

UNIVERSITE MOHAMMED V  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE -RABAT-

ANNEE: 2011

THESE N°: 92

**RESISTANCE AUX CARBAPENEMES :  
MECANISMES ET ENJEUX**

**THÈSE**

*Présentée et soutenue publiquement le :.....*

**PAR**

**Mr. Abdelali IRZI**

*Né le 01 Janvier 1984 à Sefrou*

**Pour l'Obtention du Doctorat en Pharmacie**

**MOTS CLES:** Carbapénèmes - Carbapénémases - Klebsiella Pneumoniae carbapénémases (KPC) -  
Métallo- $\beta$ -lactamases.

**JURY**

<b>Mr. M. ZOUHDI</b> Professeur de Microbiologie	<b>PRESIDENT</b>
<b>Mme. S. EL HAMZAOUI</b> Professeur de Microbiologie	<b>RAPPORTEUR</b>
<b>Mme. S. TELLAL</b> Professeur de Biochimie	} <b>JUGES</b>
<b>Mme. N. MASSOUDI</b> Professeur Agrégé d'Hématologie	



سبحانك لا علم لنا إلا ما علمتنا  
إنك أنت العليم الحكيم



سورة البقرة: الآية: 31



UNIVERSITE MOHAMMED V- SOUISSI  
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE - RABAT

1962 – 1969 : Docteur Abdelmalek FARAJ  
1969 – 1974 : Professeur Abdellatif BERBICH  
1974 – 1981 : Professeur Bachir LAZRAK  
1981 – 1989 : Professeur Taieb CHKILI  
1989 – 1997 : Professeur Mohamed Tahar ALAOUI  
1997 – 2003 : Professeur Abdelmajid BELMAHI

ADMINISTRATION :

Doyen : Professeur Najia HAJJAJ  
Vice Doyen chargé des Affaires Académiques et estudiantines  
Professeur Mohammed JIDDANE  
Vice Doyen chargé de la Recherche et de la Coopération  
Professeur Ali BENOMAR  
Vice Doyen chargé des Affaires Spécifiques à la Pharmacie  
Professeur Yahia CHERRAH  
Secrétaire Général : Mr. El Hassane AHALLAT

PROFESSEURS :

Février, Septembre, Décembre 1973

1. Pr. CHKILI Taieb Neuropsychiatrie

Janvier et Décembre 1976

2. Pr. HASSAR Mohamed Pharmacologie Clinique

Mars, Avril et Septembre 1980

3. Pr. EL KHAMLICHI Abdeslam Neurochirurgie

4. Pr. MESBAHI Redouane Cardiologie

Mai et Octobre 1981

5. Pr. BOUZOUBAA Abdelmajid Cardiologie

6. Pr. EL MANOUAR Mohamed Traumatologie-Orthopédie

7. Pr. HAMANI Ahmed\* Cardiologie

8. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajih Chirurgie Cardio-Vasculaire

9. Pr. SBIHI Ahmed Anesthésie –Réanimation

10. Pr. TAOBANE Hamid\* Chirurgie Thoracique

Mai et Novembre 1982

11. Pr. ABROUQ Ali\* Oto-Rhino-Laryngologie

12. Pr. BENOMAR M'hammed Chirurgie-Cardio-Vasculaire

13. Pr. BENSOUA Mohamed Anatomie

14. Pr. BENOSMAN Abdellatif Chirurgie Thoracique

15. Pr. LAHBABI ép. AMRANI Naïma Physiologie

Novembre 1983

16. Pr. ALAOUI TAHIRI Kébir\*
17. Pr. BALAFREJ Amina
18. Pr. BELLAKHDAR Fouad
19. Pr. HAJJAJ ép. HASSOUNI Najia
20. Pr. SRAIRI Jamal-Eddine

Pneumo-phtisiologie  
Pédiatrie  
Neurochirurgie  
Rhumatologie  
Cardiologie

Décembre 1984

21. Pr. BOUCETTA Mohamed\*
22. Pr. EL GUEDDARI Brahim El Khalil
23. Pr. MAAOUNI Abdelaziz
24. Pr. MAAZOUZI Ahmed Wajdi
25. Pr. NAJI M'Barek \*
26. Pr. SETTAF Abdellatif

Neurochirurgie  
Radiothérapie  
Médecine Interne  
Anesthésie -Réanimation  
Immuno-Hématologie  
Chirurgie

Novembre et Décembre 1985

27. Pr. BENJELLOUNHalima
28. Pr. BENSAID Younes
29. Pr. EL ALAOUI Faris Moulay El Mostafa
30. Pr. IHRAI Hssain \*
31. Pr. IRAQI Ghali
32. Pr. KZADRI Mohamed

Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Neurologie  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-Faciale  
Pneumo-phtisiologie  
Oto-Rhino-laryngologie

Janvier, Février et Décembre 1987

33. Pr. AJANA Ali
34. Pr. AMMAR Fanid
35. Pr. CHAHED OUZZANI Houria ép.TAOBANE
36. Pr. EL FASSY FIHRI Mohamed Taoufiq
37. Pr. EL HAITEM Naïma
38. Pr. EL MANSOURI Abdellah\*
39. Pr. EL YAACOUBI Moradh
40. Pr. ESSAID EL FEYDI Abdellah
41. Pr. LACHKAR Hassan
42. Pr. OHAYON Victor\*
- Pr. YAHYAOUI Mohamed

Radiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Gastro-Entérologie  
Pneumo-phtisiologie  
Cardiologie  
Chimie-Toxicologie Expertise  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Médecine Interne  
Médecine Interne  
Neurologie

Décembre 1988

44. Pr. BENHAMAMOUCHE Mohamed Najib
45. Pr. DAFIRI Rachida
46. Pr. FAIK Mohamed
47. Pr. HERMAS Mohamed
48. Pr. TOLOUNE Farida\*

Chirurgie Pédiatrique  
Radiologie  
Urologie  
Traumatologie Orthopédie  
Médecine Interne

Décembre 1989 Janvier et Novembre 1990

49. Pr. ADNAOUI Mohamed
50. Pr. AOUNI Mohamed
51. Pr. BENAMEUR Mohamed\*
52. Pr. BOUKILI MAKHOUKHI Abdelali
53. Pr. CHAD Bouziane
54. Pr. CHKOFF Rachid
55. Pr. KHARBACH Aïcha
56. Pr. MANSOURI Fatima
57. Pr. OUAZZANI Taïbi Mohamed Réda
58. Pr. SEDRATI Omar\*
59. Pr. TAZI Saoud Anas

Médecine Interne  
Médecine Interne  
Radiologie  
Cardiologie  
Pathologie Chirurgicale  
Urologie  
Gynécologie -Obstétrique  
Anatomie-Pathologique  
Neurologie  
Dermatologie  
Anesthésie Réanimation

Février Avril Juillet et Décembre 1991

60. Pr. AL HAMANY Zaïtounia
61. Pr. ATMANI Mohamed\*
62. Pr. AZZOUZI Abderrahim
63. Pr. BAYAHIA Rabéa ép. HASSAM
64. Pr. BELKOUCHI Abdelkader
65. Pr. BENABDELLAH Chahrazad
66. Pr. BENCHEKROUN BELABBES Abdellatif
67. Pr. BENSOUDA Yahia
68. Pr. BERRAHO Amina
69. Pr. BEZZAD Rachid
70. Pr. CHABRAOUI Layachi
71. Pr. CHANA El Houssaine\*
72. Pr. CHERRAH Yahia
73. Pr. CHOKAIRI Omar
74. Pr. FAJRI Ahmed\*
75. Pr. JANATIIdrissi Mohamed\*
76. Pr. KHATTAB Mohamed
77. Pr. NEJMI Maati
78. Pr. OUAALINE Mohammed\*
79. Pr. SOULAYMANI Rachida ép. BENCHEIKH
80. Pr. TAOUFIK Jamal

Anatomie-Pathologique  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Néphrologie  
Chirurgie Générale  
Hématologie  
Chirurgie Générale  
Pharmacie galénique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Biochimie et Chimie  
Ophtalmologie  
Pharmacologie  
Histologie Embryologie  
Psychiatrie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène  
Pharmacologie  
Chimie thérapeutique

Décembre 1992

81. Pr. AHALLAT Mohamed
82. Pr. BENOUDA Amina
83. Pr. BENSOUDA Adil
84. Pr. BOUJIDA Mohamed Najib
85. Pr. CHAHED OUAZZANI Laaziza
86. Pr. CHRAIBI Chafiq
87. Pr. DAOUDI Rajae
88. Pr. DEHAYNI Mohamed\*
89. Pr. EL HADDOURY Mohamed
90. Pr. EL OUAHABI Abdessamad

Chirurgie Générale  
Microbiologie  
Anesthésie Réanimation  
Radiologie  
Gastro-Entérologie  
Gynécologie Obstétrique  
Ophtalmologie  
Gynécologie Obstétrique  
Anesthésie Réanimation  
Neurochirurgie

91. Pr. FELLAT Rokaya  
 92. Pr. GHAFIR Driss\*  
 93. Pr. JIDDANE Mohamed  
 94. Pr. OUZZANI TAIBI Med Charaf Eddine  
 95. Pr. TAGHY Ahmed  
 96. Pr. ZOUHDI Mimoun  
 Mars 1994  
 97. Pr. AGNAOU Lahcen  
 98. Pr. AL BAROUDI Saad  
 99. Pr. BENCHERIFA Fatiha  
 100. Pr. BENJAAFAR Nouredine  
 101. Pr. BENJELLOUN Samir  
 102. Pr. BEN RAIS Nozha  
 103. Pr. CAOUI Malika  
 104. Pr. CHRAIBI Abdelmjid  
 105. Pr. EL AMRANI Sabah ép. AHALLAT  
 106. Pr. EL AOUAD Rajae  
 107. Pr. EL BARDOUNI Ahmed  
 108. Pr. EL HASSANI My Rachid  
 109. Pr. EL IDRISSE LAMGHARI Abdennaceur  
 110. Pr. EL KIRAT Abdelmajid\*  
 111. Pr. ERROUGANI Abdelkader  
 112. Pr. ESSAKALI Malika  
 113. Pr. ETTAYEBI Fouad  
 114. Pr. HADRI Larbi\*  
 115. Pr. HASSAM Badredine  
 116. Pr. IFRINE Lahssan  
 117. Pr. JELTHI Ahmed  
 118. Pr. MAHFOUD Mustapha  
 119. Pr. MOUDENE Ahmed\*  
 120. Pr. OULBACHA Said  
 121. Pr. RHRAB Brahim  
 122. Pr. SENOUCI Karima ép. BELKHADIR  
 123. Pr. SLAOUI Anas

Mars 1994

124. Pr. ABBAR Mohamed\*  
 125. Pr. ABDELHAK M'barek  
 126. Pr. BELAIDI Halima  
 127. Pr. BRAHMI Rida Slimane  
 128. Pr. BENTAHILA Abdelali  
 129. Pr. BENYAHIA Mohammed Ali  
 130. Pr. BERRADA Mohamed Saleh  
 131. Pr. CHAMI Ilham  
 132. Pr. CHERKAOUI Lalla Ouafae  
 133. Pr. EL ABBADI Najia  
 134. Pr. HANINE Ahmed\*  
 135. Pr. JALIL Abdelouahed

- Cardiologie  
 Médecine Interne  
 Anatomie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Chirurgie Générale  
 Microbiologie  
 Ophtalmologie  
 Chirurgie Générale  
 Ophtalmologie  
 Radiothérapie  
 Chirurgie Générale  
 Biophysique  
 Biophysique  
 Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
 Gynécologie Obstétrique  
 Immunologie  
 Traumato-Orthopédie  
 Radiologie  
 Médecine Interne  
 Chirurgie Cardio- Vasculaire  
 Chirurgie Générale  
 Immunologie  
 Chirurgie Pédiatrique  
 Médecine Interne  
 Dermatologie  
 Chirurgie Générale  
 Anatomie Pathologique  
 Traumatologie – Orthopédie  
 Traumatologie- Orthopédie  
 Chirurgie Générale  
 Gynécologie –Obstétrique  
 Dermatologie  
 Chirurgie Cardio-Vasculaire

- Urologie  
 Chirurgie – Pédiatrique  
 Neurologie  
 Gynécologie Obstétrique  
 Pédiatrie  
 Gynécologie – Obstétrique  
 Traumatologie – Orthopédie  
 Radiologie  
 Ophtalmologie  
 Neurochirurgie  
 Radiologie  
 Chirurgie Générale

136. Pr. LAKHDAR Amina  
137. Pr. MOUANE Nezha

Gynécologie Obstétrique  
Pédiatrie

Mars 1995

138. Pr. ABOUQUAL Redouane  
139. Pr. AMRAOUI Mohamed  
140. Pr. BAIDADA Abdelaziz  
141. Pr. BARGACH Samir  
142. Pr. BEDDOUCHE Amqrane\*  
143. Pr. BENZAOUZ Mustapha  
144. Pr. CHAARI Jilali\*  
145. Pr. DIMOU M'barek\*  
146. Pr. DRISSI KAMILI Mohammed Nordine\*  
147. Pr. EL MESNAOUI Abbes  
148. Pr. ESSAKALI HOUSSYNI Leila  
149. Pr. FERHATI Driss  
150. Pr. HASSOUNI Fadil  
151. Pr. HDA Abdelhamid\*  
152. Pr. IBEN ATTYA ANDALOUSSI Ahmed  
153. Pr. IBRAHIMY Wafaa  
154. Pr. MANSOURI Aziz  
155. Pr. OUZZANI CHAHDI Bahia  
156. Pr. RZIN Abdelkader\*  
157. Pr. SEFIANI Abdelaziz  
158. Pr. ZEGGWAGH Amine Ali

Réanimation Médicale  
Chirurgie Générale  
Gynécologie Obstétrique  
Gynécologie Obstétrique  
Urologie  
Gastro-Entérologie  
Médecine Interne  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie Réanimation  
Chirurgie Générale  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Gynécologie Obstétrique  
Médecine Préventive, Santé Publique et Hygiène  
Cardiologie  
Urologie  
Ophtalmologie  
Radiothérapie  
Ophtalmologie  
Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale  
Génétique  
Réanimation Médicale

Décembre 1996

159. Pr. AMIL Touriya\*  
160. Pr. BELKACEM Rachid  
161. Pr. BELMAHI Amin  
162. Pr. BOULANOUAR Abdelkrim  
163. Pr. EL ALAMI EL FARICHA EL Hassan  
164. Pr. EL MELLOUKI Ouafae\*  
165. Pr. GAOUZI Ahmed  
166. Pr. MAHFOUDI M'barek\*  
167. Pr. MOHAMMADINE EL Hamid  
168. Pr. MOHAMMADI Mohamed  
169. Pr. MOULINE Soumaya  
170. Pr. OUADGHIRI Mohamed  
171. Pr. OUZEDDOUN Naima  
172. Pr. ZBIR EL Mehdi\*

Radiologie  
Chirurgie Pédiatrie  
Chirurgie réparatrice et plastique  
Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Parasitologie  
Pédiatrie  
Radiologie  
Chirurgie Générale  
Médecine Interne  
Pneumo-phtisiologie  
Traumatologie-Orthopédie  
Néphrologie  
Cardiologie

173. Novembre 1997

174. Pr. ALAMI Mohamed Hassan  
175. Pr. BEN AMAR Abdesselem  
176. Pr. BEN SLIMANE Lounis  
177. Pr. BIROUK Nazha  
178. Pr. BOULAICH Mohamed  
179. Pr. CHAOUIR Souad\*  
180. Pr. DERRAZ Said  
181. Pr. ERREIMI Naima  
182. Pr. FELLAT Nadia  
183. Pr. GUEDDARI Fatima Zohra  
184. Pr. HAIMEUR Charki\*  
185. Pr. KANOUNI NAWAL  
186. Pr. KOUTANI Abdellatif  
187. Pr. LAHLOU Mohamed Khalid  
188. Pr. MAHRAOUI CHAFIQ  
189. Pr. NAZI M'barek\*  
190. Pr. OUAHABI Hamid\*  
191. Pr. SAFI Lahcen\*  
192. Pr. TAOUFIQ Jallal  
193. Pr. YOUSFI MALKI Mounia

Gynécologie-Obstétrique  
Chirurgie Générale  
Urologie  
Neurologie  
O.RL.  
Radiologie  
Neurochirurgie  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Radiologie  
Anesthésie Réanimation  
Physiologie  
Urologie  
Chirurgie Générale  
Pédiatrie  
Cardiologie  
Neurologie  
Anesthésie Réanimation  
Psychiatrie  
Gynécologie Obstétrique

Novembre 1998

194. Pr. AFIFI RAJAA  
195. Pr. AIT BENASSER MOULAY Ali\*  
196. Pr. ALOUANE Mohammed\*  
197. Pr. BENOMAR ALI  
198. Pr. BOUGTAB Abdesslam  
199. Pr. ER RIHANI Hassan  
200. Pr. EZZAITOUNI Fatima  
201. Pr. KABBAJ Najat  
202. Pr. LAZRAK Khalid ( M)

Gastro-Entérologie  
Pneumo-ptisiologie  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Neurologie  
Chirurgie Générale  
Oncologie Médicale  
Néphrologie  
Radiologie  
Traumatologie Orthopédie

Novembre 1998

203. Pr. BENKIRANE Majid\*  
204. Pr. KHATOURI ALI\*  
205. Pr. LABRAIMI Ahmed\*

Hématologie  
Cardiologie  
Anatomie Pathologique

Janvier 2000

206. Pr. ABID Ahmed\*  
207. Pr. AIT OUMAR Hassan  
208. Pr. BENCHERIF My Zahid  
209. Pr. BENJELLOUN DAKHAMA Badr.Sououd  
210. Pr. BOURKADI Jamal-Eddine

Pneumophtisiologie  
Pédiatrie  
Ophtalmologie  
Pédiatrie  
Pneumo-ptisiologie

211. Pr. CHAOUI Zineb  
212. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Al Montacer  
213. Pr. ECHARRAB El Mahjoub  
214. Pr. EL FTOUH Mustapha  
215. Pr. EL MOSTARCHID Brahim\*  
216. Pr. EL OTMANY Azzedine  
217. Pr. GHANNAM Rachid  
218. Pr. HAMMANI Lahcen  
219. Pr. ISMAILI Mohamed Hatim  
220. Pr. ISMAILI Hassane\*  
221. Pr. KRAMI Hayat Ennoufouss  
222. Pr. MAHMOUDI Abdelkrim\*  
223. Pr. TACHINANTE Rajae  
224. Pr. TAZI MEZALEK Zoubida

Ophtalmologie  
Chirurgie Générale  
Chirurgie Générale  
Pneumo-phtisiologie  
Neurochirurgie  
Chirurgie Générale  
Cardiologie  
Radiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Traumatologie Orthopédie  
Gastro-Entérologie  
Anesthésie-Réanimation  
Anesthésie-Réanimation  
Médecine Interne

Novembre 2000

225. Pr. AIDI Saadia  
226. Pr. AIT OURHROUI Mohamed  
227. Pr. AJANA Fatima Zohra  
228. Pr. BENAMR Said  
229. Pr. BENCHEKROUN Nabiha  
230. Pr. CHERTI Mohammed  
231. Pr. ECH-CHERIF EL KETTANI Selma  
232. Pr. EL HASSANI Amine  
233. Pr. EL IDGHIRI Hassan  
234. Pr. EL KHADER Khalid  
235. Pr. EL MAGHRAOUI Abdellah\*  
236. Pr. GHARBI Mohamed El Hassan  
237. Pr. HSSAIDA Rachid\*  
238. Pr. LACHKAR Azzouz  
239. Pr. LAHLOU Abdou  
240. Pr. MAFTAH Mohamed\*  
241. Pr. MAHASSINI Najat  
242. Pr. MDAGHRI ALAOUI Asmae  
243. Pr. NASSIH Mohamed\*  
244. Pr. ROUIMI Abdelhadi

Neurologie  
Dermatologie  
Gastro-Entérologie  
Chirurgie Générale  
Ophtalmologie  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Pédiatrie  
Oto-Rhino-Laryngologie  
Urologie  
Rhumatologie  
Endocrinologie et Maladies Métaboliques  
Anesthésie-Réanimation  
Urologie  
Traumatologie Orthopédie  
Neurochirurgie  
Anatomie Pathologique  
Pédiatrie  
Stomatologie Et Chirurgie Maxillo-Faciale  
Neurologie

Décembre 2001

245. Pr. ABABOU Adil  
246. Pr. AOUAD Aicha  
247. Pr. BALKHI Hicham\*  
248. Pr. BELMEKKI Mohammed  
249. Pr. BENABDELJLIL Maria  
250. Pr. BENAMAR Loubna

Anesthésie-Réanimation  
Cardiologie  
Anesthésie-Réanimation  
Ophtalmologie  
Neurologie  
Néphrologie

251. Pr. BENAMOR Jouda	Pneumo-phtisiologie
252. Pr. BENELBARHDADI Imane	Gastro-Entérologie
253. Pr. BENNANI Rajae	Cardiologie
254. Pr. BENOUACHANE Thami	Pédiatrie
255. Pr. BENYOUSSEF Khalil	Dermatologie
256. Pr. BERRADA Rachid	Gynécologie Obstétrique
257. Pr. BEZZA Ahmed*	Rhumatologie
258. Pr. BOUCHIKHI IDRISSE Med Larbi	Anatomie
259. Pr. BOUHOUCHE Rachida	Cardiologie
260. Pr. BOUMDIN El Hassane*	Radiologie
261. Pr. CHAT Latifa	Radiologie
262. Pr. CHELLAOUI Mounia	Radiologie
263. Pr. DAALI Mustapha*	Chirurgie Générale
264. Pr. DRISSI Sidi Mourad*	Radiologie
265. Pr. EL HAJOUI Ghziel Samira	Gynécologie Obstétrique
266. Pr. EL HIJRI Ahmed	Anesthésie-Réanimation
267. Pr. EL MAAQILI Moulay Rachid	Neuro-Chirurgie
268. Pr. EL MADHI Tarik	Chirurgie-Pédiatrique
269. Pr. EL MOUSSAIF Hamid	Ophthalmologie
270. Pr. EL OUNANI Mohamed	Chirurgie Générale
271. Pr. EL QUESSAR Abdeljlil	Radiologie
272. Pr. ETTAIR Said	Pédiatrie
273. Pr. GAZZAZ Miloudi*	Neuro-Chirurgie
274. Pr. GOURINDA Hassan	Chirurgie-Pédiatrique
275. Pr. HRORA Abdelmalek	Chirurgie Générale
276. Pr. KABBAJ Saad	Anesthésie-Réanimation
277. Pr. KABIRI EL Hassane*	Chirurgie Thoracique
278. Pr. LAMRANI Moulay Omar	Traumatologie Orthopédie
279. Pr. LEKEHAL Brahim	Chirurgie Vasculaire Périphérique
280. Pr. MAHASSIN Fattouma*	Médecine Interne
281. Pr. MEDARHRI Jalil	Chirurgie Générale
282. Pr. MIKDAME Mohammed*	Hématologie Clinique
283. Pr. MOHSINE Raouf	Chirurgie Générale
284. Pr. NABIL Samira	Gynécologie Obstétrique
285. Pr. NOUINI Yassine	Urologie
286. Pr. OUALIM Zouhir*	Néphrologie
287. Pr. SABBAH Farid	Chirurgie Générale
288. Pr. SEFIANI Yasser	Chirurgie Vasculaire Périphérique
289. Pr. TAOUFIQ BENCHEKROUN Soumia	Pédiatrie
290. Pr. TAZI MOUKHA Karim	Urologie

291. Décembre 2002	
292. Pr. AL BOUZIDI Abderrahmane*	Anatomie Pathologique
293. Pr. AMEUR Ahmed *	Urologie
294. Pr. AMRI Rachida	Cardiologie
295. Pr. AOURARH Aziz*	Gastro-Entérologie
296. Pr. BAMOU Youssef *	Biochimie-Chimie
297. Pr. BELMEJDOUB Ghizlene*	Endocrinologie et Maladies Métaboliques
298. Pr. BENBOUAZZA Karima	Rhumatologie
299. Pr. BENZEKRI Laila	Dermatologie
300. Pr. BENZZOUBEIR Nadia*	Gastro-Entérologie
301. Pr. BERNOUSSI Zakiya	Anatomie Pathologique
302. Pr. BICHRHA Mohamed Zakariya	Psychiatrie
303. Pr. CHOHO Abdelkrim *	Chirurgie Générale
304. Pr. CHKIRATE Bouchra	Pédiatrie
305. Pr. EL ALAMI EL FELLOUS Sidi Zouhair	Chirurgie Pédiatrique
306. Pr. EL ALJ Haj Ahmed	Urologie
307. Pr. EL BARNOUSSI Leila	Gynécologie Obstétrique
308. Pr. EL HAOURI Mohamed *	Dermatologie
309. Pr. EL MANSARI Omar*	Chirurgie Générale
310. Pr. ES-SADEL Abdelhamid	Chirurgie Générale
311. Pr. FILALI ADIB Abdelhai	Gynécologie Obstétrique
312. Pr. HADDOUR Leila	Cardiologie
313. Pr. HAJJI Zakia	Ophtalmologie
314. Pr. IKEN Ali	Urologie
315. Pr. ISMAEL Farid	Traumatologie Orthopédie
316. Pr. JAAFAR Abdeloihab*	Traumatologie Orthopédie
317. Pr. KRIOULE Yamina	Pédiatrie
318. Pr. LAGHMARI Mina	Ophtalmologie
319. Pr. MABROUK Hfid*	Traumatologie Orthopédie
320. Pr. MOUSSAOUI RAHALI Driss*	Gynécologie Obstétrique
321. Pr. MOUSTAGHFIR Abdelhamid*	Cardiologie
322. Pr. MOUSTAINE My Rachid	Traumatologie Orthopédie
323. Pr. NAITLHO Abdelhamid*	Médecine Interne
324. Pr. OUJILAL Abdelilah	Oto-Rhino-Laryngologie
325. Pr. RACHID Khalid *	Traumatologie Orthopédie
326. Pr. RAISS Mohamed	Chirurgie Générale
327. Pr. RGUIBI IDRISSE Sidi Mustapha*	Pneumophtisiologie
328. Pr. RHOU Hakima	Néphrologie
329. Pr. SIAH Samir *	Anesthésie Réanimation
330. Pr. THIMOU Amal	Pédiatrie
331. Pr. ZENTAR Aziz*	Chirurgie Générale
332. Pr. ZRARA Ibtisam*	Anatomie Pathologique

PROFESSEURS AGREGES :

Janvier 2004

333. Pr. ABDELLAH El Hassan	Ophtalmologie
334. Pr. AMRANI Mariam	Anatomie Pathologique
335. Pr. BENBOUZID Mohammed Anas	Oto-Rhino-Laryngologie
336. Pr. BENKIRANE Ahmed*	Gastro-Entérologie
337. Pr. BENRAMDANE Larbi*	Chimie Analytique
338. Pr. BOUGHALEM Mohamed*	Anesthésie Réanimation
339. Pr. BOULAADAS Malik	Stomatologie et Chirurgie Maxillo-faciale
340. Pr. BOURAZZA Ahmed*	Neurologie
341. Pr. CHAGAR Belkacem*	Traumatologie Orthopédie
342. Pr. CHERRADI Nadia	Anatomie Pathologique
343. Pr. EL FENNI Jamal*	Radiologie
344. Pr. EL HANCHI ZAKI	Gynécologie Obstétrique
345. Pr. EL KHORASSANI Mohamed	Pédiatrie
346. Pr. EL YOUNASSI Badreddine*	Cardiologie
347. Pr. HACHI Hafid	Chirurgie Générale
348. Pr. JABOUIRIK Fatima	Pédiatrie
349. Pr. KARMANE Abdelouahed	Ophtalmologie
350. Pr. KHABOUZE Samira	Gynécologie Obstétrique
351. Pr. KHARMAZ Mohamed	Traumatologie Orthopédie
352. Pr. LEZREK Mohammed*	Urologie
353. Pr. MOUGHIL Said	Chirurgie Cardio-Vasculaire
354. Pr. NAOUMI Asmae*	Ophtalmologie
355. Pr. SAADI Nozha	Gynécologie Obstétrique
356. Pr. SASSENOU ISMAIL*	Gastro-Entérologie
357. Pr. TARIB Abdelilah*	Pharmacie Clinique
358. Pr. TIJAMI Fouad	Chirurgie Générale
359. Pr. ZARZUR Jamila	Cardiologie

Janvier 2005

360. Pr. ABBASSI Abdellah	Chirurgie Réparatrice et Plastique
361. Pr. AL KANDRY Sif Eddine*	Chirurgie Générale
362. Pr. ALAOUI Ahmed Essaid	Microbiologie
363. Pr. ALLALI Fadoua	Rhumatologie
364. Pr. AMAR Yamama	Néphrologie
365. Pr. AMAZOUZI Abdellah	Ophtalmologie
366. Pr. AZIZ Nouredine*	Radiologie
367. Pr. BAHIRI Rachid	Rhumatologie
368. Pr. BARKAT Amina	Pédiatrie
369. Pr. BENHALIMA Hanane	Stomatologie et Chirurgie Maxillo Faciale
370. Pr. BENHARBIT Mohamed	Ophtalmologie
371. Pr. BENYASS Aatif	Cardiologie

372. Pr. BERNOUSSI Abdelghani	Ophtalmologie
373. Pr. BOUKLATA Salwa	Radiologie
374. Pr. CHARIF CHEFCHAOUNI Mohamed	Ophtalmologie
375. Pr. DOUDOUH Abderrahim*	Biophysique
376. Pr. EL HAMZAOUI Sakina	Microbiologie
377. Pr. HAJJI Leila	Cardiologie
378. Pr. HESSISSEN Leila	Pédiatrie
379. Pr. JIDAL Mohamed*	Radiologie
380. Pr. KARIM Abdelouahed	Ophtalmologie
381. Pr. KENDOSSI Mohamed*	Cardiologie
382. Pr. LAAROUSSI Mohamed	Chirurgie Cardio-vasculaire
383. Pr. LYAGOUBI Mohammed	Parasitologie
384. Pr. NIAMANE Radouane*	Rhumatologie
385. Pr. RAGALA Abdelhak	Gynécologie Obstétrique
386. Pr. SBIHI Souad	Histo-Embryologie Cytogénétique
387. Pr. TNACHERI OUAZZANI Btissam	Ophtalmologie
388. Pr. ZERAIDI Najia	Gynécologie Obstétrique

#### AVRIL 2006

423. Pr. ACHEMLAL Lahsen*	Rhumatologie
424. Pr. AFIFI Yasser	Dermatologie
425. Pr. AKJOUJ Said*	Radiologie
426. Pr. BELGNAOUI Fatima Zahra	Dermatologie
427. Pr. BELMEKKI Abdelkader*	Hématologie
428. Pr. BENCHEIKH Razika	O.R.L
429. Pr. BIYI Abdelhamid*	Biophysique
430. Pr. BOUHAFS Mohamed El Amine	Chirurgie - Pédiatrique
431. Pr. BOULAHYA Abdellatif*	Chirurgie Cardio – Vasculaire
432. Pr. CHEIKHAOUI Younes	Chirurgie Cardio – Vasculaire
433. Pr. CHENGUETI ANSARI Anas	Gynécologie Obstétrique
434. Pr. DOGHMI Nawal	Cardiologie
435. Pr. ESSAMRI Wafaa	Gastro-entérologie
436. Pr. FELLAT Ibtissam	Cardiologie
437. Pr. FAROUDY Mamoun	Anesthésie Réanimation
438. Pr. GHADOUANE Mohammed*	Urologie
439. Pr. HARMOUCHE Hicham	Médecine Interne
440. Pr. HANAFI Sidi Mohamed*	Anesthésie Réanimation
441. Pr. IDRISSE LAHLOU Amine	Microbiologie
442. Pr. JROUNDI Laila	Radiologie
443. Pr. KARMOUNI Tariq	Urologie
444. Pr. KILI Amina	Pédiatrie
445. Pr. KISRA Hassan	Psychiatrie
446. Pr. KISRA Mounir	Chirurgie – Pédiatrique

447. Pr. KHARCHAFI Aziz*	Médecine Interne
448. Pr. LAATIRIS Abdelkader*	Pharmacie Galénique
449. Pr. LMIMOUNI Badreddine*	Parasitologie
450. Pr. MANSOURI Hamid*	Radiothérapie
451. Pr. NAZIH Naoual	O.R.L
452. Pr. OUANASS Abderrazzak	Psychiatrie
453. Pr. SAFI Soumaya*	Endocrinologie
454. Pr. SEKKAT Fatima Zahra	Psychiatrie
455. Pr. SEFIANI Sana	Anatomie Pathologique
456. Pr. SOUALHI Mouna	Pneumo – Phtisiologie
457. Pr. TELLAL Saida*	Biochimie
458. Pr. ZAHRAOUI Rachida	Pneumo – Phtisiologie

Octobre 2007

458. Pr. LARAQUI HOUSSEINI Leila	Anatomie pathologique
459. Pr. EL MOUSSAOUI Rachid	Anesthésie réanimation
460. Pr. MOUSSAOUI Abdelmajid	Anesthésier réanimation
461. Pr. LALAOUI SALIM Jaafar *	Anesthésie réanimation
462. Pr. BAITE Abdelouahed *	Anesthésie réanimation
463. Pr. TOUATI Zakia	Cardiologie
464. Pr. OUZZIF Ez zohra *	Biochimie
465. Pr. BALOUCH Lhousaine *	Biochimie
466. Pr. SELKANE Chakir *	Chirurgie cardio vasculaire
467. Pr. EL BEKKALI Youssef *	Chirurgie cardio vasculaire
468. Pr. AIT HOUSSA Mahdi *	Chirurgie cardio vasculaire
469. Pr. EL ABSI Mohamed	Chirurgie générale
470. Pr. EHIRCHIOU Abdelkader *	Chirurgie générale
471. Pr. ACHOUR Abdessamad *	Chirurgie générale
472. Pr. TAJDINE Mohammed Tariq*	Chirurgie générale
473. Pr. GHARIB Nouredine	Chirurgie plastique
474. Pr. TABERKANET Mustafa *	Chirurgie vasculaire périphérique
475. Pr. ISMAILI Nadia	Dermatologie
476. Pr. MASRAR Azlarab	Hématologie biologique
477. Pr. RABHI Monsef *	Médecine interne
478. Pr. MRABET Mustapha *	Médecine préventive santé publique et hygiène
479. Pr. SEKHSOKH Yessine *	Microbiologie
480. Pr. SEFFAR Myriame	Microbiologie
481. Pr. LOUZI Lhousain *	Microbiologie
482. Pr. MRANI Saad *	Virologie
483. Pr. GANA Rachid	Neuro chirurgie
484. Pr. ICHOU Mohamed *	Oncologie médicale
485. Pr. TACHFOUTI Samira	Ophtalmologie
486. Pr. BOUTIMZINE Nourdine	Ophtalmologie

487. Pr. MELLAL Zakaria	Ophtalmologie
488. Pr. AMMAR Haddou *	ORL
489. Pr. AOUIFI Sarra	Parasitologie
490. Pr. TLIGUI Houssain	Parasitologie
491. Pr. MOUTAJ Redouane *	Parasitologie
492. Pr. ACHACHI Leila	Pneumo phtisiologie
493. Pr. MARC Karima	Pneumo phtisiologie
494. Pr. BENZIANE Hamid *	Pharmacie clinique
495. Pr. CHERKAOUI Naoual *	Pharmacie galénique
496. Pr. EL OMARI Fatima	Psychiatrie
497. Pr. MAHI Mohamed *	Radiologie
498. Pr. RADOUANE Bouchaib*	Radiologie
499. Pr. KEBDANI Tayeb	Radiothérapie
500. Pr. SIFAT Hassan *	Radiothérapie
501. Pr. HADADI Khalid *	Radiothérapie
502. Pr. ABIDI Khalid	Réanimation médicale
503. Pr. MADANI Naoufel	Réanimation médicale
504. Pr. TANANE Mansour *	Traumatologie orthopédie
505. Pr. AMHAJJI Larbi *	Traumatologie orthopédie

Mars 2009

Pr. BJIJOU Younes	Anatomie
Pr. AZENDOUR Hicham *	Anesthésie Réanimation
Pr. BELYAMANI Lahcen*	Anesthésie Réanimation
Pr. BOUHSAIN Sanae *	Biochimie
Pr. OUKERRAJ Latifa	Cardiologie
Pr. LAMSAOURI Jamal *	Chimie Thérapeutique
Pr. MARMADÉ Lahcen	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AMAHZOUNE Brahim*	Chirurgie Cardio-vasculaire
Pr. AIT ALI Abdelmounaim *	Chirurgie Générale
Pr. BOUNAIM Ahmed *	Chirurgie Générale
Pr. EL MALKI Hadj Omar	Chirurgie Générale
Pr. MSSROURI Rahal	Chirurgie Générale
Pr. CHTATA Hassan Toufik *	Chirurgie Vasculaire Périphérique
Pr. BOUI Mohammed *	Dermatologie
Pr. KABBAJ Nawal	Gastro-entérologie
Pr. FATHI Khalid	Gynécologie obstétrique
Pr. MESSAOUDI Nezha *	Hématologie biologique
Pr. CHAKOUR Mohammed *	Hématologie biologique
Pr. DOGHMI Kamal *	Hématologie clinique
Pr. ABOUZAHIR Ali*	Médecine interne
Pr. ENNIBI Khalid *	Médecine interne

Pr. EL OUENNASS Mostapha  
Pr. ZOUHAIR Said\*  
Pr. L'kassimi Hachemi\*  
Pr. AKHADDAR Ali \*  
Pr. AIT BENHADDOU El hachmia  
Pr. AGADR Aomar \*  
Pr. KARBOUBI Lamya  
Pr. MESKINI Toufik  
Pr. KABIRI Meryem  
Pr. RHORFI Ismail Abderrahmani \*  
Pr. BASSOU Driss \*  
Pr. ALLALI Nazik  
Pr. NASSAR Ittimade  
Pr. HASSIKOU Hasna \*  
Pr. AMINE Bouchra  
Pr. BOUSSOUGA Mostapha \*  
Pr. KADI Said \*

Microbiologie  
Microbiologie  
Microbiologie  
Neuro-chirurgie  
Neurologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Pneumo-phtisiologie  
Radiologie  
Radiologie  
Radiologie  
Rhumatologie  
Rhumatologie  
Traumatologie orthopédique  
Traumatologie orthopédique

Octobre 2010

Pr. AMEZIANE Taoufiq\*  
Pr. ERRABIH Ikram  
Pr. CHERRADI Ghizlan  
Pr. MOSADIK Ahlam  
Pr. ALILOU Mustapha  
Pr. KANOUNI Lamya  
Pr. EL KHARRAS Abdennasser\*  
Pr. DARBI Abdellatif\*  
Pr. EL HAFIDI Naima  
Pr. MALIH Mohamed\*  
Pr. BOUSSIF Mohamed\*  
Pr. EL MAZOUZ Samir  
Pr. DENDANE Mohammed Anouar  
Pr. EL SAYEGH Hachem  
Pr. MOUJAHID Mountassir\*  
Pr. RAISSOUNI Zakaria\*  
Pr. BOUAITY Brahim\*  
Pr. LEZREK Mounir  
Pr. NAZIH Mouna\*  
Pr. LAMALMI Najat  
Pr. ZOUAIDIA Fouad  
Pr. BELAGUID Abdelaziz  
Pr. DAMI Abdellah\*  
Pr. CHADLI Mariama\*

Médecine interne  
Gastro entérologie  
Cardiologie  
Anesthésie Réanimation  
Anesthésie réanimation  
Radiothérapie  
Radiologie  
Radiologie  
Pédiatrie  
Pédiatrie  
Médecine aérologique  
Chirurgie plastique et réparatrice  
Chirurgie pédiatrique  
Urologie  
Chirurgie générale  
Traumatologie orthopédie  
ORL  
Ophtalmologie  
Hématologie  
Anatomie pathologique  
Anatomie pathologique  
Physiologie  
Biochimie chimie  
Microbiologie

ENSEIGNANTS SCIENTIFIQUES  
PROFESSEURS

1. Pr. ABOUDRAR Saadia	Physiologie
2. Pr. ALAMI OUHABI Naima	Biochimie
3. Pr. ALAOUI KATIM	Pharmacologie
4. Pr. ALAOUI SLIMANI Lalla Naïma	Histologie-Embryologie
5. Pr. ANSAR M'hammed	Chimie Organique et Pharmacie Chimique
6. Pr. BOUKLOUZE Abdelaziz	Applications Pharmaceutiques
7. Pr. BOUHOUCHE Ahmed	Génétique Humaine
8. Pr. BOURJOUANE Mohamed	Microbiologie
9. Pr. CHAHED OUZZANI Lalla Chadia	Biochimie
10. Pr. DAKKA Taoufiq	Physiologie
11. Pr. DRAOUI Mustapha	Chimie Analytique
12. Pr. EL GUESSABI Lahcen	Pharmacognosie
13. Pr. ETTAIB Abdelkader	Zootéchnie
14. Pr. FAOUZI Moulay El Abbas	Pharmacologie
15. Pr. HMAMOUCHE Mohamed	Chimie Organique
16. Pr. IBRAHIMI Azeddine	
17. Pr. KABBAJ Ouafae	Biochimie
18. Pr. KHANFRI Jamal Eddine	Biologie
19. Pr. REDHA Ahlam	Biochimie
20. Pr. OULAD BOUYAHYA IDRISSE Med	Chimie Organique
21. Pr. TOUATI Driss	Pharmacognosie
22. Pr. ZAHIDI Ahmed	Pharmacologie
23. Pr. ZELLOU Amina	Chimie Organique

\* Enseignants Militaires



*Dédicaces*

## *A mes très chers parents*

*Aucune dédicace ne saurait être assez éloquente pour exprimer ce que vous méritez pour tous les sacrifices que vous n'avez cessé de me donner depuis ma naissance, durant mon enfance et même à l'âge adulte.*

*Rien au monde ne vaut les efforts fournis jour et nuit pour mon éducation et mon bien être.*

*Je vous dédie ce travail en témoignage de mon profond amour.*

*Puisse Allah, le tout puissant, vous préserver et vous accorder santé, longue vie et bonheur.*

*A mes chers frères*

*En témoignage de l'attachement, de l'amour  
et de l'affection que je porte pour vous.*

*Je vous dédie ce travail avec tous mes vœux de bonheur,  
de santé et de réussite.*

*Avec mes meilleurs sentiments d'amour,  
de fraternité et de respect.*

*A ma grande famille*

*Je tiens à travers cette modeste dédicace  
à vous exprimer toute mon affection et respect.*

*Puisse l'amour et la fraternité nous unissent à jamais.*

*Je vous souhaite une vie pleine de joie, de bonheur et de prospérité.*

*A mes chers amis :*

*Merci pour votre amour et votre amitié.*

*Vous étiez toujours là pour me soutenir, m'aider et m'écouter.*

*Que ALLAH vous protège et vous procure joie et bonheur  
et que notre amitié reste à jamais.*



# *Remerciements*

*A notre Maitre et Président de thèse,  
Monsieur le professeur M. ZOUHDI  
Professeur de Microbiologie*

*Vous nous avez fait un grand honneur en acceptant de présider ce jury malgré vos multiples occupations.*

*Vos qualités d'homme de science votre modestie votre disponibilité envers vos collègues et vos élèves ont forcé l'admiration de tous.*

*Veillez accepter cher maître notre sincère gratitude.*

*A notre Maître et Rapporteur de thèse,  
Madame le médecin Colonel, S .ELHAMZAOUI  
Professeur de Microbiologie*

*En acceptant de diriger ce travail, vous nous avez signifié par la même occasion votre confiance.*

*Femme de science réputé et admiré par tous, nous avons été très impressionné par votre simplicité, votre grande disponibilité et votre amour du travail bien fait.*

*Nous avons été également comblés par les enseignements de qualité dont nous avons bénéficiés à vos côtés ; vos qualités intellectuelles et vos connaissances larges et toujours d'actualité font de vous un modèle de maître souhaité par tout élève.*

*Cher maître, veuillez accepter nos sincères remerciements.*

*A notre Maître et juge de thèse,  
Madame le Médecin Colonel S.TELLAL  
Professeur de Biochimie*

