meme principe sauf que c'est des cephalosporinases donc ça détruit les cephalosporines.

Attention à l'exception qui est l'amoxicilline !!!!! Les cephalosporinases détruisent aussi l'amox et la ATTENTIONNNNNN l'ac clavulanique ne récupère pas !!!!! (logique puisqu'il inhibe les penicilinas pas les cephalosporinases) ⚠

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

2. Les groupes phénotypiques des entérobactéries

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

- ♣ **Groupe 0 = pas de β -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)**

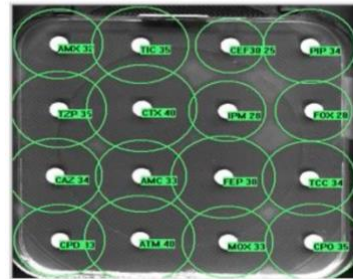
Les bactéries sont à connaître **ABSOLUMENT** !!!

- * 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 β -lactamines sont sensibles à ces bactéries** puisqu'elles ont un diamètre vert (on rappelle qu'elles n'ont ni β -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

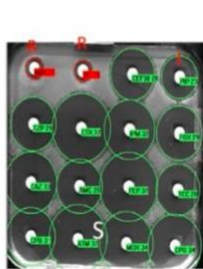


- AMX= Amoxicilline
- TIC= Ticarcilline
- CEF= Cefalotine
- PIP= Pipéracilline
- TZP= Pipera+Tazo
- CTX= Cefotaxime
- IPM= Imipenem
- FOX= Cefoxitine
- CAZ= Ceflazidime
- AMC= Augmentin
- FEP= Céfépime
- TCC = Ticarcilline + acide clavulanique

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

Groupe 2

Klebsiella pneumoniae ou Citrobacter koseri sauvage



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

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. Les autres molécules ne sont bien évidemment **pas touchées** du fait du phénotype.

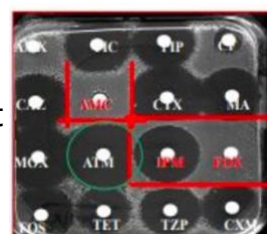
- * Groupe 3 : tous les autres types d'entérobactéries

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

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**


Le tutorat est gratuit. Toute vente ou reproduction est

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



résistants selon le type de bactérie. Ce qui est important de remarquer c'est **qu'en présence d'inducteur comme l'Imipénème, Céfoxitine et l'Acide clavulanique** on va avoir une **Céphalosporinase qui augmente de niveau.**

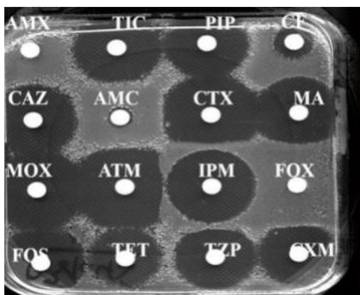
Récapitulatif ;

Groupes	Phénotype
0	Rien
1	Céphalosporinases  qui ne s'exprime pas
2	Penicillinase chromosomique
3	Céphalosporinases inducible

0 et 1 sensible à TOUT / 2 rajout d'un inhibiteur de pénicillinase / 3 C1G, C2G, Céfoxitine sont classés intermédiaires ou résistants selon le type de bactérie.

3. L'induction

A. Les inducteurs



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 l'Enterobacter cloacae).

On peut voir aussi sur cette gélose **qu'en face du disque** de vente ou reproduction est interdite sinon ça t'attrape. 12

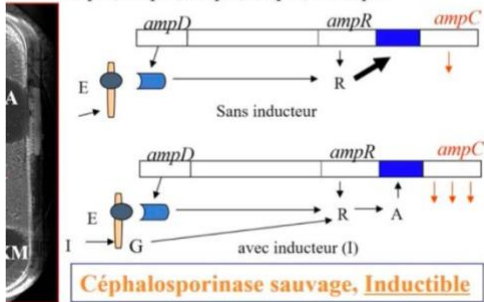
l'Imipénème avec C3G le diamètre n'est pas homogène et autour de l'Aztreonam (ATM) non plus En fait les bactéries qui sont à la jonction ont réussi à pousser **parce que l'Imipénème a poussé les bactéries à produire plus de Céphalosporinases** d'où la notion **d'inductibilité**. Ils **produisent plus** 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'imipénème et céfoxitine ++).

B.fonctionnement du système de régulation inductible

Mais on peut se demander à quoi est-ce que c'est dû ?

