



HAL
open science

Étude de la sensibilité aux antibiotiques par méthode semi-automatisée en milieu liquide de 293 souches consécutives de Escherichia coli isolées d'ECBU au CHU de Rouen : apport de la méthode E-Test® pour l'évaluation de la sensibilité à l'association amoxicilline-acide clavulanique

Gaëtan Bourgoïn

► **To cite this version:**

Gaëtan Bourgoïn. Étude de la sensibilité aux antibiotiques par méthode semi-automatisée en milieu liquide de 293 souches consécutives de Escherichia coli isolées d'ECBU au CHU de Rouen : apport de la méthode E-Test® pour l'évaluation de la sensibilité à l'association amoxicilline-acide clavulanique. Sciences pharmaceutiques. 2016. dumas-01413493

HAL Id: dumas-01413493

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01413493>

Submitted on 13 Jan 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

UNIVERSITE DE ROUEN
UFR DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 2015-2016

N°

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 05 juillet 2016

par

BOURGOIN Gaëtan

Né le 01 mai 1990 à Rouen

Etude de la sensibilité aux antibiotiques par méthode semi-automatisée en milieu liquide de 293 souches consécutives de Escherichia coli isolées d'ECBU au CHU de Rouen ; apport de la méthode E-Test® pour l'évaluation de la sensibilité à l'association amoxicilline-acide clavulanique

Président du jury : *Madame PESTEL-CARON Martine, PU-PH*

Membres du jury : *Madame THARASSE Christine, MCF*

Madame HAIMET Christine, Docteur en Pharmacie

UNIVERSITE DE ROUEN
UFR DE MEDECINE ET DE PHARMACIE

Année 2015-2016

N°

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 05 juillet 2016

par

BOURGOIN Gaëtan

Né le 01 mai 1990 à Rouen

Etude de la sensibilité aux antibiotiques par méthode semi-automatisée en milieu liquide de 293 souches consécutives de Escherichia coli isolées d'ECBU au CHU de Rouen ; apport de la méthode E-Test® pour l'évaluation de la sensibilité à l'association amoxicilline-acide clavulanique

Président du jury : *Madame PESTEL-CARON Martine, PU-PH*

Membres du jury : *Madame THARASSE Christine, MCF*

Madame HAIMET Christine, Docteur en Pharmacie

REMERCIEMENTS

A Madame Pestel-Caron,

Je vous remercie d'avoir accepté d'encadrer cette thèse et de présider le jury. Veuillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude pour vos conseils et votre patience.

A Madame Tharasse,

Je vous remercie d'avoir accepté de participer à la soutenance de cette thèse. Merci pour la qualité de votre enseignement.

A Madame Haimet,

Merci d'avoir accepté de participer à la soutenance de cette thèse, et un grand merci pour tout ce que vous avez pu m'apporter au cours de ces années à vos côtés.

A Anaïs,

Merci pour l'aide que tu m'as apportée dans cette thèse, aussi bien pour l'apprentissage des techniques que pour le traitement des données.

A mes parents,

Merci pour votre soutien, votre patience et votre amour.

A ma famille,

Merci pour votre amour, et un grand merci à mon frère Grégory pour l'aide technique sur tableur.

A mes amis,

A toute la bande (qui s'agrandit de mois en mois d'ailleurs ! Vous ne me rajeunissez pas...), merci pour tous ces bons moments, depuis longtemps, et pour longtemps encore j'espère.

A mes voisines de fac, Alice et Marie,

Merci pour tous ces cours à vos côtés, ce fut un immense plaisir. Merci d'avoir supporté mes (rares) mauvaises humeurs ; quant à moi, je ne vous en veux pas d'avoir dû vous traduire les cours écrits en violet sur fond bleu.

Aux « pharmas »,

A tous mes camarades de promo, et en particulier ceux du fond à droite (ils se reconnaîtront), merci pour cette bonne ambiance dans l'amphi et en dehors.

A Lara,

Merci pour ta présence, ton soutien, ta douceur, bref pour ton amour. Une étape de ma vie se termine avec cette thèse, et j'espère du fond du cœur faire toutes les autres à tes côtés.

Je t'aime.

« L'Université de Rouen et l'UFR de Médecine et de 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 2015 - 2016
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 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 (sumombre)	HCN	Commission E.P.P. D.P.C. Pôle Qualité
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
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 (sumombre)	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	Hépatogastro-entérologie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologie
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologie
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>sumombre</i>)	HB	Néphrologie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Philippe GRISE (<i>sumombre</i>)	HCN	Urologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
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 Joël LECHEVALLIER	HCN	Chirurgie infantile
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HB	Rhumatologie
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 Jean-François MUIR	HB	Pneumologie
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
Mr Philippe MUSETTE	HCN	Dermatologie - Vénérologie
Mr Christophe PEILLON	HCN	Chirurgie générale
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Me Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Bernard PROUST	HCN	Médecine légale
Mr Jean-Christophe RICHARD (détachement)	HCN	Réanimation médicale - Médecine d'urgence
Mr Vincent RICHARD	UFR	Pharmacologie
Mme Nathalie RIVES	HCN	Biologie du développement et de la reproduction
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	Réanimation Médicale
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Christian THUILLEZ	HB	Pharmacologie
Mr Hervé TILLY	CB	Hématologie et transfusion
Mr Olivier TROST	HCN	Chirurgie Maxillo Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Jean-Pierre VANNIER	HCN	Pédiatrie génétique
Mr Benoît WEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	HB	Service Santé 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
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 CLAEYSSENS	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
Mme Rachel MARION-LETELLIER	UFR	Physiologie
Mr Thomas MOUREZ	HCN	Virologie
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Christine RONDANINO	UFR	Physiologie de la Reproduction
Mr Mathieu SALAUN	HCN	Pneumologie
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie

PROFESSEUR AGREGÉ OU CERTIFIÉ

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 (Professeur émérite)	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 VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Jérémy BELLIEU	Pharmacologie
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER	Statistiques
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
Mme Dominique DUTERTE- BOUCHER	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 Laëtizia LE GOFF	Parasitologie - Immunologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Sabine MENAGER	Chimie organique
Mme Tiphaine ROGEZ-FLORENT	Chimie analytique
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Malika SKIBA	Pharmacie galénique
Mme Christine THARASSE	Chimie thérapeutique
Mr Frédéric ZIEGLER	Biochimie

PROFESSEURS ASSOCIES

Mme Cécile GUERARD-DETUNCO	Pharmacie officinale
Mr Jean-François HOUVET	Pharmacie officinale

PROFESSEUR CERTIFIE

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

ASSISTANT HOSPITALO-UNIVERSITAIRE

Mme Sandrine DAHYOT	Bactériologie
---------------------	---------------

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mr Souleymane ABDOUL-AZIZE	Biochimie
Mme Hanane GASMI	Galénique
Mme Caroline LAUGEL	Chimie organique
Mr Romy RAZAKANDRAINIBE	Parasitologie

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES
--

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Roland CAPRON	Biophysique
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 Rémi VARIN	Pharmacie clinique
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

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 (med)	Neurosciences (Néovasc)
Mme Pascaline GAILDRAT (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (med)	Chirurgie Expérimentale
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Isabelle TOURNIER (med)	Biochimie (UMR 1079)

CHEF DES SERVICES ADMINISTRATIFS : Mme Véronique DELAFONTAINE

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Bequerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

SJ - Saint Julien Rouen

Table des matières

LISTE DES ABRÉVIATIONS.....	22
INTRODUCTION.....	24
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....	26
1 Infections urinaires communautaires.....	26
1.1 Généralités.....	26
1.2 Cystites.....	27
1.3 Pyélonéphrites aiguës.....	30
1.4 Infections urinaires masculines.....	34
1.5 Infections urinaires à EBLSE.....	36
1.6 Place de l'AMC dans les recommandations.....	38
2 <i>Escherichia coli</i>	39
2.1 Généralités.....	39
2.2 Pouvoir pathogène.....	40
2.3 Facteurs de virulence dans les infections urinaires.....	41
2.4 Sensibilité d' <i>Escherichia coli</i> aux antibiotiques.....	47
2.4.1 Sensibilité aux bêta-lactamines.....	47
2.4.2 Sensibilité aux quinolones.....	50
2.4.3 Sensibilité aux aminosides.....	51
2.4.4 Sensibilité à la fosfomycine.....	51
2.4.5 Sensibilité au cotrimoxazole.....	52
2.4.6 Sensibilité aux nitrofuranes.....	53
3 Méthodes d'étude de l'activité bactériostatique des antibiotiques.....	55
3.1 Généralités.....	55
3.2 Concentration Minimale Inhibitrice.....	55
3.2.1 Généralités.....	55
3.2.2 CMI en milieu liquide ou microdilution.....	57
3.2.3 CMI par diffusion en gradient ou méthode E-Test®.....	58
3.3 Antibiogramme.....	59
3.3.1 Généralités.....	59
3.3.2 Diffusion en milieu solide.....	59
3.3.3 Méthodes semi-automatisées en milieu liquide.....	61

TRAVAUX PERSONNELS.....	65
1 Objectifs de l'étude.....	65
2 Matériel et méthodes.....	65
2.1 Critères d'inclusion.....	65
2.2 Recueil des souches.....	65
2.3 Détermination de la sensibilité en milieu liquide : automate Phoenix®.....	66
2.4 Congélation et décongélation de souches.....	67
2.5 Détermination de la CMI de l'AMC par E-Test®.....	67
2.6 Analyse des résultats.....	68
3 Résultats.....	70
3.1 Population étudiée.....	70
3.2 Profil de sensibilité aux antibiotiques de la population bactérienne étudiée.....	70
3.2.1 Ensemble des souches.....	71
3.2.2 Sensibilité des souches en fonction du sexe.....	75
3.2.3 Sensibilité des souches par type de service.....	78
3.2.4 Sensibilité des souches productrices de BLSE.....	81
3.3 Comparaison de deux méthodes d'étude de la sensibilité à l'AMC.....	83
3.3.1 CMI de l'AMC par méthode E-Test®.....	83
3.3.2 Détermination de la sensibilité à l'AMC par méthode Phoenix®.....	86
3.3.3 Comparaison des résultats obtenus par E-Test® et par microdilution sur automate Phoenix®.....	86
4 Discussion.....	90
CONCLUSION.....	100
BIBLIOGRAPHIE.....	101
ANNEXES.....	110

Index des tables

Tableau 1: Traitements de la cystite aiguë simple (recommandations 2014 de la SPILF).....	28
Tableau 2: Traitements des cystites aiguës à risque de complication (recommandations 2014 de la SPILF).....	29
Tableau 3: Traitements des pyélonéphrites aiguës sans signe de gravité, à risque de complication ou non, hors EBLSE (recommandations 2014 de la SPILF).....	31
Tableau 4: Traitements des pyélonéphrites aiguës sans signe de gravité, à risque de complication ou non, en cas de EBLSE (recommandations 2014 de la SPILF).....	32
Tableau 5: Traitement des pyélonéphrites aiguës graves (recommandations 2014 de la SPILF).....	33
Tableau 6: Traitement des IU masculines (recommandations 2014 de la SPILF).....	35
Tableau 7: Pourcentage de différents facteurs de virulence en fonction de la pathologie provoquée par la souche de <i>E. coli</i>	46
Tableau 8: Concentrations critiques retenues pour la détermination de la sensibilité à l'AMC selon les recommandations 2013 et 2014 du CASFM, en fonction du contexte clinique.....	68
Tableau 9: Catégorisation des 293 souches de <i>E. coli</i> en fonction de leur CMI, d'après les recommandations 2013 du CASFM.....	84
Tableau 10: Catégorisation des 293 souches de <i>E. coli</i> en fonction de leur CMI, d'après les recommandations 2014 du CASFM.....	84

Index des illustrations

Illustration 1: Etapes de la pathogenèse des infections du tractus urinaire.....	42
Illustration 2: Facteurs de virulence des <i>Escherichia coli</i> uropathogènes conduisant aux infections du tractus urinaire, au niveau de l'épithélium de la vessie (a) et du rein (b) (d'après Flores-Mireles, 2015)	45
Illustration 3: Incidence des entérobactéries productrices de BLSE et des <i>Staphylococcus aureus</i> résistants à la méticilline (SARM) pour 100 journées d'hospitalisation (ONERBA 2013).....	49
Illustration 4: Catégorisation d'une souche bactérienne en « sensible », « intermédiaire » ou « résistante » en fonction de la CMI et des concentrations critiques c et C.....	55
Illustration 5: Microdilution manuelle en plaque.....	57
Illustration 6: Détermination de la CMI de l'AMC vis-à-vis d'une souche de <i>E. coli</i> par E-Test®.....	58
Illustration 7: Droite de concordance entre les valeurs de diamètre d'inhibition en milieu gélosé et les valeurs de CMI déterminées par une méthode appropriée.....	60
Illustration 8: Automate Phoenix® (Becton Dickinson).....	62
Illustration 9: Galeries d'identification bactérienne et d'antibiogramme de l'automate Phoenix® (Becton Dickinson).....	63
Illustration 10: Exemple de résultat (anonymisé) de sensibilité aux antibiotiques de <i>E. coli</i> par automate Phoenix® (Becton Dickinson).....	64
Illustration 11: Nombre de souches S et I+R à l'ampicilline, l'AMC, la ticarcilline, la TCC et la TZP selon le CASFM 2013 dans l'ensemble de la population étudiée.....	71

Illustration 12: Nombre de souches S et I+R à la céfalotine, la céfoxitine, au céfixime, à la ceftriaxone, la ceftazidime et au céfépime (n=292) selon le CASFM 2013 dans l'ensemble de la population étudiée.....	72
Illustration 13: Nombre de souches S et I+R à l'acide nalidixique, la norfloxacine, et la ciprofloxacine selon le CASFM 2013 dans l'ensemble de la population étudiée.....	73
Illustration 14: Nombre de souches S et I+R à l'amikacine, la gentamicine, au SXT, à la nitrofurantoïne et à la fosfomycine selon le CASFM 2013 dans l'ensemble de la population étudiée.....	74
Illustration 15: Pourcentages de souches S à l'ampicilline, l'AMC, la ticarcilline, la TCC et la TZP selon le CASFM 2013 dans les populations masculine et féminine étudiées.....	75
Illustration 16: Pourcentages de souches S à la céfalotine, la céfoxitine, au céfixime, à la ceftriaxone, la ceftazidime et au céfépime selon le CASFM 2013 dans les populations masculine et féminine étudiées.....	76
Illustration 17: Pourcentages de souches S à l'acide nalidixique, la norfloxacine et la ciprofloxacine selon le CASFM 2013 dans les populations masculine et féminine étudiées...	76
Illustration 18: Pourcentages de souches S à l'amikacine, la gentamicine, au SXT, à la nitrofurantoïne et à la fosfomycine selon le CASFM 2013 dans les populations masculine et féminine étudiées.....	77
Illustration 19: Comparaison des pourcentages de souches sensibles à l'ampicilline, l'AMC et la TZP, d'après le CASFM 2013, parmi les souches isolées de patients hospitalisés dans des services de chirurgie, de médecine et d'urgences, avec l'ensemble de la population.....	78
Illustration 20: Comparaison des pourcentages de souches sensibles au céfixime, à la ceftriaxone, à la ceftazidime et au céfépime, d'après le CASFM 2013, parmi les souches isolées de patients hospitalisés dans des services de chirurgie, de médecine et d'urgences, avec l'ensemble de la population.....	79

Illustration 21: Comparaison des pourcentages de souches sensibles au SXT, à l'acide nalidixique, à la norfloxacinine et à la ciprofloxacine, d'après le CASFM 2013, parmi les souches isolées de patients hospitalisés dans des services de chirurgie, de médecine et d'urgences, avec l'ensemble de la population.....	80
Illustration 22: Nombre de souches S et I+R à la TCC, à la TZP et à la céfoxitine d'après le CASFM 2013, parmi les souches productrices de BLSE.....	82
Illustration 23: Nombre de souches S et I+R à la gentamicine, au SXT, à l'acide nalidixique, à la norfloxacinine et à la ciprofloxacine d'après le CASFM 2013, parmi les souches productrices de BLSE.....	82
Illustration 24: Répartition des CMI de l'AMC déterminées par E-Test®.....	83
Illustration 25: Répartition des CMI de l'AMC déterminées par E-Test®, pour les souches productrices de BLSE.....	85
Illustration 26: Nombre de souches productrices de BLSE S, I et R à l'AMC en fonction des recommandations 2013 et 2014 du CASFM, par la méthode E-Test®.....	85
Illustration 27: Comparaison des catégorisations S, I et R pour l'AMC selon le Phoenix® et le E-Test® pour les 293 souches de <i>E. coli</i> , selon les recommandations 2013 du CASFM.....	86
Illustration 28: Comparaison des catégorisations S et R pour l'AMC selon le Phoenix® et le E-Test® pour les 293 souches de <i>E. coli</i> , selon les recommandations 2014 du CASFM.....	88
Illustration 29: Nombre de Doses Définies Journalières (DDJ) pour 1000 habitants par région française en 2011.....	99

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AMC : Amoxicilline-acide clavulanique.

AMM : Autorisation de Mise sur le Marché.

AMX : Amoxicilline.

ANSM : Agence Nationale de Sécurité du Médicament.

BLSE : Bêta-Lactamase à Spectre Étendu.

BMR : Bactérie Multi-Résistante.

BU : Bandelette Urinaire.

C1G : Céphalosporine de première génération.

C2G : Céphalosporine de deuxième génération.

C3G : Céphalosporine de troisième génération.

C4G : Céphalosporine de quatrième génération.

CASFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.

DHFR : Dihydrofolate Réductase.

DHPS : Dihydroptéroate Synthase.

EBLSE : Entérobactérie productrice de Bêta-Lactamase à Spectre Étendu.

ECBU : Examen Cytobactériologique des Urines.

ECDC : European Centre for Disease Prevention and Control.

EPC : Entérobactérie Productrice de Carbapénèmase.

EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing.

IBL : Inhibiteur de Bêta-Lactamase.

IU : Infection Urinaire.

LPS : Lipopolysaccharide.

MH : Mueller-Hinton.

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

PLP : Protéine de Liaison aux Pénicillines.

PNA : Pyélonéphrite Aiguë.

SPILF : Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française.

SXT : Sulfaméthoxazole-Triméthoprim (ou Cotrimoxazole).

UFC : Unité Formant Colonie.

VPN : Valeur Prédicative Négative.

VPP : Valeur Prédicative Positive.

INTRODUCTION

L'évolution des résistances bactériennes aux antibiotiques est un problème de plus en plus préoccupant. Ce qui n'était qu'un phénomène marginal il y a encore quelques années est en train de devenir un enjeu de santé publique majeur : 12 500 morts par an estimés en France, dues à une infection à germe multi-résistant (InVS et ANSM).

L'usage inconsidéré des antibiotiques dans un nombre important de cas est un facteur essentiel de l'augmentation de ces résistances, en introduisant une pression de sélection inutile sur le microbiote humain. La France est le deuxième pays consommateur d'antibiotiques en Europe, et en consomme 30% de plus que la moyenne européenne. Depuis le début des années 2000, plusieurs campagnes de sensibilisation ont été lancées afin d'inciter les patients et les prescripteurs à une utilisation raisonnée des antibiotiques. Malgré un succès initial, la consommation de ces médicaments est repartie à la hausse depuis 2010 (InVS et ANSM).

Les infections urinaires (IU) constituent un ensemble de pathologies extrêmement courantes, aussi bien communautaires que nosocomiales. Leur nombre est estimé à 4 à 6 millions par an en France (Lafaurie et Lepeule, 2013), et 150 millions par an dans le monde (Stamm et Norrby, 2001). Elles sont principalement dues à *Escherichia coli* (SPILF 2014). Ces infections entraînent un nombre important de prescriptions antibiotiques, estimé à 12% du total de ces prescriptions (Lafaurie et Lepeule, 2013). Il est nécessaire, pour une juste utilisation des antibiotiques, de disposer d'un maximum d'informations sur la sensibilité des bactéries en cause, et sur l'efficacité du traitement dans l'indication concernée. La sensibilité des bactéries aux antibiotiques peut être évaluée par plusieurs méthodes, manuelles ou automatisées, selon l'objectif recherché.

L'association amoxicilline-acide clavulanique (AMC), non recommandée en traitement probabiliste des infections urinaires, demeure une option après documentation, notamment en présence de certains mécanismes de résistance comme les bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE), présentes chez les entérobactéries. Son activité nécessite d'être évaluée, sur ces souches mais aussi dans l'ensemble de la population.

L'objectif de ce travail est d'étudier la sensibilité aux antibiotiques d'*Escherichia coli* dans les infections urinaires par méthode automatisée (dilution en milieu liquide), puis de comparer le résultat obtenu pour l'association amoxicilline-acide clavulanique à une méthode manuelle.

Dans un premier temps, nous exposerons les recommandations actuelles pour le diagnostic et le traitement des infections urinaires, puis les caractéristiques d'*Escherichia coli*, principal agent uropathogène, et les différentes méthodes de détermination de la sensibilité aux antibiotiques. Dans une deuxième partie sera étudiée la sensibilité à divers antibiotiques de 293 souches consécutives d'*Escherichia coli*, isolées d'examen cytbactériologique des urines au CHU de Rouen entre novembre 2013 et janvier 2014, avec une comparaison de deux méthodes pour la détermination de la sensibilité à l'AMC.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1 Infections urinaires communautaires

1.1 Généralités

Les infections urinaires constituent un ensemble de pathologies infectieuses de l'arbre urinaire. Il est nécessaire de faire la distinction entre les IU, présentant des signes cliniques, parfois discrets ou inconstants mais toujours présents, et la simple colonisation urinaire pour laquelle l'abstention thérapeutique est recommandée (sauf chez la femme enceinte). Les colonisations ne seront donc pas abordées dans ce travail.

Les IU peuvent être divisées en trois groupes :

- cystites (de la femme)
- pyélonéphrites
- infections urinaires masculines

Au sein des cystites et pyélonéphrites, sont différenciées les IU « simples », c'est à dire sans facteur de risque, et les IU « à risque de complication ». Ce terme est introduit dans les recommandations 2014 de la Société de Pathologie Infectieuse de Langue Française (SPILF) (SPILF 2014) et remplace celui d'IU « compliquée ». En effet, une IU à risque de complication n'est pas d'emblée plus grave, mais peut potentiellement le devenir et rendre le traitement plus complexe. Celles-ci surviennent chez des patients présentant au moins un facteur de risque parmi les suivants :

- anomalie de l'arbre urinaire, quelle qu'elle soit
- grossesse
- immunodépression
- insuffisance rénale chronique sévère
- sujet âgé (plus de 75 ans, ou plus de 65 ans avec au moins trois critères de Fried ; ces critères sont les suivants : perte de poids involontaire au cours de la dernière année ; vitesse de marche lente ; faible endurance ; faiblesse ou fatigue ; activité physique réduite)
- sexe masculin (c'est pourquoi les IU masculines sont maintenant individualisées)

En revanche, le diabète, même insulino-dépendant, n'est désormais plus considéré comme un facteur de risque d'IU compliquée. Malgré une fréquence plus importante des IU chez un patient diabétique, leur pronostic n'est pas plus défavorable que dans le reste de la population (SPILF 2014).

Dans tous les types d'IU, il existe également des formes considérées comme « graves », lorsque le patient présente un sepsis grave, voire un choc septique. Ces infections nécessitent une hospitalisation en soins intensifs et des modalités de traitement particulières (cf infra).

Le principal agent pathogène responsable d'IU est *Escherichia coli*, une entérobactérie. Elle est retrouvée dans 65 à 95% des IU (Flores-Mireles 2015, et SPILF 2014) ; c'est pourquoi seule cette espèce sera prise en compte pour la mise en place d'une antibiothérapie probabiliste pour les IU communautaires. Parmi les autres espèces rencontrées, sont retrouvées d'autres entérobactéries, principalement *Proteus mirabilis*, *Klebsiella pneumoniae* et *Citrobacter koseri*. *Enterococcus faecalis* est plus fréquent chez les hommes, particulièrement après 65 ans (18,4%). *Staphylococcus saprophyticus* est surtout responsable d'IU chez la femme de 15 à 29 ans, chez laquelle il peut représenter jusqu'à 10% des souches. Des streptocoques du groupe B peuvent également être responsables d'IU communautaires (Fabre et Mérens, 2010).

1.2 Cystites

Une cystite est une IU limitée à la vessie et aux voies urinaires basses ; elle se caractérise par les signes cliniques suivants :

- brûlures mictionnelles
- pollakiurie (mictions fréquentes)
- impériosité

L'épidémiologie bactérienne des cystites communautaires ainsi que les résistances associées étant bien connues, l'examen cytbactériologique des urines (ECBU) n'est pas utile pour documenter l'infection. Par conséquent, le seul examen complémentaire nécessaire est la bandelette urinaire (BU). Cette dernière repose sur la détection de la présence dans les urines

de leucocytes, témoins d'une inflammation des voies urinaires, et de nitrites issus de la réduction des nitrates par la nitrate-réductase des entérobactéries, dont *Escherichia coli*, principal agent causal. La BU permet, par sa bonne valeur prédictive négative (VPN), supérieure à 95% dans ce cas, d'exclure le diagnostic d'IU (SPILF 2014).

Le traitement de première intention est uniquement probabiliste. Les antibiotiques utilisés sont ceux dont le taux de résistance est inférieur à 20% chez *E. coli* (Tableau 1) : Fosfomycine-trométamol, pivmécillinam, ciprofloxacine et ofloxacine, nitrofurantoïne. En revanche, les bêta-lactamines ne sont pas recommandées, soit à cause d'une pression de sélection trop importante (association amoxicilline-acide clavulanique [AMC], céphalosporines), soit à cause de résistances (amoxicilline [AMX]) (Liste des antibiotiques critiques, ANSM, actualisation 2015 ; SPILF 2014).

Cystite aiguë simple	
1ère intention	Fosfomycine trométamol (dose unique)
2ème intention	Pivmécillinam (5 jours)
3ème intention	FQ (dose unique)
	Nitrofurantoïne (5 jours)

Tableau 1: Traitements de la cystite aiguë simple (recommandations 2014 de la SPILF)

FQ=fluoroquinolone

En revanche, dans le cas de cystite aiguë à risque de complication, l'approche est différente. La BU est nécessaire, mais l'ECBU est indispensable (SPILF 2014). Il est recommandé de différer, dans la mesure du possible, la mise en route d'une antibiothérapie, jusqu'à obtention des résultats de l'antibiogramme. Ceci ne majore pas le risque de complication (si les résultats sont obtenus dans des délais raisonnables) et permet d'éviter la prescription d'une antibiothérapie à large spectre.

Lorsque l'antibiogramme sera connu, les antibiotiques aux spectres les plus étroits seront privilégiés, avec des traitements plus longs que pour la cystite aiguë simple (Tableau 2) : 7 jours pour la plupart des molécules, 5 jours pour les fluoroquinolones et l'association triméthoprime-sulfaméthoxazole ou cotrimoxazole (SXT) (SPILF 2014). Cependant, le risque de récurrence est important, en particulier si le facteur de complication persiste (E. Pilly, 2014).

	Cystite aiguë à risque de complication Traitement pouvant être différé	Cystite aiguë à risque de complication Traitement ne pouvant pas être différé
1ère intention	AMX (7 jours)	Nitrofurantoïne (7 jours)
2ème intention	Pivmécillinam (7 jours)	Céfixime (7 jours) FQ (5 jours)
3ème intention	Nitrofurantoïne (7 jours)	
4ème intention	AMC (7 jours) Céfixime (7 jours) FQ : ciprofloxacine ou ofloxacine (5 jours) SXT (5 jours)	
5ème intention	Fosfomycine (hors AMM)	

Tableau 2: Traitements des cystites aiguës à risque de complication (recommandations 2014 de la SPILF)

AMX=amoxicilline ; AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; FQ=fluoroquinolone ; SXT=cotrimoxazole

Une cystite est considérée comme récidivante à partir d'une quatrième occurrence en moins d'un an. Les facteurs de risque sont l'activité sexuelle, l'utilisation de spermicides, une première IU avant 15 ans, des antécédents familiaux au premier degré (mère, sœur, fille), auxquels s'ajoutent spécifiquement chez la femme ménopausée un prolapsus vésical, une incontinence urinaire, un résidu vésical post-mictionnel, un déficit en œstrogènes (SPILF 2014).

La BU est nécessaire, et un ECBU sera réalisé lors des premières récurrences. Si les différents épisodes sont causés par des souches voire des espèces différentes, il s'agit d'une véritable cystite récidivante. Dans le cas de rechutes causées par la même souche, un facteur de risque de complication méconnu devra être recherché. Si celui-ci est présent, la cystite est récidivante à risque de complication, nécessitant une prise en charge spécialisée. Dans les autres cas, il s'agit d'une cystite récidivante sans risque de complication. Lorsque ce dernier diagnostic est posé, l'ECBU n'est plus systématique, mais réalisé uniquement en cas de non-réponse au traitement probabiliste (SPILF 2014).

