

UNIVERSITE DE ROUEN
UFR DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 2015

N°

THESE

Pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 3 mars 2015

Par Anaïs SOARES

Née le 11 mars 1988 à Versailles

**Sensibilité de 291 souches de *Escherichia coli* urinaires à
l'amoxicilline-acide clavulanique :
quels résultats pour quelles méthodes ?**

Directeur : Madame le Docteur Sophie BOYER

Co-directeur : Madame le Professeur Martine PESTEL-CARON

Président du jury : Madame le Professeur Martine PESTEL-CARON

Membres du jury : Madame le Docteur Sophie BOYER
Monsieur le Professeur François CARON
Madame le Professeur Marie-Hélène NICOLAS-CHANOINE

« L'Université de Rouen et l'UFR de Médecine et Pharmacie de Rouen n'entendent donner aucune approbation ni improbation aux opinions émises dans cette thèse. Ces opinions sont propres à leurs auteurs. »

ANNEE UNIVERSITAIRE 2014 - 2015
U.F.R. DE MEDECINE ET DE-PHARMACIE DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Pierre FREGER**

ASSESEURS : **Professeur Michel GUERBET**
Professeur Benoit VEBER
Professeur Pascal JOLY
Professeur Stéphane MARRET

I - MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Bruno BACHY (<i>surnombre</i>)	HCN	Chirurgie pédiatrique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Jean-Paul BESSOU	HCN	Chirurgie thoracique et cardio-vasculaire
Mme Françoise BEURET-BLANQUART (<i>surnombre</i>)	HCN	Commission E.P.P. D.P.C. Pôle Qualité
Mr Guy BONMARCHAND (<i>surnombre</i>)	HCN	Réanimation médicale
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mr Jean-François CAILLARD (<i>surnombre</i>)	HCN	Médecine et santé au travail
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Pierre CZERNICHOW	HCH	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition

Mme Danièle DEHESDIN (<i>surnombre</i>)	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Frédéric DI FIORE	CB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CB	Radiothérapie
Mr Philippe DUCROTTE	HCN	Hépto-gastro-entérologie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
Mr Michel GODIN (<i>surnombre</i>)	HB	Néphrologie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Philippe GRISE (<i>surnombre</i>)	HCN	Urologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Didier HANNEQUIN	HCN	Neurologie
Mr Fabrice JARDIN	CB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato - Vénérologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Xavier LE LOET	HCN	Rhumatologie
Mr Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
Mr Eric LEREBOURS	HCN	Nutrition
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HB	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
Mr Bertrand MACE	HCN	Histologie, embryologie, cytogénétique
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie

Mme Isabelle MARIE	HB	Médecine interne
Mr Jean-Paul MARIE	HCN	Oto-rhino-laryngologie
Mr Loïc MARPEAU	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Stéphane MARRET	HCN	Pédiatrie
Mme Véronique MERLE	HCN	Epidémiologie
Mr Pierre MICHEL	HCN	Hépatogastro-entérologie
Mr Bruno MIHOUT (<i>surnombre</i>)	HCN	Neurologie
Mr Jean-François MUIR	HB	Pneumologie
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
Mr Philippe MUSETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Jean-Marc PERON (<i>surnombre</i>)	HCN	Stomatologie et chirurgie maxillo-faciale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
Mr François PROUST	HCN	Neurochirurgie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Horace ROMAN	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie - Pathologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépatogastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Christian THUILLEZ	HB	Pharmacologie
Mr Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre VANNIER	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	CRMPR	Médecine physique et de réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HB	Rhumatologie
Mr Jacques WEBER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mr Jeremy BELLIEN	HCN	Pharmacologie
Mme Carole BRASSE LAGNEL	HCN	Biochimie
Mme Valérie BRIDOUX HUYBRECHTS	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Gérard BUCHONNET	HCN	Hématologie
Mme Mireille CASTANET	HCN	Pédiatrie
Mme Nathalie CHASTAN	HCN	Physiologie
Mme Sophie CLAEYSENS	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Stéphanie DERREY	HCN	Neurochirurgie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
Mr Thomas MOUREZ	HCN	Bactériologie
Mr Jean-François MENARD	HCN	Biophysique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr Olivier TROST	HCN	Chirurgie Maxillo Faciale

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mme Dominique LANIEZ	UFR	Anglais
Mr Thierry WABLE	UFR	Communication

II - PHARMACIE

PROFESSEURS

Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacologie
Mr Roland CAPRON (PU-PH)	Biophysique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE	Toxicologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mme Isabelle LEROUX - NICOLLET	Physiologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEUIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mme Dominique BOUCHER	Pharmacologie
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mr Jean CHASTANG	Biomathématiques
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mr Eric DITTMAR	Biophysique
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mr Abdelhakim ELOMRI	Pharmacognosie

Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Najla GHARBI	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
Mr Hervé HUE	Biophysique et mathématiques
Mme Laetitia LE GOFF	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mr Jean-François HOUIVET	Pharmacie officinale

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde GUERIN	Anglais
----------------------------	---------

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mr Jérémie MARTINET	Immunologie
----------------------------	-------------

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mr Romy RAZAKANDRAINIBE	Parasitologie
Mr François HALLOUARD	Galénique
Mme Caroline LAUGEL	Chimie organique
Mr Souleymane ABDOUL-AZIZ	Biochimie
Mme Maïté NIEPCERON	Microbiologie

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Roland CAPRON	Biophysique
Mr Jean CHASTANG	Mathématiques
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mr Jean-Jacques BONNET	Pharmacodynamie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mr Michel GUERBET	Toxicologie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mme Isabelle LEROUX-NICOLLET	Physiologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mme Elisabeth SEGUIN	Pharmacognosie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR

Mr Jean-Loup **HERMIL** UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale

Mr Alain **MERCIER** UFR Médecine générale

Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

Mme Marie Thérèse **THUEUX** UFR Médecine générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

Mr Serguei FETISSOV (med)	Physiologie (ADEN)
Mr Paul MULDER (phar)	Sciences du Médicament
Mme Su RUAN (med)	Génie Informatique

MAITRES DE CONFERENCES

Mr Sahil ADRIOUCH (med)	Biochimie et biologie moléculaire (Unité Inserm 905)
Mme Gaëlle BOUGEARD-DENOYELLE (med)	Biochimie et biologie moléculaire (UMR 1079)
Mme Carine CLEREN (phar)	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline GAILDRAT (phar)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (phar)	Chirurgie Expérimentale
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Isabelle TOURNIER (phar)	Biochimie (UMR 1079)

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Becquerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

SJ – Saint Julien Rouen

A madame le Professeur Martine Pastel-Caron,

Vous me faites l'honneur de présider cette thèse.

Veillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude pour la qualité de votre enseignement, votre disponibilité, votre curiosité que vous avez su me transmettre et le soutien dont vous avez toujours fait preuve à mon égard.

Trouvez ici l'expression de mon profond respect.

A monsieur le Professeur François Caron,

Vous me faites l'honneur de juger ce travail.

Veillez trouver ici le témoignage de mes sincères remerciements pour votre enseignement et votre rigueur.

A madame le Professeur Marie-Hélène Nicolas-Chanoine,

Vous me faites l'honneur de juger cette thèse.

Veillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude pour l'intérêt que vous portez à ce travail.

A madame le Docteur Sophie Boyer,

Merci d'avoir accepté d'encadrer ce travail.

Trouvez ici le témoignage de mes sincères remerciements pour votre soutien tout au long de ce travail, vos critiques constructives, votre rigueur.

Merci pour les longues heures de « brainstorming » à compter, recompter et classer toutes ces souches !

Trouvez ici l'expression de ma profonde reconnaissance.

A monsieur le Docteur Ludovic Lemée,

Merci pour ta disponibilité, ta patience au quotidien, tes précieux conseils, ton énergie et ton enthousiasme. C'est un honneur de travailler à tes côtés. Merci de m'avoir transmis ta passion pour la bactériologie !

Trouve ici le témoignage de ma profonde admiration.

Aux bactériologistes, le Docteur Noëlle Frebourg, le Docteur Soumaya Skalli, le Docteur Sandrine Dahyot et le Docteur Elodie Blondel,

Au plaisir de travailler à vos côtés. Merci pour votre gentillesse et votre humanité.

Au Docteur Manuel Etienne et au Docteur Elise Fiaux,

Merci de me faire confiance pour mener à bien vos projets et de m'encourager à aller de l'avant chaque jour un peu plus !

Merci à **Gaëtan et Benoît** pour l'aide technique et à **Quentin** pour ses conseils statistiques.

Et surtout :

A mes parents,

Merci pour les valeurs que vous m'avez transmises. Vous m'avez porté en toutes circonstances. Je n'aurais pu rêver avoir de meilleurs parents, je vous dois tout.
Je vous aime.

A ma sœur, Morgane,

Merci de m'accepter et de m'aimer telle que je suis. Tu es une sœur formidable, je ne serais rien sans toi. Love.

A Tata, Thierry, Nico et Guigui,

Merci pour tout l'amour que vous me donnez et toutes les attentions dont vous faites preuves à mon égard. Vous êtes si importants pour moi.

A ma mamie,

La plus forte des mamies, je suis si heureuse de te compter parmi nous aujourd'hui.

A ma famille...Papi et Mamie, Patou et Yves, Marie et Gégé, Jean-Marc.

A Marie-Anne, Jacques, Agnès,

Vous m'honorez de votre présence en ce jour.
Merci pour votre bienveillance depuis mon plus jeune âge ! Merci infiniment !

A Juju et Edouard,

Mes amis fidèles depuis toutes ces années, à Rouen, Paris et ailleurs.
Vous êtes indispensables à ma vie !

A Elsa, bien plus qu'une co-interne...

Merci d'avoir partagé mes joies, mes peines, mes rêves, mes rires, mes larmes, mes espoirs...Tu n'as jamais failli, tu es mon pilier, merci pour ton amitié sincère.

A Juliette et au trio que nous formons avec Elsa depuis le début de l'internat,

A tous les moments partagés....que tout cela continue ici et ailleurs !!!

A Jovani... un grand cœur sous un tas de muscles !

A Céline, Rayan, Yoann, Aurélien, Charline,

De belles amitiés créées au fil de l'internat.

**A tous mes co-internes croisés pendant ces quatre années, déjà chefs pour certains,
sur la bonne voie pour d'autres.**

A ma garde rapprochée, mes fraises tagada, Laure, Chloé, Manon, Lucie,

La vie à Rouen est à la fois fun et douce à vos côtés...you rock girls !!! Kiss Kiss Love

A tous mes amis,

A mes côtés depuis l'enfance pour certains, rencontrés sur un court de tennis, au sommet du Toubkal, à l'Institut Pasteur ou encore au hasard de la vie pour d'autres :

Luc, Léo, David, Loulou, Pascale, Marie, P'tit poulet, Jess, Amande, Séverine et Nico,
Elodie, Gaëlle, Adèle, Benoît, Marion, Sarah, Sébastien, Soraya....

Vous avez chacun contribué à votre façon à ce que je suis aujourd'hui, merci !

A tous les techniciens du laboratoire de bactériologie,

Pour votre disponibilité, votre rigueur et votre gentillesse.

J'ai énormément appris à vos côtés.

Des remerciements tous particuliers à Lucie pour sa bonne humeur, à la « petite » Nathalie pour son sourire, à Christine pour son dévouement, à Danièle pour sa gentillesse inégalable...!! Un immense merci à tous.

A Flo, Mathieu, Arnaud, Marina, Eléonore entre autres...vous m'avez toujours bien accueilli et accompagné dans mon parcours, merci.

**A tous les chefs qui m'ont appris tant de choses et encouragé tout au long de mon
internat,**

Tout particulièrement Soumeya Bekri, Gilles Gargala, Muriel Quillard.

« Savoir s'étonner à propos est le premier pas fait sur la route de la découverte. »

Louis Pasteur

SOMMAIRE

INTRODUCTION	1
I. Différentes méthodes de détermination de la sensibilité aux antibiotiques et principales discordances déjà connues	2
1. Méthodes de détermination de la CMI	2
1.1 CMI par microdilution manuelle en milieu liquide.....	2
1.2 CMI en milieu gélosé par méthode Etest®	2
2. La technique d'antibiogramme.....	3
2.1 Antibiogramme par dilution en milieu liquide : l'automate Phoenix.....	3
2.2 Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé ou méthode des disques.....	4
3. Principales discordances déjà décrites entre les différentes techniques de détermination de la sensibilité aux antibiotiques	5
II. <i>E. coli</i> et infection urinaire (IU)	6
1. Premier germe responsable d'IU communautaires ou nosocomiales	6
2. Activité de l'association amoxicilline-acide clavulanique vis-à-vis de <i>E. coli</i>	7
3. Mécanismes de résistance de <i>E. coli</i> à l'AMC	10
4. Place de l'AMC dans la prise en charge des IU	12
BUTS DE L'ETUDE	16
MATERIEL ET METHODES	17
I. Matériel	17
II. Méthodes	17
1. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques.....	17
2. Analyse des résultats	18
RESULTATS.....	21
I. Sensibilité des souches de <i>E. coli</i> à l'AMC en fonction de la méthode utilisée	21
1. Sensibilité à l'AMC par la microdilution sur automate Phoenix.....	21
2. Sensibilité à l'AMC par Etest®.....	22
3. Sensibilité à l'AMC par la méthode des disques	23
4. Sensibilité à l'AMC par microdilution manuelle en milieu liquide.....	24
II. Comparaison des trois techniques de détermination de la CMI	26
1. Automate Phoenix <i>versus</i> Etest®	26
2. Automate Phoenix <i>versus</i> microdilution manuelle.....	27
3. Etest® <i>versus</i> microdilution manuelle	28

III. Comparaison des trois méthodes de détermination de la CMI à la méthode des disques.....	30
1. Méthode des disques <i>versus</i> automate Phoenix.....	30
2. Méthode des disques <i>versus</i> Etest®	31
3. Méthode des disques <i>versus</i> microdilution manuelle	32
IV. CA-SFM 2014.....	35
1. Impact des diamètres critiques 2014	35
2. Impact des concentrations critiques 2014.....	38
V. Résultats obtenus pour les souches de <i>E. coli</i> BLSE.....	40
1. Catégorisation 2013.....	40
2. Catégorisation 2014.....	43
DISCUSSION	44
CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES.....	53
BIBLIOGRAPHIE	54

Figures

Figure 1 : Distribution des principaux micro-organismes isolés (n=4737) des IU documentées au plan microbiologique (n=4295). ENP des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, juin 2012

Figure 2 : Pourcentages des souches de *E. coli* invasives résistantes aux C3G en Europe en 2011 (EARSS)

Figure 3 : Densité d'incidence des EBLSE et des SARM pour 1000 journées d'hospitalisation, Réseau BMR-Raisin, résultats 2012

Figure 4 : Répartition par espèce bactérienne au sein des EBLSE, Réseau BMR-Raisin, résultats 2011

Figure 5 : Algorithme de l'antibiothérapie de la cystite à risque de complication (Diagnostic et antibiothérapie des IU bactériennes de l'adulte, SPILF 2014)

Figure 6 : Algorithme de la prise en charge d'une pyélonéphrite aigüe sans signe de gravité (Diagnostic et antibiothérapie des IU bactériennes de l'adulte, SPILF 2014)

Figure 7 : Distribution des CMI AMC (en mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) déterminées par automate Phoenix avec distinction des souches S AMX (n=129), I AMX (n=7) et R AMX (n=155)

Figure 8 : Distribution des CMI AMC (en mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) déterminées par Etest®

Figure 9 : Répartition des souches de *E. coli* (n=291) en fonction de leur diamètre à l'AMC (diamètre exprimé en mm) avec distinction des souches S AMX (n=129), I AMX (n=7) et R AMX (n=155)

Figure 10 : Distribution des CMI AMC (en mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par microdilution manuelle en milieu liquide

Figure 11 : CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par automate Phoenix comparées aux CMI AMC obtenues par Etest® et concordance, ME, mE

Figure 12 : CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par automate Phoenix comparées aux CMI AMC obtenues par microdilution manuelle en milieu liquide et concordance, ME, mE

Figure 13 : CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par méthode Etest® comparées aux CMI AMC obtenues par microdilution manuelle en milieu liquide et concordance, VME, ME, mE

Figure 14 : Répartition de la sensibilité des souches de *E. coli* testées vis-à-vis de l'AMC selon les trois méthodes : Phoenix, Etest® et microdilution manuelle en milieu liquide

Figure 15 : Diamètres d'inhibition de l'AMC comparés aux CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par automate Phoenix et concordance, VME, ME, mE

Figure 16 : Diamètres d'inhibition de l'AMC comparés aux CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par Etest® et concordance, ME, mE

Figure 17 : Diamètres d'inhibition de l'AMC comparés aux CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par microdilution manuelle et concordance, VME, ME, mE

Figure 18 : Répartition de la sensibilité des souches de *E. coli* vis-à-vis de l'AMC (n=291) selon les quatre méthodes utilisées

Figure 19 : Distribution des diamètres d'inhibition de l'AMC des souches de *E. coli* résistantes par microdilution manuelle (n=110)

Figure 20 : Courbe ROC appliquée à la méthode des disques en tenant compte des concentrations critiques CA-SFM/EUCAST 2014 hors cystites et en prenant comme méthode de comparaison la microdilution manuelle

Figure 21 : Courbe ROC appliquée à la méthode des disques en tenant compte des concentrations critiques CA-SFM/EUCAST 2014 cystites et en prenant comme méthode de comparaison la microdilution manuelle

Figure 22 : CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* BLSE (n=16) par microdilution manuelle

Figure 23 : Répartition de la sensibilité des souches de *E. coli* BLSE à l'AMC (n=16) selon les quatre méthodes utilisées

Figure 24 : CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* BLSE (n=16) par microdilution manuelle. Interprétation selon les critères CA-SFM/EUCAST 2014.

Figure 25 : Proposition de nouveaux diamètres critiques

Tableaux

Tableau I : Recommandations CA-SFM 2013 et CA-SFM/EUCAST 2014 pour les entérobactéries vis-à-vis de l'AMC

Tableau II : Classement de la concordance selon le coefficient de Kappa (K)

Tableau III : CMI₅₀ AMC (mg/l) et CMI₉₀ AMC (mg/l) mesurées par Etest® et par dilution automatisée en milieu liquide (Phoenix)

Tableau IV : CMI₅₀ AMC (mg/l) et CMI₉₀ AMC (mg/l) mesurées par Etest®, par dilution automatisée en milieu liquide (Phoenix) et par microdilution manuelle

Tableau V : Concordances, discordances et coefficients de Kappa (K) exprimés pour chacune des techniques, en comparaison avec la technique de microdilution manuelle. Résultats obtenus pour les souches de *E. coli* testées.

Tableau VI : Pourcentages de souches de *E. coli* sensibles à l'AMC selon les concentrations et diamètres critiques établis par le CA-SFM 2013 et par le CA-SFM/EUCAST 2014

Tableau VII : Concordances des techniques avec la microdilution manuelle

Tableau VIII : Discordances très majeures en comparaison avec la microdilution manuelle

Tableau IX : Concordances, discordances très majeures, majeures et mineures des différentes techniques de détermination de la sensibilité avec la microdilution manuelle pour les souches de *E. coli* BLSE (n=16). Résultats exprimés en pourcentage.

Abréviations

AMC : amoxicilline-acide clavulanique

AMX : amoxicilline

ARESC : Antimicrobial Resistance Epidemiological Survey on Cystitis

BLSE : bêta-lactamase à spectre étendu

BMR : bactérie multirésistante

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

CHU : centre hospitalier universitaire

CMI : concentration minimale inhibitrice

C3G : céphalosporine de troisième génération

EARSS : European Antimicrobial Resistance Surveillance System

EBLSE : entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu

ECBU : examen cytobactériologique des urines

E. coli : *Escherichia coli*

ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control

ENP : enquête nationale de prévalence

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FDA : Food and Drug Administration

HAS : Haute Autorité de Santé

IU : infections urinaires

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

PNA : pyélonéphrite aiguë

RICAI : Réunion de Chimiothérapie Anti-Infectieuse

RCP : résumé des caractéristiques du produit

SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline

SPILF : Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française

S. saprophyticus : *Staphylococcus saprophyticus*

TRI : TEM résistantes aux inhibiteurs

UFC : unité formant colonie

INTRODUCTION

Escherichia coli, principal pathogène isolé chez l'homme, est une espèce bactérienne qui appartient à la famille des *Enterobacteriaceae*. Elle est fréquemment responsable d'infections urinaires (IU), d'infections intra-abdominales mais aussi d'infections maternofoétales, de bactériémies (1). Cette espèce est naturellement sensible aux bêta-lactamines, mais peut acquérir des résistances en raison notamment de la pression de sélection aux antibiotiques.

La prise en charge des IU se révèle parfois être un défi pour le clinicien. La physiopathologie, l'épidémiologie locale et les résistances aux antibiotiques, la pharmacocinétique et la pharmacodynamie des antibiotiques sont autant de données à prendre en compte avant la mise en place d'une antibiothérapie. Face à l'augmentation des résistances (2)(3), la place de certaines molécules est réévaluée, c'est le cas notamment de l'association amoxicilline-acide clavulanique (AMC).

Le laboratoire de Bactériologie joue un rôle primordial dans l'analyse des examens cyto bactériologiques des urines (ECBU), notamment par la réalisation d'un antibiogramme qui permet d'adapter l'antibiothérapie. Cette dernière décennie, l'arrivée de systèmes semi-automatisés pour déterminer la sensibilité aux antibiotiques a modifié les pratiques de laboratoire répondant à une augmentation constante de la charge de travail et à des exigences en termes d'assurance qualité.

Par ailleurs, une antibiothérapie ciblée est recommandée par les comités d'experts, et prise en compte aussi bien par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) que par l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST).

Il nous a paru intéressant de confronter les différentes techniques de détermination de la sensibilité à l'AMC dans le cas d'IU à *E. coli* et de les analyser au regard des différentes recommandations de sociétés savantes.

I. Différentes méthodes de détermination de la sensibilité aux antibiotiques et principales discordances déjà connues

La sensibilité aux antibiotiques peut être déterminée au laboratoire de bactériologie selon différentes techniques (4). On distingue principalement des techniques en milieu liquide ou en milieu solide permettant la mesure de la concentration minimale inhibitrice (CMI) aux antibiotiques de la bactérie ou son évaluation indirecte par la mesure des diamètres d'inhibition.

1. Méthodes de détermination de la CMI

1.1 CMI par microdilution manuelle en milieu liquide

La microdilution manuelle en milieu liquide est la technique de référence pour déterminer la CMI aux antibiotiques de souches bactériennes.

Cette technique repose sur la mise en culture d'un inoculum bactérien standardisé (1 à 5.10^5 UFC/ml) en présence de séries de dilutions d'antibiotiques de raison 2. Les plaques de microdilution contiennent 96 puits et permettent de tester 8 concentrations croissantes d'antibiotiques différentes. Après 18 à 24 heures d'incubation, la lecture des résultats se fait par une évaluation visuelle de la turbidité des différents puits de la microplaque. Ainsi, cette technique fournit des résultats quantitatifs. La CMI correspond à la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe toute croissance visible de la bactérie, c'est-à-dire qu'aucun trouble n'est visible dans le puits correspondant à cette valeur. La valeur obtenue est comparée aux concentrations critiques établies par le CA-SFM. Si la CMI est inférieure à la concentration critique basse, la souche est dite sensible vis-à-vis de l'antibiotique testé, tandis que si la CMI est supérieure à la concentration critique haute, la souche est résistante. Entre ces deux valeurs, la souche est dite intermédiaire.