*C'est un grand honneur pour nous de vous avoir comme membre de jury.*

*Votre simplicité, votre disponibilité en plus de vos compétences vous ont valu une très grande renommée. Nous savons le sérieux que vous attachez à notre formation et les efforts que vous déployez dans ce sens.*

*Permettez nous, cher maître, de vous adresser nos sincères remerciements*

*A notre Maître et juge de thèse,  
Madame le Colonel N.MASSOUDI  
Professeur agrégé d'hématologie*

*La spontanéité avec laquelle vous avez accepté de siéger dans ce jury nous est allée droit au cœur.*

*Votre courage, votre grande amitié pour vos collaborateurs et vos étudiants, vos qualités d'homme de science et votre enthousiasme à transmettre votre savoir ont forcé l'admiration de tous.*

*Cher maître, soyez rassuré de notre profonde gratitude*

*A notre Maître,  
Monsieur LHOUSSIN LOUZI  
Professeur agrèger de Microbiologie*

*J'ai découvert à l'occasion de ce travail un maître ouvert disponible qui n'a ménagé aucun effort pour la réussite de ce travail.*

*La clarté de vos raisonnements, votre compétence technique et votre rigueur scientifique nous resteront en mémoire. Trouvez ici cher maître l'expression de notre profonde gratitude.*

*Merci.....*

# Sommaire

<b>INTRODUCTION</b> .....	1
<b>CHAPITRE I : PRESENTATION DES B -LACTAMINES</b> .....	3
I. GENERALITES. HISTORIQUE :.....	4
II. CLASSIFICATION DES $\beta$ -LACTAMINES :.....	6
A. Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique :.....	6
B. Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique :.....	7
C. Monobactames :.....	7
III. RELATION STRUCTURE-ACTIVITE ET SPECTRE ANTIBACTERIEN :.....	8
A. Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique :.....	8
1. Pénames (ou pénicillines) :.....	8
2. Carbapénèmes : (voir chapitre des carbapénèmes).....	12
3. Oxapénames ou clavames :.....	12
B. Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique :.....	13
1. Céphalosporines :.....	14
2. Céphamycines :.....	19
3. Oxacéphèmes :.....	19
4. Monobactames :.....	20
<b>CHAPITRE II : CARBAPENEMES</b> .....	21
I. DEFINITION:.....	22
II. DERIVES :.....	23
III.RELATION STRUCTURE-ACTIVITE DES CARBAPENEMES :.....	23
IV.ANALYSE COMPARATIVE DES MOLECULES DISPONIBLES :.....	25
1. Données microbiologique:.....	25
1.1/ Bactéries à gram négatif :.....	25
1.2 / Bactéries à gram positif :.....	27
1.3/ Bactéries anaérobies :.....	27
2. Risque écomicrobiologique :.....	27

3. Données pharmacologiques : .....	28
3.1/ Pharmacocinétique : .....	28
3.2/ Pharmacodynamie : .....	29
V/ DISTRIBUTION TISSULAIRE : .....	32
VI. INTERET DES CARBAPENEMES DANS LES INFECTIONS GRAVES : .....	33
5.1/ P. Aeruginosa et Acinetobacter SPP : .....	35
5.2/ Entérobactéries : .....	35
5.3/ Pneumonie Acquisée Sous Ventilation Assistée (PAVM) : .....	37
5.4/ Infections intra-abdominales : .....	38
VII/ UTILISATION OPTIMALE DES CARBAPENEMES : Point de vue du clinicien : ..	38
VIII/ MODALITES D'ADMINISTRATION : .....	39
IX/ POSOLOGIE ET DUREE DE TRAITEMENT : .....	40
X/UTILISATION DES CARBAPENEMES EN PRATIQUE HOSPITALIERE : .....	40
<b>CHAPITRE III : RESISTANCE BACTERIENNE</b> .....	42
I/ DEFINITION : .....	43
II/ FACTEURS CONTRIBUANT A L'EMERGENCE ET A LA PROPAGATION DE LA RESISTANCE: .....	43
1/ Usage inapproprié d'antibiotiques : .....	46
2/ Utilisation d'antimicrobiens dans le secteur agro- alimentaire : .....	47
3/ Utilisation d'antiseptiques et de désinfectants : .....	47
4/ Étapes du développement de résistance a grande échelle : .....	48
III/ RELATION ENTRE CONSOMMATION DES ANTIBIOTIQUES ET EMERGENCE DE RESISTANCE: .....	48
IV/ ORIGINE GENETIQUE DE LA RESISTANCE ET MODALITES DE TRANSFERT GENETIQUE:.....	50
1/ Résistance naturelle (ou intrinsèque) : .....	50
2/ Résistance acquise : .....	51
2.1/ Mutation chromosomique spontanée (évolution verticale) :.....	51
2.2/ Acquisition de gènes de résistance par un autre organisme (évolution horizontale) : .....	51

V/ BACTERIES PATHOGENES RESISTANTES PREOCCUPANTES :	53
1/ Bactéries à gram positif :	53
2/ Bactéries à gram négatif :	57
VI/ AUTRES BACTERIES RESISTANTES PREOCCUPANTES :	59
VII/ PREVENTION DE LA RESISTANCE :	59
1/ Rôle du pharmacien :	59
2/ Stratégies de prévention :	60
<b>CHAPITRE IV: MECANISMES DE RESISTANCE AUX CARBAPENEMES</b>	<b>62</b>
A/ MECANISMES NON ENZYMATIQUE :	64
1/ Paroi bactérienne et site d'action des $\beta$ -lactamines :	64
1.1/ Membrane externe des bactéries à Gram négatif :	66
1.2/ Peptidoglycane bactérien :	68
1.3/ Espace périplasmique :	70
1.4/ Membrane cytoplasmique et protéines de liaison à la pénicilline :	70
1.5/ Perméabilité membranaire et porines :	71
1.6/ Imperméabilité de la membrane externe :	73
1.7/ Boucle L3 et diffusion :	74
3/ Resistance non enzymatique chez les bactéries a gram négatif :	78
3.1/ Resistance par imperméabilité : altération des Porines ou des protéines de la membrane externe :	79
3.2/ Altération du LPS :	80
3.3/ Resistance croisée a diverses familles d'antibiotiques :	80
3.4/ Altération des PLP :	81
4/ Systèmes actifs d'efflux d'antibiotiques :	81
B/ Classification des pompes d'efflux :	82
1/ Les pompes d'efflux dépendant de la PMF :	83
2/ Les transporteurs ABC	85
B/ Rôle physiologique et impact sur la résistance aux antibiotiques :	85
C/ L'efflux chez les bactéries à Gram négatif :	87

1/ Entérobactéries :.....	87
2/ Bacilles à Gram négatif non fermentaires :.....	88
3/ Neisseria gonorrhoeae :.....	89
<b>B/ Mécanismes enzymatiques : Mécanismes ciblant directement l'antibiotique : .....</b>	<b>90</b>
1/ Classification des $\beta$ -lactamases : .....	92
1.1 / Serines-beta-lactamases :.....	93
1.1.1/ Carbapénèmases de classe A : .....	94
1.1.1.1/ Enzymes codés par le chromosome : SME, NMC et IMI : .....	94
1.1.1.2/ Enzymes codés par le plasmide : KPC et GES : .....	95
1.1.2/ Carbapénèmases de la classe C: (AmpC) .....	98
1.1.3/ Carbapenemases de classe D : .....	99
1.2 / Metallo- $\beta$ -lactamases: Carbapenemases de classe B (MBL) : .....	101
1.2.1/ Caractéristiques générales des Métallo- $\beta$ -lactamases :.....	101
1.2.2/ Diversité et classification des Métallo- $\beta$ -lactamases :.....	102
1.2.3/ Métallo- $\beta$ -lactamases Acquise: .....	103
<b>CHAPITRE V: EPIDEMIOLOGIE ET CLINIQUE: .....</b>	<b>107</b>
1/ Serine beta-lactamases:.....	112
1.1/ Carbapenemases A: .....	112
1.2/ Carbapenemases C et D : .....	115
2/ Metallo- $\beta$ -lactamases (MBL) : carbapenemases de classe B : .....	116
<b>CHAPITRE VI: DETECTION DES CARBAPENEMASES AU LABORATOIRE .....</b>	<b>119</b>
<b>A/ STRATEGIES DE DETECTION DES CARBAPENEMASES :.....</b>	<b>120</b>
<b>B/ METHODES DE DETECTION DES CARBAPENEMASES :.....</b>	<b>123</b>
I/ Approche Bacteriologique : Antibiogramme, CMI :.....	125
1. Méropénème:.....	125
2. Imipénème :.....	125
3. Ertapénème :.....	126

II/Confirmation Phenotypique De La Production Des Carbapenemases:.....	127
3.5.1. Test de Hodge modifies:.....	128
3.5.2. Tests d'inhibition de l'activité des Carbapenemases (Tests de synergie) : ...	129
III / Confirmation Genotypique: .....	130
IV / Controle Qualite : .....	130
V/ Rapport Au Clinique:.....	130
C/DETECTION DES CARBAPENEMASES KPC.....	132
I/ Tests phénotypiques : .....	132
1/ Antibiogramme, CMI.....	132
3/ Test a l'acide boronique : .....	134
4/ Test d'hydrolyse rapide : .....	135
5/ Milieux chromogènes : .....	135
II/ Détection des gènes de carbapénèmases par méthodes moléculaires : .....	136
D/METHODES DE DETECTION DES CARBAPENEMASES DE CLASSE C ET D: .....	139
E/METHODES DE DETECTION DES CARBAPENEMASES DE CLASSE B (MBL): .....	139
1/ Detection phénotypique des carbapenemases :.....	139
1.1/ Test de Hodge Modifie (MHT):.....	140
1.2/ Test Epsilometer (E-test) méthode des bandes MBL :.....	141
1.3/ Double disque test de synergie :.....	142
1.4/ Les méthodes spectrophotométriques .....	143
2/ Méthodes de détection génotypique : .....	143
F SCHEMA GENERALE POUR LE DEPISTAGE ET LA CONFIRMATION DES CARBAPENEMASES .....	144
<b>CONCLUSION</b> .....	145
<b>RESUMES</b> .....	145
<b>BIBLIOGRAPHIE</b> .....	145

## Table des illustrations :

---

<b>Tableau 1</b> : Formule chimique et Affinité préférentielle des différents carbapénèmes pour les protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Et la posologie indicative.....	23
<b>Tableau 2</b> : Caractéristiques pharmacocinétiques des carbapénème.....	31
<b>Tableau 3</b> : Concentrations tissulaires des carbapénèmes (mg/L) : après 1 g de produit .....	32
<b>Tableau 4</b> : Seuils de sensibilité aux carbapénèmes définis par l'EUCAST (S/R).....	34
<b>Tableau 5</b> : Sensibilité comparée de bactéries à gram négatif aux carbapénèmes.....	35
<b>Tableau 6</b> : Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques .....	46
<b>Tableau 7</b> : Porines non spécifiques dont la structure tridimensionnelle est disponible.....	72
<b>Tableau 8</b> : Exemples de systèmes d'efflux de bactéries à Gram négatif incluant les $\beta$ -lactamines dans leur spectre de substrat.....	89
<b>Tableau 9</b> : Schéma de classification des $\beta$ -lactamases .....	93
<b>Tableau 10</b> : Métallo- $\beta$ -lactamases acquis dans différents micro-organismes .....	106
<b>Tableau 11</b> : dépistage des points d'arrêt des carbapénèmes, les points d'arrêt cliniques et épidémiologiques des valeurs limites (mg / L) .....	121
<b>Tableau 12</b> : Critères de sensibilité/résistance aux carbapénèmes selon les recommandations américaines (CLSI) et européennes (EUCAST) .....	121
<b>Tableau 13</b> : gènes des carbapénémases .....	124
<b>Tableau 14</b> : Interprétation des tests de confirmation phénotypique des carbapénémases .....	128
<b>Tableau 15</b> : Séquences des amorces et sondes d'hybridation.....	138

## Figure :

<b>Figure 1 :</b> Structure Générale des penems et carbapénèmes .....	7
<b>Figure 2 :</b> Relation structure-activité des carbapénèmes .....	24
<b>Figure 3 :</b> Pharmacocinétique du doripénème en administration sur 1 heure et sur 4 heures ....	31
<b>Figure 4 :</b> Activité comparée des carbapénèmes sur les entérobactéries résistantes .....	37
<b>Figure 5 :</b> Sélection de souches résistantes aux antimicrobiens .....	45
<b>Figure 6 :</b> Emergence et propagation de souches résistantes .....	45
<b>Figure 7 :</b> Emergence d'une résistance acquise aux antimicrobiens .....	52
<b>Figure 8 :</b> Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactames .....	63
<b>Figure 9 :</b> Représentation schématique de la paroi des BGN et à Gram positif .....	66
<b>Figure 10:</b> Enveloppe d'Escherichia coli. ....	68
<b>Figure 11:</b> Structure de la porine OmpF et de la région de constriction du canal .....	72
<b>Figure 12:</b> Représentation de la porine OmpF et de la région de constriction .....	75
<b>Figure 13:</b> Représentation schématique des cinq familles de pompes d'efflux .....	84
<b>Figure 14:</b> Répartition des $\beta$ -lactamases .....	91
<b>Figure 15:</b> Mécanisme d'inactivation des $\beta$ -lactames par les $\beta$ -lactamases .....	94
<b>Figure 16:</b> Distribution Géographique des carbapénèmases A (KPC) .....	115
<b>Figure 17:</b> Distribution Géographique des carbapénèmases D (OXA) .....	116
<b>Figure 18:</b> Répartition mondiale des (VIM) et (IMP) .....	118
<b>Figure 19:</b> Distribution géographique des NDM-1 .....	118
<b>Figure 20:</b> Schéma de détection des carbapénèmases chez les entérobactéries .....	122
<b>Figure 21:</b> Protocole de test de Hodge modifiés .....	129
<b>Figure 22:</b> Tests phénotypiques complémentaires réalisés a partir d'une souche de Klebsiella pneumoniae productrice de KPC- .....	133
<b>Figure 23:</b> Antibiogramme en diffusion de la souche Klebsiella pneumoniae YC portant le gène blaKPC- .....	133
<b>Figure 24:</b> Recherche par PCR du gène blaKPC .....	138
<b>Figure 25:</b> MHT réalisée sur une plaque de 100 mm MHA .....	140
<b>Figure 26:</b> E-test MBL bande .....	141
<b>Figure 27:</b> L'aspect phénotypique de MBL produit par Serratia marcescens isolé portant le gène blaIMP4 .....	142
<b>Figure 28:</b> Démarche phénotypique pour le dépistage et la confirmation des classes $\beta$ -lactamase .....	144

## Liste des abreviations:

**BGN** : Bactéries à Gram negative

**EUCAST** : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

**CLSI** : Clinical and Laboratory Standards Institute

**SHEA** : Society for Healthcare Epidemiology of America

**IDSA** : Infectious Diseases Society of America

**ESCMID** : European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases.

**ESGARS** : European Study Group for Antimicrobial Resistance Surveillance

**S/R** : Sensible/Resistant

**KPC** : Klebsiella Pneumonia Carbapenemase

**MBL** : Metallo-Beta-Lactamases

**NDM-1** : New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase

**VIM** : Veronica Imipenemases

**OXA** : Oxacillinases

**PLP** : Protéines de liaison aux pénicillines

**CMI** : Concentration Minimal Inhibitrice

**BLSE** : Beta-Lactamases a Spectre Etendue

**SARM** : Staphylococcus Aureus Résistant à la Méricilline

**ERV** : Entérocoque Résistant a la Vancomycine

**LPS** : lipopolysaccharide

**UDP-NAMP** : uridine diphosphate-N-acétyl-muramyl-pentapeptide

**MDR** : multidrug resistance

**MFS** : Major Facilitator Superfamily

**SMR** : Small Multidrug Resistance  
**DMT** : Drug/Metabolite Transporter  
**RND** : Resistance-Nodulation cell Division  
**MATE** : Multidrug And Toxic compound Extrusion.  
**HSL** : Homosérines lactones  
**PCR** : Réaction en chaîne polymérase  
**MH** : Mueller Hinton.  
**EDTA** : Ethylène Diamine Tétra-Acétique.  
**GES** : Guiana Extended Spectrum  
**IBC** : Integron-Borne Céphalosporinase  
**SME** : Serratia Marcescens Enzyme  
**IMI** : Imipénème-hydrolyser par les  $\beta$ -lactamase  
**NMC-A** : Not Métallo-enzyme Carbapénèmase  
**MBL** : Metallo-Beta-Lactamases  
**MHT** : Test de Hodge Modifie



# *Introduction*

Parallèlement à l'utilisation massive des  $\beta$ -lactamines dans le but de l'antibiothérapie sélectionnante, les  $\beta$ -lactamases bactériennes ont évolué vers la diversification, l'élargissement de leur spectre d'activité, et leur diffusion vers de nombreuses espèces d'entérobactéries et de bacilles non fermentant comme *Pseudomonas spp* et *Acinetobacter spp*. Dans ce cadre de nombreuses publications nous ont confirme que nous étions arrives a un tournant en termes de résistance aux antibiotiques.

Depuis le début des années 60, nous assistons à une augmentation du nombre de bactéries résistantes aux antibiotiques, surtout en milieu hospitalier, et à l'émergence de nouvelles résistances. Il s'agit d'un problème de santé publique extrêmement préoccupant, qui affecte de nombreux pays, bien que les souches résistantes soient souvent différentes d'un pays à l'autre.

Dans ce travail, nous nous intéresserons plus particulièrement aux mécanismes de résistance aux carbapénèmes en d'autre terme les carbapénémases, qui sont des enzymes capables d'inactiver les carbapénèmes (imipénème, ertapénème, méropénème et doripénème), sachant que les  $\beta$ -lactamases ayant une activité de carbapénémase sont les plus puissants mécanismes de résistance aux carbapénèmes ; ces derniers représentent le derniers recoure des médecins dans le cas des infections a gram négatif grave. La prévalence de ces différentes carbapénémases a devenu de plus en plus vaste dans le monde entier, pour faire face à ce fléau mondial qui menace la vie de l'humanité il fallait des stratégies de détections plus simple et clair.

Le but de ce travail consiste à mettre le point sur les carbapénèmes, et dégager les différents mécanismes de résistance a cette famille des bétalactamines et de Mettre en évidence les différents méthodes utilise par les laboratoires pour la détection des carbapénémases.



## *Chapitre I :*

### *Présentation des $\beta$ -lactamines*

## **I. GENERALITES. HISTORIQUE [1] :**

La famille des  $\beta$ -lactamines comprend un grand nombre de molécules, toutes caractérisées par la présence d'un cycle  $\beta$ -lactame indispensable à l'activité antibiotique, une faible toxicité, associées à un mode d'action fort complexe sur des protéines de la membrane cytoplasmique, dénommées protéines liant la pénicilline (PLP) ou penicillin binding proteins. Duchesne, élève de l'école du Service de santé militaire de Lyon (1874-1912), dans sa thèse de médecine soutenue en 1897, « Contribution à l'étude de la concurrence vitale chez les microorganismes. Antagonisme entre les moisissures et les microbes », avait déjà remarqué l'existence d'un antagonisme entre les moisissures et les bactéries : des cobayes ayant reçu un bouillon de culture de *Penicillium glaucum* en même temps que des cultures très virulentes de bacille d'Eberth résistaient à l'infection microbienne alors que les cobayes témoins mouraient rapidement.

En 1928, Fleming (1881-1955), professeur de bactériologie à Londres, observa sur une boîte de Pétri, qui contenait une culture de staphylocoques et qui avait été contaminée accidentellement par une moisissure, que les colonies de staphylocoques situées à proximité de la moisissure avaient été lysées. Il identifia cette moisissure comme étant un *Penicillium* et réussit à préparer un « jus de moisissure » qu'il appela pénicilline. Ce n'est qu'en 1940 qu'une équipe de chercheurs d'Oxford, Florey, Chain et Heatley, réussit à obtenir une pénicilline concentrée, partiellement purifiée et stable. Le premier cas de septicémie à staphylocoque fut traité en 1941 à Oxford et, en 1943, les armées alliées commencèrent à recevoir des quantités importantes de pénicilline. Une

fois déterminée la structure biochimique du noyau de base de toutes les pénicillines, l'acide amino-6-pénicillanique en 1959, il fut possible de modifier des molécules d'origine naturelle pour obtenir des antibiotiques semi-synthétiques possédant des propriétés bactériologiques et pharmacologiques encore plus intéressantes. En effet, la résistance de *Staphylococcus aureus* à la pénicilline devient un problème majeur au début des années 1960, affectant l'ensemble des hôpitaux et de plus, à partir de cette époque, les bacilles à Gram négatif prennent une place croissante en pathologie infectieuse. On prépara ainsi des pénicillines résistantes aux pénicillinases du staphylocoque (méthicilline, 1960 ; oxacilline, 1962) et des pénicillines à large spectre actives sur les bactéries à Gram négatif comme l'ampicilline (1963) ou la carbénicilline (1970).

La première céphalosporine, la céphalotine, fut préparée en 1962 à partir de la céphalosporine C, produite par une culture de *Cephalosporium* que Botzu, en 1945, avait isolée d'une eau d'égout à Cagliari et dont il avait montré la forte activité antibiotique. L'acquisition de résistances à ces molécules stimula la recherche et la mise sur le marché de nouvelles molécules s'accéléra avec l'apparition des céphalosporines de troisième génération (céfotaxime, 1981), des carbapénèmes (imipénème, 1985) et des monobactames (aztréonam, 1986). En parallèle, de nouvelles pénicillines comme les uréidopénicillines (pipéracilline, 1981) et des associations à des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases voyaient le jour : amoxicilline-acide clavulanique en 1984, ampicilline-sulbactam en 1986 et pipéracillinetazobactam en 1993.

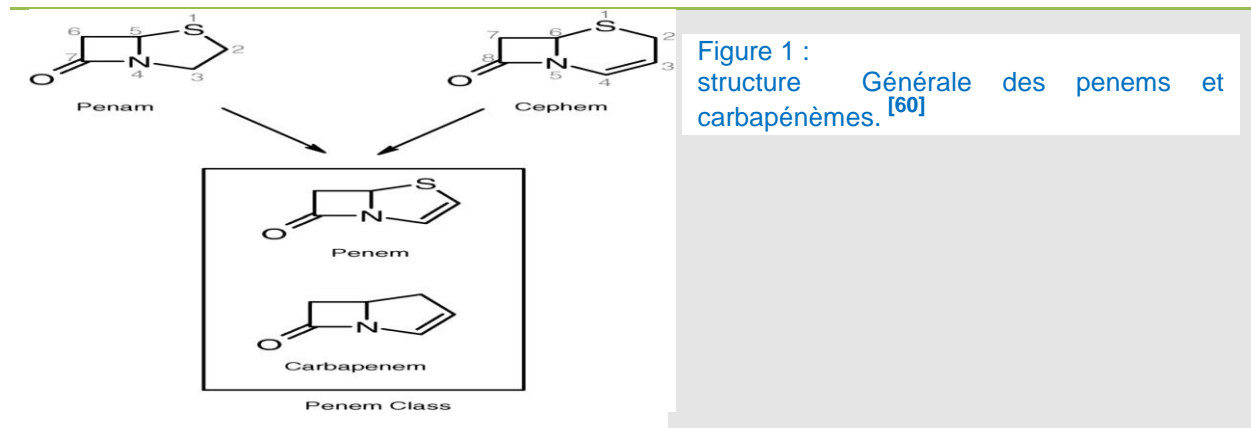
## II. CLASSIFICATION DES $\beta$ -LACTAMINES [1] :

La majorité des  $\beta$ -lactamines, dont le représentant le plus ancien est la pénicilline G, sont maintenant obtenues par hémisynthèse. Les  $\beta$ -lactamines, qu'elles soient naturelles ou produites par hémisynthèse, sont classées en fonction de la nature du noyau entrant dans leur structure de base. La structure du noyau de base, qui comporte toujours le cycle  $\beta$ -lactame, permet de répartir ces produits en trois grands groupes: les dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique, les dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique et les monobactames.

### A. Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique :

Leur noyau de base associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle thiazolidine, spécifique des pénicillines. Il intègre le grand groupe des  $\beta$ -lactamines ayant un noyau péname, caractéristique des pénicillines, parmi lesquelles il y a lieu de distinguer au moins sept sous-groupes différenciés par leur structure chimique, leur stabilité, leur spectre et leur activité antibactérienne. Ce sont : les phénoxy-pénicillines et analogues de la pénicilline G, la méthicilline et les isoxazoly-pénicillines, les aminopénicillines, les carboxypénicillines, les acyluréidopénicillines, les amidinopénicillines, les pénicillines sulfonées et les méthoxycarboxypénicillines. Cette liste n'est pas close en raison de l'individualisation d'un nouveau type de pénicilline dont l'activité antibactérienne est ostensiblement améliorée. D'autres  $\beta$ -lactamines ont un noyau qui dérive du noyau péname par substitution du soufre en position 1 :

- la substitution du soufre en position 1 du noyau péname par un oxygène est à l'origine du noyau clavame ; l'acide clavulanique est la seule molécule naturelle actuellement commercialisée dans ce groupe ;
- la substitution du soufre en position 1 du noyau péname par un atome de carbone est à l'origine du noyau pénème (Figure : 1) ; les carbapénèmes les plus connus sont l'imipénème, le méropénème et l'ertapénème et récemment doripénème.
-



## B. Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique :

Leur noyau de base associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle dihydrothiazine pour former l'acide 7-aminocéphalosporanique ou 7-ACA (noyau céphème), qui distingue les céphalosporines des pénicillines. Suivant les substituants en R3 et R4, on distingue les céphalosporines, les céphamycines et les oxacéphèmes. La particularité du noyau céphème et les nombreux radicaux de substitution proposés expliquent les propriétés antibactériennes différentes des céphalosporines, justifiant leur distinction fonctionnelle en plusieurs générations, de spectre et d'intérêt clinique variables.

## C. Monobactames :

Leur noyau se caractérise par la présence du noyau monocyclique, azétidine, limité au cycle  $\beta$ -lactame. Seul l'aztréonam est à l'heure actuelle prescrit.

### III. RELATION STRUCTURE-ACTIVITE ET SPECTRE ANTIBACTERIEN [1] :

#### A. Dérivés de l'acide 6-amino-pénicillanique :

Selon que le noyau est un pénème, un pénème ou un clavame, diverses substitutions confèrent à la molécule des propriétés et une activité antibactérienne variable qui s'exprime dans les variations du spectre d'activité antibactérien.

##### 1. Pénames (ou pénicillines) :

Il s'agit d'une vaste famille de produits ayant en commun le noyau pénème qui est caractérisé par un pentacycle saturé associé au noyau  $\beta$ -lactame. Les produits de ce groupe se distinguent par la nature du radical fixé sur le carbone en position 6 (R6). Ils se répartissent en cinq principaux sous groupes:

- la pénicilline G et ses dérivés ;
- les pénicillines antistaphylococciques (pénicillines M) ;
- les pénicillines à large spectre regroupant l'ampicilline et apparentés ainsi que les pénicillines anti-Pseudomonas ;
- les amidinopénicillines ;
- les pénicillines sulfones.

##### Sous-groupe de la pénicilline G

La benzylpénicilline, connue sous le nom de pénicilline G, possède un acide phénylacétique en position 6. Elle ne passe pas la barrière digestive car elle est rapidement détruite par les sucs gastriques et ne peut donc pas être utilisée par voie orale. La modification de cette chaîne latérale en 6 par une

liaison oxygène aboutit à des composés plus stables qui sont partiellement absorbés comme les phénoxyéthylpénicillines (pénicillines V) et peuvent être utilisés par voie orale. L'addition de procaïne permet de ralentir l'absorption de la benzylpénicilline après injection intramusculaire. Toutes ces pénicillines ont une activité identique contre les cocci à Gram positif et négatif, ainsi que contre quelques bacilles à Gram positif comme les corynébactéries ou les Clostridium. Les bacilles à Gram négatif, naturellement résistants par imperméabilité, ne sont inhibés que par de très fortes concentrations qui ne peuvent pas être atteintes en thérapeutique. Les pénicillines G et V sont inactives sur les staphylocoques producteurs de pénicillinase.

#### ➤ **Pénicillines antistaphylococciques**

Malgré une excellente activité initiale in vitro contre les staphylocoques, la fréquence très élevée des résistances acquises par production de pénicillinases a fortement limité l'intérêt de la pénicilline G et de ses dérivés pour le traitement des infections à staphylocoques. L'addition de nouvelles chaînes en position 6 au noyau péname a permis d'empêcher l'attachement des pénicillinases des staphylocoques et ainsi d'obtenir des pénicillines qui résistent à l'hydrolyse. Le premier produit obtenu, la diméthoxybenzylpénicilline (méthicilline) n'était administrable que par voie parentérale du fait d'une destruction rapide par les sucs gastriques, alors que les isoxazolylpénicillines comme l'oxacilline, la cloxacilline, la dicloxacilline ou la flucloxacilline sont utilisables par voie orale. Cependant, ce sont des pénicillines à spectre étroit car, en dehors de *S. aureus* producteur de pénicillinase (plus de 90 % des *S. aureus*), ces produits ont une moins bonne activité intrinsèque que la pénicilline G et ses dérivés.

➤ **Pénicillines à large spectre**

Depuis la découverte de Fleming, plusieurs améliorations majeures ont été accomplies pour obtenir un spectre d'activité plus étendu que celui de la pénicilline G. La première des aminopénicillines, l'ampicilline (ou aminobenzylpénicilline), a été obtenue en modifiant la benzylpénicilline par le branchement d'un radical aminé (NH<sub>2</sub>) sur sa chaîne latérale en position 6. Cette modification lui confère une meilleure stabilité en milieu acide et élargit le spectre à de nombreux bacilles à Gram négatif non naturellement producteurs de  $\beta$ -lactamases constitutives comme *Escherichia coli*, *Proteus mirabilis*, *Salmonella enterica*, *Shigella* spp. ou *Haemophilus influenzae*. L'activité est également plus forte que celle de la benzylpénicilline sur les streptocoques et sur *Enterococcus faecalis*. Il existe de nombreux dérivés de l'ampicilline qui, métabolisés dans l'organisme, libèrent de l'ampicilline : bacampicilline, pivampicilline, métampicilline. De même, il existe des analogues dont le plus utilisé est l'amoxicilline, qui a comme avantages une meilleure pharmacocinétique, une meilleure absorption orale et une activité plus rapidement bactéricide que l'ampicilline. Le spectre d'activité de ces dérivés et analogues est identique à celui de l'ampicilline.

Les carboxypénicillines (carbénicilline, ticarcilline) sont des produits administrés par voie parentérale (et inactifs per os) qui se différencient des aminopénicillines par un spectre encore plus étendu sur les bacilles à Gram négatif, englobant en particulier *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, ou des entérobactéries comme les *Proteus indole positif*, *Serratia* spp., *Enterobacter* spp. ou *Citrobacter freundii*. Toutes ces espèces sont résistantes aux aminopénicillines par l'action conjuguée de la barrière de

perméabilité de leur membrane externe et de l'hydrolyse dans l'espace périplasmique bactérien par une b-lactamase constitutive chromosomique. Cependant, cette augmentation d'activité sur les bacilles à Gram négatif par rapport aux aminopénicillines est compensée par une activité plus faible sur les bactéries à Gram positif, en particulier *E. faecalis* et *H. influenzae*. Ces pénicillines ont un groupement carboxyl (COOH) sur la chaîne latérale en C6 en position a de l'acide 6-amino-pénicillanique. La présence d'un groupement benzyl différencie la carbénicilline de la ticarcilline qui a un groupement thiényl.

### **Les acyluréidopénicillines**

Sont des pénicillines à large spectre d'utilisation parentérale. Ces pénicillines ont en commun la substitution du groupement urée sur la chaîne latérale en C6 en position a de l'acide 6-amino-pénicillanique. Les principales acyluréidopénicillines sont l'azlocilline (groupement imidazolidinone), la mezlocilline (groupement méthyl-sulfonyl-imidazolidone) et la pipéracilline (groupement éthyl-dioxo-pipérazine). Le spectre d'activité de ces molécules est très large car il conjugue celui des aminopénicillines et celui des carboxypénicillines. La pipéracilline est le produit qui présente les meilleures activités in vitro.

### **➤ Amidinopénicillines**

Le pivmécillinam, ester oral du mécillinam, est la seule amidinopénicilline actuellement disponible. Les amidinopénicillines diffèrent des autres pénicillines par la substitution d'une liaison méthylène en C6 sur le noyau pénème. Cette substitution les rend très actives sur certaines entérobactéries des voies urinaires, avec une affinité particulière pour les PLP2 d'*E. coli*, mais peu actives sur l'ensemble des bactéries à Gram positif.

➤ **Pénicillines sulfones**

Les principaux composés de ce sous-groupe sont le sulbactam et le tazobactam. Bien qu'ayant une activité antibactérienne propre à de fortes concentrations, ce sont surtout des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases par attachement et formation de complexes covalents irréversibles qui aboutissent à l'inactivation du site actif d'un grand nombre de  $\beta$ -lactamases appartenant essentiellement à la classe A de Ambler. Ces deux produits sont très proches et présentent une sulfonation en position 1 sur le noyau pénème. Ils diffèrent essentiellement par une substitution de la chaîne latérale en position 2.

**2. Carbapénèmes : (voir chapitre des carbapénèmes)**

**3. Oxapénames ou clavames :**

Le noyau clavame dérive du noyau pénème par substitution du soufre en position 1 par un oxygène. Le seul représentant actuellement utilisé est l'acide clavulanique, qui inhibe la plupart des  $\beta$ -lactamases de la classe A de Ambler en se fixant sur leurs sites actifs. L'acide clavulanique a par lui-même une activité antibactérienne propre, mais c'est surtout un inhibiteur progressif et irréversible de différentes  $\beta$ -lactamases de la classe A de Ambler. Ce type de  $\beta$ -lactamine est administré en association avec une autre  $\beta$ -lactamine comme l'amoxicilline ou la ticarcilline, ce qui permet de récupérer, au moins partiellement, leur activité en présence de souches bactériennes productrices de  $\beta$ -lactamases.

## **B. Dérivés de l'acide 7-amino-céphalosporanique :**

Leur noyau de base associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle dihydrothiazine pour former l'acide 7-aminocéphalosporanique (noyau céphème), qui distingue les céphalosporines des pénicillines. On retrouve au sein de ce groupe l'ensemble des céphalosporines. La particularité du noyau céphème et les nombreux radicaux de substitution proposés expliquent les propriétés antibactériennes fortes différentes des céphalosporines, justifiant leur distinction en plusieurs générations de spectre et d'intérêt clinique variables.

Les céphalosporines de première génération ont un spectre limité aux cocci à Gram positif, essentiellement les streptocoques et les staphylocoques sensibles à la méthicilline et à quelques entérobactéries ne produisant pas de céphalosporinase inductible comme *E. coli*, les salmonelles, *P. mirabilis* ou *Klebsiella* spp. Elles sont hydrolysées facilement par les  $\beta$ -lactamases acquises. Les principaux produits actuellement disponibles en France sont la céfalotine, la céfazoline et la céfapirine pour les formes parentérales, le céfaclor, le céfadroxil et la céfalexine pour les formes orales.

Les céphalosporines de deuxième génération ont un spectre un peu élargi au sein des entérobactéries, avec des variations suivant les molécules. Les céphamycines comme la céfoxitine et le céfotétan leur sont rattachées du fait de leur spectre très proche, étendu à certaines entérobactéries productrices de  $\beta$ -lactamase à spectre étendu et aux anaérobies à Gram négatif.

Les céphalosporines de troisième génération se distinguent par un accroissement important de leur spectre antibactérien et par leur stabilité à la plupart des  $\beta$ -lactamases comme les pénicillinases de type TEM ou les céphalosporinases chromosomiques des entérobactéries, de *P. aeruginosa* et *A. baumannii*. Cependant, en cas d'hyperproduction de la céphalosporinase

chromosomique ou de production de  $\beta$ -lactamases à spectre élargi, ces céphalosporines sont inactivées. Elles sont par ailleurs moins efficaces sur les staphylocoques que les céphalosporines de première génération. Les principales molécules disponibles par voie parentérale sont le céfotaxime, la ceftriaxone, la ceftazidime et le ceftizoxime. D'autres molécules sont utilisées par voie orale comme le céfixime, le cefpodoxime proxétile ou le céfotiam. Les dernières céphalosporines injectables de troisième génération commercialisées (céfépime, cefpirome) et appelées par certains « de quatrième génération » présentent un gain d'activité sur les cocci à Gram positif, une activité sur *P. aeruginosa* et une meilleure résistance à l'hydrolyse par les céphalosporines hyperproduites.

Suivant les substitutions effectuées sur les carbones du noyau céphème, on modifie soit la stabilité aux  $\beta$ -lactamases (radicaux R1, R3, R4), soit l'activité intrinsèque (radical R1 et/ou R2) ou la pharmacocinétique (radical R2). D'autres substitutions peuvent modifier la vitesse de pénétration au travers des porines de la membrane externe, l'affinité de l'antibiotique pour les PLP ou son pouvoir inducteur sur les  $\beta$ -lactamases constitutives. Suivant les substituants en R3 et R4, on distingue les céphalosporines, les céphamycines et les oxacéphèmes.

### **1. Céphalosporines :**

Le noyau central céphème associe un cycle  $\beta$ -lactame à un cycle dihydrothiazine (en position 1 on trouve un atome de soufre). Les substitutions du radical R1 en position 7 modifient les propriétés antibactériennes et la stabilité de la molécule. Les substitutions du radical R2 en position 3 concernent essentiellement les propriétés pharmacocinétiques de la molécule tout en pouvant renforcer les propriétés antibactériennes, en particulier vis-à-vis de *P. aeruginosa*.

➤ **Substitutions du radical R1 en position 7 :**

• Aminothiazol céphalosporines.

La substitution en R1 par un hétérocycle amino-2-thiazolyl accroît l'activité antibactérienne des céphalosporines vis-à-vis des bacilles à Gram négatif. Il permet une acylation maximale et irréversible des transpeptidases pariétales avec une augmentation de l'affinité pour les PLP3 des entérobactéries. La présence de ce volumineux radical confère par l'encombrement stérique du noyau  $\beta$ -lactame une certaine résistance à l'hydrolyse par les  $\beta$ -lactamases. Les principaux représentants sont essentiellement des céphalosporines de troisième génération. L'absence de substituant en  $\alpha$  de la chaîne latérale branchée sur le carbone 7 confère une bonne activité antistaphylococcique sur les souches méthicilline-sensibles, mais une moindre stabilité à l'hydrolyse des  $\beta$ -lactamases : un exemple en est le céfotiam. L'introduction sur la chaîne latérale branchée sur le carbone 7 en position  $\alpha$  d'un groupement méthoxy-imino augmente considérablement la stabilité vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases. Ce groupement  $\alpha$  donné naissance à des céphalosporines dites de troisième génération, aux propriétés antibactériennes sensiblement proches, à quelques exceptions près, mais qui diffèrent par leur radical fixé en 3 du cycle dihydrothiazine et, donc, par leurs propriétés pharmacocinétiques. Les principales sont le céfotaxime, la ceftriaxone, la ceftizoxime, le céfixime, la cefpodoxime et la ceftazidime. Ces céphalosporines se caractérisent par une puissante activité antibactérienne vis-à-vis d'*Haemophilus*, des entérobactéries, de *Neisseria meningitidis* et de *Neisseria gonorrhoeae*. Leur action sur les bactéries à Gram négatif est dix à 100 fois plus puissante que celle des

céphalosporines de première et deuxième générations. En outre, leur spectre inclut les cocci à Gram positif comme les streptocoques  $\beta$ -hémolytiques des groupes A, B, C, G et *Streptococcus pneumoniae* pour certaines d'entre elles. La plupart d'entre elles, comme le céfotaxime, la ceftriaxone, la ceftizoxime, le céfixime ou le cefpodoxime ont cependant une activité restreinte sur *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. En revanche, la ceftazidime possède un groupement carboxypropyl-oxy-imino en position latérale qui protège davantage le noyau  $\beta$ -lactame des  $\beta$ -lactamases de *P. aeruginosa* et renforce son activité vis-à-vis de cette espèce, mais la présence de ce radical carboxy diminue l'affinité pour les PLP des streptocoques et des staphylocoques par rapport aux autres aminothiazolcéphalosporines.

- $\alpha$ -pipérazine-dione-céphalosporine.

La présence du radical  $\alpha$ -pipérazine-dione en R1 assure une forte élimination biliaire, augmente l'activité contre *P. aeruginosa*, mais confère une activité inférieure aux méthoxyimino-céphalosporines sur les entérobactéries, due à une moindre résistance aux  $\beta$ -lactamases plasmidiques de type TEM, très fréquentes chez les entérobactéries. La céphalosporine la plus connue de ce sous-groupe est la céfopérazone, qui est considérée comme une céphalosporine de troisième génération.

- $\alpha$ -sulfo-céphalosporines.

Le radical R1, constitué d'un groupement  $\alpha$ -sulfo-phényl, chargé négativement, confère à ces céphalosporines une activité accrue sur *P. aeruginosa* et une faible activité sur les entérobactéries. La cefsulodine est ainsi une céphalosporine anti-*Pseudomonas* à spectre étroit.

- $\alpha$ -méthoxy-imino-céphalosporines.

La présence d'un radical  $\alpha$ -méthoxy-imino en R1 confère à ces céphalosporines, dont les plus connues sont le céfotaxime et la ceftriaxone, un élargissement du spectre vers les bacilles à Gram négatif et une stabilité plus grande vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases que les céphalosporines de première génération.

➤ Substitutions du radical R2 en 3 :

Les substitutions du radical R2 en 3 vont essentiellement modifier les propriétés pharmacocinétiques des céphalosporines.

La présence en position 3 du méthyl-thiotétrazole, que l'on retrouve par exemple avec la céfopérazone, s'accompagne d'une augmentation de l'affinité pour les PLP3. La présence de ce groupement a été rendue responsable d'hypoprothrombinémie avec des troubles de la coagulation et d'un effet Antabuse par analogie de structure avec le disulfirame. Avec le céfotiam, l'hétérocycle thiotétrazole est substitué par une chaîne diméthyl-amino-éthyl qui lui confère des propriétés cinétiques particulières, notamment une augmentation de la diffusion extravasculaire et un volume apparent de distribution deux à trois fois supérieur aux autres céphalosporines. Pour la cefsulodine, la présence d'une substitution du pyrimidium par un groupement carbamoyl en R2 assure une grande stabilité à la dégradation par les diacétylases. La bonne activité anti-Pseudomonas repose sur l'association d'une charge négative en 7 et d'une charge positive sur l'azote du pyridinium. Parmi les aminothiazol céphalosporines, on peut ainsi distinguer les propriétés des différents produits. La ceftizoxime n'est pas substituée en 3 et n'est pas métabolisée in vivo. Le céfotaxime, qui possède en position 3 une chaîne latérale acétoxy-méthyle, est

métabolisé dans l'organisme en quatre composés : le désacétyl-céfotaxime (16 %), le désacétylcéfotaxime lactone, M2 et M3. Le désacétylcéfotaxime a une activité de quatre à sept fois inférieure au céfotaxime. Il est cependant plus actif que les céphalosporines de première ou deuxième génération sur les entérobactéries, *Haemophilus* et *Neisseria*, et l'association du céfotaxime et du désacétyl-céfotaxime est synergique. La ceftriaxone, qui possède en position 3 un hétérocycle thiotriazine, est caractérisée par une demi-vie d'élimination longue (8 heures) et une forte liaison aux protéines. Pour la ceftazidime, l'introduction de l'hétérocycle pyridinium chargé positivement en position 3, associé à une charge négative en 7, favorise le passage à travers la membrane externe de *P. aeruginosa* et assure ainsi une très bonne activité anti-*Pseudomonas*. L'introduction d'un hétérocycle portant un atome d'azote en position 3 des aminothiazolyloxy- imino-céphalosporines permet d'obtenir des zwitterions (une charge positive et une charge négative) comme le céfépime ou le cefpirome qui ont des propriétés supérieures aux molécules ayant une charge unique ou deux charges négatives identiques (ceftazidime, cefsulodine). La charge positive de l'atome d'azote en position 3 neutralise la charge négative de la fonction carboxylique en position 4. Ceci entraîne une augmentation de l'hydrophilie de la molécule et une meilleure diffusion à travers la membrane externe des bacilles à Gram négatif. Elles ont une faible affinité pour les céphalosporinases présentes dans l'espace périplasmique de certaines espèces comme *P. aeruginosa* ou *Enterobacter* spp. La présence du groupement polaire bicyclique cyclopentopyridinium élargit le spectre des amino-2-thiazole méthoxy iminocéphalosporines (cefpirome) à *P. aeruginosa*, à *S. aureus* sensible à la méthicilline et, à un moindre degré, aux entérocoques.