Un épisode de cystite récidivante sans risque de complication sera traité comme une cystite aiguë simple. Il est possible de laisser la patiente gérer seule son traitement, en conditionnant la prise de celui-ci à la réalisation d'une BU à domicile pour confirmer le diagnostic. Ainsi, le médecin prescrit par avance des antibiotiques que la patiente utilisera en cas de nécessité.

Si les récurrences sont trop fréquentes (une par mois [SPILF 2014]), une antibioprophylaxie est envisageable après évaluation de la balance bénéfique/risque. Le SXT et la fosfomycine-trométamol sont les deux antibiotiques recommandés. La nitrofurantoïne, auparavant utilisée dans cette indication, est désormais formellement contre-indiquée, à cause du risque d'effets indésirables hépatiques et pulmonaires graves (AFSSAPS, 2012). Afin d'éviter la sélection de mutants résistants aux antibiotiques précieux pour traiter les IU graves, les fluoroquinolones et les céphalosporines ne seront pas utilisées (SPILF 2014).

1.3 Pyélonéphrites aiguës

La pyélonéphrite aiguë (PNA) est une infection urinaire atteignant le parenchyme rénal. Elle se caractérise par les signes cliniques de la cystite (brûlures, impériosité, fréquence des mictions) associés à des signes plus généraux : fièvre, douleur de la fosse lombaire (parfois uniquement provoquée par la palpation), troubles digestifs (SPILF 2014)...

En cas de PNA sans signe de gravité, qu'elle soit simple ou à risque de complication, la BU sera réalisée pour orienter le diagnostic ; un ECBU, réalisé avant tout traitement antibiotique, est nécessaire si celle-ci est positive. Le traitement sera mis en place de façon probabiliste dès la réalisation de l'ECBU, sans attendre les résultats. En effet, dans ce cas, différer l'antibiothérapie expose à un risque de complications (abcès, sepsis) et de séquelles (lésions du cortex rénal). Sauf exception, le traitement d'une PNA sans signe de gravité ne nécessite pas d'hospitalisation. Comme les antibiotiques utilisés doivent être actifs sur au moins 90% des souches d'*E. coli*, la prescription d'AMC n'est pas possible (66,4% de sensibilité à l'AMC pour *E. coli* dans les IU, d'après le réseau MedQual, ONERBA 2013). La nitrofurantoïne et la fosfomycine, utilisées dans les cystites, ne seront pas prescrites dans cette indication. En effet, leurs faibles concentrations sériques empêchent d'obtenir une concentration satisfaisante dans le parenchyme rénal (SPILF 2014).

Les fluoroquinolones et les céphalosporines de troisième génération (C3G) demeurent le traitement de référence, en attendant les résultats de l'antibiogramme. Une fois la sensibilité bactérienne connue, un relais sera effectué. Plusieurs molécules sont possibles pour ce relais, l'AMC faisant partie des recommandations (Tableau 3), même si un antibiotique à spectre le plus étroit possible doit être choisi (AMX notamment) (SPILF 2014). Le Tableau 4 présente

les recommandations en cas d'isolement d'une entérobactérie sécrétrice de BLSE (EBLSE), ce qui modifie la conduite à tenir une fois l'infection documentée. La durée de traitement varie de 7 jours (fluoroquinolones ou bêta-lactamines injectables) à 14 jours, sans descendre en dessous de 10 jours en cas de PNA à risque de complication.

		Pyélonéphrite aiguë sans signe de gravité
Antibiothérapie probabiliste	1ère intention	C3G parentérale FQ (sauf en cas de traitement par FQ datant de moins de 6 mois)
	2ème intention	Aminosides : amikacine, gentamicine, tobramycine Aztréonam
Relais une fois l'infection documentée	1ère intention	Amoxicilline
	2ème intention	AMC FQ : ciprofloxacine, ofloxacine, lévofloxacine Céfixime SXT
Durée totale du traitement		10 à 14 jours Cas particuliers : -7 jours en l'absence de facteur de risque de complication <u>et</u> si le traitement est entièrement réalisé par FQ ou bêta-lactamines injectables -5 à 7 jours en cas de présence d'un aminoside sur toute la durée du traitement

Tableau 3: Traitements des pyélonéphrites aiguës sans signe de gravité, à risque de complication ou non, hors EBLSE (recommandations 2014 de la SPILF)

C3G=céphalosporine de troisième génération ; FQ=fluoroquinolone ; AMC=amoxicilline-acide clavulanique ; SXT=cotrimoxazole

		Pyélonéphrite aiguë sans signe de gravité à EBLSE
Antibiothérapie probabiliste	1ère intention	cf. PNA sans signe de gravité (Tableau X)
	2ème intention	
Relais une fois l'infection documentée à EBLSE	1ère intention	Dans l'ordre et sous réserve de sensibilité : -FQ : ciprofloxacine, lévofloxacine, ofloxacine -SXT -AMC ou pipéracilline+tazobactam ou céphalosporine : céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, céfépime
	2ème intention	Céfoxitine (si <i>E. coli</i>) Aminosides : amikacine, gentamicine, tobramycine
	3ème intention	Carbapénèmes : imipénème, méropénème (traitement d'attaque), ertapénème (en relais)
Durée totale du traitement		cf. PNA sans signe de gravité (Tableau X)

Tableau 4: Traitements des pyélonéphrites aiguës sans signe de gravité, à risque de complication ou non, en cas de EBLSE (recommandations 2014 de la SPILF)

FQ=fluoroquinolone ; SXT=cotrimoxazole ; AMC=amoxicilline-acide clavulanique

La PNA peut être considérée comme « grave », en cas de sepsis grave ou de choc septique. En plus de la BU et de l'ECBU, un bilan sanguin et une hémoculture seront réalisés. Le traitement, obligatoirement en milieu hospitalier, fera appel en probabiliste à l'association d'une C3G parentérale et d'un aminoside, les fluoroquinolones étant exclues. Dans certains cas à risque d'EBLSE, un carbapénème sera préféré à la C3G. C'est le cas pour les patients ayant présenté une IU ou une colonisation urinaire à EBLSE date de moins de 6 mois, ou en cas de choc septique avec présence d'au moins un facteur de risque d'EBLSE. Ces facteurs de risque sont les suivants (SPILF 2014) :

- une colonisation urinaire ou IU à EBLSE datant de moins de 6 mois,
- une antibiothérapie par céphalosporine de deuxième génération (C2G), C3G, fluoroquinolone ou association pénicilline et inhibiteur de bêta-lactamase (IBL) datant de moins de 6 mois,
- un voyage récent en zone d'endémie,
- une hospitalisation datant de moins de 3 mois,
- vie en long-séjour.

Une fois l'infection documentée, le relais sera effectué comme pour les PNA non graves, l'AMC faisant toujours partie des recommandations (Tableau 5). La durée totale de traitement sera de 10 à 14 jours, avec parfois une prolongation au delà de 21 jours, si la situation l'exige (abcès rénal, bactérie multi-résistante [BMR]...).

		Pyélonéphrite aiguë grave
Antibiothérapie probabiliste		Amikacine en association à : -C3G IV (céfotaxime ou ceftriaxone) ou Carbapénème (imipénème, méropénème) en cas d'antécédent d'EBLSE datant de moins de 6 mois ou de choc septique associé à un facteur de risque d'EBLSE ou Aztréonam (en cas d'allergie aux C3G ou aux carbapénèmes)
Relais après documentation	Hors EBLSE	Amoxicilline (à privilégier sur souche sensible) ou AMC ou Céfixime ou FQ (ciprofloxacine, lévofloxacine ou ofloxacine) ou SXT
	EBLSE	cf PNA sans signe de gravité à EBLSE (Tableau X)
Durée totale du traitement		10 à 14 jours, voire 21 jours en cas de complication (abcès rénal par exemple)

Tableau 5: Traitement des pyélonéphrites aiguës graves (recommandations 2014 de la SPILF)

C3G=céphalosporine de troisième génération ; IV=intraveineuse ; EBLSE=entérobactérie productrice de bêta-lactamase à spectre étendu ; AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; FQ=fluoroquinolone ; SXT=cotrimoxazole

1.4 Infections urinaires masculines

Les IU chez l'homme nécessitent d'être traitées à part, du fait de l'hétérogénéité de leur présentation clinique. Celles-ci associent généralement des signes fonctionnels urinaires (brûlures, pollakiurie, impériosité, rétention urinaire...), des douleurs pelviennes, de la fièvre, et une prostate douloureuse au toucher rectal (SPILF 2014). Néanmoins, certaines formes pauci-symptomatiques sont de diagnostic moins évident.

Une BU sera réalisée pour conforter le diagnostic. Contrairement à la femme, la BU possède chez l'homme une forte Valeur Prédictive Positive (VPP), de l'ordre de 90% en cas de positivité des tests aux nitrites et leucocytes. Néanmoins, la VPN est faible ; une BU négative n'exclut donc pas l'IU (SPILF 2014). L'ECBU sera systématiquement réalisé avant tout traitement antibiotique ; un seuil de bactériurie de 10^3 UFC/mL est retenu comme significatif. Même si l'atteinte prostatique ne semble pas systématique en cas d'IU, l'absence de test fiable pour juger de cet éventualité amène à traiter toute IU chez l'homme comme une prostatite.

Par ailleurs, la répartition des espèces bactériennes en cause n'est pas identique à celle de la femme. Les entérobactéries sont toujours majoritaires, mais *E. coli* y occupe une place moindre (45 à 70%), et avec des taux de sensibilité aux antibiotiques plus faibles (SPILF 2014). De plus, l'appareil uro-génital masculin comprend la prostate, organe peu perméable aux antibiotiques. Ainsi, les concentrations efficaces sont difficiles à atteindre pour certaines classes d'antibiotiques.

En cas de forme bien tolérée, le traitement sera différé en attendant les résultats de l'antibiogramme. Cependant, dans les formes plus sévères, une antibiothérapie probabiliste sera mise en route. Comme pour les PNA de la femme, le traitement est ambulatoire, sauf exception nécessitant une hospitalisation.

A la phase aiguë de l'IU, la réaction inflammatoire augmente la perméabilité de la prostate aux antibiotiques. Passée cette période, la difficulté d'atteindre ce site empêche l'emploi de certaines molécules : fosfomycine-trométamol, nitrofurantoïne, AMC, céfixime... Le traitement repose donc sur les antibiotiques suivants : fluoroquinolones (ciprofloxacine,

lévofloxacine ou ofloxacine), qui ont une diffusion suffisante dans ce compartiment (Drusano et Preston, 2000) ; en cas de contre-indication aux fluoroquinolones, l'alternative est le SXT (Tableau 6). Les sulfamides, dont le sulfaméthoxazole, diffusent mal dans la prostate, mais les concentrations de triméthoprime y sont supérieures aux concentrations plasmatiques (Reeves et Wilkinson, 1979). Cependant, l'absence de commercialisation en France du triméthoprime seul à ce jour impose l'utilisation de cette association SXT.

La durée du traitement est de 14 jours pour les formes simples, et de 21 jours au minimum pour les formes plus sévères (abcès, immunodépression...), ne régressant pas, ou avec des troubles de l'appareil urinaire associés (lithiase notamment). Cette IU peut éventuellement se compliquer d'un sepsis, d'une prostatite chronique, ou parfois d'une orchio-épididymite.

		IU masculines
Antibiothérapie probabiliste si le traitement ne peut être différé	Sepsis grave ou choc septique	cf traitement probabiliste des PNA graves (Tableau X)
	Autres cas	cf traitement probabiliste des PNA sans signe de gravité (Tableau X)
Initiation ou relais après documentation	Hors EBLSE	- <u>A privilégier, même en cas de souche multi-sensible</u> : fluoroquinolone (cipro-, lévo-, ou ofloxacine) <u>ou SXT</u> - <u>Autres possibilités</u> : AMX <u>ou C3G parentérale</u> <u>ou aztréonam</u>
	EBLSE	cf traitement des PNA à EBLSE (Tableau X)
Durée totale du traitement		14 jours, voire 21 jours en cas d'uropathie, d'immunodépression grave, ou de traitement autre que par fluoroquinolone ou SXT

Tableau 6: Traitement des IU masculines (recommandations 2014 de la SPILF)

SXT=cotrimoxazole ; AMX=amoxicilline ; C3G=céphalosporine de troisième génération ; EBLSE=entérobactérie productrice de bêta-lactamase à spectre étendu

1.5 Infections urinaires à EBLSE

Les EBLSE sont des entérobactéries possédant des enzymes puissantes, capables d'hydrolyser les pénicillines ainsi qu'un grand nombre de céphalosporines. Ces enzymes sont codées par des gènes situés sur des plasmides contenant souvent d'autres gènes de résistances, notamment aux aminosides et au SXT (SPILF 2014). De plus, les plasmides étant facilement échangeables au sein d'une flore bactérienne, les infections à EBLSE peuvent évoluer sur le mode épidémique, nécessitant ainsi des précautions d'hygiène et d'isolement supplémentaires en milieu hospitalier (Instruction DGOS/PF2/DGS/RI1 n°2014-08 du 14 janvier 2014, Ministère des Affaires Sociales et de la Santé).

L'accroissement préoccupant du portage asymptomatique d'EBLSE chez les patients en ville, multiplié par 10 en région parisienne en 5 ans (Nicolas-Chanoine et Gruson, 2013), ainsi que les difficultés de traitement associées à ces souches, amènent à prendre en compte leur éventuelle présence. Ainsi, en cas d'IU graves avec un antécédent d'EBLSE datant de moins de 6 mois, ou en cas de choc septique avec des facteurs de risque de présence de BLSE (antécédent dans les 6 mois précédents ; hospitalisation dans les 3 mois précédents ; institutionnalisation ; voyage récent en zone d'endémie, en particulier en Inde [SPILF 2014 ; Tängdén et Cars, 2010] ; antibiothérapie par IBL, C2G/C3G, ou fluoroquinolone dans les 6 mois précédents), l'infection devra être traitée en probabiliste en prenant en compte le risque d'EBLSE, en attendant documentation.

Le traitement des infections graves à EBLSE repose souvent sur les carbapénèmes, des bêta-lactamines à spectre large qui ne sont pas hydrolysées par ces enzymes. Néanmoins, la présence croissante d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) inactivant ces antibiotiques (Hénard et Aissa, 2014) conduit à restreindre leur utilisation et à les conserver en traitements de « dernier recours », en préférant certaines alternatives pour traiter les EBLSE. Sont notamment indiqués : la fosfomycine-trométamol, la nitrofurantoïne, l'amikacine, le pivmécillinam, la témocilline (disponible en ATU de cohorte), la céfoxitine (céphalosporine de la classe des céphamycines, résistante aux BLSE) (Hénard et Aissa, 2014).

Les résultats d'antibiogramme pour les C3G étaient auparavant interprétés et ces antibiotiques systématiquement catégorisés intermédiaires dans le cas des EBLSE, même si la bactérie apparaissait sensible *in vitro* (CASFM 2010). Depuis les recommandations de 2011 du CA-SFM (www.sfm-microbiologie.org/) et la modification des concentrations critiques de ces molécules, l'interprétation n'est plus recommandée. Ces antibiotiques peuvent être utilisés s'ils sont catégorisés *S*, sous réserve de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) avant traitement.

Depuis 2014, les concentrations critiques d'AMC ont été modifiées. En effet, il n'existe plus qu'une unique concentration critique à 8 mg/L, la catégorisation *I* disparaît donc en étant confondue avec la catégorie *S*, et la concentration critique retenue dans le cas des cystites est portée de 8 mg/L à 32 mg/L. Ceci pourrait permettre d'accroître le recours à l'AMC, notamment dans le cas de cystites à EBLSE, en augmentant le pourcentage de souches catégorisées sensibles.

1.6 Place de l'AMC dans les recommandations

L'AMC est un antibiotique commercialisé depuis plus de 25 ans (Ferjani et Marzouk, 2010). L'amoxicilline est une pénicilline, appartenant à la grande famille des bêta-lactamines qui comprend également les céphalosporines, les carbapénèmes et les monobactams. Cette molécule est active sur les souches sauvages de bactéries aérobies à Gram positif (*Streptococcus*, *Enterococcus*, *Corynebacterium*...), de bactéries aérobies à Gram négatif (Entérobactéries dont *Escherichia coli* ; *Neisseria*, *Haemophilus*...) et de certaines bactéries anaérobies. Cependant, la résistance acquise à l'amoxicilline peut parfois être importante (ONERBA 2013), notamment par la production de bêta-lactamases, qui hydrolysent l'antibiotique. L'adjonction d'acide clavulanique, une bêta-lactamine sans activité sur les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) bactériennes mais qui inhibe fortement les bêta-lactamases, permet de restaurer en partie, voire en totalité, l'activité de l'amoxicilline (ONERBA 2013).

Cet antibiotique est indiqué dans les infections oto-rhino-laryngologiques (otites, sinusites), respiratoires, stomatologiques et urinaires (Résumé des Caractéristiques du Produit : amoxicilline-acide clavulanique, ANSM). Dans les IU, il est indiqué (SPILF 2014) :

- en 4ème intention dans la cystite aiguë à risque de complication avant documentation.
- en 2ème intention dans les PNA sans signe de gravité hors EBLSE après documentation.
- en 1ère intention dans les PNA en cas d'EBLSE et dans les PNA graves hors EBLSE après documentation.

En revanche, compte tenu de la faible diffusion prostatique de l'acide clavulanique dans la prostate (cf 1.4), cette association n'a pas d'indication dans les IU masculines.

L'AMC est classé par l'Agence Nationale de Sécurité du Médicament (ANSM) « antibiotique particulièrement générateur de résistances bactériennes » (Liste des antibiotiques critiques, actualisation 2015, ANSM), il doit donc « faire l'objet d'une utilisation raisonnée ». Ainsi, sa prescription devrait être évitée tant que des alternatives moins pourvoyeuses de résistances existent.

2 *Escherichia coli*

2.1 Généralités

En 1885, un jeune pédiatre allemand formé à la bactériologie naissante, Theodor Escherich (1857 – 1911), décrit l'espèce *Bacterium coli commune*, isolée de selles de bébé. Cette bactérie constitue l'élément dominant de la flore à cet âge de la vie, mais reste présente minoritairement à l'âge adulte. Escherich observe sa présence systématique chez tous les enfants, bien que certaines souches semblent être à l'origine d'infections. En 1919, Aldo Castellani et Albert J. Chalmers rebaptisent cette bactérie en *Escherichia coli*, en l'honneur de son premier descripteur (Shulman et Friedmann, 2007).

Escherichia coli (*E. coli*) ou colibacille est un bacille Gram négatif appartenant à la famille des *Enterobacteriaceae*. Il se présente sous forme de bâtonnets droits de 1,1 à 1,5 µm de largeur sur 2 à 6 µm de longueur, avec des flagelles péritriches (Microbiologie 4ème édition, Prescott, 2013). Les colonies sont rondes, lisses, de 2 à 3 mm de diamètre (Entérobactéries, systématique et méthodes de diagnostic, Joly et Reynaud, 2003). Son métabolisme est aérobie-anaérobie facultatif. Il est facile à cultiver car peu exigeant.

E. coli fermente le lactose, réduit les nitrates, n'utilise pas le citrate (Microbiologie 4ème édition, Prescott, 2013). Cette espèce est chimio-organotrophe, c'est-à-dire qu'elle puise son énergie dans la dégradation de molécules organiques, et prototrophe, une seule molécule lui permettant d'effectuer l'ensemble des réactions de son métabolisme (en l'occurrence le D-Glucose).

D'un point de vue antigénique, *E. coli* possède deux types d'antigènes principaux :
-l'**antigène O** est porté par le lipopolysaccharide (LPS), endotoxine redoutable de la membrane externe des bactéries Gram négatif. Ce LPS est composé de trois parties :

- le lipide A, support de la toxicité, qui est la partie pyrogène.
- le « core », constitué de phosphates, de glucosamine, d'acide 2-céto-désoxytonique, d'heptose, glucose, galactose, et d'éthanolamine.
- une partie polysaccharidique, externe, constituée de sucres variables, formant un

motif de base répété et portant l'antigène O (Joly et Reynaud, 2003).

-l'**antigène H** est, lui, porté par les flagelles.

Ces deux caractères permettent de déterminer des sérotypes, dont certains sont reconnus pour leur pathogénicité.

Il existe également un antigène K, de nature polysaccharidique, constituant une capsule autour de la bactérie.

E. coli appartient à la flore commensale de l'intestin de l'Homme et de la plupart des vertébrés (d'Ari et Sezonov, 2008). Il constitue 80% de la flore aérobie intestinale de l'humain, cette flore étant minoritaire (1%) par rapport à la flore anaérobie (*Escherichia coli*, aspects fondamentaux et cliniques, Choutet et Goldstein, 2000). C'est en revanche une bactérie opportuniste.

2.2 Pouvoir pathogène

E. coli est une bactérie commensale, néanmoins certaines souches ou situations particulières en font un vrai pathogène. Du fait d'une grande hétérogénéité au sein de l'espèce, *E. coli* va être responsable d'infections de localisations variées. Ainsi, les infections urinaires représentent une part importante de ces infections (Johnson, 1991), grâce à certains facteurs de virulence (cf infra).

Les infections intestinales à *E. coli* sont également fréquentes, surtout dans les pays en voie de développement. On distingue plusieurs sérovars de colibacilles entéropathogènes (Gouali et Weill, 2013 ; Croxen et Law, 2013) :

-ETEC (« Enterotoxinogenic *E. coli* », *E. coli* entérotoxigène) : principale cause de diarrhée du voyageur ou turista, donnant une gastro-entérite à selles hydriques, dues à une entérotoxine.

-EPEC (« Enteropathogenic *E. coli* », *E. coli* entéropathogénique) : source d'épidémies de diarrhées aqueuses.

-STEC (« Shiga Toxin-producing *E. coli* », *E. coli* producteur de shiga-toxine) : ces souches produisent une toxine proche de la toxine de *Shigella dysenteriae* et entraînent des diarrhées hémorragiques qui peuvent se compliquer, surtout chez l'enfant, de Syndrome Hémolytique et

Urémique (SHU).

-EIEC (« Enteroinvasive *E. coli* », *E. coli* intéroinvasif) : génétiquement proche du genre *Shigella*, il provoque des diarrhées aqueuses et un syndrome dysentérique.

-EAEC (« Enteroaggregative *E. coli* », *E. coli* entéroaggrégatif) : il est responsable de diarrhées persistantes.

-DAEC (« Diffusely Adherent *E. coli* », *E. coli* d'adhérence diffuse) : provoque des diarrhées qui peuvent être persistantes, suspectées de mener à une Maladie Inflammatoire Chronique de l'Intestin.

-AIEC (« Adherent Invasive *E. coli* », *E. coli* adhérent invasif) : il est responsable de diarrhées muco-sanglantes, et pourrait être associé à la maladie de Crohn (Crohen et Law, 2013).

E. coli est le principal agent responsable d'infections intra-abdominales (en co-infection avec les anaérobies dont *Bacteroides fragilis* surtout) telles que des appendicites et péritonites, infections biliaires (cholécystite et angiocholite), infections du liquide d'ascite, abcès du foie ou intra-abdominaux, sigmoïdites (E. Pilly 2014)... Il peut être responsable de méningites chez le nouveau-né avant 3 mois, de pneumopathies, de bactériémies (pouvant entraîner secondairement des arthrites et spondylodiscites) voire de choc septique, par l'intermédiaire du LPS. Cette espèce est également parfois retrouvée comme agent de surinfection des plaies chroniques comme le mal perforant plantaire. C'est la bactérie la plus souvent isolée au cours des infections liées aux soins (26% des infections nosocomiales), en particulier lors d'infections urinaires, où elle représente 49,8% des bactéries isolées (Rapport Raisin/INVS, 2012).

2.3 Facteurs de virulence dans les infections urinaires

Le tractus urinaire est normalement stérile, à l'exception de l'extrémité distale, colonisée par la flore périnéale. Pour qu'une infection se développe, il faut que la bactérie progresse de manière ascendante (Illustration 1), à contre-courant du flux urinaire. En l'absence d'anomalie de l'arbre urinaire, les cellules bactériennes doivent posséder des facteurs de virulence permettant de favoriser cette progression et leur développement dans un milieu qui leur est défavorable (Flores-Mireles, 2015). Voici un aperçu rapide des principaux facteurs de virulence exprimés par les souches de *E. coli* responsables d'IU (Illustration 2).

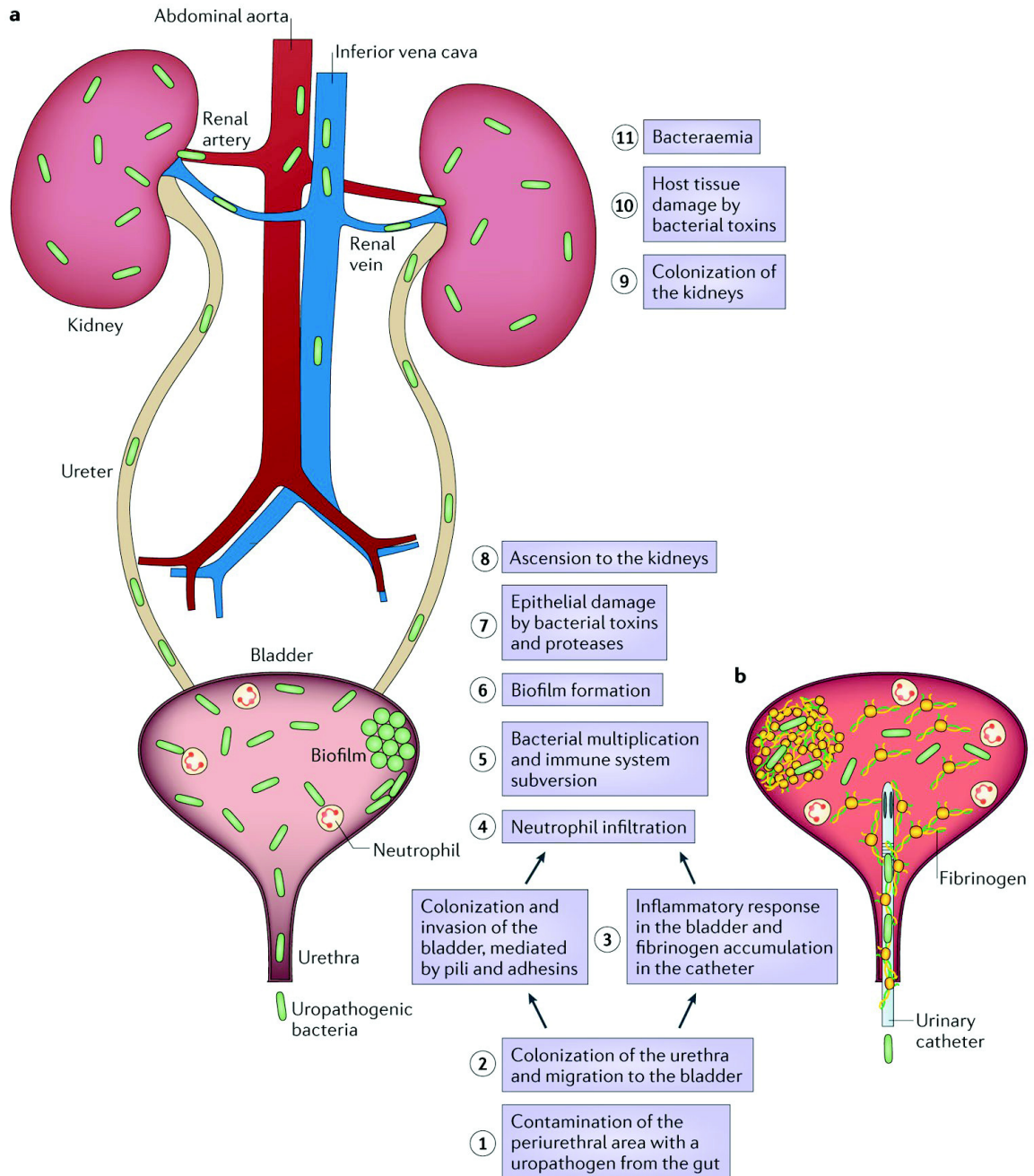


Illustration 1: Étapes de la pathogénèse des infections du tractus urinaire

(d'après Flores-Mireles, 2015)

a : colonisation de l'urètre et de la vessie par les bactéries, réponse inflammatoire de l'hôte et constitution de biofilms, puis ascension par les uretères jusqu'aux reins et bactériémie.

b : colonisation de la vessie par les bactéries facilitée par la présence d'une sonde vésicale.