La microdilution manuelle permet d'obtenir des valeurs précises de CMI. Cependant c'est une technique longue à réaliser et qui comporte de nombreux risques d'erreurs, c'est pourquoi elle n'est mise en œuvre que dans certains laboratoires experts.

1.2 CMI en milieu gélosé par méthode Etest®

Le Etest® est une technique de diffusion d'un gradient de concentration d'un antibiotique donné en milieu gélosé qui fournit des valeurs de CMI vis-à-vis d'une souche bactérienne. Cette méthode de détermination de la sensibilité antimicrobienne a été approuvée pour différents antibiotiques vis-à-vis de nombreuses espèces bactériennes (5).

Elle consiste en l'application d'une bandelette de nitrocellulose imprégnée de concentrations croissantes d'un antibiotique sur un inoculum bactérien standardisé. Après 24 heures d'incubation, la CMI se lit à l'intersection entre la bandelette et la zone d'ellipse d'inhibition de la culture. Cette technique est réalisable au quotidien au laboratoire de bactériologie. Elle trouve son intérêt lorsque l'adaptation du traitement du patient nécessite une valeur « précise » de CMI.

Le Etest® est une technique moins contraignante à réaliser que la technique de microdilution manuelle permettant un contrôle visuel de l'inoculum bactérien. Au maximum quatre antibiotiques sont testés simultanément par cette technique sur une même gélose.

2. La technique d'antibiogramme

L'antibiogramme consiste en la détermination de la sensibilité d'une bactérie aux antibiotiques. Il peut s'effectuer par des méthodes en milieu liquide ou solide.

2.1 Antibiogramme par dilution en milieu liquide : l'automate Phoenix

La détermination de la sensibilité antimicrobienne par dilution en milieu liquide automatisée répond à des exigences de la biologie actuelle : productivité et assurance qualité entre autres. Cette technique de microdilution semi-automatisée est basée sur l'utilisation de galeries contenant des concentrations croissantes de plusieurs antibiotiques. Après incubation en présence d'un inoculum bactérien standardisé, la lecture se fait par turbidimétrie. Des galeries ont été établies par les fournisseurs en fonction du germe testé. Les panels d'antibiotiques mis en place répondent aux recommandations établies par les comités d'experts.

Par ailleurs, la dilution automatisée en milieu liquide permet d'obtenir des valeurs chiffrées de CMI. Certains systèmes automatisés mesurent des CMI vraies (BD Phoenix) ce qui permet de se rapprocher de la technique de référence tandis que d'autres automates (VITEK 2 bioMérieux, autoSCAN et WalkAway Dade-Behring) calculent les CMI à partir d'un algorithme appliqué à la croissance (4).

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques par les systèmes semi-automatisés répond à des évolutions nécessaires face à une charge de travail croissante et des attentes en termes de traçabilité et de reproductibilité. Ces systèmes constituent un gain de temps pour le laboratoire notamment par leur simplicité d'utilisation. De plus, ils possèdent des règles

d'expertise (6) facilitant l'interprétation de l'antibiogramme même si l'expertise du biologiste reste indispensable pour valider les différents phénotypes de résistance.

Par ailleurs, la lecture des valeurs de CMI est automatisée ce qui évite la subjectivité d'un opérateur. L'utilisation de réactifs standardisés et stables facilitent la gestion de la technique d'antibiogramme semi-automatisée. Néanmoins, l'absence de contrôle visuel est le principal inconvénient. Il n'est pas possible de contrôler l'inoculum bactérien avec cette méthode lorsque celui-ci est mal calibré ou plurimicrobien, ce qui peut entraîner des erreurs dans les phénotypes de résistance. Egalement, il n'est pas possible de visualiser certains antagonismes ou synergies spécifiques à certains mécanismes de résistance. Ainsi, le profil de résistance obtenu à l'aide de ces systèmes semi-automatisés d'antibiogramme doit faire l'objet d'une analyse biologique attentive et être contrôlé par la méthode des disques en cas de phénotype de résistance inattendu.

Enfin, les panels d'antibiotiques testés ont été établis par les fournisseurs selon les recommandations des comités d'experts et sont fixes. Il n'est pas possible avec ces systèmes semi-automatisés d'ajouter un antibiotique donné à la galerie initiale pour tester sa sensibilité vis-à-vis de la bactérie identifiée. Il faudra pour cela faire appel à la méthode des disques ou aux bandelettes Etest® pour compléter l'antibiogramme « standard ».

2.2 Antibiogramme par diffusion en milieu gélosé ou méthode des disques

La technique de diffusion en milieu gélosé, plus couramment appelée la méthode des disques, est une technique manuelle. Elle est réalisée selon une méthodologie décrite par le CA-SFM. Un milieu défini (milieu Mueller-Hinton) et un inoculum standardisé sont nécessaires à la réalisation de cette technique. Chaque disque d'antibiotique contient une concentration fixe et il est possible de déposer jusqu'à seize disques par gélose Mueller-Hinton. Durant la phase d'incubation, il s'établit un gradient d'antibiotique décroissant autour du disque en présence de la culture bactérienne. Il apparaît ainsi une zone d'inhibition de la culture autour du disque, ce qui permet de mesurer des diamètres d'inhibition pour chaque antibiotique testé.

La mesure des diamètres d'inhibition permet de déterminer le caractère sensible, intermédiaire ou résistant de la souche bactérienne vis-à-vis de la molécule. Il suffit pour cela de comparer le diamètre d'inhibition mesuré aux diamètres critiques établis par les comités d'experts. Le diamètre obtenu est comparé aux diamètres critiques établis par le CA-SFM. Si le diamètre est supérieur au diamètre correspondant à la concentration critique basse, la souche est sensible vis-à-vis de l'antibiotique testé, tandis que si le

diamètre est inférieur au diamètre correspondant à la concentration critique haute, la souche est catégorisée résistante. Entre ces deux valeurs, la souche est dite intermédiaire.

La technique des disques fournit des données qualitatives avec la catégorisation des souches mais ne permet pas d'obtenir la CMI d'un antibiotique vis-à-vis d'une bactérie donnée. Pour certaines molécules et/ou certaines espèces bactériennes en particulier, cette technique ne peut être appliquée pour déterminer la sensibilité antimicrobienne et une autre méthode devra être mise en œuvre (7). C'est le cas par exemple de la détermination de la sensibilité des bacilles à Gram négatif vis-à-vis de la colistine (8).

La méthode des disques présente néanmoins des avantages. En effet, c'est une technique simple, qui nécessite peu de matériel et qui permet de tester simultanément jusqu'à seize antibiotiques par gélose Mueller-Hinton. Le coût associé à cette méthode est faible. La flexibilité de la technique est également intéressante puisqu'elle permet d'ajouter un ou plusieurs antibiotiques au panel d'antibiotiques habituellement testés pour s'adapter au mieux à la prise en charge du patient. Cette méthode reste une technique manuelle et l'automatisation des différentes étapes n'est pas encore très développée. La méthode des disques est largement utilisée au sein des laboratoires de bactériologie pour déterminer les phénotypes de résistance aux antibiotiques des souches isolées de prélèvements d'intérêt.

3. Principales discordances déjà décrites entre les différentes techniques de détermination de la sensibilité aux antibiotiques

Des comparaisons entre les différentes méthodes de détermination de la sensibilité de souches d'entérobactéries et plus particulièrement de *E. coli* vis-à-vis des bêta-lactamines (notamment l'AMC) ont déjà permis de relever des discordances (9)(10).

Le système Phoenix a fait l'objet d'études comparatives concernant les identifications et la détermination de la sensibilité aux antibiotiques, notamment pour les entérobactéries. Les résultats de la sensibilité des entérobactéries aux différents antibiotiques testés par le système Phoenix montrent des résultats satisfaisants et majoritairement en accord avec ceux obtenus par la méthode des disques. La catégorisation, c'est-à-dire la détermination du caractère sensible, intermédiaire ou résistant des souches d'entérobactérie par la méthode de dilution automatisée en milieu liquide, coïncide avec celle obtenue par la méthode des disques pour l'ensemble des molécules testées dans plus de 91% des cas (10). Cependant, ces résultats peuvent varier si l'on s'intéresse à une espèce d'entérobactérie en particulier (notamment *E. coli*) et à un antibiotique testé précisément. En effet, la catégorisation correcte par l'automate Phoenix

des souches de *E. coli* vis-à-vis de l'AMC est de 81%. Le taux d'erreurs mineures dans cette étude (c'est à dire la catégorisation intermédiaire de la souche par une méthode alors que la technique comparative classe la souche comme sensible ou résistante à l'antibiotique testé) est de 19%. Un fort taux d'erreurs mineures est également décrit pour la céfalotine et les souches de *E. coli* (9). Dans cette étude, c'est la méthode des disques qui est utilisée comme méthode comparative pour valider les résultats obtenus par le système Phoenix (9)(10). Or, cette technique dépend de nombreux paramètres pouvant varier tels que l'inoculum bactérien et le temps d'incubation. De plus, il ne s'agit pas de la technique de référence pour la détermination de la sensibilité antimicrobienne.

Par ailleurs, dans l'étude de Ferjani et al. (11), la sensibilité à l'AMC de souches de *E. coli* isolées de prélèvements urinaires varie selon la technique utilisée. Pour des souches résistantes à l'amoxicilline (AMX) et sensibles à l'AMC par la méthode des disques, plus de 60% d'entre elles apparaissent intermédiaires à l'AMC après détermination de la CMI par Etest® (11).

II. *E. coli* et infection urinaire (IU)

1. Premier germe responsable d'IU communautaires ou nosocomiales

Le terme IU regroupe à la fois les cystites aiguës, les pyélonéphrites aiguës (PNA) ainsi que les IU masculines (encore récemment appelées prostatites). L'épidémiologie des IU varie selon l'âge du sujet, la physiopathologie ou encore le caractère communautaire ou nosocomial de l'infection. En cas d'IU communautaire, *E. coli* est la bactérie uropathogène la plus fréquemment isolée des ECBU (70-95%) (12). D'autres entérobactéries telles que *Klebsiella spp.* ou *Proteus spp.*, et d'autres germes comme *Enterococcus spp.*, *Staphylococcus saprophyticus* peuvent être responsables d'IU selon le terrain du patient (2). *S. saprophyticus* est majoritairement retrouvé dans les cystites aiguës simples de la femme jeune (15-30 ans) (13).

En milieu hospitalier, il est difficile d'établir précisément l'épidémiologie des IU en raison de grandes variations locales et de l'absence de réseaux pour recueillir ces informations. L'épidémiologie des services de médecine, de pédiatrie et de réanimation n'est pas comparable.

Selon l'enquête nationale de prévalence (ENP) des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé (France, mai-juin 2012) (14), la

bactérie majoritairement isolée reste *E. coli*, représentant près de la moitié des micro-organismes isolés (Figure 1). Sont ensuite retrouvés d'autres entérobactéries, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus spp* et *Staphylococcus aureus* (15).

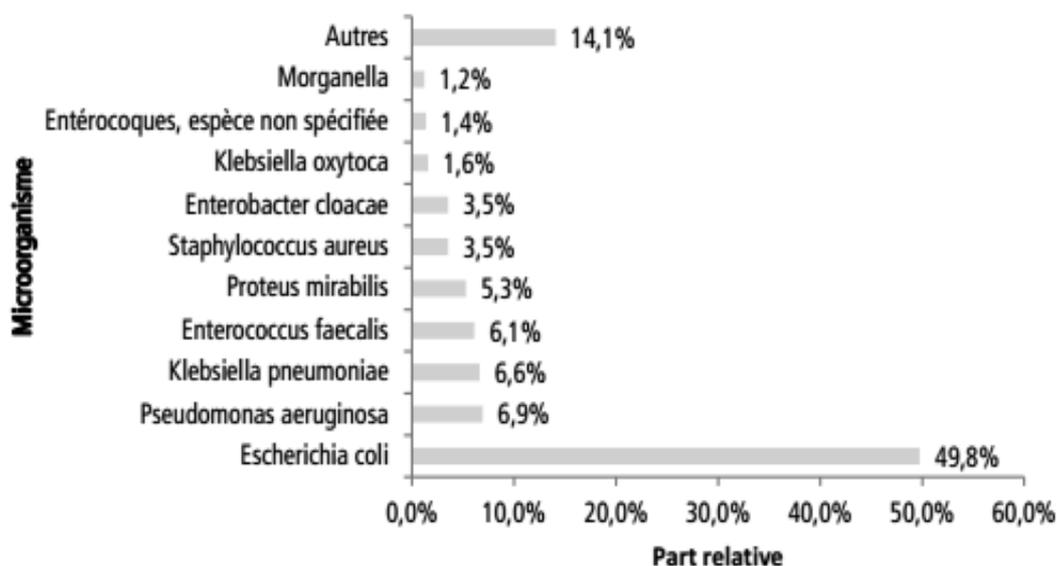


Figure 1 : Distribution des principaux micro-organismes isolés (n=4737) des IU documentées au plan microbiologique (n=4295). ENP des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, juin 2012

Par ailleurs, dans les unités de soins intensifs, la bactérie la plus fréquemment isolée en cas d'IU contractée au cours de l'hospitalisation est *E. coli* en 2011 (plus de 30% des isolats cliniques) selon le rapport de surveillance de l'European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) de 2012 (16).

2. Activité de l'association amoxicilline-acide clavulanique vis-à-vis de *E. coli*

E. coli est une espèce d'entérobactérie naturellement sensible aux aminopénicillines, carboxypénicillines, uréidopénicillines, aztréonam, céphalosporines et carbapénèmes (17). Les fluoroquinolones et les aminosides sont des antibiotiques efficaces sur les souches de *E. coli* sauvages. Néanmoins, la pression de sélection des antibiotiques a conduit à l'émergence de résistances acquises, notamment aux bêta-lactamines.

E. coli peut acquérir des résistances, notamment aux aminopénicillines comme l'AMX et l'ampicilline. Le taux de souches de *E. coli* non sensibles à l'ampicilline est variable selon les études, allant de 40% à 60% (11)(12)(13)(16)(18).

La résistance de *E. coli* aux céphalosporines de troisième génération (C3G), a augmenté dans presque tous les pays d'Europe ces dix dernières années d'après l'European

Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS). Le pourcentage de souches de *E. coli* résistantes aux C3G est variable selon les pays en 2011 (Figure 2). Il atteint 3% en Suède et jusqu'à 36% à Chypre. En France, 8,2% des souches de *E. coli* isolées d'hémocultures sont résistantes aux C3G en 2011 contre 3,8% en 2008 (19)(20). Cette résistance aux C3G est principalement due à la production de bêta-lactamase à spectre étendu (BLSE).



Figure 2 : Pourcentages des souches de *E. coli* invasives résistantes aux C3G en Europe en 2011 (EARSS)

Les entérobactéries productrices de BLSE (EBLSE) se sont largement répandues depuis les années 1980 (21). En France, l'incidence des EBLSE a très largement augmenté entre 2006 et 2012, atteignant ainsi une incidence de 0,53 pour 1000 jours d'hospitalisation et dépassant même depuis 2011 l'incidence des *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (SARM) (Figure 3).

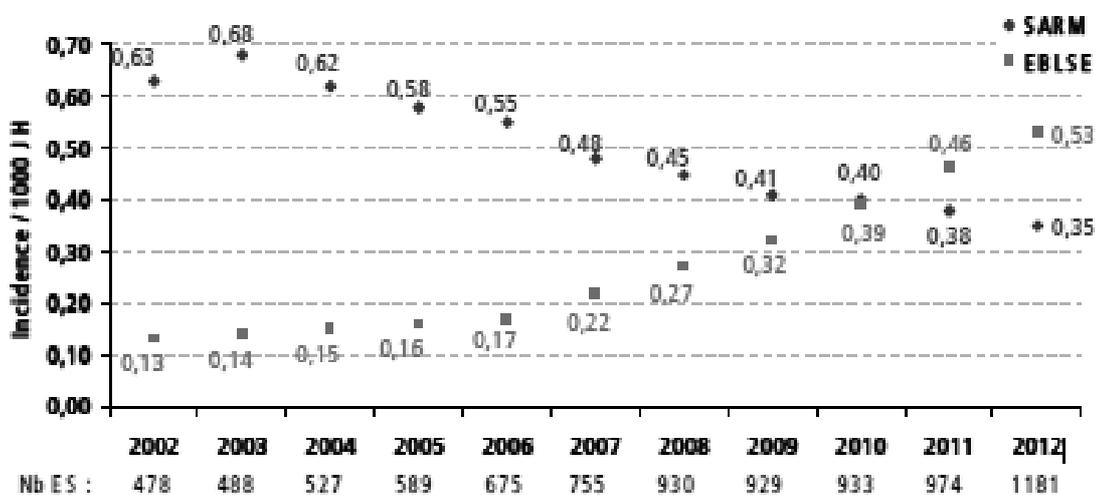


Figure 3 : Densité d'incidence des EBLSE et des SARM pour 1000 journées d'hospitalisation, Réseau BMR-Raisin, résultats 2012

En France, en 2011, *E. coli* représente près de 40% des espèces de EBLSE contre moins de 10% en 2005 (Figure 4).

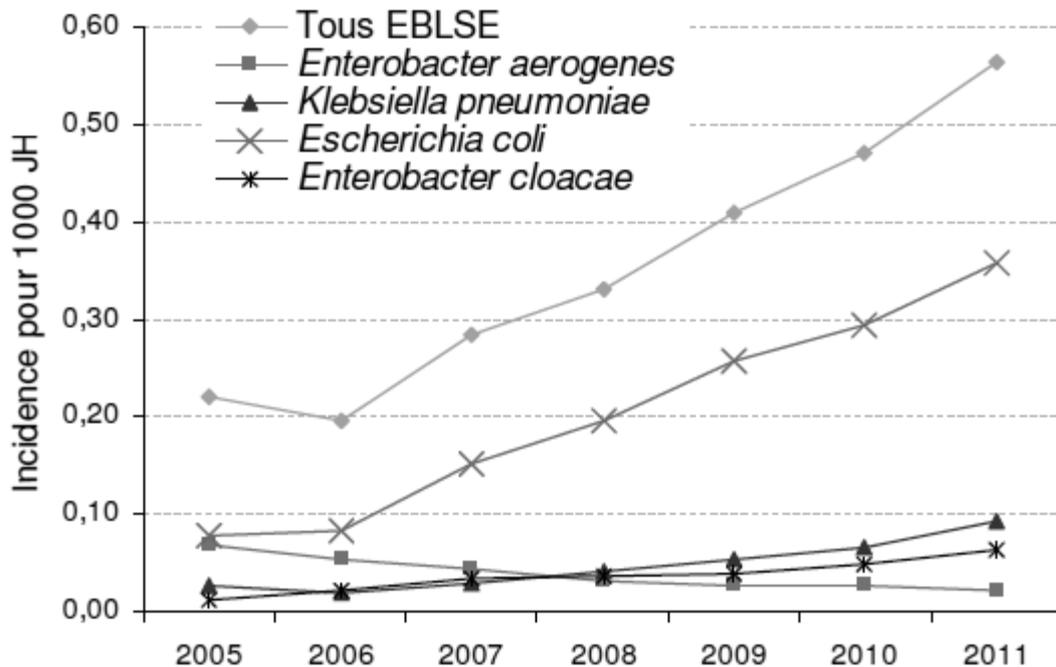


Figure 4 : Répartition par espèce bactérienne au sein des EBLSE, Réseau BMR-Raisin, résultats 2011

Les EBLSE, autrefois principalement isolées en milieu hospitalier, ont connu une diffusion communautaire importante depuis le début des années 2000 (22). En 2012, lors d'une enquête ONERBA dans 70 laboratoires de ville des 3 réseaux MEDQUAL, EPIVILLE et AFORCOPI-BIO, répartis sur 18 des 22 régions françaises, la prévalence des *E. coli* producteurs de BLSE dans les IU communautaires à *E. coli* était de 3,8% (23).

Les BLSE sont des enzymes qui sont capables d'hydrolyser les pénicillines, toutes les céphalosporines et l'aztréonam, mais elles épargnent les carbapénèmes et les céphamycines (céfoxitine, céfotétan). Leur activité est habituellement inhibée *in vitro* par l'acide clavulanique, un inhibiteur de bêta-lactamases (24)(25)(26)(27).

Actuellement, la majorité des souches des BLSE isolées chez *E. coli* sont de type céfotaximase (CTX-M). En effet, les enzymes de type CTX-M et plus particulièrement le variant CTX-M-15 connaissent une diffusion communautaire importante. Ce variant est notamment fréquemment mis en cause lors d'IU communautaires à *E. coli* BLSE (28).

Par ailleurs, l'association AMC semble rester active sur 40% des *E. coli* BLSE (29).

Avant les années 2000, la prévalence de la résistance de *E. coli* à l'AMC était évaluée à environ 16% pour des souches collectées d'ECBU dans une étude française (30). L'EARSS évalue la résistance à l'AMC pour les souches de *E. coli* isolées d'hémocultures à 55% en 2011 (16). La prévalence de la résistance de *E. coli* à l'AMC varie d'une étude à l'autre en fonction des méthodologies employées, du site concerné et du contexte de l'étude. Par exemple, en Espagne, la résistance de *E. coli* vis-à-vis de l'AMC en milieu hospitalier (tous types de sites) a été évaluée à 9,3% (31). Dans une autre étude (32) concernant des souches collectées en milieu hospitalier et en ville, le pourcentage de souches de *E. coli* non sensibles à l'AMC (c'est-à-dire à la fois les souches résistantes et intermédiaires) a été estimé à 4,3%.

Selon les réseaux nationaux AFORCOPI-BIO et MEDQUAL (réseaux travaillant principalement en collaboration avec les laboratoires de ville), le pourcentage de souches de *E. coli* de sensibilité diminuée à l'association AMC était respectivement de 28,9% et de 32,6% en 2011. S'il est difficile d'établir des données précises concernant la sensibilité de *E. coli* à l'AMC, il est cependant évident que la résistance a augmenté ces dernières années. En effet, le réseau MEDQUAL recensait environ 20% de souches de *E. coli* de sensibilité diminuée à l'association AMC en 2005-2006, ce nombre dépassait les 30% en 2011.

Plus récemment, l'étude ARESC (Antimicrobial Resistance Epidemiological Survey on Cystitis) (33), qui s'est intéressée aux cystites non compliquées de la femme, âgée de 18 ans à 65 ans, estime la résistance globale de *E. coli* à l'AMC à (seulement) 3,8%. Huit pays européens (dont la France), le Brésil et la Russie ont participé à ce travail. Le taux de résistance de *E. coli* à l'AMC dans la cystite non compliquée de la femme pour la France, dans cette étude, est encore inférieur au taux global, avec seulement 1,4% de résistance et 7,7% de souches intermédiaires.