## **2. Céphamycines :**

Les principales molécules sont la céfoxitine et le céfotétan qui sont rattachées, du fait de leurs propriétés, aux céphalosporines de deuxième génération. Elles sont caractérisées par un radical  $\alpha$ -méthoxy en position 7. Ce radical protège le noyau  $\beta$ -lactame de l'hydrolyse par les  $\beta$ -lactamases, mais est responsable d'un effet inducteur intense sur les céphalosporinases chromosomiques. Elles sont actives sur les staphylocoques sensibles à la méthicilline, sur *S. pneumoniae* sensible à la pénicilline, mais sans gain notable par rapport aux céphalosporines de première génération. Elles sont également actives sur la plupart des entérobactéries, les bactéries anaérobies à Gram négatif et conservent leur activité sur les entérobactéries qui produisent une  $\beta$ -lactamase à spectre élargi.

## **3. Oxacéphèmes :**

Dans le moxalactam, l'atome de soufre en position 1 du noyau céphème est remplacé par un atome d'oxygène. La présence de ce noyau dihydro-oxazine (oxacéphème) permet une meilleure pénétration à travers la paroi des bacilles à Gram négatif, en raison de la plus grande hydrophilie de la molécule, et une activité inhibitrice de certaines  $\beta$ -lactamases par une analogie de structure avec les clavames (acide clavulanique). En revanche, il en résulte une diminution de l'activité vis-à-vis des cocci à Gram positif par diminution de l'affinité pour leurs PLP. L'adjonction d'un radical méthoxy en 7, comme pour les céphamycines, confère une résistance substantielle à l'inactivation par les  $\beta$ -lactamases, le groupe carboxyl procure une grande stabilité contre les céphalosporinases et le radical thiométhyl-tétrazole augmente l'affinité de la molécule pour les PLP3 des entérobactéries.

#### **4. Monobactames :**

Ce dernier groupe a été individualisé en 1976. Le noyau des monobactames est limité au cycle  $\beta$ -lactame. Les premiers monobactames ont été isolés de substances naturelles produites par certaines bactéries, mais les produits récents sont entièrement synthétiques. Le seul produit utilisé actuellement est l'aztréonam. Une série de substitutions latérales sur le noyau monobactame lui confère ses caractéristiques originales. Une chaîne latérale aminothiazolyl lui confère une très bonne activité contre les bactéries à Gram négatif aérobies et plus particulièrement contre les entérobactéries pour lesquelles il possède une activité comparable à celle des céphalosporines de troisième génération en raison de sa bonne stabilité vis-à-vis des  $\beta$ -lactamases. Son activité s'étend à *P. aeruginosa*. Il n'a en revanche aucune activité sur les bacilles à Gram positif et les anaérobies.



*Chapitre II :*

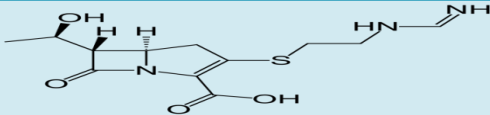
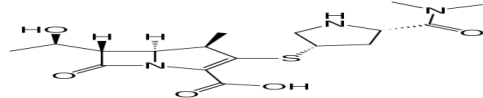
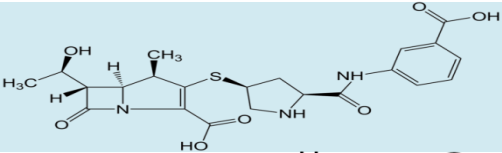
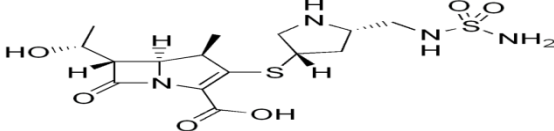
*Carbapénèmes*

## **I. DEFINITION: [2]**

Les carbapénèmes sont des  $\beta$ -lactamines possédant un très large spectre antibactérien doublé d'une grande stabilité envers la quasi-totalité de betalactamases. Pour cette raison, ils font partie des antibiotiques utilisés en première ligne au cours du traitement probabiliste des infections nosocomiales sévères. Quatre molécules sont commercialisées : l'imipénème, le méropénème, l'ertapénème et Le doripénème. Leur spectre in vitro couvre la plupart des bactéries y compris les anaérobies, les exceptions notables étant les staphylocoques résistants à la méticilline, *S. maltophilia*, *E. faecium* et pour l'ertapénème *P. aeruginosa*. Comme toutes les  $\beta$ -lactamines, les carbapénèmes exercent un effet bactéricide temps-dépendant. Le paramètre le plus prédictif de l'efficacité est un temps supérieur au CMI d'au moins 40 %. Les infections nosocomiales sont les principales indications de ces molécules. La principale menace pour le futur est l'émergence, récemment constatée, d'entérobactéries productrices de carbapénémases.

## II. DERIVES :

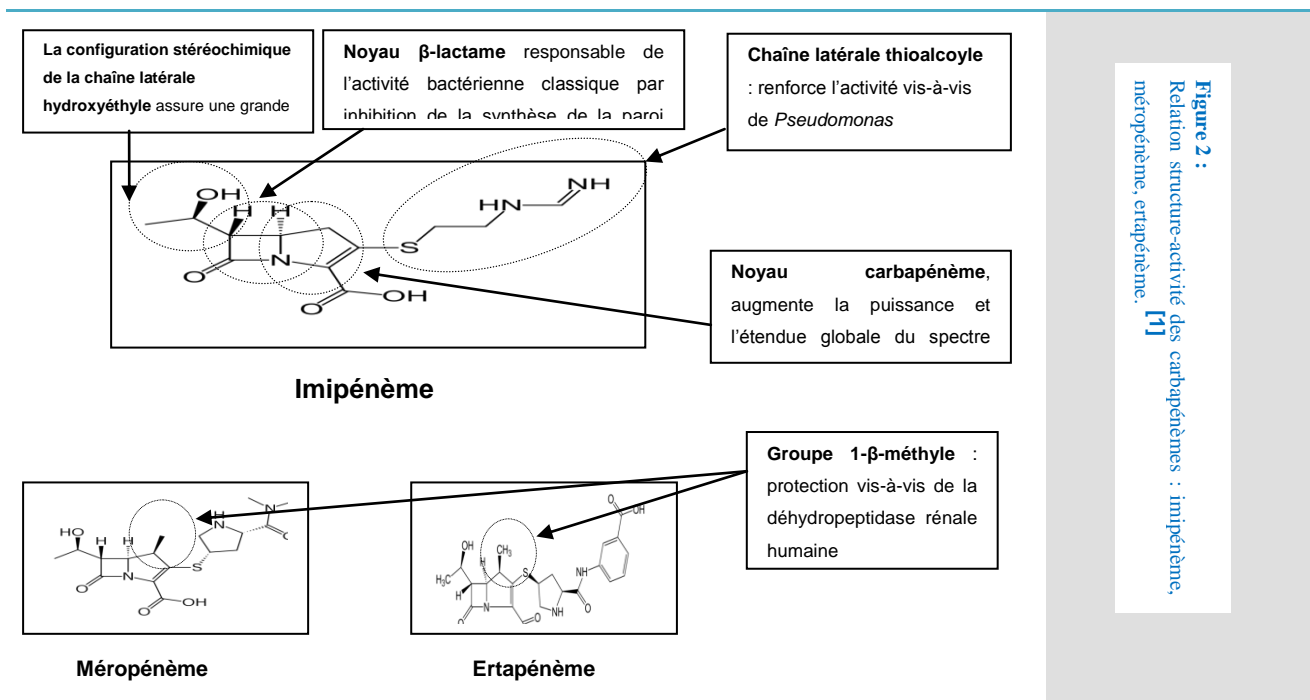
**Tableau 1 :** Formule chimique et Affinité préférentielle des différents carbapénèmes pour les protéines de liaison à la pénicilline (PLP). Et la posologie indicative [69, 70]

CARBAPENEMES	Formule chimique	Cible*	Posologies indicatives
IMPENEMES		PLP-2, PLP-1a/1b, PLP-4, PLP-5	1g - 2g/ j 50 mg·kg <sup>-1</sup> ·j <sup>-1</sup>
MEROPENEMES		PLP-2, PLP-3, PLP-4	50mg - 2g/j
ERTAPENEMES		PLP-2, PLP-3 pour E.coli PLP-1a/1b, PLP-4, PLP-5 pour les autres bactéries	1g/j
DORIPENEMES		PLP-2 pour E. coli PLP-2, PLP-3 pour Pseudomonas aeruginosa	1500mg/j en 3 administrations

## III.RELATION STRUCTURE-ACTIVITE DES CARBAPENEMES : [1]

Les carbapénèmes possèdent en position 6 un groupement hydroxyéthyle en position trans à la place des groupes amino-acyl en cis portés par les autres  $\beta$ -lactamines. Ce groupement assure une stabilité importante vis-à-vis de l'action d'une grande variété de  $\beta$ -lactamases (Figure 2) et augmente l'activité vis-à-vis d'espèces comme *P. aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Serratia* spp. et *Citrobacter* spp. Cet antibiotique, peu inactivé par les  $\beta$ -lactamases bactériennes, est cependant biotransformé par la déhydropeptidase rénale chez l'homme et les primates, justifiant sa prescription en association avec un inhibiteur de cette enzyme, la cilastatine. Pour d'autres carbapénèmes comme le méropénème,

l'adjonction d'un groupe 1- $\beta$ -méthyl en position 1 permet une protection importante vis-à-vis de l'action de cette enzyme et permet d'éviter l'addition de cilastatine (Figure 2). La présence en position 2 d'une chaîne latérale variable selon les produits permet de renforcer l'activité vis-à-vis de *P. aeruginosa* et des autres bactéries à Gram négatif. Ainsi, le méropénème a une activité légèrement supérieure à l'imipénème sur l'ensemble des bacilles à Gram négatif. L'ertapénème est proche du méropénème, possède également un groupe 1- $\beta$ -méthyl en C1 et une activité comparable à celle du méropénème sur les bactéries à Gram positif et la plupart des bacilles à Gram négatif, mais cette activité reste très inférieure à celle du méropénème pour *P. aeruginosa* et *A. baumannii*.



## **IV. ANALYSE COMPARATIVE DES MOLECULES DISPONIBLES :**

[3]

### **1. Données microbiologique:**

Les carbapénèmes (imipénème, méropénème, doripénème, Ertapénème) ont en commun d'être actifs sur les bactéries à Gram négatif et les bactéries à Gram positif incluant les bactéries aérobies et anaérobies. Chez les bactéries à gram négatif, ils agissent sur les protéines de liaisons aux pénicillines (PLP) de haut poids moléculaire, expliquant leur activité bactéricide. Chez les bactéries à Gram positif, ils ont peu ou pas d'activité sur les PLP de faible affinité (PLP2a des staphylocoques et PLP 5 des entérocoques), ce qui explique leur absence d'activité sur les staphylocoques résistants à l'oxacilline et leur faible activité sur les entérocoques.

#### **1.1/ Bactéries à gram négatif :**

Les différentes molécules de la classe des carbapénèmes ont un spectre très voisin, à l'exception notable de l'Ertapénème qui n'incluse pas dans son spectre les souches de *P.aeruginosa* et *Acinetobacter baumannii* :

- Sur les entérobactéries, les carbapénèmes sont, en France, actifs sur la quasi-totalité des souches ; le méropénème, le Doripénème et l'Ertapénème sont cependant quatre à huit fois plus actifs que l'imipénème avec des CMI comprises entre 0,03 et 0,25 µg/ml ;
- Sur *P.aeruginosa*, le Doripénème et le méropénème sont deux à quatre fois plus actifs que l'imipénème avec des CMI comprises entre 0,25 et 1 µg/ml sur les souches les plus sensibles. La résistance de cette espèce à l'imipénème, au méropénème et au doripénème est éminemment variable en fonction de la pathologie (mucoviscidose par exemple) et de l'épidémiologie locale. En moyenne, elle est présente chez 20% des

souches hospitalières ;

- Sur *Burkholderia cepacia*, l'Ertapénème est inactif alors que le Doripénème et le méropénème restent plus actifs que l'imipénème, avec des CMI 50% cependant situées dans la zone de sensibilité intermédiaire ;
- Aucun carbapénème n'incluse *Stenotrophomonas maltophilia* dans son spectre.

Les  $\beta$ -lactamases à spectre élargi (BLSE), présentes chez 5% des entérobactéries et 0.5% des *P.aeruginosa* (Onerba 2007, 2009), comme l'hyperproduction de céphalosporinase, n'entraînent pas de résistance vis-à-vis des carbapénèmes, en l'absence de mécanisme de résistance associé. L'ertapénème est le pénème le plus facilement inactivé par certaines BLSE (ex : CTX-M15) ou l'hyperproduction de céphalosporinase, lorsqu'un mécanisme d'imperméabilité ou d'efflux est associé, combinaisons qui soient essentiellement chez *Klebsiella* et *Enterobacter*. Les carbapénémases, quel qu'en soit le type, inactivent tous les carbapénèmes. Les souches d'entérobactéries et de *P. aeruginosa* productrices de carbapénémase sont à ce jour encore sporadiques en France, ce qui n'est pas le cas dans d'autres pays.

A ce jour, le mécanisme prédominant de la résistance chez *P.aeruginosa* reste l'association d'une imperméabilité (déficit en porine et/ou augmentation de l'efflux) à la production de céphalosporinase chromosomique. Certains variants de cette  $\beta$ -lactamase amplifient le phénomène, d'où un haut niveau de résistance. En 2010, le méropénème et le doripénème restent actifs sur environ 20% des souches de cette espèce considérées comme résistantes à l'imipénème. Tous les carbapénèmes exposent à un risque majeur et relativement facile de sélection de ce type de résistance.

### **1.2 / Bactéries à gram positif :**

Les carbapénèmes sont tous très actifs sur la plupart des bactéries à Gram positif, avec un léger avantage pour l'imipénème alors que l'ertapénème reste la molécule la moins efficace. Leurs CMI 90 % ne dépassent pas 0,06 mg/ml sur les streptocoques et les pneumocoques sensibles, 0,25 mg/ml pour les *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline, et 1-2 mg/ml pour les pneumocoques résistants à la pénicilline. Seul l'imipénème présente une CMI 90 % ne dépassant pas 4 mg/ml sur *Enterococcus faecalis*. Aucun carbapénème n'est actif sur les *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM).

### **1.3/ Bactéries anaérobies :**

Très actifs sur les anaérobies à Gram négatif, les carbapénèmes sont peu ou pas actifs sur *Clostridium difficile*.

## **2. Risque écomicrobiologique :**

L'utilisation raisonnée et limitée des carbapénèmes devrait éviter de voir s'amplifier la sélection de *P. aeruginosa* résistants par imperméabilité ainsi que l'acquisition et la diffusion de carbapénémases au sein des entérobactéries et du genre *Pseudomonas*. Chez les bactéries à Gram positif le risque d'émergence de résistance est plus limité (mutants de PLP) mais la pression de sélection exercée par les pénèmes sur les SARM et les *E. faecium* est identique à celle exercée par les autres  $\beta$ -lactamines.

### **3. Données pharmacologiques :**

#### **3.1/ Pharmacocinétique :**

Les carbapénèmes doivent être séparés en deux catégories différentes. D'une part, l'ertapénème, fortement lié aux protéines (de l'ordre de 85 à 90 %), dont la demi-vie est de quatre heures et, d'autre part, l'imipénème, le méropénème et le doripénème dont les pourcentages de liaison sont respectivement de 20 %, 2 % et 9 % et la demi-vie de l'ordre d'une heure. Ces différences pharmacocinétiques expliquent le schéma posologique de l'ertapénème avec une seule injection par jour (Tableau 2). Leur diffusion est adéquate dans la majorité des tissus. Mais il existe des variations interindividuelles très importantes et les concentrations tissulaires rapportées dans la littérature sont variables d'une étude à l'autre. Pour toute CMI supérieure à 1 mg/L, les concentrations tissulaires risquent d'être insuffisantes, tout en restant supérieures aux concentrations critiques définissant une bactérie considérée comme sensible sur les résultats de l'antibiogramme. Cette situation est à l'origine d'échecs cliniques imputables à des concentrations insuffisantes d'antibiotiques, à des phénomènes de sélection sous traitements de mutants résistants ou à des surinfections par des souches résistantes.

Tous les carbapénèmes ont une élimination essentiellement rénale. Mais à la différence de l'ertapénème (dont seulement 45 % sont éliminés sous forme inchangée), les autres carbapénèmes sont majoritairement éliminés sous forme inchangée (de l'ordre de 60 à 75 %). Ce qui explique les adaptations posologiques ou les précautions d'utilisation, en cas d'insuffisances rénale. Leur stabilité en solution aqueuse et à température ambiante n'est pas bonne. Il existe une dégradation de 10 à 20 % du principe actif en moins de trois heures pour l'imipénème et en moins de cinq heures pour le méropénème. Seul doripénème présente une stabilité prolongée en solution aqueuse et à température ambiante (de l'ordre de huit à dix heures).

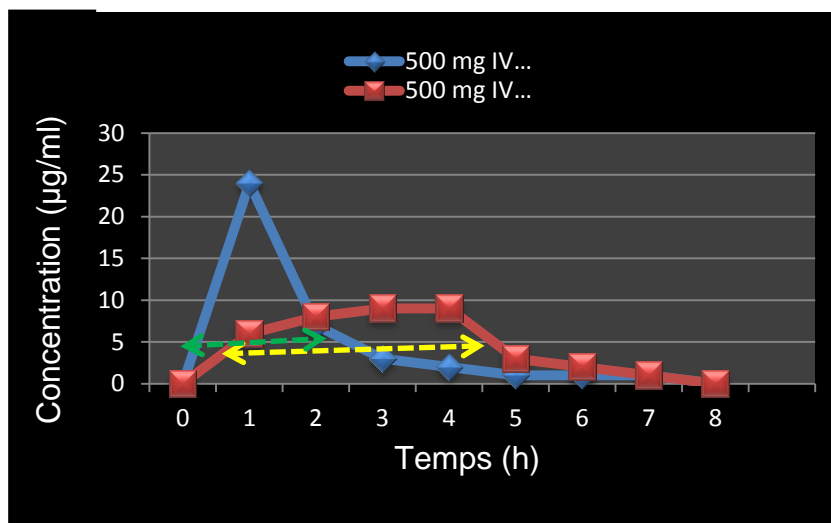
### 3.2/ Pharmacodynamie :

Les carbapénèmes sont des  $\beta$ -lactamines et possèdent donc théoriquement une activité « temps-dépendante ». Les modèles expérimentaux *in vitro* et *in vivo* montrent que cette activité est bactéricide. Mais cette bactéricidie est plus rapide que celle de toutes les autres  $\beta$ -lactamines. De plus, l'efficacité des carbapénèmes est majorée par une augmentation de concentrations (bien au-delà de cinq à dix fois la CMI). Alors que pour les autres  $\beta$ -lactamines, il existe un effet plafond pour des concentrations de quatre à cinq fois la CMI. Ils possèdent également un effet post-antibiotique prolongé (huit à dix heures *in vivo* sur *P.aeruginosa*). Enfin, leur coefficient de corrélation efficacité/temps n'est que de l'ordre de 65 à 70%, alors que pour toutes les autres  $\beta$ -lactamines il est supérieur à 95%. Ces caractéristiques sont celles des antibiotiques « concentration-dépendants ». En résumé, à la différence des autres  $\beta$ -lactamines, les carbapénèmes sont des antibiotiques à effet mixte, à la fois « concentration et temps-dépendants »

En pratique pour le clinicien, ces propriétés posent clairement la question des posologies et des modes d'administration. Si la CMI pour la bactérie en cause est très basse, le risque d'échec microbiologique est minime mais il est moins improbable pour les bactéries moins sensibles ( $CMI \geq 1$  mg/L). Bien que des posologies de 500 mg toutes les six heures ou 1 g toutes huit heures d'imipénème et 1 g toutes les huit heures de méropénème permettent d'atteindre les objectifs pharmacodynamique dans la grande majorité des cas, des données issues de modélisation suggèrent que pour *P. aeruginosa* et *A. baumannii*, un  $T > CMI$  de 40 % n'est pas constamment atteint avec un risque d'échec potentiel croissant avec la CMI. L'utilisation de perfusions de durée allongée (3 h) ou en continu apparaît logique d'un point de vue pharmacodynamique. Le méropénème et le doripénème sont stables respectivement pendant 4-6 heures et 12 heures.

Des études effectuées chez le volontaire sain ou chez des patients ou des modélisations suggèrent un effet potentiel favorable lorsque le critère de jugement est le pourcentage d'objectifs pharmacodynamiques atteints. L'effet n'est véritablement net que pour les souches de *P. aeruginosa* dont la CMI de méropénème est supérieure à 2 mg/L. Une étude récente menée avec l'imipénème chez 22 patients, associée à une modélisation de type Monte-Carlo ne montre cependant pas d'avantage clair pour la perfusion continue (2 g/24 après une dose de charge de 1 g) par rapport à de courtes perfusions (1 g toutes 8 heures). La perfusion continue d'imipénème est malaisée car la durée de stabilité de la molécule est de 3-4 heures. Dans les essais récemment menés avec le doripénème, la molécule était perfusée sur une durée de quatre heures (figure 3). L'efficacité clinique de la perfusion continue est peu évaluée. Une étude rétrospective, sans données sur la mortalité et menée chez 99 patients atteints de pneumonie acquise sous ventilation mécanique à bacilles à Gram négatif, conclue à une supériorité de la perfusion continue de méropénème par rapport à l'administration discontinue.

En conséquence, chez les patients à fonction rénale normale des posologies plus élevées ou des perfusions prolongées pourraient être proposées lors du traitement probabiliste initial des infections sévères en réanimation ou en cas d'infection documentée à bactérie réputée moins sensible. La limitation à l'augmentation des doses tient à la tolérance, les doses maximales étant de 4 g/jour pour l'imipénème et 6 g/jour pour le méropénème.


**Figure 3 :**

Pharmacocinétique du doripénème en administration sur 1 heure (courbe bleu) et sur 4 heures (courbe rouge). [62]

Le pourcentage du temps où la concentration de doripénème était au dessus 4 µg/ml était de 31 % lorsque la molécule était administrée sur une heure (pointillé bleu) et de 49 % lorsque la molécule était administrée sur 4 heures (pointillé rouge).

**Tableau 2 :** Caractéristiques pharmacocinétiques des carbapénèmes [2, 60, 74]

Paramètres	Imipénème	Méropénème	Doripénème	Ertapénème
Dose IV (g)	0,5 1	0,5 1	0,5	1
Cmax (mg/L)	30-35 60-70	26 50-60	20	155
ASC (mg.h/L)	42 186	27-32 67-77	44	572
T1/2 (h)	1	1	0,93	3,8
Vd (L/Kg)	0,23-0,31	0,23-0,35	ND	8,2
En réanimation	0,25-0,57	0,3-0,38	ND	
Liaison protéique (%)	20	2	9	92-05
Excrétion urinaire inchangée (%)	60-70	70	75	44
Posologie habituelle/24 h	2 ou 3 g	3 g	1,5	1

## V/ DISTRIBUTION TISSULAIRE : [2]

Les concentrations obtenues dans quelques tissus correspondant à des indications cliniques potentielles sont indiquées dans le Tableau 3. Les deux points clés sont les suivants :

- Les grandes variations interindividuelles et selon les études des concentrations tissulaires ;
- Une diffusion adéquate pour la majorité des microorganismes mais qui peut s'avérer insuffisante pour les bactéries vis-à-vis desquelles les CMI sont supérieures à 1 mg/L tout en restant en dessous des valeurs critiques, donc considérées comme sensibles.

**Tableau 3 : Concentrations tissulaires des carbapénèmes (mg/L) : d'après référence <sup>[2]</sup> après 1 g de produit.**

TISSUS	IMIPENEME (mg/L ou mg/g)	MEROPENEME (mg/L ou mg/g)	DORIPENEME (mg/L ou mg/g)	ERTAPENEME (mg/L ou mg/g)
VOIES RESPIRATOIRES	5-9	1,43-8,23	ND	9,4 (liquide épithélial)
ABDOMEN	8 (colon)	7 0,65-4,52	24,5±6,5	4,53-16 (selon organe)
PANCREAS	3,35	6,56 (chez le rat)	ND	3,42
LCR	0,5-11	0,3-6,5	ND	ND
<b>LCR : liquide céphalorachidien</b>				

## **VI. INTERET DES CARBAPENEMES DANS LES INFECTIONS GRAVES : [4]**

L'épidémiologie de la résistance de *P. aeruginosa* fait l'objet d'une étroite surveillance en Europe. En 2006 en France, le pourcentage de souches résistantes aux fluoroquinolones (FQ) était de 23 %, aux aminosides de 16 %, à la pipéracilline de 11 %, à la ceftazidime de 6%, à l'imipénème de 12% (données du réseau European Antimicrobial Resistance Surveillance System, [www.rivm.nl/earss/](http://www.rivm.nl/earss/)). Ces résistances sont multiples dans 18% des cas, le phénotype de multi-résistance le plus fréquent étant la résistance combinée à la pipéracilline, à la ceftazidime, aux carbapénèmes, aux FQ et aux aminosides (6 %).

Des seuils de sensibilité aux carbapénèmes ont été définis par l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) (Tableau 4). Les CMI 50 et 90 des différentes molécules disponibles vis-à-vis des bactéries à gram négatif ont fait l'objet d'une revue comparative qui permet de situer le doripénème par rapport aux autres molécules de la famille (Tableau 5).

**Tableau 4** : Seuils de sensibilité aux carbapénèmes définis par l'EUCAST (S/R). [4, 72]

	<i>ENTEROBACTERIACEAE</i>		
		<i>PSEUDOMONAS SPP</i>	<i>ACINETOBACTER SPP</i>
<b>Doripénème</b>	≤1/> 4	≤1/> 4	≤1/> 4
<b>Ertapénème</b>	≤0,5/>1	–	–
<b>Imipénème</b>	≤2/> 8	≤4/> 8	≤2/> 8
<b>Meropénème</b>	≤2/> 8	≤2/> 8	≤2/> 8

**Tableau 5** : Sensibilité comparée de bactéries à gram négatif aux carbapénèmes. [4, 72]

	<b>Imipenem</b>		<b>Meropénème</b>		<b>Ertapénème</b>		<b>Doripénème</b>	
	CMI50	CMI90	CMI50	CMI90	CMI50	CMI90	CMI50	CMI90
<i>P. AERUGINOSA</i>	1	> 8	0,5	16	> 8	> 8	0,5	8
<i>ACINETOBACTER SPP</i>	0,25	0,25	0,25	1	4	> 8	0,25	1
<i>E. COLI</i>	≤0,5	≤0,5	0,016	0,03	≤0,06	≤0,06	0,03	0,03
<i>E. COLI</i> BLSE	≤0,5	≤0,5	0,03	0,06	≤0,06	0,25	0,03	0,06
<i>K. PNEUMONIAE</i>	0,25	1	0,03	0,03	≤0,06	≤0,06	0,03	0,06
<i>K. PNEUMONIAE</i> BLSE	0,5	1	0,03	0,12	≤0,06	0,5	0,06	0,12

### **5.1/ P. Aeruginosa et Acinetobacter SPP :**

Vis-à-vis de *P. aeruginosa*, les CMI 50 et 90 les plus basses sont celles du doripénème, les plus hautes celles de l'imipénème, le méropénème occupant une place intermédiaire.

Il existe plusieurs mécanismes possibles de résistance de *P. aeruginosa* aux carbapénèmes, dont la conjugaison peut conduire à des résistances cliniques vraies. Une propriété particulièrement intéressante du doripénème est la faible émergence de mutants résistants observée *in vitro* comparée aux autres carbapénèmes : après exposition à des concentrations de 0,25 à 0,5×CMI, elle est d'une fréquence inférieure à 2.10<sup>9</sup> contre 3.10<sup>9</sup> à 5.10<sup>8</sup> pour l'imipénème, 8.10<sup>9</sup> à 8.10<sup>7</sup> pour le méropénème. De plus, la concentration maximale responsable de sélection de mutants résistants est seulement de 1/8 CMI pour doripénème versus 1/2 CMI pour imipénème et Meropénème. Une autre étude *in vitro* publiée en 2004 montre que 20 à 30% des souches de *P. aeruginosa* imipénème-R (qui sont aussi méropénème-R) restent sensibles au doripénème. Sur quelque 5000 souches d'*Acinetobacter* spp testées en 2008, le doripénème a également les CMI les plus basses, avec une modale à 0,5.

### **5.2/ Entérobactéries :**

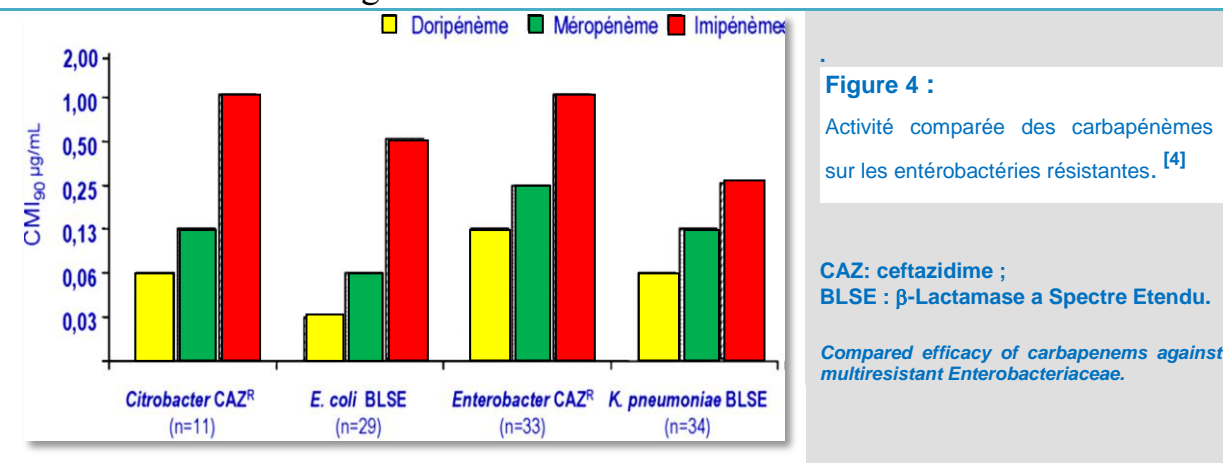
La proportion de résistance aux céphalosporines de troisième génération (C3G) des colibacilles isolés d'hémocultures a considérablement augmenté entre 2002 et 2007 en Europe, et notamment en France où elle est passée de 2 à 4% environ, ce qui représente quelque 400 bactériémies par an. Une tendance analogue est observée pour *Klebsiella pneumoniae*.

La sécrétion de  $\beta$ -lactamase à spectre étendu (BLSE) par les souches responsables de bactériémies augmente de façon linéaire. De moins de 2% en 2001 pour les trois micro-organismes surveillés en Ile-de-France, on est passé à plus de 5% pour *K. pneumoniae*, 4% pour *E. coli*, 4% pour *Enterobacter cloacae*. en Ile-de-France, la part des bactéries sécrétrices de BLSE a atteint 7,9% en 2007 parmi les 724 souches d'*E. coli* isolées de bactériémies non communautaires en 2007.

L'émergence de colibacilles sécréteurs de BLSE est selon Y. Péan un des phénomènes les plus préoccupants de ces dernières années. Elle dépend essentiellement de l'activité du service de soins : la densité d'incidence est maximale, comme on pouvait s'y attendre, dans les services de réanimation. Ils ne sont toutefois pas absents des autres services. Les *E. coli* BLSE+ se caractérisent par un profil de multirésistance. Selon les données de l'AP-HP en 2007 (Jarlier V, Fournier S), une souche sur deux environ était résistante à la tobramycine, une sur trois à la gentamicine, une sur quatre à l'amikacine, cinq sur six aux FQ classiques, trois sur quatre à la ciprofloxacine. Le taux de sensibilité à l'imipénème était de 99,5 %, les autres carbapénèmes n'ayant pas été testés. Il n'y a pas d'impact de la production de BLSE sur la sensibilité des entérobactéries aux carbapénèmes (Tableau 5), qui sont dès lors les molécules incontournables pour le traitement de ces infections. Une étude comparative portant sur près de 400 souches de bactéries résistantes isolées à travers le monde, dont des entérobactéries multirésistantes (*Citrobacter* résistant à la ceftazidime, *E. coli* BLSE+, *Enterobacter* résistant à la ceftazidime, *K. pneumoniae* BLSE+) a montré que les CMI du doripénème sont plus faibles que celles des autres carbapénèmes (Figure 4).

En conclusion, au moment du choix d'un antibiotique de première intention, il faut souligner l'importance pronostique majeure de l'adéquation du traitement lorsque la situation clinique est critique. Le risque de mortalité du choc septique

augmente de façon exponentielle en fonction du nombre d'heures qui séparent la chute tensionnelle de la mise en place d'une antibiothérapie efficace. Du point de vue du bactériologiste, les carbapénèmes sont irremplaçables dans l'antibiothérapie des infections graves du fait de l'implication fréquente de *P. aeruginosa*, d'*A. Baumannii* ou d'autres bacilles à gram négatif (BGN) non fermentant et de l'émergence de souches d'entérobactéries sécrétrices de BLSE.



### 5.3/ Pneumonie Acquisée Sous Ventilation Assistée (PAVM) :

La décision de traitement initial repose sur un faisceau d'arguments : les circonstances favorisantes, la durée d'exposition au risque, l'antibiothérapie reçue au préalable, les données microbiologiques antérieures et les résultats de l'examen direct. L'anamnèse est un moment crucial de l'analyse. Dans les PAVM tardives ou à risque élevé de micro-organisme résistant, les experts de l'American Thoracic Society-Infectious Disease Society of America (ATS-IDSA) recommandent de cibler en premier lieu *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp, en associant à un aminoglycoside ou à une quinolone active sur *P. aeruginosa* la ceftazidime ou le céfépime, ou un carbapénème, ou encore un β-lactamine avec inhibiteur de β-lactamase.

#### **5.4/ Infections intra-abdominales :**

Dans les infections intra-abdominales de gravité faible à modérée, les experts de l'IDSA recommandent, parmi les carbapénèmes, d'utiliser plutôt l'ertapénème. Dans les formes de haute gravité, les carbapénèmes à large spectre ont leur place. L'indication du doripénème peut ici être étayée par les études pharmacocinétiques qui montrent en situation clinique humaine une concentration dans l'exsudat péritonéal équivalente à la concentration sérique.

Une étude de phase III randomisée chez 476 patients a conclu à la non-infériorité du doripénème par rapport au méropénème dans des infections intra-abdominales compliquées.

### **VII/ UTILISATION OPTIMALE DES CARBAPENEMES : Point de vue du clinicien :**

Michel Wolff (Hôpital Bichat–Claude-Bernard et UFR Denis-Diderot, Paris VII) a rappelé en exergue de son exposé les règles de bon usage des carbapénèmes, soulignées en 2008 par la Haute Autorité de Santé :

- ❖ Traitement initial probabiliste lorsque le contexte suggère la possibilité d'une bactérie résistante ;
- ❖ Après documentation bactériologique montrant qu'une bactérie résistante est en cause ;
- ❖ Avec dans tous les cas réévaluation après 24 à 72 heures du bien-fondé de la poursuite du traitement ;
- ❖ Selon les modalités d'administration les mieux adaptées aux contraintes pharmacocinétiques-pharmacodynamiques ;
- ❖ Pendant une durée « raisonnable », pour assurer la guérison tout en limitant le risque de rechute et de résistance.

## **VIII/ MODALITES D'ADMINISTRATION :**

Les carbapénèmes ont une demi-vie d'élimination courte, une faible liaison aux protéines, une forte excrétion urinaire sous forme inchangée, un pouvoir bactéricide rapide et temps dépendant, sous réserve d'un rapport T supérieur à CMI d'au moins 40 %. Il existe un effet post-antibiotique vis-à-vis des BGN, susceptible d'avoir une pertinence clinique. La durée de l'effet post-antibiotique est de plusieurs heures avec *P. aeruginosa*, la plus longue étant de six heures pour le doripénème. L'effet post-antibiotique peut être optimisé en augmentant la durée de perfusion, qui peut devenir un élément important de l'efficacité lorsque l'on se trouve aux limites de la sensibilité. Des stimulations de Monte-Carlo ont de fait montré que l'administration de doripénème en perfusion de quatre heures plutôt que une heure permet de faire passer le pourcentage T supérieur à CMI de 31 à 49%. Pour trois souches sur quatre, la modélisation d'une perfusion de quatre heures plutôt que une heure s'est montrée plus efficace. La stratégie d'administration en perfusion prolongée ne peut être mise en œuvre que si la molécule est suffisamment stable en solution, ce qui n'est pas le cas de l'imipénème. La stabilité du doripénème en solution atteint, en revanche, 12 heures à température ambiante dans le soluté salé isotonique, au lieu de quatre heures pour l'imipénème.

## **IX/ POSOLOGIE ET DUREE DE TRAITEMENT : [3]**

Afin de limiter le risque d'émergence de mutants résistants sous traitement, il est nécessaire d'utiliser de fortes posologies en cas de sepsis sévère (surtout s'il existe un choc septique) et dans toutes les situations où le volume de distribution est augmenté (patients de réanimation, d'hématologie, brûlés, mucoviscidosiques, etc.). Pour la même raison, des posologies élevées doivent également être utilisées en début de traitement, moment où l'inoculum est le plus important.

Plusieurs études ont montré qu'une relation existe entre la durée de traitement par les carbapénèmes et le risque d'émergence de souches résistantes. La durée de traitement doit donc être la plus courte possible, d'autant que les indications justifiant un traitement prolongé de plus de sept à dix jours sont rares.

## **X/UTILISATION DES CARBAPENEMES EN PRATIQUE HOSPITALIERE : [3]**

L'évolution des résistances chez les bacilles à Gram négatif fait craindre une augmentation de l'utilisation des carbapénèmes en raison de l'augmentation, en France comme dans beaucoup de pays européens, de l'incidence des infections par des souches résistantes aux céphalosporines de troisième génération (en particulier les entérobactéries productrices de BLSE) et impose une prudence accrue dans l'utilisation des antibiotiques à large spectre tels que les carbapénèmes en raison de l'émergence et du risque de diffusion des mécanismes de résistances à ces antibiotiques (carbapénémases, etc.). Dans le but de limiter, autant que faire se peut, la consommation des carbapénèmes et donc la pression de sélection exercée par ces antibiotiques sur les

commensales, il est recommandé d'utiliser chaque fois que possible une des alternatives thérapeutiques pour le traitement des infections dues à des EBLSE (notamment en cas d'infection urinaire, site le plus souvent concerné). Ces alternatives potentiellement utilisables, sous réserve de la vérification de la sensibilité des souches (Tableau 5), incluent :

- Les associations pénicillines-inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases ;
- Les cephamycines (cefoxitines) ;
- La fosfomycine ;
- Les furanes (infections urinaire basses) ;
- La fosfomycine trometamol (infections urinaires basses) ;
- Le cotrimoxazole (infections urinaires)

En pratique hospitalière, les indications des carbapénèmes à retenir sont les suivantes :

- ✓ L'ertapénème n'a guère d'autre indication en pratique que les infections urinaires, où sa demi-vie prolongée autorise un traitement espacé à une dose par jour, notamment lorsqu'un traitement de relais est indiqué ;
- ✓ L'imipénème, le méropénème et le doripénème sont les molécules de référence pour le traitement des infections à EBLSE ou *Pseudomonas* et d'autres bacilles à Gram négatif aérobies résistants aux autres  $\beta$ -lactamines. Ils sont particulièrement utiles dans les infections nosocomiales à risque élevé de bacilles à Gram négatif résistants de type BLSE, notamment respiratoires, intra abdominales et de la peau et tissus mous. Leur utilisation dans le cadre des infections communautaires ne se justifie qu'en cas de notion de colonisation/infection préalable par EBLSE, ou en présence de facteurs de risque particuliers.



## *Chapitre III :*

### *Resistance bacterienne :*

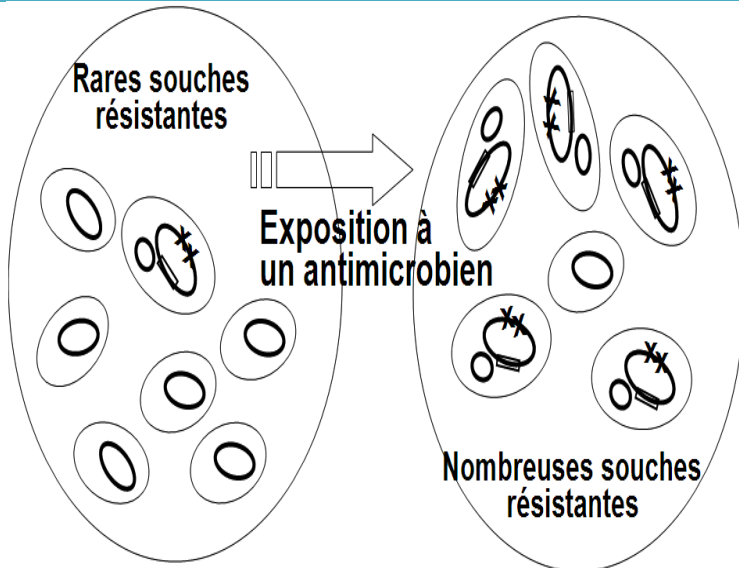
## **I/ DEFINITION : [5]**

Un micro-organisme est considéré «résistant» lorsque sa concentration minimale inhibitrice (CMI) est plus élevée que celle qui inhibe le développement de la majorité des autres souches de la même espèce. Les CMI ciblées pour une sensibilité, une sensibilité intermédiaire ou une résistance microbiologique pour chaque espèce de bactéries et pour chacun des antibiotiques sont déterminées par un laboratoire indépendant, le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) et mises à jour régulièrement. En fait, une souche est dite « résistante » lorsque la concentration d'antibiotique qu'elle est capable de supporter est plus élevée que la concentration que l'on peut atteindre in vivo a la suite d'un traitement. Parfois, la résistance à un antibiotique confère de la résistance à un autre antibiotique, et c'est ce que l'on appelle la résistance croisée. Les bactéries sont dites multi-résistantes lorsqu'à la suite d'une accumulation de résistances naturelles et acquises, elles ne sont sensibles qu'à un petit nombre d'antibiotiques. Elles sont alors résistantes à plusieurs antibiotiques ou classes Pharmacologiques d'antibiotiques.

## **II/ FACTEURS CONTRIBUANT A L'EMERGENCE ET A LA PROPAGATION DE LA RESISTANCE : [5]**

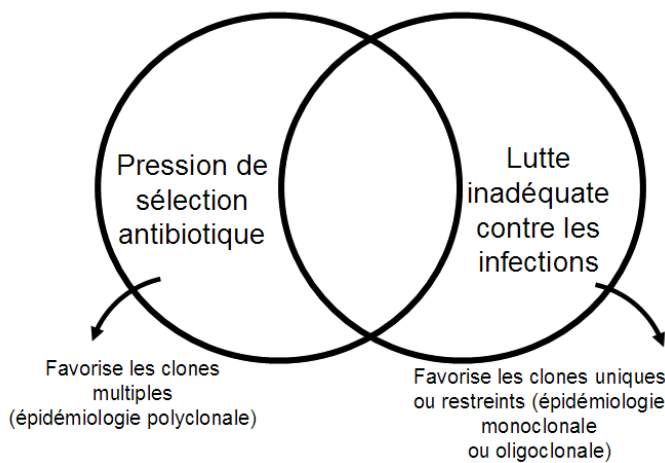
L'émergence et la propagation de la résistance aux antibiotiques sont le résultat d'une pression sélective exercée par les agents antimicrobiens et de la transmission de micro-organismes résistants. L'exposition a un antimicrobien favorise la survie des souches bactériennes résistantes présentes dans une population. La réduction de la pression sélective des antibiotiques est importante pour prévenir l'émergence d'une résistance microbienne et préserver le plus

longtemps possible l'efficacité des médicaments disponibles. La figure (5) présente la manière dont la pression sélective de la résistance s'effectue. Elle décrit les événements qui suivent une mutation spontanée dans une population bactérienne. Si la mutation favorise l'émergence d'une résistance à un antibiotique, celui-ci va détruire les autres bactéries et sélectionner la souche mutante. Les mutants vont se multiplier et devenir prédominants. Lorsque les mesures de lutte contre les infections sont inadéquates, comme le lavage des mains, les clones résistants peuvent se propager d'un patient à l'autre en produisant une éclosion monoclonale ou oligoclonale, c'est-à-dire que toutes les bactéries résistantes sont identiques à la souche originale mutante ou présentent un nombre restreint de clones. Par opposition, la pression de sélection aux antibiotiques favorise une épidémiologie polyclonale, c'est-à-dire la présence de clones multiples. La figure 6 illustre l'interaction de ces deux facteurs sur l'émergence et la propagation de souches bactériennes résistantes. Les principaux facteurs contribuant à l'émergence et à la propagation de la résistance bactérienne sont présentes au tableau 6.