Les adhésines constituent un ensemble de structures bactériennes de surface responsables de l'**adhérence de la bactérie** à des cellules, et qui vont ainsi favoriser l'ascension de la souche qui les possède le long de l'arbre urinaire, éventuellement jusqu'au rein. On en distingue plusieurs types chez *E. coli* :

-fimbriae de type 1 : les *fimbriae*, également appelés *pili*, sont des appendices filamenteux de nature protéique, différents des flagelles (plus épais, plus longs, plus flexibles et ne servant qu'à la propulsion) et des *pili* sexuels. Les *fimbriae* de type 1 constituent le principal facteur de virulence des souches uropathogènes de *E. coli*. Ils se lient à des protéines exprimées à la surface des cellules du tractus urinaire, les uroplakines et les $\alpha 1\beta 3$ -intégrines, par une liaison impliquant du mannose. Cette liaison induit l'internalisation de la bactérie. Ce type de *pili* est également impliqué dans la formation de biofilm par *E. coli* (Flores-Mireles, 2015), qui correspond à une communauté de bactéries entourée de polysaccharides qui diminuent ainsi la pénétration et donc l'efficacité des antibiotiques. Ces biofilms peuvent se constituer sur des cathéters (Flores-Mireles, 2015).

-fimbriae P : les *fimbriae P* sont d'autres facteurs de virulence importants impliqués dans les IU. Ces adhésines se lient à des glycosphingolipides présents le long du tractus urinaire, par une liaison entre deux molécules de galactose en $\alpha 1-4$. L'expression des *fimbriae P* est plus fréquente chez les souches responsables de pyélonéphrites (61% [Tarchouna, 2013] à 70% des souches [Johnson, 1991]) que chez celles impliquées dans les cystites (36% [Johnson, 1991 et Tarchouna, 2013]) et enfin dans les colonisations urinaires (24% [Johnson, 1991]) (Tableau 7). La présence de ces facteurs de virulence est également corrélée à une plus grande inflammation et une expression clinique plus marquée (Johnson, 1991).

-adhésines du groupe Dr : nommées ainsi car elles se lient entre autres au groupe sanguin Dr, ces adhésines se lient en fin réseau formant une sorte de filet à la surface bactérienne. Elles se fixent à différentes structures de l'arbre urinaire (interstitium rénal, capsule de Bowman, uretère...) (Johnson, 1991). On les retrouve plus fréquemment chez les souches responsables de cystites (25,7% [Nowicki, 1989] à 50% des souches [Arthur et Johnson, 1989]) que chez celles isolées de pyélonéphrites (6% [Nowicki, 1989] à 27%) ou de colonisations urinaires (5,7% [Nowicki, 1989]).

-fimbriae S et F1C: proches génétiquement, leur rôle semble assez mineur dans les IU, malgré leur capacité à se lier à certaines cellules rénales : épithéliums des tubules distaux et proximaux, des canaux collecteurs et des glomérules, interstitium rénal et endothélium vasculaire rénal (Johnson, 1991). Les *fimbriae* S sont plus fréquents chez les souches responsables de méningites et bactériémies (Ott et Hacker, 1986).

Les *fimbriae* P, S et les adhésines du groupe Dr entraînent une hémagglutination résistante au mannose. Leurs liaisons aux récepteurs des cellules de l'hôte n'impliquent pas de mannose, leur capacité d'hémagglutination est donc indifférente à la présence de ce sucre dans le milieu (Johnson, 1991), contrairement aux *fimbriae* de type 1 (Flores-Mireles, 2015).

D'autres facteurs de virulence favorisent la **survie de la bactérie** dans l'arbre urinaire, milieu pauvre en nutriments (Illustration 2) :

-sidérophores : pour croître, *E. coli* a besoin de fer. Or, les mécanismes de défense de l'hôte tendent à diminuer la présence de fer disponible, en freinant son assimilation intestinale, en augmentant sa complexation et sa concentration intracellulaire. Les sidérophores sont des molécules permettant d'extraire le fer des protéines de l'hôte et de le déplacer vers des récepteurs de la bactérie pour l'internaliser. L'aérobactine et la yersiniabactine sont les deux principaux sidérophores exprimés par les souches uropathogènes de *E. coli* (Flores-Mireles, 2015). L'aérobactine est plus souvent retrouvée chez les souches responsables de pyélonéphrites (73% [Johnson, 1991] à 77% des souches [Tarchouna, 2013]), bactériémies (58% [Johnson, 1991]) et cystites (45% [Tarchouna, 2013] à 49% [Johnson, 1991]), que chez celles entraînant une simple colonisation (38%), ainsi que chez les souches commensales du tube digestif (41%) (Johnson, 1991).

- α -hémolysine : protéine formant des pores dans les membranes des cellules de l'hôte, elle entraîne leur mort par entrée d'ions Ca^{2+} . Elle est responsable de lésions tissulaires dans l'arbre urinaire, ainsi que de la destruction de monocytes et granulocytes. La libération du contenu des cellules facilite l'acquisition par *E. coli* de fer et autres nutriments (Flores-Mireles, 2015). Elle est plus souvent présente chez les souches responsables de pyélonéphrites (38% [Tarchouna, 2013] à 49% des souches [Johnson, 1991]) que chez celles responsables de cystites (15% [Tarchouna, 2013] à 40% [Johnson, 1991]) ou de colonisation urinaire (20% [Johnson, 1991]).

-cytotoxic necrotizing factor 1 (CNF1) : protéine sécrétée par les souches uropathogènes de *E. coli* et entraînant, une fois internalisée par les cellules du tractus urinaire, une réorganisation du cytosquelette et de la membrane de ces cellules. Ceci conduit à favoriser l'internalisation des bactéries et leur survie dans les cellules (Flores-Mireles, 2015).

-antigène K : de nature polysaccharidique, l'antigène K constitue une capsule autour de la bactérie. Ceci lui confère une résistance accrue à la phagocytose et au pouvoir bactéricide du sérum.

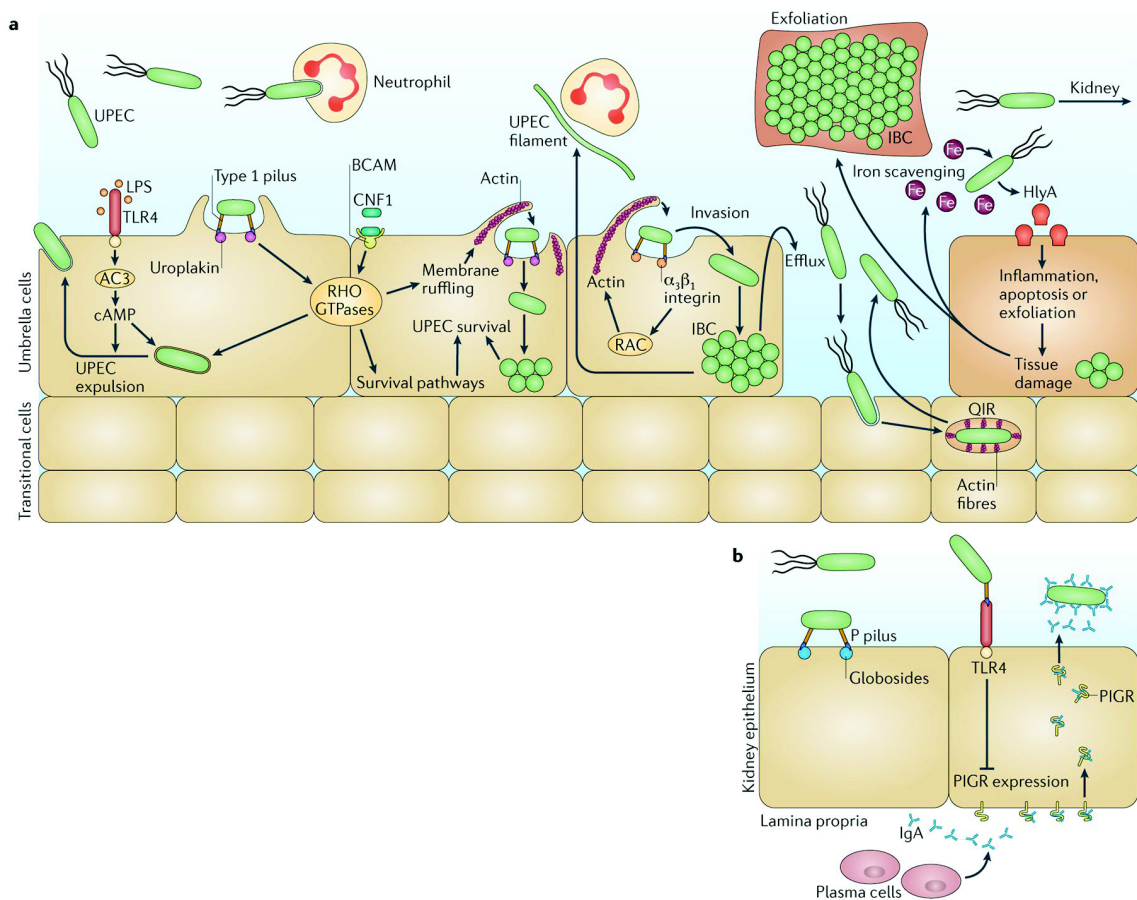


Illustration 2: Facteurs de virulence des *Escherichia coli* uropathogènes conduisant aux infections du tractus urinaire, au niveau de l'épithélium de la vessie (a) et du rein (b) (d'après Flores-Mireles, 2015)

UPEC=*E. Coli* uropathogène ; LPS=lipopolysaccharide ; TLR4=Toll like-receptor 4 ; BCAM=molécule d'adhésion à la cellule basale ; CNF1=Cytotoxique necrotizing factor 1 ; IBC=communauté bactérienne intracellulaire ; QIR=réservoir intracellulaire quiescent ; PIGR=récepteur polymérique aux immunoglobulines.

Liaison dans la vessie de *E. coli* aux uroplakines et $\alpha_3\beta_1$ -intégrines grâce aux *fimbriae* de type 1, internalisation de la bactérie et formation de communautés intracellulaires ; exfoliation de l'épithélium et capture du fer de l'hôte ; liaison de *E. coli* aux cellules de l'épithélium rénal grâce aux *fimbriae* P.

	Pyélonéphrites	Cystites	Colonisation Urinaire
<i>fimbriae P</i>	61% ¹ à 70% ²	36% ^{1,2}	24% ²
adhésines du Groupe Dr	6% ³ à 27% ⁴	25,7% ³ à 50% ⁴	5,7% ³
aérobactine	73% ² à 77% ¹	45% ¹ à 49% ²	38% ²
α-hémolysine	38% ¹ à 49% ²	15% ¹ à 40% ²	20% ²

Tableau 7: Pourcentage de différents facteurs de virulence en fonction de la pathologie provoquée par la souche de *E. coli*

1 : Tarchouna, 2013 ; 2 : Johnson, 1991 ; 3 : Nowicki, 1989 ; 4 : Arthur et Johnson, 1989

Les souches responsables d'IU peuvent produire plusieurs de ces facteurs de virulence. Ces derniers peuvent apparaître indépendamment les uns des autres, mais également être liés génétiquement. C'est par exemple le cas des *fimbriae P*, codés par un opéron *pap*, ce dernier comportant parfois des gènes codant une hémolysine. L'association de plusieurs de ces facteurs est plus fréquente en cas de pyélonéphrite que de cystite ou de colonisation urinaire (Johnson, 1991).

2.4 Sensibilité d'*Escherichia coli* aux antibiotiques

E. coli est naturellement résistant aux antibiotiques suivants : pénicilline G, oxacilline, macrolides, kétolides, lincosamides, streptogramines, acide fusidique, glycopeptides, oxazolidinones, lipopeptides (CASFM 2014). En revanche, la bactérie peut acquérir des mécanismes de résistance à d'autres molécules.

2.4.1 Sensibilité aux bêta-lactamines

Concernant les bêta-lactamines, *E. coli* est classée dans le groupe 1 des *Enterobacteriaceae* (Robin et Gibold, 2012). Elle possède donc une céphalosporinase constitutive de très bas niveau, enzyme pouvant entraîner, à partir d'un certain niveau d'expression, une sensibilité intermédiaire ou une résistance aux céphalosporines de première génération et/ou aux aminopénicillines, y compris associées à un inhibiteur (acide clavulanique). Néanmoins, cette expression n'est pas systématique, et la bactérie peut rester sensible à toutes les bêta-lactamines (hors pénicillines G et M) (Robin et Gibold, 2012).

La majorité des résistances à cette famille d'antibiotiques est due à l'acquisition par la bactérie d'enzymes, les bêta-lactamases, codées par des plasmides. Il en existe plusieurs types, donnant chacun des phénotypes différents, variés, et qui peuvent être difficiles à distinguer les uns des autres en routine :

-pénicillinase : elle inactive les pénicillines (surtout amino- et carboxypénicillines) et les céphalosporines de première génération (C1G) et C2G, donnant différents niveaux de résistance selon la quantité produite ; elle peut ainsi condamner les associations pénicilline/IBL et les C1G/C2G.

-pénicillinase résistante aux inhibiteurs : pénicillinase de type TRI (TEM Résistante aux Inhibiteurs), les carboxy- et uréidopénicillines associées à un inhibiteur peuvent être utilisables selon les souches. Le type OXA entraîne un plus haut niveau de résistance. Dans les deux cas, l'AMC est systématiquement catégorisé R.

-bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) : ce sont des enzymes d'origine plasmidique, ayant donc une forte capacité de dissémination. Elles hydrolysent toutes les pénicillines, les C1G/C2G, et certaines C3G et céphalosporines de quatrième génération (C4G) ou l'aztréonam. Néanmoins, les souches productrices peuvent être sensibles aux inhibiteurs de bêta-lactamases, restaurant l'activité de la pipéracilline, et parfois de l'AMX et de la ticarcilline. Les souches concernées sont également sensibles aux carbapénèmes (Robin et Gibold, 2012) et souvent au pivmécillinam (71% à 90% des souches) (SPILF 2014).

-céphalosporinase de haut niveau : l'hyperproduction de céphalosporinase confère une résistance à toutes les pénicillines, C1G, C2G, C3G et aztréonam. Les céphamycines peuvent être touchées, l'activité des C4G et carbapénèmes est en général conservée.

-carbapénémases : il en existe trois types principaux, MBL (métallo-enzymes), KPC, et OXA-48, conduisant à des phénotypes différents (Robin et Gibold, 2012). Néanmoins, les pénicillines sont inactives, et les niveaux de résistance aux céphalosporines sont généralement élevés. Ces enzymes sont surtout préoccupantes par leur capacité à hydrolyser les carbapénèmes, des bêta-lactamines considérées comme le « dernier recours » en cas de multi-résistance (Liste des antibiotiques critiques, ANSM, actualisation 2015). Certains carbapénèmes peuvent conserver une activité selon l'enzyme sécrétée, néanmoins il semblerait que les critères de catégorisation retenus par l'EUCAST aient tendance à sous-estimer la résistance de ces souches (Tzouveleki, 2012).

Une autre voie de résistance des bactéries aux bêta-lactamines consiste à réduire la concentration intracellulaire en antibiotique. Deux mécanismes se côtoient. En premier, une diminution de perméabilité à l'antibiotique, par modification ou perte de porines, des protéines trans-membranaires permettant le passage de molécules. Seul, ce phénotype n'entraîne qu'une résistance à la céfoxitine et/ou aux C1G/C2G et aminopénicillines (y compris avec IBL), mais il peut également être couplé à une céphalosporinase hyperproduite ou une BLSE. Dans ce cas, une résistance aux C3G/C4G et/ou carbapénèmes est observable (Robin et Gibold, 2012). Le second mécanisme est caractérisé par la présence de systèmes d'efflux, qui vont rejeter les antibiotiques dans le milieu extérieur (Cattoir, 2004). Ceci concerne principalement les pénicillines chez *E. coli* (Van Bambeke, 2003).

D'après le rapport 2013-2014 de l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA), les taux de sensibilité de *E. coli* toutes infections confondues étaient en 2013 de 45,5% pour l'AMX, 59,2% pour l'AMC et 92,3% pour le céfotaxime, une C3G (réseau REUSSIR). En s'intéressant plus particulièrement aux IU communautaires, les valeurs de sensibilité en 2013 étaient de 50,8% pour l'AMX, 66,4% pour l'AMC et 96,1% pour les C3G (réseau MedQual). Des chiffres plus récents publiés par l'European Centre for Disease prevention and Control (ECDC) et datant de 2014, font état d'une sensibilité aux aminopénicillines de 40,9% et aux C3G de 89,1% (toutes infections confondues). La sensibilité aux carbapénèmes est toujours supérieure à 99% selon ces différentes sources.

Le pourcentage de souches d'*E. coli* et d'entérobactéries productrices de BLSE est en augmentation constante depuis quelques années (Illustration 3). D'une fréquence inférieure à 1% avant 2002, ces souches constituent aujourd'hui 6 à 7% des souches d'*E. coli* isolées de bactériémies (ONERBA 2013). De plus, le portage asymptomatique digestif d'EBLSE chez des patients de ville est lui aussi en augmentation (Nicolas-Chanoine et Gruson, 2013).

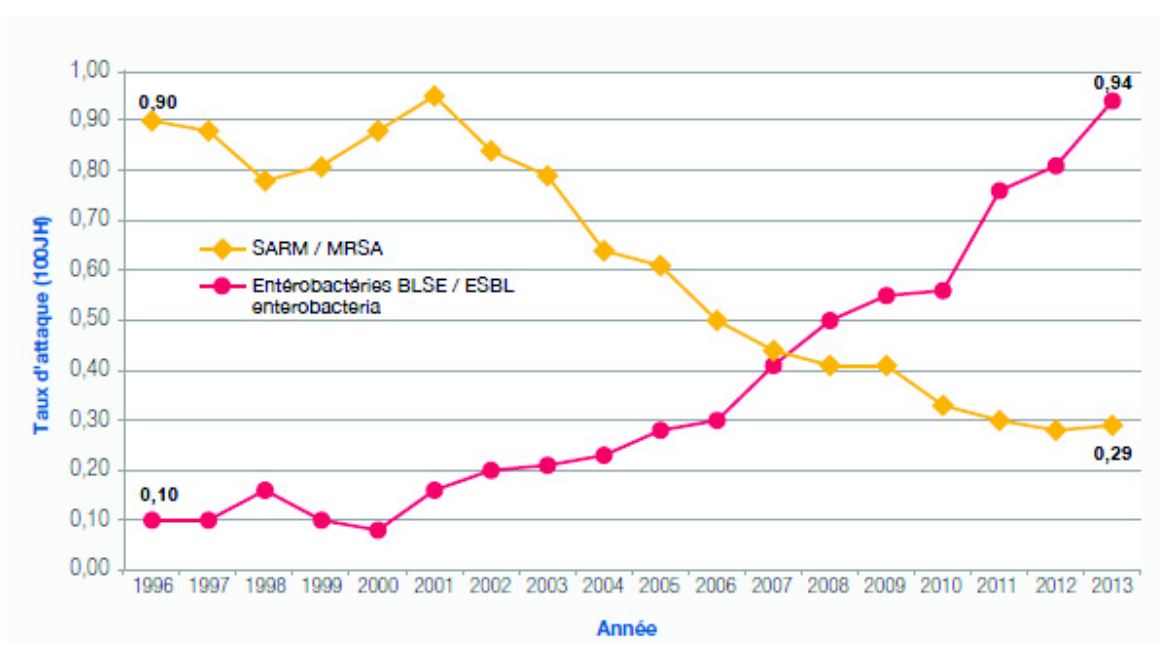


Illustration 3: Incidence des entérobactéries productrices de BLSE et des *Staphylococcus aureus* résistants à la méticilline (SARM) pour 100 journées d'hospitalisation (ONERBA 2013)

2.4.2 Sensibilité aux quinolones

E. coli est naturellement sensible aux quinolones, inhibiteurs des ADN gyrases et des topo-isomérases bactériennes. Néanmoins, plusieurs mécanismes de résistance existent ; ils ont entraîné une diminution de la sensibilité de cette espèce aux fluoroquinolones de 95% à 86% entre 2000 et 2010, toutes infections confondues (ONERBA 2011). Cette évolution préoccupante a conduit l'ANSM à inscrire les fluoroquinolones sur la liste des antibiotiques critiques (Liste des antibiotiques critiques, actualisation 2015, ANSM).

Ces résistances peuvent être dues à des mutations chromosomiques, amenant une modification de la cible (principalement l'ADN gyrase chez les Gram négatif), ou une augmentation de l'efflux (Kim et Hooper, 2014). Plusieurs mutations peuvent se cumuler, augmentant à chaque fois le niveau de résistance (Jacoby, 2005). Ainsi, en exposant la bactérie à des concentrations en fluoroquinolone insuffisantes pour la tuer, les systèmes d'efflux favorisent l'émergence d'autres mécanismes de résistance (Van Bambeke, 2003).

L'acquisition de plasmides portant des gènes de résistance est une autre voie connue (Jacoby, 2005). Ils peuvent être transmis à *E. coli* à partir d'autres espèces bactériennes (notamment *Klebsiella pneumoniae*). Ces plasmides portent des gènes codant soit des protéines protégeant les cibles des fluoroquinolones, soit des mécanismes d'efflux, soit des enzymes inactivant l'antibiotique. De plus, ces plasmides sont fréquemment porteurs de gènes codant une BLSE, ce qui restreint l'utilisation de deux classes majeures d'antibiotiques chez ces souches (Jacoby, 2005).

La sensibilité des souches urinaires de *E. coli* à la ciprofloxacine est inférieure chez les femmes de plus de 65 ans et chez les hommes à celle des souches isolées chez les femmes de 15 à 65 ans : 86% et 83% contre 94,4% respectivement. Le même phénomène est observé avec l'acide nalidixique, avec 65,1% et 72,4% contre 79,6% de sensibilité respectivement (réseau AFORCOPI-BIO 2011 concernant les IU communautaires, ONERBA 2011). En 2013, toutes populations confondues, la sensibilité des souches de *E. coli* urinaires à l'acide nalidixique est de 82,2% et de 89,5% à la ciprofloxacine (réseau MedQual, ONERBA 2013). D'après l'ECDC, en 2014, la sensibilité globale de *E. coli* aux fluoroquinolones est de 79,1% (ECDC).

2.4.3 Sensibilité aux aminosides

Les aminosides sont des antibiotiques utilisés pour le traitement des infections graves, notamment à *E. coli*. Les résistances sont principalement dues à des enzymes (acétyltransférases ou nucléotidyltransférases) inactivant la molécule (Ho, Leung, Chow, 2014 et Ho, Wong, Lo, 2010). La modification des cibles, par mutation ou méthylation de l'ARNr 16S ou modification des protéines ribosomales, est un autre mécanisme, moins fréquemment rencontré. Enfin, une diminution de la perméabilité ainsi que des systèmes d'efflux actif sont également retrouvés (Ramirez et Tolmasky, 2010).

E. coli reste relativement sensible à cette famille d'antibiotiques, avec des taux de 91,3% (ECDC 2014, toutes infections et aminosides confondus) à plus de 98% de sensibilité selon les molécules dans les IU (ONERBA 2013). Cependant, ces chiffres suivent une tendance à la baisse, ce qui pourrait devenir préoccupant, du fait de l'importance de ces molécules dans la prise en charge d'infections graves. Par exemple, entre 2000 et 2013, la sensibilité (toutes infections confondues) de *E. coli* à l'amikacine est passée de 100% à 98% des souches, celle de la gentamicine de 97% à 95% (réseau REUSSIR, ONERBA 2013).

2.4.4 Sensibilité à la fosfomycine

La fosfomycine, utilisée sous forme de sel de trométamol dans les IU, est l'antibiotique de première intention en cas de cystite aiguë simple en France (SPILF 2014). Les résistances peuvent être d'origine chromosomique, entraînant une diminution de la pénétration de la molécule dans la bactérie, ou, plus rarement, provenir d'une inactivation enzymatique d'origine plasmidique (ouverture du cycle époxyde et formation d'un adduit [Arca, 1997]) (Nilsson, 2003).

Malgré une utilisation importante, les taux de sensibilité de *E. coli* restent supérieurs à 98%, voire 99% (ONERBA 2013 ; Honderlick, 2006). Ceci s'explique par la durée de traitement courte (prise unique), et par un coût métabolique élevé des résistances pour la bactérie, ce qui empêche la « reprise » de croissance de souches potentiellement résistantes (Schito, 2003 ; Marchese, 2003). Il n'existe pas de résistance croisée avec d'autres antibiotiques, la fosfomycine étant la seule molécule à agir sur cette cible (Reeves, 1994), la pyruvyl transferase, nécessaire à la synthèse du peptidoglycane (Arca, 1997).

2.4.5 Sensibilité au cotrimoxazole

Les sulfamides antibactériens sont des composés synthétiques bactériostatiques. Ils inhibent de manière compétitive la dihydroptéroate synthase (DHPS), une enzyme de la voie de synthèse des folates, par analogie structurale avec son substrat, l'acide *para*-amino-benzoïque. Les résistances sont dues à des variants de l'enzyme, codés par le chromosome (Huovinen et Sundström, 1995) ou plus fréquemment par des éléments mobiles, plasmides ou transposons (Blahna et Zalewski, 2006).

Les sulfamides sont souvent associés à une diaminopyrimidine (triméthoprim, pyriméthamine), qui est un inhibiteur de la dihydrofolate réductase (DHFR), une autre enzyme de la voie de synthèse des folates. La résistance à cette diaminopyrimidine est liée à des mutations chromosomiques de la DHFR qui vont diminuer son affinité pour le triméthoprim, sans affecter celle pour son substrat l'acide dihydrofolique. Un autre mécanisme de résistance consiste en une hyperproduction de la DHFR. Des éléments mobiles vont également héberger des gènes de DHFR, permettant une production de DHFR « accessoires » et résistantes au triméthoprim (Huovinen et Sundström, 1995). Ces éléments mobiles peuvent également comporter des gènes de résistance à d'autres classes d'antibiotiques (Ho et Wong, 2009).

L'association triméthoprim-sulfaméthoxazole conserve une activité sur environ 75 à 80% des souches d'*E. coli* isolées des urines (ONERBA 2013), mais avec une tendance à la baisse (réseau MedQual, ONERBA 2013). Chez l'homme, ce taux est inférieur, avec une valeur de 72% (réseau REUSSIR, ONERBA 2013). Ces taux de sensibilité sont insuffisants pour permettre son utilisation en traitement probabiliste des IU (SPILF 2014).

2.4.6 Sensibilité aux nitrofuranes

Les nitrofuranes constituent une famille d'antibiotiques caractérisée par un hétérocycle furane portant un groupement nitro (NO₂). La nitrofurantoïne est le seul nitrofurane utilisé dans les IU. Son mécanisme d'action est mal connu, mais il semble acquis que l'activité nécessite une réduction de la molécule par des enzymes bactériennes (Sandegren et Lindqvist, 2008). L'un des intermédiaires, probablement un dérivé hydroxylamine, se fixe sur l'ADN et les ribosomes bactériens, provoquant l'effet bactériostatique.

Des mutations au niveau des gènes de réductase *nfsA* et *nfsB* entraînent une diminution de la réduction de l'antibiotique, et ainsi l'acquisition par la souche d'une résistance (Sandegren et Lindqvist, 2008). Néanmoins, le coût métabolique élevé de cette mutation induit un taux de croissance plus faible de ces souches. Les bactéries présentes dans l'arbre urinaire étant régulièrement éliminées par la miction, ces souches n'ont pas le temps de se développer à un niveau permettant une infection. Ceci explique le très faible taux de résistance associé à cet antibiotique. Une mauvaise observance ou une pharmacocinétique non optimale semblent être à l'origine de souches résistantes (Sandegren et Lindqvist, 2008). Il semblerait également qu'il existe une résistance d'origine plasmidique (Ho et Ng, 2015).

Une action directe de la molécule non-réduite existe (McOsker et Fitzpatrick, 1994), mais est masquée par la rapide réduction dont elle fait l'objet. Cette activité peut s'observer chez les souches possédant les mutations à l'origine des résistances.

La nitrofurantoïne est active sur 98,6% des souches d'*E. coli* responsables d'IU (réseau MedQual 2013, ONERBA 2013), ce qui permet de l'utiliser en première intention dans les cystites. Elle a également un intérêt dans le traitement des IU à EBLSE (SPILF 2014). Néanmoins, elle fait l'objet depuis mars 2012 d'une mise en garde de l'ANSM concernant des effets indésirables pulmonaires et hépatiques graves (pneumopathie interstitielle, hépatite cytolytique, cirrhose...). Par conséquent, son utilisation en prophylaxie des cystites récidivantes n'est désormais pas recommandée, et sa prescription dans les autres IU est

soumise à quatre conditions (Nitrofurantoïne : rappel sur le respect des indications et le bon usage – Point d'Information, 2016, ANSM) :

- traitement curatif,
- infections documentées,
- uniquement chez la femme et la petite fille de plus de 6 ans,
- durée brève (5 à 7 jours).

De plus, une origine immuno-allergique de certains de ces effets indésirables a été établie, les traitements répétés sont donc si possible à exclure (Nitrofurantoïne - Restriction d'utilisation en raison d'un risque de survenue d'effets indésirables graves hépatiques et pulmonaires - Lettre aux professionnels de santé-AFSSAPS, 2012).