3. Mécanismes de résistance de *E. coli* à l'AMC

La résistance à l'association AMC chez *E. coli* peut être due à 5 mécanismes (17) (34).

- La surexpression du gène naturel codant pour la céphalosporinase (*ampC*) qui confère une résistance aux aminopénicillines, à l'AMC et à la céfalotine, céphalosporine de 1^{ère} génération (35).

- L'hyperproduction de pénicillinase acquise qui confère différents niveaux de résistance selon la quantité d'enzyme produite pouvant entraîner une résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et aux uréidopénicillines, aux associations pénicilline/inhibiteur de bêta-lactamase, à la céfalotine voire aux céphalosporines de deuxième génération (le céfamandole) (36). Face à un haut niveau de production des enzymes de type TEM-1 en relation avec la surexpression du gène *bla_{TEM-1}* l'association AMC peut s'avérer inefficace (37)(38)(32)(39).

- La production d'un mutant de type TRI (TEM Résistantes aux Inhibiteurs) qui dérive du gène TEM-1. L'effet de ces mutations intra-géniques sur l'expression de l'enzyme est d'une part une importante diminution de l'affinité pour les inhibiteurs, d'où la grande diminution de leur efficacité et d'autre part, une moindre diminution de l'affinité pour les substrats de cette enzyme que sont les pénicillines (40) (38).

- La production d'une oxacillinase est un autre mécanisme entraînant une résistance à l'AMC. Ces bêta-lactamases ne sont naturellement pas bien inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactam, d'où la résistance aux associations des pénicillines à l'acide clavulanique et la moindre efficacité du tazobactam associé à la pipéracilline. Le céfamandole n'est pas hydrolysé par cette enzyme. Egalement, il existe une diminution importante de la sensibilité au céfépime (et au cefpirome) en cas de production d'une oxacillinase chez *E. coli*, alors que la ceftazidime garde son entière efficacité. (41)(42)(43)(44)(45).

Ces mécanismes de résistance enzymatique ont notamment été décrits dans des cas d'IU à *E. coli*, pour lesquels la sensibilité à l'AMC était diminuée (46). L'incidence de ces mécanismes semble varier d'un pays à l'autre (26)(45).

D'autre part, la production de pénicillinases de type BLSE peut entraîner une sensibilité diminuée des souches de *E. coli* à l'AMC. Il existe différents types de BLSE. Selon le type d'enzyme et son niveau de production, l'efficacité de l'AMC pourra être affectée (47)(48). Les associations bêta-lactamines/inhibiteurs de bêta-lactamase ont fait l'objet d'études et semblent pouvoir être utilisées dans des cas de bactériémie à *E. coli* BLSE à point de départ urinaire (49)(50). Plus la CMI des souches de *E. coli* BLSE vis-à-vis de l'association pipéracilline-tazobactam est basse, et plus la mortalité associée est faible. Selon ces travaux, les associations pipéracilline-tazobactam et AMC peuvent constituer des alternatives au traitement par les carbapénèmes des bactériémies à EBLSE en cas de sensibilité de ces souches vis-à-vis de ces associations bêta-

lactamines/inhibiteurs de bêta-lactamase (49)(50). Il convient dans ces situations, de déterminer les valeurs des CMI par une méthode appropriée pour adapter au mieux l'antibiothérapie instaurée.

4. Place de l'AMC dans la prise en charge des IU

L'AMC est largement utilisé aussi bien en communautaire qu'en milieu hospitalier, pour le traitement des infections adultes ou pédiatriques. Cet antibiotique est principalement prescrit dans le traitement des infections respiratoires et ORL mais aussi dans le cas d'infections intra-abdominales, de bactériémies ou encore d'endocardites (25)(26). L'AMC peut aussi être utilisé dans le traitement des IU, dans des situations bien définies (et plutôt rares), comme le précisent les nouvelles recommandations 2014 de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) intitulées « Diagnostic et antibiothérapie des IU bactériennes communautaires de l'adulte » (51). Ces recommandations se sont appuyées sur des réseaux comme ceux de l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) ou encore de l'EARSS et ont été rédigées en adéquation avec la Haute Autorité de Santé (HAS).

Ainsi, la place de l'AMC dans le traitement des IU se base sur les propriétés intrinsèques de la molécule (spectre, pharmacocinétique et pharmacodynamique) et sur l'évolution des résistances à l'AMC de ces dernières années. L'efficacité de l'AMC dans le traitement des IU a été décrit auparavant (52). Cependant son impact sur le microbiote digestif et vaginal n'est pas négligeable. En effet, le traitement des IU par l'AMC est un facteur de risque pour les patients à développer un portage digestif ultérieur de souches résistantes à l'AMC, voire en cas de nouvelle IU, à isoler des souches de *E. coli* résistantes à l'AMC (30). Ainsi, le traitement par AMC peut favoriser l'émergence de souches de sensibilité diminuée par pression de sélection.

Dans les recommandations établies en 2014, la SPILF conclut à un pourcentage élevé de souches non sensibles à l'AMC (souches résistantes ou intermédiaires), non compatible avec l'utilisation de l'AMC en traitement probabiliste des IU. Ainsi, l'AMC n'a pas sa place dans le traitement probabiliste des cystites aiguës simples du fait d'un taux de résistance trop élevé et de son impact sur le microbiote. La fosfomycine-trométadol et le pivmécillinam lui sont ainsi préférés. S'il s'agit d'une cystite à risque de complication, il sera possible d'utiliser l'AMC sur données de l'antibiogramme, si une antibiothérapie par

AMX, pivmécillinam ou nitrofurantoïne (par ordre de choix) n'est pas accessible en raison des résistances de la souche isolée à ces molécules. Dans le cadre d'une cystite à risque de complication et lorsque l'antibiothérapie peut être différée, l'AMC est le 4^{ème} choix (Figure 5) et ne doit en aucun cas être prescrit en probabiliste.

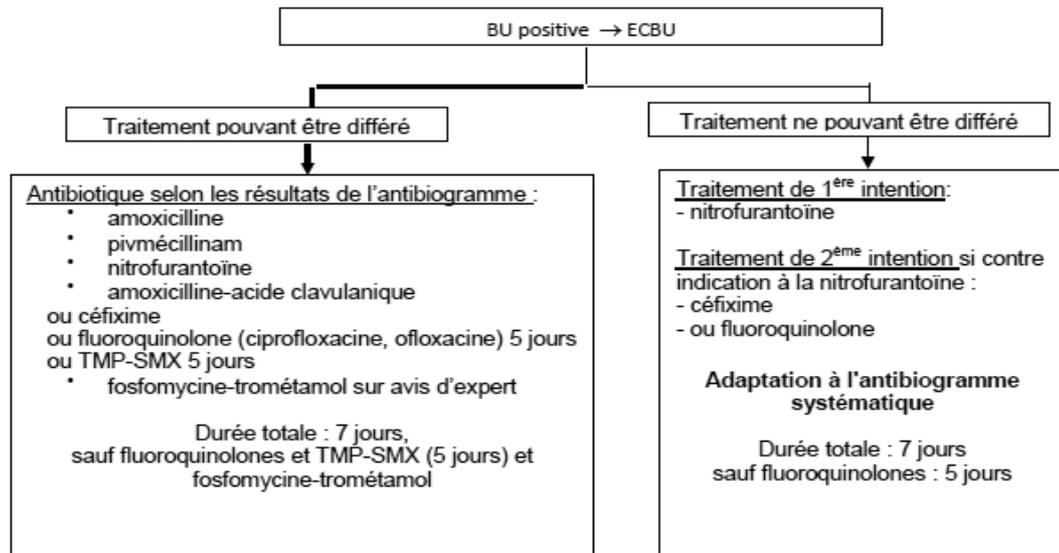


Figure 5 : Algorithme de l'antibiothérapie de la cystite à risque de complication (Diagnostic et antibiothérapie des IU bactériennes de l'adulte, SPILF 2014)

L'AMC n'est pas non plus recommandé dans le traitement probabiliste des PNA (qu'elles soient simples ou à risque de complication, sans signe de gravité ou graves). Cependant, il peut être utilisé en traitement de relai sur données de l'antibiogramme (Figure 6).

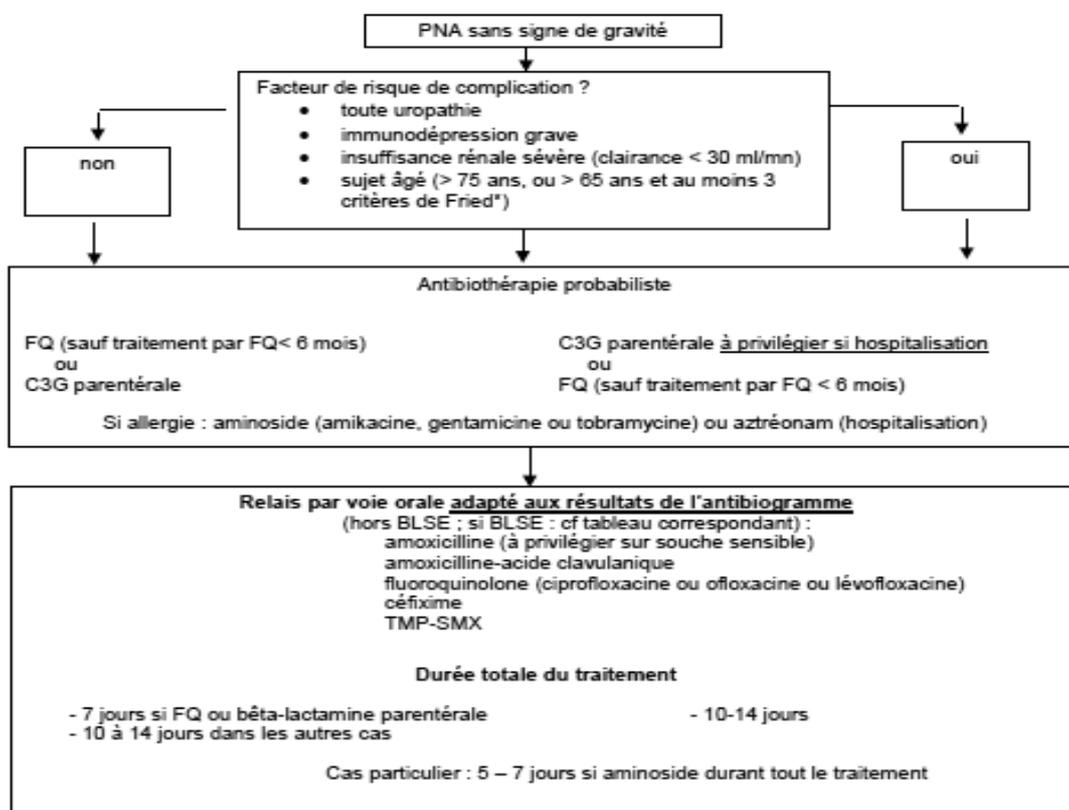


Figure 6 : Algorithme de la prise en charge d'une pyélonéphrite aigüe sans signe de gravité (Diagnostic et antibiothérapie des IU bactériennes de l'adulte, SPILF 2014)

Finalement, la place de l'AMC dans le traitement des IU a peu évolué par rapport aux recommandations de la SPILF de 2008, prônant toujours un usage raisonné de celui-ci, le réservant ainsi à des situations particulières et toujours sur données de l'antibiogramme.

La place de l'AMC dans le traitement des IU et plus particulièrement des cystites pourrait peut être être modifiée ces prochaines années en conséquence des changements introduits par le CA-SFM dans ses nouvelles recommandations 2014.

En 2013, les concentrations critiques de l'AMC vis-à-vis des entérobactéries étaient uniques et ne différençaient pas le type d'infections. Avec une charge par disque en amoxicilline/acide clavulanique de 20/10 µg, les souches de *E. coli* étaient considérées comme sensibles lorsque la CMI de la souche à l'AMC était ≤4 mg/l, résistantes lorsque la CMI était >8 mg/l et intermédiaires entre ces bornes (53).

En 2014, et dans le cadre d'une prise en charge toujours plus adaptée au patient, le CA-SFM se rapproche des recommandations de l'EUCAST et modifie ses règles concernant l'AMC. La charge du disque reste inchangée, mais différentes concentrations critiques ont été définies selon la présentation clinique. La catégorisation intermédiaire des

souches de *E. coli* a été supprimée et la concentration critique retenue (hors contexte de cystite) est 8 mg/l. En cas de cystites, et ceci en raison des excellentes propriétés pharmacocinétiques et pharmacodynamiques dans les urines de l'AMC, la concentration critique retenue pour l'AMC est 32 mg/l. Ainsi, les souches de *E. coli* sont résistantes à l'AMC lorsque la CMI de l'AMC est >32 mg/l (54).

La modification des concentrations critiques laisse anticiper une augmentation du taux de sensibilité à l'AMC des souches *E. coli* isolées de cystites.

Enfin, en cas d'IU à EBLSE, le CA-SFM/EUCAST 2014 recommande une catégorisation des souches vis-à-vis de l'association AMC sans interprétation du résultat après réalisation de l'antibiogramme par dilution en milieu liquide ou par diffusion en milieu gélosé (54). D'après les recommandations 2014 de la SPILF (51), l'AMC peut être utilisé en traitement de relai des PNA à EBLSE après documentation microbiologique notamment lorsque la souche d'EBLSE isolée est résistante aux fluoroquinolones et au sulfaméthoxazole-triméthoprim. L'AMC n'est pas recommandé en probabiliste dans les PNA à EBLSE ni dans le traitement des cystites aiguës simples à EBLSE. De plus, le traitement par AMC est proscrit en cas d'IU masculine (même à EBLSE) que ce soit en traitement probabiliste ou en traitement de relai en raison des données insuffisantes concernant la diffusion de l'AMC dans le tissu prostatique (51).

BUTS DE L'ETUDE

Dans le but d'adapter l'antibiothérapie, il est indispensable de déterminer la sensibilité des souches de *E. coli* aux antibiotiques, notamment aux bêta-lactamines qui sont largement prescrites pour prendre en charge les infections à *E. coli*.

Au vu des différents mécanismes et de l'augmentation de la résistance à l'AMC, des discordances déjà rapportées entre les différentes techniques d'antibiogramme concernant la détermination de la sensibilité à l'AMC, des changements apparus avec les nouvelles recommandations du CA-SFM/EUCAST 2014 (54), nous nous sommes posés la question de la place réelle de l'AMC dans les IU.

Ainsi, il nous a paru utile de tester la sensibilité de souches de *E. coli* isolées de prélèvements urinaires vis-à-vis de l'AMC par 4 méthodes différentes : la dilution automatisée en milieu liquide (Phoenix), le Etest®, la méthode des disques et la microdilution manuelle en milieu liquide.

Les buts de cette étude ont été de :

-comparer quatre méthodes différentes pour la détermination de la sensibilité à l'AMC pour 291 souches consécutives de *E. coli* isolées d'IU.

-faire un état des lieux de la résistance des souches de *E. coli* urinaires à l'AMC.

-évaluer l'impact de la modification des concentrations et diamètres critiques avec les recommandations CA-SFM/EUCAST 2014 sur la catégorisation des souches de *E. coli* urinaires

-discuter la place de l'AMC dans le traitement des IU au vu des résultats de sensibilité de ce travail.

MATERIEL ET METHODES

I. Matériel

Entre novembre 2013 et janvier 2014, 291 souches consécutives de *E. coli* ont été collectées au laboratoire de bactériologie du CHU de Rouen. Celles-ci étaient constituées d'isolats cliniques de patients pour lesquels un ECBU avait été réalisé dans un contexte de suspicion d'IU. Pour être inclus dans cette étude, les patients adultes devaient présenter une leucocyturie supérieure au seuil ($\geq 10^4$ leucocytes/ml) et une bactériurie significative ($\geq 10^3$ UFC/ml) et monomicrobienne à *E. coli*. Pour les urines prélevées sur sonde vésicale, seul le critère d'une culture pure à *E. coli* avec un seuil $\geq 10^3$ UFC/ml était requis.

La souche *E. coli* ATCC 25922, contrôle de qualité interne au laboratoire recommandé par l'EUCAST, a été utilisée tout au long de l'étude comme contrôle interne, dès qu'une série de tests était réalisée.

II. Méthodes

1. Détermination de la sensibilité aux antibiotiques

La sensibilité à l'AMC a été déterminée par dilution en milieu liquide sur automate Phoenix (Becton Dickinson) en utilisant la galerie UMIC/ID-97. Les concentrations critiques testées sur cette galerie pour l'association AMC sont 2 mg/l, 4 mg/l et 8 mg/l. Lorsque l'automate détecte une croissance bactérienne pour une concentration en AMC égale à 8 mg/l, il rend une valeur de CMI > 8 mg/l et la répond résistante. De la même façon, lorsque l'automate ne détecte pas de croissance de la bactérie pour une concentration en AMC égale à 2 mg/l alors l'automate Phoenix rend une valeur de CMI ≤ 2 mg/l pour la souche testée et la répond sensible

Dans un second temps, la sensibilité à l'AMC a été déterminée par Etest® (AES). Cette technique de diffusion en milieu gélosé a été réalisée selon les critères établis par le CA-SFM 2013 en utilisant un inoculum standardisé (0,5 McF), sur milieu Mueller-Hinton (bioMérieux). L'incubation était réalisée pendant 18 à 24 heures en atmosphère aérobie à 37°C avant lecture.

Par ailleurs, la sensibilité à l'AMC a été déterminée par la méthode des disques, selon les recommandations CA-SFM 2013. Une suspension inoculum de 10^8 UFC/ml diluée au 1/10 a été utilisée. Elle a été ensemencée par écouvillonnage sur gélose Mueller-Hinton et mise à incuber à 37°C en atmosphère aérobie pour une durée de 18 à 24 heures.

Enfin, les CMI AMC des 157 souches de *E. coli* présentant une sensibilité diminuée à l'AMC par automate Phoenix ont été déterminées par la technique de référence : la microdilution manuelle. Chaque puits de la microplaque est inoculé avec une suspension bactérienne de la souche de *E. coli* à tester à 5.10^5 UFC/ml. Un témoin de croissance est utilisé pour chaque série réalisée et les concentrations d'AMC réparties dans les différents puits de la microplaque sont: 1 mg/l, 2 mg/l, 4 mg/l, 8 mg/l, 16 mg/l, 32 mg/ et 64 mg/l. Après une incubation à 37°C en atmosphère aérobie pendant 18 à 24 heures, les CMI sont déterminées par une évaluation visuelle de la turbidité.

2. Analyse des résultats

Chaque souche a été classée comme sensible, intermédiaire ou résistante à l'AMC selon les règles d'interprétation définies par le CA-SFM 2013 et dans un second temps, les résultats de sensibilité ont été interprétés selon les recommandations CA-SFM/EUCAST 2014 (Tableau I).

Tableau I : Recommandations CA-SFM 2013 et CA-SFM/EUCAST 2014 pour les entérobactéries vis-à-vis de l'AMC

CA-SFM 2013			
Concentrations critiques (mg/l)		Diamètres critiques (mm)	
S	R	S	R
≤4	>8	≥21	<16

CA-SFM 2014			
Concentrations critiques (mg/l)		Diamètres critiques (mm)	
S	R	S	R
≤8	>8	≥17	<17
≤32	>32	≥16	<16

Cystites

S : sensible ; R : résistant

Les CMI₅₀ et les CMI₉₀ ont également été déterminées. On définit la CMI₅₀ comme étant la plus petite concentration d'antibiotique permettant d'inhiber la croissance de 50% des souches d'une espèce bactérienne. C'est le marqueur de la sensibilité naturelle d'une espèce à un antibiotique. La CMI₉₀ est la plus petite concentration d'antibiotique permettant d'inhiber la croissance de 90% des souches d'une espèce bactérienne. C'est le marqueur de la résistance acquise à un antibiotique pour une espèce bactérienne donnée.

Des analyses de concordance entre les différentes méthodes ont été faites en calculant le pourcentage de category agreement (CA). On définit que deux méthodes de détermination de la sensibilité aux antibiotiques sont concordantes lorsque la souche de *E. coli* était catégorisée de manière identique par les deux méthodes comparées.

Par ailleurs, les discordances ont été recensées et classées selon trois catégories :

- **les erreurs « très majeures »** (Very Major Error : VME) concernent les souches catégorisées sensibles à l'AMC par la méthode testée mais résistantes par la technique de comparaison.

- **les erreurs « majeures »** (Major Error : ME) regroupent les souches catégorisées résistantes mais sensibles à l'AMC par la technique de comparaison.

- **les erreurs « mineures »** (minor Error : mE) concernent les souches de sensibilité intermédiaire à l'AMC par une méthode donnée mais catégorisées soit sensibles soit résistantes à l'AMC par la technique de comparaison.

Le coefficient Kappa (K) a également été calculé pour évaluer la concordance entre les différentes méthodes testées (Phoenix, Etest® et méthode des disques) et la microdilution manuelle. Le coefficient K correspond à l'accord observé entre des jugements qualitatifs ou non. Il résulte de la somme d'une composante «**aléatoire**» et d'une composante d'accord «**véritable**». En définitive, K est un pourcentage de l'accord maximum corrigé de ce qu'il serait sous le simple effet du hasard. Landis et Koch (55) ont proposé un classement de l'accord en fonction de la valeur du coefficient K (Tableau II).

Tableau II : Classement de la concordance selon le coefficient de Kappa (*K*)

Concordance	Coefficient Kappa (<i>K</i>)
Excellente	1.00 à 0.81
Bonne	0.80 à 0.61
Moyenne	0.60 à 0.41
Faible	0.40 à 0.20
Mauvaise	0.20 à 0

Pour finir, les diamètres d'inhibition à l'AMC ont fait l'objet d'une analyse par courbes ROC à l'aide du logiciel SAS 9.2 pour Windows, afin de déterminer des seuils diagnostiques correspondant au meilleur compromis entre sensibilité et spécificité en tenant compte des valeurs critiques CA-SFM/EUCAST 2014.