**Figure 5 :**  
Sélection de souches résistantes  
aux antimicrobiens [5]

Traduit de la Campagne de  
prévention de la résistance  
antimicrobienne du CDC américain.



**Figure 6 :**  
Emergence et propagation de  
souches résistantes [5]

**Tableau 6 : Facteurs contribuant à la résistance aux antibiotiques** [5, 73]

Facteurs	Exemples (liste non exhaustive)
<b>Emergence de la résistance</b>	Usage abusif d'antibiotiques ; Gravité accrue de l'état des malades hospitalisés ; Manque de fidélité au traitement ; Durée trop courte ou dose sous-thérapeutique ; Diagnostic non confirmé d'infection bactérienne ; Utilisation inadéquate d'antibiotiques dans les pays en voie de développement
<b>Propagation des souches résistantes</b>	Mesures d'hygiène inadéquates dans les hôpitaux ; Non-respect des directives de lutte contre les infections ; Promiscuité des patients hospitalisés ; Réduction du personnel infirmier et de soutien ; Déplacements accrus des patients (transferts de patients colonisés ou infectés entre hôpitaux et milieu communautaire) ; Voyages internationaux.
<b>Utilisation d'antibiotiques dans le secteur agro-alimentaire</b>	Animaux destinés à la consommation ; Agriculture et aquaculture.
<b>Utilisation d'antiseptiques et de désinfectants</b>	Agents antibactériens dans les produits d'entretien ménager, le dentifrice, les pastilles contre le mal de gorge, les savons, etc.

## 1/ Usage inapproprié d'antibiotiques : [5]

L'usage abusif des antibiotiques ou leur utilisation inadéquate est principalement responsable de l'émergence de la résistance microbienne, et celle-ci augmente à l'échelle mondiale. Le nombre croissant de patients plus âgés ou présentant des déficits immunitaires plus marqués, les interventions chirurgicales plus complexes, l'utilisation accrue de procédures invasives, les systèmes de soutien des fonctions vitales plus avancés, comme la ventilation assistée, favorisent une utilisation fréquente et parfois inappropriée d'antibiotiques à large spectre d'activité.

Les traitements des patients simplement contaminés ou colonisés constituent un des principaux exemples d'usage abusif des antibiotiques. L'arrêt du traitement empirique lorsque les cultures sont négatives pourrait réduire considérablement l'utilisation d'antimicrobiens. En milieu communautaire, la pression environnementale sur le corps médical pour l'obtention d'une ordonnance a également contribué fortement au développement de la résistance. Paradoxalement, la sous-utilisation par manque d'accès, posologie insuffisante, mauvaise observance ou antibiotique non approprié semble jouer un rôle aussi important dans l'accroissement de la résistance que la sur-utilisation.

## **2/ Utilisation d'antimicrobiens dans le secteur agro-alimentaire : [5]**

L'utilisation d'antimicrobiens dans le secteur agroalimentaire contribue au fardeau environnemental de la résistance, puisque des populations bactériennes comportant de nombreuses souches résistantes aux antibiotiques sont libérées dans les excréments. Le transfert d'agents pathogènes résistants des animaux aux êtres humains peut aussi se faire par voie de contact direct ou au moyen d'eau ou de nourriture contaminées et permettre le transfert de gènes de résistance aux bactéries humaines.

## **3/ Utilisation d'antiseptiques et de désinfectants : [5]**

Les antibactériens, présents dans les dentifrices et incorporés dans de nombreux produits d'entretien ménager, accroissent la pression sélective de souches bactériennes résistantes à ces agents. Une fois présent, le mécanisme conférant la résistance peut entraîner une résistance croisée à l'égard d'autres antimicrobiens. L'usage d'antibiotiques topiques a aussi été associé au développement de résistance aux agents utilisés.

#### **4/ Étapes du développement de résistance a grande échelle : [5]**

Les bactéries développent de la résistance à la suite d'une exposition aux antibiotiques. La résistance antibiotique se développe a grande échelle selon les étapes suivantes : sélection d'organismes résistants, élimination de la flore normale sensible au médicament et colonisation avec ces micro-organismes résistants, contact d'une personne a l'autre et transmission dans l'environnement puis finalement la transmission globale.

### **III/ RELATION ENTRE CONSOMMATION DES ANTIBIOTIQUES ET EMERGENCE DE RESISTANCE : [7]**

La plupart des études prospectives et rétrospectives montrent qu'après introduction d'un antibiotique, non seulement le niveau de résistance des pathogènes augmente, mais aussi celui de la flore commensale. Le niveau de résistance de celle-ci est considéré comme un bon indicateur de la pression de sélection liée à l'usage des antibiotiques et des problèmes de résistance attendus chez les pathogènes. V Arason et al. ont montré la corrélation entre le portage naso-pharyngé de *S. pneumoniae* résistants chez l'enfant et la consommation d'antibiotiques dans les deux à sept semaines précédentes. Une étude française portant sur plus de 900 enfants montre un portage de pneumocoques dans 5,7% dont 1,7% sont résistants (un tiers des porteurs ont une souche résistante): les facteurs de risque principaux étaient un traitement antibiotique de longue durée (>5 jours), à bas dosage, par une  $\beta$ -lactamines orale. D'autres études portant sur le pneumocoque ont établi une corrélation entre l'usage récent d'antibiotiques et une infection invasive à pneumocoques résistants. Par ailleurs, des études contrôlées ont montré que dans les groupes de patients où la consommation antibiotique avait pu être restreinte, par une meilleure éducation du patient et du prescripteur, le taux de portage de pneumocoques résistants avait significativement diminué par rapport au groupe contrôle.

En Finlande, une nette augmentation du taux de résistance des Streptocoques  $\beta$ -hémolytiques du groupe A aux macrolides a été enregistrée entre 1988 et 1990 (5% versus 13%), concomitamment à une nette majoration de la consommation de cette classe antibiotique. Des recommandations nationales ont été diffusées permettant de réduire la consommation de près de 50% entre 1992 et 1995: les taux de résistance a chuté de 19% en 1993 à 8% en 1996. Les résistances touchent aussi les personnes n'ayant jamais reçu d'antibiotiques, des auteurs ayant mis en évidence dans la flore intestinale d'enfants n'ayant jamais reçu d'antibiotique et vivant sur différents continents une proportion d'E. coli résistants à différentes molécules, avec un taux de résistance corrélé à l'emploi des antibiotiques dans leur ville d'origine.

En Belgique, une étude récente a mis en évidence une importante variation géographique dans les taux de résistance du Streptocoque A aux macrolides, un taux élevé de résistance étant corrélé avec une consommation nettement plus élevée. Cette relation consommation antibiotique/résistance bactérienne se rencontre aussi chez les animaux; 50% des antibiotiques utilisés le sont chez les animaux: à visée thérapeutique, à visée préventive et comme promoteurs de croissance (de petites quantités d'antibiotiques sont ajoutées à l'alimentation journalière des animaux d'élevage afin d'accélérer la croissance et d'améliorer le rendement en viande). En Europe, 30% des antibiotiques à usage vétérinaire sont utilisés comme promoteur de croissance. Les molécules à usage humain ne peuvent être utilisées chez l'animal, cependant de nombreuses molécules apparentées ou entraînant des résistances croisées sont encore utilisées. Dans les pays utilisant ou ayant utilisé l'avoparcine (famille des glycopeptides comprenant la vancomycine) comme promoteur de croissance, la résistance à la vancomycine des entérocoques de la flore intestinale est devenue commune, non seulement chez les animaux exposés mais aussi dans la population humaine en dehors de l'hôpital. Depuis que l'Union Européenne a banni l'usage de cet antibiotique en médecine vétérinaire, une nette diminution de la prévalence des entérocoques résistants a été enregistrée que ce soit dans les aliments ou dans les échantillons de selles des animaux ou des hommes.

## **IV/ ORIGINE GENETIQUE DE LA RESISTANCE ET MODALITES DE TRANSFERT GENETIQUE : [5]**

La résistance bactérienne à un antibiotique est d'origine génétique. Les gènes de résistance se trouvent soit dans le chromosome (résistance chromosomique), soit dans un élément mobile, comme les plasmides, les éléments transposables ou les intégrons (résistance extrachromosomique). La résistance peut être soit naturelle, soit acquise.

### **1/ Résistance naturelle (ou intrinsèque) : [5]**

Les gènes de résistance font partie du patrimoine génétique de la bactérie. La résistance naturelle est un caractère présent chez toutes les souches appartenant à la même espèce. Ce type de résistance est détecté dès les premières études réalisées sur l'antibiotique afin de déterminer son activité et contribue à définir son spectre antibactérien. Cette résistance peut être due à l'inaccessibilité de la cible pour l'antibiotique, à une faible affinité de la cible pour l'antibiotique ou encore à l'absence de la cible. Par exemple, la résistance des entérobactéries et du *Pseudomonas* aux macrolides ou des bactéries à gram négatif à la vancomycine est naturelle. La résistance bactérienne naturelle est permanente et d'origine chromosomique. La résistance naturelle est stable, transmise à la descendance (transmission verticale) lors de la division cellulaire, mais elle n'est généralement pas transférable d'une bactérie à l'autre (transmission horizontale).

## **2/ Resistance acquise : [5]**

Les bactéries peuvent développer de la résistance à un antibiotique préalablement sensible, ce qui implique des changements génétiques. Cette résistance est souvent instable. Ces changements peuvent être de deux types : soit une mutation spontanée, soit l'acquisition de gènes par un autre micro-organisme.

### **2.1/ Mutation chromosomique spontanée (évolution verticale) :**

La mutation chromosomique spontanée constitue un mécanisme de résistance aux antibiotiques chez environ 10 à 20 % des bactéries. Les gènes de résistance se situent alors dans le chromosome de la bactérie. Une mutation n'affecte qu'un caractère, et la résistance ne concerne généralement qu'un antibiotique ou qu'une famille d'antibiotiques ayant le même mécanisme d'action. L'utilisation d'une association de deux ou de plusieurs antibiotiques semble pouvoir prévenir l'émergence de mutants résistants. Par exemple, la résistance à la rifampicine et aux quinolones résulte toujours d'une mutation.

### **2.2/ Acquisition de gènes de résistance par un autre organisme (évolution horizontale) :**

La résistance bactérienne par acquisition d'information génétique exogène représente la majorité des cas isolés en clinique et s'observe aussi bien chez les bactéries à gram positif qu'à gram négatif. L'acquisition de nouveau matériel génétique peut se faire soit par échange direct de matériel chromosomique, soit par échange d'éléments mobiles. Dans ce dernier cas, les gènes de résistance se trouvent dans un fragment d'ADN bactérien situé à l'extérieur et sur certains éléments mobiles du chromosome, tels les plasmides. Cette forme de résistance est transférable d'une bactérie à l'autre et même à des bactéries d'espèces différentes. Le transfert d'un seul plasmide augmente aussi le risque d'une résistance à plusieurs médicaments. Par exemple, le *Shigella*, responsable de la diarrhée, peut transférer un plasmide avec résistance à quatre ou cinq antibiotiques différents.

Les gènes ou les groupes de gènes de résistance peuvent s'acquérir par transformation, transduction ou conjugaison. La transformation permet l'acquisition et l'incorporation d'ADN libre dans l'environnement (dénude) à la suite de la mort de la bactérie mère. (Exemple : le gonocoque résistant à la pénicilline). La transduction est un mécanisme de transfert de gènes, dont le vecteur est un virus bactérien appelé bactériophage. Ce mécanisme permet le transfert d'information génétique entre bactéries appartenant essentiellement à la même espèce. Les plasmides sont souvent transférés par conjugaison. La conjugaison est un processus au cours duquel l'ADN est transféré d'une bactérie donatrice à une bactérie réceptrice par un mécanisme complexe nécessitant un étroit contact cellulaire et responsable en grande partie de l'émergence d'une résistance chez les bactéries pathogènes.

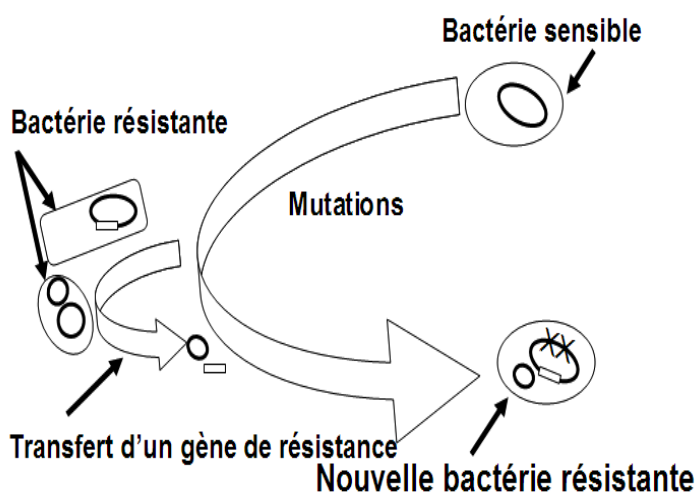


Figure 7 :  
Émergence d'une résistance acquise aux antimicrobiens

Traduit de la Campagne de prévention de la résistance antimicrobienne du CDC américain.

Les XX de la nouvelle bactérie signifient qu'elle a maintenant acquis de la résistance.

En pareil cas, la résistance se transmet aux bactéries filles. Les bactéries ayant reçu cet élément mobile peuvent se rétablir et redevenir sensibles aux antibiotiques si elles ne sont pas exposées à ces derniers. La figure (7) résume la manière dont les bactéries peuvent acquérir de la résistance aux antibiotiques.

## **V/ BACTERIES PATHOGENES RESISTANTES**

### **PREOCCUPANTES : [5]**

La résistance aux bactéries à gram positif et à gram négatif constitue un problème important qui prend de l'ampleur. En fait, il constitue même un enjeu de sante publique, et c'est en milieu hospitalier que l'on retrouve le plus grand nombre de bactéries résistantes, en particulier dans les unités de soins intensifs, ou les patients présentent souvent des facteurs de risque importants, tels l'exposition antérieure aux antibiotiques, l'immunosuppression ou une chirurgie majeure récente ainsi qu'un état fragilise nécessitant la présence d'un cathéter veineux central ou d'une sonde urinaire, la ventilation mécanique assistée, l'intubation ou l'alimentation parentérale.

#### **1/ Bactéries à gram positif :**

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline Le Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (SARM) est une bactérie à gram positif pouvant causer des infections nosocomiales graves. Il fut isolé en Europe pour la première fois en 1960. Les infections a SARM semblent s'être disséminées rapidement aux Etats-Unis et être devenues endémiques dans plusieurs hôpitaux américains durant les années 1980 alors que 10 à 40 % des isolats de S. aureus étaient confirmés résistants à la méticilline. Au Canada, la première souche fut identifiée en 1979, et la première épidémie se produisit en 1981. Les résultats d'une étude nationale réalisée dans le cadre du Programme canadien de surveillance des infections nosocomiales révélèrent qu'entre 1995 et 2004, le taux de SARM dans les hôpitaux canadiens était passé de 0,46 à 5,9 cas pour 1000 hospitalisations<sup>28</sup>. Selon une autre étude effectuée dans 48 centres

canadiens en 2006, 11 700 des 29 000 patients hospitalisés porteurs de SARM présentaient une infection. Au Québec, le nombre de souches de SARM soumises au Laboratoire de santé publique pour analyse a augmenté considérablement à la fin des années 1990<sup>28,29</sup>. La figure 5 présente le taux d'incidence globale de SARM pour 1 000 admissions dans les hôpitaux du Canada, de 1995 à 2007, et met en évidence la hausse constante du nombre de cas.

➤ **SARM hospitalier (SARM-N) :**

Le SARM devient résistant à la méticilline par l'acquisition d'un gène produisant une modification de la protéine liant la pénicilline (PLP2a). Cette protéine est encodée par le gène *mecA* localisé sur un élément génétique mobile. Elle agit comme transpeptidase, reliant les peptidoglycanes essentiels à la structure membranaire de la cellule bactérienne. Les PLP2a sont différentes des PLP ordinaires par leur très faible affinité pour les antibiotiques possédant un anneau  $\beta$ -lactame. Pour cette raison, les pénicillines, les céphalosporines et autres  $\beta$ -lactamines ne sont pas actives contre le SARM-N, et une résistance croisée se produit avec la clindamycine, les carbapénèmes, les macrolides et les tétracyclines. La vancomycine devient une alternative possible de première intention. Au cours des dernières années, de nouvelles molécules plus coûteuses et toxiques ont été synthétisées pour nous aider dans la lutte contre le SARM, tels le linezolid, la tigecycline, la daptomycine, le ceftobiprole et la dalbavancine.

➤ **SARM-communautaire (SARM-C) :**

On contracte généralement le SARM généralement en milieu hospitalier mais depuis quelques années, de nouvelles souches de SARM apparaissent en milieu communautaire. Contrairement au SARM-N, le SARM-C se propage dans la population en bonne sante, ou les individus sont en contact physique étroit, comme chez les sportifs, les enfants en garderie, les détenus, les militaires et les autochtones. Le premier cas a été décrit aux Etats-Unis en 1982 avec une souche peu invasive, résistante aux bêtalactamines, mais sensible a d'autres antibiotiques, comme la doxycyclines et la clindamycine. Depuis, la fréquence et la gravite de ces infections est en augmentation constante. Depuis 2004, certaines souches plus pathogènes ont émergé et sont apparues au Canada. Les souches USA300 et USA400 présentent une multirésistance et peuvent être la cause de nécrose tissulaire et d'infections invasives plus graves.

➤ **Streptococcus pneumoniae multiresistant :**

Les infections à *Streptococcus pneumoniae* (pneumocoque) sont relativement fréquentes et affectent aussi bien l'enfant que l'adulte avec toutefois une incidence plus élevée aux extrêmes de l'âge. Les pneumocoques sont responsables d'infections invasives, principalement la pneumonie bactérienne, la méningite et la septicémie, et sont la principale cause d'otite moyenne aigue chez l'enfant<sup>32</sup>. Ce type d'infection représente un enjeu de sante public important. En 1999, un programme de vaccination gratuite a été introduit pour les jeunes enfants et pour les individus avec facteurs de risque particuliers. En 2000, le programme a été étendu aux individus de 65 ans ou plus. L'introduction du vaccin au calendrier d'immunisation des jeunes enfants a eu un impact majeur sur l'incidence des pneumococcies invasives dans ce groupe

d'âge. Par opposition, il n'y a pas eu de diminution importante dans le nombre de cas dans la population adulte depuis 2000<sup>32</sup>. Selon le rapport de surveillance de l'année 2007 de l'INSPQ (Institut national de sante publique du Québec), pour les souches provenant des hôpitaux sentinelles, la résistance aux macrolides est passée de 10 % en 1997 à 21,7 % en 2007 ; le taux de résistance à la clindamycine était de 12,4 % et le taux de résistance au trimethoprim sulfamethoxazole (TMP-SMX) de 7 %. Par contre, 16,2 % des souches n'étaient pas sensibles à la pénicilline G. L'analyse a démontré une résistance croisée entre la pénicilline G et d'autres classes d'antibiotiques, particulièrement les macrolides, la clindamycine et le TMP-SMX<sup>33</sup>. Heureusement, pour le moment au Québec, le taux de résistance aux fluoroquinolones des souches invasives demeure faible, avec un taux inférieur à 2 %<sup>33</sup>.

➤ **Entérocoque résistant à la vancomycine :**

L'entérocoque résistant à la vancomycine (ERV) a fait son apparition en Ontario en 1993 et au Québec à la fin des années 1990 dans certains centres hospitaliers de soins aigus. Les données de surveillance pour l'année 2006-2007 font état de 834 nouveaux cas d'ERV. On observe ce phénomène surtout à Montréal et dans ses régions limitrophes ainsi que dans la région de la Mauricie et Centre-du-Québec. Les infections à ERV peuvent être dangereuses chez les hôtes fragiles et sont difficiles à traiter en raison des options thérapeutiques limitées. De plus, le potentiel réel de transfert des gènes de résistance de l'ERV vers des espèces virulentes, tel le *Staphylococcus aureus*, inquiète plusieurs. L'utilisation abusive de la vancomycine est le facteur principalement responsable de l'émergence de cette résistance.

## 2/ Bactéries à gram négatif :

### ➤ Entérobactéries productrices de BLSE :

Parmi les BGN, les entérobactéries sont responsables de la majorité des infections nosocomiales. L'un des mécanismes courants de la résistance bactérienne des BGN est la production de  $\beta$ -lactamases. Le premier isolat producteur de BLSE à transmission plasmidique a été observé en Allemagne en 1983 et rapidement après en Amérique. Cette  $\beta$ -lactamase a été tout d'abord identifiée chez une souche de *Klebsiella pneumoniae*. Cette enzyme s'est rapidement et facilement transmise aux autres BGN, dont l'*Escherichia coli*. Par la suite, l'augmentation spectaculaire de la résistance des bactéries aux  $\beta$ -lactamines a été largement associée à la propagation des BLSE. Même si les souches de *K. pneumoniae* et d'*E. coli* sont le plus souvent associées à la production de BLSE, d'autres isolats de BGN, producteurs de BLSE, ont déjà été détectés, mais semblent relativement rares. La prévalence des bactéries productrices de BLSE demeure mal connue dans la plupart des hôpitaux, malgré les nombreux rapports d'éclousions d'infections nosocomiales dues à ces microorganismes. L'impact de cette résistance est très important, surtout dans les unités de soins intensifs. La difficulté de détecter la production de BLSE au moyen des méthodes courantes de détermination de la sensibilité aux antibiotiques a fait l'objet d'articles bien documentés. Entérobactéries productrices de céphalosporinases chromosomiques de haut niveau (ou  $\beta$ -lactamases de type AmpC) Initialement, les céphalosporinases étaient connues comme des enzymes chromosomiques retrouvées chez le *Pseudomonas aeruginosa* et pouvaient être induites par des antibiotiques, comme la céfoxitine,

la cefotaxime et la ceftazidime. L'hyperproduction de ces enzymes est associée à une diminution du nombre de porines dans la membrane externe des bactéries. La transmission plasmidique et la promiscuité dans la famille des entérobactéries entraînent des taux très élevés de céphalosporinases chez les *E.coli* et *K.pneumoniae* mais aussi chez les souches d'*Enterobacter* et de *Citrobacter*. L'expression de cette céphalosporinase est médiée par le gène *AmpC*. Plus de 20  $\beta$ -lactamases de type *AmpC* différentes ont été retrouvées. Ceci entraîne une résistance de haut niveau aux  $\beta$ -lactamines. Seule la sensibilité à la cefepime et aux carbapénèmes est maintenue.

➤ **Bactéries productrices des carbapénémases :**

Des isolats de *Pseudomonas aeruginosa* et d'*Acinetobacter baumannii* producteurs de carbapénémases peuvent être à l'origine d'infections nosocomiales graves et difficiles à traiter. Résistance des entérobactéries aux fluoroquinolones Au Québec, les bêtalactamines et les fluoroquinolones (FQ) sont les antibiotiques les plus prescrits dans le traitement des infections à BGN. Parallèlement à la résistance aux bêtalactamines, la résistance des entérobactéries aux FQ s'est également développée. Elle est principalement due à une augmentation significative de l'utilisation des FQ dans le traitement des pneumonies, des infections urinaires, des infections de la peau et des tissus mous. Les mécanismes de résistance aux FQ sont de deux types : altération de la cible aux FQ et efflux avec diminution de la concentration intracellulaire de l'antibiotique. C'est l'expression d'une protéine *acR* par mutation du gène qui entraîne cet effet.

## **VI/ AUTRES BACTERIES RESISTANTES PREOCCUPANTES : [5]**

En milieu communautaire, la recrudescence de la tuberculose causée par des souches de *Mycobacterium* multirésistante peut retarder le début d'un traitement adéquat et mener le patient à une détérioration rapide de sa condition et à une hospitalisation. Le gonocoque résistant à la pénicilline en est aussi un autre exemple<sup>38</sup>. Au Québec, les infections urinaires à *E.coli* présentent maintenant un taux de résistance d'environ 15 % au TMP-SMX, médicament qui constitue habituellement le traitement de première intention.

## **VII/ PREVENTION DE LA RESISTANCE : [5]**

### **1/ Rôle du pharmacien :**

L'émergence de résistance, bien qu'étant un phénomène naturel d'adaptation des micro-organismes à leur environnement, peut être accélérée par divers facteurs. Toute mauvaise utilisation des antimicrobiens, tout usage abusif et traitement trop court, toute posologie insuffisante, activité trop faible et maladie ne relevant pas du médicament en question renforcent considérablement la probabilité que la bactérie ou d'autres micro-organismes s'adaptent et se multiplient au lieu de disparaître. En tant que pharmaciens, nous devons nous assurer que les antibiotiques soient utilisés de façon appropriée. L'usage éclairé d'antibiotiques se définit comme étant la sélection optimale de l'agent, de la dose et de la durée du traitement antibactérien résultant en la meilleure évolution clinique en termes de thérapie ou de prévention, avec le moins de toxicité et d'impact sur la résistance. Pour toutes ces raisons, l'amélioration de l'emploi de ces médicaments est une priorité si on veut lutter contre l'émergence et la propagation des résistances. En établissement de santé, il faut s'assurer que nos

systèmes de distribution des antibiotiques soient bien adaptés. Souvent des systèmes d'arrêt automatique, mis en place pour éviter des traitements prolongés inutilement, peuvent à l'inverse causer un retard de renouvellement des ordonnances d'antibiotiques pour des infections sérieuses et ainsi favoriser l'émergence de résistance si l'attente se prolonge. Le pharmacien devrait également participer activement aux comités multidisciplinaires favorisant l'usage approprié des médicaments et la prévention des infections.

## **2/ Stratégies de prévention :**

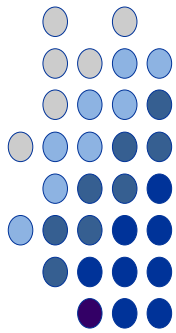
La prévention de la résistance doit s'effectuer selon une approche multidisciplinaire. Quatre stratégies pour prévenir ou retarder l'émergence de résistance ont été établies :

1. Lutte contre les infections
2. Diagnostic adéquat et, traitement efficace des infections
3. Utilisation judicieuse des antimicrobiens
4. Prévention de la transmission

## **VII/ SURVEILLANCE QUANTITATIVE ET QUALITATIVE DE L'USAGE DES ANTIBIOTIQUES : [5]**

Afin de favoriser l'utilisation appropriée des anti-infectieux et ainsi prévenir l'émergence de résistance, la mise en place des programmes de surveillance quantitative et qualitative de l'usage des antibiotiques dans les établissements de santé du Québec est primordiale. Une prise de position récente de la Society for Healthcare Epidemiology of America (SHEA) et Infectious Diseases Society of America (IDSA) stipule que la réduction de la consommation des antibiotiques est l'une des mesures les plus importantes pour lutter contre le développement des résistances. Un cadre de référence provincial relatif à l'usage optimal des anti-infectieux et au suivi de l'utilisation de ces médicaments en milieu hospitalier a récemment été publié par le Conseil du médicament.

## *Chapitre IV:*



*Mécanismes de resistance aux  
carbapénèmes :*

## I/ MECANISMES MOLECULAIRES DE RESISTANCE AUX B-LACTAMINES :

L'efficacité d'un antibiotique dépend de sa capacité à franchir les différentes barrières de l'enveloppe bactérienne, de son affinité avec sa cible et enfin de son spectre d'action. En se basant sur ces caractéristiques, de nombreux mécanismes de résistances ont été identifiés chez les bactéries et, dans la plupart des cas, les processus moléculaires impliqués ont été décryptés. On peut distinguer plusieurs types de mécanismes de résistances (figure 8). Certains ciblent directement l'antibiotique, d'autres aboutissent à la modification ou à la disparition de la cible de l'antibiotique, d'autres enfin empêchent sa pénétration. En ce qui concerne les antibiotiques ciblant l'enveloppe bactérienne, la plupart des mécanismes de résistances cités sont retrouvés. Nous verrons qu'un même mécanisme de résistance peut être efficace contre plusieurs antibiotiques, et, inversement, que des mécanismes différents sont utilisés pour contrer l'action d'un même antibiotique.

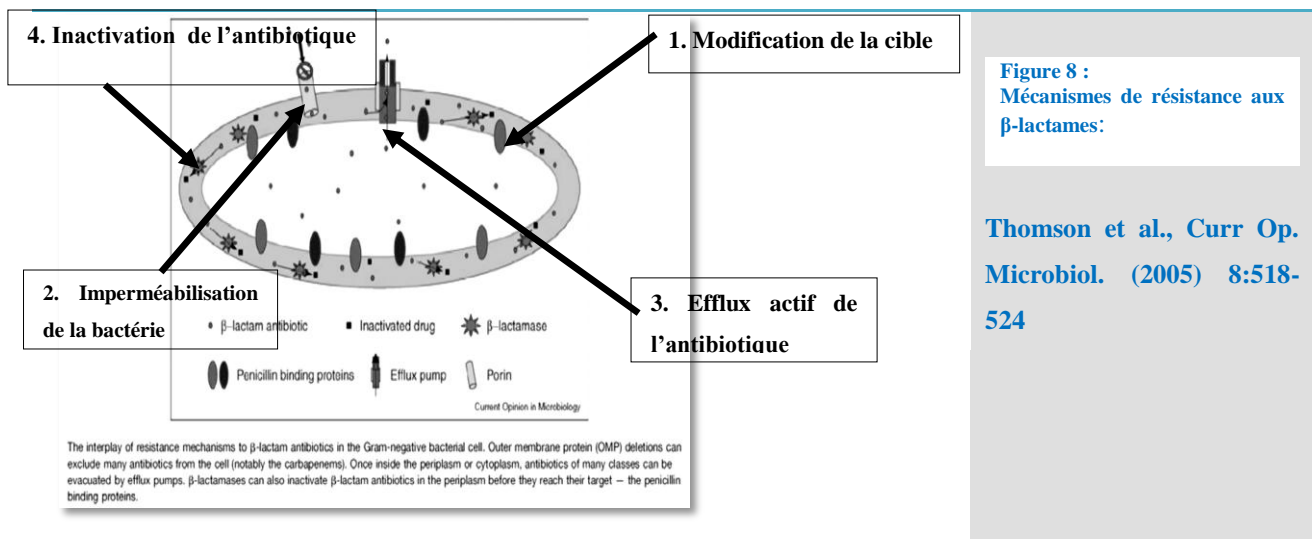


Figure 8 : Mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactames:

Thomson et al., *Curr Op. Microbiol.* (2005) 8:518-524

Mécanisme non enzymatique :	<b>1. Modification de la cible</b>	: PLP
	<b>2. Imperméabilisation de la bactérie</b>	: Porine
	<b>3. Efflux actif de l'antibiotique</b>	: pompe à efflux
Mécanisme enzymatique :	<b>4. Inactivation de l'antibiotique</b>	: $\beta$ -lactamases

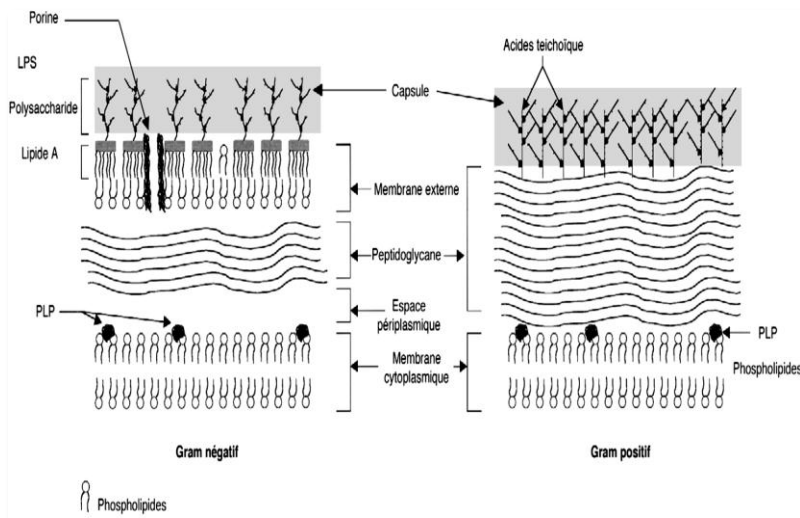
## **A/ MECANISMES NON ENZYMATIQUE : [9]**

Les mécanismes de résistance non enzymatiques s'opposent Aux mécanismes de résistance enzymatiques liés la production de betalactamases. Si les mécanismes de résistance non enzymatiques sont les plus fréquemment montres chez les bactéries et Gram positif, ils ne représentent à l'heure actuelle qu'une faible proportion de la résistance chez les bactéries a Gram négatif. Ils sont tous la conséquence d'une mutation dans les gènes chromosomiques. L'épidémiologie de la résistance non enzymatique est mieux connue chez les bactéries à Gram positif même si les mécanismes biochimiques n'ont été que récemment élucidés. Chez les bactéries a Gram négatif, l'épidémiologie reste encore mal connue car l'étude des différents mécanismes reste complexe, et dans nombre de cas sont plus difficiles a détecter. Enfin chez les bactéries a Gram négatif, leur incidence est encore souvent négligeable comparée aux mécanismes enzymatiques.

### **1/ Paroi bactérienne et site d'action des $\beta$ -lactamines : [1]**

La paroi est une enveloppe rigide qui recouvre la membrane cytoplasmique et assure l'intégrité cellulaire et la forme de la bactérie (cocci, bacilles, vibrions) en la protégeant contre les forces osmotiques. Elle a également pour rôle de protéger la bactérie des agents extérieurs et d'assurer les échanges avec l'environnement. La structure de la paroi est différente selon qu'il s'agit de bactéries à Gram positif ou à Gram négatif. Cependant, dans les deux cas, le peptidoglycane, substance spécifique des cellules bactériennes, en est un constituant majeur.

Chez les bactéries à Gram positif, la paroi est épaisse (de 20 à 80 nm), située au-dessus de la membrane cytoplasmique. Elle est constituée en majeure partie de peptidoglycane, associé à des carbohydrates dont le plus connu est l'acide teichoïque. Le peptidoglycane a une structure stratifiée avec un degré de réticulation très élevé chez les bactéries à Gram positif et représente environ 40 à 60 % du poids sec de la bactérie (Figure 9). Cette paroi n'est pas une barrière de perméabilité importante car elle est relativement poreuse, et beaucoup de substances protéiques ou d'autres molécules comme les antibiotiques peuvent y pénétrer. La capsule externe polysaccharidique, facteur de virulence, est un élément inconstant de ces bactéries. Chez certaines bactéries à Gram positif, lorsque la paroi intègre une proportion élevée de lipides, il en résulte une diminution de sensibilité aux  $\beta$ -lactamines (exemple : *E. faecalis*). La paroi des bactéries à Gram négatif est beaucoup moins épaisse et plus complexe. Elle est constituée, de l'extérieur vers l'intérieur, d'une membrane externe qui recouvre une couche fine de peptidoglycane (environ 5 nm) séparée de la membrane cytoplasmique par un espace périplasmique (Figure 9). L'accès des  $\beta$ -lactamines aux PLP est donc plus ou moins facile selon qu'il s'agit de bactéries à Gram positif ou de bactéries à Gram négatif.



**Figure 9:**  
Représentation schématique de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif. [1]

LPS : lipopolysaccharide ;

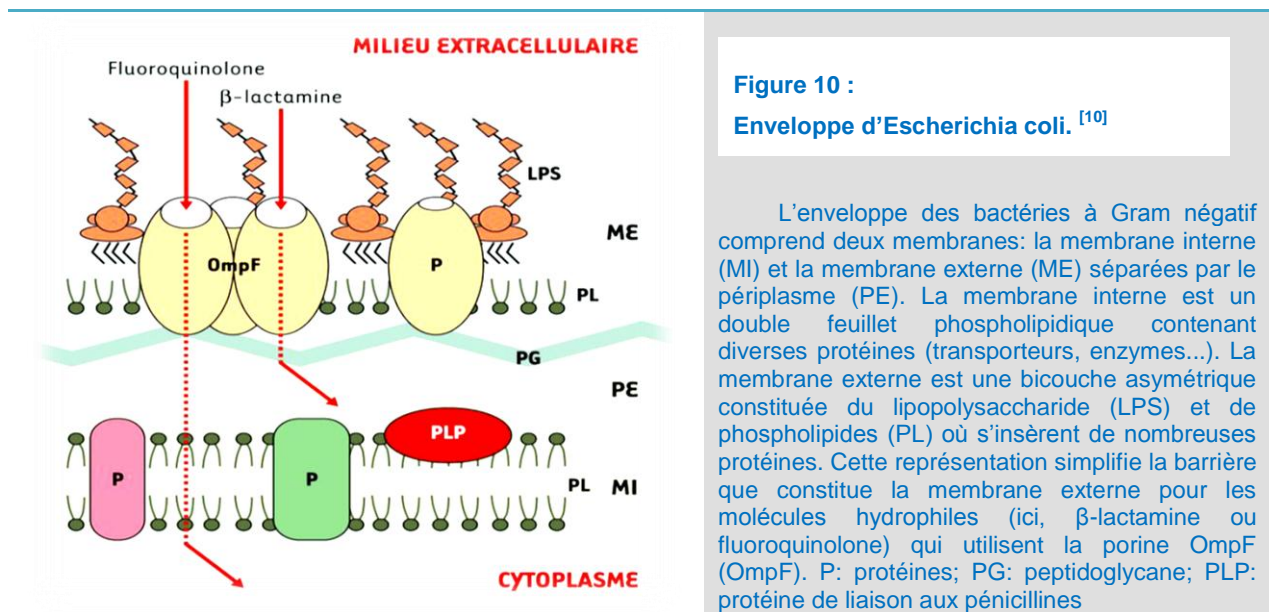
PLP : protéines de liaison aux pénicillines.

### 1.1/ Membrane externe des bactéries à Gram négatif : [1]

La présence d'une membrane externe est un caractère spécifique des bactéries à Gram négatif. Elle joue un grand rôle dans les échanges bactériens avec l'environnement et représente une barrière de perméabilité protectrice, y compris pour la pénétration des antibiotiques, alors que ceux-ci traversent très rapidement le peptidoglycane. Ainsi, la membrane externe protège les bactéries à Gram négatif contre certains antibiotiques non diffusibles et qui ne vont être actifs que sur les bactéries à Gram positif. Pour les antibiotiques qui diffusent à travers la membrane externe, comme les  $\beta$ -lactamines, cette dernière représente un frein à leur pénétration à l'intérieur de la bactérie. La membrane externe des bactéries à Gram négatif est une membrane biologique comportant un double feuillet de phospholipides hydrophobes, dans lequel sont enchâssées de nombreuses protéines, et qui se distingue de la membrane externe des cellules eucaryotes par la présence de lipopolysaccharides (LPS). Ces LPS ou endotoxines sont responsables du choc à bacilles à Gram négatif lors de la lyse bactérienne dans la circulation sanguine. Ils comprennent trois régions distinctes : une portion lipidique hydrophobe constituée d'acides gras saturés qui

se situent dans le feuillet externe de la membrane (lipide A) ; une petite chaîne de sucres appelée « core », ou noyau polysaccharidique de base, qui est rattachée au lipide A par un aminoarabinose ; des chaînes polysaccharidiques de longueur variable fixées sur le core. Le lipide A et le core varient peu, alors que la portion polysaccharidique polaire (appelée antigène O), qui fait saillie à la surface de la cellule, a une composition très variée qui définit la spécificité antigénique O de la bactérie. Le caractère saturé des acides gras qui réalisent un continuum hydrophobe et la forte cohésion des chaînes polysaccharidiques maintenues par des ions  $Mg^{2+}$  lui confèrent une faible fluidité. Cette faible fluidité du LPS explique une faible perméabilité aux molécules hydrophiles, mais aussi aux molécules hydrophobes. Les  $\beta$ -lactamines sont des molécules essentiellement hydrophiles et leur pénétration est liée à l'existence de porines, canaux protéiques transmembranaires remplis d'eau, constitués par un assemblage trimérique de protéines enchâssées dans la membrane externe. Du fait du diamètre limité de leur lumière, ces canaux ne laissent passer que des molécules de petite taille, inférieure à 600 daltons pour *E. coli*. Le LPS contribue à déterminer l'orientation et l'exposition à la surface bactérienne des porines.

En résumé, la caractéristique fonctionnelle essentielle de la membrane externe des bactéries à Gram négatif est donc la présence d'une barrière lipidique hydrophobe qui permet le passage des molécules nutritives essentielles par l'intermédiaire des porines (Figure 10 et Figure 11), mais empêche à la fois la pénétration vers l'intérieur de molécules plus grosses comme les enzymes ou certains antibiotiques et la sortie d'enzymes périplasmiques. Une autre protéine de la membrane externe, la muréine lipoprotéine, assure la stabilité de l'ensemble de la membrane externe avec le peptidoglycane. En effet, cette protéine est liée d'une manière covalente au peptidoglycane par l'intermédiaire du groupement  $NH_2$  de sa lysine terminale.



## 1.2/ Peptidoglycane bactérien : [1]

### ➤ *Structure du peptidoglycane :*

Le peptidoglycane, qui maintient la forme de la bactérie et la protège de la pression osmotique, est un polymère en réseau, de structure tridimensionnelle, composé de chaînes linéaires de N-acétyl-Dglucosamine et d'acide N-acétyl muramique (de 20 à 100 molécules). Ces chaînes polysidiques sont reliées entre elles par de courtes chaînes de térapeptides qui contiennent de la L-alanine, de l'acide D-glutamique, de la L-lysine et de la D-alanine. Ces térapeptides sont fixés par une de leurs extrémités à l'acide N-acétyl muramique et par l'autre à un autre térapeptide, soit directement, soit par l'intermédiaire d'acides aminés supplémentaires (pentaglycine chez *S. aureus*).

➤ *Synthèse du peptidoglycane :*

La synthèse du peptidoglycane se décompose en trois phases : les précurseurs du peptidoglycane sont dans un premier temps synthétisés dans le cytoplasme puis, après traversée de la membrane cytoplasmique, ils sont polymérisés à l'extérieur et s'assemblent pour former le peptidoglycane. La première phase est la formation par une chaîne enzymatique intra-cytoplasmique du précurseur du peptidoglycane, l'uridine diphosphate-Nacétyl-muramyl-pentapeptide (UDP-NAMP). La séquence du pentapeptide varie avec les espèces, mais les deux résidus terminaux sont toujours des D-alanines. La traversée de la membrane cytoplasmique de l'UDP-NAMP s'effectue grâce à un transporteur lipidique membranaire. Pendant cette étape, il y a addition d'un autre sucre, la N-acétyl-glucosamine, et d'une chaîne peptidique secondaire qui varie selon les espèces bactériennes (pentaglycine dans le cas de *S. aureus*). On obtient ainsi un disaccharide pentapeptide (N-acétylglucosamine-N-acétylmuramique-pentapeptide) dont le motif se répète sur la chaîne du peptidoglycane. L'étape pariétale est la dernière étape qui permet la synthèse du peptidoglycane. Le produit formé antérieurement vient se lier au peptidoglycane en voie de croissance. Durant cette phase, deux enzymes essentielles vont intervenir : une transglycosylase permettant la liaison au peptidoglycane en formation par création de chaînes polysaccharidiques à partir de disaccharides pentapeptides attachés entre eux et une transpeptidase qui unit les différentes chaînes polysaccharidiques entre elles. Cette liaison entre chaînes polysaccharidiques est obtenue en clivant le dipeptide D-alanine terminal porté par le disaccharide pentapeptide d'une chaîne polysaccharidique et en reliant le quatrième peptide D-alanine au troisième peptide d'un disaccharide pentapeptide d'une autre chaîne polysaccharidique. D'autres enzymes comme les carboxypeptidases sont susceptibles d'interférer avec la transpeptidation en

couplant la liaison entre le D-alanine 4 et le D-alanine 5. Ces carboxypeptidases auraient ainsi un rôle dans la régulation de la synthèse, et donc dans l'épaisseur du peptidoglycane. Les  $\beta$ -lactamines agissent en inhibant les transpeptidases D-Ala-D-Ala et les carboxypeptidases par analogie structurale entre le noyau  $\beta$ -lactame et le dipeptide d'alanine.