3 Méthodes d'étude de l'activité bactériostatique des antibiotiques

3.1 Généralités

La détermination de la sensibilité aux antibiotiques est essentielle en antibiothérapie. Elle peut se faire par plusieurs méthodes, dont le coût et la facilité de mise en œuvre en routine vont grandement varier de l'une à l'autre. Ainsi, la technique de référence est la microdilution en milieu liquide en plaques de microtitration, mais sa complexité la réserve à ce jour à l'évaluation et la validation d'autres techniques. En routine, l'antibiogramme par diffusion en milieu solide ou par microdilution semi-automatisée est préféré car plus simple et moins coûteux, avec en complément si besoin, la détermination de la CMI par E-Test® dans des cas particuliers (utilisation d'une C3G en cas d'IU à EBLSE par exemple [SPILF 2014]).

3.2 Concentration Minimale Inhibitrice

3.2.1 Généralités

La CMI est définie comme la plus faible concentration d'un antibiotique donné qui inhibe toute croissance visible d'une souche bactérienne donnée, après 18 heures d'incubation à 35°C (Kahlmeter et Turnidge, *in* Antibiogramme 3ème édition, 2012). C'est un paramètre essentiel en clinique, puisque relié à la pharmacocinétique de l'antibiotique (concentrations au niveau du foyer infectieux, demi-vie et donc temps de contact avec la bactérie), il permet de prédire l'efficacité ou non du traitement. Ainsi, il sera possible de classer chaque souche bactérienne entre trois catégories pour chaque antibiotique (Illustration 4) :

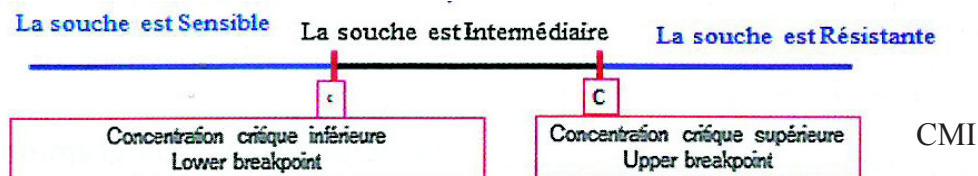


Illustration 4: Catégorisation d'une souche bactérienne en « sensible », « intermédiaire » ou « résistante » en fonction de la CMI et des concentrations critiques c et C

(d'après Jehl, 2015)

-si la CMI de la molécule pour cette souche est inférieure ou égale à une concentration critique inférieure notée c , la souche est catégorisée *sensible* (« S »), le traitement peut être instauré chez le patient avec une forte probabilité de succès.

-si la CMI de la molécule est strictement supérieure à une concentration critique supérieure notée C , la souche est catégorisée *résistante* (« R »), le traitement sera très probablement un échec.

-si la CMI est supérieure à c mais inférieure ou égale à C , la souche est classée *intermédiaire* (« I ») (Jehl, 2015). L'issue du traitement est incertaine, et la prescription de la molécule doit être évitée. Néanmoins, dans certaines situations (indications précises, ou utilisations de posologies accrues), il est possible d'instaurer un traitement avec des chances de succès. Il existe également des cas où la catégorisation *I* disparaît, avec une unique concentration critique (exemple de l'AMC depuis les recommandations 2014 du CASFM).

Ces concentrations critiques sont spécifiques à une molécule et peuvent varier d'une espèce bactérienne à l'autre. De plus, pour une molécule et une même espèce, différentes concentrations critiques peuvent être définies en fonction du contexte clinique. C'est le cas de l'AMC, pour laquelle une concentration critique plus élevée est utilisée dans le cas de cystites : la souche est classée S pour une CMI inférieure ou égale à 32 mg/L, contre 8 mg/L dans les autres infections.

Les CMI peuvent être déterminées par différentes méthodes. La référence est la microdilution en milieu liquide, peu pratique en routine. On utilisera alors préférentiellement le gradient par bandelette E-Test ®, méthode de diffusion en gélose.

3.2.2 CMI en milieu liquide ou microdilution

La microdilution en milieu liquide constitue la méthode de référence pour la détermination de la CMI (Kahlmeter et Turnidge, *in* Antibiogramme 3ème édition, 2012). Elle consiste à inoculer avec la souche bactérienne une gamme de puits contenant l'antibiotique à tester à des concentrations croissantes. La CMI correspond à la première dilution pour laquelle aucune croissance bactérienne n'est visible à l'œil nu, après 18h d'incubation à 35°C.

La manipulation se fait en plaques de microtitration (Illustration 5). Le milieu de culture est un bouillon Mueller-Hinton (MH) dont la concentration en cations divalents est ajustée (norme ISO 20776-1, CASFM), avec un volume final de 100 µL, un inoculum de 5×10^4 Unités Formant Colonies (UFC) environ et une incubation à 35°C pendant 18 à 24 heures (Kahlmeter et Turnidge, *in* Antibiogramme 3ème édition, 2012).

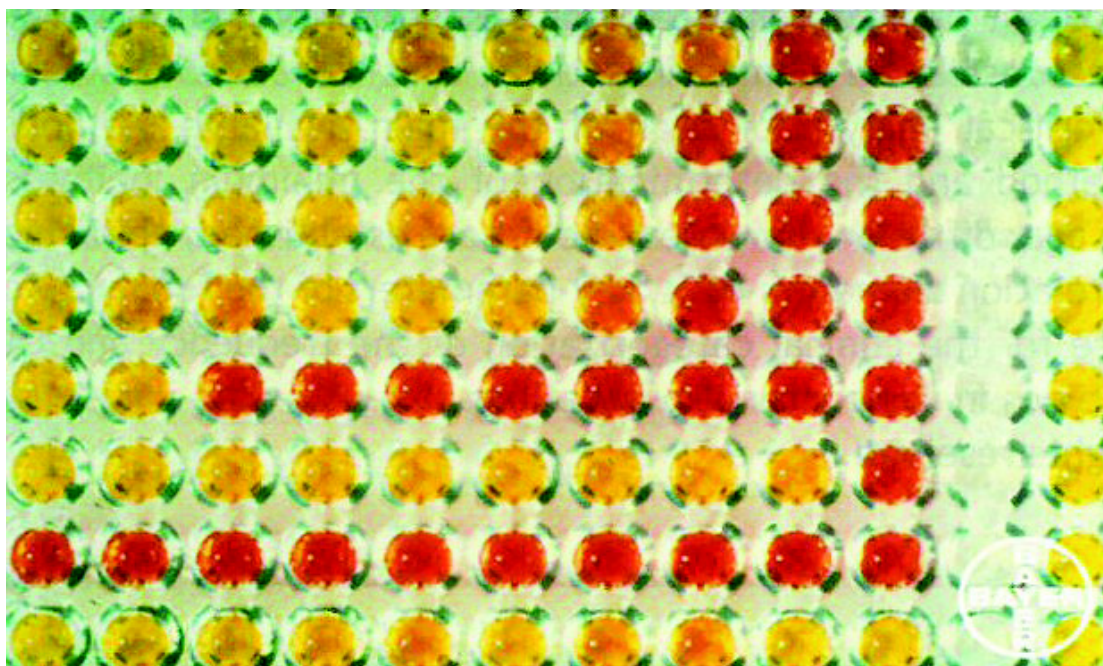


Illustration 5: Microdilution manuelle en plaque

(d'après Jehl, 2015)

Chaque ligne correspond à un antibiotique testé. La CMI est lue comme la concentration en antibiotique présente dans le premier puits où aucune croissance bactérienne n'est visible (en rouge ici).

Cependant, cette méthode est lourde et délicate à mettre en œuvre au quotidien, et servira essentiellement à l'évaluation de la fiabilité d'autres méthodes.

3.2.3 CMI par diffusion en gradient ou méthode E-Test®

La diffusion en gradient par bandelette est une méthode courante pour déterminer une CMI pour un antibiotique isolé. Elle consiste à placer sur une gélose MHensemencée avec la souche à tester, une bandelette imprégnée d'un gradient de concentration d'antibiotique, qui va diffuser dans la gélose, générant une concentration décroissante à mesure que l'on s'éloigne de la source (Illustration 6). Le gradient de la bandelette associé au gradient de diffusion va conduire à une zone d'inhibition de la culture bactérienne de forme ellipsoïdale. Le côté visible de la bandelette est gradué, la CMI correspond à la valeur de la concentration en antibiotique présente à la jonction de la zone d'inhibition et de la bandelette :

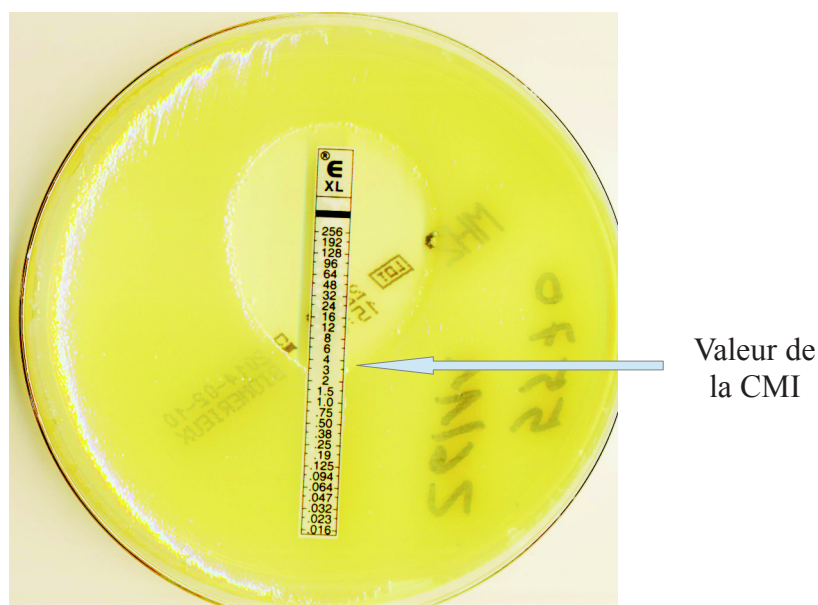


Illustration 6: Détermination de la CMI de l'AMC vis-à-vis d'une souche de *E. coli* par E-Test®

La CMI est égale à 3mg/L, concentration située à la jonction de la zone d'inhibition avec la bandelette.

D'apparence simple, cette méthode nécessite un respect strict des procédures pour être fiable.

3.3 Antibiogramme

3.3.1 Généralités

Un antibiogramme correspond à l'étude de l'activité bactériostatique de plusieurs antibiotiques en même temps, et permet ainsi la catégorisation *S*, *I* ou *R* d'une souche bactérienne pour chaque antibiotique. Ceci permet au clinicien de connaître les molécules efficaces. Il sélectionnera parmi celles-ci les mieux tolérées, les moins pourvoyeuses de résistances, et si possible les moins chères pour le traitement de l'infection.

Deux méthodes sont utilisées en routine : la diffusion en milieu solide, qui reste manuelle, et les méthodes semi-automatisées en milieu liquide.

3.3.2 Diffusion en milieu solide

Cette technique consiste à ensemencer une gélose MH avec la souche étudiée, puis à déposer des disques de papier buvard imprégnés des antibiotiques à tester. Les antibiotiques vont diffuser de manière radiale et en profondeur à partir de ces disques, induisant un gradient décroissant de concentrations dans la gélose. Il en résulte une zone d'inhibition circulaire de la croissance bactérienne, dont le diamètre est corrélé à la CMI (Weber, *in* Précis de Bactériologie clinique, 2007).

Pour chaque couple espèce/antibiotique, sont définis deux diamètres critiques, notés d et D . Ces valeurs critiques d et D sont déterminées en étudiant parallèlement le diamètre d'inhibition par diffusion en milieu gélosé et la CMI par une méthode appropriée, et ce pour un grand nombre de souches. On obtient alors un ensemble de couples CMI/diamètre d'inhibition pour chaque antibiotique et chaque espèce bactérienne, ce qui permet de tracer une droite de régression, ou droite de concordance (Illustration 7) :

Antibiogramme par diffusion: droite de concordance

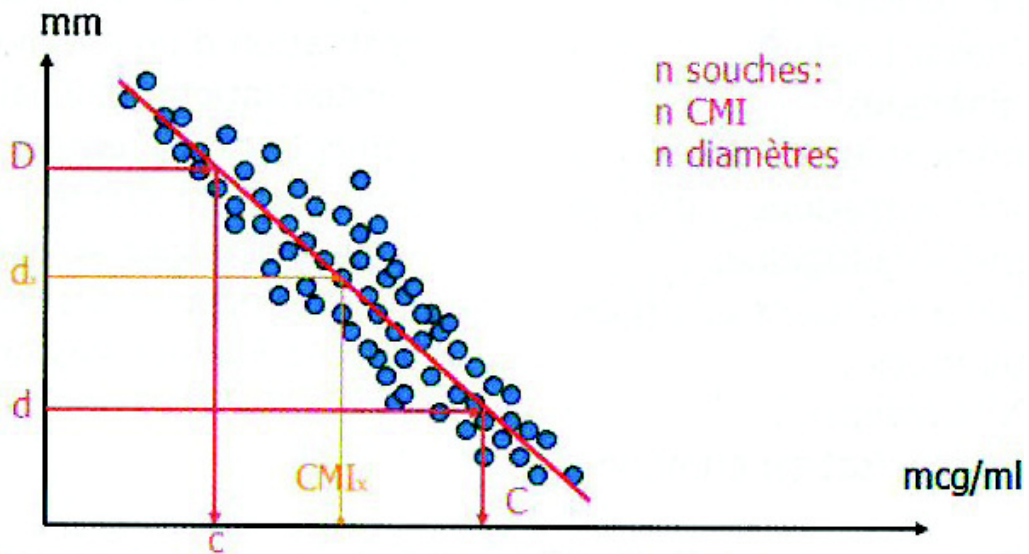


Illustration 7: Droite de concordance entre les valeurs de diamètre d'inhibition en milieu gélosé et les valeurs de CMI déterminées par une méthode appropriée

(d'après Jehl et al., 2015)

-si le diamètre de la zone d'inhibition est inférieur à d , cela signifie que la CMI est supérieure à C , la souche est résistante à cette antibiotique.

-si le diamètre est supérieur ou égal à D , la CMI est inférieure ou égale à c , la souche est sensible.

-si le diamètre est inférieur à D mais supérieur ou égal à d , la CMI est supérieure à c mais inférieure ou égale à C , la souche est catégorisée intermédiaire.

Du fait de sa relative imprécision (plusieurs diamètres d'inhibition possibles pour une même CMI), l'expression « CMI approchée » sera utilisée pour décrire la technique de l'antibiogramme par diffusion.

Cette méthode manuelle est employée en routine. Elle autorise une certaine flexibilité dans le choix des antibiotiques à tester et permet notamment de détecter certains mécanismes de résistances, en particulier les BLSE. Néanmoins, elle nécessite une standardisation stricte, et la lecture du diamètre d'inhibition peut induire des discordances d'une personne à l'autre.

En France, les valeurs de CMI et les diamètres d'inhibition correspondants sont définis par le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CASFM), en relation avec l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) pour une harmonisation européenne.

3.3.3 Méthodes semi-automatisées en milieu liquide

Il existe également des automates destinés à la réalisation des antibiogrammes en milieu liquide. Trois appareils sont commercialisés en France : Phoenix® (Becton Dickinson), Microscan Walkaway® (Siemens), et Vitek 2® (bioMérieux). Ces systèmes effectuent une lecture turbidimétrique de la croissance bactérienne en milieu liquide, à différentes dilutions en antibiotiques, en fonction du temps. Les dilutions testées sont limitées à celles encadrant les bornes de classification *S*, *I*, *R* de manière à limiter l'emploi de réactifs. C'est pourquoi il n'est pas possible, par cette méthode, de connaître précisément la valeur de CMI « extrêmes » (les plus faibles et les plus élevées). De plus, le matériel est fourni par le fabricant, ce qui entraîne une complète rigidité dans le choix des antibiotiques et des techniques. Cependant, ces méthodes ne font que très peu intervenir l'humain, et limitent ainsi les risques d'erreur de manipulation et de lecture qui y sont liées. Ces automates intègrent également des logiciels d'interprétation, dits « systèmes experts », qui transforment les résultats bruts potentiellement incohérents en phénotypes possibles pour l'espèce bactérienne ciblée.

L'automate Phoenix® (Becton Dickinson) est un système semi-automatisé d'identification et de détermination de la sensibilité aux antibiotiques des bactéries et organismes lévuriformes (Illustration 8). L'ensemencement s'effectue dans des galeries fournies par le fabricant, portant chacune 136 micro-puits contenant des réactifs lyophilisés (Illustration 9). Les galeries sont divisées en deux parties, une servant à l'identification du germe, l'autre à l'étude de la sensibilité aux antibiotiques. Cette dernière repose sur le principe

de la micro-dilution en bouillon. L'automate effectue une lecture en « continu » (toutes les 20 minutes) de la croissance bactérienne en incubation constante à 35°C, ce qui permet de déterminer une CMI pouvant être rendues comme résultat. Ce fonctionnement s'oppose à celui du Vitek 2® bioMérieux, qui utilise des algorithmes de croissance pour calculer la CMI de la souche au cours de l'incubation (Kahlmeter et Turnidge, *in* Antibiogramme 3ème édition, 2012).



Illustration 8: Automate Phoenix® (Becton Dickinson)

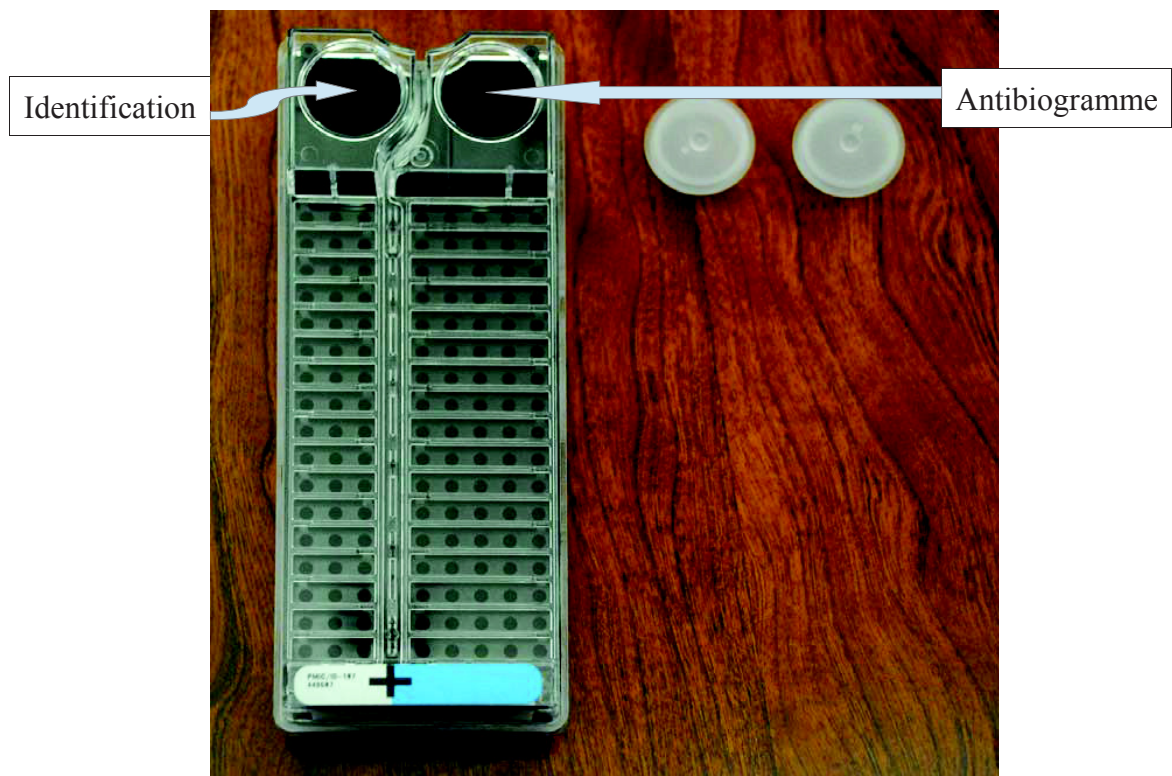


Illustration 9: Galeries d'identification bactérienne et d'antibiogramme de l'automate Phoenix® (Becton Dickinson)

Les résultats de CMI permettent la catégorisation *S*, *I* ou *R* de la souche pour chaque antibiotique testé, et ces résultats bruts sont ensuite interprétés par le système expert de l'appareil pour éliminer les phénotypes aberrants. Un compte-rendu peut alors être imprimé (Illustration 10) :

RAPPORT DE LABORATOIRE SUR L'ÉCHANTILLON - PRELIMINAIRE

14/12/2013 08:23:40 Page 1/1
 Institut de Biologie Clinique Version d'EpiCenter: V6.12A / V5.25A
 Centre Hospitalier Charles Nicolle Version d'instrument Phoenix: 6.01A
 Laboratoire de Bactériologie
 1 rue Germont 76000 ROUEN

Nom patient: **ID patient:**
 Date de naissance: 26/11/1922 Sexe patient: Féminin
 Nom de l'utilisateur: TPE
N° d'examen: 0113123371442090
 Type d'échantillon: URINE (U)
 Service hospitalier: JMEA MED.A AILE AB ST DUBUIS G
 Date de prélèvement: 12/12/2013 09:26:49 Date de réception: 12/12/2013 09:26:49
 N° de demande: BG13123371

Numéro d'isolat: **1** **Preliminaire**

Nom organisme: Escherichia coli

Résultats d'isolats AST

Antibiotique	Concentration ou CMI	Interp	SIR Expert	SIR Final	Numéro Règle	Grp Test Antibiot
Ampicilline	>8	R		R		A
Ticarcilline	>16	R		R		B
Ticarcilline-Clavulanate	>16/2	R		R		B
Pipéracilline-Tazobactam	>16/4	R		R ✓		B
Céfalotine	>32	R		R ✓		A
Céfoxitine	≤4	S		S		B
Ceftriaxone	≤0,5	S		S		A
Ceftazidime	≤1	S		S		B
Céfépime	≤1	S		S		B
Céfixime	≤0,5	S		S		A
Aztréonam	≤1	S		S		B
Imipénème	≤1	S		S		B
Amikacine	≤4	S		S		A
Gentamicine	2	S		S		A
Triméthoprime-Sulfaméthoxazole	≤1/19	S		S		A
Nitrofurantoïne	≤16	S		S		A
Acide nalidixique	≤4	S		S		A
Norfloxacine	≤0,5	S		S		A
Ciprofloxacine	≤0,25	S		S		A
Amoxicilline-Clavulanate (f)	>8/2	R		R		A
Ertapenem	≤0,25	S		S		B
Fosfomycine avec G6P	≤16	S		S		A

Marqueurs de résistance

Règle 8021 ATBA AntibioGramme effectué par automate Phoenix (BD)

Types de test: Combo ID/AST

Nom test:	UNMIC/ID-97	Etat test: Terminé
Numéro de séquence:	427930321868 N° de lot: 3226391	D/H Début: 13/12/2013 12:56:22
Position:	1/C13	D/H du résultat: 13/12/2013 21:29:28
Nom organisme:	Escherichia coli	Densité d'inoculum: 0.25

Résultats ID de l'instrument	Valeur confiance
Escherichia coli	97%

Messages spéciaux

- Faible densité d'inoculum utilisée.

Illustration 10: Exemple de résultat (anonymisé) de sensibilité aux antibiotiques de E. coli par automate Phoenix® (Becton Dickinson)

TRAVAUX PERSONNELS

1 Objectifs de l'étude

Le but de ce travail était, dans un premier temps, d'étudier la sensibilité aux antibiotiques de 293 souches consécutives d'*Escherichia coli* isolées d'ECBU reçus au CHU de Rouen, de novembre 2013 à janvier 2014, grâce à une méthode semi-automatisée d'antibiogramme en milieu liquide, le Phoenix® Becton Dickinson. Dans une deuxième partie, il s'agissait de comparer deux méthodes d'évaluation de la sensibilité pour la seule association amoxicilline-acide clavulanique, la première par l'automate Phoenix®, la seconde par détermination de la CMI par bandelette E-Test®.

2 Matériel et méthodes

2.1 Critères d'inclusion

Les souches d'*E. coli* incluses dans cette étude provenaient de patients adultes, c'est-à-dire âgés d'au moins 18 ans le jour du recueil. Les urines devaient être mono-microbiennes, avec une bactériurie supérieure ou égale à 10^3 UFC/mL, et une leucocyturie supérieure ou égale à 10^4 /mL. Chez les patients sondés, ce dernier paramètre n'étant pas significatif, aucune valeur minimale de leucocyturie n'était exigée. Les 293 souches étaient consécutives, et chaque patient n'a été inclus qu'une seule fois.

2.2 Recueil des souches

Les souches ont été isolées d'ECBU réalisés au CHU de Rouen sur les différents sites (Hôpital Charles Nicolle, Hôpital de Bois-Guillaume, Hôpital de Oissel, Hôpital Saint-Julien, Hôpital Boucicaud) et adressés au laboratoire de bactériologie. A partir d'un milieu chromogène, permettant de détecter la (les) espèce(s) présente(s), les souches étaient repiquées sur gélose pour être isolées et conservées.

2.3 Détermination de la sensibilité en milieu liquide : automate Phoenix®

La galerie UMIC/ID-97 destinée aux bactéries à Gram négatif fermentaires a été utilisée. Des colonies de même morphologie de la souche étaient mises en suspension dans un bouillon ID Phoenix de 4,5 mL fourni par le fabricant. Cette suspension était vortexée, et la densité de l'inoculum était ajustée grâce à un néphélomètre jusqu'à obtenir une densité d'inoculum correspondant au standard MacFarland 0,5. Une goutte de solution indicatrice AST (« Test de sensibilité aux agents antimicrobiens ») était ajoutée à un tube de bouillon AST, puis le tube était mélangé par retournement. 25 µL de bouillon ID étaient alors prélevés à l'aide d'une pipette puis ajoutés au bouillon AST, et ce tube était à nouveau mélangé par retournement. Le bouillon ID était alors entièrement versé dans l'orifice de remplissage côté ID de la galerie, et le bouillon AST du côté AST de la galerie. Une fois tous les puits inoculés par les suspensions bactériennes, la galerie était placée dans l'automate pour incubation et lecture.

Un système de code-barres permettait l'identification du prélèvement, et le transfert informatique des résultats dans le logiciel EpiCenter. Les résultats de sensibilité aux antibiotiques étaient interprétés en fonction de l'identification bactérienne par le système expert de l'automate. Un compte-rendu papier était imprimé puis archivé une fois les résultats rendus au clinicien.

Liste des antibiotiques testés :

- β-lactamines : ampicilline (résultat extrapolable pour l'AMX), AMC, ticarcilline, association ticarcilline-acide clavulanique (TCC), association pipéracilline-tazobactam (TZP), céfalotine, céfoxitine, ceftriaxone, ceftazidime, céfépime, céfixime, aztréonam (non retenu dans l'étude), imipénème, ertapénème,
- aminosides : amikacine, gentamicine,
- quinolones : acide nalidixique, norfloxacine, ciprofloxacine,
- SXT,
- nitrofurantoïne,
- fosfomycine.

2.4 Congélation et décongélation de souches

Pour des questions d'emploi du temps, certaines souches ont dû être congelées à -80°C puis décongelées pour détermination de la CMI de l'AMC par méthode E-Test®. La décongélation s'effectuait en prélevant un fragment de la suspension bactérienne congelée à l'aide d'une anse à inoculer et en l'étalant sur une gélose Trypticase-Soja (TS). Après 18h d'incubation à 37°C , des colonies de la souche décongelée étaient obtenues.

2.5 Détermination de la CMI de l'AMC par E-Test®

La CMI de l'AMC a été déterminée par E-Test® pour les 293 souches de l'étude. Les souches obtenues par repiquage direct ou après décongélation étaient mises en suspension dans une solution de chlorure de sodium à 0,9%. Pour ce faire, quelques colonies de morphologie identique (pour éviter de sélectionner un variant atypique) étaient prélevées à l'aide d'une anse stérile puis homogénéisées, de manière à obtenir un inoculum de 0,5 MacFarland, selon les recommandations du fabricant bioMérieux. La concentration en bactéries est alors d'environ 10^8 UFC/mL.

Cette suspension bactérienne à 0,5 MacFarland était ensuite inoculée à l'aide d'un écouvillon stérile à la surface d'une gélose Mueller-Hinton (MH), en ensemençant « par tiers ». L'écouvillon était donc frotté sur toute la surface de la gélose, puis la boîte de Pétri était tournée sur 120° , l'écouvillon à nouveau frotté sur toute la surface, et cette opération était répétée une troisième fois après une nouvelle rotation de 120° . Ceci permettait un ensemencement homogène de la gélose.