Il y a à la surface des entérobactéries du groupe 3 un **senseur** qui est lié avec un produit de **ampD, l'ampR et au bout l'ampC**.

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



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.

C.passage d'une cephalosporinase sauvage inductible à une cephalosporinase déréprimé ou hyperproduite chez une entérobactéries du groupe 3

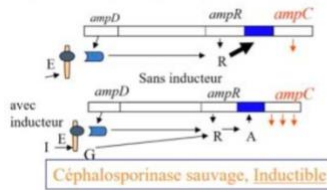
Pour rappel les **mutations** peuvent survenir **assez rarement** (une bactérie sur 10^6 à une bactérie sur 10^9) à **différents endroits du chromosome bactérien**. Dans des situations cliniques à **fort inoculum** ou **dans le tube digestif**, le **nombre de mutants** va être **beaucoup plus élevé** (en gros qd y'a bcp de bactéries les mutants ça va vite).

L'évènement 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**. **L'ampC** est sous la **régulation de plusieurs facteurs**, (*ampD, ampR, ampG, ampE*) qui contrôlent la production de la céphalosporinase codée par *ampC*. **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**.

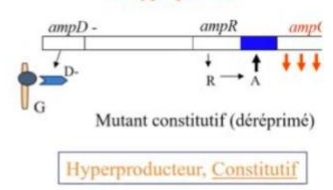
En cas de sélection de mutants tout le système de régulation qui ne fonctionne plus et ampC va produire de la céphalosporinase à très haute quantité. On va **passer d'un phénotype inductible à un phénotype constitutif** avec une **hyperproduction** ou ce qu'on appelle une **dérépression**.

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

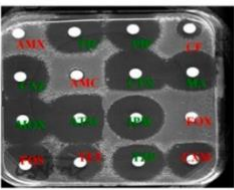
Céphalosporinase sauvage
Système de régulation inductible faisant intervenir 5 gènes : ampC, ampD, ampR, ampG, et ampE



Sélection de mutants : céphalosporinase déréprimée ou hyperproduite



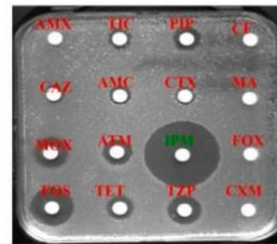
Enterobacter cloacae
Céphalosporinase sauvage



- AMX=Amoxicilline
- TIC= Ticarcilline
- PIP= Piperacilline
- CF= Cefalotine
- CAZ= Cefazidime
- AMC=Augmentin
- CTX= Cefotaxime
- MA= Cefamandole
- MOX= Moxalactam
- ATM=Aztreonam
- IPM= Imipenem
- TZp= Piperac+Tazo
- CXM=Cefuroxime

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 récupéré par l'acide clavulanique** donc y est résistant ainsi qu'au **C1G** (ici la Céfalotine) et au **C2G**.

En **dérépression**, la céphalosporinase est tellement déréprimée 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**.



- AMX=Amoxicilline
- TIC= Ticarcilline
- PIP= Piperacilline
- CF= Cefalotine
- CAZ= Cefazidime
- AMC=Augmentin
- CTX= Cefotaxime
- MA= Cefamandole
- MOX= Moxalactam
- ATM=Aztreonam
- IPM= Imipenem
- TZp= Piperac+Tazo
- CXM=Cefuroxime

D. Résistance par acquisition de gènes de type B-lactamases à spectre étendu

On dit que **5% de la population** possède dans **son tube digestif des Escherichia coli** qui ont **des β-lactamases à spectre étendu** avec un phénotype acquis, par acquisition de nouveaux gènes.

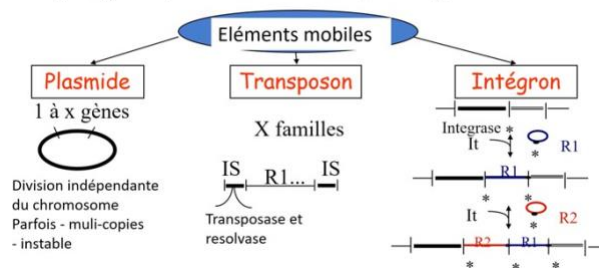
1) Les éléments mobiles

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**.