### *1.3/ Espace périplasmique : [1]*

C'est dans l'espace périplasmique situé entre la membrane externe et la membrane cytoplasmique que se trouvent le peptidoglycane et les enzymes capables d'hydrolyser les  $\beta$ -lactamines, les  $\beta$ -lactamases. Celles-ci existent à l'état naturel ou acquis chez de très nombreuses espèces bactériennes et sont situées sur le passage obligé des molécules de  $\beta$ -lactamines vers leur cible.

### *1.4/ Membrane cytoplasmique et protéines de liaison à la pénicilline : [1]*

La membrane cytoplasmique des bactéries à Gram positif et à Gram négatif est la structure la plus interne de la paroi bactérienne. Elle est constituée d'une double couche phospholipidique, dont la perméabilité est influencée par les variations de longueur et le degré de saturation des acides gras qui la composent. Certaines protéines qui « flottent » dans la masse des phospholipides sont des perméases qui facilitent la diffusion et le transport actif à travers la membrane. C'est à ce niveau que se trouvent les transpeptidases et carboxypeptidases impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. Ces protéines à activité enzymatique sont insérées dans la membrane cytoplasmique par leur extrémité COOH, leur site actif enzymatique étant ainsi projeté vers le substrat. Elles sont collectivement nommées PLP car ce sont les protéines cibles de l'action des  $\beta$ -lactamines.

### 1.5/ Perméabilité membranaire et porines : [10]

Trois classes principales de protéines intervenant dans la perméabilité de la membrane externe ont été identifiées :

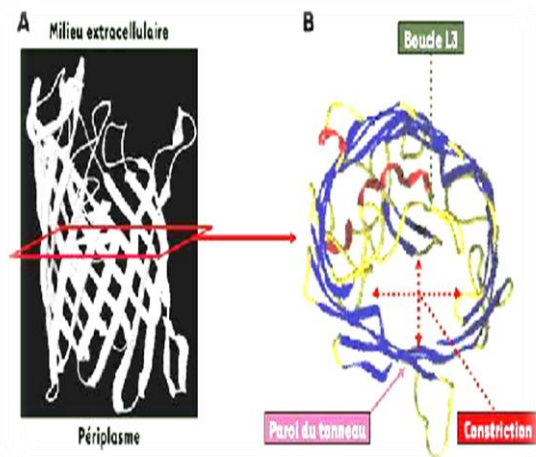
- les porines non spécifiques, telles qu'OmpF, OmpC, PhoE, OmpD et Omp36;
- les porines sélectives impliquées dans la diffusion de sucres ou de métaux, comme LamB ou FhuA;
- les protéines, telles que OmpA et TolC, formant des canaux pour diverses molécules.

Les activités de canal membranaire associées à ces protéines ont été caractérisées par différentes méthodes : cinétiques d'accumulation de composés radiomarqués ou fluorescents, mesures de diffusion dans des liposomes contenant la porine purifiée, mesures de physicochimie déterminant la conductance, la sélectivité, et la sensibilité au potentiel des canaux après reconstitution de la protéine dans des bicouches lipidiques ou dans des systèmes de patch clamp, et expériences de compétition utilisant des produits bloquant le canal.

La fonction canal a été ainsi rapportée pour plusieurs protéines majeures de la membrane externe : OmpF, OmpC, OmpD, PhoE, LamB, OmpA, OmpK36 et Omp36. Le terme générique de porine, attribué historiquement à OmpF et OmpC d'E.coli, a été étendu aux protéines homologues en séquence et en activité, comme OmpK36, OmpD, Omp36 de *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*, *Salmonella typhimurium*. Par ailleurs, la structure tridimensionnelle a été résolue pour certaines de ces porines (Tableau 7, Figure 11), et des analyses structure-fonction ont été réalisées.

Tableau 7: Porines non spécifiques dont la structure tridimensionnelle est disponible. <sup>[10]</sup>

BACTERIE	PROTEINE	RESOLUTION (ANGSTROM)
COMAMONAS ACIDOVORANS	Omp32	2,1
ESCHERICHIA COLI	OmpF	2,4
ESCHERICHIA COLI	PhoE	3
KLEBSIELLA PNEUMONIA	OmpK36	3,2
RHODOBACTER CAPSULATUS	porine	1,8
RHODOPSEUDOMONAS BLASTICA	porine	2



**Figure 11 :**  
Structure de la porine OmpF et de la région de constriction du canal.

A. La porine OmpF est une protéine dont la partie transmembranaire est constituée par des feuillets  $\beta$ . Les 16 feuillets  $\beta$  antiparallèles définissent le tonneau  $\beta$  contenant la région de constriction.

B. Coupe transversale réalisée au niveau de la région de constriction d'OmpF formée par la boucle L3 infléchie dans le canal.

### 1.6/ Imperméabilité de la membrane externe : [1]

Chez les bactéries à Gram négatif, la pénétration des  $\beta$ -lactamines, molécules hydrophiles, à travers la membrane externe constituée de phospholipides s'effectue à travers les porines qui sont des canaux protéiques remplis d'eau. La sensibilité aux

$\beta$ -lactamines dépend du nombre de porines fonctionnelles. L'altération des porines par mutation est à l'origine de résistances acquises aux  $\beta$ -lactamines, soit par une modification structurale d'une des porines essentielles, ce qui a été décrit chez *E. coli*, soit par une diminution quantitative des porines, qui est la situation la plus fréquente.

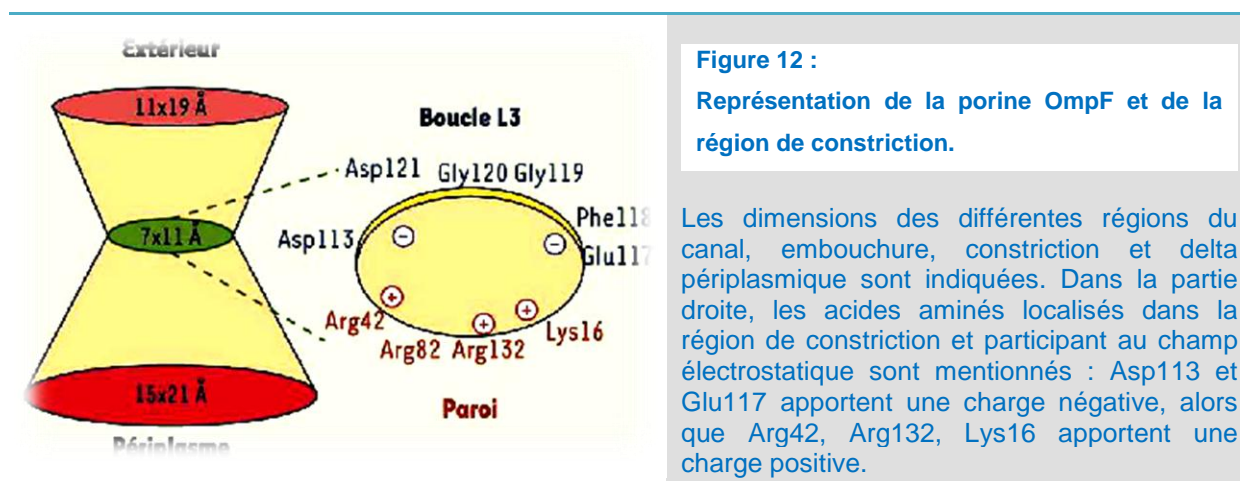
Deux porines principales sont présentes chez *E. coli* : OmpF et OmpC. Chez les mutants de *E. coli* déficients en OmpC, la pénétration des  $\beta$ -lactamines est assurée par la porine OmpF, qui est suffisamment large, et il n'y a pas d'augmentation de la résistance. Au contraire, pour les mutants déficients en OmpF, les CMI des différentes  $\beta$ -lactamines sont augmentées pour les molécules les plus volumineuses car la porine OmpC est plus étroite. Quant aux mutants OmpF<sup>-</sup> OmpC, leurs CMI sont augmentées d'une manière très importante. La résistance acquise est d'autant plus forte vis-à-vis des  $\beta$ -lactamines que la molécule est plus volumineuse, plus hydrophobe et chargée négativement. Les mutants de porines ont été produits in vitro au laboratoire chez les bactéries à Gram négatif et décrits en pratique clinique chez diverses espèces d'entérobactéries et *P. aeruginosa*. Chez *Enterobacter aerogenes*, ce mécanisme de résistance est rencontré, associé ou non à un mécanisme enzymatique, chez environ 6 % des isolats cliniques et jusqu'à 40 % des souches

présentant une résistance élevée aux céphalosporines. Chez *P. aeruginosa*, le mécanisme prédominant de la résistance spécifique aux carbapénèmes est la perte de la porine OprD qui agit de façon synergique avec l'hydrolyse par la  $\beta$ -lactamase constitutive de cette espèce. La sélection de mutants déficients en OprD survient chez 15 à 20 % des patients traités en monothérapie pour une infection à *P. aeruginosa*. Ainsi, la diminution de la synthèse des porines peut jouer un rôle dans l'apparition de la résistance aux  $\beta$ -lactamines en cours de traitement chez les bactéries à Gram négatif. Ce mode de résistance n'affecte pas les bactéries à Gram positif du fait de l'absence de membrane externe.

### *1.7/ Boucle L3 et diffusion : [10]*

Le pore OmpF, comme ceux formés par OmpC, OmpK36 et PhoE, montre une distribution particulière des charges, due aux acides aminés dans la région de constriction interne du canal formée par le repliement de la boucle L3 (Figures 12 et 3). Un croissant de charges négatives (Asp et Glu) opposé à une face de charges positives (Arg et Lys) induit un champ électrostatique. Cette région est fortement conservée dans les porines des entérobactéries. Outre des contraintes stériques induites par la région de constriction, le champ électrostatique impose des contraintes d'orientation aux solutés chargés qui empruntent le canal. La conservation de cette organisation dans la région de constriction du canal (Figures 12 et 3) est un élément clé dans la fonction du pore, comme l'ont rapporté différents travaux sur le résidu Gly119. La substitution par un résidu Asp ou Glu se traduit par un encombrement croissant de la lumière de la porine qui perturbe la diffusion des antibiotiques et altère les propriétés du canal. De manière similaire, la substitution de résidus chargés, Asp113 ou Asp121 par Ala,

entraîne une modification drastique des propriétés du pore et perturbe l'action de certaines molécules utilisant le canal. Cette portion du canal joue ainsi un rôle essentiel dans la structure fonctionnelle, la disposition des charges, et le champ électrostatique localisé dans la constriction, et donc dans les interactions électrostatiques entre le soluté et la porine.



## 2/ Résistance non enzymatique chez les bactéries à gram positif : [9]

Le mode d'action des  $\beta$ -lactamines est lié à la capacité qu'elles ont de se fixer sur les protéines de liaison à la pénicilline (PLP) qui sont en fait des enzymes essentielles (Transpeptidase, Carboxypeptidase) de la synthèse du peptidoglycane. Situées sur la membrane cytoplasmique, elles fixent les  $\beta$ -lactamines parce qu'elles ont une analogie structurale avec le substrat naturel de ces enzymes qui est le D-alanine terminal du pentapeptide. Les PLP fixent les  $\beta$ -lactamines par une liaison covalente et le complexe ainsi formé peut être mis en évidence par autoradiographie à condition d'utiliser des  $\beta$ -lactamines radiomarquées. Plusieurs PLP sont présentes dans chaque espèce et parmi celles-ci, il existe généralement une PLP dite (essentielle), dont

l'affinité pour les  $\beta$ -lactamines est corrélée à la concentration minimale inhibitrice (CMI).

Resistance due à la modification des PLP : [9]

Chez les bactéries à Gram positif, c'est la modification de ces PLP qui représente le mécanisme principal de la résistance non enzymatique. Plusieurs types de modifications peuvent être rencontrés :

- Diminution de l'affinité de la PLP essentielle pour les  $\beta$ -lactamines. De telles modifications ont été démontrées pour la PLP2 de *Streptococcus A* et la PLP1 de *Clostridium perfringens* à partir de mutants obtenus au laboratoire. Dans ce cas, l'affinité est diminuée pour toutes les bêtalactamines mais de manière inégale selon les  $\beta$ -lactamines. Pour les mutants résistants de *C. perfringens*, la modification de la PLP1 s'accompagne d'une augmentation d'un facteur 100 de la CMI pour la pénicilline et d'un facteur de 10 000 pour le cefotaxime, ceci témoignant indirectement de la relation structure activité entre PLP et  $\beta$ -lactamines.

- Une augmentation de la quantité d'une PLP déjà présente : ce type de modification est retrouvé chez tous les Entérocoques, aussi bien pour des mutants fabriqués au laboratoire que pour des souches d'origine clinique. Cette résistance a été particulièrement bien étudiée chez les Entérocoque faecium. On a démontré que la PLPS, présente en faible quantité dans les souches sensibles, augmente quantitativement d'un facteur 10 à 20 dans les souches résistantes et peut s'accompagner d'une diminution d'affinité pour les  $\beta$ -lactamines. Cette PLP qui n'avait pas de rôle dans la sensibilité des souches sensibles joue le rôle le plus important dans les souches résistantes où elle prend la fonction de PLP essentielle par rapport aux autres PLP. La CMI de la souche résistante dépend alors des quantités de  $\beta$ -lactamines nécessaires pour la saturer.

- Acquisition d'une nouvelle PLP : c'est le cas des *S. aureus* résistants à la méticilline. La résistance est due à l'acquisition d'un nouveau gène codant pour une PLP (78 000 Kb, PLP2a) qui va, comme dans le cas précédent, prendre le rôle essentiel sur les autres PLP déjà présentes. Sa faible affinité pour les  $\beta$ -lactamines explique la résistance. La résistance hétérogène pourrait s'expliquer par l'inductibilité de cette PLP. Il semble néanmoins qu'un autre mécanisme non expliqué à l'heure actuelle, puisse être impliqué dans cette résistance.

- La résistance aux  $\beta$ -lactamines chez les Pneumocoques se distingue des précédentes car plusieurs modifications de PLP sont nécessaires pour aboutir à la résistance. Il a été démontré que plusieurs événements génétiques étaient nécessaires à l'acquisition des plus hauts niveaux de résistance expliquant que l'on puisse retrouver plusieurs altérations de PLP associées (apparition d'une nouvelle PLP, disparition de 2 PLP et réduction à la fois de la quantité et de l'affinité de la PLP2).

La résistance aux  $\beta$ -lactamines par modifications des PLP est croisée pour toutes les  $\beta$ -lactamines, mais comme nous l'avons rapporté pour *C. perfringens*, l'importance de la résistance observée peut varier d'une  $\beta$ -lactamine à l'autre. Les résistances les plus élevées pour la pénicilline sont retrouvées chez les *E. faecium* pour lesquelles les CMI peuvent atteindre 128  $\mu\text{g/ml}$ . Chez les pneumocoques, les CMI les plus élevées ne dépassent pas 16  $\mu\text{g/ml}$ . En France, la CMI des souches de Pneumocoques résistants ne dépasse généralement pas 0,5 à 1  $\mu\text{g/ml}$ . Pour les Staphylocoques résistants à la méticilline, la résistance est croisée pour toutes les bêtalactamines, y compris les nouvelles  $\beta$ -lactamines comme l'imipénème.

### **3/ Résistance non enzymatique chez les bactéries à gram négatif : [9]**

Contrairement aux bactéries à Gram positif où les peptidoglycanes ne représentent pas une barrière pour la diffusion des  $\beta$ -lactamines chez les bactéries à Gram négatif, il existe au-dessus du peptidoglycane une barrière de diffusion liée à la présence de la membrane externe. Celle-ci est composée d'une couche interne phospholipidique et d'une couche externe essentiellement remplie par le lipopolysaccharide (LPS). Cette membrane externe est globalement hydrophobe, de telle sorte qu'elle empêche la pénétration des molécules hydrophiles, telles que les bêtalactamines. La présence de protéines spécialisées appelées Porine formant de véritables pores dans la membrane externe, va néanmoins permettre la diffusion des bêtalactamines. Leur diffusion au travers des porines dépend pour chaque bêtalactamines de son hydrophobicité, de sa charge, et de son encombrement stérique. Ainsi, une molécule comme la piperacilline diffusera 5 fois moins vite que le cefotaxime qui à son tour, diffusera 10 fois moins vite que l'imipénème. L'efficacité d'une bêtalactamines chez les bactéries à Gram négatif, dépendra donc de sa facilité de diffusion au travers de la membrane externe (au maximum quelques secondes, quel que soit le composé), et de son affinité pour les PLP essentielles. Ceci ne tient pas compte de la présence possible de bêtalactamases susceptibles d'hydrolyser ces molécules dans l'espace périplasmique qui sépare la membrane externe des PLP situées sur la membrane cytoplasmique. On conçoit donc que chez les bactéries Gram négatif, les mécanismes de résistance non enzymatiques puissent affecter la membrane externe ou les PLP :

3.1/ *Resistance par imperméabilité : altération des Porines ou des protéines de la membrane externe : [9]*

C'est chez *E. coli* que la relation entre les porines et la résistance aux  $\beta$ -lactamines a été le mieux étudiée. Deux porines OmpF et OmpC sont présentes chez *E. coli*. Il a été démontré que l'absence des OmpC ne s'accompagnait pas d'augmentation de la résistance alors que l'absence des OmpF s'accompagne d'une résistance à l'ampicilline et à la céfoxitine (4xCMI) sans modification de la CMI pour la cephalaridine. Ces résultats témoignent d'un passage préférentiel des  $\beta$ -lactamines à travers la porine OmpF. La suppression des 2 porines OmpF et OmpC s'accompagne d'une résistance marquée à ces trois antibiotiques (32 x CMI). Des résultats variables ont été obtenus pour les céphalosporines de 3ème génération avec généralement une faible augmentation plus marquée pour le moxalactam (10-100 x CMI). Alors qu'il n'existe pas de mutant de porines d'*E. coli* rapporté en clinique, de tels mutants obtenus *in vitro* et *in vivo* ont été rapportés dans d'autres espèces, comme les *Salmonella*, les *Klebsiella*, les *Serratia* et les *Enterobacter*. Dans ces espèces, la résistance est croisée pour toutes les  $\beta$ -lactamines excepté l'imipénème, peu marquée par l'aztreonam et la cefotaxime (4 - 10 x CMI), elle est souvent importante pour le moxalactam et la céfoxitine (10 - 100 x CMI). Les mutants par imperméabilité s'accompagnant d'altération de protéine de la membrane externe rapportés en clinique chez *H. influenzae* et *N. gonorrhoeae* n'auraient qu'une faible augmentation de leur CMI aux  $\beta$ -lactamines.

Une étude rapporte une épidémie due à des souches de *Pseudomonas aeruginosa* présentant une résistance isolée à l'imipénème. Neuf souche de *P.aeruginosa* isolée d'aspiration bronchique sur une période de douze semaine (Aout-octobre 2003) chez des patients hospitalises au sein du service de pneumologie de l Hôpital Militaire d'instructions Mohamed V de Rabat ont été étudiées. Elles ont caractérisées par la détermination de la sensibilité aux antibiotiques, le sérotypage et le typage moléculaire par méthodes d électrophorèse en champs pulsé. Les souches avaient le même antibiotype caractérisé par une résistance non enzymatique isolée à l'imipénème par perte de la porine OprD2 et la même sérotype O:6. [22]

### *3.2/ Altération du LPS : [9]*

La modification de la composition du LPS, soit dans le polysaccharide, soit dans le core, semble être un des mécanismes possible et fréquent de la résistance non enzymatique des *Pseudomonas* aux  $\beta$ -lactamines. Il n'existe pas de modification quantitative de la porine principale dans ces mutants de perméabilité mais cela n'exclue pas que les modifications du LPS ne s'accompagnent d'une fermeture de ces porines.

### *3.3/ Resistance croisée a diverses familles d'antibiotiques : [9]*

La résistance croisée entre  $\beta$ -lactamines et aminosides, conséquence d'un seul événement génétique, a été démontrée chez *S. marcescens* et *P. aeruginosa*, dans des souches isolées en clinique. De même chez *Klebsiella*, *Enterobacter* et *Serratia*, on a montre qu'il pouvait exister une résistance croisée entre  $\beta$ -lactamines, quinolones, chloramphénicol et trimethoprim. Dans tous ces cas, une anomalie de la perméabilité associant les porines, est probablement à l' origine de la résistance. En outre, différents travaux ont montre chez des mutants d'*E. coli*, obtenus in vitro, que certains mutants de porines présentaient une résistance croisée entre  $\beta$ -lactamines et quinolones. Chez les gonocoques, les mutants de perméabilité associeraient a la résistance aux  $\beta$ -lactamines, une résistance modérée a l' érythromycine et a la tétracycline.

### *3.4/ Altération des PLP : [9]*

L'altération des PLP n'a été que rarement démontrée chez les bactéries à Gram négatif. In vitro, on a montré que des mutations touchant la PLP2 d'*E. coli*, s'accompagnaient d'une résistance vis-à-vis du mécilinam et de l'imipénème alors que celles touchant la PLP3 s'accompagnaient d'une résistance vis-à-vis des céphalosporines. À partir de souches de gonocoque et d'*Haemophilus influenzae*

isolées en clinique, on a montré que des diminutions d'affinité d'une ou deux PLP étaient responsables d'augmentation modérée de la résistance à l'ensemble des bêtalactamines. Il est probable que ce mécanisme non enzymatique soit le plus fréquent dans ces espèces et particulièrement pour *Haemophilus*. Chez *Pseudomonas*, il a été montré que deux souches résistantes sélectionnées respectivement en présence de piperacilline et de cefsulodine, s'accompagnaient d'une altération de plusieurs PLP et que dans l'une des souches, une anomalie de la membrane externe était associée.

### **4/ Systèmes actifs d'efflux d'antibiotiques : [11]**

Les pompes à efflux présentes dans les parois bactériennes représentent un mode de résistance de bas niveau [59], peu significatif en clinique et donc souvent négligé. Cependant, ces pompes favorisent l'émergence de résistances de degré élevé aux antibiotiques par exportation active grâce à des transporteurs membranaires appelés pompes d'efflux. Ces protéines sont spécifiques d'une classe d'antibiotiques ou au contraire responsables de MDR (multidrug resistance), elles-mêmes responsables de complications majeures dans le traitement des infections bactériennes. C'est pourquoi ces pompes doivent être prises en compte dans le développement de nouvelles thérapies anti-infectieuses.

## **B/ Classification des pompes d'efflux :**

Ces pompes peuvent être des transporteurs de drogue spécifiques et conférer une résistance vis-à-vis d'une seule classe d'antibiotiques (ex. pompes d'efflux des tétracyclines, Tet ou des macrolides, Mef). Cependant, la plupart de ces transporteurs peuvent prendre en charge des composés de structure très différente et contribuer ainsi de manière significative à la multi-résistance naturelle (intrinsèque) et acquise des bactéries vis-à-vis des antibiotiques (MDR pour multidrug resistance). Les gènes encodant les pompes de drogue-spécifiques sont souvent retrouvés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides ou transposons) alors que ceux qui encodent les pompes MDR sont pour la plupart chromosomiques.

Les pompes d'efflux peuvent aussi être classées selon la source d'énergie nécessaire à leurs changements de conformation lors du transport, fournie soit par dissipation d'un gradient de protons (PMF, Proton Motive Force) ou d'ions Na<sup>+</sup>, soit par hydrolyse d'adénosine triphosphate (ATP). Chez les bactéries, la plupart des pompes mises en évidence utilisent la PMF alors que c'est l'hydrolyse de l'ATP qui est le plus souvent mise en jeu chez les eucaryotes (ex. P-glycoprotéine impliquée dans la résistance aux anticancéreux).

Enfin, chez les bactéries à Gram positif, le système d'efflux n'est constitué que du transporteur alors que chez les bactéries à Gram négatif, celui-ci est généralement un complexe protéique tripartite.

### **1/ Les pompes d'efflux dépendant de la PMF :**

Ces pompes sont appelées transporteurs secondaires car elles permettent le couplage entre diffusion facilitée de cations et transport actif du composé. Lorsque la diffusion et le transport actif s'effectuent en sens opposé, le transport est qualifié d'antiport. Selon la taille et les similitudes de structures primaire et secondaire, ce grand groupe de protéines peut être divisé en quatre familles distinctes (Figure : 1 3):

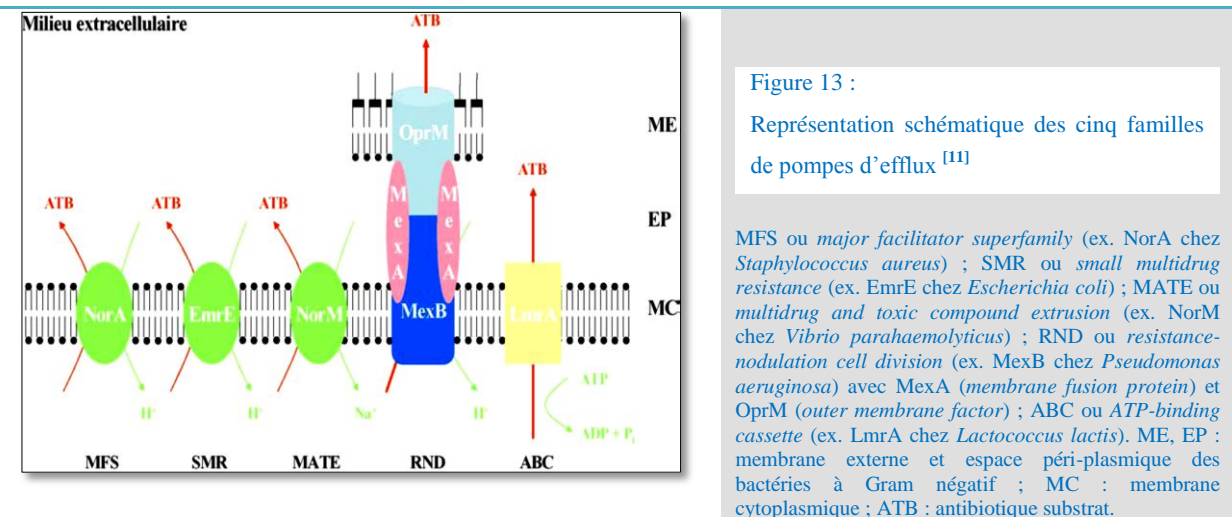
Les transporteurs MFS sont des protéines d'environ 400 acides aminés et sont présents des bactéries aux eucaryotes supérieurs. L'analyse des profils d'hydrophatie et l'alignement des motifs conservés ont permis de diviser cette famille en deux sous-familles, les pompes à 12 segments transmembranaires (TMS) et les pompes à 14 TMS. À noter que ce type de pompes est inhibé par la réserpine. Ces transporteurs fonctionnent généralement sans protéine associée, excepté chez quelques bactéries à Gram négatif.

Les transporteurs SMR sont uniquement présents chez les procaryotes. Ce sont les plus petites protéines d'efflux avec une structure primaire d'environ 110 acides aminés. Ils sont constitués de quatre TMS et, du fait de leur petite taille, pourraient être assemblés en oligomères, notamment en trimères. Les pompes SMR n'exportent que des cations lipophiles notamment certains antiseptiques et désinfectants comme les ammoniums quaternaires.

Les transporteurs RND sont retrouvés essentiellement chez les bactéries à Gram négatif, chez lesquelles ils jouent un rôle important dans la résistance naturelle et acquise vis-à-vis de nombreux antibiotiques, souvent en synergie avec l'imperméabilité de la membrane externe. Généralement encodés par des

gènes chromosomiques, ils sont constitués d'environ 1000 acides aminés et comprennent 12 TMS avec deux larges boucles périplasmiques hydrophiles impliquées dans la reconnaissance du substrat. Pour permettre le transport à travers la membrane externe des bactéries à Gram négatif, les pompes RND s'associent en complexe protéique tripartite avec une protéine périplasmique ou MFP (Membrane Fusion Protein) et une porine de la membrane externe ou OMF (Outer Membrane Factor) (Figure 13). Les trois gènes encodant les protéines de ce complexe sont souvent constitués en un unique opéron. Il semble cependant que certaines OMF puissent s'associer directement avec des transporteurs RND sans l'intermédiaire d'une MFP.

Les transporteurs MATE ont une topologie membranaire analogue à celle des pompes MFS. Actuellement décrits chez les bactéries à Gram négatif, ils utilisent un gradient électrochimique d'ions Na<sup>+</sup>.



## **2/ Les transporteurs ABC**

Les transporteurs qui utilisent l'énergie issue de l'hydrolyse de l'ATP sont appelés transporteurs ABC (ATP-binding cassette) et constituent la plus vaste famille de protéines connues. Ces pompes sont très largement impliquées dans la MDR des cellules cancéreuses mais seules quelques-unes ont été décrites chez les procaryotes. La structure des transporteurs ABC comprend deux domaines principaux. Le domaine ABC ou NBD (nucleotide-binding domain), très conservé, est constitué d'environ 215 acides aminés et contient deux motifs courts (Walker A et B) impliqués dans la liaison à l'ATP et une séquence consensus appelée « signature ABC » ou motif C.

Le domaine hydrophobe ou domaine TMD (trans-membrane domain) est impliqué dans la reconnaissance des substrats. Les transporteurs entiers (ou full-transporters) sont constitués de deux dimères TMD-NBD alors que les semitransporteurs (ou half-transporters), plus rares, ne sont constitués que d'un seul dimère [13].

### **B/ Rôle physiologique et impact sur la résistance aux antibiotiques :**

Les bactéries utilisent les pompes d'efflux pour se protéger des effets de nombreux toxiques de l'environnement (pesticides, métaux lourds, sels biliaires, solvants organiques, antiseptiques...) et c'est ce rôle de détoxification qui a surtout été mis en évidence. Cependant, les transporteurs ont aussi un autre rôle physiologique caractérisé d'élimination de déchets métaboliques endogènes ou de sécrétion de produits cellulaires. Ils peuvent servir à l'exportation de toxines bactériennes, de microbicides naturels ou encore de molécules nécessaires au

pouvoir invasif du germe des bactéries pathogènes. Ainsi, les homosérines lactones (HSL) médiatrices du phénomène de « quorum sensing » chez *P. aeruginosa* sont excrétées dans le milieu extérieur via le système MexAB-OprM. Les transporteurs transmembranaires sont donc à la fois essentiels à la résistance vis-à-vis des toxiques mais aussi au « fitness » de la cellule bactérienne et à son pouvoir pathogène.

La résistance intrinsèque à de nombreux antibiotiques par efflux actif est largement répandue parmi les bactéries à Gram négatif. Elle est modérément exprimée dans la plupart des cas. Cependant, elle peut atteindre un niveau élevé si plusieurs pompes sont co-exprimées, où en cas d'hyperexpression des gènes encodant des transporteurs. Il existe aussi des associations entre l'efflux actif et les autres mécanismes de résistance. C'est par exemple le cas de la synergie entre l'efflux et des mutations dans les gènes des topoisomérases (*gyrA*, *gyrB* et *parC*, *parE*) dans la résistance aux fluoroquinolones de *Streptococcus pneumoniae*. L'exportation des fluoroquinolones favoriserait la sélection de mutants par exposition à des concentrations insuffisantes de l'antibiotique. Enfin, il est démontré que l'utilisation de métaux lourds ou d'antiseptiques, cosubstrats des pompes MDR, joue un rôle dans la sélection de mutants résistants par efflux actif.

## **C/ L'efflux chez les bactéries à Gram négatif :**

La résistance naturelle des bactéries à Gram négatif à de nombreux antibiotiques est le résultat de l'association de l'imperméabilité de la membrane externe et de l'expression des systèmes d'efflux intrinsèques. Ces micro-organismes peuvent aussi acquérir des transporteurs des substances spécifiques extrinsèques, portés par des éléments génétiques mobiles.

### **1/ Entérobactéries :**

Chez *Escherichia coli*, différents systèmes d'efflux contenant des pompes RND ont été décrits dont AcrAB-TolC est le mieux caractérisé (Tableau 8). AcrB est une pompe RND, AcrA la MFP, et TolC une porine de la membrane externe. Les gènes *acrA* et *acrB* appartiennent au même opéron qui n'inclut pas *tolC*. Il existe aussi des systèmes non-RND comme la pompe EmrB impliquée dans la résistance intrinsèque à l'acide nalidixique, MdfA (ou Cmr) responsable de la résistance au chloramphénicol ou encore EmrE impliquée dans la résistance aux ammoniums quaternaires.

D'autres transporteurs substances-spécifiques ont été décrits, notamment pour les cyclines et les macrolides, lincosamides et streptogramines (MLS). Il existe environ une vingtaine de pompes MFS qui confèrent en général la résistance à la tétracycline mais pas à la minocycline, ni aux glycylicyclines. Les protéines TetA, TetB, TetC, TetD et TetE sont très largement distribuées chez les Enterobacteriaceae, les Pseudomonadaceae et les Vibrionaceae tandis que la pompe TetH est principalement retrouvée chez les Pasteurellaceae. Cependant, la résistance aux cyclines peut être due à une protection de la cible ribosomale (ex. TetM). Chez *E. coli*, un transporteur ABC, MacB, a récemment été décrit dans la résistance aux macrolides à 14 et 15 atomes. Ce système d'efflux comprend aussi MacA, une MFP et probablement la porine TolC.

## 2/ Bacilles à Gram négatif non fermentaires :

Le bacille pyocyanique est intrinsèquement résistant à de nombreux antibiotiques. Ce phénotype est en partie dû à une imperméabilité cellulaire mais surtout à l'expression constitutive d'un système d'efflux, MexAB-OprM (tableau 8). La porine OprM est un homologue de TolC qui, comme elle, peut s'associer à d'autres protéines RND et MFP (comme MexXY ou MexJK). L'hyperproduction de ce système (chez les mutants nalB et nalC, par exemple) est responsable de résistance acquise à nombreux antibiotiques, notamment aux fluoroquinolones et  $\beta$ -lactamines, à l'exception des carbapénèmes. Contrairement à MexAB-OprM, les systèmes d'efflux MexCD-OprJ (tableau 8) et MexEF-OprN ne sont exprimés que s'il existe des mutations du répresseur NfxB ou de l'activateur MexT, respectivement. L'expression de MexCD-OprJ entraîne une MDR caractérisée phénotypiquement par une diminution de sensibilité au céfépime et au céfpirome. De même, des mutations dans mexT sont responsables de l'expression de MexEF-OprN et d'une résistance aux fluoroquinolones.

De plus, on observe chez ces mutants une diminution de l'expression de OprD, et donc de la sensibilité à l'imipénème. Enfin, le système MexXY-OprM est impliqué dans la résistance aux aminosides chez *P. aeruginosa*, et serait, en cas d'hyperproduction, responsable du phénotype de type « imperméabilité ». Autres bacilles à Gram négatif aérobies stricts, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia* et *Burkholderia pseudomallei* présentent un haut niveau de résistance intrinsèque à de nombreux antibiotiques ( $\beta$ -lactamines, aminosides, fluoroquinolones). Ceci est partiellement dû à la présence de différentes pompes MDR comme SmeABC, CeoAB-OpcM, AmrAB-OprA ou BpeAB-OprB.

### 3/ *Neisseria gonorrhoeae* :

Le gonocoque exprime de façon constitutive un système d'efflux contenant une pompe RND, MtrCDE. En cas de surexpression, par mutations du gène régulateur local *mtrR*, ce système est responsable de la résistance vis-à-vis de nombreux composés tels que pénicillines, cyclines, macrolides, rifampicine, détergents et sels biliaires (tableau 8).

**Tableau 8** : Exemples des systèmes d'efflux des bactéries à Gram négatif incluant les  $\beta$ -lactamines dans leur spectre de substrat [1, 74, 75].

Bactérie	Système d'efflux	Substrats antibiotiques <sup>a</sup>
<i>Escherichia coli</i>	AcrAB- TolC	$\beta$ -lactamines, quinolones, macrolides, tétracyclines, chloramphénicol, novobiocine
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MexAB-OprM	toutes $\beta$ -lactamines sauf l'imipénème, quinolones, macrolides, tétracyclines, chloramphénicol, novobiocine, triméthoprime, sulfaméthoxazole
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	MexCD-OprJ	$\beta$ -lactamines <sup>c</sup> sauf les carbapénèmes, la ceftazidime et l'aztréonam, quinolones, tétracyclines, chloramphénicol, novobiocine, triméthoprime
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	Mex XY-OprM	$\beta$ -lactamines sauf l'imipénème <sup>b</sup> , quinolones, macrolides, tétracyclines, chloramphénicol, novobiocine
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	MtrCDE	$\beta$ -lactamines, macrolides, chloramphénicol, tétracyclines

<sup>a</sup> L'hyper-expression des systèmes d'efflux confère une augmentation de deux à huit dilutions des concentrations minimales inhibitrices pour les antibiotiques substrats.

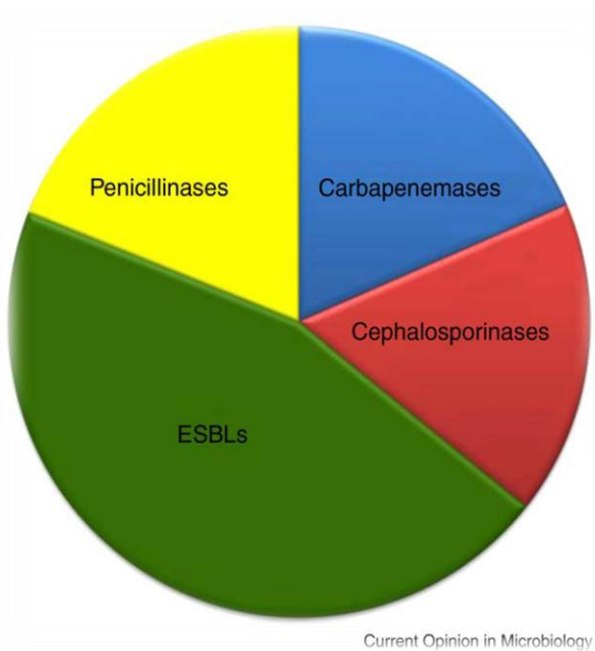
<sup>b</sup> Le méropénème est touché, contrairement à l'imipénème.

<sup>c</sup> Parmi les  $\beta$ -lactamines anti-*Pseudomonas*, la céfépime et la ceftiorome sont les plus touchées.

## **B/ Mécanismes enzymatiques : Mécanismes ciblant directement l'antibiotique :**

Les  $\beta$ -lactamases sont un groupe hétérogène d'enzymes d'origine bactérienne capables d'inactiver les  $\beta$ -lactamines par ouverture du cycle  $\beta$ -lactame, structure de base commune à toutes les  $\beta$ -lactamines. Elles constituent de loin le mécanisme le plus répandu de résistance des bactéries aux  $\beta$ -lactamines et ont été à l'origine des premières résistances acquises dès l'apparition des antibiotiques au début des années 1940 : la première résistance par pénicillinase plasmidique à la pénicilline G est décrite chez *S. aureus* dès 1944. En 1955, la résistance naturelle de nombreuses espèces de bacilles à Gram négatif par production d'une céphalosporinase (Figure 14) inductible est mise en évidence. En 1965, les premières  $\beta$ -lactamases plasmidiques de type TEM sont décrites chez les entérobactéries et, en 1974, le transfert de ces  $\beta$ -lactamases à des espèces bactériennes différentes par transposition est mise en évidence, expliquant leur diffusion à *H. influenzae*, *N. gonorrhoeae* ou *Vibrio cholerae*. L'extension de la résistance par production de  $\beta$ -lactamase devait par la suite s'accélérer. Ainsi, dès 1980, la prescription des céphalosporines résistantes aux pénicillinases à large spectre a été suivie de la sélection en cours de traitement de variants hyperproducteurs de céphalosporinase chez certaines espèces (*Enterobacter*, *Citrobacter*, *Pseudomonas*...). Plus récemment, des pénicillinases (Figure 14) ont été individualisées dans des espèces jusque-là épargnées : *N. meningitidis*, *Haemophilus ducreyi*, *H. parainfluenzae*, *E. faecalis*, *E. faecium* ou *Pasteurella multocida*. La découverte de la première souche de *Klebsiella* résistante aux céphalosporines de troisième génération par production de  $\beta$ -

lactamase à spectre élargi est suivie par une rapide diversification et une large diffusion de ce type d'enzymes chez les entérobactéries. Les premières souches cliniques de *Klebsiella pneumoniae* ayant acquis un plasmide codant pour une  $\beta$ -lactamase de classe C sont décrites en 1988. À la même époque, au Japon, une souche de *P. aeruginosa* résistante à l'imipénème par acquisition d'une carbapénémase (Figure 14) plasmidique est caractérisée. Au début des années 1990, des mutants dérivés de  $\beta$ -lactamases à large spectre de type TEM et présentant une résistance aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamase comme l'acide clavulanique sont à leur tour décrits chez *E. coli*, puis chez d'autres espèces d'entérobactéries. [1]



**Figure 14:**  
Répartition des  $\beta$ -lactamases selon la fonctionnalité. [61]

- **Pénicillinases** comprennent principalement les groupes fonctionnels 2, 2a, 2b, 2c et 2d  $\beta$ -lactamases.
- **Carbapénémases** comprennent des groupes fonctionnels 2df, 2f, et le groupe 3  $\beta$ -lactamases.
- **Céphalosporinases** comprennent des groupes fonctionnels 1, 1e, 2e et des enzymes.
- **BLSE** comprennent des groupes fonctionnels 2be, 2ber et 2de  $\beta$ -lactamases.

## **1/ Classification des $\beta$ -lactamases : [13]**

Les deux schémas les plus utilisés pour la classification des BLSE sont celui d'Amblar (tableau 9) qui est fondé sur l'homologie de séquence des acides aminés et de Bush-Jacoby-Medeiros (tableau 9) qui est fondé sur les propriétés fonctionnelles des enzymes. La classification d'« Amblar » divise les  $\beta$ -lactamases en quatre groupes (de A à D). Les groupes A, C et D contiennent des  $\beta$ -lactamases avec la sérine dans son site actif. Les BLSE appartiennent soit au groupe A (types TEM, SHV, CTX-M) et en plus petit nombre au groupe D (type OXA). Les  $\beta$ -lactamases du groupe C sont des céphalosporinases (type AmpC) mais non BLSE. Le groupe B contient des enzymes comportant deux atomes de zinc au site actif. Elles sont désignées comme métallo- $\beta$ -lactamases et peuvent hydrolyser les carbapénèmes [8]. La classification de « Bush et al. » est fondée sur les caractéristiques physicochimiques des enzymes comme leur point isoélectrique, poids moléculaire, substrat d'activité et profil d'inhibition. Les BLSE appartiennent à la catégorie 2be et 2d de cette classification.