Une bandelette E-Test® était retirée de son étui à l'aide d'une pince pour éviter une contamination par les mains, puis déposée au centre de la gélose, en prenant garde d'éviter la présence de bulles sous la bandelette. En cas de présence d'une bulle, celle-ci était chassée par très légère pression à l'aide de la pince, en veillant à ne pas déplacer la bandelette. En effet, une fois posée, le gradient de concentrations de l'antibiotique diffuse d'emblée dans la gélose ; un déplacement pourrait alors fausser le gradient de concentrations recherché. Les gélouses ensemencées étaient ensuite incubées à 37°C pendant 18 heures.

Les géloses étaient sorties de l'étuve après incubation pour lecture. La CMI de l'AMC était lue à la jonction de la zone d'inhibition et de la bandelette (cf Illustration 6).

2.6 Analyse des résultats

La population a été étudiée selon les critères suivants : répartition des sexes ; âges minimum et maximum, âge moyen, âge médian, pour l'ensemble de la population et par sexe ; type de service d'où provenait le prélèvement (urgences, chirurgie, médecine, soins de suite et de réadaptation [SSR], soins de longue durée [SLD], obstétrique, soins intensifs [SI], cancérologie).

La catégorisation des souches d'après les résultats du E-Test® a été faite selon les recommandations 2013 du CASFM qui s'appliquaient à l'époque de l'étude. Néanmoins, les résultats ont également été interprétés en fonction des recommandations 2014 (qui prévalent toujours en 2016). L'évolution de ces recommandations a conduit à des résultats et une approche thérapeutique différents (Tableau 8). En effet, jusqu'aux recommandations 2013, le CASFM préconise une concentration critique inférieure c égale à 4 mg/L et une concentration critique supérieure C égale à 8 mg/L. A partir des recommandations 2014, une seule concentration critique est retenue : $c=C=8$ mg/L, ce qui entraîne la disparition de la catégorisation I .

		Concentrations critiques (mg/L)	
		c	C
CASFM 2013	Toutes IU	≤ 4	> 8
CASFM 2014	IU autres que cystites	≤ 8	> 8
	Cystites	≤ 32	> 32

Tableau 8: Concentrations critiques retenues pour la détermination de la sensibilité à l'AMC selon les recommandations 2013 et 2014 du CASFM, en fonction du contexte clinique

Les CMI₅₀ (médiane des CMI) et CMI₉₀ (neuvième décile des CMI) ont été calculées.

Les CMI de l'AMC déterminées par l'automate Phoenix® n'ont pas été relevées pour être comparées à celles déterminées par E-Test®, compte-tenu de l'absence de rendu de chiffre précis pour les valeurs inférieures ou égales à 2 mg/L et supérieures à 8 mg/L.

Pour chaque souche, c'est la catégorisation de la sensibilité à l'AMC obtenue avec l'automate qui a été confrontée avec celle obtenue par E-Test®. Ceci a permis d'étudier la concordance entre les deux méthodes et la répartition des discordances. Ces discordances sont de trois types : mineure ou « minor error » (réponse *S* ou *R* au lieu de *I*, ou *I* au lieu de *S* ou *R*), majeure ou « major error » (réponse *R* pour une souche *S*), « très majeure » ou « very major error » (réponse *S* au lieu de *R*) (Weber, *in* Précis de bactériologie clinique, 2007).

Le pourcentage d'erreurs mineures est exprimé en prenant comme dénominateur le nombre total de souches ; le pourcentage d'erreur majeure en prenant comme dénominateur le nombre de souches *S* par la méthode de référence ; le pourcentage « d'erreur très majeure » en prenant comme dénominateur le nombre de souches *R* par la méthode de référence.

3 Résultats

3.1 Population étudiée

Deux cent vingt souches sur les 293 incluses ont été isolées chez des femmes et 73 chez des hommes. Dans l'ensemble de la population, l'âge minimal est de 18 ans, l'âge maximal de 97 ans. L'âge moyen est de 61,7 ans, l'âge médian de 68 ans. Chez les femmes, l'âge minimal est de 18 ans, l'âge maximal de 97 ans. L'âge moyen est de 59,85 ans, l'âge médian de 67 ans. Chez les hommes, l'âge minimal est de 22 ans, l'âge maximal de 92 ans. L'âge moyen est de 67,3 ans, l'âge médian de 70 ans.

Sur les 293 souches :

- 89 proviennent de patients accueillis dans les services d'urgences du CHU,
- 43 de services de chirurgie,
- 90 de services de médecine,
- 12 de SSR,
- 16 de SLD,
- 22 de services d'obstétrique,
- 18 de services de soins intensifs,
- 3 de services de cancérologie.

3.2 Profil de sensibilité aux antibiotiques de la population bactérienne étudiée

La sensibilité aux antibiotiques par méthode semi-automatisée en milieu liquide a été analysée pour l'ensemble de la population, puis en fonction du sexe. Ont ensuite été individualisées, sur l'ensemble de la population, les souches provenant de services d'urgences, de chirurgie, de médecine, de SSR, de SLD, d'obstétrique, de SI et de cancérologie. Compte tenu des faibles effectifs des souches issues de services de SSR, SLD, obstétrique, SI et cancérologie, ces résultats ne seront pas détaillés. Les tableaux incluant l'ensemble des résultats, en nombre de souches et en pourcentages correspondants sont présentés en annexe. Les souches productrices de BLSE ont également été individualisées.

3.2.1 Ensemble des souches

Les taux de sensibilité des souches aux pénicillines et associations pénicillines+IBL étaient les suivants (Illustration 11) :

- 129 souches étaient *S* à l'AMX (et donc *S* à l'AMC), soit 44%.
- 7 souches étaient *I* à l'AMX et *I* à l'AMC, soit 2,4%.
- 157 souches étaient *R* à l'AMX (soit 53,6%), parmi lesquelles :
 - 5 étaient *S* à l'AMC,
 - 152 étaient *I* ou *R* à l'AMC.

Le pourcentage de souches *S* à l'AMC s'établit donc à 45,7%.

- ticarcilline : 47,1%
- TCC : 53,2%
- TZP : 92,5%

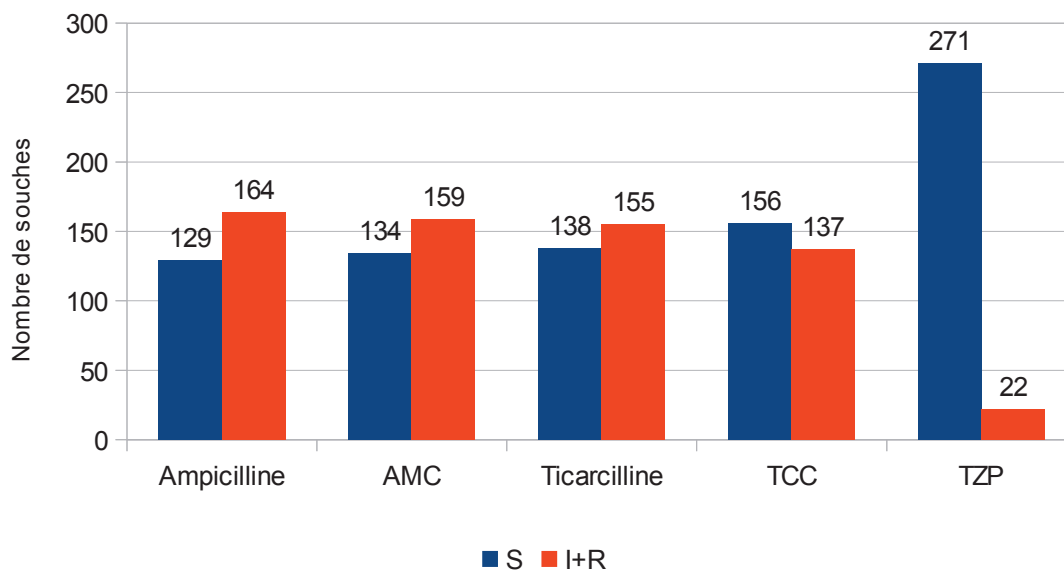


Illustration 11: Nombre de souches S et I+R à l'ampicilline, l'AMC, la ticarcilline, la TCC et la TZP selon le CASFM 2013 dans l'ensemble de la population étudiée.

TCC=ticarcilline+acide clavulanique ; TZP=pipéracilline+tazobactam

Parmi les céphalosporines et apparentées, les taux de sensibilité étaient (Illustration 12) :

-céfalotine : 44%

-céfoxitine : 97,3%

-céfixime : 89,8%

-ceftriaxone et ceftazidime : 90,8%

-céfépime : 91,8%

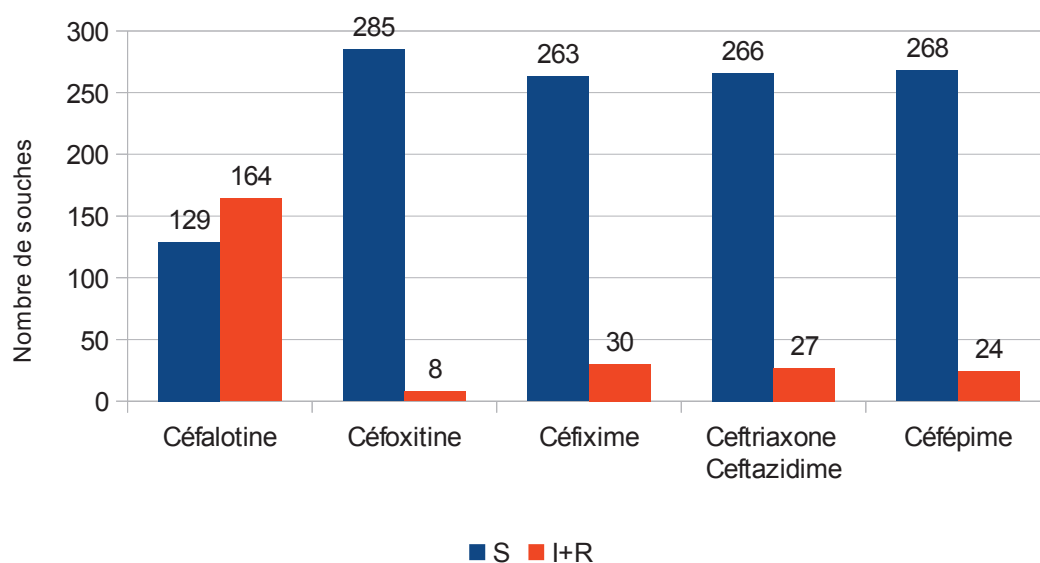


Illustration 12: Nombre de souches S et I+R à la céfalotine, la céfoxitine, au céfixime, à la ceftriaxone, la ceftazidime et au céfépime (n=292) selon le CASFM 2013 dans l'ensemble de la population étudiée

Un taux de sensibilité de 100% a été retrouvé pour les deux carbapénèmes de l'étude : imipénème et ertapénème.

Concernant les quinolones, les taux de sensibilité étaient (Illustration 13) :

-acide nalidixique : 79,5%

-norfloxacine : 79,5%

-ciprofloxacine : 85%

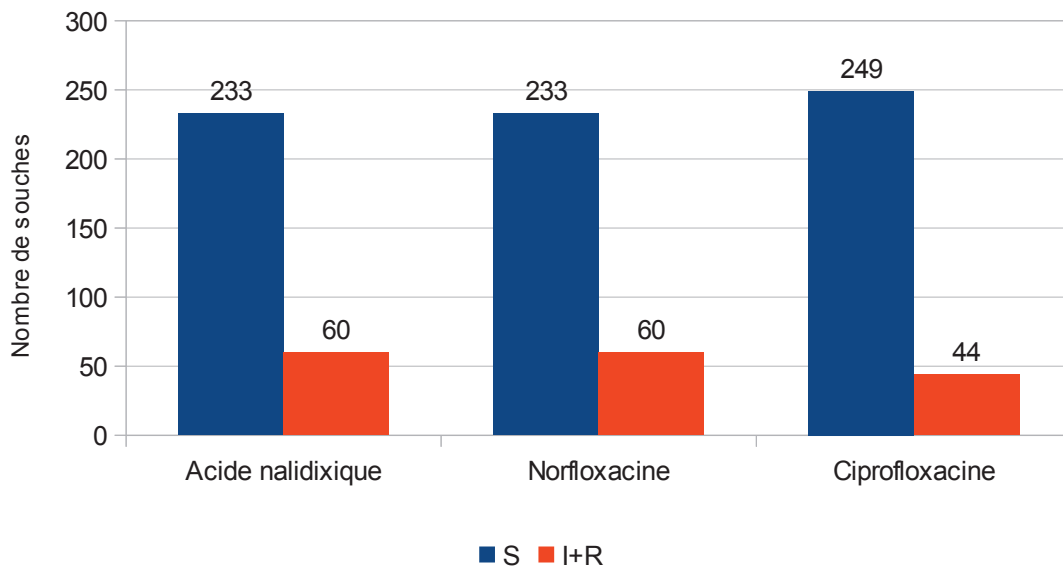


Illustration 13: Nombre de souches S et I+R à l'acide nalidixique, la norfloxacine, et la ciprofloxacine selon le CASFM 2013 dans l'ensemble de la population étudiée.

Les taux d'activité des autres molécules utilisables dans les IU étaient les suivants

(Illustration 14) :

-amikacine : 99,7%

-gentamicine : 93,2%

-SXT : 74,4%

-nitrofurantoïne : 98,3%

-fosfomycine : 99,3%

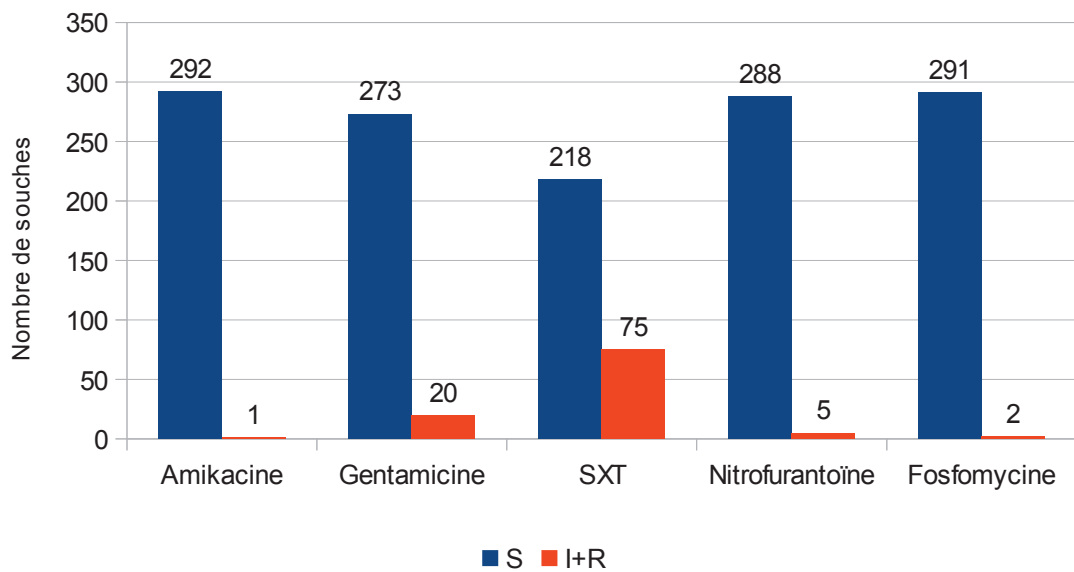


Illustration 14: Nombre de souches S et I+R à l'amikacine, la gentamicine, au SXT, à la nitrofurantoïne et à la fosfomycine selon le CASFM 2013 dans l'ensemble de la population étudiée

SXT=cotrimoxazole

3.2.2 Sensibilité des souches en fonction du sexe

La comparaison de la sensibilité aux antibiotiques des souches de *E. coli* isolées chez les hommes avec celles des souches isolées chez les femmes a été réalisée.

Les taux de sensibilité aux pénicillines et pénicillines+IBL (Illustration 15) et céphalosporines (Illustration 16) étaient systématiquement légèrement inférieurs chez les hommes (de 2% à 3,7%), sauf pour la TCC (écart de 8,9%) et la TZP (supérieur de 0,9% chez les hommes). Toutes les souches étaient sensibles à l'imipénème et à l'ertapénème.

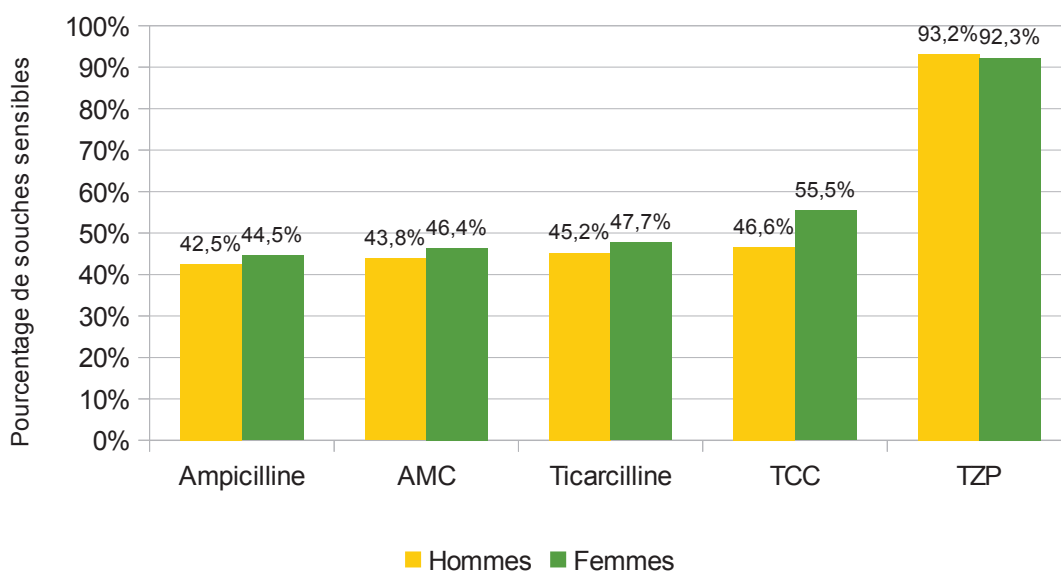


Illustration 15: Pourcentages de souches S à l'ampicilline, l'AMC, la ticarcilline, la TCC et la TZP selon le CASFM 2013 dans les populations masculine et féminine étudiées

TCC=ticarcilline+acide clavulanique ; TZP=pipéracilline+tazobactam

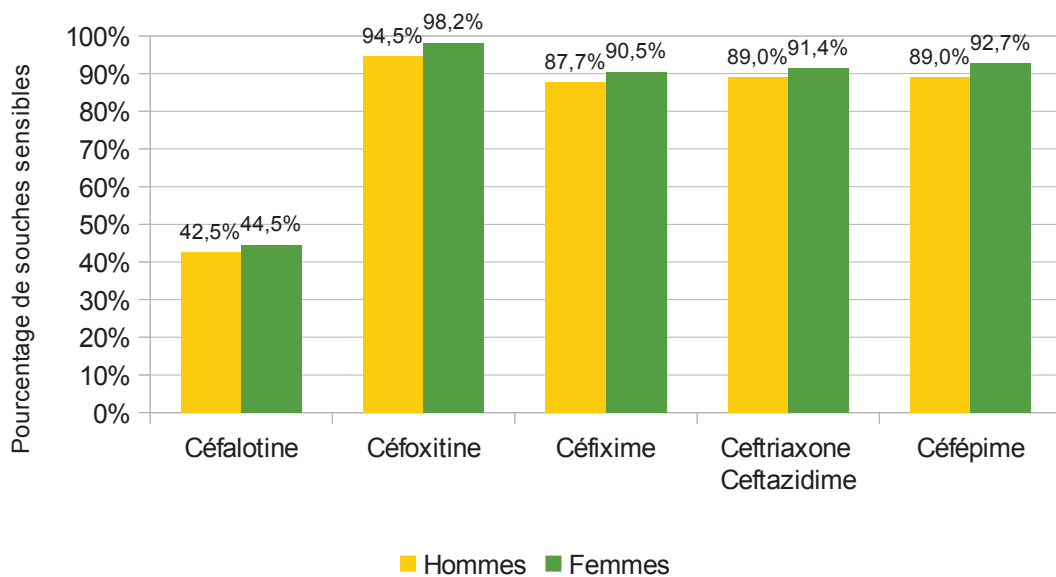


Illustration 16: Pourcentages de souches S à la céfaloine, la céfoxitine, au céfixime, à la ceftriaxone, la ceftazidime et au céfépime selon le CASFM 2013 dans les populations masculine et féminine étudiées

Des taux de sensibilité à l'acide nalidixique et à la norfloxacine quasi comparables étaient observés chez les souches isolées chez les femmes et les hommes, et la sensibilité à la ciprofloxacine est légèrement supérieure chez les souches isolées chez les femmes (Illustration 17) :

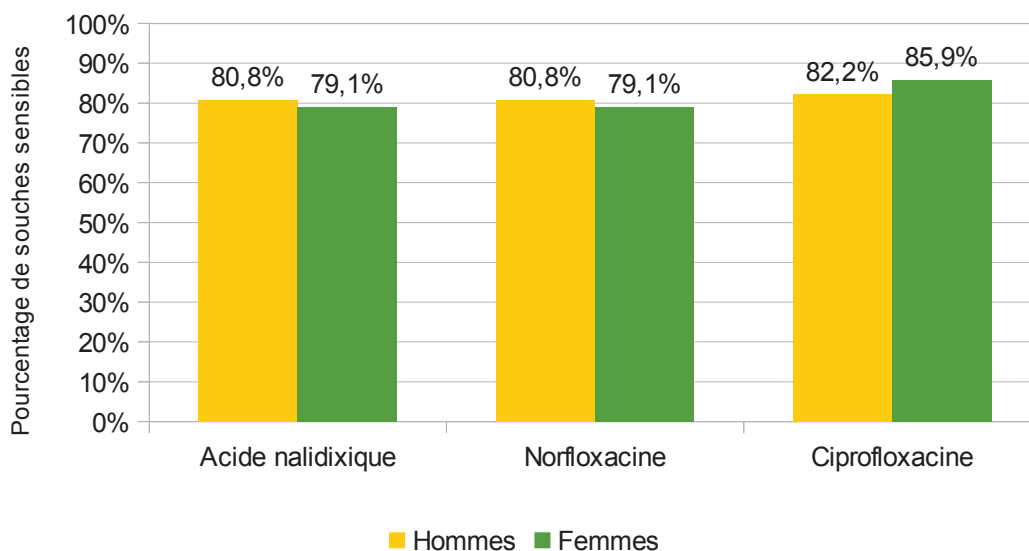


Illustration 17: Pourcentages de souches S à l'acide nalidixique, la norfloxacine et la ciprofloxacine selon le CASFM 2013 dans les populations masculine et féminine étudiées

Les taux de sensibilité à l'amikacine, au SXT, à la nitrofurantoïne et à la fosfomycine sont globalement comparables (de 0,9% à 2,3% d'écart entre les deux sexes, dans un sens ou dans l'autre). En revanche, la sensibilité à la gentamicine est très inférieure chez les hommes (5,5% d'écart) (Illustration 18).

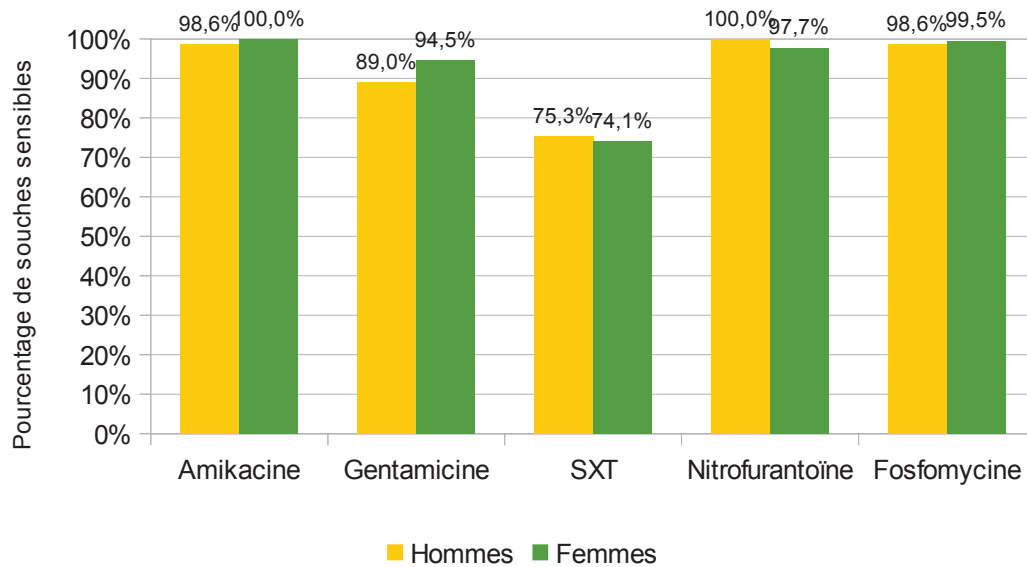


Illustration 18: Pourcentages de souches S à l'amikacine, la gentamicine, au SXT, à la nitrofurantoïne et à la fosfomycine selon le CASFM 2013 dans les populations masculine et féminine étudiées

SXT=cotrimoxazole

3.2.3 Sensibilité des souches par type de service

Des comparaisons des taux de sensibilité de *E. coli* ont été faites entre les services de chirurgie, de médecine et d'urgences. Seules les molécules présentant des différences de taux d'activité importantes entre ces services ont été détaillées dans ce paragraphe.

Onze molécules ont été retenues dans cette comparaison. Les souches isolées de patients hospitalisés dans des services de chirurgie étaient toujours moins sensibles à ces antibiotiques que les souches isolées de patients hospitalisés dans des services de médecine ou d'urgences, avec parfois des différences importantes : 32,6% pour l'ampicilline en chirurgie contre 46,7% en médecine ; 34,9% pour l'AMC contre 48,9% respectivement (Illustration 19).

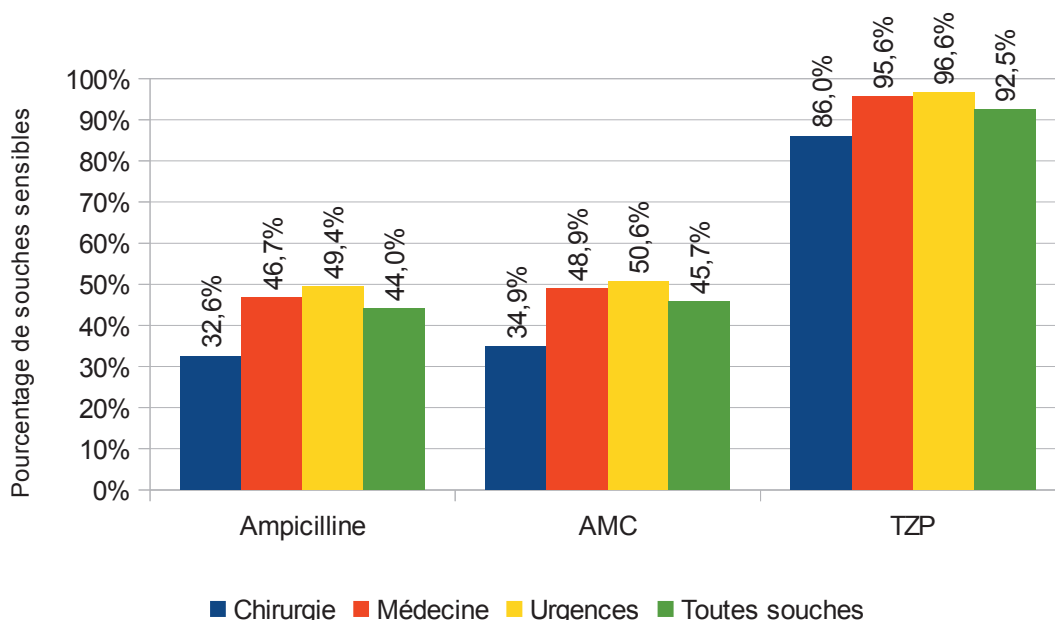


Illustration 19: Comparaison des pourcentages de souches sensibles à l'ampicilline, l'AMC et la TZP, d'après le CASFM 2013, parmi les souches isolées de patients hospitalisés dans des services de chirurgie, de médecine et d'urgences, avec l'ensemble de la population

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TZP=pipéracilline+tazobactam

Les taux de sensibilité des souches de *E. coli* aux C3G/C4G étaient toujours supérieurs à 90%, hormis pour le céfixime pour les souches isolées de patients hospitalisés en services de chirurgie (Illustration 20).