Support génétique de la résistance acquise exogène

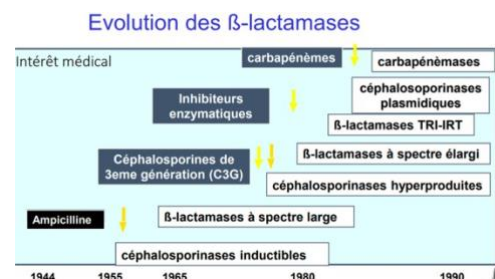


Bien sûr, les bactéries peuvent **mettre un intégron au sein d'un transposon qui peut passer d'un plasmide à un autre puis à un chromosome** (bon en gros on peut tout mélanger). On aboutit à des phénomènes riches et divers, parfois associés entre eux et à des **transmissions de types horizontales et verticales**, responsables de **phénomènes épidémiques**.

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

2) Évolution des B-lactamases

A chaque fois qu'il y a eu utilisation d'antibiotiques (l'ampicilline, les céphalosporines de 3ème 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.



a) Les B-lactamases à spectre élargi de type CTMX

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** (bactéries de type β -lactamase à spectre étendu).

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.

b) Phénotype de résistance de CTX-M

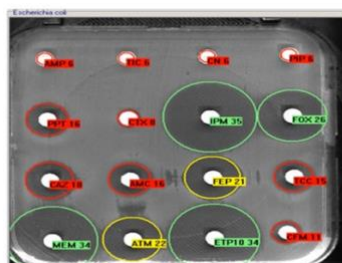
Avec les **BLSE**, il y a **une résistance à toutes les pénicillines, et il est récupéré partiellement à l'acide clavulanique et tazobactam**. Il est **résistant au C1G, C2G et C3G** mais **l'imipénème reste sensible** pour ces entérobactéries.

Antibiotiques	Penicillinases	Céphalosporinases	B β -lactamase à spectre élargi BLS Acquisse
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 non-pa-3
C3G (Céfotaxime, Ceftriaxone)	S	S	R
Imipénème	S	S	S

c) Escherichia coli (entérobactéries gp1)

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 **Céfépime et acide clavulanique**. Il s'agit typiquement de ce qu'on pourrait voir pour une **entérobactérie résistante aux C3G et aux C4G**.

Escherichia coli (Enterobactérie Groupe 1)



- AMP = Ampicilline
- TIC = Ticarcilline
- CN = Cefalexine
- PIP = Pipéracilline
- PPT = Pipéracilline+tazobactam
- CTX = Cefotaxime
- IPM = Imipénème
- Fox = Cefoxitine
- CAZ = ceftazidime
- Amc = Augmentin
- FEP = Cefepime
- TCC = Ticarcilline+Ac Clav
- MeM = Méropénème
- ATM = Aztreonam, CFM = cefixime
- ETP = ertapénème

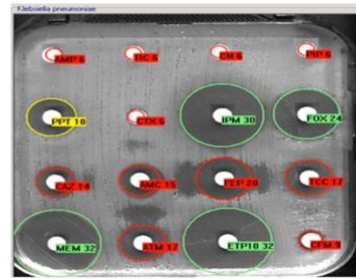
Le tutorat est gratuit. 7

inon ça t'attrape. 19

d) Klebsiella pneumoniae.
(entérobactéries gp2)

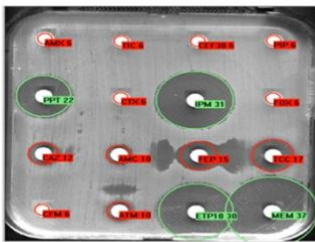
Voici un autre exemple de *Klebsiella pneumoniae* (groupe 2) qui a acquis une β -lactamase à spectre élargi de type CTX-M qui lui confère une **résistance pour Céfotaxime (C3G), Ceftazidime (C3G) et Céfépime (CG4)**. On voit bien les **synergies avec l'acide clavulanique et la Céfépime, la Céfotaxime et le Ceftazidime**. C'est ce qu'on appelle une **synergie en bouchon de champagne**.

Klebsiella pneumoniae (Entérobactérie groupe 2)



- AMP = Ampicilline
- TIC = Ticarcilline
- CN= Celalexine
- PIP= Pipéracilline
- PPT = Pipéracilline+tazobactam
- CTX = Cefotaxime
- IPM = Imipénème
- Fox = Cefoxitine
- CAZ= ceftazidime
- Amc = Augmentin
- FEP= Cefépime
- TCC = Ticarcilline+Ac Clav
- MeM= Méropénème
- ATM= Aztreonam, CFM= cefixime
- ETP= ertapénème

Enterobacter cloacae (Entérobactérie groupe 3)