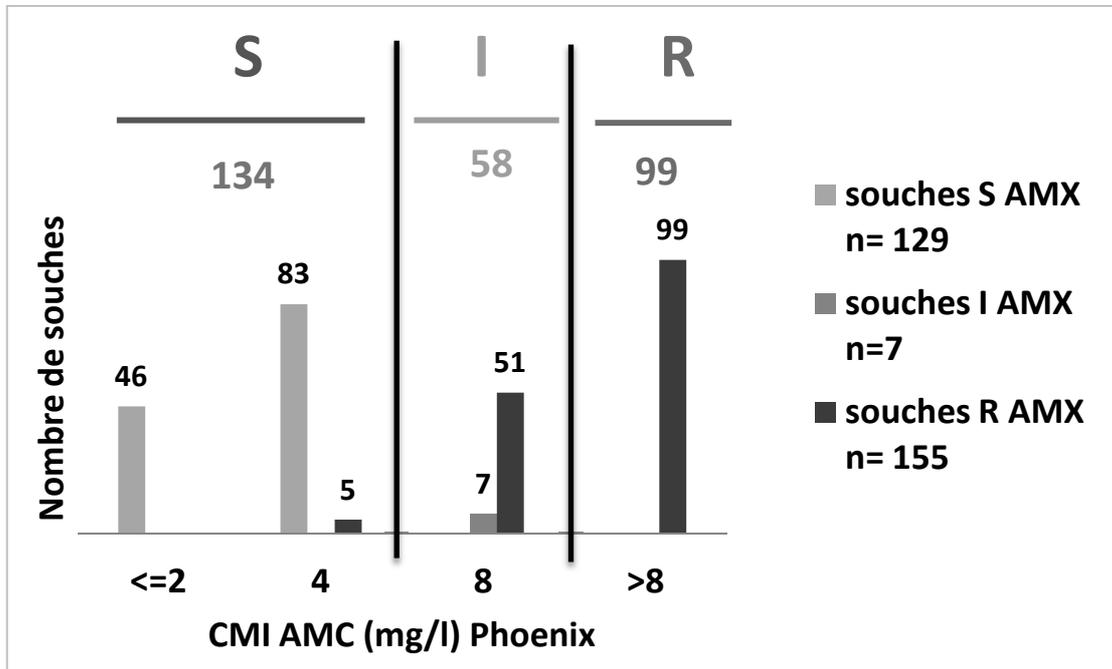
RESULTATS

I. Sensibilité des souches de *E. coli* à l'AMC en fonction de la méthode utilisée

1. Sensibilité à l'AMC par la microdilution sur automate Phoenix

Parmi les 291 souches testées sur l'automate Phoenix, 129 souches ne présentent aucune résistance aux bêta-lactamines. Ainsi, la sensibilité à l'AMX dans notre étude est évaluée à 44,3% par la méthode de dilution automatisée en milieu liquide Phoenix. La résistance à l'AMX est de 53,3%.

Par cette méthode, la distribution des CMI AMC des 291 souches de *E. coli* est la suivante : près de la moitié des souches (134) sont sensibles à l'AMC avec des CMI ≤ 4 mg/l. Dans 34% des cas (99 souches), l'automate Phoenix détecte une résistance à l'AMC avec une CMI > 8 mg/l chez des souches toutes résistantes à l'AMX. Si l'on distingue les souches sensibles à l'AMX des souches résistantes, on observe que les 129 souches de *E. coli* sensibles à l'AMX sont toutes sensibles à l'AMC avec des CMI ≤ 4 mg/l par dilution automatisée en milieu liquide (Figure 7).



S : sensible ; R : résistant ; I : intermédiaire

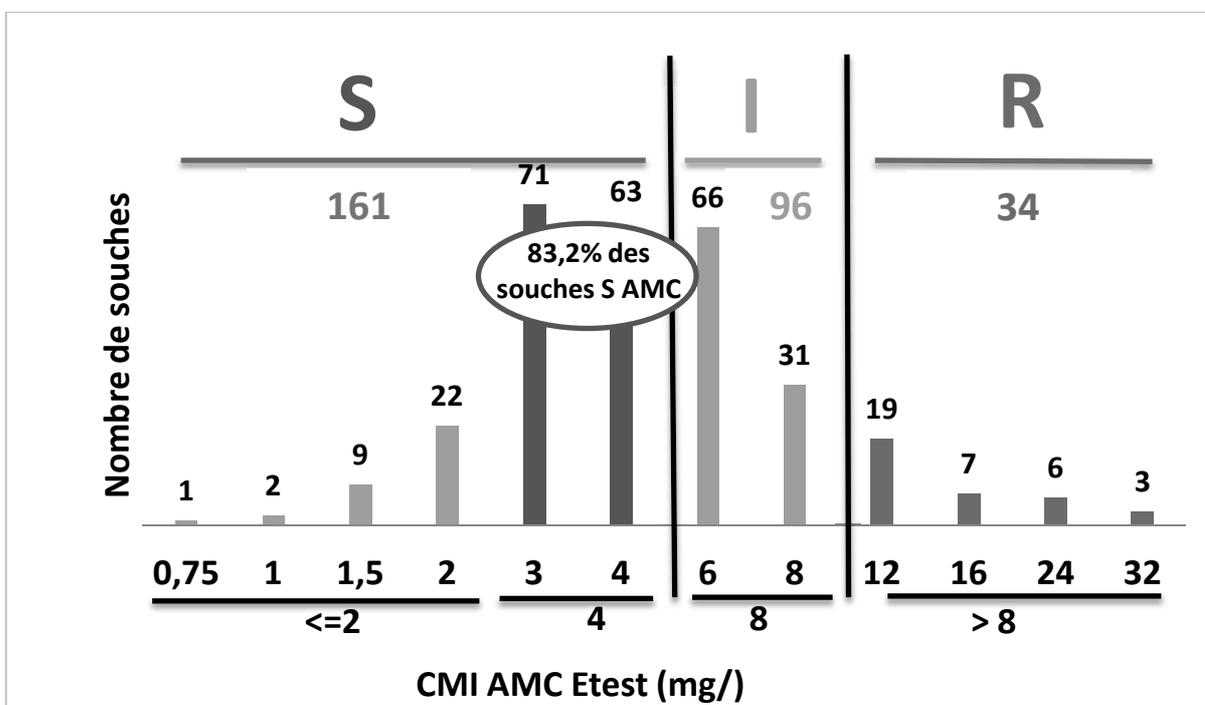
Figure 7 : Distribution des CMI AMC (en mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) déterminées par automate Phoenix avec distinction des souches S AMX (n=129), I AMX (n=7) et R AMX (n=155)

Seules 5 souches parmi les 162 non sensibles à l'AMX sont sensibles à l'AMC. La sensibilité globale à l'AMC est évaluée à 46% (134/291 souches). La quasi-totalité des souches résistantes à l'AMX ont une CMI AMC ≥ 8 mg/l dont 63,9% sont résistantes avec une CMI AMC > 8 mg/l.

Pour notre population de 291 souches, la CMI₅₀ de l'AMC est égale à 8 mg/l par automate Phoenix. L'automate Phoenix ne fournissant pas de valeur de CMI pour l'AMC au-delà de 8 mg/l, il est simplement possible de dire que la CMI₉₀ de l'AMC pour notre série est supérieure à 8 mg/l mais sans précision supplémentaire. Il s'agit là d'une limite de l'automate Phoenix.

2. Sensibilité à l'AMC par Etest®

Les valeurs des CMI AMC ont été mesurées pour les 291 souches de *E. coli* par la méthode Etest®. La sensibilité des souches de *E. coli* à l'AMC par cette technique manuelle est estimée à 55,3% (161 souches) tandis qu'un tiers des isolats a des CMI comprises entre 6 et 8 mg/l et est ainsi catégorisé intermédiaire vis-à-vis de l'AMC. La résistance à l'AMC est évaluée à 11,7% soit 34 souches sur les 291 souches de *E. coli* testées. Parmi les 161 souches de *E. coli* sensibles à l'AMC, 83,2% ont des CMI AMC comprises entre 3 et 4 mg/l par Etest®, soit à la limite de la borne de sensibilité et seulement 16,8% ont des CMI AMC ≤ 2 mg/l (Figure 8).



S : sensible ; R : résistant ; I : intermédiaire

Figure 8 : Distribution des CMI AMC (en mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) déterminées par Etest®

Par la méthode Etest®, la CMI₅₀ à l'AMC est égale à 4 mg/l, elle est inférieure d'une dilution à celle obtenue par automate Phoenix. La CMI₉₀ à l'AMC a été calculée à 12 mg/l (Tableau III).

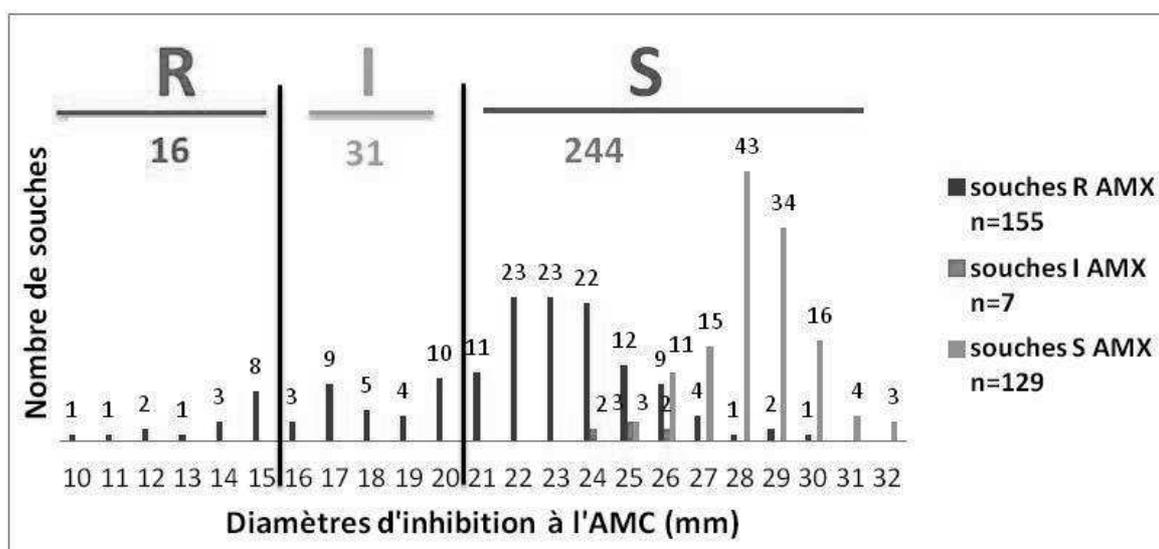
Tableau III : CMI₅₀ AMC (mg/l) et CMI₉₀ AMC (mg/l) mesurées par Etest® et par dilution automatisée en milieu liquide (Phoenix)

	CMI ₅₀ AMC (mg/l)	CMI ₉₀ AMC (mg/l)
Etest®	4	12
Phoenix	8	>8

3. Sensibilité à l'AMC par la méthode des disques

Compte-tenu des différences observées entre la méthode de dilution automatisée en milieu liquide (Phoenix) et le Etest®, les souches de *E. coli* ont été testées par une troisième technique : la technique de diffusion en milieu gélosé ou méthode des disques selon les recommandations CA-SFM 2013. Cette dernière méthode est celle couramment utilisée en contrôle des résultats du Phoenix dans notre laboratoire.

La figure 9 rapporte la répartition des souches de *E. coli* en fonction des diamètres d'inhibition à l'AMC et de leur sensibilité ou résistance à l'AMX.



S : sensible ; R : résistant ; I : intermédiaire

Figure 9 : Répartition des souches de *E. coli* (n=291) en fonction de leur diamètre à l'AMC (diamètre exprimé en mm) avec distinction des souches S AMX (n=129), I AMX (n=7) et R AMX (n=155)

La résistance à l'AMC est évaluée à 5,5% (16 souches) et la sensibilité à 83,8% (244 souches) par la méthode des disques.

Pour 16 souches, le diamètre est inférieur à 16 mm (souches résistantes à l'AMC), pour 244 souches, le diamètre est ≥ 21 mm (souches sensibles à l'AMC) et pour les 31 autres souches, le diamètre relevé est compris entre 16 mm et 20 mm (souches intermédiaires à l'AMC). Pour notre série, le diamètre médian est 25 mm. Toutes les souches sensibles à l'AMX ont un diamètre d'inhibition à l'AMC ≥ 25 mm avec 59,7% de ces souches qui se répartissent entre les diamètres 28 mm et 29 mm.

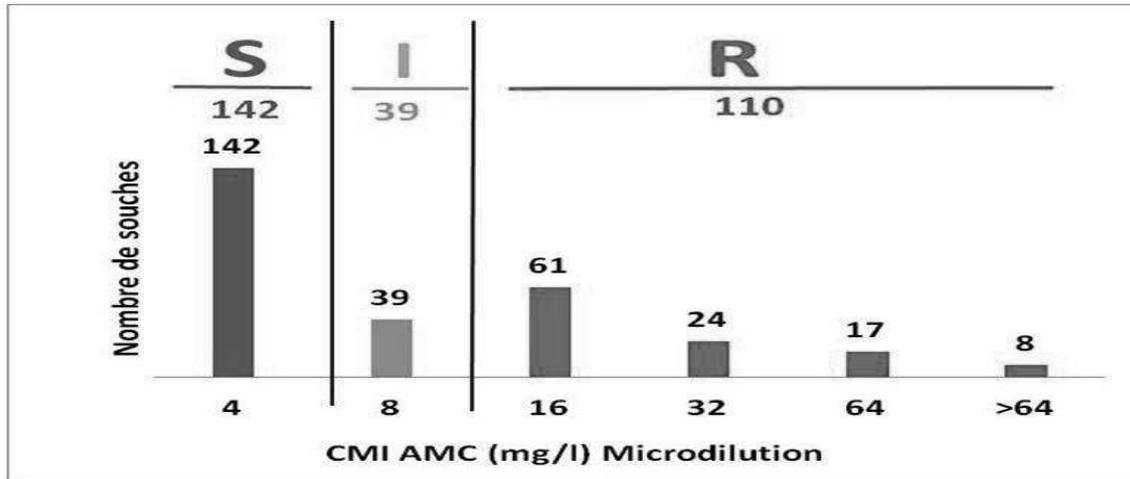
Pour ce qui est des souches résistantes à l'AMX, les diamètres mesurés s'étendent de 10 mm à 30 mm avec 43,9% de ces souches qui se répartissent entre 3 diamètres : 22, 23 et 24 mm. Les souches de *E. coli* résistantes à l'AMX sont dans près de 10,3% des cas résistantes à l'AMC, 20% intermédiaires et 69,7% sensibles.

4. Sensibilité à l'AMC par microdilution manuelle en milieu liquide

En raison des discordances observées entre l'automate Phoenix, le Etest® et la méthode des disques pour les souches résistantes à l'AMX, les souches de *E. coli* de sensibilité diminuée à l'AMC par automate Phoenix (n=157) ont été testées par microdilution manuelle en milieu liquide; méthode de référence actuellement recommandée pour la détermination de la sensibilité antimicrobienne.

Les autres souches, majoritairement sensibles à l'AMX, ne présentant pas de discordances par les trois autres techniques précédentes n'ont pas été testées par microdilution manuelle. Elles ont été considérées comme sensibles à l'AMC étant donné les résultats obtenus : les 134 souches sensibles à l'AMC par dilution automatisée en milieu liquide le sont aussi par la méthode des disques et 130 de ces souches sont sensibles à l'AMC par Etest® (et les 4 souches restantes sont intermédiaires par cette dernière technique).

Selon la technique de microdilution manuelle, 110 des 157 isolats testés sont résistants à l'AMC, 39 sont intermédiaires et les 8 restants sont sensibles. Sur les 157 souches, 49 souches possèdent des CMI AMC ≥ 32 mg/l, 17 ont des CMI AMC égales à 64 mg/l et 8 ont des CMI AMC > 64 mg/l (Figure 10).



S : sensible ; R : résistant ; I : intermédiaire

Figure 10 : Distribution des CMI AMC (en mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par microdilution manuelle en milieu liquide

La CMI₅₀ à l'AMC est égale à 8 mg/l et la CMI₉₀ à l'AMC à 32 mg/l par microdilution manuelle en milieu liquide (Tableau IV). Ces calculs ont été effectués en attribuant une CMI AMC ≤ 4 mg/l pour les 134 souches de *E. coli* non testées par microdilution manuelle puisque nous supposons ces souches sensibles à l'AMC.

La CMI₅₀ à l'AMC est identique pour l'automate Phoenix et la microdilution manuelle. Cette valeur (8 mg/l) est supérieure à la CMI₅₀ obtenue par Etest®, tout comme la CMI₉₀ à l'AMC par microdilution manuelle est supérieure à celle obtenue par Etest®.

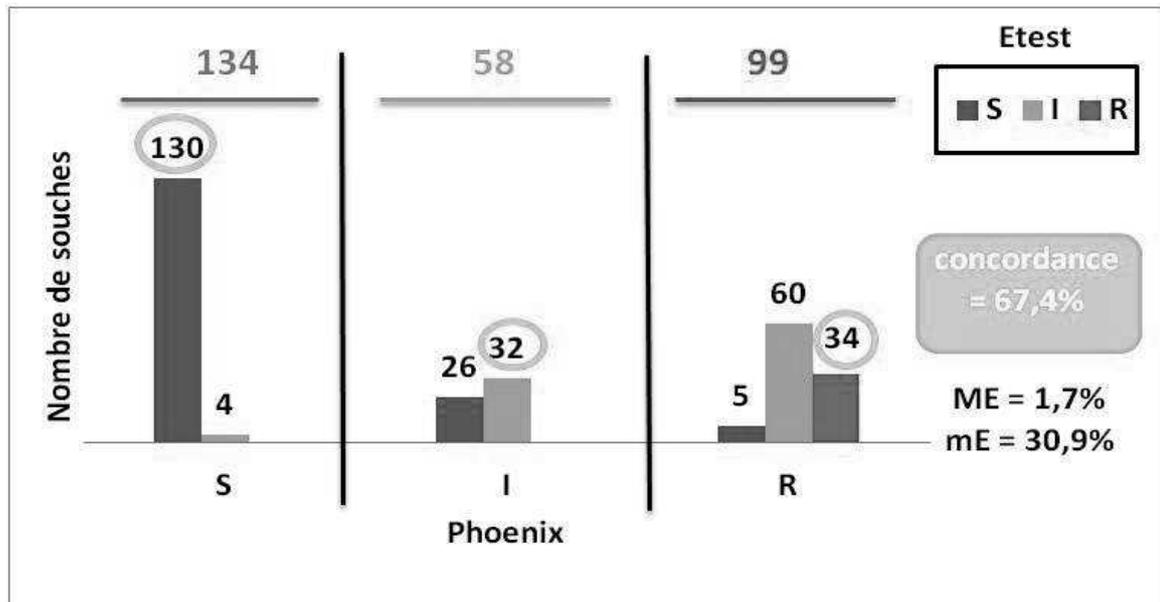
Tableau IV : CMI₅₀ AMC (mg/l) et CMI₉₀ AMC (mg/l) mesurées par Etest®, par dilution automatisée en milieu liquide (Phoenix) et par microdilution manuelle

Méthode	CMI ₅₀ AMC (mg/l)	CMI ₉₀ AMC (mg/l)
Etest®	4	12
Phoenix	8	>8
Microdilution manuelle	8	32

II. Comparaison des trois techniques de détermination de la CMI

1. Automate Phoenix versus Etest®

La concordance globale entre la méthode de dilution en milieu liquide Phoenix et le Etest® est évaluée à 67,4%. En effet, 130 souches sont sensibles à l'AMC par Etest® sur 134 souches sensibles par automate Phoenix. De même, 34 sont résistantes à l'AMC par Etest® sur 99 souches résistantes par automate Phoenix et 32 sont intermédiaires à l'AMC par Etest® sur 58 souches intermédiaires par automate Phoenix (Figure 11).



S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant ; ME : Major Error ; mE : minor Error

Figure 11 : CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par automate Phoenix comparées aux CMI AMC obtenues par Etest® et concordance, ME, mE

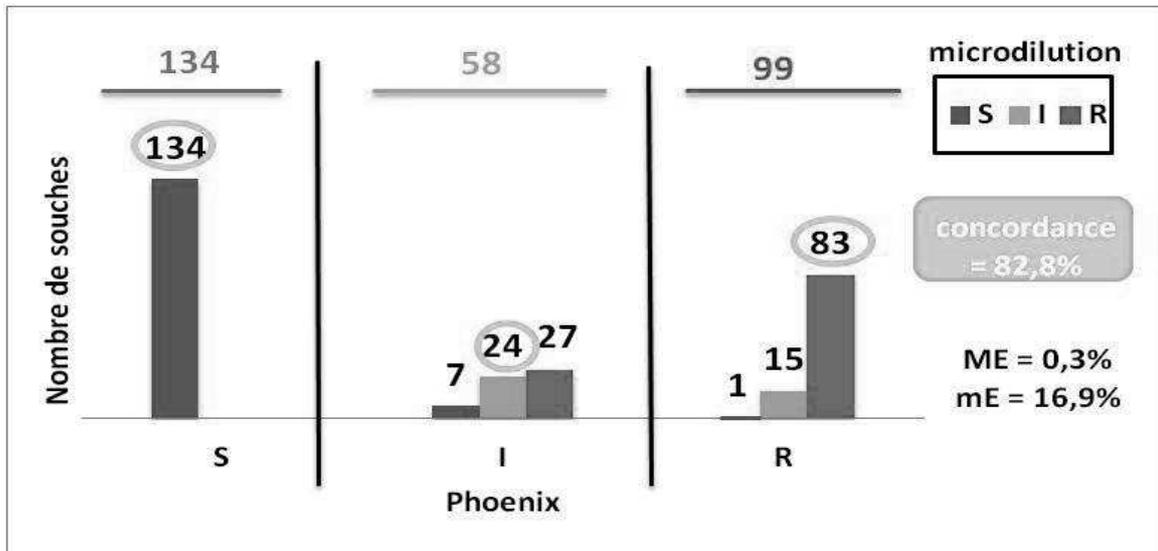
Dans 32,6% des cas, la catégorisation des souches de *E. coli* vis-à-vis de l'AMC par la méthode de dilution en milieu liquide et par Etest® est discordante (Figure 11).

Si l'on détaille les discordances entre la méthode de dilution automatisée en milieu liquide Phoenix et le Etest®, on obtient 1,7% de ME et 30,9% de mE :

- 5 souches résistantes par automate Phoenix sont sensibles par Etest®,
- 60 souches résistantes par automate Phoenix sont intermédiaires par Etest®
- 26 souches intermédiaires par automate Phoenix sont sensibles par Etest®
- 4 souches sensibles par automate Phoenix sont intermédiaires par Etest®

2. Automate Phoenix versus microdilution manuelle

Parmi les 157 testées, 149 sont non sensibles à l'AMC par les deux méthodes (souches intermédiaires ou résistantes). Par ailleurs, seulement 8 souches de *E. coli* sont sensibles à l'AMC par microdilution (CMI = 4 mg/l) alors qu'elles étaient classées intermédiaires ou résistantes à l'AMC par l'automate Phoenix (Figure 12). Au total, la concordance entre l'automate Phoenix et la microdilution manuelle est donc estimée à 82,8% : 83 souches résistantes et 24 souches intermédiaires par les 2 méthodes et en supposant l'absence de discordances pour les 134 souches sensibles.