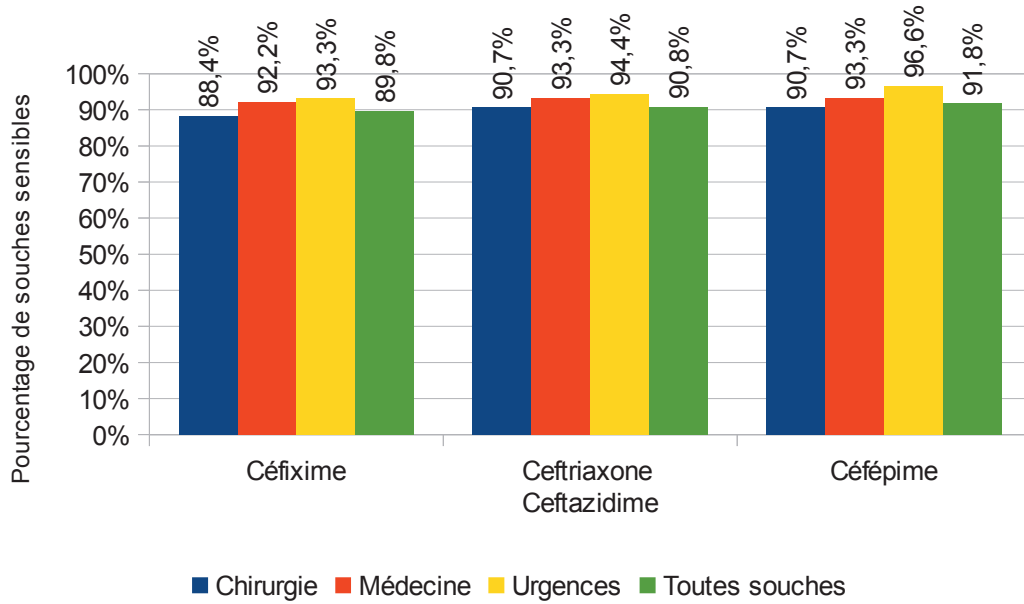


Illustration 20: Comparaison des pourcentages de souches sensibles au céfixime, à la ceftriaxone, à la ceftazidime et au céfépime, d'après le CASFM 2013, parmi les souches isolées de patients hospitalisés dans des services de chirurgie, de médecine et d'urgences, avec l'ensemble de la population

Le SXT est le seul antibiotique parmi les 11 comparés ici pour lequel un pourcentage plus élevé de souches sensibles a été retrouvé chez les souches issues de patients hospitalisés dans des services de médecine par rapport aux services d'urgences. Parmi les trois quinolones de l'étude, seule la ciprofloxacine était active sur plus de 90% des souches, et ce pour les seules souches issues de patients hospitalisés dans des services d'urgences (Illustration 21).

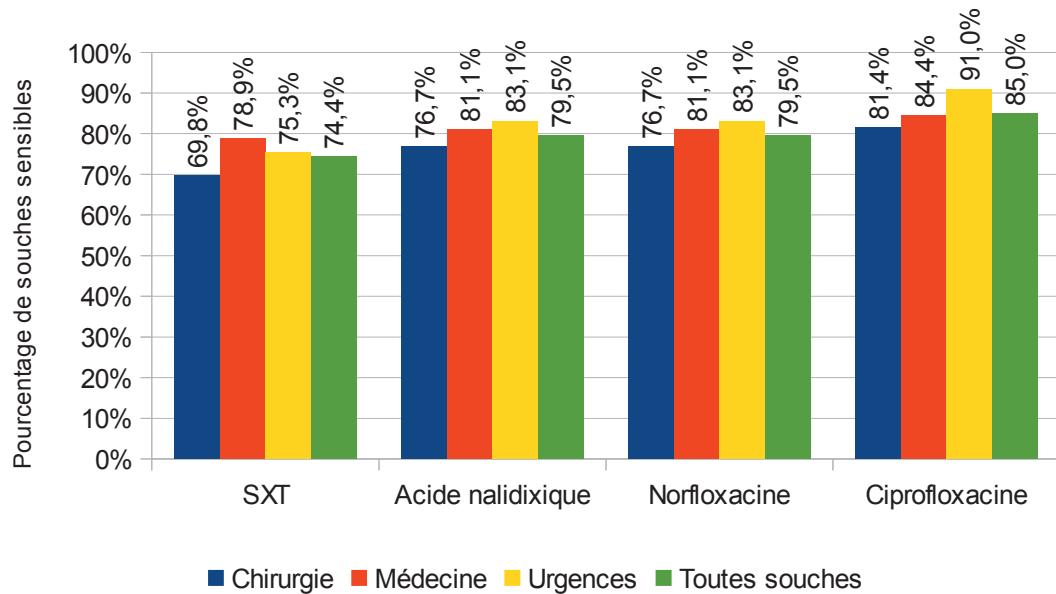


Illustration 21: Comparaison des pourcentages de souches sensibles au SXT, à l'acide nalidixique, à la norfloxacine et à la ciprofloxacine, d'après le CASFM 2013, parmi les souches isolées de patients hospitalisés dans des services de chirurgie, de médecine et d'urgences, avec l'ensemble de la population

SXT=cotrimoxazole

3.2.4 Sensibilité des souches productrices de BLSE

Dix-neuf souches de *E. coli* sur 293 étaient productrices de BLSE d'après l'antibiogramme réalisé en milieu liquide par l'automate Phoenix®, soit 6,5%. Sur ces 19 souches, 6 étaient issues de prélèvements d'origine masculine (soit 8,2%) et 13 d'origine féminine (soit 5,9%). Cinq ont été collectées dans des services de médecine, 4 de SI, 3 d'urgences, 3 de SLD, 2 de chirurgie, 1 de SSR, 1 d'obstétrique, et aucune de cancérologie.

Aucune des souches n'était sensible aux antibiotiques suivants : ampicilline, amoxicilline-acide clavulanique, ticarcilline, céfalotine, ceftriaxone, ceftazidime, céfépime, céfixime. Toutes les souches étaient en revanche sensibles aux molécules suivantes : imipénème, ertapénème, amikacine, nitrofurantoïne et fosfomycine.

Parmi les autres antibiotiques, les taux de sensibilité étaient les suivants (Illustrations 22 et 23) :

-TCC : 10,5%

-TZP : 84,2%

-céfoxitine : 84,2%

-gentamicine : 68,4%

-SXT : 52,6%

-acide nalidixique, norfloxacin, ciprofloxacine : 31,6%

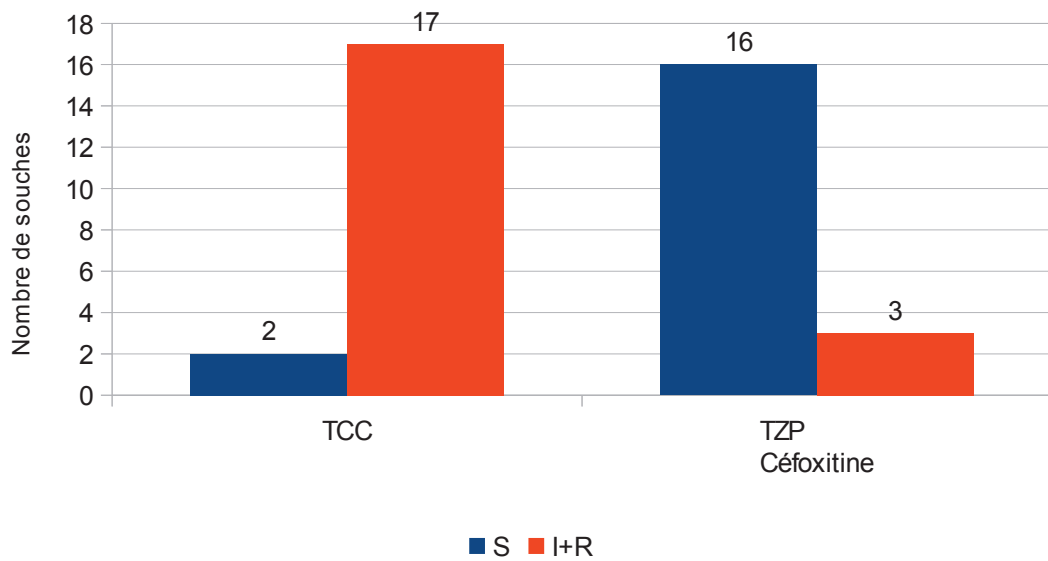


Illustration 22: Nombre de souches S et I+R à la TCC, à la TZP et à la céfoxitine d'après le CASFM 2013, parmi les souches productrices de BLSE

TCC=ticarcilline+acide clavulanique ; TZP=pipéracilline+tazobactam

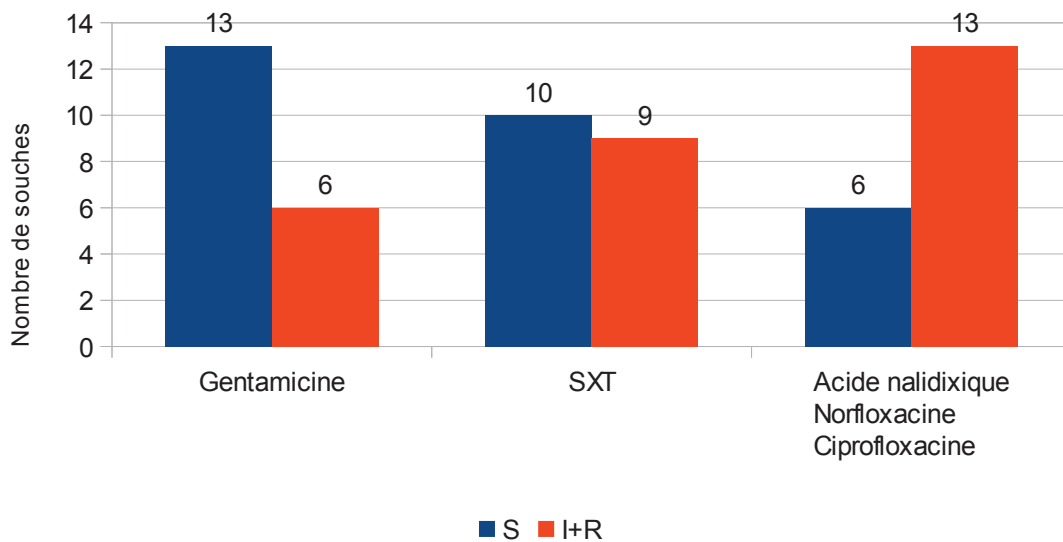


Illustration 23: Nombre de souches S et I+R à la gentamicine, au SXT, à l'acide nalidixique, à la norfloxacine et à la ciprofloxacine d'après le CASFM 2013, parmi les souches productrices de BLSE

SXT=cotrimoxazole

3.3 Comparaison de deux méthodes d'étude de la sensibilité à l'AMC

Cette partie de l'étude vise à déterminer la CMI de l'association amoxicilline-acide clavulanique pour chaque souche grâce à la méthode E-Test®, puis à comparer le résultat à celui obtenu par l'automate Phoenix®.

3.3.1 CMI de l'AMC par méthode E-Test®

Les CMI de l'AMC des 293 souches d'*E. coli* sont figurées dans l'illustration 24 :

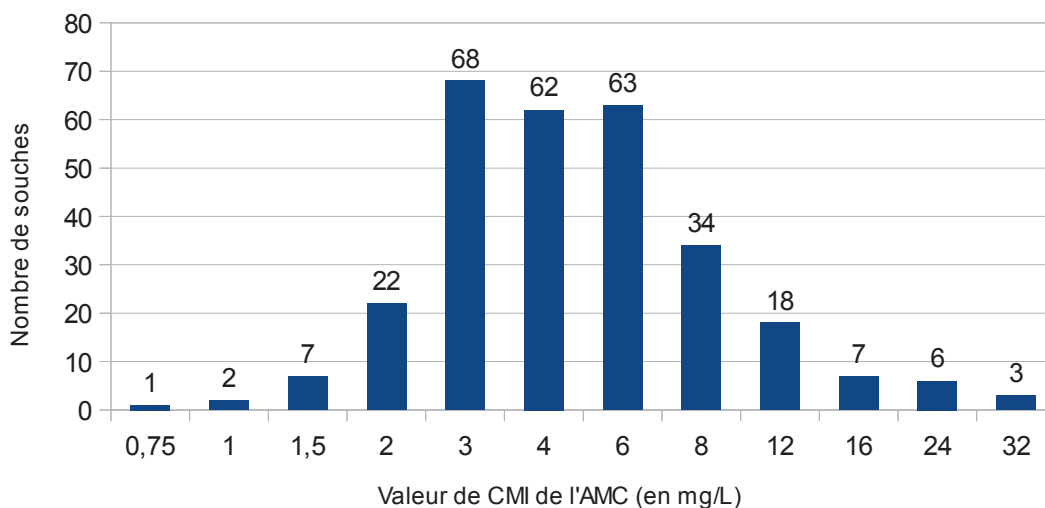


Illustration 24: Répartition des CMI de l'AMC déterminées par E-Test®

La CMI₅₀ de l'AMC était égale à 4 mg/L, la CMI₉₀ était égale à 12 mg/L.

En interprétant ces résultats d'après les recommandations 2013 du CASFM, pour lesquelles $c=4$ mg/L et $C=8$ mg/L, la catégorisation des souches était la suivante (Tableau 9) :

	Nombre de souches	Pourcentage
S	162	55,3%
I	97	33,1%
R	34	11,6%

Tableau 9: Catégorisation des 293 souches de *E. coli* en fonction de leur CMI, d'après les recommandations 2013 du CASFM

Ainsi, par la méthode de diffusion en gradient E-Test®, le taux de sensibilité d'*E. coli* à l'AMC était de 55,3%.

Dans les recommandations 2014 du CASFM, il n'existe plus qu'une seule concentration critique fixée à 8 mg/L. Dès lors, $c=C=8$ mg/L, ce qui fait disparaître la catégorisation *I*. La catégorisation des souches apparaissait donc ainsi (Tableau 10) :

	Nombre de souches	Pourcentage
S	259	88,4%
R	34	11,6%

Tableau 10: Catégorisation des 293 souches de *E. coli* en fonction de leur CMI, d'après les recommandations 2014 du CASFM

Le taux de sensibilité à l'AMC passait à 88,40%, résultant de l'addition des souches *S* et *I* du tableau précédent.

De plus, à partir de 2014, la concentration critique retenue **dans le cas d'une cystite** est de 32 mg/L. Avec cette valeur, toutes les souches devenaient sensibles à l'AMC.

Les CMI de l'AMC des 19 souches productrices de BLSE sont représentées dans l'illustration 25 :

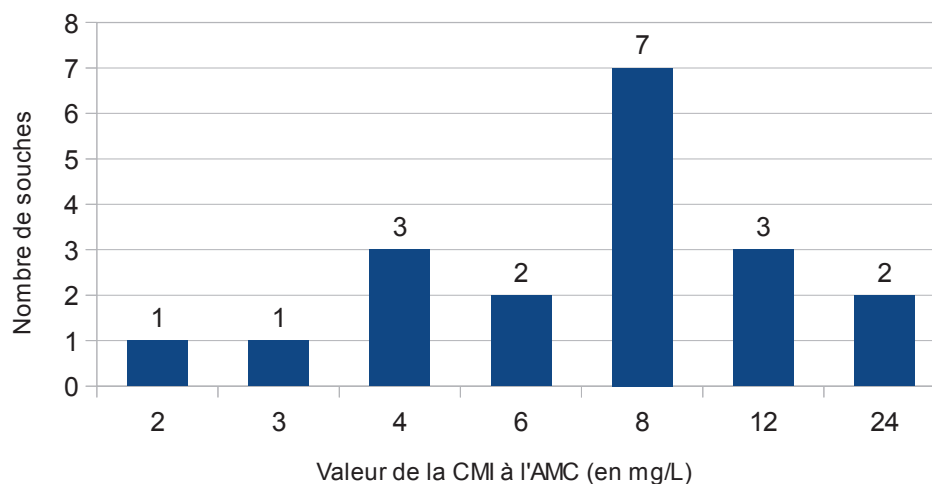


Illustration 25: Répartition des CMI de l'AMC déterminées par E-Test®, pour les souches productrices de BLSE

La catégorisation des CMI des 19 souches productrices de BLSE en fonction des recommandations 2013 et 2014 du CASFM est représentée dans l'illustration 26 :

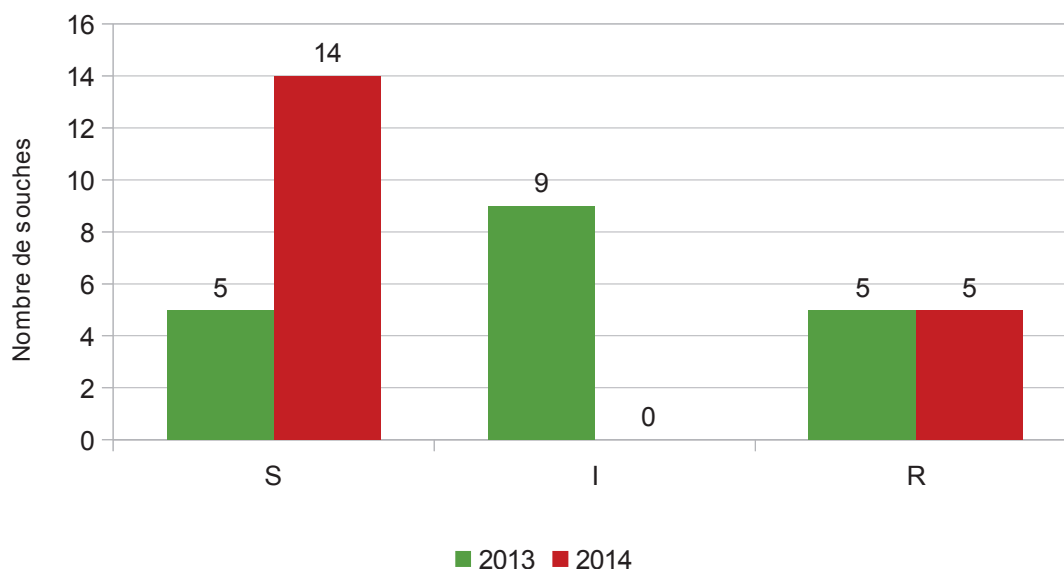


Illustration 26: Nombre de souches productrices de BLSE S, I et R à l'AMC en fonction des recommandations 2013 et 2014 du CASFM, par la méthode E-Test®

BLSE : Bêta-lactamase à spectre étendu

3.3.2 Détermination de la sensibilité à l'AMC par méthode Phoenix®

Les résultats des tests de sensibilité à l'AMC des souches de *E. coli* par microdilution en milieu liquide automatisée sont présentés dans le chapitre 3.2.1 de la partie Travaux Personnels.

3.3.3 Comparaison des résultats obtenus par E-Test® et par microdilution sur automate Phoenix®

La comparaison des catégorisations rendues par le Phoenix® avec celles obtenues par la méthode E-Test® donnait la répartition suivante (Illustration 27) :

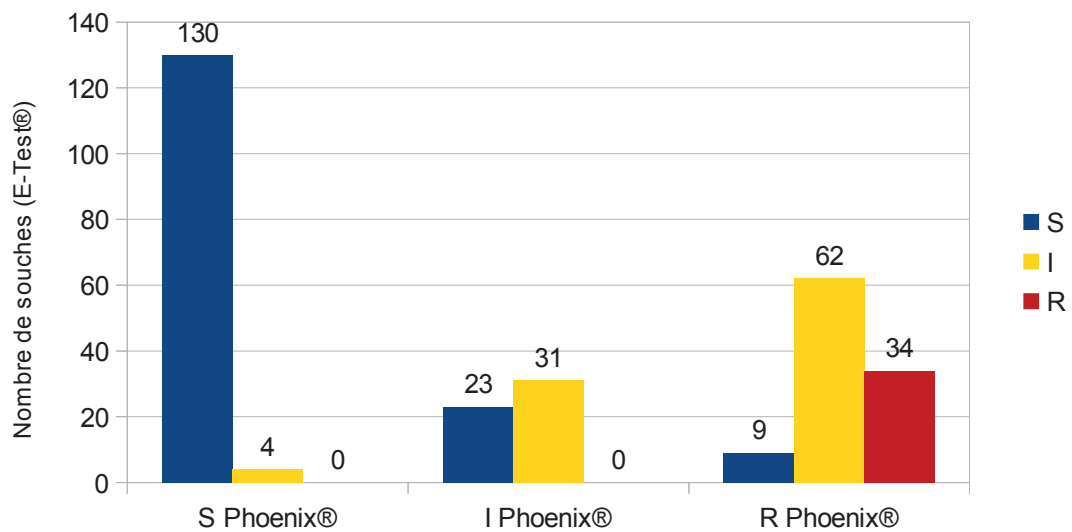


Illustration 27: Comparaison des catégorisations S, I et R pour l'AMC selon le Phoenix® et le E-Test® pour les 293 souches de *E. coli*, selon les recommandations 2013 du CASFM

- 130 souches apparaissant **S** au Phoenix® étaient rendues **S** par le E-Test®.
- 4 souches apparaissant **S** au Phoenix® étaient rendues **I** par le E-Test®.
- 0 souches apparaissant **S** au Phoenix® étaient rendues **R** par le E-Test®.
- 23 souches apparaissant **I** au Phoenix® étaient rendues **S** par le E-Test®.
- 31 souches apparaissant **I** au Phoenix® étaient rendues **I** par le E-Test®.
- 0 souches apparaissant **I** au Phoenix® étaient rendues **R** par le E-Test®.
- 9 souches apparaissant **R** au Phoenix® étaient rendues **S** par le E-Test®.
- 62 souches apparaissant **R** au Phoenix® étaient rendues **I** par le E-Test®.
- 34 souches apparaissant **R** au Phoenix® étaient rendues **R** par le E-Test®.

Cent-quatre-vingt-quinze des 293 souches étaient catégorisées de la même manière par les deux méthodes, ce qui donnait un taux de concordance de 66,6%. Quatre-vingt-neuf souches, soit 30,4%, étaient concernées par une discordance mineure (l'une des méthodes rend un résultat *I* alors que l'autre rend un résultat *S* ou *R*, peu importe donc la méthode considérée comme référence).

En prenant le E-Test® comme méthode de référence, 9 souches étaient classées *R* alors qu'elles étaient *S* d'après le E-Test® ; elles présentaient donc des discordances majeures. Le taux d'erreurs majeures était alors de 5,6%. Cependant, aucune souche classée *S* par le Phoenix® n'était *R* par le E-Test®, il n'y avait donc aucune « erreur très majeure » (VME=0%).

En revanche, ces deux valeurs s'inversaient lorsque l'on prenait comme référence le Phoenix® : aucune souche n'était concernée par une discordance majeure (*R* au E-Test® mais *S* par le Phoenix®), mais les 9 souches *S* par le E-Test® et *R* par le Phoenix® devenaient des « very major error ». Le taux de VME était alors de 8,6%.

A partir de 2014, le CASFM recommande de ne plus catégoriser *I* pour l'AMC et de fixer le seuil de sensibilité à 8 mg/L. En fusionnant donc les catégories *S* et *I* pour chacune des méthodes, les résultats suivants étaient obtenus (Illustration 28) :

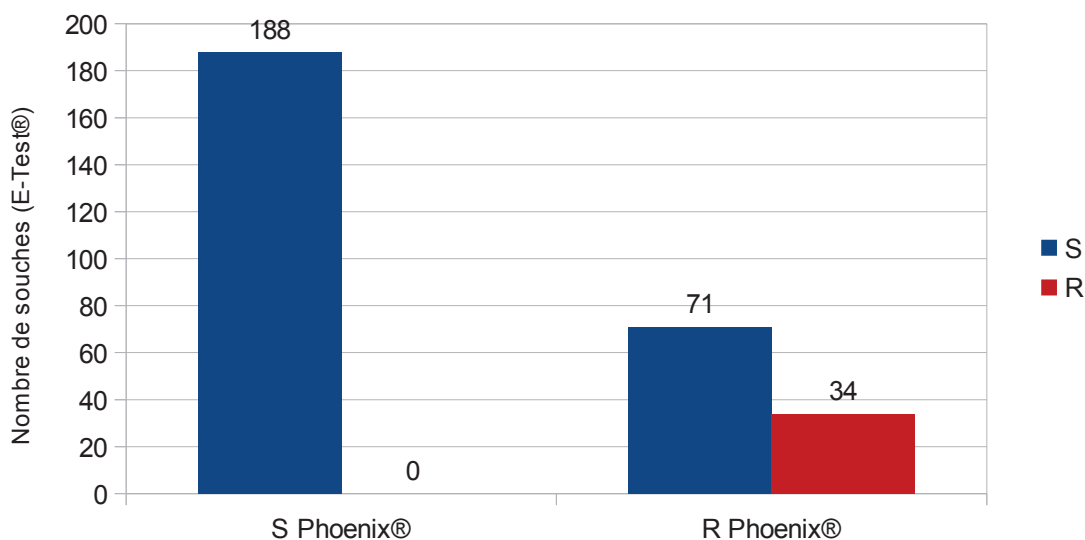


Illustration 28: Comparaison des catégorisations S et R pour l'AMC selon le Phoenix® et le E-Test® pour les 293 souches de *E. coli*, selon les recommandations 2014 du CASFM

- 188 souches apparaissant **S** au Phoenix® étaient rendues **S** par le E-Test®.
- 0 souches apparaissant **S** au Phoenix® étaient rendues **R** par le E-Test®.
- 71 souches apparaissant **R** au Phoenix® étaient rendues **S** par le E-Test®.
- 34 souches apparaissant **R** au Phoenix® étaient rendues **R** par le E-Test®.

Sur les 293 souches, 222 sont catégorisées de la même manière par les deux méthodes, ce qui donne un taux de concordance de 75,8%. La catégorie *I* ayant disparu, il n'existe plus de discordances mineures possibles.

En prenant le E-Test® comme méthode de référence, 71 souches sont classées *R* par le Phoenix® alors qu'elles sont *S* par le E-Test®, ce qui donne un taux de discordances majeures de 27,4%. Encore une fois, aucune souche classée *R* par le E-Test® n'est rendue *S* par le Phoenix (VME=0%).

En prenant le Phoenix comme méthode de référence, aucune souche sensible n'est classée *R* par le E-Test®, le taux d'erreurs majeures est nul. Cependant, 71 souches résistantes d'après le Phoenix® apparaissent *S* par le E-Test®, le taux « d'erreurs très majeures » par E-Test® est ainsi de 67,6%.

La prévalence des souches *S*, *I* et *R* à l'AMC varie donc selon la méthode utilisée. Un plus fort taux de souches résistantes à l'AMC est retrouvé en milieu liquide (automate Phoenix®) par rapport au milieu solide (E-Test®).

4 Discussion

Cette étude avait pour but de déterminer la sensibilité à 21 antibiotiques de 293 souches consécutives d'*Escherichia coli* isolées d'ECBU au CHU de Rouen, entre novembre 2013 et janvier 2014, et de comparer deux méthodes pour la détermination de la sensibilité à l'AMC, l'antibiogramme en milieu liquide (Phoenix® Becton Dickinson) et la détermination de la CMI par E-Test®.

Au laboratoire de bactériologie du CHU de Rouen, à l'époque de l'étude (fin 2013-début 2014), un antibiogramme en milieu liquide était effectué par automate Phoenix® pour les souches urinaires de *E. coli*, avec un éventuel contrôle par la méthode des disques en milieu solide en cas de phénotype inusuel ou de BMR. Cependant, un nombre important de discordances ayant été constatées entre les deux méthodes pour la détermination de la sensibilité à l'AMC, il est apparu intéressant d'évaluer l'intérêt de déterminer la CMI de l'AMC par E-Test®.

Sensibilité aux antibiotiques de 293 souches urinaires de *E. coli*

Les 293 souches de *E. coli* ont été récoltées en l'espace de deux mois, ce qui correspond à environ 150 souches par mois. Deux-cent-vingt souches ont été isolées chez des femmes (soit 75,1%), et 73 souches isolées chez des hommes (soit 24,9%), ce qui montre une nette prédominance féminine de la présence de *E. coli* dans les voies urinaires. Il n'est pas possible, dans le cadre de cette étude, de parler d'IU, car les informations cliniques n'ont pas pu être relevées. Néanmoins, il est probable que la réalisation d'un ECBU fasse suite à des manifestations cliniques. Ces résultats confirment que *E. coli* est le principal agent responsable d'IU : il est retrouvé dans 77% des cystites aiguës simples chez la femme de 18 à 65 ans en Normandie (Etienne et Lefebvre, 2014), et dans 69,8% des IU communautaires (hommes et femmes) dans l'agglomération d'Elbeuf (Fabre et Mérens, 2010). L'âge moyen des patients de cette étude était plus élevé chez les hommes (67,3 ans) que chez les femmes (59,85 ans). En région Normandie, parmi les femmes de 18 à 65 ans présentant une cystite aiguë simple communautaire, l'âge moyen était de 38 ans, toutes bactéries responsables confondues dans l'étude d'Etienne *et al.* (2014).