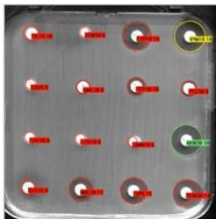

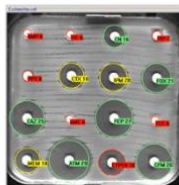
- AMP = Ampicilline
- TIC = Ticarcilline
- CN= Celalexine
- PIP= Pipéracilline
- PPT = Pipéracilline+tazobactam
- CTX = Cefotaxime
- IPM = Imipénème
- Fox = Cefoxitine
- CAZ= Ceftazidime
- Amc = Augmentin
- FEP= Cefépime
- TCC = Ticarcilline+Ac Clav
- MeM= Méropénème
- ATM= Aztreonam, CFM= cefixime
- 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 Ticarcilline + 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 β -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	CLASSE B : NDM-1	CLASSE D : OXA 48
<p>Majoritairement à New-York, en Grèce, en Israël</p> <p>Comprend 50% des Klebsiella pneumoniae, des Enterobacter cloacae, des Escherichia coli...</p> <p><i>Enterobacter cloacae</i> KPC</p>  <ul style="list-style-type: none"> AMP = Ampicilline TIC = Ticarcilline CH = Cefalotine PIP = Piperacilline PPT = Piperacilline-tazobactam CTX = Cefotaxime IPM = Imipénème Fox = Cefoxitine CAZ = ceftazidime Amc = Augmentin FEP = Cefepime TCC = Ticarcilline+Ac Clav M&M = Méropénème ATM = Aztreonam ETP = ertapénème CFM = ceftioxe <p>Cet antibiogramme réalisé chez l'<i>Enterobacter cloacae</i> possède une carbapénémase de type KPC. On voit une résistance à quasi toutes les β-lactamines, une hydrolyse partielle de l'imipénème et moins du Méropénème.</p>	<p>Concerne des cas importés de l'Inde, du Pakistan...</p> <p><i>Klebsiella pneumoniae</i> NDM</p>  <ul style="list-style-type: none"> AMP = Ampicilline TIC = Ticarcilline CH = Cefalotine PIP = Piperacilline PPT = Piperacilline-tazobactam CTX = Cefotaxime IPM = Imipénème Fox = Cefoxitine CAZ = ceftazidime Amc = Augmentin FEP = Cefepime TCC = Ticarcilline+Ac Clav M&M = Méropénème ATM = Aztreonam ETP = ertapénème CFM = ceftioxe <p>Il y a là 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 toute les autres β-lactamines sauf une molécule : l'aztreonam.</p>	<p>Le plus souvent en France Comprend certaines Klebsiella pneumoniae et Escherichia coli</p> <p><i>Escherichia coli</i> OXA-48</p>  <ul style="list-style-type: none"> AMP = Ampicilline TIC = Ticarcilline CH = Cefalotine PIP = Piperacilline PPT = Piperacilline-tazobactam CTX = Cefotaxime IPM = Imipénème Fox = Cefoxitine CAZ = ceftazidime Amc = Augmentin FEP = Cefepime TCC = Ticarcilline+Ac Clav M&M = Méropénème ATM = Aztreonam ETP = ertapénème CFM = ceftioxe <p>Ici l'hydrolyse est beaucoup plus partielle parmi les β-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.</p>

3) épidémiologie des carbapénémases

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)

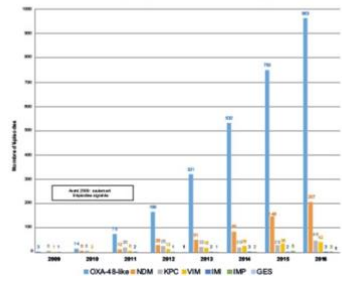
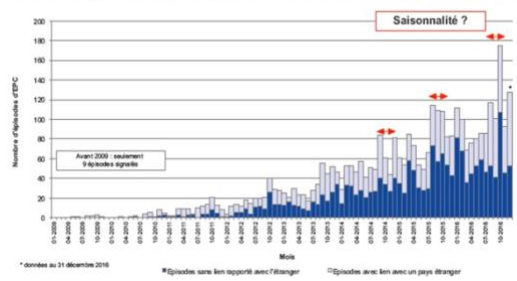


Figure 1 | Évolution par mois du nombre d'épisodes impliquant des EPC en France signalés entre 2009 et 2016, selon la mise en évidence ou non d'un lien avec un pays étranger (N=3 595)



éproducti

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.

Courage <3