S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant ; ME : Major Error ; mE : minor Error

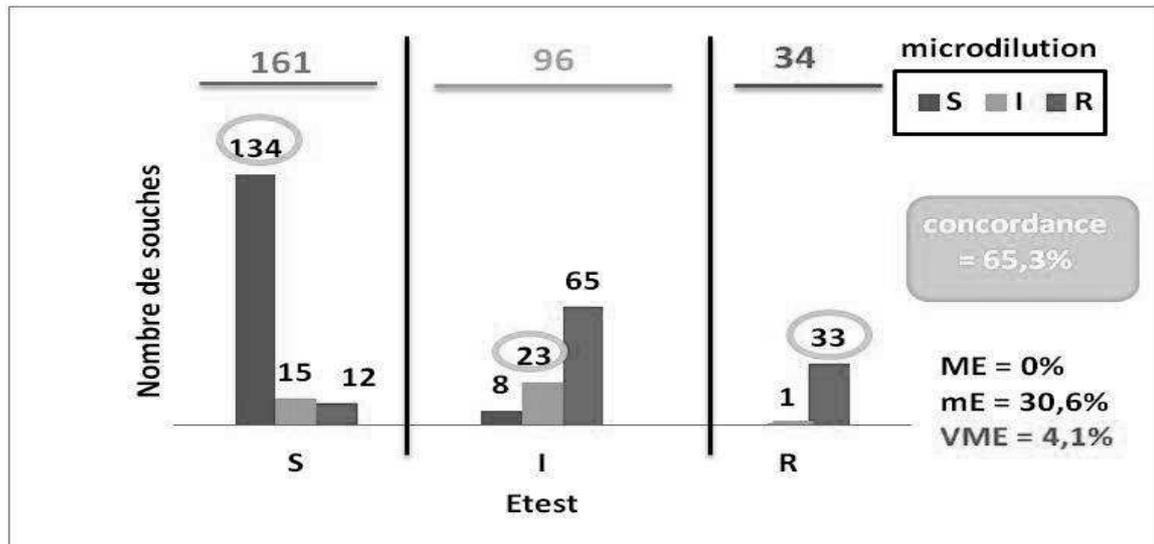
Figure 12 : CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par automate Phoenix comparées aux CMI AMC obtenues par microdilution manuelle en milieu liquide et concordance, ME, mE

Concernant les discordances, on retrouve moins de 1% de ME (0,3%) et 16,9% de mE qui sont les suivantes :

- 1 souche résistante par automate Phoenix est sensible par microdilution manuelle
- 27 souches intermédiaires par automate Phoenix sont résistantes par microdilution manuelle
- 7 souches intermédiaires par automate Phoenix sont sensibles par microdilution manuelle
- 15 souches résistantes par automate Phoenix sont intermédiaires par microdilution manuelle

3. Etest® versus microdilution manuelle

La concordance entre les deux techniques serait évaluée à 65,3% en supposant l'absence de discordances pour les 134 souches sensibles. Sur les 34 souches de *E. coli* résistantes à l'AMC par Etest®, 33 sont résistantes par microdilution manuelle. Sur les 96 souches de *E. coli* catégorisées intermédiaires à l'AMC par Etest®, 23 sont intermédiaires à l'AMC par microdilution manuelle (Figure 13).



S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant ; ME : Major Error ; mE : minor Error ; VME : Very Major Error

Figure 13 : CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par méthode Etest® comparées aux CMI AMC obtenues par microdilution manuelle en milieu liquide et concordance, VME, ME, mE

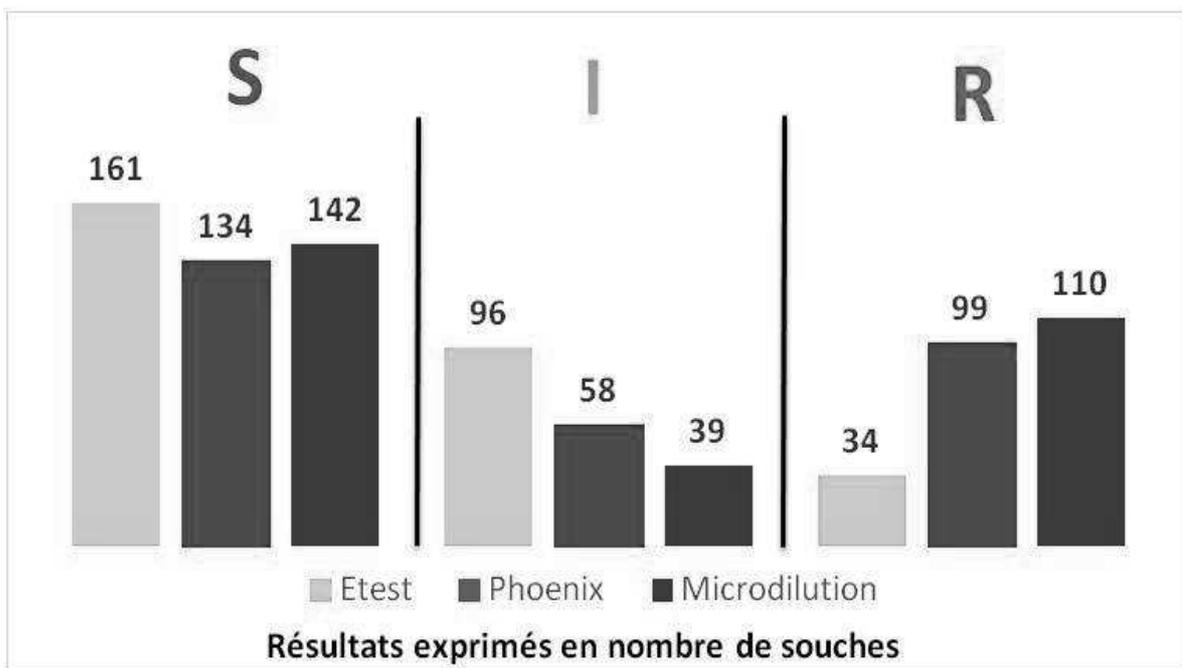
Nous observons un taux de VME de 4,1% correspondant à 12 souches classées sensibles par Etest® mais résistantes par microdilution manuelle. Il est à noter qu'aucune VME n'avait été mise en évidence entre l'automate Phoenix et la microdilution manuelle.

Concernant les discordances, aucune ME n'est retrouvée mais 30,6% de mE sont constatées :

- 65 souches intermédiaires par Etest® sont résistantes par microdilution manuelle
- 8 souches intermédiaires par Etest® sont sensibles par microdilution manuelle
- 1 souche résistante par Etest® est intermédiaire par microdilution manuelle
- 15 souches sensibles par Etest® sont intermédiaires par microdilution manuelle

Par ailleurs, sur les 157 souches testées par microdilution manuelle, 77,1% ont des CMI AMC supérieures à celles mesurées par Etest® dont 56,7% avec deux dilutions d'écart ou plus.

En conclusion, la comparaison de ces trois méthodes de détermination de la CMI (automate Phoenix, Etest® et microdilution manuelle en milieu liquide) entre elles, montre que la prévalence des souches sensibles, intermédiaires ou résistantes à l'AMC varie selon la méthode utilisée. Ainsi, on évalue le pourcentage de souches de *E. coli* résistantes à l'AMC à 11,7% par la méthode Etest®, 34% par l'automate Phoenix et 37,8% par la microdilution manuelle. La dilution en milieu liquide par automate Phoenix et la microdilution manuelle détectent davantage de souches résistantes à l'AMC que la technique Etest®. Par ailleurs, c'est avec le Etest® que le plus grand nombre de souches est catégorisé intermédiaire à l'AMC (Figure 14).



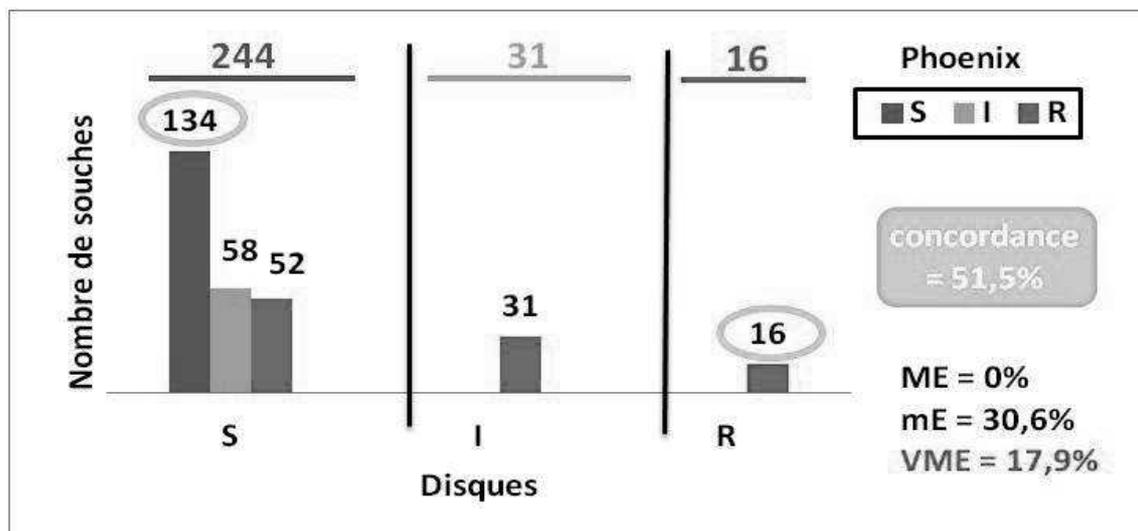
S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant

Figure 14 : Répartition de la sensibilité des souches de *E. coli* testées vis-à-vis de l'AMC selon les trois méthodes : Phoenix, Etest® et microdilution manuelle en milieu liquide

III. Comparaison des trois méthodes de détermination de la CMI à la méthode des disques

1. Méthode des disques *versus* automate Phoenix

Au laboratoire, la méthode des disques fait office de contrôle de l'automate Phoenix afin de vérifier certains phénotypes de résistance aux bêta-lactamines lorsque cela paraît nécessaire. La concordance globale entre l'automate Phoenix et la méthode des disques est évaluée à 51,5%. En effet, 134 souches sont sensibles par ces deux méthodes. De même, 16 souches sont résistantes par automate Phoenix et par la méthode des disques (Figure 15). Par ailleurs, nous pouvons observer que 70% des souches de sensibilité diminuée à l'AMC par automate Phoenix sont sensibles à l'AMC par la méthode des disques (58+52 souches sur 157).



S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant ; ME : Major Error ; mE : minor Error ; VME : Very Major Error

Figure 15 : Diamètres d'inhibition de l'AMC comparés aux CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par automate Phoenix et concordance, VME, ME, mE

Nous observons un taux important de VME de 17,9% correspondant à 52 souches classées sensibles par la méthode des disques mais résistantes par automate Phoenix.

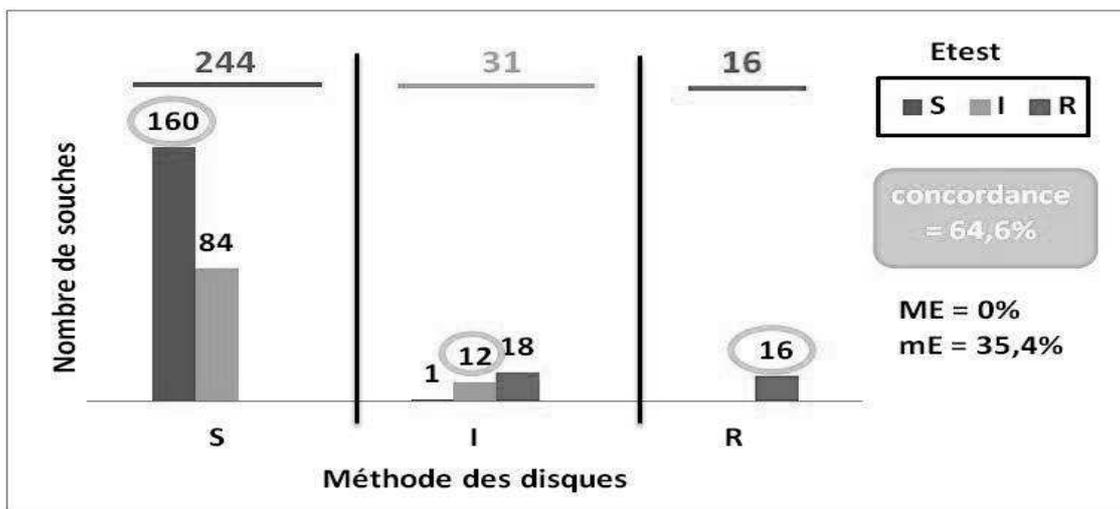
Concernant les autres discordances pour les 291 souches de *E. coli* testées, 30,6% de mE ont été décrites :

- 31 souches intermédiaires par la méthode des disques sont résistantes par automate Phoenix
- 58 souches sensibles par la méthode des disques sont intermédiaires par automate Phoenix

2. Méthode des disques *versus* Etest®

Quelque soit la CMI mesurée par Etest®, nous observons une dispersion importante des diamètres. Pour une CMI mesurée à 4 mg/l par Etest® (souche sensible à l'AMC), les diamètres des souches de *E. coli* testées s'étendent de 20 mm (souches intermédiaires à l'AMC) à 30 mm (souches sensibles à l'AMC). Pour une CMI mesurée à 8 mg/l par Etest® (souche intermédiaire à l'AMC), les diamètres s'étendent de 17 mm (souches intermédiaires à l'AMC) à 26 mm (souches sensibles à l'AMC).

La concordance entre le Etest® et la méthode des disques est évaluée à 64,6% (Figures 16). En effet, sur les 161 souches sensibles par Etest®, 160 sont sensibles par la méthode des disques. De même, 12 souches sont intermédiaires par la méthode des disques sur 96 souches intermédiaires par Etest® et 16 souches sont résistantes par la méthode des disques sur 34 résistantes par Etest®.



S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant ; ME : Major Error ; mE : minor Error

Figure 16 : Diamètres d'inhibition de l'AMC comparés aux CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par Etest® et concordance, ME, mE

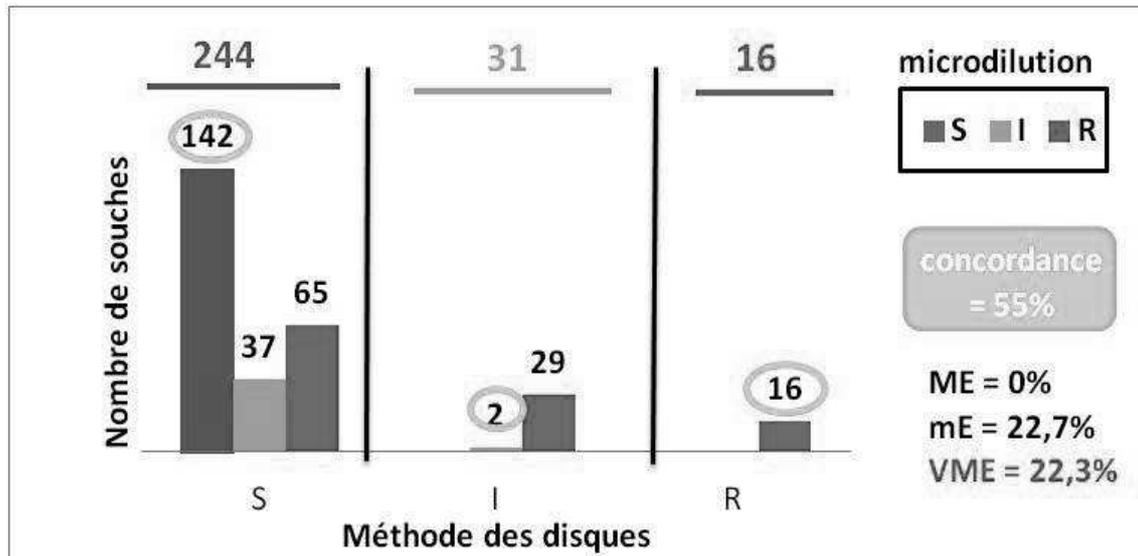
Aucune discordance majeure n'est relevée lorsque l'on compare le Etest® à la méthode des disques alors qu'un taux important de discordances mineures est mis en évidence (35,4%).

Si l'on détaille les discordances observées :

- 1 souche intermédiaire par la méthode des disques est sensible par Etest®
- 18 souches intermédiaires par la méthode des disques sont résistantes par Etest®
- 84 souches sensibles par la méthode des disques sont intermédiaires par Etest®

3. Méthode des disques *versus* microdilution manuelle

Entre la microdilution manuelle et la méthode des disques, la concordance serait de 55% en supposant l'absence de discordances pour les 134 souches sensibles non testées par microdilution manuelle. De plus, sur les 157 souches testées, seulement 8 sont sensibles, 2 intermédiaires et 16 résistantes par les deux méthodes (Figure 17).



S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant ; ME : Major Error ; mE : minor Error ; VME : Very Major Error

Figure 17 : Diamètres d'inhibition de l'AMC comparés aux CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* (n=291) par microdilution manuelle et concordance, VME, ME, mE

Comme dans la comparaison avec l'automate Phoenix, nous observons un taux élevé de 22,3% de VME correspondant à 65 souches classées sensibles à l'AMC par la méthode des disques mais résistantes par microdilution manuelle.

Toutefois, aucune discordance majeure n'est relevée tandis que le pourcentage de discordances mineures s'élève à 22,7%.

Si l'on détaille les discordances observées :

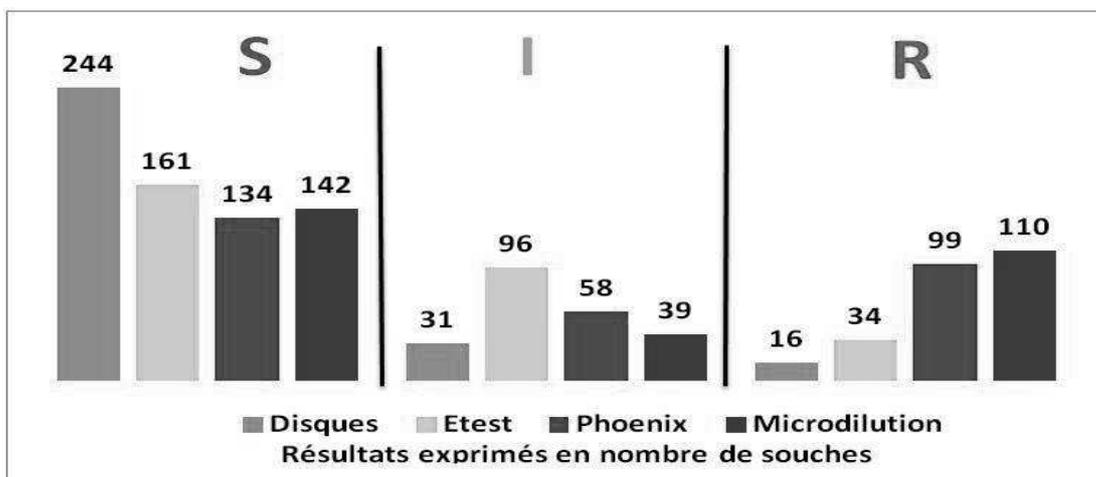
- 29 souches intermédiaires par la méthode des disques sont résistantes par microdilution manuelle
- 37 souches sensibles par la méthode des disques sont intermédiaires par microdilution manuelle

Nous pouvons noter qu'un plus grand nombre de souches est classé sensible à l'AMC par la méthode des disques que par microdilution manuelle (244 versus 142 souches).

Quelle que soit la CMI mesurée par microdilution manuelle, nous observons une dispersion importante des diamètres. Pour les souches résistantes à l'AMC par microdilution manuelle avec des CMI AMC >8 mg/l, les diamètres correspondants vont de 11 mm à 30 mm. Pour les souches intermédiaires, les diamètres associés s'étendent de 20 mm à 29 mm.

Cependant on peut noter que toutes les souches de *E. coli* ayant un diamètre d'inhibition à l'AMC < 20 mm (37 souches) sont résistantes à l'AMC par les trois autres méthodes (sauf 6 souches intermédiaires par Etest® = discordances mineures). Pour des diamètres de 20 mm et plus, des discordances majeures apparaissent entre les techniques.

En conclusion, selon la technique utilisée, le pourcentage de souches de *E. coli* résistantes à l'AMC varie considérablement. Ce pourcentage est le plus élevé par microdilution manuelle (37,8%). Il est assez proche des résultats obtenus avec le Phoenix qui détecte 34% de souches de *E. coli* résistantes à l'AMC. Le pourcentage de résistance à l'AMC est nettement inférieur par la méthode des disques (5,5%) et par Etest® (11,7%) (Figure 18).



S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant

Figure 18 : Répartition de la sensibilité des souches de *E. coli* vis-à-vis de l'AMC (n=291) selon les quatre méthodes utilisées

Par ailleurs, 83,8% des souches sont sensibles à l'AMC par la méthode des disques tandis qu'avec les autres techniques ce pourcentage est bien inférieur : 55,3% par Etest®, 48,8% par microdilution manuelle et 46% par automate Phoenix.

Au final, seulement 16 souches sont résistantes à l'AMC par les 4 techniques de détermination de la sensibilité mises en œuvre pour ce travail et 32 sont résistantes par les 3 techniques de détermination de la CMI (méthode des disques non prise en compte).

Seulement 2 souches sont intermédiaires à l'AMC par les 4 techniques mises en œuvre pour cette étude et 10 sont intermédiaires par les 3 techniques de détermination de la CMI (méthode des disques non prise en compte).

La méthode sur automate Phoenix semble être la méthode de détermination de la sensibilité antimicrobienne qui s'approche le plus de la microdilution manuelle avec un pourcentage de concordance de 82,8%. Pour les deux autres techniques, Etest® et méthode des disques, les pourcentages de concordance sont inférieurs, respectivement 65,3% et 55% (Tableau V).

Tableau V : Concordances, discordances et coefficients de Kappa (K) exprimés pour chacune des techniques, en comparaison avec la technique de microdilution manuelle. Résultats obtenus pour les souches de *E. coli* testées.

	CA (%)	ME (%)	mE (%)	K
Disques	55	0	22,7	0,14
Etest	65,3	0	30,6	0,44
Phoenix	82,8	0,3	16,9	0,71

CA : category agreement; ME : Major Error; mE : minor Error

Le pourcentage d'erreurs dites très majeures atteint plus de 22% pour la méthode des disques tandis qu'il baisse à 4,1% pour le Etest® et est nul pour l'automate Phoenix. Entre l'automate Phoenix et la microdilution manuelle, le pourcentage d'erreurs dites majeures (ME) est inférieur à 1% et nul pour les autres méthodes.

Les erreurs mineures (mE) concernent 16,9% des souches testées par automate Phoenix, 22,7% des souches testées par la méthode des disques et jusqu'à 30,6% des souches testées par Etest® (Tableau V).

Enfin, si l'on évalue la concordance des méthodes par la classification de Landis et Koch d'après la valeur du coefficient K, on observe que l'automate Phoenix présente une bonne concordance avec la microdilution manuelle tandis qu'elle est moyenne pour le Etest® et faible pour la méthode des disques.

IV. CA-SFM 2014

1. Impact des diamètres critiques 2014

Les nouvelles recommandations CA-SFM/EUCAST 2014 modifient les diamètres critiques pour l'AMC. Hors cystites, le diamètre critique choisi est 17 mm. A partir de 17 mm et au-delà, la souche est sensible à l'AMC tandis que pour un diamètre strictement inférieur à 17 mm, la souche est résistante à l'AMC. Dans un contexte de cystite, le diamètre critique à prendre en compte est 16 mm. Il n'existe plus de zone intermédiaire avec les nouveaux diamètres critiques établis par le comité d'experts du CA-SFM.