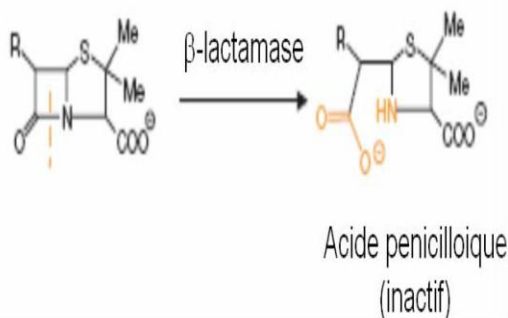
**Table 9 : schéma de classification des  $\beta$ -lactamases** <sup>[12]</sup>

<b>Ambler classification system</b>		
class A	Penicillinases	TEMs, SHVs, PC1, CTX-Ms, SME-1, KPC-1
class B	Metallo-beta-lactamases (zinc)	IMP-1, VIM-1, Ccr A
class C	Cephalosporinases	AmpCs, CMY-2, ACT-1
class D	Oxacillinases	OXA-1
<b>Bush-Jacoby-Medeiros classification</b>		
Group 1	cephalosporinases hydrolyze extended-spectrum cephalosporins; clavulanate resistant	AmpCs, CMY-2, ACT-1, MIR-1
Group 2	all clavulanic acid susceptible	
2a	penicillinase PC1 from <i>S. aureus</i>	
2b	broad-spectrum penicillinase	TEM-1, SHV-1, TEM-2
2be	ESBLs	SHV-2, TEM-10, CTX-Ms
2br	inhibitor resistant	TEMs, IRTs TEM-30, TEM-31
2c	carbenecillin hydrolyzing	PSE-1
2d	oxacillin hydrolyzing	OXA-10, OXA-1
2e	cephalosporinases inhibited by clavulanate	FEC-1
2f	carbapenemases	KPC-1, SME-1
Group 3	Metallo-beta-lactamases hydrolyze imipenem, inhibited by EDTA, resistant to clavulanate	IMP-1, VIM-1, Ccr A
Group 4	miscellaneous	

### 1.1 / Serines-beta-lactamases :

Les  $\beta$ -lactamases sont la principale cause de la résistance des bactéries aux antibiotiques beta-lactame. Ces enzymes clivent la liaison amide de l'anneau  $\beta$ -lactame (figure 15) donc inactivé l'antibiotique.  $\beta$ -lactamases se divisent en quatre classes. Les classes A, C et D sont des sérine- $\beta$ -lactamases qui emploient une sérine du site actif pour catalyser l'hydrolyse, tandis que métallo- $\beta$ -lactamases ou classe B  $\beta$ -lactamases sont Métallo-enzymes nécessitant un ou deux ions de zinc pour leur activité.

Anneau  $\beta$ -lactame intact



**Figure 15 :**  
Mécanisme d'inactivation des  $\beta$ -lactames par les  $\beta$ -lactamases. <sup>[15]</sup>

L'hydrolyse de l'anneau  $\beta$ -lactame par les  $\beta$ -lactamases aboutit à l'ouverture de l'anneau, rendant l'antibiotique inactif. Me, groupement méthyl

### 1.1.1/ Carbapénémases de classe A : [14, 16, 18]

Les carbapénémases de classe A ont été tout d'abord rapportées dans plusieurs souches d'entérobactéries isolées de l'environnement (Serratia, Enterobacter), produisant des  $\beta$ -lactamases dont l'activité était inhibée par l'acide clavulanique. Elles hydrolysaient, à divers degrés, toutes les  $\beta$ -lactamines. Leurs gènes sont chromosomiques ou plasmidiques.

#### 1.1.1.1/ Enzymes codés par le chromosome : SME, NMC et IMI :

- Serratia Marcescens Enzyme [SME]

La première détection de SME-1 (Serratia Marcescens Enzyme) en Angleterre de deux souches de *S. marcescens* qui ont été recueillies en 1982 [27, 28]. Le SME-1  $\beta$ -lactamase, avec les SME-2 et les SME-3, presque identique a été trouvé sporadiquement partout aux États-Unis [29-32].

- Imipénème-hydrolyser par les  $\beta$ -lactamase [IMI] / Not Métallo-enzyme Carbapénèmase [NMC-A] :

L'IMI (Imipénème-hydrolyser par les  $\beta$ -lactamase) et les enzymes NMC-A (Not Métallo-enzyme Carbapénèmase) ont été détectés dans les rares isolats cliniques d'E.cloacae dans les États-Unis, la France et l'Argentine [33-36]. NMC-A et IMI-1 ont l'identité des acides aminés de 97 % et sont liés aux SME-1, avec environ 70 % d'acide aminé identité [26, 36].

Plus récemment, cependant, gènes codant IMI-2  $\beta$ -lactamases ont été trouvés sur des plasmides dans *Enterobacter asburiae* de rivières aux États-Unis et sur un plasmide d'un isolat d'e.cloacae de Chine [37, 38]. Ces  $\beta$ -lactamases chromosomiques peuvent être induites en réponse à imipénème et céfoxitine.

Pour NMC-A, la structure de l'enzyme ne change pas de conformation lorsque l'inhibiteur était lié. Le disulfure entre 69 et 238 positions est situé près du site actif, une caractéristique commune parmi les carbapénèmases de classe A. Cette liaison disulfure est nécessaire pour l'activité hydrolytique, non seulement pour l'hydrolyse d'imipénème, ce qui suggère qu'il est nécessaire de stabiliser l'enzyme structurellement [39, 40].

#### *1.1.1.2/ Enzymes codés par le plasmide : KPC et GES : [14]*

- *Klebsiella Pneumoniae* Carbapénèmase [KPC] :

Les carbapénèmases de type KPC sont des enzymes qui sont codées par des plasmides transférables [14] ; et leur spectre d'hydrolyse comprend les céphalosporines d'aminothiazoleoxime [14], comme céfotaxime. Bien que les KPC  $\beta$ -lactamases sont majoritairement trouvées dans *k. pneumoniae*, il y a eu des rapports de ces enzymes dans *Enterobacter* spp. et *Salmonella* spp.

La première souche productrice de KPC-1 a été isolée en 1996 en Caroline du Sud. Il s'agissait d'une souche de *K. pneumoniae* résistante à toutes les  $\beta$ -lactamines. Cette première description a été rapidement suivie par la publication d'un autre variant KPC-2. Depuis, un nouveau séquençage du gène blaKPC-1 a révélé une parfaite homologie avec blaKPC-2 et sept autres variants ont été rapportés (KPC-3 à KPC-9), se distinguant par au moins deux substitutions d'acides aminés. [19]

Les données biochimiques montrent que les enzymes de type KPC sont capables d'hydrolyser toutes les  $\beta$ -lactamines : pénicillines céphalosporines, carbapénèmes et monobactames (aztreonam). Seule l'activité des Céphamycines et de la ceftazidime sont peu modifiées. Parmi les céphalosporines de troisième génération, le cefotaxime est la molécule la plus hydrolysée, et parmi les carbapénèmes, KPC possède l'affinité la plus élevée pour le méropénème. L'acide clavulanique et le tazobactam inhibent tous deux faiblement l'activité de KPC, le second étant le plus efficace. [19]

Les enzymes de type KPC ont un spectre d'hydrolyse comparable à celui des BLSE de type TEM, SHV, CTX-M ou VEB (hydrolyse des céphalosporines exceptées les Céphamycines et sensibilité à l'inhibition par l'acide clavulanique) avec, en plus, une extension de ce spectre aux carbapénèmes ; elles peuvent donc être confondues avec des BLSE, ce d'autant que par analyse d'un antibiogramme en diffusion, l'hydrolyse des carbapénèmes se traduit par une diminution de la sensibilité et non par une véritable résistance qui n'est généralement visible qu'en cas de mécanismes de résistance supplémentaires telle que de l'imperméabilité.[19]

- Guiana Extended Spectrum [GES]/ Integron-Borne Céphalosporinase [IBC]

La famille GES/ IBC des  $\beta$ -lactamases est une famille peu fréquemment rencontrée qui a été décrite en 2000 avec les rapports de l'IBC-1 (Integron-Borne Céphalosporinase) d'un *e. cloacae* isoler en Grèce et isoler les GES-1 (Guiana Extended Spectrum) dans un *k. pneumoniae* de Guyane. Ces enzymes diffèrent par seulement deux substitutions d'acides aminés et possédants les actifs de classe A au site -motifs avec les résidus de cystéine aux positions Ambler 69 et 238 qui ont été trouvés dans les familles KPC, SME et NMC/IMI. Leurs séquences d'acides aminés montrent qu'ils être apparenté à ces carbapénèmases, avec des identités de 36 % à CPK-2, 35 % de SME-1 et 31 % à NMC-A.

Les gènes codant pour la famille GES d'enzymes se trouvaient en intégrons sur des plasmides. Parce que les enzymes ont un spectre large qui inclut l'hydrolyse des pénicillines et céphalosporines a spectre étendu, ils ont été initialement classés comme spectre étendu des  $\beta$ -lactamases. Leur spectre d'hydrolyse a été élargi en 2001 afin d'inclure les imipénème, avec le rapport de GES-2 dans un isolat clinique de *P. aeruginosa*. GES-2, d'un *P. aeruginosa* multirésistante isoler de l'Afrique du Sud, avait une substitution d'acides aminés de la glycine à l'asparagine en position 170. L'hydrolyse d'Imipénème par des enzymes GES a été lente, avec des taux hydrolytiques de  $\leq 0,004s^{-1}$  et  $0,004s^{-1}$  pour GES-1 et GES-2, respectivement. Cependant, l'efficacité hydrolytique pour imipénème était 100 fois plus élevée pour les GES-2, due à une diminution de 100 fois dans la valeur de  $K_m$ . Le GES-4  $\beta$ -lactamase différait des GES-2 par trois acides aminés, dont l'une était une sérine en position 170. Carbapénème Valeurs de  $K_{cat}$  pour purifiée GES-4 étaient supérieures à celles des GES-2, avec l'imipénème hydrolysée à un taux de  $0,38 s^{-1}$ .

La nomenclature de la famille GES/IBC a subi plusieurs révisions. Une nomenclature consensus a été conclue selon laquelle les noms de IBC ont été convertis à la nomenclature GES. Au moins neuf variantes GES ont été décrites, avec GES-9 récemment identifié dans un isolat de *P. aeruginosa* en France. Ces enzymes apparentées, GES-2, GES-4, GES-5 et GES-6 ont des substitutions de l'asparagine ou la sérine à la position 170, associées à l'hydrolyse imipénème. Bien que rares, les enzymes de GES ont été identifiées dans le monde entier, avec des rapports de Grèce, France, Portugal, Afrique du Sud, en Guiana française, au Brésil, en Argentine, Corée et Japon. Ces enzymes ont été les plus fréquemment associées à des occurrences uniques. Cependant, des souches de *P. aeruginosa* exprimant des GES-2 ont causé une épidémie de petite nosocomiale dans huit patients et six patients en Corée avaient des infections causées par la production de GES-5 *k. pneumoniae*

#### *1.1.2/ Carbapénémases de la classe C: (AmpC)*

Les carbapénémases de la classe C (AmpC) sont des enzymes codées par des gènes chromosomiques ou plasmidiques [13, 17] et constituent un groupe d'enzymes largement distribué dans les entérobactéries. Ils inactivent préférentiellement les céphalosporines à spectre étroit et, dans une moindre mesure, céphalosporines à large spectre, tels que la ceftazidime et céfotaxime. Céphalosporines zwitterioniques tels que céfépime et les carbapénèmes, tels que l'imipénème, ertapénème, méropénème, qui pénètrent de façon très efficace à travers la membrane externe des bactéries à Gram négatif et sont des substrats faibles des  $\beta$ -lactamases (AmpC), restent actifs *in vitro* contre les isolats d'entérobactéries qui produisent plus de céphalosporinase codée chromosomiquement. [24, 43]

Les  $\beta$ -lactamases plasmidique AmpC (pAmpC), qui provient d'AmpC chromosomique des différentes bactéries Gram-négatives, a émergé depuis les années 1980 [24]. Ils peuvent être divisés en cinq groupes: le groupe de *Citrobacter freundii*, représenté par CMY-2, le groupe d'*Enterobacter* avec MIR-1 et ACT-1, le groupe de *Morganella morganii* au DHA-1, le groupe de *Hafnia alvei* représenté par ACC-1, et le groupe *Aeromonas* en MOX-1 (aussi appelé CMY-1) et FOX-1 enzymes, qui constituent deux sous-groupes distincts [24]. Actuellement, il existe plus de 20  $\beta$ -lactamases AmpC différentes codées dans des plasmides. [41, 42] Les  $\beta$ -lactamases (pAmpC), dont l'expression constitutive est souvent déclenchée par des promoteurs forts [29], conférer un phénotype de résistance similaire à celui exprime par des souches productrices d'AmpC chromosomiques

Les modifications de la perméabilité de la membrane peuvent modifier sensiblement le profil de sensibilité des souches produisant pAmpC. En réduisant la concentration en antibiotique dans le périplasme, le changement des porines peut amplifier les effets  $\beta$ -lactamase vers les substrats faiblement hydrolysés, comme céfépime et les carbapénèmes. Cette combinaison de mécanismes de soutien, en partie, l'émergence d'une résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries produisant pAmpC. Fait intéressant, ces isolats cliniques produites ACT-1, le DHA-1, CMY-2, ou CMY-4  $\beta$ -lactamase [76-81], qui est une variante de CMY-2 conférant un phénotype identique de résistance [82]. Ces résultats suggèrent que ces pAmpC  $\beta$ -lactamases possèdent une activité carbapénémase.

### *1.1.3/ Carbapenemases de classe D :*

Les Carbapénémases de la Classe D possèdent un très haut degré de diversité de séquence et sont particulièrement gênant dans les pathogènes à Gram négatif telles que *Acinetobacter baumannii* et *Pseudomonas aeruginosa*. Tous les  $\beta$ -lactamases de cette classe sont nommés OXA-enzymes parce que de nombreux membres découverts au début hydrolysent l'oxacilline isoxazolylnicillin plus efficacement que d'autres pénicillines. [20]

Certains enzymes de la classe D, notamment celles qui montrent la séquence similitude avec les sous-familles OXA-2, -10 et -13, ont la capacité d'hydrolyser les céphalosporines à spectre étendu (par exemple céfotaxime, ceftazidime et céfépime), Autres membres de la classe D conférer une résistance aux carbapénèmes, comme l'imipénème, méropénème et doripénème, et sont considérés comme des  $\beta$ -lactamases classe D hydrolysant carbapénèmes. À ce jour, aucune classe D  $\beta$ -lactamase a été démontré posséder à la fois l'activité carbapénémase et la capacité à hydrolyser les céphalosporines a spectre étendu. [20]

L'analyse des propriétés biochimiques de plusieurs céphalosporinases plasmidiques montre que certaines d'entre elles ont une très faible activité de carbapénémase qui pourrait entraîner un certain degré de résistance aux carbapénèmes en association avec une imperméabilité (H. Mammeri, P. Nordmann, données non publiées). La carbapénémase de classe D, OXA-48, décrite tout d'abord chez *K. pneumoniae*, hydrolyse, par contre, beaucoup plus fortement les carbapénèmes et n'hydrolyse pas les céphalosporines de 3eme génération. Son activité n'est pas inhibée par l'acide clavulanique. OXA-48 est souvent associée à d'autres  $\beta$ -lactamases, en particulier des BLSE, ce qui contribue à la multirésistance des souches. En l'absence d'autres  $\beta$ -lactamases, les souches qui ne produisent que OXA-48 peuvent ne présenter qu'une légère diminution de la sensibilité aux carbapénèmes. Le réservoir naturel de ce gène OXA-48 a été identifié ; il s'agit de *Shewanella* sp., ce qui suggère le transfert de ce gène de résistance en milieu aqueux. Le gène d'OXA-48 est localisé au sein d'un transposon comportant deux séquences d'insertion identiques assurant mobilité et expression. [16] Certaines enzymes de cette classe (OXA-21, OXA-23, OXA-24, OXA-25, OXA-26, OXA-27, OXA-40, OXA-58) confèrent une résistance aux carbapénèmes (méropénème ou imipénème) et ont une large diffusion parmi les *Acinetobacter*. [13,26]

Une étude concerne l'investigation moléculaire de la carbapénémase OXA-40 détectée dans deux souches de *Pseudomonas aeruginosa* résistantes à l'imipénème. La séquence a montré 100% d'identité avec le gène décrit précédemment dans *Acinetobacter baumannii*. Les expériences d'hybridation ont localisé le gène dans un plasmide aussi trouvé dans la souche contrôle de *A. baumannii* pour le gène blaOXA-40. [25]

## *1.2 / Métallo-β-lactamases: Carbapénemases de classe B (MBL) :*

### *1.2.1/ Caractéristiques générales des Métallo-β-lactamases :*

Une des stratégies employées par des souches bactériennes pour résister au β-lactamines est l'expression des Métallo-β-lactamases exigeant  $Zn^{2+}$  pour l'activité. Dans les dernières années, de nombreux nouveaux β-lactamases de zinc ont été décrits et plusieurs pathogènes sont maintenant connus pour synthétiser les membres de cette classe. Outre l'inactivation par des chélateurs de métaux, tous les Métallo-β-lactamases à des caractéristiques fonctionnelles supplémentaires, y compris l'activité carbapénémase puissante, résistance aux inhibiteurs de β-lactamase (acide clavulanique et sulfones), et absence d'activité contre monobactames. L'activité contre d'autres β-lactamines diffèrent entre les Métallo-β-lactamases, et une spécificité substrat pourrait varier d'une gamme étroite (par exemple, CphA Métallo-β-lactamase de *Aeromonas hydrophila*), à une gamme étendue (Par exemple, le VIM de type Métallo-β-lactamases, ce qui peut dégrader presque toutes les classes des β-lactamines en dehors de la monobactames). [21, 23]

Activité carbapénémase, résistance aux inhibiteurs et le potentiel de transfert horizontal sont cliniquement les caractéristiques les plus inquiétantes des Métallo-β-lactamases. [21, 23]

### *1.2.2/ Diversité et classification des Métallo- $\beta$ -lactamases :*

Selon la classification structurale des  $\beta$ -lactamases les Métallo- $\beta$ -lactamases fait partie de la classe B, avec trois grandes sous-classes [63-65], ces enzymes ont une importante diversité interne. Les membres des différents sous-classes diffèrent non seulement dans leur haut degré de diversité de séquence [65], mais aussi dans la structure de leurs sites actifs. Dans les enzymes des sous-classes B1 et B3, le site actif contient deux ions de zinc; chez les membres de la sous-catégorie B2, il ne contient qu'un seul, ce qui explique le substrat étroit spécifique de cette sous-classe. Chaque sous-classe a plusieurs différents types de Métallo- $\beta$ -lactamase, dont beaucoup ont allélique de plusieurs variantes. Une valeur de la diversité d'acides aminés d'au moins 30% est utilisée comme une coupure pour classification d'une nouvelle Métallo- $\beta$ -lactamase.

Métallo- $\beta$ -lactamases sont codées par des gènes qui soit font partie du cadre chromosomiques dans certaines espèces de bactéries (résident métallo- $\beta$ -lactamases), ou par hétérologue gènes acquis par transfert horizontal de gènes (acquis métallo- $\beta$ -lactamases). Seul quelques résident métallo- $\beta$ -lactamases sont trouvés chez des espèces d'importance clinique, comme dans *Bacillus* spp, *Stenotrophomonas maltophilia*, plusieurs espèces *Aeromonas*, *Bacteroides fragilis*, diverses *flavobacteria*, et *Pseudomonas otitidis*, dans lequel ils peuvent contribuer aux profils intrinsèque de résistance aux  $\beta$ -lactamines.

Acquise Métallo- $\beta$ -lactamases ont été détectés dans les souches d'entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, et d'autres à Gram négatif non fermentent (Tableau 10). Presque tous les types acquises appartiennent à la sous-catégorie B1, ce qui indique une propension générale plus élevée pour les membres de cette sous-classe d'être capturé et la propagation avec des éléments génétiques mobiles que pour les membres de sous-classes B2 et B3.

### 1.2.3/ Métallo- $\beta$ -lactamases Acquise: [21]

Au moins neuf différents types de Métallo- $\beta$ -lactamases acquise ont été décrites (tableau 10). Les types les plus importants pour la diffusion épidémiologique et la pertinence clinique sont l'IMP-type, VIM-type, SPM-type, et NDM- type enzymes.

Les enzymes de type IMP : premièrement détectés au Japon dans les années 1980, ont depuis été signalés dans le monde en Enterobacteriaceae et à Gram négatif non-fermenteurs surtout dans *P.aeruginosa* (Iran [24]) et *Acinetobacter* spp. (Tableau 10). Plus de 20 différents allo-types IMP ont été décrit, appartenant à différentes sous-lignées. Les différentes variantes IMP ont souvent une répartition géographique définie, bien que certains (par exemple, IMP-1, IMP-4, et IMP-7) aient été détectés dans différents zones géographiques, ce qui montre leur potentiel d'intercontinentaux se répandre. Les enzymes de type IMP ont une spécificité de substrat larges avec une forte affinité pour céphalosporines et carbapénèmes, mais ils ont peu activité contre témocilline (une pénicilline 6 $\alpha$ -méthoxy avec aucune valeur clinique pour le traitement d'infections causées par IMP-producteurs). Différences cinétiques importante entre les Variantes IMP pour plusieurs substrats montrent que la diversité allo-typiques pourrait avoir des implications fonctionnelles, cependant les différences ne semblent pas avoir des répercussions cliniques [21, 23].

Les enzymes de type VIM : sont d'abord découverts en Europe en 1990 et ont depuis été rapportés dans le monde. Plus de 20 différents allo-types VIM sont connus, appartenant à trois sous-lignées. Comme avec les enzymes de type IMP, les variantes VIM ont une distribution géographique définie. Toutefois, VIM-1 et VIM-2 ont une distribution plus large que les enzymes de type IMP, en soulignant leur tendance remarquable à propagation. VIM-type sont détecté

chez *P. aeruginosa* et dans d'autres espèces de Gram-négatif non fermentant, mais ont depuis émergé chez les entérobactéries (Tableau 10), et sont devenus un problème majeur dans certaines régions. Les Métallo- $\beta$ -lactamases de type VIM montrent des spécificités de substrat encore plus large les enzymes de types IMP, être capable d'hydrolyser 6- $\alpha$ -méthoxy-pénicillines. Par ailleurs, les enzymes de type VIM sont uniques dans les Métallo- $\beta$ -lactamases parce qu'ils ont une haute Affinité pour carbapenems. allo-types VIM montrent aussi une hétérogénéité fonctionnelle, mais avec aucune signification clinique, ce qui suggère que l'activité de l'enzyme pourrait être modifiée par des mutations mono-point ou quelque points [21,23].

Les enzymes de type SPM-1 (Sao Paulo Metallo- $\beta$ -lactamase) : a été le troisième type acquis des métallo- $\beta$ -lactamase découvert au début du 21eme siècle dans des isolats de *P. aeruginosa* provenant du Brésil. Jusqu'ici, cette enzyme est surtout concentrée au Brésil et à *P. aeruginosa*. Cette faible propension de diffuser pourrait être liées à différents types associés des éléments génétiques mobiles. SPM-1 a une spécificité de substrat très large, y compris les carbapénèmes, les céphalosporines et pénicillines.

Les enzymes de type NDM-1 (New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase): est l'un des derniers ajouts aux Métallo- $\beta$ -lactamases acquise, et sa propension à la diffusion intercontinental est d'une grande importance. NDM-1 a été détecté pour la première fois dans une souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée en 2008 chez un patient de retourner en Suède Inde, où NDM-1 est très répandue dans les Enterobacteriaceae. Les infections par NDM-1 produit par *A. baumannii* ont été signalées depuis. D'autre métallo- $\beta$ -lactamases acquis (SIM-1, GIM-1, AIM-1, et DIM-1) ont un faible taux de diffusion et un impact clinique faible que NDM-1. [21, 23].

Les origines des gènes acquis des Métallo- $\beta$ -lactamases sont inconnues. Les sources les plus probables sont les bactéries de l'environnement, à partir de laquelle Gram négatif non-fermenteurs et Enterobacteriaceae pourrait acquérir les déterminants de la résistance tout en partageant plusieurs niches l'environnement communes. Dans le contexte clinique, les souches avec l'acquisition gènes de métallo- $\beta$ -lactamase peut être sélectionné par une exposition aux agents antimicrobiens et devenir un réservoir secondaire dans les environnements de soins de santé. La diffusion des gènes acquise des Métallo- $\beta$ -lactamase entre bactéries Gram-négatif pathogènes est médiée par des éléments mobiles d'ADN, qui explique pourquoi le même gène pourrait être associée à plasmides ou inséré dans le chromosome dans différents souches. La plupart des gènes acquis sont réalisées sur le gène mobiles cassettes insérées dans les intégrons, et peut donc exploiter les systèmes de recombinaison intégrons et la mobilité de l'ADN éléments avec lesquels sont associés à des intégrons (transposons et plasmides). Toutefois, blaSPM-1 est associée à ISCR4, qui est un membre de la famille ISCR et peuvent mobiliser flanking ADN segments. blaNDM-1 est associée à différents types d'insertion séquences. Le différents la nature des éléments génétiques mobiles qui sont associés à métallo- $\beta$ -lactamases acquise gènes pourraient expliquer en partie pour leur propension à différents à se répandre.

**Tableau 10 : Méétallo- $\beta$ -lactamases acquis dans différents micro-organismes.** [21]

Microorganismes		Microorganismes		Microorganismes	
<b>IMP-1</b> Japan Japan Japan Japan	Pseudomonas aeruginosa Enterobacteriaceae Acinetobacter baumannii Acinetobacte xylooxidans	<b>IMP-20</b> Japan	P aeruginosa	<b>VIM-13</b> Spain	P aeruginosa
<b>IMP-2</b> Italy Japan	A baumannii P aeruginosa	<b>IMP-21</b> Japan	P aeruginosa	<b>VIM-14</b> Italy	P aeruginosa
<b>IMP-3</b> Japan	Enterobacteriaceae	<b>IMP-22</b> Austria	P aeruginosa	<b>VIM-15</b> Bulgaria	P aeruginosa
<b>IMP-4</b> China China	A baumannii Enterobacteriaceae	<b>IMP-24</b> Taiwan	Enterobacteriaceae	<b>VIM-16</b> Germany	P aeruginosa
<b>IMP-5</b> Portugal	A baumannii	<b>IMP-25</b> China	P aeruginosa**	<b>VIM-17</b> Greece	P aeruginosa
<b>IMP-6</b> Japan Japan	Enterobacteriaceae P aeruginosa*	<b>IMP-26</b> Singapore	P aeruginosa	<b>VIM-18</b> India	P aeruginosa
<b>IMP-7</b> Canada	P aeruginosa	<b>VIM-1</b> Italy France Greece	P aeruginosa Enterobacteriaceae A baumannii	<b>VIM-19</b> Algeria	Enterobacteriaceae
<b>IMP-8</b> Taiwan China Portugal	Enterobacteriaceae A baumannii Pseudomonas mendocina	<b>VIM-2</b> France Korea Taiwan Greece	P aeruginosa A baumannii Enterobacteriaceae A xylooxidans	<b>VIM-20</b> Spain	P aeruginosa
<b>IMP-9</b> China	P aeruginosa	<b>VIM-3</b> Taiwan Taiwan Taiwan	P aeruginosa A baumannii Enterobacteriaceae	<b>VIM-23</b> Mexico	Enterobacteriaceae
<b>IMP-10</b> Japan Japan Japan	P aeruginosa A xylooxidans A baumannii	<b>VIM-4</b> Greece Italy Hungary Greece	P aeruginosa Enterobacteriaceae Aeromonashydrophila A baumannii	<b>VIM-24</b> Colombia	Enterobacteriaceae
<b>IMP-11</b> Japan Japan	Enterobacteriaceae P aeruginosa	<b>VIM-5</b> Turkey Turkey	Enterobacteriaceae P aeruginosa	<b>VIM-25</b> India	Enterobacteriaceae
<b>IMP-12</b> Italy	Pseudomonas putida	<b>VIM-6</b> Singapore	P putida	<b>SPM-1</b> Brazil	P aeruginosa
<b>IMP-13</b> Italy	P aeruginosa	<b>VIM-7</b> USA	P aeruginosa	<b>GIM-1</b> Germany Germany	P aeruginosa Enterobacteriaceae
<b>IMP-14</b> Thailand	P aeruginosa	<b>VIM-8</b> Colombia	P aeruginosa	<b>SIM-1</b> Korea India	A baumannii Enterobacteriaceae
<b>IMP-15</b> Mexico	P aeruginosa	<b>VIM-9</b> UK	P aeruginosa	<b>AIM-1</b> Australia	P aeruginosa
<b>IMP-16</b> Brazil	P aeruginosa	<b>VIM-10</b> UK	P aeruginosa	<b>KHM-1</b> Japan	Enterobacteriaceae
<b>IMP-18</b> USA	P aeruginosa	<b>VIM-11</b> Argentina Taiwan Taiwan	P aeruginosa A baumannii Enterobacteriaceae	<b>NDM-1</b> India India	Enterobacteriaceae A baumannii
<b>IMP-19</b> France	Aeromonas caviae	<b>VIM-12</b> Greece	Enterobacteriaceae	<b>DIM-1</b> Netherlands	Pseudomonasstutzeri



*Chapitre V:*



*Epidémiologie et clinique:*

## **I/ EPIDEMIOLOGIE DE LA RESISTANCE NON ENZYMATIQUE : [9]**

Les résistances non enzymatiques sont la conséquence de modifications chromosomiques, soit par acquisition de nouveaux gènes comme cela semblent être le cas chez Staphylocoque, soit plus généralement par mutations chromosomiques. Ces mutants apparaissent chez un individu donné par pression de sélection au cours de traitements antibiotiques. Ce type de résistance est spécifique d'une espèce et ne peut être transmis d'une espèce à l'autre contrairement à d'autres résistances dont les gènes sont portés par des plasmides ou des transposons. Aussi l'apparition de nombreuses souches résistantes à un moment donné ne peut être que la conséquence d'une bouffée épidémique par propagation.

Chez les bactéries à Gram positif, il est probable que les Entérocoques résistants (*E. faecium*), ainsi que les Pneumocoques aient été sélectionnés par l'usage intensif de la pénicilline G et de ses dérivés et des aminopénicillines comme l'ampicilline. L'augmentation considérable de la résistance à la méticilline chez les Staphylocoques en milieu hospitalier est sûrement due à la pression de sélection due à l'utilisation massive de l'oxacilline. La résistance est dans tous ces cas due à des modifications des PLP. Sa répartition en France, en milieu hospitalier, est la suivante : elle est de 20 à 30 % pour les souches méticilline résistantes ; elle est globalement de 8 à 10 % pour les Entérocoques dont la population résistante n'est pratiquement constituée que par les *E. faecium* dont 80 % (15, Hôpital Saint-Joseph) ont des CMI à la pénicilline supérieures à 8 µg/ml. Il est curieux de constater que les *E. faecalis* qui sont les plus fréquemment isolés en clinique, ne soient qu'exceptionnellement résistants à la

pénicilline alors que le mécanisme de la résistance au laboratoire est proche de celui des *E. faecium* (augmentation d'une PLP). Si l'on sait que le premier niveau de résistance (obtenu *in vitro*) est plus élevé pour les *E. faecium* que pour les *E. faecalis*, on peut concevoir qu'en présence de pénicilline, les *E. faecium* résistants survivent au contraire des *E. faecalis*. Parmi les bactéries à Gram négatif, il faut distinguer les gonocoques et les *Haemophilus* des autres espèces. Chez les gonocoques et les *Haemophilus*, les mécanismes de résistances non enzymatiques sélectionnés par l'utilisation de la pénicilline ou des aminopenicillines, sont présents dans moins de 1% des souches isolées contre 10 % en moyenne pour les résistances plasmidique par production de  $\beta$ -lactamases. Il faut préciser que dans d'autres études, la résistance non enzymatique semble (être beaucoup plus importante comme dans une étude récente faite au Kenya au cours d'infection oculaire néonatale. 43 % des souches étaient résistantes par un mécanisme non enzymatique. Dans ce cas, il pourrait s'agir plus d'une épidémie que de la sélection de mutants différents. Il n'est pas impossible néanmoins que le pourcentage réel de cette résistance soit sous-estimé car son niveau est généralement bas et de ce fait, difficile à détecter. Dans les autres espèces à Gram négatif, où là encore le mode de résistance essentielle est associé à la présence de  $\beta$ -lactamases, l'épidémiologie des résistances non enzymatiques a été généralement peu étudiée, mis à part chez *Pseudomonas aeruginosa*. Dans cette espèce, une étude importante, menée de 1981 à 1983 sur plus de 4 000 souches, a montré qu'en France, la résistance par production de  $\beta$ -lactamases était présente, selon les Centres, dans 10 à 30 % des souches, alors que les souches résistantes par des mécanismes non enzymatiques représentaient 4 à 12 % des souches. Il a été montré que les CMI pour les différentes  $\beta$ -lactamines

testées étaient multipliées pour un facteur de 2 à 128. La résistance la plus marquée était obtenue pour la ticarcilline alors que l'imipénème ne montre pas d'augmentation. Pour les Entérobactéries, les études sont beaucoup moins précises. Néanmoins, on peut penser que dans les espèces comme *E. coli*, *Shigella* et *Proteus mirabilis*, ce type de résistance soit rarement en cause car les niveaux de résistances sont relativement faibles. Des mutants de *Salmonelles* résistants par modification de porines ont été exceptionnellement rapportés (3 cas). Dans les espèces comme *Enterobacter* et *Serratia*, où 40 à 60 % des souches sont productrices de  $\beta$ -lactamases, cette résistance pourrait être plus fréquente, représentant 15 à 40 % des souches résistantes au moxalactam et/ou au cefotaxime, soit 4 à 7 % des souches isolées en milieu hospitalier. La résistance non enzymatique pour *E. cloacae*, absente en 1980, aurait progressivement augmenté à partir de 1981 jusqu'en 1985, où elle atteint 7 %. Le mécanisme le plus probable est une imperméabilité par modifications des porines. L'association de différents mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamases (enzymatique et non enzymatique) est certainement un phénomène non négligeable. Chez *E. cloacae* et *Serratia*, l'association d'une  $\beta$ -lactamase (plasmidique ou céphalosporinase déréprimée) semble être présente dans plus de 70 % des souches résistantes par imperméabilité. Pour les espèces *Pseudomonas* et *Enterobacter*, on peut évoquer plusieurs facteurs de sélection de la résistance non enzymatique. D'une part plusieurs mécanismes de résistance peuvent être sélectionnés d'un seul tenant (*Serratia*, *Pseudomonas*) ou successivement lors de l'antibiothérapie, par les  $\beta$ -lactamines, est modifiée pour s'adapter à l'apparition de la résistance. Compte-tenu des résistances croisées entre différentes familles d'antibiotique, des molécules comme les quinolones, le triméthoprime peuvent

sélectionner un premier niveau de résistance aux  $\beta$ -lactamines. Parmi les  $\beta$ -lactamines susceptibles de sélectionner les résistances non enzymatiques, les  $\beta$ -lactamines peu ou mal hydrolysées par les  $\beta$ -lactamases sont certainement des antibiotiques privilégiés, comme certaines céphalosporines de deuxième génération et les céphalosporines de troisième génération. Parmi ces composés, la céfoxitine et le moxalactam pourront être de meilleurs sélecteurs potentiels dans la mesure où ces composés présentent les CMI souvent les plus élevées sur les mutants de perméabilité. Si les carboxypenicillines, restent un antibiotique de choix sur les *Pseudomonas*, il est probable que leur incidence sur la sélection de souches résistantes par mécanismes non enzymatiques ne soit pas négligeable sachant que ces composés dianioniques qui ont une faible diffusibilité au travers des porines présentent une CMI élevée vis-à-vis des souches de *Pseudomonas* résistantes non productrices de  $\beta$ -lactamases.

## II/ EPIDEMIOLOGIE DE LA RESISTANCE ENZYMATIQUE :

### 1/ Serine beta-lactamases:

#### 1.1/ Carbapenemases A: [16, 19]

Parmi les  $\beta$ -lactamases de classe A, seules les carbapénémases de type KPC ont été très largement rapportées dans le monde (Figure : 16). Les autres carbapénémases de classe A ont été identifiées ponctuellement bien que *E. asburiae* exprimant la  $\beta$ -lactamase IMI-1 ait été identifiée dans de nombreuses rivières américaines.

Après la première description de KPC-1/2, l'incidence des souches de *K. pneumoniae* productrices de cette carbapénémase a augmenté régulièrement dans la région de New-York. Une étude menée en 2004 dans les hôpitaux de Brooklyn, New-York, a montré qu'aucune souche d'*Escherichia coli* ou d'*Enterobacter cloacae* ne possédait le gène *blaKPC*, alors que 24 % des souches de *K. pneumoniae* étaient KPC positives. Parallèlement à l'émergence de KPC-2, le variant KPC-3 était également décrit dans une souche de *K. pneumoniae* et d'*Enterobacter cloacae* épidémiques. Actuellement, 38 % des souches de *K. pneumoniae* identifiées dans les hôpitaux de la ville de New-York portent le gène *blaKPC*. Un complexe clonal majeur (ST258) semble disséminer à l'intérieur des Etats-Unis. Bien qu'essentiellement décrite dans des souches de *K. pneumoniae*, KPC a également été trouvée dans d'autres espèces d'entérobactéries (*Escherichia coli*, *Salmonella* sérotype cubana, *Enterobacter cloacae*, *Proteus mirabilis*, *K. oxytoca*) ainsi que dans des souches de *Pseudomonas* spp. En Amérique du Nord, trois souches de *K. pneumoniae* KPC-3 ont récemment été rapportées dans un hôpital d'Ottawa, Canada. L'Amérique

du Sud connaît également une importante dissémination de KPC. Les premières souches de *K. pneumoniae* KPC-2 ont été décrites en 2006, en Colombie, suivies en 2007 par les premières souches de *Pseudomonas aeruginosa*. D'autres pays (Brésil, Argentine) ont également rapporté la présence de souches de *K. pneumoniae* dans leurs hôpitaux.

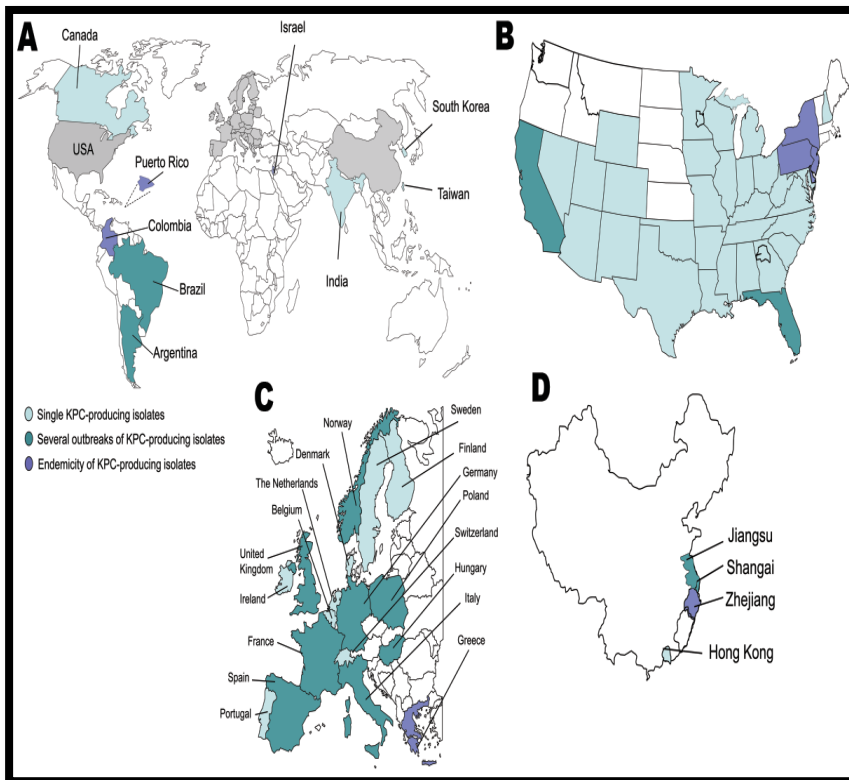
La première épidémie de *K. pneumoniae* KPC décrite en dehors des Etats-Unis a été identifiée en Israël. Un clone de *K. pneumoniae* KPC-3 et plusieurs clones KPC-2 sont actuellement responsables d'épidémies dans les hôpitaux de Tel Aviv. Des souches d'*Escherichia coli* et d'*Enterobacter cloacae* ont aussi été rapportées. Une étude à montre le lien génétique entre des souches KPC-3 isolées aux Etats-Unis et des souches isolées en Israël, soulignant le rôle des transferts de patients et de voyageurs entre pays.

En Chine, les souches productrices de KPC sont de plus en plus souvent rapportées, notamment dans des espèces qui n'étaient pas encore concernées comme *Citrobacter freundii* ou *Serratia marcescens*. L'impact réel de telles souches dans ce pays n'est pas connu.

En Europe, les cas décrits restent rares, souvent sporadiques et importés. En France, sept souches ont actuellement été décrites : une première *K. pneumoniae* KPC-2 isolée en 2005 chez un patient ayant séjourné dans un hôpital new-yorkais, trois souches d'*Enterobacter cloacae* porteuses de KPC-3 également isolées chez un patient hospitalisé précédemment en unité de soins intensifs d'un hôpital de New-York, une souche de *Escherichia coli* et une souche de *Enterobacter cloacae* isolées chez un homme précédemment hospitalisé en Israël et enfin, plus récemment, une première souche d'origine

grecque. De même, la première souche de *K. pneumoniae* KPC-2 isolée en Suède provenait d'un patient ayant séjourné en Grèce, seul pays européen où des épidémies, toujours de *K. pneumoniae* KPC-2, ont été décrites et où la situation semble devenir endémique. Enfin, plusieurs souches ont été décrites au Royaume-Uni (*Enterobacter* spp. KPC-4 et *K. pneumoniae* KPC-3). Pour certaines de ces souches, un lien direct avec l'Israël a pu être établi.

D'un point de vue clinique, ces souches d'entérobactéries sont associées à des infections qui n'ont pas de spécificité en ce qui concerne la nature des infections ou leur terrain de survenue. Cependant, la mortalité liée à ces infections à *K. pneumoniae* KPC est élevée (38-57 % en Israël et aux USA), du fait de la multirésistance des souches, rendant l'antibiothérapie probabiliste incertaine et l'antibiothérapie thérapeutique difficile. En Grèce, cette mortalité est rapportée comme plus faible (22-28 %). Elle serait plus importante chez les patients infectés par des souches de *Enterobacter* sp. KPC résistantes à l'imipénème que par des souches sensibles à l'imipénème. Les études les plus récentes montrent la diffusion de ce déterminant de résistance dans les infections de patients de soins de suite et de réadaptation.



**Figure 16:**  
**Distribution Géographique des carbapénèmes A (KPC)**  
[44]

**A) Distribution mondiale des carbapénèmes A (KPC).** Ombrage gris indique les régions indiquées séparément  
**B) distribution aux Etats-Unis;**  
**C) distribution en Europe;**  
**D) Distribution en Chine.**

## 1.2/ Carbapenemases C ET D : [16]

Aucune donnée n'est disponible concernant l'impact clinique des céphalosporinases dont le spectre est très partiellement élargi aux carbapénèmes. Les conséquences cliniques d'OXA-48 sont par contre maintenant bien établies avec sa diffusion chez *K. pneumoniae* dans de nombreux hôpitaux en Turquie et dans de nombreux pays du pourtour méditerranéen (Liban, Tunisie, Israël, Égypte, France) en Grande- Bretagne, en Inde et en Argentine. En Turquie, plusieurs épidémies d'infections nosocomiales sont associées à ce type de souches (Figure: 17). L'analyse des patients infectés ne fait pas apparaître de caractéristiques cliniques particulières.