Notre étude montre un pourcentage de sensibilité à l'AMX de 44% dans la population globale, et de 49,4% pour les souches issues de services d'urgences (profil de population potentiellement le plus proche des infections communautaires). Ces résultats sont légèrement inférieurs à ceux trouvés dans la littérature : 50,8% pour les IU d'après un réseau de laboratoires de ville (réseau MedQual, ONERBA 2013), 54,6% pour des IU communautaires dans l'agglomération d'Elbeuf (Fabre et Mérens, 2010). Une sensibilité de 63% de *E. coli* à l'AMX est même retrouvée en Normandie chez les femmes de 18 à 65 ans présentant une cystite aiguë simple (Etienne et Lefebvre, 2014). Ce pourcentage très bas dans notre étude prouve que l'AMX n'a pas sa place en traitement probabiliste des IU. Les résultats de sensibilité à l'AMC seront commentés plus loin dans la discussion.

La sensibilité à la TZP est toujours très nettement supérieure à celle à la TCC, dans tous les cas de figure : 92,5% contre 53,2% respectivement pour l'ensemble des souches. Le tazobactam semble ainsi nettement supérieur à l'acide clavulanique pour restaurer l'activité des pénicillines chez les souches productrices de pénicillinases.

Pour les C3G, nos résultats concordaient avec ceux de la littérature : des sensibilités proches de 90% à 95% étaient observés dans notre étude (de 89,8% pour le céfixime à 90,8% pour ceftriaxone et ceftazidime dans la population globale, et 93,3% à 94,4% respectivement pour les souches issues de services d'urgences) comme dans la littérature : 94,2% de sensibilité au céfotaxime pour le réseau hospitalier REUSSIR pour les urines prélevées dans des services d'urgences, 94,8% pour le céfixime pour le réseau de laboratoires de ville MedQual (ONERBA 2013), et 96% pour le céfixime pour les IU communautaires dans l'agglomération d'Elbeuf (Fabre et Mérens, 2010). Aucune souche résistante aux carbapénèmes n'a été isolée dans notre étude, donnée plutôt rassurante. En effet, ces bêta-lactamines constituent des antibiotiques de dernier recours d'après l'ANSM (Liste des antibiotiques critiques, ANSM, actualisation 2015), c'est-à-dire permettant de traiter des infections graves à bactéries multi-résistantes, c'est pourquoi ils s'avèrent précieux. Ils sont également classés dans la catégorie des « antibiotiques particulièrement générateurs de résistances bactériennes », avec donc une forte probabilité de voir émerger des résistances en cas d'utilisation non-contrôlée. D'après plusieurs sources (ONERBA 2013 ; ECDC), les carbapénèmes conservent toujours une activité sur plus de 99% des souches responsables d'IU, quelle que soit l'espèce. Néanmoins, l'évolution des résistances est à surveiller étroitement, notamment avec l'apparition de souches productrices de carbapénémases (Robin et Gibold, 2012).

Le taux de sensibilité à l'amikacine était important (99,7%), une seule souche était résistante sur les 293 ; ce résultat est supérieur à celui du réseau hospitalier REUSSIR pour les souches isolées des urines en 2012 (98,3%, ONERBA 2013), mais proche de celui des cystites aiguës simples en Normandie (100% de sensibilité) (Etienne et Lefebvre, 2014). Ce très bon score est rassurant, compte tenu de l'importance de cet antibiotique dans le traitement des infections graves, y compris des IU (PNA graves et IU masculines avec sepsis grave ou choc septique) (SPILF 2014). Les résultats pour la gentamicine (93,2%) étaient comparables à ceux retrouvés dans la littérature : 94,7% de sensibilité pour les souches de *E. coli* isolées d'infections de diverses localisations (réseau REUSSIR en 2013). Malgré une stabilisation de la sensibilité d'*E. coli* aux aminosides depuis 2010 (réseau REUSSIR de 2000 à 2013, ONERBA 2013), cette famille thérapeutique essentielle mérite d'être particulièrement surveillée.

Le taux de résistance de *E. coli* à la fosfomycine était, comme attendu, très faible. En effet, 99,3% des souches y étaient sensibles dans notre étude, contre 98,8% pour le réseau hospitalier REUSSIR en 2012 (urines issues de services d'urgences) ainsi que pour le réseau de laboratoires de ville MedQual en 2013 (ONERBA 2013), et 99% pour les *E. coli* responsables de cystites aiguës simples en Normandie (Etienne et Lefebvre, 2014). Ceci est dû à ses indications limitées (traitement de la cystite aiguë simple), à une durée de traitement courte (prise unique) et au coût métabolique élevé d'une résistance pour la bactérie (cf Rappels bibliographiques 2.4.4).

L'association triméthoprim-sulfaméthoxazole était active sur 74,4% des souches de cette étude, ce qui était cohérent avec les données de la littérature (75,4% pour le réseau hospitalier REUSSIR concernant des souches urinaires de *E. coli* en 2012). Ceci confirme son absence d'intérêt en traitement probabiliste des IU, puisque le taux de résistance dépasse 20%. Néanmoins, une fois l'infection documentée, le SXT peut constituer une alternative en cas de contre-indication à un autre traitement ; il garde ainsi une place dans l'arsenal thérapeutique, après documentation (SPILF 2014).

98,3% des souches étaient sensibles à la nitrofurantoïne, ce qui correspondait aux résultats du réseau hospitalier REUSSIR pour les souches urinaires de *E. coli* collectées en 2012 et était très proche des 98,6% de sensibilité des souches du réseau de ville MedQual en 2013 (ONERBA 2013). Cet antibiotique est donc intéressant en traitement probabiliste,

malgré ses restrictions d'utilisation (Nitrofurantoïne - Restriction d'utilisation en raison d'un risque de survenue d'effets indésirables graves hépatiques et pulmonaires - Lettre aux professionnels de santé- AFSSAPS, 2012). Cependant, ces dernières ne semblent pas bien respectées car une note récente de l'ANSM de mai 2016 (Nitrofurantoïne : rappel sur le respect des indications et le bon usage – Point d'Information, 2016, ANSM) indique une prescription hors AMM estimée à environ 60%. Compte tenu de la gravité potentielle des effets indésirables de cette molécule, il est indispensable de respecter ses conditions de prescription (traitement curatif, infections documentées, durée brève [5 à 7 jours], et une utilisation uniquement chez la femme et la petite fille de plus de 6 ans).

Dans notre travail, la sensibilité à l'acide nalidixique et à la norfloxacine atteignait 79,5%, ce qui est inférieur aux 82,2% et 84,5% respectivement du réseau de ville MedQual en 2013. La sensibilité à la ciprofloxacine était, elle, de 85%, chiffre également inférieur aux données du même réseau (89,5%) (ONERBA 2013), mais proche de celles du réseau hospitalier REUSSIR en 2012 (85,9%) (ONERBA 2013). Le pourcentage de souches sensibles aux quinolones (toutes molécules confondues) est en baisse depuis plusieurs années : ainsi, la sensibilité à la ciprofloxacine est passée de 91,3% en 2008 à 89,5% en 2012 d'après le réseau REUSSIR (ONERBA 2013). Cette évolution pourra nécessiter de réévaluer la place de cette famille d'antibiotiques dans la stratégie thérapeutique dans les années à venir.

Si l'on confronte ces résultats aux recommandations actuelles pour le traitement des cystites, il apparaît notamment que la place de traitement de première intention de la fosfomycine dans la cystite aiguë simple est pleinement justifiée. Cette molécule était en effet active sur 99,3% des souches. Cependant, la fosfomycine est inscrite sur la liste des antibiotiques de dernier recours vis à vis des bactéries à Gram positif et à Gram négatif (Liste des antibiotiques critiques, ANSM, actualisation 2015), l'évolution des résistances à cette molécule doit donc être surveillée. A l'heure actuelle, le traitement de deuxième intention est le pivmécillinam ; à la date de l'étude (fin 2013-début 2014), ce dernier n'était pas testé en routine au laboratoire sur l'automate Phoenix®, il n'a donc pas été inclus dans l'étude.

La nitrofurantoïne est un traitement probabiliste de la cystite car actif sur plus de 80% des souches (98,3% dans cette étude). Ses effets indésirables (Nitrofurantoïne - Restriction d'utilisation en raison d'un risque de survenue d'effets indésirables graves hépatiques et pulmonaires - Lettre aux professionnels de santé – AFSSAPS, 2012) limitent cependant son utilisation en la restreignant en troisième ligne.

La ciprofloxacine resterait utilisable en traitement probabiliste, car active sur 85% des souches, cependant l'autre fluoroquinolone étudiée, la norfloxacine, était active sur moins de 80% des souches (79,5%) et pourrait potentiellement être exclue des recommandations. La ciprofloxacine apparaît comme la fluoroquinolone de choix pour le traitement des IU.

Le céfixime, uniquement prescrit si la cystite est à risque de complication, était actif sur plus de 80% des souches (89,8%) et est donc utilisable en traitement probabiliste.

Dans le cas de pyélonéphrite aiguë, une sensibilité supérieure à 90% est exigée pour que la molécule puisse constituer un traitement probabiliste. Les traitements de première intention sont les C3G parentérales et les fluoroquinolones en cas de PNA sans signe de gravité (SPILF 2014). Dans cette étude, les C3G parentérales (ceftriaxone et ceftazidime) conservaient une activité sur 90,8% des souches, confirmant leur place en traitement probabiliste. En revanche, les deux fluoroquinolones de l'étude étaient toutes deux actives sur moins de 90% des souches (79,5% pour la norfloxacine et 85% pour la ciprofloxacine). Les caractéristiques cliniques n'ayant pas été relevées, il est impossible de faire des statistiques sur les seules souches responsables de pyélonéphrites. Néanmoins, si ces résultats sont confirmés, les fluoroquinolones ne pourraient plus être utilisées en traitement probabiliste des PNA.

L'amikacine et la gentamicine sont toutes deux actives sur plus de 90% des souches (99,7% et 93,2% respectivement), confirmant leur indication pour le traitement des PNA. Cependant, les effets indésirables importants de cette classe d'antibiotiques, notamment leur ototoxicité et néphrotoxicité, impliquent de ne pas les utiliser en première intention en cas de PNA non grave. En cas de PNA grave, l'utilisation d'amikacine est par contre justifiée en première intention, associée à une C3G injectable, voire à un carbapénème en cas de risque d'EBLSE. Aucune souche de cette étude n'était résistante aux carbapénèmes.

L'écart de sensibilité aux antibiotiques entre les souches isolées chez les hommes et celles isolées chez les femmes est globalement assez faible, sauf pour la TCC où l'écart est particulièrement marqué. Il n'a pas été réalisé de test statistique, mais une différence de 8,9% apparaît comme importante. Aucune explication n'est avancée pour expliquer ce phénomène.

Le traitement probabiliste des IU masculines est le même que celui des PNA. En l'absence de caractère de gravité, les C3G injectables et fluoroquinolones sont donc recommandées. Contrairement à la population globale, la sensibilité aux C3G des souches isolées chez les patients masculins est inférieure à 90% (89% pour ceftriaxone et ceftazidime). Comme attendu, la sensibilité à la ciprofloxacine est inférieure chez l'homme (82,2%) par

rapport à l'ensemble de la population (85%), et conforme aux valeurs retrouvées dans la littérature (81,8%, réseau hospitalier REUSSIR 2012 [ONERBA 2013]). La sensibilité à l'acide nalidixique des souches isolées chez l'homme est en revanche supérieure à ce qui aurait pu être attendu (80,8% contre 72,4%, réseau de laboratoires de ville AFORCOPI-BIO 2011, ONERBA 2011). L'amikacine est active sur 98,6% des souches (contre 97,5% pour le réseau REUSSIR en 2012) et la gentamicine 89% (contre 94,5% chez les femmes). Aucune souche n'est résistante aux carbapénèmes chez l'homme.

Une fois l'infection documentée, un relais est prioritairement effectué avec une fluoroquinolone (ciprofloxacine notamment) ou le SXT. Ce dernier est actif sur 75,3% des souches collectées chez des patients masculins, un résultat supérieur à celui du réseau REUSSIR en 2012 (72%) (ONERBA 2013). En cas de résistance à ces molécules, l'AMX peut être utilisée, mais n'est active que sur 42,5% des souches.

Parmi les 11 molécules (sur les 19 testées) retenues pour la comparaison entre services, toutes présentent une activité plus faible sur les souches issues de services de chirurgie, par rapport aux services d'urgences ou de médecine. La différence est parfois importante, comme pour l'AMX où un écart de 14,1% est présent avec les souches des services de médecine (32,6% contre 42,7% respectivement). Ces écarts sont probablement dûs au fait que les patients de chirurgie présentent plus de comorbidités, ayant pu entraîner des prescriptions antibiotiques avant leur hospitalisation et aboutissant à une pression de sélection marquée ; ce qui sera moins fréquemment le cas pour des patients hospitalisés dans des services de médecine ou d'urgences.

Dans notre étude, 6,5% des souches de *E. coli* étaient productrices de BLSE. Ce résultat est comparable au taux de 6,69% retrouvé en milieu hospitalier par le réseau REUSSIR, tous sites infectieux confondus (ONERBA 2013). L'incidence des souches productrices de BLSE chez *E. coli* est en augmentation constante depuis plusieurs années (ONERBA 2013). Les seules bêta-lactamines à conserver une excellente activité sur ces souches sont les carbapénèmes (100% de sensibilité). Ceci justifie leur place en traitement probabiliste en cas de suspicion d'EBLSE. La céfoxitine et l'association pipéracilline-tazobactam peuvent être utilisées après documentation car actives sur 84,2% des souches. L'acide clavulanique restaure l'activité de la ticarcilline dans un faible nombre de cas (10,5%) ; en revanche, l'amoxicilline associée à l'acide clavulanique est inactive. Les C2G et C3G sont également inactives. Cependant, ce travail a été effectué à un moment où, en cas de

EBLSE, les résultats bruts obtenus vis-à-vis des C3G et de l'AMC étaient systématiquement catégorisés *I* par le Phoenix®. Depuis, suite aux recommandations du CASFM, les souches sont catégorisées *S*, *I* et *R* pour ces antibiotiques sur la base du résultat brut, et la CMI de la C3G est déterminée à la demande en cas de prescription.

Parmi les aminosides étudiés, l'amikacine conserve une activité sur les 19 souches, ce qui prouve son intérêt en traitement probabiliste, associée à un carbapénème, en cas de suspicion d'infection à EBLSE. La gentamicine est beaucoup moins efficace (68,4% de sensibilité). Les trois quinolones étudiées ont toutes une activité sur 31,6% des souches, ce qui est bien inférieur aux données de la population globale. Ceci montre une certaine corrélation entre production de BLSE et résistance aux quinolones, et le peu d'intérêt de ces molécules dans la prise en charge de ce type d'infections en probabiliste. Le SXT est également très peu efficace, avec seulement 52,6% de souches sensibles. En revanche, la nitrofurantoïne et la fosfomycine constituent bien des traitements de choix des cystites à EBLSE (Hénard et Aissa, 2014), compte-tenu de leurs taux élevés de sensibilité.

Au total, la sensibilité aux antibiotiques de ces 293 souches urinaires de *E. coli* est globalement comparable à celle décrite dans la littérature.

Détermination de la sensibilité à l'AMC par deux méthodes

La deuxième partie du travail consistait à comparer les résultats de sensibilité à l'AMC par deux méthodes. Cent-trente-quatre souches sur les 293 (soit 45,7%) étaient catégorisées *S* à l'AMC par le Phoenix®, alors que 162 (soit 55,3%) étaient sensibles par la méthode E-Test®, d'après les recommandations 2013 du CASFM. En comparant les méthodes Phoenix® et E-Test® pour l'AMC, un taux de concordance de 66,6% et un taux d'erreurs mineures de 30,4% sont retrouvés. De plus, le taux d'erreurs majeures varie de 0 à 5,6%, et celui « d'erreurs très majeures » de 0 à 8,6%, selon la méthode considérée comme référence.

Ceci peut s'expliquer par une meilleure détection de la céphalosporinase constitutive d'*E. coli* en milieu liquide, ce qui est le cas du Phoenix®, par rapport à d'autres méthodes pouvant être utilisées dans la littérature. En effet, une étude comparative des résultats obtenus par Phoenix® et par diffusion en milieu gélosé (« méthode des disques ») montre un taux important d'erreurs mineures dans la catégorisation des souches pour l'AMC, à cause d'une détection plus importante de la céphalosporinase constitutive en milieu liquide par rapport au milieu solide (Donay et Mathieu, 2004).

Depuis 2014, le CASFM a supprimé la catégorisation *I* pour le test de l'AMC pour les entérobactéries. La valeur de la concentration critique entre les catégories *S* et *R* est maintenant égale à 8 mg/L. L'application de ces recommandations modifiées fait évoluer le taux de sensibilité par E-Test® de 55,3% à 88,4% et par Phoenix de 45,7% à 64,2% (188 souches sur 293), résultant de l'addition des anciennes catégories *S* et *I*. Il se rapproche des 9,3% de résistance retrouvé dans une étude espagnole de 2011, où les mécanismes de résistances ont été détectés par PCR (Ortega, 2012).

La comparaison des deux méthodes montre avec les recommandations 2014 du CASFM un taux de concordance de 75,8%. Le taux d'erreurs majeures varie de 0 à 27,4%, et celui « d'erreurs très majeures » de 0 à 67,6%, selon la méthode considérée comme référence.

Dans les deux cas (recommandations 2013 et 2014), les résultats de concordance sont inférieurs aux 90% recommandés lors de comparaisons de méthodes (Duggal, 2012). Une meilleure performance est obtenue avec les recommandations 2014, grâce à la fusion des catégories *S* et *I*, qui « gomme » les erreurs dues aux souches ayant une CMI proche de 4 mg/L. En effet, 30,4% des souches sont concernées par une erreur mineure en 2013, ce qui impacte fortement la concordance.

D'après Duggal (Duggal, 2012), le taux de « major error » doit être inférieur à 3% et le taux de « very major error » inférieur à 1,5%. Ces valeurs sont souvent dépassées dans cette étude, quelle que soit la méthode considérée comme référence. De plus, à cause de la disparition de la catégorie *I* en 2014, les erreurs mineures deviennent des discordances majeures voire « très majeures », ce qui conduit à un taux de VME de 67,6% avec le Phoenix® comme référence en 2014.

Pour étudier la sensibilité à l'AMC avec précision, et donc déterminer la méthode la plus fiable entre E-Test® et Phoenix®, il faudrait avoir recours à la méthode de référence de détermination de la CMI, la microdilution en milieu liquide, qui rest aujourd'hui une méthode manuelle (Kahlmeter et Turnidge, *in* Antibiogramme, 3ème édition, 2012). Dans la littérature, une comparaison du Phoenix avec la méthode de référence donne de bons résultats (Menozzi, 2006), notamment pour l'AMC (taux de VME égal à 1,2%). Les résultats du E-Test® étant fortement dépendants de la qualité des manipulations, son utilisation apparaît moins fiable que celle de systèmes semi-automatisés. A l'avenir, l'automatisation de la microdilution pourrait

permettre de déterminer la valeur précise de CMI de façon plus systématique, en incluant des concentrations inférieures à 2 mg/L et supérieures à 8 mg/L, concentrations non présentes dans les galeries Phoenix®.

Les données de sensibilité globale, provenant par exemple des différents réseaux du rapport ONERBA, ne font pas de distinction en fonction des méthodes utilisées. Ceci est un problème quand on voit l'influence de la méthode sur les chiffres de sensibilité à l'AMC. Un recours important aux antibiogrammes en milieu solide sous-estimerait la résistance à l'AMC.

Les résultats de sensibilité à l'AMC obtenus par la méthode E-Test® (55,3%) sont comparables à ceux obtenus dans les différentes études publiées par l'ONERBA : 59,2% pour le réseau de laboratoires hospitaliers REUSSIR, 66,4% pour le réseau de laboratoires de ville MedQual (ONERBA 2013). Cependant, l'écart est plus important avec les résultats obtenus pour les IU communautaires dans la région d'Elbeuf, qui retrouve une sensibilité à l'AMC de 72,5% (Fabre et Mérens, 2010). L'écart avec la littérature est nettement plus important avec les résultats obtenus par le Phoenix® (45,7%).

Le taux de sensibilité à l'AMC retrouvé par E-Test® d'après les recommandations 2014 du CASFM (88,4%) est toujours insuffisant pour une utilisation de l'AMC en traitement probabiliste dans les pyélonéphrites, mais permettrait une utilisation dans les cystites.

De plus, les recommandations 2014 du CASFM préconisent de fixer la concentration critique de l'AMC à 32 mg/L pour les souches isolées dans les cas de cystites. La CMI de l'AMC n'est supérieure à 32 mg/L pour aucune des 293 souches, y compris les EBLSE, alors même que toutes ces souches proviennent de divers contextes cliniques (cystites, pyélonéphrites et IU masculines). Ceci permet donc d'extrapoler un taux de sensibilité d'*E. coli* à l'AMC de 100% dans la population dans le cas d'une cystite, et donc une utilisation potentielle en traitement probabiliste. Cependant, l'AMC est classé comme « antibiotique particulièrement générateur de résistances bactériennes » par l'ANSM (Liste des antibiotiques critiques, ANSM, actualisation 2015) ; sa prescription dans le traitement des cystites augmenterait donc encore la pression de sélection sur la population bactérienne. Son utilisation dans cette indication ne doit pas être privilégiée tant que des alternatives existent parmi les molécules recommandées.

Des taux de sensibilité à l'AMC inférieurs à la moyenne nationale ont pu être retrouvés

dans cette étude. Ceci peut peut-être s'expliquer par la prescription antibiotique élevée en Haute-Normandie, comme le montre l'illustration 29 :

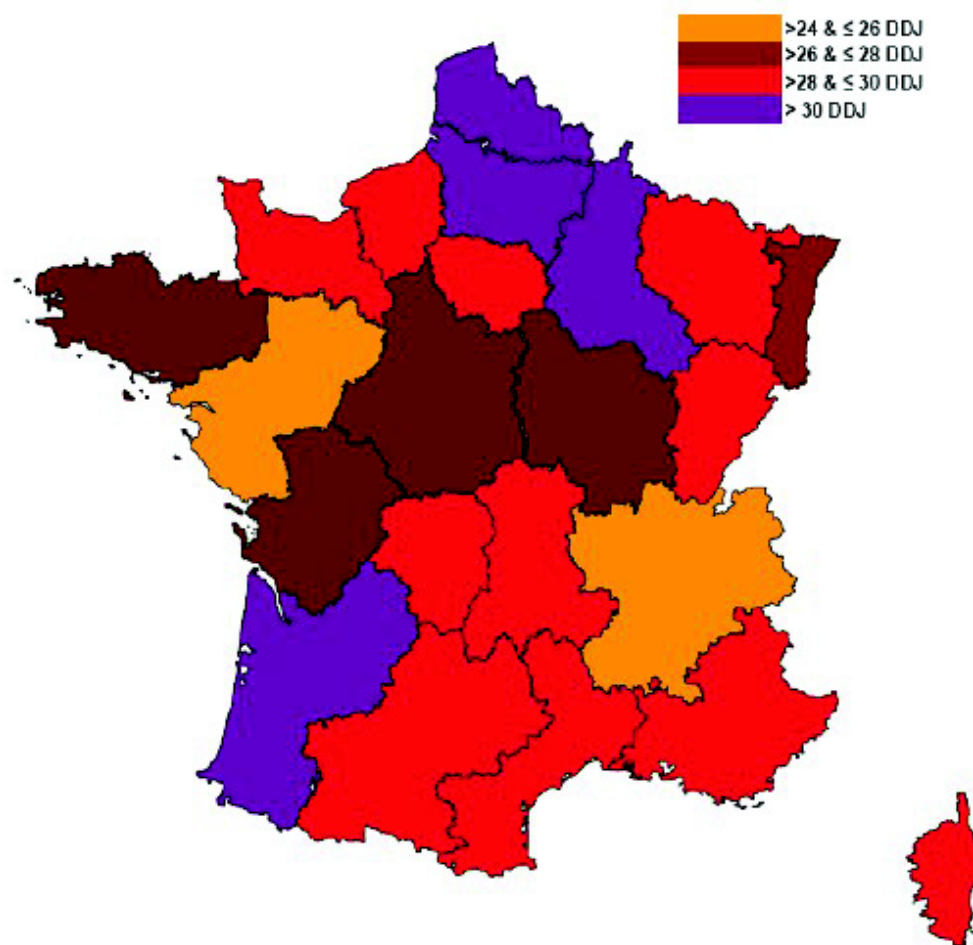


Illustration 29: Nombre de Doses Définies Journalières (DDJ) pour 1000 habitants par région française en 2011

(d'après l'ARS Haute-Normandie, Conférence de presse du 27/11/2012)

En effet, le nombre de prescriptions d'antibiotiques en ville en Haute-Normandie et plus particulièrement en Seine-Maritime était respectivement de 52 et 54 prescriptions pour 100 patients (âgés de 16 à 65 ans, hors ALD) par an en 2011 alors que la moyenne nationale était de 46.

Alors que des résultats encourageants ont été rapportés chez certaines espèces bactériennes telles que le pneumocoque ou *Staphylococcus aureus* (ONERBA 2013 ; ARS 2012), la sensibilité aux antibiotiques (en particulier l'AMX et l'AMC) doit être surveillée.

La France, forte prescriptrice d'antibiotiques, doit se mobiliser pour la sauvegarde de ces molécules précieuses, voire critiques.

CONCLUSION

Cette étude a permis de montrer une sensibilité aux antibiotiques des souches urinaires de *E. coli* globalement comparable à la littérature. Les données sont inquiétantes pour l'amoxicilline et surtout les fluoroquinolones, qui constituent encore des traitements de référence dans les IU. Néanmoins, la sensibilité à certains antibiotiques est plutôt rassurante. Les carbapénèmes et l'amikacine, traitement de choix des IU graves, et la nitrofurantoïne et surtout la fosfomycine, dans les cystites, conservent une activité importante sur *E. coli*.

Notre travail a montré par ailleurs que la technique de détermination de la sensibilité à l'AMC avait un impact sur les données de sensibilité et de résistance. L'automatisation de la méthode de référence pour définir si la méthode de diffusion en gélose sous-estime la résistance bactérienne à l'AMC serait utile.

Les nouvelles recommandations du CASFM permettent, en théorie, à l'AMC de garder une place dans le traitement des cystites. Toutefois, son classement par l'ANSM comme « antibiotique particulièrement générateur de résistances bactériennes » doit amener à limiter autant que possible son utilisation.

BIBLIOGRAPHIE

AFSSAPS. Nitrofurantoïne - Restriction d'utilisation en raison d'un risque de survenue d'effets indésirables graves hépatiques et pulmonaires - Lettre aux professionnels de santé. AFSSAPS, <http://ansm.sante.fr/content/download/40221/524217/version/1/file/lp-120312-Nitrofuratoïne.pdf>, consulté le 2 octobre 2015.

ANSM. Liste des antibiotiques critiques-Actualisation 2015. ANSM, ansm.sante.fr/content/download/85395/1077521/version/1/file/ATBC-antibiotiques-critiques-actualisation2015.pdf, consulté le 27 mars 2016.

ANSM. Nitrofurantoïne : rappel sur le respect des indications et le bon usage – Point d'Information. <http://ansm.sante.fr/S-informer/Points-d-information-Points-d-information/Nitrofurantoïne-rappel-sur-le-respect-des-indications-et-le-bon-usage-Point-d-Information>, consulté le 7 juin 2016.

ANSM. Résumé des caractéristiques du produit – Amoxicilline/Acide Clavulanique Cristers 500 mg/62,5 mg Adultes, comprimé pelliculé, <http://agence-prd.ansm.sante.fr/php/ecodex/rcp/R0210529.htm>, consulté le 5 novembre 2015.

Arca P., Reguera G., Hardisson C. (1997). Plasmid-encoded fosfomycin resistance in bacteria isolated from the urinary tract in a multicentre survey. *J Antimicrob Chemoth*, 40, 393-399.

ARS Haute-Normandie, Assurance maladie Haute-Normandie. Conférence de presse du 27/11/2012. ARS Haute-Normandie, http://www.ars.haute-normandie.sante.fr/fileadmin/HAUTE-NORMANDIE/services/presse/27_11_2012_antibio/Dossier_de_presse_antibio.pdf, consulté le 23 juin 2016.