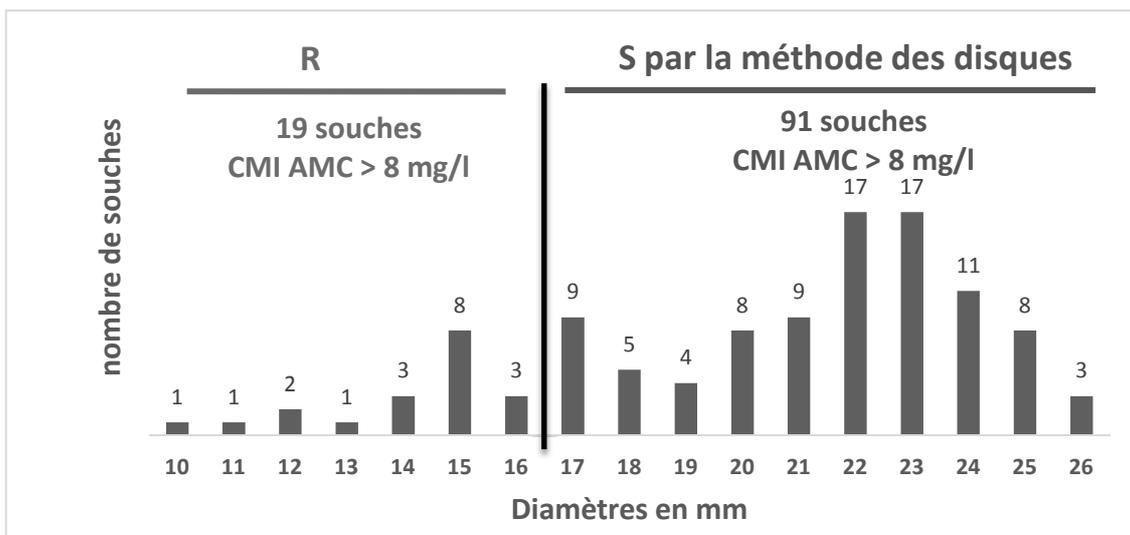
Avec les diamètres critiques 2014 hors cystites, 93,5% des souches de *E. coli* sont sensibles à l'AMC contre 83,8% avec les diamètres critiques de 2013 (Tableau VI). Avec les diamètres critiques 2014 cystites, ce pourcentage augmente peu, passant de 93,5% (hors cystites) à 94,5%.

Tableau VI : Pourcentages de souches de *E. coli* sensibles à l'AMC selon les concentrations et diamètres critiques établis par le CA-SFM 2013 et par le CA-SFM/ EUCAST 2014

	% de sensibilité à l'AMC		
	CA-SFM2013	CA-SFM/EUCAST 2014 (hors cystites)	CA-SFM/EUCAST 2014 (cystites)
Disques	83,8	93,5	94,5
Etest	55,3	88,3	100
Phoenix	46	66	NA
Microdilution	48,8	62,2	91,4

NA : non applicable

Si l'on étudie la distribution des diamètres d'inhibition à l'AMC des 110 souches résistantes en microdilution selon les critères 2014, on observe que seulement 19 ont un diamètre < 17 mm (souches résistantes à l'AMC hors cystites) et sont correctement catégorisées résistantes. Pour les 91 autres souches, les diamètres d'inhibition à l'AMC se distribuent entre 17 mm et 26 mm entraînant leur catégorisation en souches sensibles et des discordances très majeures entre la microdilution manuelle et la méthode des disques (Figure 19).

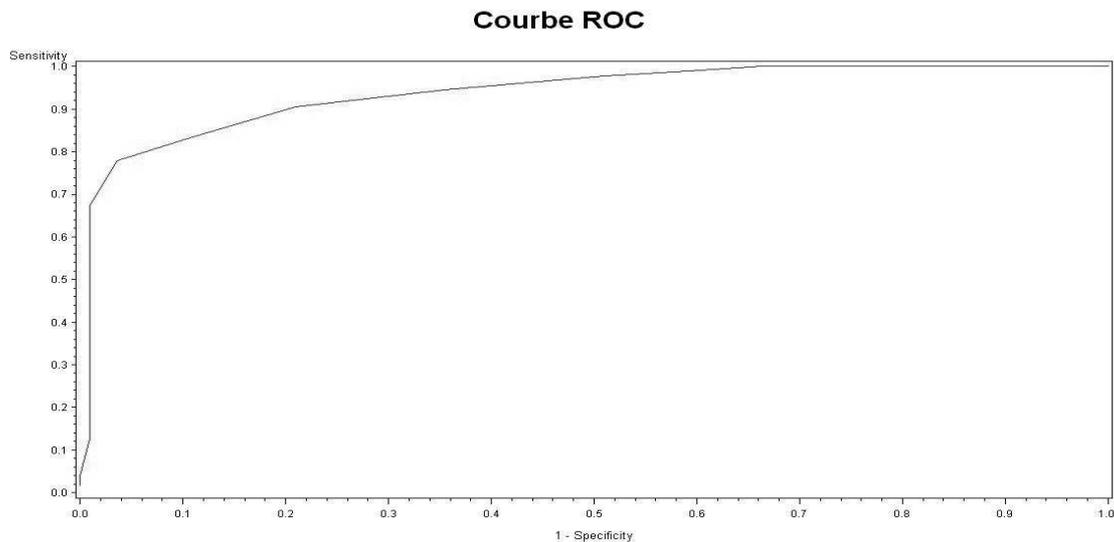


S : sensible ; R : résistant

Figure 19 : Distribution des diamètres d'inhibition de l'AMC des souches de *E. coli* résistantes par microdilution manuelle (n=110)

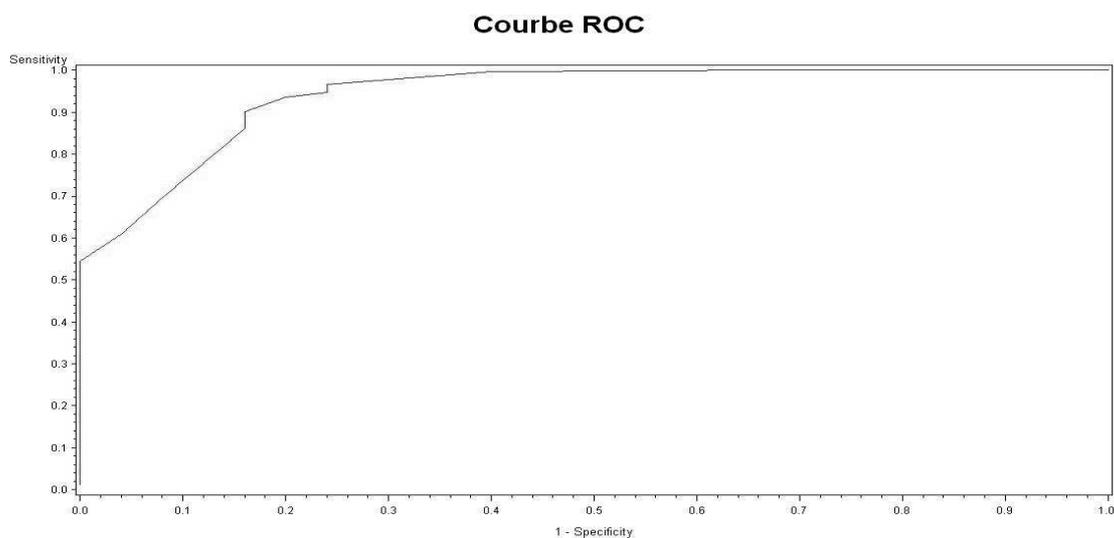
Enfin, parmi les 25 souches ayant une CMI > 32 mg/l par microdilution manuelle, seulement 15 ont un diamètre < 16 mm permettant leur catégorisation en souches résistantes à l'AMC. Pour les 10 autres souches, les diamètres vont de 16 mm à 25 mm entraînant leur catégorisation en souches sensibles par la méthode des disques et correspondant donc à des VME.

En tenant compte des concentrations critiques CA-SFM/EUCAST 2014 hors cystites et en prenant comme méthode de référence la microdilution manuelle, nous avons identifié, par une analyse des courbes ROC, le diamètre de 25 mm comme seuil diagnostique pour identifier les souches résistantes, avec le meilleur compromis entre sensibilité et spécificité (Figure 20). De même, un diamètre critique de 20 mm est obtenu comme seuil diagnostique en appliquant les critères cystites (CMI > 32mg/l) (Figure 21).



Avec sensibilité = 77,9% [71,9%-83,9%], spécificité = 96,4% [91%-99%], AUC = 0,939 [0,912-0,966]

Figure 20 : Courbe ROC appliquée à la méthode des disques en tenant compte des concentrations critiques CA-SFM/EUCAST 2014 hors cystites et en prenant comme méthode de comparaison la microdilution manuelle



Avec sensibilité = 90,2% [86,7%-93,8%], spécificité = 84% [63,9%-83,5%], AUC = 0,942 [0,895-0,910]

Figure 21 : Courbe ROC appliquée à la méthode des disques en tenant compte des concentrations critiques CA-SFM/EUCAST 2014 cystites et en prenant comme méthode de comparaison la microdilution manuelle

2. Impact des concentrations critiques 2014

Les concentrations critiques de l'AMC ont également été modifiées dans les recommandations CA-SFM/EUCAST 2014. Il n'existe plus de catégorie intermédiaire pour les souches de *E. coli* vis-à-vis de l'AMC. Ainsi une souche est catégorisée sensible à l'AMC lorsque la CMI est ≤ 8 mg/l et résistante au-delà de cette concentration critique. Un cas particulier a été détaillé, il s'agit des cystites. En effet, dans cette situation précise, la concentration critique a été fixée à 32 mg/l. Toutes les souches ayant une CMI AMC ≤ 32 mg/l sont alors considérées comme sensibles à l'AMC. Au-delà de 32 mg/l, les souches sont résistantes. Le tableau VI (page 35) rapporte les pourcentages de sensibilité à l'AMC qui seraient obtenus en appliquant les nouveaux critères 2014. Le pourcentage de souches sensibles à l'AMC avec la microdilution manuelle augmente, de 48,8% à 62,2%, le pourcentage de souches résistantes à l'AMC restant lui inchangé.

D'après les concentrations critiques 2014 (hors cystites), 66% des souches testées par automate Phoenix sont catégorisées sensibles à l'AMC contre 46% d'après les concentrations critiques 2013 (Tableau VI). De même, 88,3% des souches testées en Etest® sont catégorisées sensibles à l'AMC contre 55,3% avec les concentrations critiques 2013.

Avec les concentrations critiques CA-SFM/EUCAST 2014 pour les cystites, le pourcentage de souches de *E. coli* sensibles à l'AMC est supérieur à 90% par Etest® et microdilution manuelle. Il n'est pas possible d'évaluer ce paramètre avec l'automate Phoenix puisque la concentration maximale en AMC qui est testée par l'automate Phoenix est 8 mg/l. A l'heure actuelle, l'automate Phoenix ne nous permet donc pas de donner de résultats par rapport à la concentration critique 2014 cystites (32 mg/l).

Par la méthode Etest®, toutes les souches sont catégorisées sensibles à l'AMC avec les concentrations critiques CA-SFM/EUCAST 2014 cystites car aucune souche ne possède de CMI > 32 mg/l. La valeur maximale de CMI relevée est 32 mg/l. Avec la microdilution manuelle, 91,4% des souches seraient catégorisées sensibles à l'AMC (contre 48,8% avec les concentrations critiques 2013 et 62,2% avec les concentrations critiques CA-SFM/EUCAST 2014 hors cystites).

En conclusion, avec la modification des concentrations et diamètres critiques, le pourcentage de concordance des différentes techniques par rapport à la microdilution manuelle évolue (Tableau VII). Avec les bornes CA-SFM/EUCAST 2014 hors cystites, le pourcentage de concordance est amélioré pour chacune des techniques, avec le pourcentage le plus élevé pour l'automate Phoenix (84,8%). Avec les bornes cystites, la méthode des disques et le Etest® ont des pourcentages de concordance élevés, respectivement 96,2% et 91,4%.

Tableau VII : Concordances des techniques avec la microdilution manuelle

	CA(%)		
	CA-SFM2013	CA-SFM/EUCAST 2014	CA-SFM/EUCAST 2014
		(hors cystite)	(cystite)
Phoenix	82,8	84,8	NA
Etest	65,3	73,2	91,4
Disques	55	68,7	96,2

CA : Category Agreement ; NA : non applicable

Cependant, la suppression de la catégorie intermédiaire entraîne la disparition des discordances dites mineures. Les discordances sont alors classées soit en discordance majeure (ME) soit en discordance très majeure (VME). Si les taux de concordance avec la microdilution manuelle augmentent, on observe néanmoins des taux importants de VME pour toutes les techniques, surtout avec les bornes hors cystites (Tableau VIII).

Tableau VIII : Discordances très majeures en comparaison avec la microdilution manuelle

	VME (%)		
	CA-SFM2013	CA-SFM/EUCAST 2014	CA-SFM/EUCAST 2014
		(hors cystite)	(cystite)
Disques	22,3	31,3	3,4
Etest	4,1	26,5	8,6
Phoenix	0	9,6	NA

VME : Very Major Error ; NA : non applicable

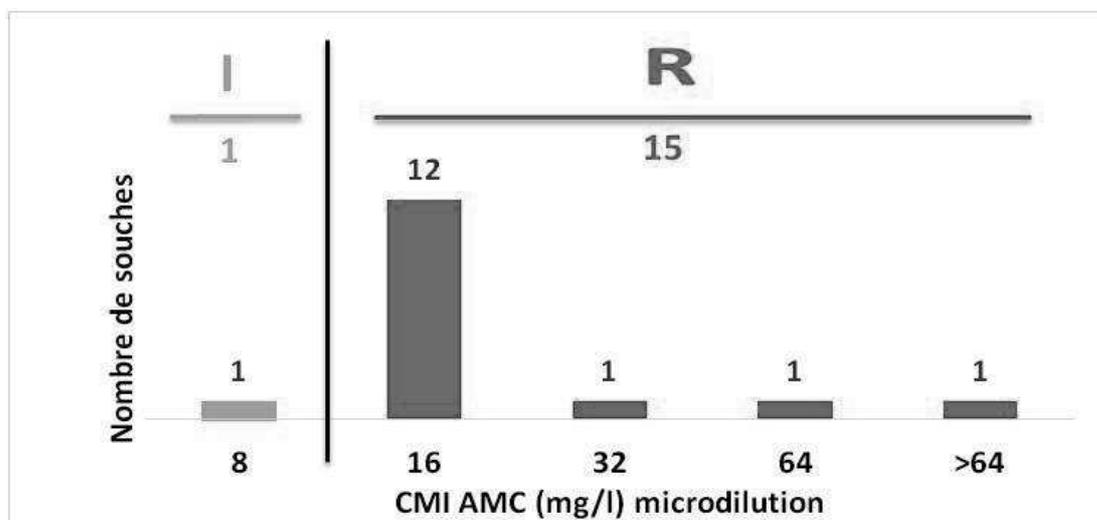
V. Résultats obtenus pour les souches de *E. coli* BLSE

L'AMC trouve un renouveau dans le traitement des IU avec l'émergence de souches de *E. coli* productrices de BLSE et les modifications des concentrations critiques. Il apparaît comme une alternative dans les recommandations 2014 de la SPILF pour le traitement des PNA à *E. coli* BLSE après documentation microbiologique ainsi que pour la prise en charge des cystites aiguës à risque de complication à *E. coli* BLSE, lorsque la nitrofurantoïne et le pivmécillinam ne peuvent être utilisés.

1. Catégorisation 2013

Sur les 291 souches de *E. coli*, 16 souches sont productrices d'une BLSE, soit 5,5% de la population étudiée.

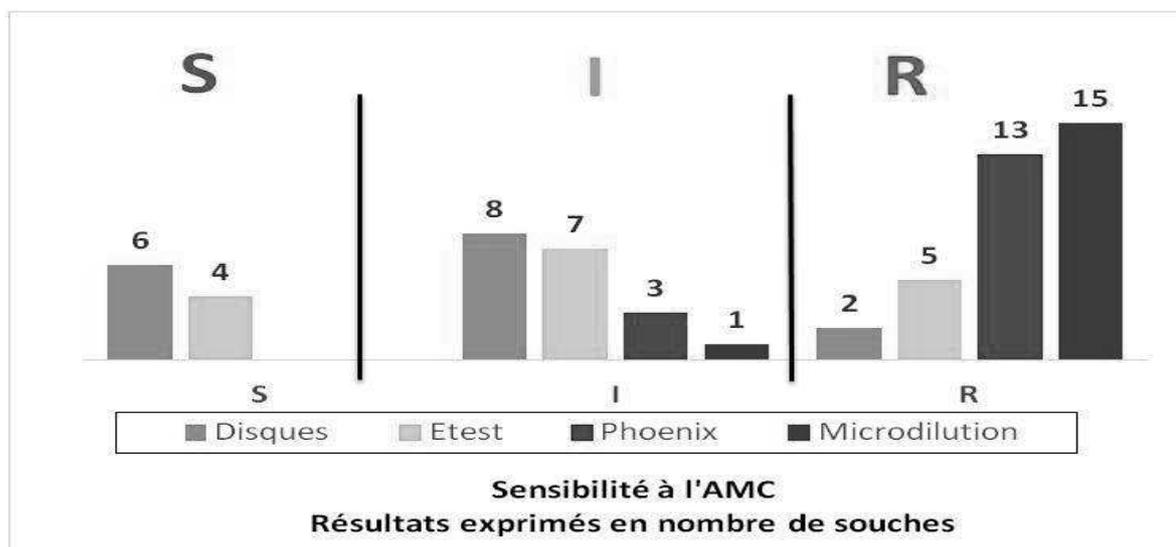
Pour les 16 souches de *E. coli* BLSE, les CMI mesurées par microdilution manuelle s'étendent de 8 mg/l à plus de 64 mg/l (Figure 22), la CMI₅₀ à l'AMC est égale à 16 mg/l et la CMI₉₀ à 64 mg/l par microdilution manuelle en milieu liquide.



I : intermédiaire ; R : résistant

Figure 22 : CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* BLSE (n=16) par microdilution manuelle

Selon l'automate Phoenix, 3 souches sont intermédiaires et 13 souches sont résistantes. D'après la microdilution manuelle, 15 souches sont résistantes et 1 souche est intermédiaire. Par la méthode Etest®, 4 souches sont sensibles à l'AMC, 7 sont intermédiaires et 5 sont résistantes. Selon la méthode des disques, 2 souches de *E. coli* BLSE sont résistantes à l'AMC, 8 intermédiaires et 6 sensibles (Figure 23).



S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant

Figure 23 : Répartition de la sensibilité des souches de *E. coli* BLSE à l'AMC (n=16) selon les quatre méthodes utilisées

Ainsi, les 16 souches BLSE sont intermédiaires ou résistantes à l'AMC par les deux méthodes de microdilution en milieu liquide (automatisée et manuelle).

Enfin, 5 des 16 souches BLSE sont résistantes à l'AMC par les 3 techniques de détermination de la CMI (microdilution manuelle, automate Phoenix et Etest®) et seulement 2 souches par les 4 techniques testées.

En résumé, pour la détermination de la sensibilité des souches de *E. coli* productrices de BLSE vis-à-vis de l'AMC, l'automate Phoenix et la microdilution manuelle donnent des résultats assez concordants en détectant une sensibilité diminuée à l'AMC (souches intermédiaires ou résistantes) pour les 16 souches. La concordance entre l'automate Phoenix et la microdilution manuelle pour les souches de *E. coli* BLSE est évaluée à 87,5% contre seulement 31,25% pour le Etest® et 12,5% pour la méthode des disques (Tableau IX).

Tableau IX : Concordances, discordances très majeures, majeures et mineures des différentes techniques de détermination de la sensibilité avec la microdilution manuelle pour les souches de *E. coli* BLSE (n=16). Résultats exprimés en pourcentage.

	CA (%)	VME (%)	ME (%)	mE (%)
Disques	12,5	18,75	0	68,75
Etest	31,25	6,25	0	62,5
Phoenix	87,5	0	0	12,5

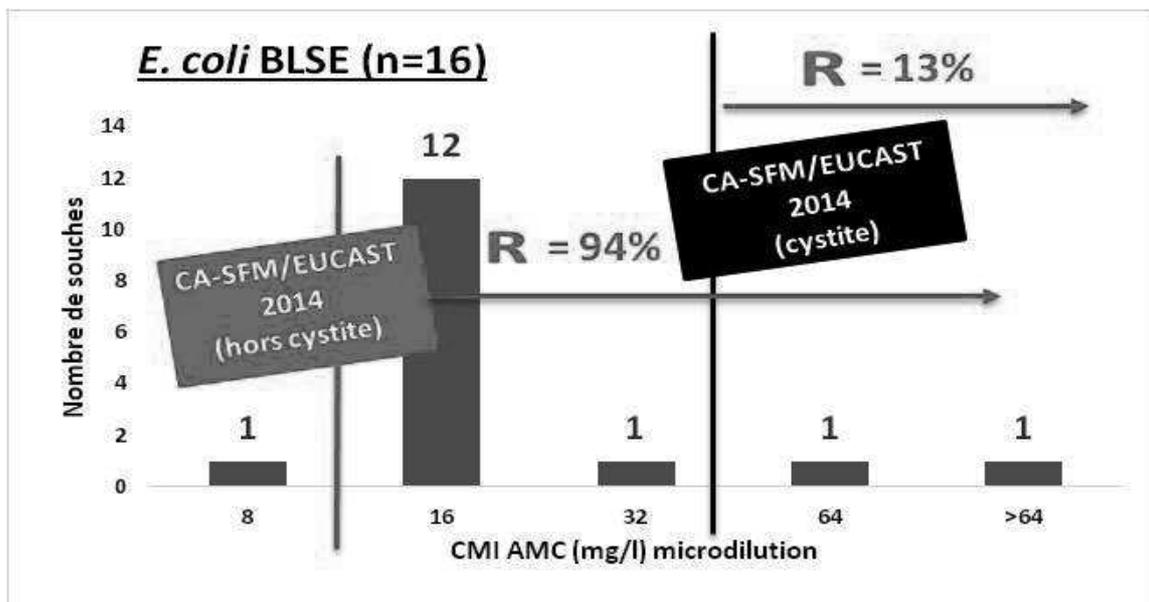
CA : category agreement; VME : Very Major Error; ME : Major Error; mE : minor Error

Des discordances importantes entre les techniques sont observées. Ainsi, 62,5% d'erreurs mineures sont recensées pour le Etest® et 68,75% pour la méthode des disques. De plus, 18,75% de discordances très majeures sont mises en évidence entre la méthode des disques et la microdilution manuelle pour les souches de *E. coli* BLSE.

2. Catégorisation 2014

La concentration critique CA-SFM/EUCAST 2014 hors cystites ne modifie pas le pourcentage de souches de *E. coli* BLSE résistantes à l'AMC en comparaison avec les concentrations critiques CA-SFM 2013 (94% de résistance dans les deux cas).

Par contre, la concentration critique cystites CA-SFM/EUCAST 2014 (32 mg/l) entraîne une augmentation de la sensibilité des souches de *E. coli* BLSE à l'AMC avec 87% de souches sensibles contre aucune souche sensible avec les concentrations critiques CA-SFM 2013 par microdilution manuelle (Figure 24). La résistance à l'AMC est donc estimée à 13% avec la concentration critique cystites CA-SFM/EUCAST 2014.