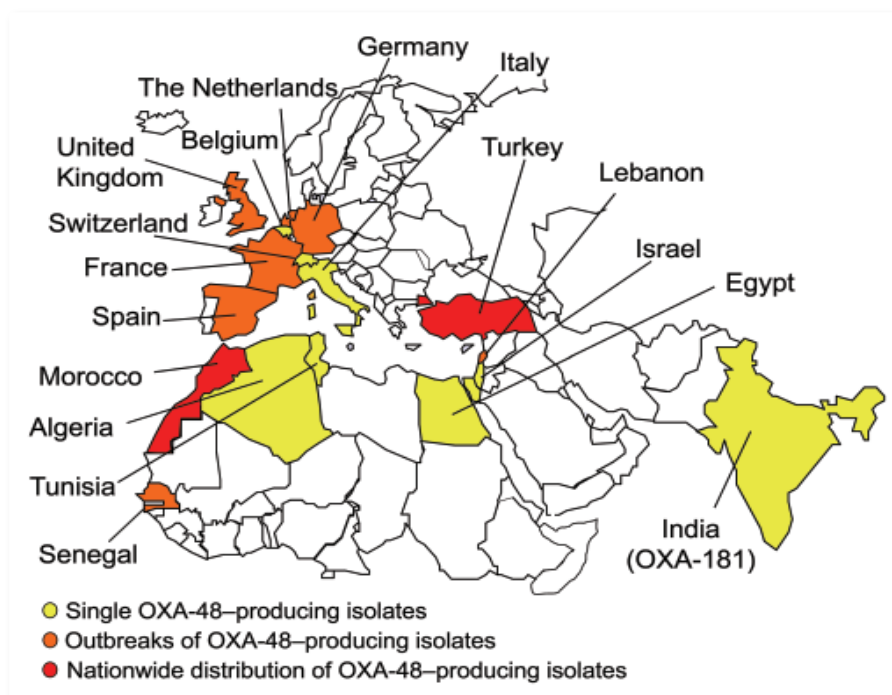
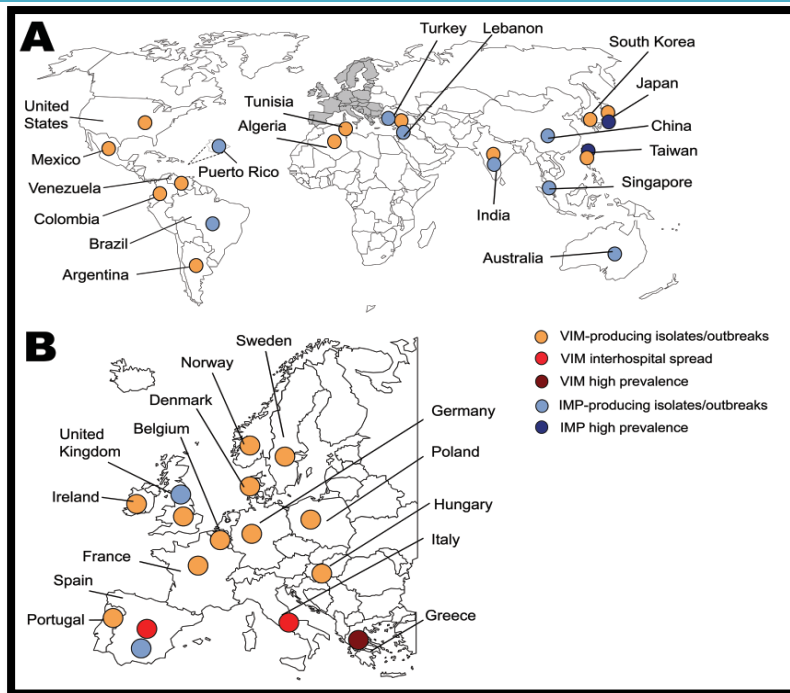


Figure 17:  
Distribution géographique des carbapénèmes D<sup>[44]</sup>  
Distribution géographique des oxacillines-48 (OXA-48).

## 2/ Metallo- $\beta$ -lactamases (MBL) : carbapénemases de classe B :

L'intérêt accru des Métallo- $\beta$ -lactamases n'est pas accompagnée de données épidémiologiques robustes. Parce que l'identification moléculaire des Métallo- $\beta$ -lactamases n'a pas souvent été faite en étude à grand échelle, et parce que les données sont souvent manquantes, et les informations épidémiologiques n'est pas fiable. Lorsque les données sont disponibles, ils semblent montrer que les modèles de l'épidémiologie sont pays spécifique. Plusieurs facteurs, y compris les antibiotiques locaux utilisées et la pratique de l'hôpital, pourrait en partie expliquer ces différences.

Les enzymes de type VIM et IMP sont également très répandues. Leur hôte le plus habituel est *K. pneumoniae* avec des niveaux d'expression de la résistance aux carbapénèmes variables. Plusieurs épidémies de souches d'entérobactéries MBL ont été identifiées, notamment au Japon, en Italie, en Espagne et en Grèce (Figure : 18). Les sites d'isolement de ces souches sont variables : urines, sang et sécrétions bronchiques majoritairement. L'Europe du Sud contribue fortement à la diffusion de ces marqueurs de résistance (VIM-1 notamment). En Grèce, la proportion de souches de *K. pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes a augmenté considérablement passant de < 1 % en 2001 à 20 % dans les unités classiques d'hospitalisation, à 50 % dans les unités de soins intensifs en 2006. Des souches VIM ont été trouvées dans 3 hôpitaux en 2002 puis dans 40 hôpitaux en 2006 en Grèce. L'identification de VIM-1 chez *P. mirabilis*, en Grèce, indique une transmission communautaire de ce déterminant de résistance. NDM-1 est l'une des Métallo- $\beta$ -lactamases les plus récemment décrites. Elle aurait déjà une diffusion internationale importante, identifiée au moins en Inde, au Pakistan et en Grande-Bretagne (Figure : 19) chez *K. pneumoniae* et *E. coli* en milieu hospitalier et également en milieu communautaire. La prescription de bêtalactamines ou de quinolones est un facteur de risque d'acquisition de ces souches MBL. Les taux de mortalité associés aux infections dues à ces entérobactéries produisant des Métallo- $\beta$ -lactamases varient de 18,8 % à 66,7 %. Il a été suggéré que le taux de mortalité des infections systémiques à *K. pneumoniae* VIM-1 dépend du niveau de la CMI de l'imipénème. Si ces CMI sont inférieures à 4 mg/l, la mortalité de ces infections ne diffère pas de celle d'infections systémiques à *K. pneumoniae* non productrices de carbapénémases.

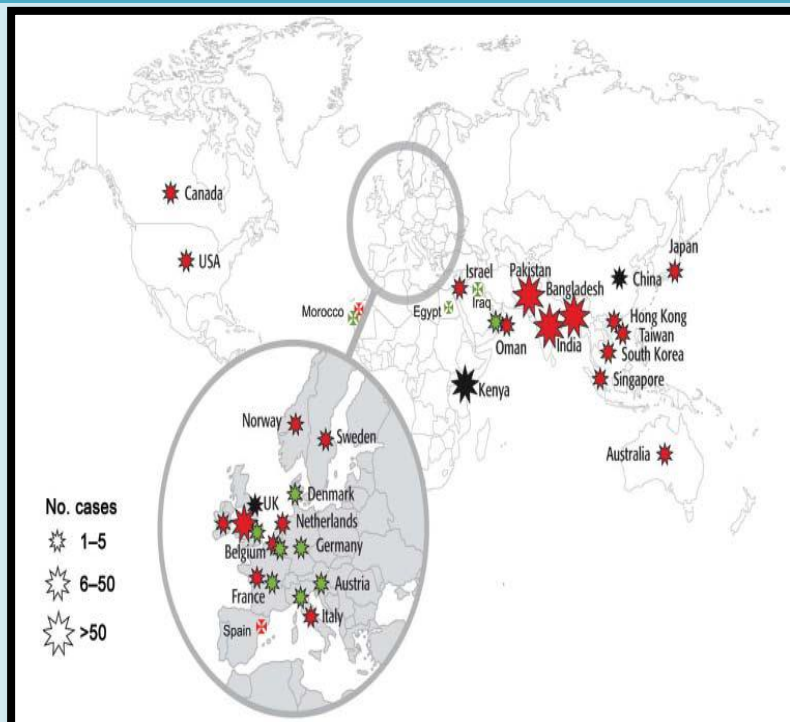


**Figure 18:**  
Répartition mondiale  
des (VIM) et (IMP) [44]

(A) :  
Monde

entier

(B) : Europe



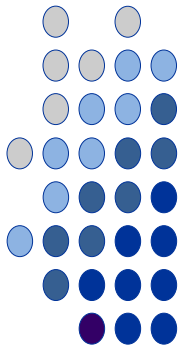
**Figure 19:**  
Distribution géographique  
des NDM-1 Juillet 15,  
2011. [44]

Taille de  
l'étoile  
indique le  
nombre

de cas signalés.

- Les étoiles rouges indiquent les infections remonte à l'Inde, le Pakistan, ou au Bangladesh;
- étoiles vertes indiquent les infections remonte vers les États des Balkans ou au Moyen-Orient; et
- les étoiles noires indiquent les contaminations d'origine inconnue. (La plupart des informations correspond à données publiées; autres données sont de P. Nordmann.).

## *Chapitre VI:*



*Detection des carbapénémases au  
laboratoire :*

## **A/ STRATEGIES DE DETECTION DES CARBAPENEMASES :**

La stratégie de détection comprend une étape de présélection, suivie d'une étape de confirmation phénotypique et génotypique (Figure 20). Le dépistage est basé sur la détection d'une sensibilité réduite au Carbapénèmes par les isolats produisant les carbapénèmases comparés avec des isolats de la population sauvage (tableau 11 et 12). Pour chaque classe de carbapénèmases et pour chaque espèce et un isolat, le CMI peut varier de CMI de la population sauvage > 256 mg/L, dépendant de la présence d'autres mécanismes de résistance. Paramètre des points d'arrêt de dépistage devrait donc être guidé par les principes suivants :

- ❖ Le point d'arrêt CMI devrait être plus élevée que la CMI la plus élevée de la population sauvage (<http://www.eucast.org>), que la spécificité du test de dépistage peut autrement deviennent trop basses ; et
- ❖ Le point d'arrêt CMI devrait être inférieure à la plus basse CMI des carbapénèmes décrits dans la littérature pour les souches ont un gène carbapénèmases.

**Tableau 11: dépistage des points d'arrêt des carbapénèmes, les points d'arrêt cliniques et épidémiologiques des valeurs limites (mg / L).** [83]

		Méropénème			Imipénème		Ertapénème
SPECIES		ESCHERICHIA COLI, KLEBSIELLA SPP., ENTEROBACTER SPP., SALMONELLA SPP.	CITROBACTER SPP., SERRATIA SPP., PROTEUS MIRABILIS, MORGANELLA MORGANII, PROVIDENCIA SPP.	E. COLI	KLEBSIELLA SPP., ENTEROBACTER SPP., SALMONELLA SPP., CITROBACTER SPP.	SERRATIA SPP., P.MIRABILIS, M.MORGANII, PROVIDENCIA SPP.	E. COLI, KLEBSIELLA SPP., ENTEROBACTER SPP., SALMONELLA SPP., SERRATIA SPP., P. MIRABILIS, M.MORGANII, PROVIDENCIA SPP.
CARBAPENEMASE SCREENING BREAKPOINT		≥0.5 <sup>a</sup>	≥0.5 <sup>a</sup>	≥2 <sup>b</sup>	≥2 <sup>b</sup>	N/A	≥0.5 <sup>c</sup>
EPIDEMIOLOGICAL CUT-OFF WILD-TYPE		S ≤0.125	S ≤0.25	S ≤0.5	S ≤1	S ≤4 (Serratia S ≤2)	S ≤0.064
POINT D'ARRET EUCAST	D'ARRET	S ≤2	S ≤2	S ≤2	S ≤2	S ≤2	S ≤0.5
POINT D'ARRET CLSI		S ≤1	S ≤1	S ≤1	S ≤1	S ≤1	S ≤1

N/A, not applicable; S, susceptible; EUCAST, European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing; CLSI, Clinical and Laboratory Standards Institute.

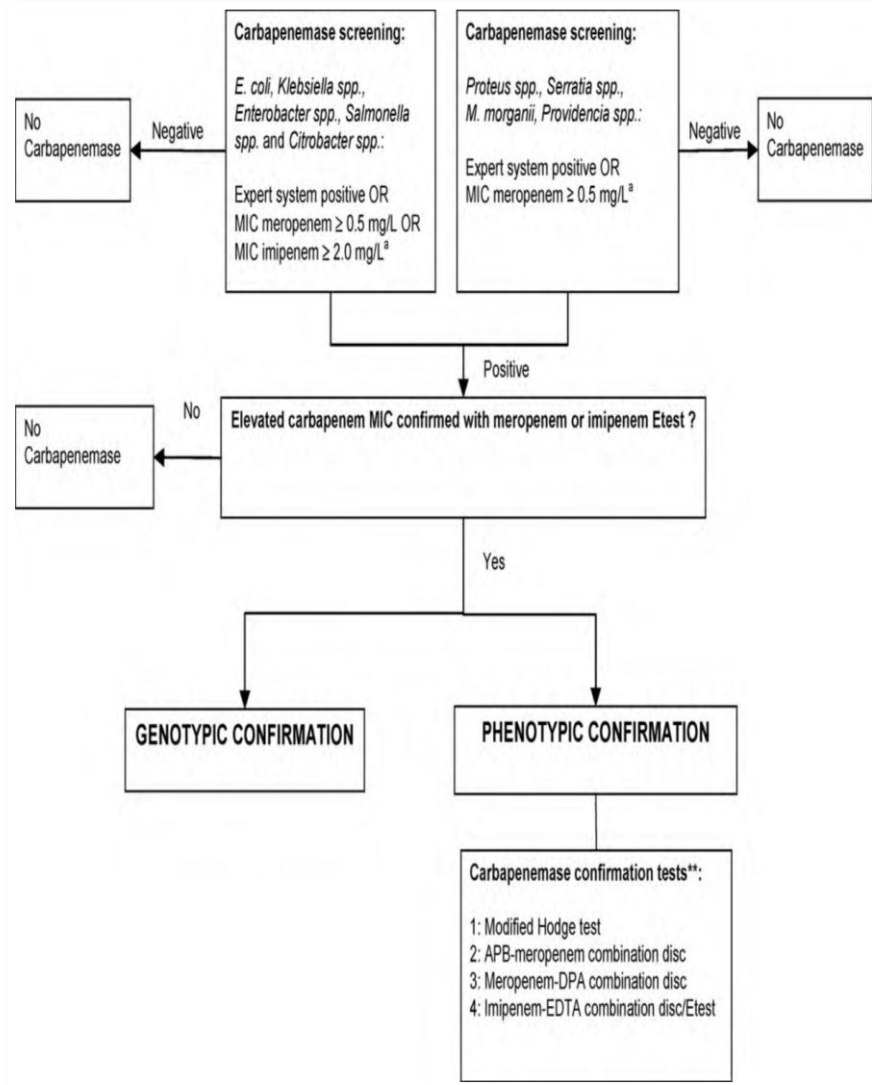
<sup>a</sup> The zone diameter screening breakpoint for méropénème has been set at ≤23mm with a disk content of 10 µg.

<sup>b</sup> For E. coli, Klebsiella spp. and Enterobacter spp. the zone diameter screening breakpoint for imipenem has been set at ≤21mm with a disk content of 10 µg.

<sup>c</sup> No zone diameter screening breakpoint has been set for ertapenem owing to the low specificity, although a breakpoint of ≤27mm (disk content 10 µg) was reported to have a sensitivity of 97% and a specificity of 90.5% for KPC-producing K. pneumoniae and E. coli [8].

**Tableau 12 : Critères de sensibilité/résistance aux carbapénèmes selon les recommandations américaines (CLSI) et européennes (EUCAST).** [16]

	CLSI		EUCAST	
	S (≤)	R (≥)	S (≤)	R (≥)
Imipénème	4	8	2	8
Méropénème	4	8	2	8
Ertapénème	2	4	0,5	1
Doripénème	ND*	ND*	1	4
* Non déterminés				



**Figure 20 :**  
**Schéma de détection des carbapénémases chez les entérobactéries.** [83]

<sup>a</sup> le diamètre de la zone de dépistage point d'arrêt pour Méropénème a été fixé à  $\leq 23$  mm avec un contenu de disque de 10 $\mu$ g. pour *E.coli*, *klebsiella* spp et *enterobacter* spp. le diamètre de la zone point d'arrêt pour imipenem de dépistage a été fixe à  $\leq 21$  mm avec un contenu de disque de 10 $\mu$ g [48].

CMI : concentration minimale inhibitrice ;  
APB : acide 3-aminophenylboronic.  
DPA : acide dipicolinique.  
EDTA : tetra de l'éthylène diamine-acide acétique.

## **B/ METHODES DE DETECTION DES CARBAPENEMASES :**

La détection des carbapénémases devrait être une composante standard des tests sur toutes les entérobactéries isolées dans le diagnostic de routine, cela peut avoir lieu par l'évaluation de la CMI carbapénème ou par une alerte à partir du système expert. Lors de l'utilisation des systèmes automatiques pour les tests de sensibilité (par exemple, phoenix, vitek ou Microscan), les panneaux contenant méropénème sont préférées. La plus faible concentration préférée dans les panneaux devrait être de 0,25 mg/L pour le Meropénème et de 1 mg/L pour l'imipenème. Si Ertapénème est utilisé, alors, la plus faible concentration préférée devrait être de 0,25 mg/l. Le laboratoire doit être conscient du fait que les souches avec un CMI au-dessus du point d'arrêt de dépistage des carbapénémase, mais en dessous du point d'arrêt cliniques pourraient avoir néanmoins un gène carbapénémase (tableau 11). Les souches avec une CMI de 0,5; 1 ou 2 mg/L pour Meropénème ou une CMI de 2 mg/L pour imipenème sont sensibles selon European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) mais doivent encore être testés pour la présence d'un gène carbapénémase (tableau 13).

L'Utilisation d'un inoculum correct est importante tant pour la méthode de micro-dilution et les systèmes automatiques puisqu'une baisse modérée de l'inoculum peut conduire à des résultats de sensibilité inexacts. Il a été montré dans une étude avec 29 isolats KPC positifs que si l'inoculum standard a été diminué de 10<sup>5</sup> à 10<sup>4</sup> unités de colonie /ml, la CMI imipenème était en moyenne 1,6 dilutions inférieures [45].

Pour exclure les erreurs techniques et de limiter le nombre de souches d'être confirmées pour la production des carbapénémases, une CMI carbapénème au-dessus du point d'arrêt de dépistage mesurée par un système automatique peut être confirmée par E-test avec Meropénème ou imipénème (Figure 1) sur la gélose Muller–Hinton (Iso-Sensi-test gélose peut-être sous-estimer CMI Carbapénème des Métallo-carbapénémase-producteurs en raison de concentrations de zinc faible [51]). Détermination de la CMI de carbapénémase souches positives par E-test peut être compliquée parce que les colonies mutantes avec CMI plus élevées que la population dominante peuvent être trouvées dans l'ellipse de l'inhibition. Ces colonies doivent être incluses lors de l'interprétation de l'E-test conformément aux instructions du fabricant.

**Tableau 13 : gènes des carbapénémases <sup>[14]</sup>**

Ambler Class A	9 familles ( <b>KPC</b> , SME, NMC-A, IMI, PER, GES, SFO, SFC, IBC)
Ambler Class B	6 familles (VIM, GIM, SIM, <b>NDM</b> , IMP, SPM)
Ambler Class D	2 familles ( <b>OXA</b> , PSE)

## I/ Approche Bactériologique : Antibiogramme, CMI :

L'éventuelle présence d'une  $\beta$ -lactamase, voire de deux pourrait être évoquée à la lecture attentive d'un antibiogramme par diffusion avec un choix judicieux de  $\beta$ -lactamines :

### 1. Méropénème:

Selon ces critères, le dépistage de CMI point d'arrêt pour Meropénème pourrait être fixé à  $\geq 0,5$  mg/L pour toutes les entérobactéries (tableau 11), permettant la détection de la vaste majorité des producteurs des carbapénémase. Seulement les cas sporadiques des producteurs des carbapénémase avec Méropénème CMI  $< 0,5$  mg / L ne seront pas détectés à l'aide de ce point d'arrêt [47]. Le diamètre de la zone de dépistage point d'arrêt pour Meropénème a été fixé à  $\leq 23$  mm. Le point d'arrêt du diamètre de zone Meropénème est un peu moins sensible que le CMI point d'arrêt de 0,5 mg/L de dépistage (84 % vs 100 %, respectivement) [48], mais il a été montré pour détecter tous les isolats producteurs de KPC et VIM. Bien qu'un diamètre de zone Meropénème dépistage point d'arrêt  $\leq 27$  mm a été signalé à ont une sensibilité de 100 % pour la production de carbapénémase [48], cela se traduirait par un niveau inacceptable des isolats de faux-positifs basés sur les distributions de diamètre de zone Méropénème publiées (<http://www.eucast.org>).

### 2. Imipénème :

Pour l'imipénème, impossible de définir un point d'arrêt pour tous les entérobactéries comme certaines espèces (*Proteus* spp., *Serratia* spp., *Providencia* spp. et *Morganella morganii*) ont une haute imipénème CMI grâce à des mécanismes autres que la production de carbapénémase (voir tableau 11 pour les seuils épidémiologiques pour imipénème CMI pour ces espèces).

Pour des raisons pratiques, et basé sur les distributions disponibles des CMI de types sauvages, nous avons choisi de faire une distinction dans ce guide entre espèces pour lesquelles le CMI pour imipenème peut être utilisé comme un point d'arrêt et pour laquelle il ne peut pas. Pour *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp., *Salmonella* spp., *Enterobacter* spp. et *Citrobacter* spp., le point d'arrêt imipenem est  $\geq 2,0$  mg/L ou un diamètre de la zone  $\leq 21$  mm. Bien que le point d'arrêt de dépistage imipenème CMI de  $\geq 2,0$  mg/L a été démontré qu'ils ont une sensibilité de 79 % [48], le point d'arrêt n'est pas définie plus faible parce que la distribution de CMI imipenème de la population sauvage est à 1 mg/L (tableau 11) (<http://www.EUCAST.org>). Il a été démontré que la sensibilité de la zone du point d'arrêt de dépistage imipenème diamètre  $\leq 21$  mm a été de 100 % [48].

### **3. Ertapénème :**

L'Ertapénème n'est pas conseillé comme un carbapénème indicateur dans cette directrice, puisqu'elle il a une spécificité plus faible que l'Imipenem et Méropénème. Ertapénème est moins précis car les isolats avec AmpC/BLSE et perméabilité réduite ont CMI plus élevés pour Ertapénème qu'Imipenem ou Méropénème. Cependant, un point d'arrêt de dépistage Ertapénème de 0,5 mg/L pourrait être utilisé (Tableau 11).

La confirmation phénotypique de la production des carbapénémases est basée sur la détection d'un carbapénémase Diffusable et l'inhibition in vitro de l'activité carbapénémase par l'addition d'un inhibiteur.

La confirmation génotypique consiste à détecter la réaction en chaîne polymérase (PCR) et séquençage des gènes de carbapénémase.

## **II/Confirmation Phénotypique De La Production Des Carbapénemases:**

Sur le premier isolat provenant d'un patient avec une épreuve de détection des carbapénémases positif, un test basé sur la PCR devrait être effectué pour confirmer la présence de gènes carbapénémase (Figure 13). Cependant, si la confirmation génotypique n'est pas immédiatement disponible, les tests de confirmation phénotypique peuvent être effectués afin d'éviter une déclaration tardive des carbapénémase-producteurs potentiels à la clinique.

La confirmation phénotypique peut être réalisée en utilisant une ou deux méthodes, le test de Hodge modifié et les tests d'inhibitions de carbapénémases [48, 52,53].

Le critère de Hodge modifié est utilisé pour la détection des carbapénémases diffusibles, et les tests d'inhibition sont utilisés pour distinguer entre les différentes classes de carbapénémases (tableaux 14 et 15). Tester les caractéristiques et les rapports de validation des tests d'inhibition le paramètre de routine, dont certains seulement sont disponibles sur le marché, sont limités [52].

Tableau 14: Interprétation des tests de confirmation phénotypique des carbapénémases: [82]

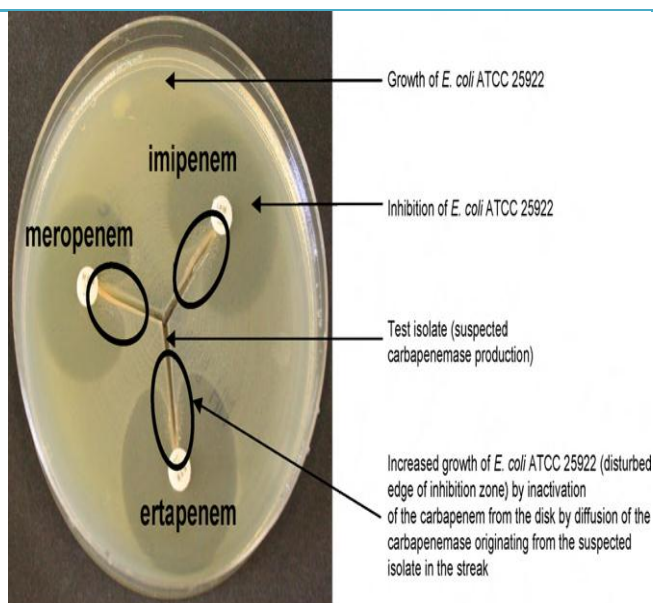
Tests de Confirmation	Carbapenemase			AmpC avec perméabilité réduit	BLSE avec perméabilité réduit
	Class A	Class B	Class D		
test de Hodge Modifié	+	+	+	+/-	+/-
Meropénème± Acid boronique	+	-	-	+/-	-
Meropenem±Cloxacillin <sup>a</sup>	-	-	-	+/-	-
Imipenem±EDTA	-	+	-	-	-
Meropenem±DPA	-	+	-	-	-

ESBL, extended-spectrum beta-lactamase; EDTA, ethylene diamine tetra-acetic acid; DPA, dipicolinic acid.

<sup>a</sup> Disk content 10µg (méropénème) plus 750µg (cloxacilline) (Rosco).

### 3.5.1. Test de Hodge modifiés:

Le test de Hodge modifiés (Figure 21) devrait être effectué conformément aux lignes directrices du Clinical and Laboratory Standards Institute. Le test de Hodge modifié a une sensibilité élevée (95 %) [48, 52]. Les inconvénients de ce test sont les difficultés d'interprétation possible et le fait que les différentes classes de carbapénémases ne peuvent pas être distinguées. La spécificité peut être faible, en raison de BLSE CTX-M ou AmpC-produisant des isolats avec une expression des porines réduit ou absent, peut donner des résultats faussement positifs [48, 53]. Cependant, pour la détection des carbapénémases de la classe A la spécificité de l'essai de Hodge modifiée peut être augmenté en modifiant le test tel que décrit par Pasteran et al. [53] (voir Figure 21).



Example of positive modified Hodge test (photo Neil Woodford, Health Protection Agency, England)

Figure 21 :  
Protocole de test de Hodge modifiés. [82]

- (1) Une suspension de 0,5 McFarland de Escherichia coli ATCC 25922 doit être diluée 1:10 dans une solution saline physiologique (NaCl 0,9%).
- (2) Inoculer une gélose Muller-Hinton avec cette dilution que pour un E-test standard ou test de diffusion sur le disque.
- (3) Placez un 10 µg méropénème, l'imipénème et le disque ertapénème sur la plaque.
- (4) Utiliser une boucle d'inoculation ou un tampon de ramasser trois à cinq colonies à partir d'une culture de la nuit d'un isolat soupçonné de production et de carbapénémase sériée à partir du bord du disque carbapénèmes. La ligne devrait être de 20-25mm de long.
- (5) Incuber une nuit à  $35 \pm 2$  °C dans une atmosphère aérobie.
- (6) Après incubation, examiner l'intersection du bord de la zone d'inhibition et de la raie de l'épreuve d'isoler (voir figure). Le résultat du test est non déterminable si la croissance de E. coli ATCC 25922 est inhibée par le test d'isoler (parallèle à la zone d'inhibition de la strie de l'épreuve d'isoler).

La modification des tests Hodge modifiés («test de Hodge double modifié»): pour éviter les résultats faux positifs du test de Hodge modifiés dans des isolats produisant AmpC et / ou à spectre étendu  $\beta$ -lactamase (BLSE) avec diminution de la perméabilité, l'essai peut en outre être effectué avec des disques contenant un carbapénème ainsi oxacilline pour inhiber AmpC  $\beta$ -lactamases et avec des disques contenant un carbapénème plus 3-aminophénylboronic l'acide pour inhiber AmpC et classe A carbapénémases

### 3.5.2. Tests d'inhibition de l'activité des Carbapénémases (Tests de synergie) :

L'étape de confirmation repose sur l'inhibition in vitro de l'activité des carbapénémases par l'addition d'un inhibiteur spécifique pour une classe de carbapénémases (résultant en une diminution dans le CMI pour le carbapénème). Ce phénomène est appelé une synergie entre les carbapénèmes et l'inhibiteur. Pour la détection de la classe A carbapénémases, l'inhibiteur utilisé est l'acide boronique (acide 3-aminophénylboronique). Pour la détection de classe B Métallo-carbapénémases, l'éthylène diamine tétra-acétique (EDTA) ou l'acide dipicolinique peut être comme un inhibiteur. Il est recommandé que ces tests soient effectués en utilisant des disques de combinaison ou une bande de E-test qui contient un carbapénème et un inhibiteur.

### **III / Confirmation Genotypique:**

La Confirmation génotypique comprend la détection par PCR et séquençage des gènes carbapénémase. La grande diversité des gènes avec un nombre toujours croissant de nouvelles variantes implique que des isolats avec un résultat négatif génotypique en laboratoire local doivent être envoyés à un laboratoire de référence pour confirmation génotypique supplémentaire. Aux Pays-Bas, le centre de référence est une collaboration entre RIVM (Centre de contrôle des maladies infectieuses) et le Laboratoire médical de microbiologie d'Université Médicale Centre Utrecht. Les gènes carbapénémase nommé en tableau 1 peut actuellement être détecté par PCR et séquençage a l université médicale centre Utrecht en utilisant la PCR en interne ainsi que récemment publiée par PCR [54]

### **IV / Controle Qualite :**

Les souches suivantes sont recommandées pour le contrôle qualité : *Klebsiella pneumoniae* ATCC BAA-1705 (CPK-positif) ; *E. coli* ATCC 25922 (carbapénémase-négatif) ; et *K. pneumoniae* ATCCBAA 1706 (résistant aux carbapénèmes par des mécanismes autre que carbapénémases, test de Hodge modifie négatif).

### **V/ Rapport Au Clinique:**

Les souches ont confirmé être carbapénémase-positif doit être signalé à la clinique comme sensible ou résistants selon les points d'arrêt cliniques de EUCAST (<http://www.eucast.org>). Les souches démontré qu'ils ont un gène carbapénémase et un CMI pour Méropéneme de 0,5; 1 ou 2 mg/L ou un CMI

pour imipénème de 2 mg/L sont donc signalé comme sensible. La signification clinique de la présence d'un gène carbapénémase dans un isolat avec un carbapénémase CMI sous le point d'arrêt EUCAST clinique est actuellement inconnue. Les données publiées sur cette question sont controversées depuis quelques rapports de cas décrits l'échec thérapeutique par les carbapénème chez les patients infectés par KPC-positif *K. pneumoniae* avec carbapénème CMI dans la gamme sensible [55, 56]. En revanche, deux études en Grèce chez les patients souffrant d'infections sanguines n'ont observé aucune différence de mortalité entre VIM-infections négatives de *K. pneumoniae* et infection avec VIM-positif *K. pneumoniae* ayant une CMI imipénème  $\leq 4$  mg/l. La mortalité pendant le traitement carbapénème a augmenté chez les patients avec VIM-positif *K. pneumoniae* infections et un imipénème CMI  $> 4$  mg/L [57, 58]. Un commentaire devrait donc être ajouté aux résultats pour indiquer que la sensibilité des micro-organismes aux Carbapénèmes n'est pas claire et que le traitement de toute infection doit être déterminé en consultation avec un médecin microbiologiste ou un consultant de maladies infectieuses.

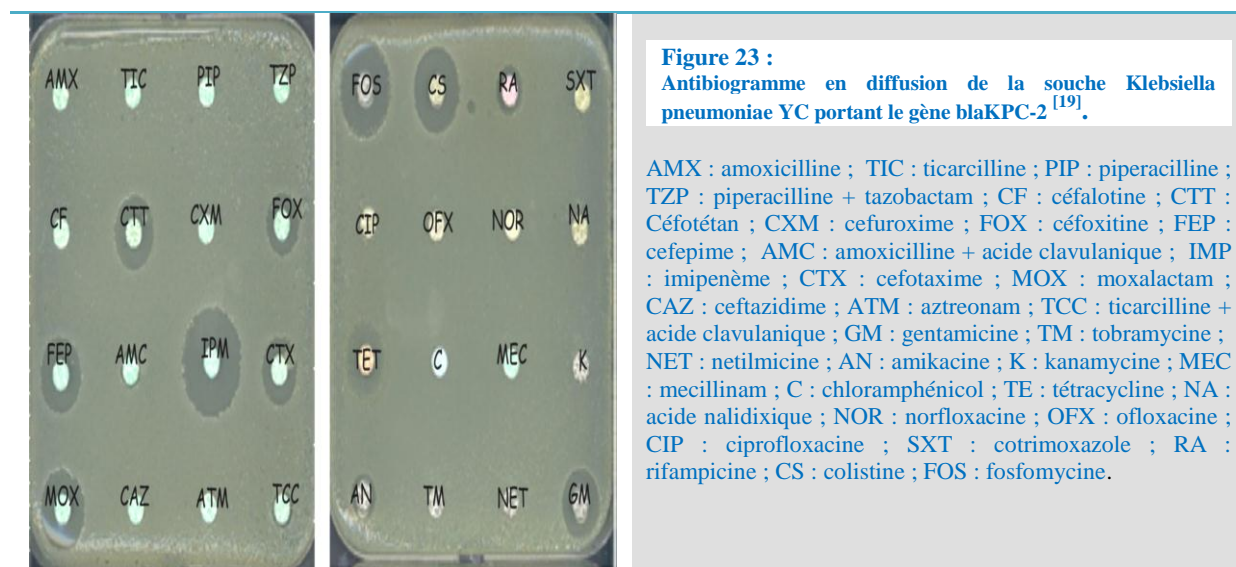
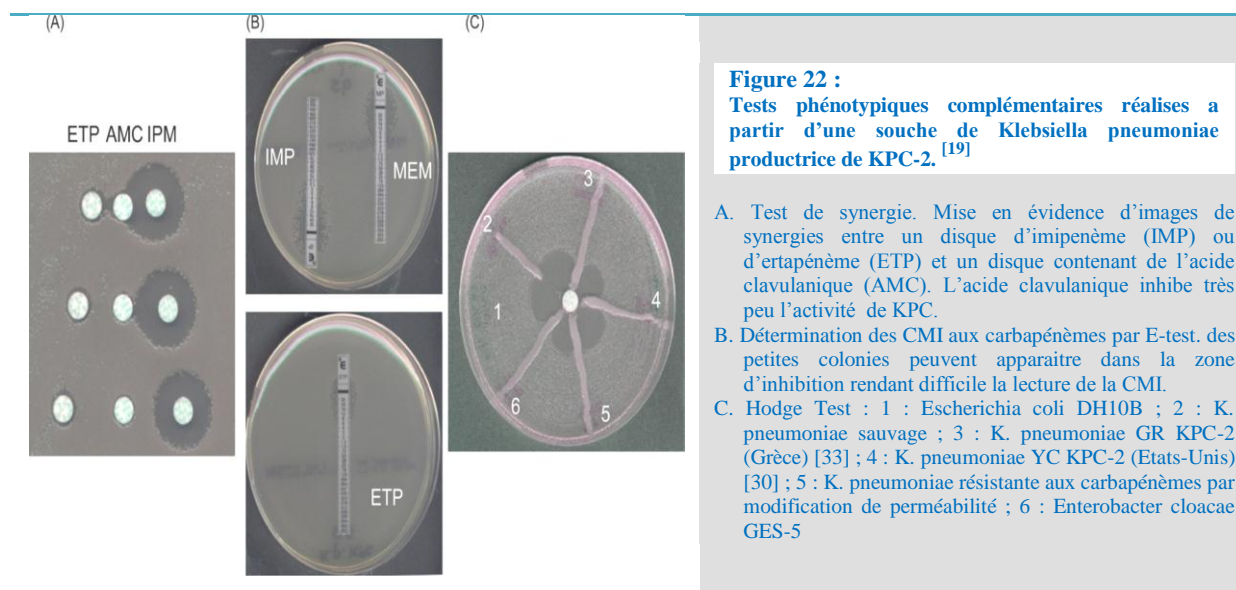
## **C/ DETECTION DES CARBAPENEMASES KPC**

### **I/ Tests phénotypiques :**

#### **1/ Antibiogramme, CMI**

La détection des souches produisant KPC est souvent difficile. Bien qu'inhibée par l'acide clavulanique, cette inhibition est faible et les images de synergie entre un disque contenant de l'acide clavulanique et un disque de céphalosporine de troisième génération ou d'imipénème sont difficiles à mettre en évidence sur l'antibiogramme en diffusion (Figure 22A). De plus, le niveau de résistance aux carbapénèmes des souches productrices de KPC varie d'une souche à l'autre et le diamètre à l'imipénème est plus ou moins réduit, pouvant même rester dans la zone de sensibilité (Figure 23). L'Ertapénème a été proposé comme étant la molécule la plus adaptée pour cette détection. Cependant, l'Ertapénème n'est pas le meilleur substrat de cette enzyme et la résistance observée est le plus souvent due à d'autres mécanismes associés comme l'imperméabilité. Les CMI réalisées par la technique de l'E-test sont parfois difficiles à interpréter du fait de la présence de petites colonies dans la zone d'inhibition. Ce caractère hétérogène, est particulièrement visible avec les souches de *K. pneumoniae* (Figure 22B).

Enfin, les méthodes automatisées en milieu liquide posent également d'importants problèmes de détection, avec des résultats parfois faussement sensibles à l'imipénème ou au méropénème pour des souches de *K. pneumoniae* KPC. Certaines études ont montré que les résultats étaient très dépendants de l'inoculum. Différents tests de confirmation ont ainsi été proposés pour améliorer la détection des souches productrices de KPC.



## 2/ Hodge Test: [19]

Un disque d'imipénème est appliqué au centre d'une boîte de Mueller Hinton (MH) préalablement ensemencée avec une souche de *Escherichia coli* sauvage (sensible aux carbapénèmes) afin d'obtenir une culture confluyente et un diamètre dans la zone de sensibilité autour de l'imipénème. Les souches à tester sont appliquées sur la gélose sous forme de stries déposées à partir du disque d'imipénème jusqu'à la périphérie de la boîte. Après une nuit à 37 C, la déformation du diamètre à l'intersection entre une strie et la culture d'*Escherichia coli* signe la présence d'une hydrolyse des carbapénèmes par la souche testée (Figure 22C). Cette méthode, bien que facile à réaliser, ne préjuge en rien de l'identification de la  $\beta$ -lactamase en cause. En outre, le test est parfois difficile à interpréter.

## 3/ Test à l'acide boronique : [19]

Les composés dérivés de l'acide boronique sont inhibiteurs de certaines  $\beta$ -lactamases, telles que les céphalosporinases chromosomiques. Un de ces dérivés, l'acide 3-amino-phényle boronique (APB) a été décrit comme inhibant également des enzymes de type KPC. Dans un test décrit par Doi et al., les souches suspectes sont testées avec des disques d'imipénème, d'Ertapénèm, de Meropénèm et de ceftazidime pour étudier leur sensibilité. Les mêmes antibiotiques sont testés avec des disques contenant également 300 mg d'APB. Une différence de 5 mm est considérée comme significative dans la mesure des diamètres autour des disques avec et sans APB. Le test était positif pour toutes les souches KPC avec l'Ertapénème et le Meropénème mais seulement pour 60 % d'entre elles avec l'imipénème.

#### **4/ Test d'hydrolyse rapide : [19]**

Des extraits enzymatiques sont obtenus à partir des différentes souches à tester. Comme pour le Hodge Test, une MH est préalablement ensemencée avec une souche de *Escherichia coli* sauvage de référence ; des disques imprègnés d'antibiotiques (imipénème, Meropénèm et ceftazidime) et plus ou moins d'inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (acide clavulanique et EDTA) sont déposés sur la gélose à proximité d'un disque lui-même imprègne de l'extrait enzymatique. Les modifications de la croissance de la souche d'*Escherichia coli* au contact des différents disques sont observées et comparées.

#### **5/ Milieux chromogènes : [19]**

Une étude menée au cours d'une épidémie de *K. pneumoniae* KPC-3 dans un hôpital israélien a évalué un nouveau milieu chromogène, CHROMagar KPC (CHROMagar, Paris, France) pour la détection du portage de bactéries productrices de KPC à partir d'écouvillons rectaux. La sensibilité et la spécificité étaient de 100 et de 98,4 %, respectivement, en comparaison à la PCR, et de 92,7 et 95,9 %, respectivement, par rapport à une détection sur milieu de MacConkey avec disque d'imipénème. Ce milieu pourrait détecter toutes les souches résistantes aux carbapénèmes et en particulier celles qui sont résistantes à l'Ertapénèm mais sensibles à l'imipénème et au Meropénèm, tels que les souches produisant une BLSE et ayant un problème de perméabilité. Les méthodes phénotypiques, qui peuvent être combinées entre elles, ont l'avantage d'être faciles à réaliser. En revanche, le délai du rendu des résultats est de 48 heures. Elles permettent de mettre en évidence une résistance aux carbapénèmes sans en identifier précisément le mécanisme. La confirmation de la présence du gène blaKPC ne peut se faire actuellement que par l'utilisation d'outils moléculaires.

## **II/ Détection des gènes de carbapénémases par méthodes moléculaires : [19]**

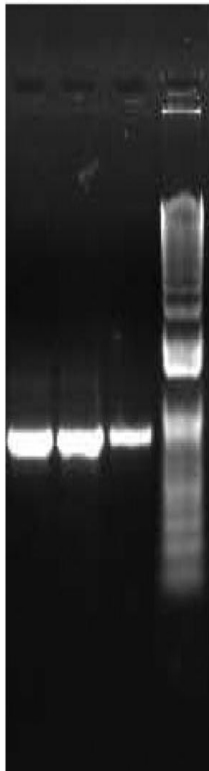
Les amorces pouvant être utilisées pour la recherche du gène blaKPC par PCR en point final sont données dans le Tableau 16. Le produit de PCR obtenu est un fragment de 795 pb (Figure 24). Trois études ont évalué des techniques de PCR pour l'identification rapide des souches productrices de KPC. La première a évalué des PCR pour identifier, à partir de souches résistantes aux carbapénèmes, l'espèce *K. pneumoniae* (par amplification de son hémolysine), ainsi que différentes carbapénémases (VIM, IMP et KPC). La technique a ensuite été appliquée à des prélèvements cliniques directement (hémocultures). Cette méthode permet de réduire de 20 fois le temps nécessaire pour rendre un résultat d'hémoculture positive à *K. pneumoniae* résistante aux carbapénèmes. Les deux autres études ont testé des techniques de PCR en « temps réel » utilisant une sonde TaqMan pour la détection du gène blaKPC. Une de ces études a été réalisée au cours d'une épidémie également, à partir d'écouvillons rectaux, pour identifier rapidement les patients colonisés et les mettre en isolement et comparer les résultats à un dépistage sur MacConkey plus imipénème. Le seuil de détection de la technique était de 1 CFU, quel que soit le niveau de résistance à l'imipénème, la sensibilité de 100 % et la spécificité de 96,4 %. La seconde étude a évalué la technique de PCR sur des colonies suspectées productrices de KPC et avait pour originalité de permettre une différenciation des isoenzymes KPC-2 et KPC-3, grâce à une restriction enzymatique après la PCR. Les spectres d'hydrolyse étant peu différents entre les différentes isoenzymes déjà décrites, cette différenciation ne présente que

peu d'intérêt pour le moment. Une autre approche de PCR en temps réel utilisant le LightCycler et des sondes d'hybridations (Tableau 15) a été évaluée sur des colonies de bactéries productrice de KPC et sur des bactéries diluées dans des urines et du sang et a montre une très bonne sensibilité et spécificité (Figure 24). Les techniques de biologie moléculaire restent indispensables pour l'identification des souches KPC. Elles ont certes l'avantage de leur rapidité, mais restent des techniques réservées aux laboratoires spécialises et demandent un équipement couteux.