R : résistant

Figure 24 : CMI AMC (mg/l) des souches de *E. coli* BLSE (n=16) par microdilution manuelle. Interprétation selon les critères CA-SFM/EUCAST 2014.

DISCUSSION

La sensibilité des souches de *E. coli* urinaires à l'AMX a été évaluée à 44,3% dans notre étude, soit un total de 129 souches sans résistance acquise aux bêta-lactamines sur les 291 étudiées. Ce pourcentage de sensibilité est conforme aux données de la littérature qui décrit entre 40% et 60% de souches de *E. coli* isolées d'IU sensibles à l'AMX (18)(11)(13). Pour ces souches, les diamètres d'inhibition à l'AMC se distribuent selon une répartition unimodale, de 25 mm à 32 mm avec un diamètre médian de 28 mm. La CMI₅₀ à l'AMC est égale à 4 mg/l par automate Phoenix et à 3 mg/l par Etest®. Ces valeurs de CMI₅₀ semblent comparables même si le Phoenix ne teste que deux concentrations (2 mg/l et 4 mg/l) dans sa gamme de dilutions en dessous de la concentration critique de sensibilité (8 mg/l) alors que les valeurs du Etest® s'étendent sur une plus grande échelle. Pour les souches sensibles à l'AMX, aucune discordance n'est relevée concernant les résultats de sensibilité à l'AMC obtenus par les différentes techniques. Les souches sensibles à l'AMX et à l'AMC par automate Phoenix le sont également par la méthode des disques et par Etest® à l'exception de 2 souches (sensibles à l'AMX et intermédiaires à l'AMC par Etest®). Pour les souches de *E. coli* sans résistance acquise aux bêta-lactamines, les résultats de sensibilité obtenus pour l'AMC semblent fiables quelle que soit la méthode employée, même si ces souches n'ont pas été contrôlées par microdilution manuelle dans le cadre de notre étude.

Des discordances entre les techniques émergent par contre pour les souches non sensibles à l'AMX ce qui se traduit sur le pourcentage de sensibilité à l'AMC qui est évalué à 46% par automate Phoenix, 48,8% par microdilution manuelle, 55,3% par Etest® et 83,8% par la méthode des disques. Le taux de sensibilité à l'AMC varie nettement entre les techniques en milieu liquide et les techniques en milieu gélosé en particulier la méthode des disques. En se comparant à la méthode de microdilution prise comme référence, nous obtenons des taux de discordances parfois élevés. Ces discordances résident principalement en un pourcentage élevé de VME (souches résistantes rendues sensibles). Le pourcentage de VME le plus élevé concerne la méthode des disques avec 22,3% contre 4,1% pour le Etest® et 0% pour le Phoenix. Par ailleurs, nous observons également des taux de discordances mineurs importants qui varient de 16,9% par automate Phoenix, à 22,7% par la méthode des disques, et 30,6% par Etest®. Au total, le pourcentage de concordance entre l'automate Phoenix et la microdilution manuelle est de 82,8% tandis qu'il chute à 65,3% pour le Etest® et à 55% pour la méthode des disques. L'automate

Phoenix s'approche donc au plus près des résultats obtenus par microdilution manuelle tandis que la méthode des disques s'en éloigne assez largement comme le soulignent les coefficients Kappa (K). Si les taux de discordances majeures (ME : souches sensibles rendues résistantes) pour les trois techniques sont inférieurs au seuil de 7% fixé par la FDA, il n'en est pas de même des pourcentages de VME qui doivent être $\leq 3\%$ selon la FDA (56). Ce critère est respecté pour l'automate Phoenix (0%) mais pas pour le Etest® (4,1%) ni pour la méthode des disques (22,3%) qui dépasse très largement ce seuil avec les recommandations CA-SFM 2013. Il est à noter qu'avec les concentrations et diamètres critiques CA-SFM/EUCAST 2014 (hors cystites), toutes les techniques ont alors un pourcentage de VME anormalement élevé allant de 9,6% pour le Phoenix à 31,3% pour la méthode des disques qui est lié à la suppression de la catégorisation intermédiaire.

Peu d'études publiées comparent les différentes méthodes d'antibiogramme à la microdilution manuelle dans le but d'évaluer la sensibilité à l'AMC de souches de *E. coli* urinaires. Menozzi et al. (10) ont comparé l'automate Phoenix à la microdilution manuelle pour la détermination de la sensibilité antimicrobienne à l'AMC (ainsi qu'à d'autres antibiotiques). Pour la famille des entérobactéries toutes espèces confondues, la concordance entre les deux méthodes est élevée (supérieure à 95%) et les discordances majeures et mineures sont respectivement de 1,1% et 2,4%. Ces résultats diffèrent des nôtres avec un pourcentage de concordance inférieur pour notre travail (82,8%) et un taux de discordances mineures nettement supérieur (16,9%). Cependant, l'étude de Menozzi et al. ne faisait pas de distinction entre les différentes espèces d'entérobactéries (102 souches de *E. coli* et 282 souches d'autres espèces d'entérobactérie). Dans ce travail, Menozzi et al. concluaient à des performances satisfaisantes de l'automate Phoenix pour la détermination de la sensibilité antimicrobienne à l'AMC.

Alors qu'au laboratoire, la méthode des disques fait office de méthode de contrôle de l'automate Phoenix, il est surprenant d'observer que le pourcentage de concordance entre les deux techniques n'est que de 55%. Ce pourcentage de concordance est faible et il est associé à des taux de VME et mE élevés : respectivement 22,3% et 22,7%. Des discordances mineures importantes (19%) entre ces deux techniques ont déjà été rapportées dans l'étude de Donay et al. (6) mais aucune discordance majeure n'avait été relevée. Ce travail portait toutefois sur un plus petit nombre de souches cliniques de *E. coli* (55) pour lesquelles le site d'isolement n'était pas précisé. Si la méthode des disques et le Etest® sont largement utilisés dans les laboratoires de bactériologie, néanmoins, la concordance entre ces deux techniques, notamment lorsqu'il s'agit de la catégorisation des souches de

E. coli vis-à-vis de l'AMC, a déjà été remise en question (11). Dans notre étude, la méthode des disques détecte davantage de souches sensibles à l'AMC par rapport au Etest® et aux autres techniques en milieu liquide. Une explication proposée est que le milieu liquide détecterait mieux les céphalosporinases constitutives de type AmpC produites à bas niveau tandis que les méthodes de diffusion en milieu gélosé y seraient moins sensibles (9). De plus, au vu des résultats de notre travail, il est possible de penser qu'il pourrait en être de même pour les pénicillinases, pouvant être exprimées à bas ou haut niveau avec un impact plus ou moins important sur la sensibilité *in vitro* à l'AMC. Le milieu liquide semblerait détecter davantage de pénicillinases produites à haut niveau tandis que le milieu gélosé serait moins sensible à ce niveau d'expression.

Nous pouvons constater que le choix de la technique de détermination de la sensibilité antimicrobienne a un impact sur les données de sensibilité et de résistance. Dans notre étude, les résultats de sensibilité discutés seront ceux obtenus par la microdilution manuelle, étant donné qu'il s'agit de la méthode de référence. D'après notre travail, 48,8% des souches de *E. coli* urinaires sont sensibles à l'AMC, 37,8% des souches sont résistantes et 13,4% sont intermédiaires avec les concentrations critiques CA-SFM 2013, le pourcentage de résistance à l'AMC restant inchangé avec les concentrations critiques CA-SFM/EUCAST 2014 hors cystite. Dans une étude multicentrique menée en Espagne dans sept hôpitaux universitaires (31), la prévalence de la résistance de *E. coli* à l'AMC a été estimée à 9,3% et il s'agissait principalement de souches de *E. coli* urinaires (65,9% des cas). Ce pourcentage de résistance allait de 3,3% à 13,5% en sachant que selon les sites, la méthode de détermination de la sensibilité différait (méthode des disques ou dilution automatisée en milieu liquide). Ces chiffres sont toutefois bien inférieurs à ceux de notre étude. Le réseau MEDQUAL (réseau travaillant principalement en collaboration avec les laboratoires de ville) rapporte une augmentation de la résistance de *E. coli* à l'AMC, avec un taux de souches non sensibles passant de 20% en 2005-2006 à plus de 30% en 2011 soit des chiffres similaires aux nôtres en microdilution manuelle. Juste avant les années 2000, la prévalence de la résistance de *E. coli* à l'AMC était évaluée à environ 16% s'agissant de souches isolées d'ECBU et collectées en milieu hospitalier (30). La sensibilité antimicrobienne de ces souches avait été déterminée par la méthode des disques. Si on compare ce chiffre à celui obtenu pour notre étude par microdilution manuelle (37,8%), on constate une augmentation de la résistance de *E. coli* à l'AMC entre 2000 et aujourd'hui. Cependant, si on le compare à celui que nous obtenons avec la méthode des disques (5,5%), la proportion de souches de *E. coli* résistantes à l'AMC aurait été divisée par trois ces dix dernières années, ce qui est en désaccord avec les données actuelles

d'épidémiologie. Ainsi, dans notre étude, la méthode des disques semble sous-estimer le nombre de souches de *E. coli* résistantes à l'AMC.

Les taux de résistance de *E. coli* à l'AMC rapportés dans différents travaux paraissent trop élevés pour permettre l'utilisation de l'AMC en probabiliste, comme le rappelle la conférence de la SPILF en 2014. Cependant, les nouvelles concentrations critiques CA-SFM/EUCAST 2014 qui s'appliquent à l'AMC en cas de cystites pourraient modifier la position de la SPILF au sujet de l'antibiothérapie de celles-ci, en entraînant une augmentation du nombre de souches de *E. coli* catégorisées sensibles à l'AMC. Avec les concentrations et diamètres critiques CA-SFM/EUCAST 2014 hors cystites, le pourcentage de souches de *E. coli* sensibles à l'AMC augmente pour les quatre techniques évaluées tandis que le pourcentage de souches résistantes reste lui inchangé. Les pourcentages de concordance avec la microdilution manuelle augmentent eux aussi tout étant associés à une augmentation des discordances très majeures, de 4,1% à 26,5% de VME pour le Etest® par exemple. La suppression de la catégorie intermédiaire des nouvelles recommandations conduit donc à l'amélioration des pourcentages de sensibilité, la suppression des discordances mineures mais aussi à la majoration des discordances très majeures avec le risque de classer comme sensible à l'AMC une souche résistante. Par ailleurs, l'introduction des concentrations et diamètres critiques cystites dans les recommandations CA-SFM/EUCAST 2014 amène le pourcentage de souches de *E. coli* sensibles à plus de 90% par toutes les méthodes ainsi qu'une concordance de la méthode des disques et du Etest® avec la microdilution manuelle très élevée, respectivement 96,2% et 91,4%. Ces deux techniques, utilisées quotidiennement au laboratoire de bactériologie, semblent donc pouvoir être appliquées en situation de cystite car étant bien concordantes avec la microdilution manuelle.

Dans notre étude, la méthode des disques a été réalisée selon les recommandations CA-SFM 2013 avec un inoculum de 10^6 UFC/ml. En 2014, le CA-SFM/EUCAST recommande un inoculum plus fort (10^8 UFC/ml) afin de se rapprocher des conditions *in vivo*. Il tient compte également des paramètres pharmacocinétiques et dynamiques de l'AMC caractérisé notamment par une excellente diffusion dans les urines (environ 60 à 70% d'AMX et 40 à 65% d'acide clavulanique excrétés sous forme inchangée dans les urines au cours des 6 heures suivant l'administration de comprimés d'AMC 250 mg/125 mg ou 500 mg/125 mg) (57) (58) (59). L'exploitation de nos résultats obtenus par la méthode des disques avec les recommandations CA-SFM/EUCAST 2014 peut donc être discutable en raison de l'inoculum plus faible utilisé. Toutefois, il a récemment été montré

lors de la 34^{ème} RICAI que le changement d'inoculum n'avait qu'un impact limité sur les diamètres d'inhibition obtenus (-1 mm de façon générale) tant que la charge des disques restait inchangée. Pour l'AMC la charge du disque est restée la même entre les recommandations 2013 et 2014 (20µg/10µg). Ainsi, les conclusions établies dans notre étude pour la méthode des disques avec les recommandations CA-SFM/EUCAST 2014 semblent pouvoir être prises en compte. D'un point de vue pratique, la mise en place de ces changements au sein des laboratoires de bactériologie soulève un certain nombre de questions et d'incertitudes. A ce jour, l'automate Phoenix ne peut répondre à ces nouvelles recommandations dans la mesure où la concentration maximale testée pour l'AMC est 8 mg/l, ce qui ne permet pas une interprétation en contexte de cystite où la concentration critique est 32 mg/l. De plus, il existe une difficulté liée à la mesure des diamètres d'inhibition. Ainsi, distinguer avec exactitude les deux diamètres critiques nouvellement instaurés (cystites 16 mm et hors cystites 17 mm) peut paraître délicat quand on sait que l'écart type des mesures du diamètre d'inhibition à l'AMC sur une souche contrôle testée de façon hebdomadaire est de +/- 1 mm.

Dans son rapport de 2014, la SPILF fait remarquer que « l'augmentation attendue du nombre de souches catégorisées sensibles [avec les nouvelles recommandations CA-SFM/EUCAST 2014 cystites] devrait permettre de rediscuter ultérieurement le positionnement de l'AMC dans la cystite ». En effet, dans notre étude, en contexte de cystite, le pourcentage de souches sensibles à l'AMC est évalué à plus de 90%, ce qui permettrait d'envisager une utilisation de cet antibiotique dans la cystite en probabiliste, d'autant plus que son efficacité dans le traitement des cystites a déjà été rapportée (58). Dans les années 1990, les taux de succès cliniques et bactériologiques ont été évalués entre 70% et 100% selon les études. Dans la plupart de ces études, l'AMC était administré en traitement probabiliste. Les taux de réponse favorable étaient plus élevés pour les cystites simples que pour les cystites avec risque de complication. Par ailleurs, l'AMC était supérieur en efficacité à l'AMX ainsi qu'au triméthoprim-sulfaméthoxazole dans le traitement des cystites. Des études plus récentes (après les années 2000) rapportent des taux de résistance de *E. coli* à l'AMC inférieurs à 10%. C'est le cas de l'étude ARESC (33) qui s'intéresse aux cystites non compliquées de la femme et de l'étude de Linhares et al. (60) qui concerne toutes les IU communautaires, avec respectivement 3,8% et 7,5% des souches de *E. coli* résistantes à l'AMC. Cependant, peu d'études font un état des lieux des succès cliniques et bactériologiques obtenus avec l'AMC dans le traitement des cystites ces dernières années. Par ailleurs, l'impact de l'AMC sur le microbiote digestif n'est pas négligeable. Le traitement des IU par AMC semble être un facteur de risque pour les

patients à développer un portage digestif ultérieur de souches résistantes à l'AMC selon l'étude de Leflon-Guibout et al. (30). De plus, l'AMC est une molécule précieuse, active sur de nombreuses espèces bactériennes et largement utilisée pour la prise en charge d'infections communautaires et nosocomiales. Ainsi, son repositionnement dans les cystites ne risque-t-il pas de favoriser l'émergence de souches de *E. coli* résistantes et compromettre ainsi son efficacité dans des situations où son usage paraît bénéfique, à l'heure où des molécules à l'impact écologique plus faible sont disponibles et efficaces dans les cystites simples à *E. coli*. C'est le cas de la fosfomycine-trométamol (1^{ère} intention) et du pivmécillinam (2^{ème} intention) qui a bénéficié d'un « repositionnement » dans le traitement de la cystite simple en 2014 (51) et dont l'efficacité a déjà été démontrée (13)(61)(62). Dans l'étude ARESC menée entre 2003 et 2006, la fosfomycine, le pivmécillinam et la nitrofurantoïne sont les trois antibiotiques les plus actifs sur les souches de *E. coli* urinaires isolées de cystites non compliquées chez des femmes âgées de 18 ans à 65 ans (33).

Concernant les souches de *E. coli* BLSE, dont la prévalence de 5,5% est en accord avec les données nationales, le phénotype de résistance aux bêta-lactamines déterminé par l'automate Phoenix est systématiquement contrôlé par la méthode des disques au laboratoire. Dans notre étude, il y a une concordance de 100% pour la détection des *E. coli* BLSE entre l'automate Phoenix et la méthode des disques. L'automate Phoenix semble être un outil fiable pour détecter les souches de *E. coli* productrices de BLSE, comme cela a déjà été démontré auparavant (63). Toutefois, l'effectif de souches de *E. coli* BLSE pour notre étude est restreint (n=16) et ces résultats mériteraient d'être confirmés sur un plus grand nombre de souches. Concernant ces souches BLSE, la concordance entre la microdilution manuelle et l'automate Phoenix est supérieure à celles obtenues avec le Etest® et la méthode des disques. De plus, le pourcentage de discordances très majeures est le plus élevé avec la méthode des disques (18,75%), qui détecte un plus grand nombre de souches de *E. coli* BLSE sensibles à l'AMC. D'après la microdilution manuelle, les 16 souches de *E. coli* BLSE sont toutes de sensibilité diminuée à l'AMC. La sensibilité des souches de *E. coli* BLSE à l'AMC varie selon les études, mais il semblerait qu'elles soient généralement assez résistantes, notamment les souches productrices d'enzymes CTX-M (47). Une étude à Besançon retrouve, elle, une sensibilité de seulement 40% (29). Si l'on applique les concentrations critiques cystites CA-SFM/EUCAST 2014, alors seulement 2 souches sont résistantes à l'AMC par microdilution manuelle (soit 13% de résistance *versus* 94% de résistance auparavant avec le CA-SFM 2013). Ceci laisse envisager une utilisation possible de l'AMC en situation de cystite à *E. coli* BLSE sur la base des

données de sensibilité *in vitro*. Actuellement, la pipéracilline-tazobactam est active sur plus de 80% des souches de *E. coli* BLSE et le pivmécillinam sur 70% à 90% de ces mêmes souches (51). L'AMC pourrait donc constituer une alternative intéressante pour le traitement des cystites (simples et à risque de complications) à *E. coli* BLSE (64), même si les antibiotiques à spectre étroit restent à privilégier.

Avec l'introduction d'une concentration critique et d'un diamètre critique uniques et donc la suppression de la catégorie intermédiaire dans les recommandations CA-SFM/EUCAST 2014, les pourcentages de VME (souches résistantes rendues sensibles) sont très élevés hors contexte cystite, quelle que soit la technique utilisée, ce qui pose le problème de l'adéquation des diamètres avec les concentrations critiques. Au vu de nos résultats, d'autres diamètres critiques permettraient une meilleure concordance et ce quelle que soit la technique utilisée (Figure 25) (page 52). En effet, toutes les souches sensibles à l'AMX (n=129) ont un diamètre d'inhibition à l'AMC > 25 mm. En outre, elles sont toutes sensibles en techniques Phoenix et Etest® avec des CMI ≤ 8 mg/l. La majorité des souches résistantes à l'AMX et sensibles à l'AMC qui ont un diamètre d'inhibition > 25 mm sont également catégorisées sensibles par microdilution manuelle. Notre analyse par courbe ROC trouve quant à elle un diamètre d'inhibition à l'AMC de 25 mm comme seuil diagnostique de sensibilité avec le meilleur compromis en termes de sensibilité et spécificité, et en prenant comme concentration critique celle du CA-SFM/EUCAST 2014 hors cystite (8 mg/l). Ainsi un diamètre critique « haut » > 25 mm permettrait d'obtenir une excellente concordance entre toutes les techniques (100%) et de réduire considérablement le pourcentage de VME (souches rendues sensibles par la méthode des disques mais résistantes par microdilution manuelle) : 1% contre plus de 30% avec le diamètre critique unique de 17 mm. Ce taux de VME serait inférieur au seuil de 3% recommandé par la FDA. En proposant ce diamètre critique de 25 mm, le pourcentage de souches sensibles à l'AMC serait de 50%, et plus proche des pourcentages de sensibilité obtenus par les autres techniques.

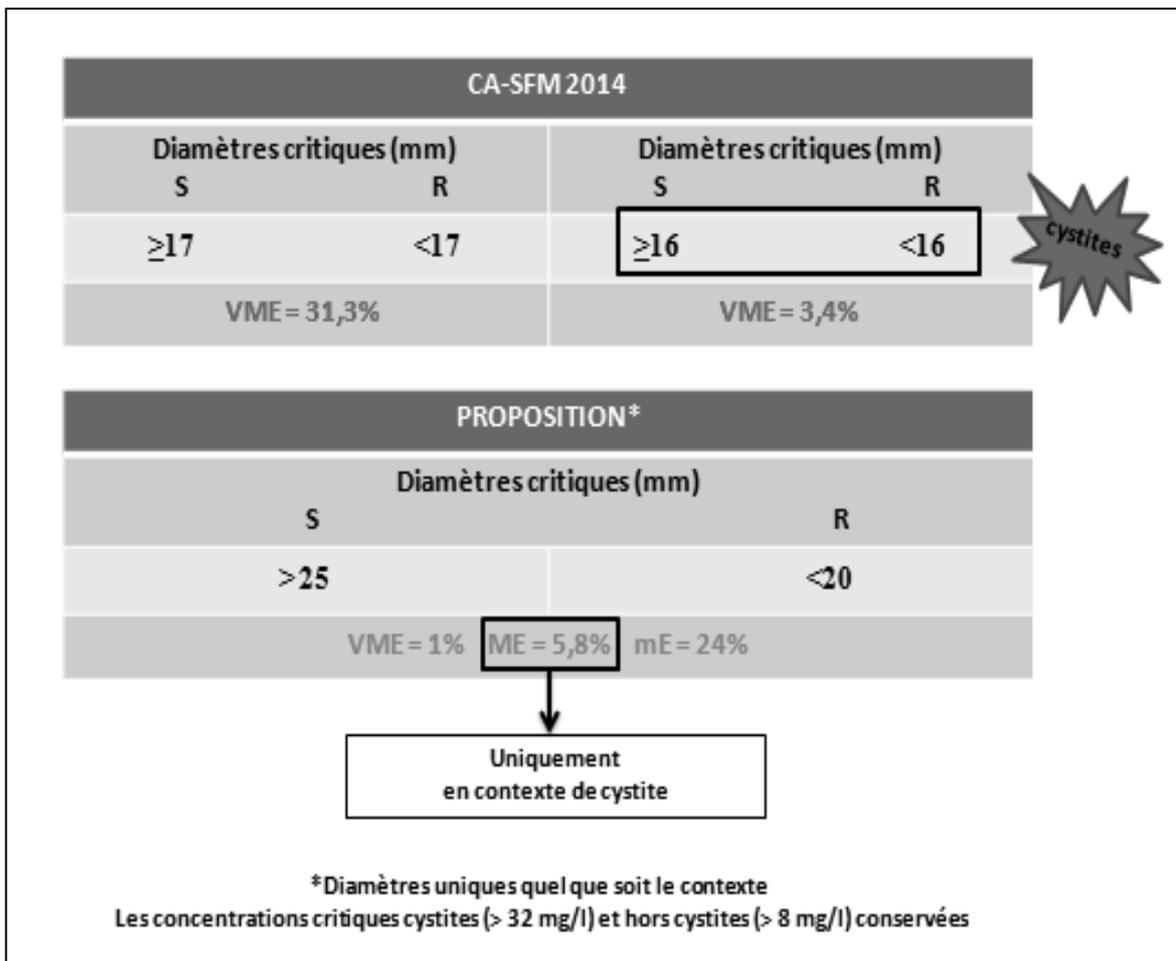
Par ailleurs, les souches de *E. coli* résistantes à l'AMC par la méthode des disques avec un diamètre d'inhibition < 16 mm sont toutes résistantes à l'AMC par les trois autres techniques testées. En prenant ce diamètre critique, recommandé par le CASFM en 2013, nous retrouvons 5,5% de souches de *E. coli* urinaires résistantes à l'AMC, ce qui est bien inférieur au taux de résistance retrouvé par microdilution manuelle (37,8%). La méthode des disques semblerait donc sous-estimer la résistance à l'AMC avec ce diamètre. De façon identique, toutes les souches ayant un diamètre d'inhibition < 17 mm sont classées

résistantes à l'AMC par les trois autres techniques ainsi que celles ayant des diamètres < 18 mm et < 19 mm. Actuellement, le CA-SFM/EUCAST recommande un diamètre critique unique (souche catégorisée sensible ou résistante), fixé à 17 mm hors cystite simple ce qui classe 6,5% des souches comme résistantes à l'AMC et amène le taux de VME (souches rendues sensibles par la méthode des disques mais résistantes par microdilution manuelle) à 31,3%. *A contrario*, si l'on prenait un diamètre critique « bas » < 20 mm, on obtiendrait un taux de VME égal à 0% avec une excellente concordance avec les autres techniques. Le pourcentage obtenu de souches de *E. coli* urinaires résistantes à l'AMC serait de 12,7% et donc plus cohérent avec les chiffres de la littérature (30)(31). Il est intéressant de noter que par une analyse de type courbe ROC, ce diamètre critique de 20 mm est celui obtenu comme seuil diagnostique pour permettre d'identifier les souches résistantes à l'AMC, avec le meilleur compromis en termes de sensibilité et spécificité, et ce en prenant la concentration critique cystites (CMI > 32mg/l). Parmi les 37 souches ayant un diamètre d'inhibition à l'AMC < 20 mm, 20 ont une CMI à l'AMC > 32 mg/l par microdilution manuelle. Avec ce diamètre critique, seulement 17 souches seraient incorrectement catégorisées en contexte de cystite (souches rendues résistantes alors que sensibles) entraînant 5,8% de ME. Avec ce diamètre critique « bas » < 20 mm, le taux de VME serait nul alors qu'il est de 3,4% avec le diamètre critique actuel < 16 mm en contexte de cystite. En 2012, le BSAC (The British Society for Antimicrobial Chemotherapy) a retenu ce diamètre de 20 mm comme nouveau diamètre critique en remplacement du préalable (14 mm), mais paradoxalement l'équipe de Bond et al. a observé une augmentation du pourcentage de souches résistantes et de VME (65).

Pour ce qui est des souches ayant des diamètres d'inhibition à l'AMC compris entre 20 mm et 25 mm, 58% sont résistantes à l'AMC par microdilution manuelle avec des CMI à l'AMC > 8 mg/l et 42% sont sensibles à l'AMC par microdilution manuelle avec des CMI ≤ 8 mg/l. Dans cet intervalle, on recense donc autant de souches sensibles que de souches résistantes par microdilution manuelle avec des CMI à l'AMC très variables, allant de 8 mg/l à 64 mg/l. Ainsi, au vu de ces résultats, nous proposons une catégorie intermédiaire pour les diamètres d'inhibition à l'AMC compris entre 20 mm et 25 mm pour laquelle il serait nécessaire de déterminer la CMI en vue d'une utilisation en contexte d'IU. En termes de disconcordance, on obtiendrait 24% de mE dans notre travail (souches rendues intermédiaires mais sensibles ou résistantes par microdilution manuelle). Ceci pourrait constituer un « compromis » afin d'alerter sur un possible risque d'échec thérapeutique tout en ne compromettant pas totalement l'utilisation de l'AMC.

Au total, d'après notre travail, en l'absence de résistance acquise aux bêta-lactamines, la méthode des disques reste une technique fiable pour la détermination de la sensibilité à l'AMC et en cas de résistance acquise dès lors que le diamètre d'inhibition à l'AMC est > 25 mm. De même, lorsque la méthode des disques détecte une résistance à l'AMC avec le diamètre critique actuellement recommandé (< 17 mm), ce résultat est fiable mais sous-estime néanmoins la résistance. Au vu de nos résultats, le diamètre critique « bas » pourrait être augmenté à 20 mm comme cela a été fait par le BSAC en 2012 (65).

L'automate Phoenix, quant à lui, semble fournir des résultats de sensibilité à l'AMC fiables. Néanmoins, concernant son utilisation, un inconvénient majeur subsiste par l'absence de test pour les valeurs hautes de CMI au-delà de 8 mg/l pour l'AMC (56) qui ne permet pas de répondre pour son utilisation en contexte de cystite.



S : sensible ; R : résistant ; ME : Major Error ; mE : minor Error ; VME : Very Major Error

Figure 25 : Proposition de nouveaux diamètres critiques

CONCLUSIONS ET PERSPECTIVES

En l'état actuel des choses, la méthode des disques reste une méthode fiable pour évaluer la sensibilité des souches de *E. coli* sensibles aux bêta-lactamines, en concordance avec les autres techniques en milieu liquide et le Etest®. Les souches de *E. coli* résistantes à l'AMC par la méthode des disques avec des diamètres d'inhibition < 17 mm peuvent être rendues comme telles, dans la mesure où ces souches possèdent des CMI à l'AMC > 8 mg/l par microdilution manuelle. Il nous paraît même envisageable de déplacer ce diamètre critique jusqu'à une valeur < 20 mm, ce qui permettrait de catégoriser une souche résistante à l'AMC y compris pour le contexte de cystite, les souches ayant majoritairement des CMI > 32 mg/l. En prenant comme diamètre critique « bas » < 20 mm et diamètre critique « haut » > 25 mm pour la catégorisation des souches sensibles et résistantes, la concordance de toutes les méthodes testées dans notre étude serait largement améliorée et les pourcentages de ME et VME nettement diminués. Cependant, pour les souches de *E. coli* ayant un diamètre d'inhibition à l'AMC compris entre 20 mm et 25 mm, notre étude montre des résultats variables avec une partie des souches catégorisées résistantes et l'autre partie classée sensible par microdilution manuelle. L'introduction d'une catégorie intermédiaire entre 20 mm et 25 mm engendrerait 24% de mE mais limiterait considérablement les taux de ME et VME.

Par ailleurs, l'automate Phoenix semble être un outil fiable pour déterminer la sensibilité à l'AMC des souches de *E. coli* urinaires hors contexte de cystite. Néanmoins, des changements devront être apportés sur la galerie Phoenix pour répondre aux nouvelles recommandations CA-SFM/EUCAST 2014, concernant les concentrations critiques cystites (32 mg/l). Ainsi, à l'heure actuelle, la place des recommandations CA-SFM/EUCAST 2014 en contexte de cystite dans les laboratoires de bactériologie est discutable en raison des discordances observées entre les différentes méthodes de détermination de la sensibilité en particulier avec la méthode des disques et l'automate Phoenix.

Enfin, nos propositions de diamètres critiques mériteraient d'être testées sur un plus grand nombre de souches avec une étude bactério-clinique pour corréler les résultats de sensibilités observés à l'efficacité thérapeutique selon le contexte infectieux.

BIBLIOGRAPHIE

1. Freney J, Renaud F, Leclercq R, Riegel P. Précis de bactériologie clinique. 2e édition. Editions ESKA; 2007.
2. Gupta K, Hooton TM, Stamm WE. Increasing antimicrobial resistance and the management of uncomplicated community-acquired urinary tract infections. *Ann Intern Med.* 2001 Jul 3;135(1):41–50.
3. Dyer IE, Sankary TM, Dawson JA. Antibiotic resistance in bacterial urinary tract infections, 1991 to 1997. *West J Med.* 1998 Nov;169(5):265–8.
4. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2009 Dec 1;49(11):1749–55.
5. Baker CN, Stocker SA, Culver DH, Thornsberry C. Comparison of the E Test to agar dilution, broth microdilution, and agar diffusion susceptibility testing techniques by using a special challenge set of bacteria. *J Clin Microbiol.* 1991 Mar;29(3):533–8.
6. Winstanley T, Courvalin P. Expert systems in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev.* 2011 Jul;24(3):515–56.
7. Martin E, Nouvellon M, Pestel M, Pons JL, Lemeland JF. Evaluation of the Epsilometer test (E test) for testing the susceptibility of coagulase-negative staphylococci to teicoplanin. *J Antimicrob Chemother.* 1995 Jul;36(1):83–91.
8. Maalej SM, Meziou MR, Rhimi FM, Hammami A. Comparison of disc diffusion, Etest and agar dilution for susceptibility testing of colistin against Enterobacteriaceae. *Lett Appl Microbiol.* 2011 Nov;53(5):546–51.
9. Donay J-L, Mathieu D, Fernandes P, Prégermain C, Bruel P, Wargnier A, et al. Evaluation of the automated phoenix system for potential routine use in the clinical microbiology laboratory. *J Clin Microbiol.* 2004 Apr;42(4):1542–6.
10. Menozzi MG, Eigner U, Covan S, Rossi S, Somenzi P, Dettori G, et al. Two-center collaborative evaluation of performance of the BD phoenix automated microbiology system for identification and antimicrobial susceptibility testing of gram-negative bacteria. *J Clin Microbiol.* 2006 Nov;44(11):4085–94.
11. Ferjani A, Marzouk M, Ben Moussa F, Boukadida J. [Resistance of *Escherichia coli* isolated from the urinary tract to amoxicillin-clavulanic acid and other antibiotics]. *Médecine Mal Infect.* 2010 Mar;40(3):161–4.
12. Stamm WE, Hooton TM. Management of Urinary Tract Infections in Adults. *N Engl J Med.* 1993 Oct 28;329(18):1328–34.
13. Etienne M, Lefebvre E, Frebourg N, Hamel H, Pestel-Caron M, Caron F, et al. Antibiotic treatment of acute uncomplicated cystitis based on rapid urine test and local epidemiology: lessons from a primary care series. *BMC Infect Dis.* 2014;14:137.
14. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012.

15. Bouchillon SK, Badal RE, Hoban DJ, Hawser SP. Antimicrobial susceptibility of inpatient urinary tract isolates of gram-negative bacilli in the United States: results from the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART) program: 2009-2011. *Clin Ther*. 2013 Jun;35(6):872–7.
16. European Antimicrobial Resistance Surveillance System. Annual report. 2012 [Internet]. 2014 Dec. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net>
17. Courvalin P. LR. *Antibiogramme*. 3ème édition ESKA. 2011.
18. Fabre R, Mérens A, Lefebvre F, Epifanoff G, Cerutti F, Pupin H, et al. [Susceptibility to antibiotics of *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections]. *Médecine Mal Infect*. 2010 Oct;40(10):555–9.
19. European Antimicrobial Resistance Surveillance System. Annual report. 2008 [Internet]. 2014 Dec. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net>
20. European Antimicrobial Resistance Surveillance System. Annual report. 2011 [Internet]. 2014 Dec. Available from: <http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net>
21. Coque TM, Baquero F, Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill Bull Eur Sur Mal Transm Eur Commun Dis Bull*. 2008 Nov 20;13(47).
22. Arpin C, Quentin C, Grobost F, Cambau E, Robert J, Dubois V, et al. Nationwide survey of extended-spectrum {beta}-lactamase-producing Enterobacteriaceae in the French community setting. *J Antimicrob Chemother*. 2009 Jun;63(6):1205–14.
23. Caillon J. Enquête transville 2012 - résistance dans les laboratoires de ville. RICA; 2013; Paris.
24. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev*. 2005 Oct;18(4):657–86.
25. HAS, Commission de la transparence, avis du 5 mai 2004 à propos de l'augmentin. [Internet]. 2014. Available from: <http://www.has-sante.fr>
26. HAS, Commission de la transparence, avis du 17 janvier 2007 à propos de l'augmentin. [Internet]. 2014. Available from: <http://www.has-sante.fr>
27. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev*. 2001 Oct;14(4):933–51, table of contents.
28. Hawkey PM, Jones AM. The changing epidemiology of resistance. *J Antimicrob Chemother*. 2009 Sep;64 Suppl 1:i3–10.
29. Fournier D, Chirouze C, Leroy J, Cholley P, Talon D, Plésiat P, et al. Alternatives to carbapenems in ESBL-producing *Escherichia coli* infections. *Médecine Mal Infect*. 2013 Feb;43(2):62–6.
30. Leflon-Guibout V, Ternat G, Heym B, Nicolas-Chanoine M-H. Exposure to co-amoxiclav as a risk factor for co-amoxiclav-resistant *Escherichia coli* urinary tract infection. *J Antimicrob Chemother*. 2002 Feb;49(2):367–71.

31. Ortega A, Oteo J, Aranzamendi-Zaldumbide M, Bartolomé RM, Bou G, Cercenado E, et al. Spanish multicenter study of the epidemiology and mechanisms of amoxicillin-clavulanate resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2012 Jul;56(7):3576–81.
32. Martín O, Valverde A, Morosini MI, Rodríguez-Domínguez M, Rodríguez-Baños M, Coque TM, et al. Population analysis and epidemiological features of inhibitor-resistant-TEM-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* isolates from both community and hospital settings in Madrid, Spain. *J Clin Microbiol*. 2010 Jul;48(7):2368–72.
33. Schito GC, Naber KG, Botto H, Palou J, Mazzei T, Gualco L, et al. The ARESC study: an international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections. *Int J Antimicrob Agents*. 2009 Nov;34(5):407–13.
34. Robin F, Gibold L, Bonnet R. Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? *Rev Francoph Lab*. 42(445):47–58.
35. Caroff N, Espaze E, Gautreau D, Richet H, Reynaud A. Analysis of the effects of –42 and –32 ampC promoter mutations in clinical isolates of *Escherichia coli* hyperproducing AmpC. *J Antimicrob Chemother*. 2000 Jun 1;45(6):783–8.
36. Miró E, Cuerpo M del, Navarro F, Sabaté M, Mirelis B, Prats G. Emergence of clinical *Escherichia coli* isolates with decreased susceptibility to ceftazidime and synergic effect with co-amoxiclav due to SHV-1 hyperproduction. *J Antimicrob Chemother*. 1998 Oct 1;42(4):535–8.
37. Waltner-Toews RI, Paterson DL, Qureshi ZA, Sidjabat HE, Adams-Haduch JM, Shutt KA, et al. Clinical characteristics of bloodstream infections due to ampicillin-sulbactam-resistant, non-extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and the role of TEM-1 hyperproduction. *Antimicrob Agents Chemother*. 2011 Feb;55(2):495–501.
38. Simpson IN, Harper PB, O’Callaghan CH. Principal beta-lactamases responsible for resistance to beta-lactam antibiotics in urinary tract infections. *Antimicrob Agents Chemother*. 1980 Jun;17(6):929–36.
39. Thomson KS, Weber DA, Sanders CC, Sanders WE. Beta-lactamase production in members of the family Enterobacteriaceae and resistance to beta-lactam-enzyme inhibitor combinations. *Antimicrob Agents Chemother*. 1990 Apr;34(4):622–7.
40. Vedel G, Belaouaj A, Gilly L, Labia R, Philippon A, Nénot P, et al. Clinical isolates of *Escherichia coli* producing TRI beta-lactamases: novel TEM-enzymes conferring resistance to beta-lactamase inhibitors. *J Antimicrob Chemother*. 1992 Oct;30(4):449–62.
41. Bergström S, Normark S. Beta-lactam resistance in clinical isolates of *Escherichia coli* caused by elevated production of the ampC-mediated chromosomal beta-lactamase. *Antimicrob Agents Chemother*. 1979 Oct;16(4):427–33.
42. Mammeri H, Eb F, Berkani A, Nordmann P. Molecular characterization of AmpC-producing *Escherichia coli* clinical isolates recovered in a French hospital. *J Antimicrob Chemother*. 2008 Mar;61(3):498–503.
43. Odeh R, Kelkar S, Hujer AM, Bonomo RA, Schreckenberger PC, Quinn JP. Broad resistance due to plasmid-mediated AmpC beta-lactamases in clinical isolates of *Escherichia coli*. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am*. 2002 Jul 15;35(2):140–5.

44. Nicolas-Chanoine MH. Inhibitor-resistant beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 1997 Jul;40(1):1–3.
45. Stapleton P, Wu PJ, King A, Shannon K, French G, Phillips I. Incidence and mechanisms of resistance to the combination of amoxicillin and clavulanic acid in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Nov;39(11):2478–83.
46. Rodríguez-Baño J, Oteo J, Ortega A, Villar M, Conejo MC, Bou G, et al. Epidemiological and clinical complexity of amoxicillin-clavulanate-resistant *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 2013 Jul;51(7):2414–7.
47. Prakash V, Lewis JS, Herrera ML, Wickes BL, Jorgensen JH. Oral and parenteral therapeutic options for outpatient urinary infections caused by enterobacteriaceae producing CTX-M extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 2009 Mar;53(3):1278–80.
48. Philippon A, Labia R, Jacoby G. Extended-spectrum beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother.* 1989 Aug;33(8):1131–6.
49. Retamar P, López-Cerero L, Muniain MA, Pascual Á, Rodríguez-Baño J, ESBL-REIPI/GEIH Group. Impact of the MIC of piperacillin-tazobactam on the outcome of patients with bacteremia due to extended-spectrum- β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013 Jul;57(7):3402–4.
50. Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Retamar P, Picón E, Pascual Á, Extended-Spectrum Beta-Lactamases–Red Española de Investigación en Patología Infecciosa/Grupo de Estudio de Infección Hospitalaria Group. β -Lactam/ β -lactam inhibitor combinations for the treatment of bacteremia due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*: a post hoc analysis of prospective cohorts. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 2012 Jan 15;54(2):167–74.
51. Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte. Mise au point 2014 [Internet]. 2014 Dec. Available from: <http://www.infectiologie.com>
52. Irvani A, Richard GA. Treatment of urinary tract infections with a combination of amoxicillin and clavulanic acid. *Antimicrob Agents Chemother.* 1982 Oct;22(4):672–7.
53. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2013 [Internet]. Available from: <http://www.sfm-microbiologie.org>
54. Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2014 version 1 [Internet]. Available from: <http://www.sfm-microbiologie.org/>
55. Landis JR, Koch GG. An application of hierarchical kappa-type statistics in the assessment of majority agreement among multiple observers. *Biometrics.* 1977 Jun;33(2):363–74.
56. Lorian V. *Antibiotics in Laboratory Medicine.* Edition 5. 2005.
57. Résumé des caractéristiques du produit Augmentin, poudre pour suspension buvable en sachet.
58. Todd PA, Benfield P. Amoxicillin/clavulanic acid. An update of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic use. *Drugs.* 1990 Feb;39(2):264–307.

59. Witkowski G, Lode H, Höffken G, Koeppe P. Pharmacokinetic studies of amoxicillin, potassium clavulanate and their combination. *Eur J Clin Microbiol.* 1982 Aug;1(4):233–7.
60. Linhares I, Raposo T, Rodrigues A, Almeida A. Frequency and antimicrobial resistance patterns of bacteria implicated in community urinary tract infections: a ten-year surveillance study (2000-2009). *BMC Infect Dis.* 2013;13:19.
61. Bugier S. Sensibilité au pivmécillinam de *Escherichia coli* dans les cystites communautaires : étude rétrospective avec la méthodologie CASFM-EUCAST 2014. 34ème RICAI; 2014 Nov 27; Paris.
62. Nicolle LE. Pivmecillinam in the treatment of urinary tract infections. *J Antimicrob Chemother.* 2000 Sep;46 Suppl 1:35–9; discussion 63–5.
63. Sanguinetti M, Posteraro B, Spanu T, Ciccaglione D, Romano L, Fiori B, et al. Characterization of clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from Italy by the BD Phoenix extended-spectrum beta-lactamase detection method. *J Clin Microbiol.* 2003 Apr;41(4):1463–8.
64. Rodríguez-Baño J, Alcalá JC, Cisneros JM, Grill F, Oliver A, Horcajada JP, et al. Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med.* 2008 Sep 22;168(17):1897–902.
65. Bond A, Plumb H, Turner P. Susceptibility testing of *Escherichia coli* isolates from urines: are we at risk of reporting false antibiotic resistance to co-amoxiclav? *J Antimicrob Chemother.* 2012 Jun 1;67(6):1557–8.

SERMENT DE GALIEN

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

D'exercer dans l'intérêt de la Santé publique ma profession avec conscience et de respecter non seulement la législation en vigueur mais aussi les règles de l'Honneur, de la Probité et du Désintéressement.

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers le malade et sa dignité humaine.

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

En aucun cas, je ne consentirai 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 manque à mes engagements.



RESUME

Notre étude a porté sur 291 souches de *Escherichia coli* consécutives isolées d'infections urinaires entre novembre 2013 et janvier 2014 au laboratoire de bactériologie du CHU de Rouen. La sensibilité à l'amoxicilline-acide clavulanique (AMC) a été déterminée par quatre méthodes : la dilution en milieu liquide par automate Phoenix, le Etest®, la méthode des disques et la microdilution manuelle.

Les CMI₅₀ et les CMI₉₀ à l'AMC sont variables, allant de 4 mg/l à 8 mg/l pour la CMI₅₀ et de 12 mg/l à 32 mg/l pour la CMI₉₀.

En appliquant les critères CA-SFM 2013, les taux de sensibilité des souches de *E. coli* à l'AMC varient nettement selon la technique utilisée, allant de 46% par automate Phoenix, 48,8% par microdilution manuelle, 55,3% par Etest et jusqu'à 83,3% par la méthode des disques. La méthode Phoenix est la mieux corrélée avec la microdilution manuelle avec un pourcentage de concordance évalué à 82,8% et aucune discordance très majeure détectée. Le Etest® et la méthode des disques présentent des taux de discordances très majeures de 4,1% et 22,3%, dépassant le seuil de 3% recommandé.

Les souches de *E. coli* BLSE, dont la prévalence a été évaluée à 5,5%, sont toutes non sensibles à l'AMC par microdilution en milieu liquide. Avec les concentrations critiques cystites 2014, seules 2 souches restent catégorisées résistantes à l'AMC.

Avec les critères CA-SFM/EUCAST 2014, les pourcentages de souches de *E. coli* sensibles à l'AMC augmentent pour les quatre techniques, dépassant même 90% en contexte de cystite.

Avec l'introduction d'une concentration critique et d'un diamètre critique uniques en 2014, les pourcentages de VME sont très élevés hors contexte cystite, ce qui pose le problème de l'adéquation des diamètres avec les concentrations critiques. Ainsi, nous proposons comme diamètre critique « bas » < 20 mm et diamètre critique « haut » > 25 mm, ce qui permettrait une amélioration de la concordance de toutes les méthodes et une diminution des pourcentages de ME et VME.

Mots-clés : *Escherichia coli*, amoxicilline-acide clavulanique, infections urinaires, microdilution manuelle, méthode des disques, CA-SFM.