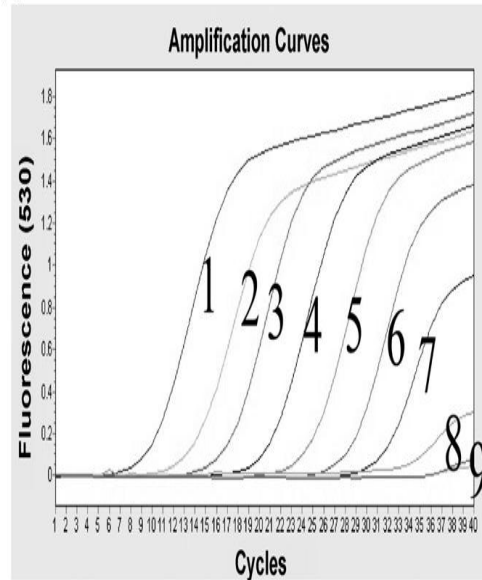
**Tableau 15 : Séquences des amorces et sondes d'hybridation.**

Amorce	Séquence 5'-3'
KPC-A	CTG TCT TGT CTC TCA TGG CC
KPC-B	CCT CGC TGT GCT TGT CAT CC
KPC-F	CAC GTT CCG TCT GGA C
KPC-R	TGT TTC CCT TTA GCC AAT CAA C
Sonde d'hybridation	
Anchor	CTG ACA CTG GGC TCT GCA CT
Sensor	CTG CGC CGC AGC GGC

(A) 1 2 3



(B)



**Figure 24 :**  
**Recherche par PCR du gène**  
**bla<sub>KPC</sub>.**

A/ PCR dite en point final.

Piste 1 : *K. pneumoniae* ;  
piste 2 : *Escherichia coli* ;  
piste 3 : *Citrobacter freundii*.

B. PCR en temps réel utilisant des sondes d'hybridation.

Piste 1 : 10<sup>9</sup> copies d'un plasmide portant KPC ;  
piste 2 : 10<sup>8</sup> copies ;  
piste 3 : 10<sup>7</sup> copies ;  
piste 4 : 10<sup>6</sup> copies ;  
piste 5 : 10<sup>5</sup> copies ;  
piste 6 : 10<sup>4</sup> copies ;  
piste 7 : 10<sup>3</sup> copies ;  
piste 8 : 10<sup>2</sup> copies ;  
piste 9 : 10<sup>1</sup> copies.

## **D/ METHODES DE DETECTION DES CARBAPENEMASES DE CLASSE C ET D : [67]**

Les méthodes de détection des carbapénémases des classes C et D n'ont pas été aussi bien établies. Et en raison de la rareté des inhibiteurs spécifiques contre les  $\beta$ -lactamases de classe C, la confirmation phénotypique des  $\beta$ -lactamases de la classe C est appuyée sur un test d'inhibition appelé le test en trois dimensions, suivi par une confirmation génétique et immunologique.

## **E/ METHODES DE DETECTION DES CARBAPENEMASES DE CLASSE B (MBL) : [83]**

### **1/ Détection phénotypique des carbapénémases :**

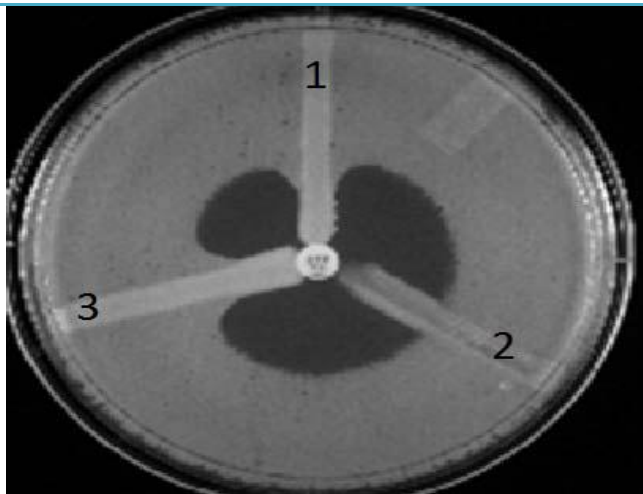
La production de carbapénémase confère certaines caractéristiques phénotypiques pour les organismes en fonction d'espèce, type d'enzyme produite, la présence de mécanismes de résistance supplémentaire et le niveau d'expression.

Le test de Hodge modifié (MHT) est la méthode la plus couramment utilisée pour détecter des organismes produisant MBL et c'est la seule méthode à ce jour recommandée par la clinique et Laboratory Standards Institute (CLSI). Alternativement, l'E-test peut également être utilisé, mais en raison de son coût élevé son utilisation est jugée limitée.

### 1.1/ Test de Hodge Modifié (MHT):

La production des carbapénémases est détectée par le MHT lorsque le test d'isolement produit l'enzyme et permet la croissance d'une souche sensible aux carbapénèmes (*E. coli* ATCC 25922) vers un disque carbapénèmes. Le résultat est un trèfle caractéristique foliacé indentation (Figure 25). Ce test est sensible uniquement à la production des carbapénémase et ne donne aucune information sur le type d'enzyme produite par l'isolat.

- ✧ Test MHT positif à un trèfle à feuilles, comme l'indentation de la bactérie *E. coli* 25922 poussant le long de la strie de croissance de test organisme dans la zone de diffusion du disque.
- ✧ Test MHT négatif n'a pas de croissance de la bactérie *E. coli* le long de la série 25922 de croissance de test organisme dans la zone de diffusion du disque.



**Figure 25:**  
MHT réalisée sur une plaque de 100 mm MHA

- (1) *K. pneumoniae* ATCC BAA 1705 montrant des résultats positifs;
- (2) *K. pneumoniae* ATCC BAA 1706 montrant un résultat négatif;
- (3) Un isolat clinique montrant des résultats positifs

### 1.2/ Test Epsilonometer (E-test) méthode des bandes MBL :

Pour faciliter l'application de la plupart des laboratoires de microbiologie, le E-test est recommandé, où la moitié de la bande est imprégnée d'un gradient de l'imipénème dans sept dilutions et l'autre moitié avec un autre gradient imipénème recouvert d'une concentration constante de l'EDTA (figure 26). Cette division dans la bande d'Acinetobacter sp. exprimant une MBL VIM-2. L'intersection des ellipses à la bande est lue à partir de deux moitiés, c'est à dire, à la section avec l'imipénème seul (IP) et l'imipénème plus EDTA (IPI). Une réduction de 11 de la CMI de l'imipénème dans plus de ou égal à 3 dilutions la présence d'EDTA est interprété comme un test positif. Aides à déchiffrer si le type de produit carbapénémase est affectée par l'EDTA ou non. Pour la plupart des MBL la moitié qui contient le médicament ainsi que l'EDTA montre une plus grande zone d'inhibition par rapport au médicament seul.

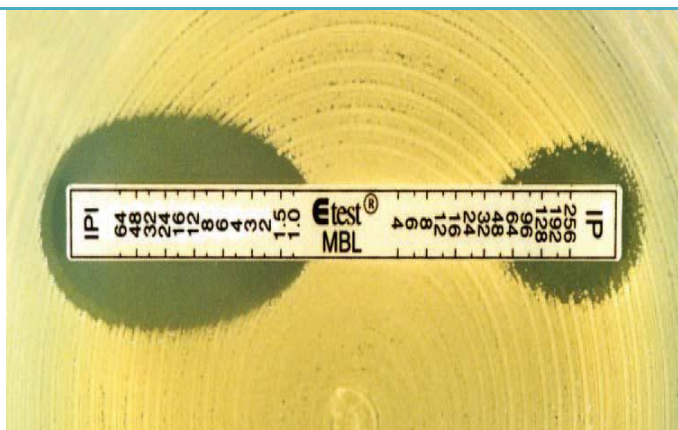
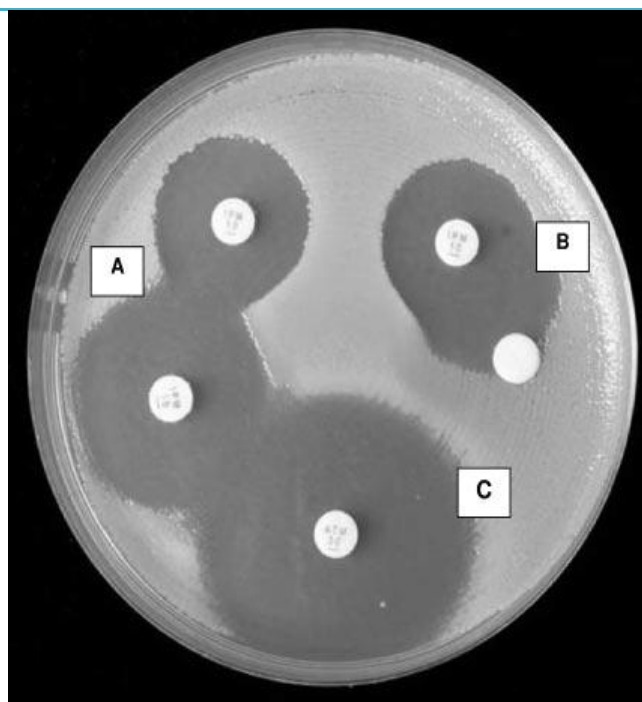


Figure 26:  
E-test MBL bande

### 1.3/ Double disque test de synergie :

Il y a aussi des tests de quelques inhibiteurs qui aident à identifier les producteurs de MBL. Ceux-ci font usage de synergie entre un inhibiteur et les carbapénèmes. L'inhibiteur utilisé est principalement EDTA qui chélate les ions de zinc et donc il ya perte de l'activité carbapénémase. D'autres tests comme le test de synergie double disque et le test du disque combinés des expositions de haut niveau de sensibilité, même dans de faibles niveaux de résistance à la classe des carbapénèmes. Un test de synergie en double disque (Figure: 4) en utilisant l'imipénème (IPM) et EDTA 0,5 M et un test combiné du disque en utilisant soit deux disques IPM ou deux disques méropénème, l'un contenant 930 microgrammes ou 750 microgrammes de l'EDTA, ont tous deux été rapportés comme des méthodes fiables pour la détection des MBL dans les souches de *Pseudomonas* et *Acinetobacter* résistant aux carbapénèmes.



**Figure 27 :**

L'aspect phénotypique de MBL produit par *Serratia marcescens* isolé portant le gène *bla<sub>IMP4</sub>*

(A) test du disque combiné, utilisant deux imipénème (10 microgrammes) disques, l'un avec 292 microgrammes d'EDTA, montrant une augmentation de la zone d'inhibition de > 4 mm autour du disque avec de l'EDTA.

(B) test de double synergie disque, utilisant une IPM (10 microgrammes) disque placé 20 mm (centre à centre) à partir d'un disque vierge filtre contenant 292 microgrammes d'EDTA.

(C) L'aztréonam (30 microgrammes) de disque avec une zone de > 30 mm d'inhibition.

#### **1.4/ Les méthodes spectrophotométriques**

Ce sont les méthodes de référence qui devraient être utilisées pour détecter les carbapénémases. Ils mesurent la quantité des carbapénèmes hydrolysés en présence ou en absence d'inhibiteurs en utilisant des extraits bruts de cellules ou des préparations enzymatiques par des méthodes spectrophotométriques. Ils peuvent fournir des informations supplémentaires sur l'enzyme mais sont laborieux, techniquement exigeants et coûteux. Ainsi, elles sont réalisées dans les laboratoires de référence.

#### **2/ Méthodes de détection génotypique :**

Les méthodes génotypiques pour détecter les MBL exploitent l'utilisation des techniques de recombinaison de l'ADN en conjonction avec les techniques moléculaires. Le plasmide portant le gène bla est d'abord purifié par des procédés d'extraction des plasmides et le gène bla est alors isolé en utilisant une digestion par restriction. Le gène est ensuite transformé dans une cellule hôte (hôte le plus utilisé est idéalement E.coli DH10B) par électroporation. Les transformants sont sélectionnés par étalement sur des plaques LB contenant un antibiotique adapté et utilisés pour la Polymérase Chain Réaction (PCR). Les transformants peuvent également être soumis à la concentration minimale inhibitrice (CMI) des tests d'inhibition, afin de savoir si la capacité d'hydrolyser les carbapénèmes est retenue dans l'organisme vecteur ou non. Par ailleurs, les dérivés de PCR peuvent être soumis à une électrophorèse en champ pulsé ou Southern blot pour analyser le degré de parenté entre les gènes bla d'autres trouvés dans d'autres organismes ou au sein de la même espèce. Aussi Base Outil Local Alignment Search (BLAST) les analyses peuvent être réalisées afin de comparer les similitudes avec les séquences déjà identifiées MBL.

## F SCHEMA GENERALE POUR LE DEPISTAGE ET LA CONFIRMATION DES CARBAPENEMASES

La première étape consiste à détecter les BLSE, on utilisant les tests de confirmation phénotypique pour la detection de la classe A, dans le cas ou le test est negative on passe a la détermination de la non sensibilité aux carbapénèmes, si le test est positive on passe a la confirmation phénotypique de la classe B (Metallo  $\beta$ -lactamases) par EDTA, en cas de la négativité du test on passe a la confirmation phénotypique de la classe C par l'acide boronique et en cas encore de la négativité du test on est en présence de la classe D. Le schéma de la figure 28 résume les étapes de la detection des différentes classes des carbapenemases.

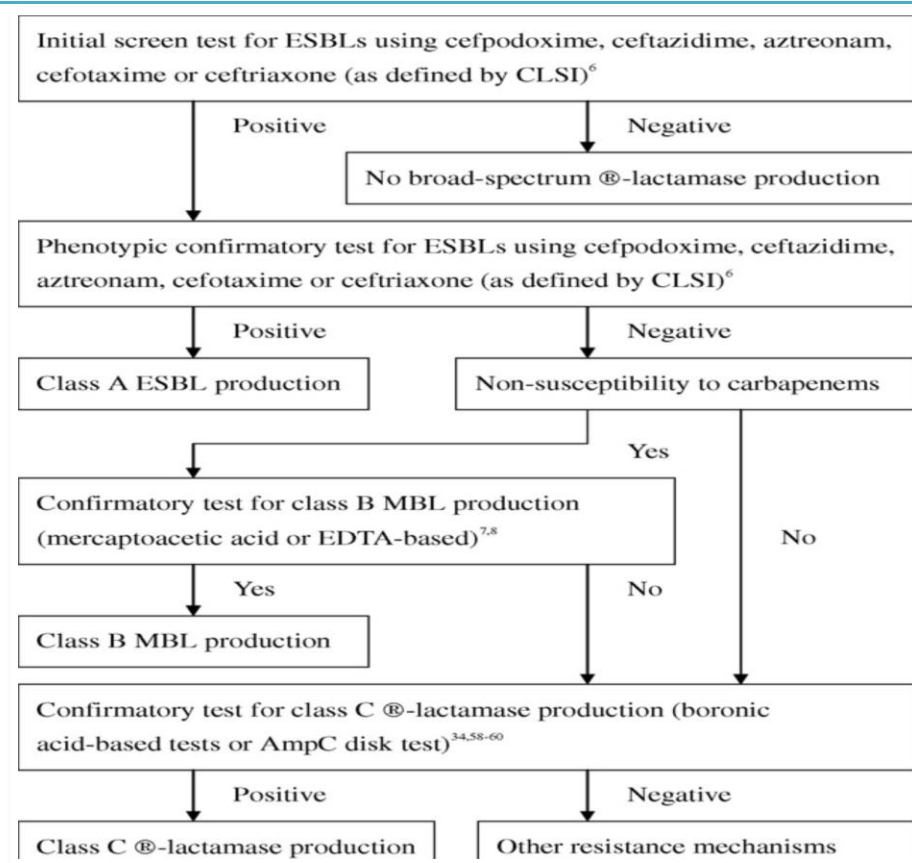


Figure 28:

Démarche phénotypique pour le dépistage et la confirmation des classes  $\beta$ -lactamase.



*Conclusion*

La résistance naturelle aux  $\beta$ -lactamines a toujours existé, sous-tendant la production de diverses  $\beta$ -lactamases chromosomiques, mais la résistance acquise à ces antibiotiques surtout aux carbapénèmes sera une fatalité, imprévisible, de préférence, dans une espèce bactérienne et dans un ou plusieurs pays. Malheureusement la globalisation ou la mondialisation de la résistance bactérienne est bien une réalité, l'exemple des  $\beta$ -lactamases illustre cette notion avec des cas d'importation de "nouvelles  $\beta$ -lactamases" comme KPC, OXA et NDM-1. Aussi, il convient de mieux connaître par espèce bactérienne, les prévalences de résistance par pays mais aussi de forger les outils simples afin de détecter l'émergence de nouvelles enzymes. La résistance acquise aux  $\beta$ -lactamines est, en 2005, chez les bactéries multirésistantes, souvent en relation avec une ou plusieurs  $\beta$ -lactamases, principal mécanisme d'adaptation des bactéries au traitement. Leur diversité est étonnante ainsi que leur potentiel d'évolution (moléculaire). Aussi leur détection rapide au laboratoire sera de plus en plus complexe, ainsi que l'interprétation à donner. Enfin on n'oubliera pas leur intérêt taxonomique lors de la validation (phénotypes de résistance particuliers). Ce type de connaissances exige une spécialisation, aussi la solution est de développer des systèmes experts de l'antibiogramme.



*Résumés*

## Résumé

**Thèse n° 92: Resistances aux carbapénèmes : Mécanismes et enjeux**

**Auteur : IRZI ABDELALI**

**Mots clé : Carbapénèmes ; Carbapenemases ; Detection ; Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase ; Métallo- $\beta$ -lactamases.**

Le but de ce travail est de faire le point sur les carbapénèmes, ayant une place important dans le traitement des infections graves, et de dégager les différents mécanismes de résistances bactériennes à cette famille des  $\beta$ -lactamines et aussi mettre en évidence les différentes méthodes de detection aux laboratoires.

Depuis une vingtaine d'années, à la suite de l'introduction en thérapeutique des nouvelles  $\beta$ -lactamines (céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération, aztreonam et carbapénèmes), un nombre très important de nouvelles  $\beta$ -lactamases sont apparus. Ces enzymes confèrent aux bactéries qui les hébergent les moyens de résister à ces nouvelles molécules. Les  $\beta$ -lactamases ayant une activité de carbapénémase sont les plus puissants mécanismes de résistance aux carbapénèmes. Ces carbapénémases sont identifiées de façon croissante chez les entérobactéries dans le monde entier. Parmi les carbapenemases identifiées on trouve les serines carbapenemases de type KPC, OXA, CYM et les Métallo- $\beta$ -lactamases de type NDM-1.

Plusieurs tests ont été développés, mais la confirmation de la présence des carbapenemases repose sur la mise en évidence du gène par des méthodes moléculaires. Il est important de mettre en place une stratégie pour identifier rapidement les patients colonisés ou infectés par de telles souches afin d'en limiter la diffusion.

**Abstrat:**

**Theisis n° 92 : Resistance to carbapenems : mechanisms and issues**

**Author : IRZI ABDELALI**

**Keywords: Carbapenems, Carbapenemase, Detection, Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase, Metallo- $\beta$ -lactamases.**

The stumbles of this work are to take stock of carbapenems, having a place important in the treatment of serious infections, and to identify different mechanisms of bacterial resistance to the  $\beta$ -lactam and also highlight the different methods of detection to laboratories.

Last twenty years, following the introduction of new therapeutic  $\beta$ -lactams (3rd generation cephalosporins, aztreonam and carbapenems), a large number of new  $\beta$ -lactamases have emerged. These enzymes provide bacteria that host the means to resist these new molecules. The  $\beta$ -lactamases with carbapenemase activity are the most powerful mechanisms of resistance to carbapenems. These carbapenemases are increasingly identified among Enterobacteriaceae worldwide. Among the carbapenemase identified are the serine carbapenemase KPC-type, OXA, CYM and Metallo- $\beta$ -lactamases of type NDM-1.

Several tests have been developed, but the confirmation of the presence of carbapenemase based on the identification of the gene by molecular methods. It is important to develop a strategy to rapidly identify patients colonized or infected with such strains in order to limit the spread.

المُلخَص :

أطروحة رقم 92 : المقاومة للكاربابينيم: الآليات والرهانات

من طرف: إرزي عبد العالي

الكلمات الأساسية : الكرابينيم، الكرابينيماز، الكشف، الكرابينيماز من نوع KPC، الإنزيمات الفلزية.

الهدف من هذا العمل هو توضيح أهمية أدوية الكرابينيم التي تتميز بفعاليتها في التعافنات المستعصية و التطرق إلى الآليات المستعملة من طرف البكتيريات لمقاومة هذا الصنف من الأدوية. والاطلاع على الطرق المستعملة للكشف عنها في المختبرات.

منذ القدم، و نتيجة لاستعمل أدوية مثل ليففالوسبوغين من الدرجة الثالثة والكاربابينيم أصبحنا نلاحظ ظهور إنزيمات تحول دون فعالية هذه الأدوية، من بين هذه الإنزيمات نجد :

**KPC, OXA, CYM و NDM-1**

الطرق المستعملة للكشف عنها في المختبرات ليست كافية لتأكد من تواجدها فعلا لهذا السبب يجب تحديد جيناتها بالطرق الجزيئية.

يجب وضع إستراتيجية محكمة عن طريق تطوير أنظمة الكشف عن هذه الإنزيمات لذا المرضى للحد من عولمتها.



*Bibliographie*

- [1] **J.-D. Cavallo, R. Fabre, F. Jehl, C. Rapp** and E. Garrabé. Bêtalactamines. EMC-Maladies Infectieuses. 2004. 1: 129–202
- [2] **M. Wolff, M.-L. Joly-Guillou, O. Pajot.** Le point sur les carbapénèmes. Réanimation, 2008 ; 17, P.242-250.
- [3] **R. Gausit, L.Gutmann, C.Brun-Buisson, V.jarlier, B.Fantin.** Recommandations de bon usage des carbapénèmes. Antibiotique, 2010 ; P.1-7.
- [4] Compte-rendu de congrès. 2009. Place des carbapénèmes dans les infections graves. Médecine et maladies infectieuses, 39 : P.867–870.
- [5] **Sylvie Carle.** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! Pharmactuel, 2009; 42; 1-16.
- [6] **Santé Canada.** Résistance aux antibiotiques. 2005 : P.1-2
- [7] **B. DELAERE.** La résistance aux antibiotiques en médecine générale. P.1-7
- [8] **Nordmann P, Poirel L.** Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. Clin Microbiol Infect 2002;8:321–31.
- [9] **L. GUTMANN.** Mécanisme de résistance non enzymatique aux bêtalactamines et épidémiologie de la résistance. Médecine et Maladies Infectieuses.1986. P.655 à 660.
- [10] **Jean-Marie Pagès.** Porines bactériennes et sensibilité aux antibiotiques. Médecine sciences, 2004 ; 20 ; P. 346-351.
- [11] **Vincent Cattoir.** Pompes d’efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. Pathologie Biologie, 2004; 52; P.607–616.
- [12] **Maja Babic, Andrea M. Hujer, Robert A. Bonomo.** What’s new in antibiotic resistance? Focus on beta-lactamases. Drug Resistance Updates 2006; 9, P.142–156.
- [13] **H. Rodriguez-Villalobos, M.-J. Struelens.** Résistance bactérienne par  $\beta$ -lactamases à spectre étendu : implications pour le réanimateur. Réanimation. 2006,15 : P.205–213
- [14] **Anne Marie Queenan, and Karen Bush,** Carbapénèmases: the Versatile  $\beta$ -Lactamases: Clinical Microbiology Reviews, 2007; 20; P.440-458.
- [15] **BERNARD Rémi.** Résistance à la Bacitracine chez *Bacillus subtilis*. THESE DE DOCTORAT. 2007. P. 1-220.

- [16] **P. Nordmann, A. Carrer.** Les carbapénémases des entérobactéries. *Science direct*, 2010; 17; P.154-162.
- [17] **Barry G. Hall, Miriam Barlow.** Evolution of the serine  $\beta$ -lactamases: past, present and future. *Drug Resistance Updates*. 2004. 7, P.111–123
- [18] **Patrice Nordmann, Gaele Cuzon, Thierry Naas.** The real threat of *Klebsiella pneumoniae* carbapénémase producing bacteria. *Lancet Infect Dis*, 2009; 9; P. 228–236.
- [19] **G. Cuzon, T. Naas, P. Nordmann.** Carbapénémases de type KPC : quel enjeu en microbiologie clinique ? *Pathologie Biologie*. 2010; 58: 39–45.
- [20] **Kyle D. Schneider, Caleb J. Ortega, Nicholas A. Renck, Robert A. Bonomo, Rachel A. Powers and David A. Leonard.** Structures of the Class D Carbapenemase OXA-24 from *Acinetobacter baumannii* in Complex with Doripénème. *Journal of Molecular Biology*. 2011, 406: 583–594
- [21] **Giuseppe Cornaglia, Helen Giamarellou, Gian Maria Rossolini.** Metallo- $\beta$ -lactamases: a last frontier for  $\beta$ -lactams? *Lancet Infect Dis*. 2011;11: 381–393
- [22] **Lahlou amine, H.Salord, Y.Gille, C.Roure, S.Tigaud, T.Bajou, N.Rtabi, H.L'kassmi.** *Pseudomonas aeruginosa* et résistance isolée à l'imipénème clone émergent en milieu hospitalier ? *Les technologies de laboratoires*. 2008. 1-6.
- [23] **SUPARNA DUGAL, ANDREA FERNANDES.** CARBAPENEM HYDROLYSING METALLO $\beta$ -LACTAMASES: A REVIEW. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 2011. 3: 9-16
- [24] **Azar D. Khosravi, Fatemeh Mihani.** Detection of Metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from burn patients in Ahwaz, Iran. *Diagnostic Microbiology and Infectious Disease* 60 (2008): 125–128.
- [25] **E. Sevillano, L. Gallego, J.M. García-Lobo.** First detection of the OXA-40 carbapenemase in *P. aeruginosa* isolates, located on a plasmid also found in *A. baumannii*. *Pathologie Biologie* 57 (2009) : 493–495.

- [26] **Ia Kusradze, Seydina M. Diene, Marina Goderdzishvili, Jean-Marc Rolain.** Molecular detection of OXA carbapenemase genes in multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* isolates from Iraq and Georgia. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2011. P.1-5.
- [27] **Naas, T., L. Vandell, W. Sougakoff, D. M. Livermore, and P. Nordmann.** 1994. Cloning and sequence analysis of the gene for a Carbapenem-hydrolyzing class A  $\beta$ -lactamase, Sme-1, from *Serratia marcescens* S6. *Antimicrob. Agents Chemother.* 38:1262–1270.
- [28] **Yang, Y., P. Wu, and D. M. Livermore.** Biochemical characterization of a  $\beta$ -lactamase that hydrolyzes penems and carbapenems from two *Serratia marcescens* isolates. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1990. 34:755–758.
- [29] **Gales, A. C., D. J. Biedenbach, P. Winokur, D. M. Hacek, M. A. Pfaller, and R. N. Jones.** 2001. Carbapenem-resistant *Serratia marcescens* isolates producing Bush group 2f  $\beta$ -lactamase (SME-1) in the United States: results from the MYSTIC Programme. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* 39:125–127.
- [30] **Queenan, A. M., W. Shang, P. Schreckenberger, K. Lolans, K. Bush, and J. Quinn.** 2006. SME-3, a novel member of the *Serratia marcescens* SME family of carbapenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50:3485–3487.
- [31] **Queenan, A. M., C. Torres-Viera, H. S. Gold, Y. Carmeli, G. M. Eliopoulos, R. C. Moellering, Jr., J. P. Quinn, J. Hindler, A. A. Medeiros, and K. Bush.** 2000. SME-type carbapenem-hydrolyzing class A  $\beta$ -lactamases from geographically diverse *Serratia marcescens* strains. *Antimicrob. Agents Chemother.* 44:3035–3039.
- [32] **Troillet, N., Y. Carmeli, L. Venkataraman, P. DeGirolami, and M. H. Samore.** 1999. Epidemiological analysis of imipenem-resistant *Serratia marcescens* in hospitalized patients. *J. Hosp. Infect.* 42:37–43.

- [33] **Nordmann, P., S. Mariotte, T. Naas, R. Labia, and M.-H. Nicolas.** 1993. Biochemical properties of a carbapenem-hydrolyzing  $\beta$ -lactamase for *Enterobacter cloacae* and cloning of the gene into *Escherichia coli*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 37:939–946.
- [34] **Pottumarthy, S., E. S. Moland, S. Jeretschko, S. R. Swanzy, K. S. Thomson, and T. R. Fritsche.** 2003. NmcA carbapenem-hydrolyzing enzyme in *Enterobacter cloacae* in North America. *Emerg. Infect. Dis.* 9:999–1002.
- [35] **Radice, M., P. Power, G. Gutkind, K. Fernandez, C. Vay, A. Famiglietti, N. Ricover, and J. Ayala.** 2004. First class A carbapenemase isolated from Enterobacteriaceae in Argentina. *Antimicrob. Agents Chemother.* 48:1068–1069.
- [36] **Rasmussen, B. A., K. Bush, D. Keeney, Y. Yang, R. Hare, C. O’Gara, and A. A. Medeiros.** 1996. Characterization of IMI-1  $\beta$ -lactamase, a class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from *Enterobacter cloacae*. *Antimicrob. Agents Chemother.* 40:2080–2086.
- [37] **Aubron, C., L. Poirel, J. Ash Ronald, and P. Nordmann.** 2005. Carbapenemase producing Enterobacteriaceae, U.S. rivers. *Emerg. Infect. Dis.* 11: 260–264.
- [38] **Yu, Y.-S., X.-X. Du, Z.-H. Zhou, Y.-G. Chen, and L.-J. Li.** 2006. First isolation of blaIMI-2 in an *Enterobacter cloacae* clinical isolate from China. *Antimicrob. Agents Chemother.* 50:1610–1611.
- [39] **Majiduddin, F. K., and T. Palzkill.** 2003. Amino acid sequence requirements at residues 69 and 238 for the SME-1  $\beta$ -lactamase to confer resistance to  $\beta$ -lactam antibiotics. *Antimicrob. Agents Chemother.* 47:1062–1067.
- [40] **Sougakoff, W., G. L’Hermite, L. Pernot, T. Naas, V. Guillet, P. Nordmann, V. Jarlier, and J. Delettre.** 2002. Structure of the imipenem-hydrolyzing class A  $\beta$ -lactamase SME-1 from *Serratia marcescens*. *Acta Crystallogr. D* 58:267–274.
- [41] **Philippon A, Arlet G, Jacoby GA.** Plasmid-determined AmpC-type  $\beta$ -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46:1–11.
- [42] **Hanson ND.** AmpC  $\beta$ -lactamases: what do we need to know for the future? *J. Antimicrob Chemother* 2003; 52:2–4.

- [43] **Hedi Mammeri, Helene Guillon, Francois E, and Patrice Nordmann.** **Phenotypic and Biochemical** Comparison of the Carbapenem-Hydrolyzing Activities of Five Plasmid-Borne AmpC  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrobial Agents And Chemotherapy*. 2010, 54: P. 4556–4560
- [44] **Patrice Nordmann, Thierry Naas, and Laurent Poirel.** Global Spread of Carbapenemase producing Enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Diseases*. 2011, 17:1791-1798.
- [45] **Simona Bratu, MD; David Landman, MD;** Robin Haag, RN; Rose Recco, MD; Antonella Eramo, RN; Maqsood Alam, MD; John Quale, MD. Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium. *Arch Intern Med*. 2005; 165:1430–1435.
- [46] **Maria Souli, Irene Galani,** Anastasia Antoniadou, Evangelos Papadomichelakis, Garyphallia Poulakou, Theofano Panagea, Sofia Vourli, Loukia Zerva, Apostolos Armaganidis, Kyriaki Kanellakopoulou, and Helen Giamarellou. An outbreak of infection due to  $\beta$ -lactamase *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase 2-producing *K. pneumoniae* in a Greek University Hospital: molecular characterization, epidemiology, and outcomes. *Clin Infect Dis* 2010; 50:364–73.
- [47] **Marco Falcone, Maria Lina Mezzatesta, Mariagrazia Perilli, Chiara Forcella,** Alessandra Giordano, Viviana Cafiso, Gianfranco Amicosante, Stefania Stefani, and Mario Vendittil. Infections with VIM-1 Metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacter cloacae* and their correlation with clinical outcome. *J Clin Microbiol* 2009; 47: 3514–9.
- [48] **Fernando Pasteran, Tania Mendez, Leonor Guerriero, Melina Rapoport, and Alejandra Corso.** Sensitive screening tests for suspected class A carbapenemase production in species of Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* 2009; 47:1631–9.
- [49] **Fred C. Tenover, Rajinder K. Kalsi, Portia P. Williams, Roberta B. Carey, Sheila Stocker, David Lonsway, J. Kamile Rasheed, James W. Biddle, John E. McGowan Jr., and Bruce Hanna.** Carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* not detected by automated susceptibility testing. *Emerg Infect Dis* 2006; 12:1209–13.

- [50] **Karen Lolans, Karen Calvert, Sarah Won, James Clark, and Mary K. Hayden, Rush University Medical Center, Chicago, Illinois; Alverno Laboratories, Hammond, Indiana; and Rush Medical College, Chicago, Illinois.** Direct ertapenem disk screening method for identification of KPC-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in surveillance swab specimens. *J Clin Microbiol* 2010; 48:836–841.
- [51] **Timothy R. Walsh,** Anne Bolmstrom, Anette Qvarnstrom, and Ana Gales. Evaluation of a new Etest for detecting Metallo- $\beta$ -lactamases in routine clinical testing. *J Clin Microbiol* 2002; 40:2755–9.
- [52] **V. Miriagou, G. Cornaglia, M. Edelstein, I. Galani, C. G. Giske, M. Gniadkowski, E. Malamou-Lada, L. Martinez-Martinez, F. Navarro, P. Nordmann, L. Peixe, S. Pournaras, G. M. Rossolini, A. Tsakris, A. Vatopoulos and R. Canton.** Acquired carbapenemases in Gram-negative bacterial pathogens: detection and surveillance issues. *Clin Microbiol Infect* 2010; 16:112–122.
- [53] **Fernando Pasteran, Tania Mendez, Melina Rapoport, Leonor Guerriero, and Alejandra Corso.** Controlling false positive results obtained with the Hodge and Masuda assays for detection of class A carbapenemase in species of *Enterobacteriaceae* by incorporating boronic acid. *J Clin Microbiol* 2010; 48:1323–32.
- [54] **Caroline Dallenne,** Anaëlle Da Costa, Dominique Decre, Christine Favier and Guillaume Arlet. Development of a set of multiplex PCR assays for the detection of genes encoding important  $\beta$ -lactamases in *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65:490–495.
- [55] **Lomaestro BM, Tobin EH, Shang W, Gootz T.** The spread of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae* to upstate New York. *Clin Infect Dis* 2006; 43:e26–8.
- [56] **Mathers AJ, Cox HL, Bonatti H, Kitchel B, Brassinga AK, Wispelwey B, et al.** Fatal cross infection by carbapenem-resistant *Klebsiella* in two liver transplant recipients. *Transpl Infect Dis* 2009; 11:257–65.

- [57] **Daikos GL, Karabinis A, Paramythiotou E, Syriopoulou VP, Kosmidis C, Avlami A, et al.** VIM-1-producing *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections: analysis of 28 cases. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29:471–3.
- [58] **George L. Daikos, Panayiotis Petrikkos, Mina Psychogiou, Chris Kosmidis, Evangelos Vryonis, Athanasios Skoutelis, Kleoniki Georgousi, Leonidas S. Tzouvelekis, Panayotis T. Tassios, Christina Bamia, and George Petrikkos.** Prospective observational study of the impact of VIM-1 Metallo- $\beta$ -lactamase on the outcome of patients with *Klebsiella pneumoniae* bloodstream infections. *Antimicrob Agents Chemother* 2009; 53:1868–1873.
- [59] **A.Doléans-Jordheim, S.Michalet, E. Bergeron, S. Boisset, F. Souard, C. Dumontet M.-G. Dijoux-Franca J. Freney.** Les phénomènes de résistance aux antibiotiques liés aux pompes à efflux : exemple de *Staphylococcus aureus*. *Ann Biol Clin.* 2008; 66 (5): P.499-508
- [60] **Axel Dalhoff, Nebojsa Janjic, Roger Echols.** Redefining penems. *Biochemical pharmacology.* 2006. 71: P.1085– 1095.
- [61] **Karen Bush.** Alarming  $\beta$ -lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant Enterobacteriaceae. *Current Opinion in Microbiology.* 2010, 13:P.558–564.
- [62] **C.-E. Luyt, J. Chastre.** Doripénème dans le traitement des pneumonies acquises sous ventilation mécanique. *Reanimation.* 2009; 18 S209-S21
- [63] **Carine Bebrone.** Metallo- $\beta$ -lactamases (classification, activity, genetic organization, structure, zinc coordination) and their superfamily. *Biochemical pharmacology.* 2007. 74: P.168 6 – 1701.
- [64] **Barry G. Hall and Miriam Barlow.** Revised Ambler classification of  $\beta$ -lactamases. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2005. P. 1-2.
- [65] **Moreno Galleni, Josette Lamotte-Brasseur, Gian Maria Rossolini, Jim Spencer, Otto Dideberg, Jean-Marie FreRe, And The Metallo- $\beta$ -Lactamase Working Group.** Standard Numbering Scheme for Class B  $\beta$ -Lactamases. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy,* Mar. 2001, 45: P. 660–663.

- [66] **Timothy R. Walsh, Mark A. Toleman, Laurent Poirel, and Patrice Nordmann.** Metallo- $\beta$ -Lactamases: the Quiet before the Storm? *Clinical Microbiology Reviews*. 2005; 18 P. 306–325.
- [67] **Yohei Doi, David L. Paterson.** Detection of plasmid-mediated class C  $\beta$ -lactamases. *International Journal of Infectious Diseases*. 2007, 11: 191—197.
- [68] **Deeba Bashir, Manzoor Ahmad Thokar, Bashir Ahmad Fomda, Gulnaz Bashir, Danish Zahoor, Shabir Ahmad and Abubaker S. Toboli.** Detection of metallo-beta-lactamase (MBL) producing *Pseudomonas aeruginosa* at a tertiary care hospital in Kashmir. *African Journal of Microbiology Research*. 2011. 5(2): P. 164-172.
- [69] **MEDQUAL.** Les carbapénèmes.2010, P.1-13.
- [70] **B.-P. Guery.** Le doripénème : quelle place pour un nouveau carbapénème ? *Médecine et maladies infectieuses*. 2009, 39: 871–876
- [71] **Bulletin** d'information, Centre hospitalier universitaire de Québec. Doripénème. Centre d'information sur le médicament. 2011. 11: P.1-6
- [72] **Lionel Mandell. Doripenem:** A New Carbapenem in the Treatment of Nosocomial Infection. *Clinical Infectious Diseases*. 2009; 49:S1–3.
- [73] **Murthy R.** Implementation of strategies to control antimicrobial resistance. *Chest*. 2001; 119 (suppl 2):405-11.
- [74] **Masuda N, Sakagawa E, Ohya S, Gotoh N, Tsujimoto H, Nishino T.** Substrate specificities of MexAB-OprM, MexCDOprJ and MexXY-OprM efflux pumps in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000;44: 3322–3327.
- [75] **Nikaido H.** Antibiotic resistance caused by Gram-negative multidrug efflux pumps. *Clin Infect Dis* 1998; 27(suppl1): 32S–41S.
- [76] **Bradford, P. A., C. Urban, N. Mariano, S. J. Projan, J. J. Rahal, and K. Bush..** Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated with the combination of ACT-1, a plasmid-mediated AmpC  $\beta$ -lactamase, and the loss of an outer membrane protein. *Antimicrob. Agents Chemother*. 1997. 41:P.563–569.
- [77] **Cao, V. T., G. Arlet, B. M. Ericsson, A. Tammelin, P. Courvalin, and T. Lambert..** Emergence of imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* owing to combination of plasmid-mediated CMY-4 and permeability alteration. *J. Antimicrob. Chemother*.2000. 46:P.895–900.

- [78] **Lee, K., D. Yong, Y. S. Choi, J. H. Yum, J. M. Kim, N. Woodford, D. M. Livermore, and Y. Chong.** Reduced imipenem susceptibility in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates with plasmid-mediated CMY-2 and DHA-1  $\beta$ -lactamases co-mediated by porin loss. *Int. J. Antimicrob. Agents* .2007.29: P.201–206.
- [79] **Oteo, J., A. Delgado-Iribarren, D. Vega, V. Bautista, M. C. Rodriguez, M. Velasco, J. M. Saavedra, M. Perez-Vazquez, S. Garcia-Cobos, L. Martinez-Martinez, and J. Campos.** Emergence of imipenem resistance in clinical *Escherichia coli* during therapy. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2008. 32: P.534–537.
- [80] **Poirel, L., C. Heritier, C. Spicq, and P. Nordmann.** In vivo acquisition of high-level resistance to imipenem in *Escherichia coli*. *J. Clin. Microbiol.* 2004. 42: P.3831–3833.
- [81] **Stapleton, P. D., K. P. Shannon, and G. L. French.** Carbapenem resistance in *Escherichia coli* associated with plasmid-determined CMY-4  $\beta$ -lactamase production and loss of an outer membrane protein. *Antimicrob. Agents Chemother.* 1999. 43: P.1206–1210.
- [82] **Verdet, C., G. Arlet, S. Ben Redjeb, A. Ben Hassen, P. H. Lagrange, and A. Philippon.** Characterisation of CMY-4, an AmpC-type plasmid-mediated  $\beta$ -lactamase in a Tunisian clinical isolate of *Proteus mirabilis*. *FEMS Microbiol. Lett.* 1998. 169: P.235–240.
- [83] **James Cohen Stuart et al.** Guideline for phenotypic screening and confirmation of carbapenemases in Enterobacteriaceae. *International Journal of Antimicrobial Agents* 36 (2010) P.205–210.
- [84] **SUPARNA DUGAL, ANDREA FERNANDES. CARBAPENEM HYDROLYSING METALLO- $\beta$ -LACTAMASES: A REVIEW. International Journal of Current Pharmaceutical Research. 2011. 3 :P.9-16**

# *Serment de Galien*

*Je jure en présence des maîtres de cette faculté :*

- *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 ma profession avec conscience, dans l'intérêt de la santé public, sans jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.*
- *D'être fidèle dans l'exercice de la pharmacie à la législation en vigueur, aux règles de l'honneur, de la probité et du désintéressement.*
- *De ne dévoiler à personne les secrets qui m'auraient été confiés ou dont j'aurais eu connaissance dans l'exercice de ma profession, de ne jamais consentir à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser les actes criminels.*
- *Que les hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses, que je sois méprisé de mes confrères si je manquais à mes engagements.*

## قسم الصيدلي

بسم الله الرحمن الرحيم

### أقسم بالله العظيم

- ◀ أن أراقب الله في مهنتي
- ◀ أن أبجل أساتذتي الذين تعلمت على أيديهم مبادئ مهنتي وأعترف لهم بالجميل وأبقى دوما وفيا لتعاليمهم.
- ◀ أن أزاول مهنتي بوازع من ضميري لما فيه صالح الصحة العمومية، وأن لا أقصر أبدا في مسؤوليتي وواجباتي تجاه المريض وكرامته الإنسانية.
- ◀ أن ألتزم أثناء ممارستي للصيدلة بالقوانين المعمول بها وبأدب السلوك والشرف، وكذا بالاستقامة والترفع.
- ◀ أن لا أفشي الأسرار التي قد تعهد إلى أو التي قد أطلع عليها أثناء القيام بمهامي، وأن لا أوافق على استعمال معلوماتي لإفساد الأخلاق أو تشجيع الأعمال الإجرامية.
- ◀ لأحضى بتقدير الناس إن أنا تقيدت بعهودي، أو أحتقر من طرف زملائي إن أنا لم أف بالتزاماتي.

"والله على ما أقول شهيد"

جامعة محمد الخامس  
كلية الطب والصيدلة بالرباط

أطروحة رقم: 92

سنة: 2011

## المقاومة للكربابينيم: الآليات والرهانات

### أطروحة

قدمت ونوقشت علانية يوم: .....

من طرف

السيد: عبد العالي إرزقي  
الرداد في: 01 يناير 1984 بـمـفـرـو

لنيل شهادة الدكتوراه في الصيدلة

الكلمات الأساسية: الكربابينيم - الكربابينيماز - الكثف - الكربابينيماز من نوع KPC - الأتريمات القلزية.

تحت إشراف اللجنة المكونة من الأساتذة

رئيس

مشرف

أعضاء

السيد: ميمون الزهدي

أستاذ في علم الأحياء الدقيقة

السيدة: ساكينة الحمزاوي

أستاذة في علم الأحياء الدقيقة

السيدة: سعيدة طلال

أستاذة في الكيمياء الإحيائية

السيدة: نزهة السعودي

أستاذة مبرزة في علم الدم