- Arthur M., Johnson C.E., Rubin R.H., Arbeit R.D., Campanelli C., Kim C. *et al.* (1989). Molecular Epidemiology of Adhesin and Hemolysin Virulence Factors among Uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 57(2), 303-313.
- Blahna M.T., Zalewski C.A., Reuer J., Kahlmeter G., Foxman B., Marrs C.F. (2006). The role of horizontal gene transfer in the spread of trimethoprim–sulfamethoxazole resistance among uropathogenic *Escherichia coli* in Europe and Canada. *J Antimicrob Chemoth*, 57, 666-672.
- CASFM. Recommandations 2010. CASFM, http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm_2010.pdf, consulté le 5 novembre 2015.
- CASFM. Recommandations 2011. CASFM, http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/casfm_2011.pdf, consulté le 5 novembre 2015.
- CASFM. Recommandations 2013. CASFM, <http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM2013vjuin.pdf>, consulté le 21 juillet 2014.
- CASFM. Recommandations 2014. CASFM, http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM_EUCAST_2014_V2_0.pdf, consulté le 21 juillet 2014.
- Cattoir V. (2004). Pompes d'efflux et résistance aux antibiotiques chez les bactéries. *Pathol Biol*, 52, 607-616.
- Choutet P., Goldstein F.W. *Escherichia coli, aspects fondamentaux et cliniques*. Paris, Editions Phase 5, 2000.
- Croxen M.A., Law R.J., Scholz R., Keeney K.M., Wlodarska M., Finlay B.B. (2013). Recent Advances in Understanding Enteric Pathogenic *Escherichia coli*. *Clin Microbiol Rev*, 26(4), 822-880.

- d'Ari R., Sezonov G. *Les organismes modèles : Biologie et génétique d'Escherichia coli*. Paris, Editions Belin, 2008.
- Donay J.L., Mathieu D., Fernandes P., Prégermain C., Bruel P., Wagnier A., *et al.* (2004). Evaluation of the Automated Phoenix System for Potential Routine Use in the Clinical Microbiology Laboratory. *J Clin Microbiol*, 42(4), 1542-1546.
- Drusano G.L., Preston S.L., Van Guilder M., North D., Gombert M., Oefelein M., *et al.* (2000). A Population Pharmacokinetic Analysis of the Penetration of the Prostate by Levofloxacin. *Antimicrob Agents Ch*, 44(8), 2046-2051.
- Duggal S., Gaiind R., Tandon N., Deb M., Das Chugh T. (2012). Comparison of an Automated System with Conventional Identification and Antimicrobial Susceptibility Testing. *ISRN Microbiology*, 2012, 1-4.
- E. PILLY. *Maladies Infectieuses et Tropicales, 24ème édition*. Paris : Alinéa plus, 2014.
- Etienne M., Lefebvre E., Frebourg N., Hamel H., Pestel-Caron M., Caron F., and Bacyst Study Group. (2014). Antibiotic treatment of acute uncomplicated cystitis based on rapid urine test and local epidemiology : lessons from a primary care series. *BMC Infect Dis*, 14:137.
- European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). Antimicrobial resistance interactive database, http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/database/Pages/database.aspx, consulté le 5 novembre 2015.
- Fabre R., Mérens A., Lefebvre F., Epifanoff G., Cerutti F., Pupin H., Tardif D., Cavallo J.-D., Ternois I. (2010). Sensibilité aux antibiotiques des *Escherichia coli* isolés d'infections urinaires communautaires. *Med Maladies Infect*, 40, 555-559.

- Ferjani A., Marzouk M., Ben Moussa F., Boukadida J. (2010). Résistance des souches d'*Escherichia coli* isolées de prélèvements d'origine urinaire vis-à-vis de l'association amoxicilline-acide clavulanique et divers antibiotiques. *Med Maladies Infect*, 40, 161-164.
- Flores-Mireles A.L., Walker J.N., Caparon M., Hultgren S.J. (2015). Urinary tract infections : epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol*, 13(5), 269-284.
- Gouali M., Weill F.X. (2013). Les *Escherichia coli* entérohémorragiques : des entérobactéries d'actualité. *Revue Francophone des Laboratoires*, 449bis, 44-49.
- Hénard S., Aissa N., Lozniewski A., Rabaud C. (2014). Traitement des infections à entérobactéries productrices de BLSE : alternatives aux carbapénèmes. *La Lettre de l'Infectiologue*, XXIX(4), 140-144.
- Ho P.L., Leung L.M., Chow K.H., Lai E.L., Lo W.U., Ng T.K. (2014). Prevalence of aminoglycoside modifying enzyme and 16S ribosomal RNA methylase genes among aminoglycoside-resistant *Escherichia coli* isolates. *J Microbiol Immunol*, xx, 1-4.
- Ho P.L., Ng K.Y., Lo W.U., Law P.Y., Lai E.L., Wang Y., Chow K.H. (2015). Plasmid-Mediated OqxAB Is an Important Mechanism for Nitrofurantoin Resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Ch*, 60(1), 537-543.
- Ho P.L., Wong R.C., Chow K.H., Que T.L. (2009). Distribution of integron-associated trimethoprim-sulfamethoxazole resistance determinants among *Escherichia coli* from humans and food-producing animals. *Lett Appl Microbiol*, 49, 627-634.
- Ho P.L., Wong R.C., Lo S.W., Chow K.H., Wong S.S., Que T.L. (2010). Genetic identity of aminoglycoside-resistance genes in *Escherichia coli* isolates from human and animal sources. *J Med Microbiol*, 59, 702-707.

- Honderlick P., Cahen P., Gravisse J., Vignon D. (2006). Quelle sensibilité aux antibiotiques pour les bactéries responsables d'infections urinaires ? Que penser de fosfomycine et nitrofuranes ? *Pathologie Biologie*, 54, 462-466.
- Huovinen P., Sundström L., Swedberg G., Sköld O. (1995). Trimethoprim and Sulfonamide Resistance. *Antimicrob Agents Ch*, 39(2), 279-289.
- InVS, ANSM. Consommation d'antibiotiques et résistance aux antibiotiques en France : nécessité d'une mobilisation déterminée et durable. InVS, www.invs.sante.fr/content/download/118791/417845/version/1/file/plaquette_consommation_antibiotiques_resistance_antibiotiques_france_necessite_mobilisation_determinee_durable.pdf, consulté le 27 avril 2016.
- Jacoby G.A. (2005). Mechanisms of Resistance to Quinolones. *Clin Infect Dis*, 41(Suppl 2), 120-126.
- Jehl F., Chabaud A., Grillon A. (2015). L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? *Journal des Anti-infectieux*, 17, 125-139.
- Johnson J.R. (1991). Virulence Factors in *Escherichia coli* Urinary Tract Infection. *Clin Microbiol Rev*, 4(1), 80-128.
- Joly B., Reynaud A. *Entérobactéries : Systématique et méthodes de diagnostic*. Paris, Editions médicales internationales, 2002.
- Kahlmeter G., Turnidge J. Techniques phénotypiques. In : Courvalin P., Leclercq R. *Antibiogramme, 3ème édition*. Editions Eska, 2012.
- Kim E.S., Hooper D.C. (2014). Clinical Importance and Epidemiology of Quinolone Resistance. *Infect Chemother*, 46(4), 226-238.
- Lafaurie M., Lepeule R. (2013). Durée de traitement des infections urinaires. *Journal des Anti-infectieux*, 15, 119-132.

- Marchese A., Gualco L., Debbia E.A., Schito G.C., Schito A.M. (2003). In vitro activity of fosfomicin against Gram-negative urinary pathogens and the biological cost of fosfomicin resistance. *Int J Antimicrob Ag*, 22, S53-S59.
- McOsker C.C., Fitzpatrick P.M. (1994). Nitrofurantoin: mechanism of action and implications for resistance development in common uropathogens. *J Antimicrob Chemoth*, 33(Suppl. A), 23-30.
- Menozzi M.G., Eigner U., Covan S., Rossi S., Somenzi P., Dettori G., *et al.*(2006). 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*, 44(11), 4085-4094.
- Ministère des Affaires Sociales et de la Santé. Instruction DGOS/PF2/DGS/RI1 n° 2014-08 du 14 janvier 2014 relative aux recommandations pour la prévention de la transmission croisée des bactéries hautement résistantes aux antibiotiques émergentes. Ministère des Affaires Sociales et de la Santé, http://social-sante.gouv.fr/fichiers/bo/2014/14-02/ste_20140002_0000_0064.pdf, consulté le 24 juillet 2015.
- Nicolas-Chanoine M.H., Gruson C., Bialek-Davenet S., Bertrand X., Thomas-Jean F., Bert F., *et al.* (2013). 10-Fold increase (2006-11) in the rate of healthy subjects with extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* faecal carriage in a Parisian check-up center. *J Antimicrob Chemother*, 68, 562-568.
- Nilsson A.I., Berg O.G., Aspevall O., Kahlmeter G., Andersson D.I. (2003). Biological Costs and Mechanisms of Fosfomicin Resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Ch*, 47(9), 2850-2858.
- Nowicki B., Svanborg-Edén C., Hull R., Hull S. (1989). Molecular Analysis and Epidemiology of the Dr Hemagglutinin of Uropathogenic *Escherichia coli*. *Infect Immun*, 57(2), 446-451.

- ONERBA. Rapport d'activité 2011-2012. ONERBA, http://www.onerba.org/IMG/pdf/onerba_rapport_2011_web.pdf, consulté le 18 février 2015.
- ONERBA. Rapport d'activité 2013-2014. ONERBA, http://www.onerba.org/IMG/pdf/onerba-ra_2013-bd.pdf, consulté le 28 mars 2016.
- Ortega A., Oteo J., Aranzamendi-Zaldumbide M., Bartolomé R.M., Bou G., Cercenado E., *et al.* (2012). Spanish Multicenter Study of the Epidemiology and Mechanisms of Amoxicillin-Clavulanate Resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Ch*, 56(7), 3576-3581.
- Ott M., Hacker J., Schmoll T., Jarchau T., Korhonen T.K., Goebel W. (1986). Analysis of the Genetic Determinants Coding for the S-Fimbrial Adhesin (*sfa*) in Different *Escherichia coli* Strains Causing Meningitis or Urinary Tract Infections. *Infect Immun*, 54(3), 646-653.
- Prescott L.M., Willey J., Sherwood L., Woolverton C. *Microbiologie 4ème édition*. Editions De Boeck, 2013.
- Ramirez M.S., Tolmasky M.E. (2010). Aminoglycoside Modifying Enzymes. *Drug Resist Update*, 13(6), 151-171.
- Reeves D.S. (1994). Fosfomycin trometamol. *J Antimicrob Chemoth*, 34, 853-858.
- Reeves D.S., Wilkinson P.J. (1979). *Infection*, 7(Suppl 4), 330-341.
- Réseau d'alerte, d'investigation et de surveillance des infections nosocomiales (Raisin). Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, France, mai-juin 2012. InVS, <http://www.invs.sante.fr/Publications-et-outils/Rapports-et-syntheses/Maladies-infectieuses/2013/Enquete-nationale-de-prevalence-des-infections-nosocomiales-et-des-traitements-anti-infectieux-en-etablissements-de-sante-France-mai-juin-2012>, consulté le 7 juin 2016.

- Robin F., Gibold L., Bonnet R. (2012). Résistances naturelles et acquises aux β -lactamines chez les entérobactéries : comment les identifier en pratique quotidienne ? *Revue Francophone des Laboratoires*, 445, 47-58.
- Sandegren L., Lindqvist A., Kahlmeter G., Andersson D.I. (2008). Nitrofurantoin resistance mechanism and fitness cost in *Escherichia coli*. *J Antimicrob Chemoth*, 62, 495-503.
- Schito G.C. (2003). Why fosfomycin trometamol as first line therapy for uncomplicated UTI ? *Int J Antimicrob Ag*, 22, S79-S83.
- Shulman S.T., Friedmann H.C., Sims R.H. (2007). Theodor Escherich: The First Pediatric Infectious Diseases Physician? *Clin Infect Dis*, 45, 1025-9.
- SPILF. Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte. <http://www.infectiologie.com/UserFiles/File/spilf/recos/infections-urinaires-spilf-argumentaire.pdf>, consulté le 10 juin 2014.
- Stamm W.E., Norrby S.R. (2001). Urinary Tract Infections : Disease Panorama and Challenges. *J Infect Dis*, 183(Suppl 1):S1-4.
- Tängdén T., Cars O., Melhus Å., Löwdin E. (2010). Foreign Travel Is a Major Risk Factor for Colonization with *Escherichia coli* Producing CTX-M-Type Extended-Spectrum β -Lactamases: a Prospective Study with Swedish Volunteers. *Antimicrob Agents Ch*, 54(9), 3564-3568.
- Tarchouna M., Ferjani A., Ben-Selma W., Boukadida J. (2013). Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *Int J Infect Dis*, 17, 450-453.
- Tzouvelekis L.S., Markogiannakis A., Psychogiou M., Tassios P.T., Daikos G.L. (2012). Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and Other *Enterobacteriaceae*: an Evolving Crisis of Global Dimensions. *Clin Microbiol Rev*, 25(4), 682-707.

Van Bambeke F., Glupczynski Y., Plésiat P., Pechère J.C., Tulkens P.M. (2003). Antibiotic efflux pumps in prokaryotic cells: occurrence, impact on resistance and strategies for the future of antimicrobial therapy. *J Antimicrob Chemoth*, 51, 1055-1065.

Weber M. L'antibiogramme en pratique courante. In : Freney J., Renaud F., Leclercq R., Riegel P. *Précis de bactériologie clinique, 2ème édition*. Editions Eska, 2007.

ANNEXES

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DE L'ENSEMBLE DES SOUCHES DE *E. coli*

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	293	293	293	293	293
S	129 44,0%	134 45,7%	138 47,1%	156 53,2%	271 92,5%
I	7 2,4%	54 18,4%	0 0,0%	45 15,4%	2 0,7%
R	157 53,6%	105 35,8%	155 52,9%	92 31,4%	20 6,8%
I+R	164 56,0%	159 54,3%	155 52,9%	137 46,8%	22 7,5%

Annexe 1 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des 293 souches de *E. coli*.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfalotine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	293	293	293	293	292	293
S	129 44,0%	285 97,3%	266 90,8%	266 90,8%	268 91,8%	263 89,8%
I	118 40,3%	4 1,4%	5 1,7%	8 2,7%	7 2,4%	5 1,7%
R	46 15,7%	4 1,4%	22 7,5%	19 6,5%	17 5,8%	25 8,5%
I+R	164 56,0%	8 2,7%	27 9,2%	27 9,2%	24 8,2%	30 10,2%

Annexe 2 : Sensibilité aux céphalosporines des 293 souches de *E. coli*.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	293	293	293	293	293
S	293 100,0%	293 100,0%	292 99,7%	273 93,2%	218 74,4%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	3 1,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	1 0,3%	17 5,8%	75 25,6%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	1 0,3%	20 6,8%	75 25,6%

Annexe 3 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des 293 souches de *E. coli*.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	293	293	293	293	293
S	288 98,3%	233 79,5%	233 79,5%	249 85,0%	291 99,3%
I	0 0,0%	0 0,0%	11 3,8%	1 0,3%	0 0,0%
R	5 1,7%	60 20,5%	49 16,7%	43 14,7%	2 0,7%
I+R	5 1,7%	60 20,5%	60 20,5%	44 15,0%	2 0,7%

Annexe 4 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des 293 souches de *E. coli*.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 73 SOUCHES DE *E. coli* ISOLÉES CHEZ LES HOMMES

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	73	73	73	73	73
S	31 42,5%	32 43,8%	33 45,2%	34 46,6%	68 93,2%
I	2 2,7%	15 20,5%	0 0,0%	17 23,3%	0 0,0%
R	40 54,8%	26 35,6%	40 54,8%	22 30,1%	5 6,8%
I+R	42 57,5%	41 56,2%	40 54,8%	39 53,4%	5 6,8%

Annexe 5 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* isolées chez les hommes.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfalotine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	73	73	73	73	73	73
S	31 42,5%	69 94,5%	65 89,0%	65 89,0%	65 89,0%	64 87,7%
I	29 39,7%	2 2,7%	2 2,7%	3 4,1%	4 5,5%	0 0,0%
R	13 17,8%	2 2,7%	6 8,2%	5 6,8%	4 5,5%	9 12,3%
I+R	42 57,5%	4 5,5%	8 11,0%	8 11,0%	8 11,0%	9 12,3%

Annexe 6 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* isolées chez les hommes.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	73	73	73	73	73
S	73 100,0%	73 100,0%	72 98,6%	65 89,0%	55 75,3%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	1 1,4%	8 11,0%	18 24,7%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	1 1,4%	8 11,0%	18 24,7%

Annexe 7 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* isolées chez les hommes.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	73	73	73	73	73
S	73 100,0%	59 80,8%	59 80,8%	60 82,2%	72 98,6%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 1,4%	0 0,0%
R	0 0,0%	14 19,2%	14 19,2%	12 16,4%	1 1,4%
I+R	0 0,0%	14 19,2%	14 19,2%	13 17,8%	1 1,4%

Annexe 8 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* isolées chez les hommes.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 220 SOUCHES DE *E. coli* ISOLÉES CHEZ LES FEMMES

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	220	220	220	220	220
S	98 44,5%	102 46,4%	105 47,7%	122 55,5%	203 92,3%
I	5 2,3%	39 17,7%	0 0,0%	28 12,7%	2 0,9%
R	117 53,2%	79 35,9%	115 52,3%	70 31,8%	15 6,8%
I+R	122 55,5%	118 53,6%	115 52,3%	98 44,5%	17 7,7%

Annexe 9 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* isolées chez les femmes.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfalotine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	220	220	220	220	219	220
S	98 44,5%	216 98,2%	201 91,4%	201 91,4%	203 92,7%	199 90,5%
I	89 40,5%	2 0,9%	3 1,4%	5 2,3%	3 1,4%	5 2,3%
R	33 15,0%	2 0,9%	16 7,3%	14 6,4%	13 5,9%	16 7,3%
I+R	122 55,5%	4 1,8%	19 8,6%	19 8,6%	16 7,3%	21 9,5%

Annexe 10 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* isolées chez les femmes.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	220	220	220	220	220
S	220 100,0%	220 100,0%	220 100,0%	208 94,5%	163 74,1%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	3 1,4%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	9 4,1%	57 25,9%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	12 5,5%	57 25,9%

Annexe 11 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* isolées chez les femmes.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	220	220	220	220	220
S	215 97,7%	174 79,1%	174 79,1%	189 85,9%	219 99,5%
I	0 0,0%	0 0,0%	11 5,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	5 2,3%	46 20,9%	35 15,9%	31 14,1%	1 0,5%
I+R	5 2,3%	46 20,9%	46 20,9%	31 14,1%	1 0,5%

Annexe 12 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* isolées chez les femmes.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 19 SOUCHES DE *E. Coli* PRODUCTRICES DE BLSE

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	19	19	19	19	19
S	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	2 10,5%	16 84,2%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	2 10,5%	0 0,0%
R	19 100,0%	19 100,0%	19 100,0%	15 78,9%	3 15,8%
I+R	19 100,0%	19 100,0%	19 100,0%	17 89,5%	3 15,8%

Annexe 13 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* productrices de BLSE.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfalotine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	19	19	19	19	19	19
S	0 0,0%	16 84,2%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
I	0 0,0%	2 10,5%	2 10,5%	4 21,1%	5 26,3%	0 0,0%
R	19 100,0%	1 5,3%	17 89,5%	15 78,9%	14 73,7%	19 100,0%
I+R	19 100,0%	3 15,8%	19 100,0%	19 100,0%	19 100,0%	19 100,0%

Annexe 14 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* productrices de BLSE.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	19	19	19	19	19
S	19 100,0%	19 100,0%	19 100,0%	13 68,4%	10 52,6%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	6 31,6%	9 47,4%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	6 31,6%	9 47,4%

Annexe 15 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* productrices de BLSE.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	19	19	19	19	19
S	19 100,0%	6 31,6%	6 31,6%	6 31,6%	19 100,0%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	13 68,4%	13 68,4%	13 68,4%	0 0,0%
I+R	0 0,0%	13 68,4%	13 68,4%	13 68,4%	0 0,0%

Annexe 16 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* productrices de BLSE.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 89 SOUCHES DE *E. Coli* ISSUES DE PATIENTS HOSPITALISÉS DANS DES SERVICES D'URGENCES

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	89	89	89	89	89
S	44 49,4%	45 50,6%	46 51,7%	52 58,4%	86 96,6%
I	2 2,2%	19 21,3%	0 0,0%	11 12,4%	1 1,1%
R	43 48,3%	25 28,1%	43 48,3%	26 29,2%	2 2,2%
I+R	45 50,6%	44 49,4%	43 48,3%	37 41,6%	3 3,4%

Annexe 17 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services d'urgences.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfalotine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	89	89	89	89	89	89
S	44 49,4%	87 97,8%	84 94,4%	84 94,4%	86 96,6%	83 93,3%
I	39 43,8%	1 1,1%	0 0,0%	1 1,1%	0 0,0%	1 1,1%
R	6 6,7%	1 1,1%	5 5,6%	4 4,5%	3 3,4%	5 5,6%
I+R	45 50,6%	2 2,2%	5 5,6%	5 5,6%	3 3,4%	6 6,7%

Annexe 18 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services d'urgences.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	89	89	89	89	89
S	89 100,0%	89 100,0%	89 100,0%	83 93,3%	67 75,3%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 1,1%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	5 5,6%	22 24,7%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	6 6,7%	22 24,7%

Annexe 19 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services d'urgences.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	89	89	89	89	89
S	87 97,8%	74 83,1%	74 83,1%	81 91,0%	89 100,0%
I	0 0,0%	0 0,0%	5 5,6%	0 0,0%	0 0,0%
R	2 2,2%	15 16,9%	10 11,2%	8 9,0%	0 0,0%
I+R	2 2,2%	15 16,9%	15 16,9%	8 9,0%	0 0,0%

Annexe 20 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services d'urgences.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 43 SOUCHES DE *E. Coli* ISSUES DE PATIENTS HOSPITALISÉS DANS DES SERVICES DE CHIRURGIE

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	43	43	43	43	43
S	14 32,6%	15 34,9%	16 37,2%	19 44,2%	37 86,0%
I	1 2,3%	9 20,9%	0 0,0%	11 25,6%	1 2,3%
R	28 65,1%	19 44,2%	27 62,8%	13 30,2%	5 11,6%
I+R	29 67,4%	28 65,1%	27 62,8%	24 55,8%	6 14,0%

Annexe 21 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de chirurgie.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfalotine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	43	43	43	43	43	43
S	14 32,6%	43 100,0%	39 90,7%	39 90,7%	39 90,7%	38 88,4%
I	18 41,9%	0 0,0%	2 4,7%	3 7,0%	1 2,3%	2 4,7%
R	11 25,6%	0 0,0%	2 4,7%	1 2,3%	3 7,0%	3 7,0%
I+R	29 67,4%	0 0,0%	4 9,3%	4 9,3%	4 9,3%	5 11,6%

Annexe 22 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de chirurgie.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	43	43	43	43	43
S	43 100,0%	43 100,0%	43 100,0%	41 95,3%	30 69,8%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	2 4,7%	13 30,2%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	2 4,7%	13 30,2%

Annexe 23 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de chirurgie.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	43	43	43	43	43
S	42 97,7%	33 76,7%	33 76,7%	35 81,4%	43 100,0%
I	0 0,0%	0 0,0%	1 2,3%	0 0,0%	0 0,0%
R	1 2,3%	10 23,3%	9 20,9%	8 18,6%	0 0,0%
I+R	1 2,3%	10 23,3%	10 23,3%	8 18,6%	0 0,0%

Annexe 24 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de chirurgie.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 90 SOUCHES DE *E. Coli* ISSUES DE PATIENTS HOSPITALISÉS DANS DES SERVICES DE MÉDECINE

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	90	90	90	90	90
S	42 46,7%	44 48,9%	47 52,2%	51 56,7%	86 95,6%
I	4 4,4%	15 16,7%	0 0,0%	11 12,2%	0 0,0%
R	44 48,9%	31 34,4%	43 47,8%	28 31,1%	4 4,4%
I+R	48 53,3%	46 51,1%	43 47,8%	39 43,3%	4 4,4%

Annexe 25 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de médecine.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfalotine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	90	90	90	90	90	90
S	42 46,7%	89 98,9%	84 93,3%	84 93,3%	84 93,3%	83 92,2%
I	36 40,0%	1 1,1%	0 0,0%	1 1,1%	0 0,0%	1 1,1%
R	12 13,3%	0 0,0%	6 6,7%	5 5,6%	6 6,7%	6 6,7%
I+R	48 53,3%	1 1,1%	6 6,7%	6 6,7%	6 6,7%	7 7,8%

Annexe 26 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de médecine.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	90	90	90	90	90
S	90 100,0%	90 100,0%	90 100,0%	86 95,6%	71 78,9%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 1,1%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	3 3,3%	19 21,1%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	4 4,4%	19 21,1%

Annexe 27 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de médecine.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	90	90	90	90	90
S	89 98,9%	73 81,1%	73 81,1%	76 84,4%	89 98,9%
I	0 0,0%	0 0,0%	3 3,3%	0 0,0%	0 0,0%
R	1 1,1%	17 18,9%	14 15,6%	14 15,6%	1 1,1%
I+R	1 1,1%	17 18,9%	17 18,9%	14 15,6%	1 1,1%

Annexe 28 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de médecine.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 12 SOUCHES DE *E. Coli* ISSUES DE PATIENTS HOSPITALISÉS DANS DES SERVICES DE SSR

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	12	12	12	12	12
S	7 58,3%	7 58,3%	7 58,3%	8 66,7%	12 100,0%
I	0 0,0%	3 25,0%	0 0,0%	2 16,7%	0 0,0%
R	5 41,7%	2 16,7%	5 41,7%	2 16,7%	0 0,0%
I+R	5 41,7%	5 41,7%	5 41,7%	4 33,3%	0 0,0%

Annexe 29 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de SSR.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfalotine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	12	12	12	12	12	12
S	7 58,3%	12 100,0%	11 91,7%	11 91,7%	11 91,7%	11 91,7%
I	3 25,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	2 16,7%	0 0,0%	1 8,3%	1 8,3%	1 8,3%	1 8,3%
I+R	5 41,7%	0 0,0%	1 8,3%	1 8,3%	1 8,3%	1 8,3%

Annexe 30 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de SSR.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	12	12	12	12	12
S	12 100,0%	12 100,0%	12 100,0%	11 91,7%	8 66,7%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 8,3%	4 33,3%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 8,3%	4 33,3%

Annexe 31 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de SSR.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	12	12	12	12	12
S	12 100,0%	8 66,7%	8 66,7%	9 75,0%	12 100,0%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 8,3%	0 0,0%
R	0 0,0%	4 33,3%	4 33,3%	2 16,7%	0 0,0%
I+R	0 0,0%	4 33,3%	4 33,3%	3 25,0%	0 0,0%

Annexe 32 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de SSR.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 16 SOUCHES DE *E. Coli* ISSUES DE PATIENTS HOSPITALISÉS DANS DES SERVICES DE SLD

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	16	16	16	16	16
S	3 18,8%	4 25,0%	3 18,8%	5 31,3%	11 68,8%
I	0 0,0%	2 12,5%	0 0,0%	3 18,8%	0 0,0%
R	13 81,3%	10 62,5%	13 81,3%	8 50,0%	5 31,3%
I+R	13 81,3%	12 75,0%	13 81,3%	11 68,8%	5 31,3%

Annexe 33 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de SLD.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfalotine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	16	16	16	16	15	16
S	3 18,8%	13 81,3%	10 62,5%	10 62,5%	10 66,7%	10 62,5%
I	5 31,3%	0 0,0%	1 6,3%	2 12,5%	3 20,0%	1 6,3%
R	8 50,0%	3 18,8%	5 31,3%	4 25,0%	2 13,3%	5 31,3%
I+R	13 81,3%	3 18,8%	6 37,5%	6 37,5%	5 33,3%	6 37,5%

Annexe 34 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de SLD.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	16	16	16	16	16
S	16 100,0%	16 100,0%	15 93,8%	12 75,0%	10 62,5%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 6,3%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	1 6,3%	3 18,8%	6 37,5%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	1 6,3%	4 25,0%	6 37,5%

Annexe 35 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de SLD.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	16	16	16	16	16
S	16 100,0%	8 50,0%	8 50,0%	10 62,5%	16 100,0%
I	0 0,0%	0 0,0%	1 6,3%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	8 50,0%	7 43,8%	6 37,5%	0 0,0%
I+R	0 0,0%	8 50,0%	8 50,0%	6 37,5%	0 0,0%

Annexe 36 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de SLD.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 22 SOUCHES DE *E. Coli* ISSUES DE PATIENTS HOSPITALISÉS DANS DES SERVICES DE D'OBSTÉTRIQUE

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	22	22	22	22	22
S	8 36,4%	8 36,4%	8 36,4%	9 40,9%	21 95,5%
I	0 0,0%	3 13,6%	0 0,0%	4 18,2%	0 0,0%
R	14 63,6%	11 50,0%	14 63,6%	9 40,9%	1 4,5%
I+R	14 63,6%	14 63,6%	14 63,6%	13 59,1%	1 4,5%

Annexe 37 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services d'obstétrique.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfaloine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	22	22	22	22	22	22
S	8 36,4%	22 100,0%	21 95,5%	21 95,5%	21 95,5%	21 95,5%
I	12 54,5%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	2 9,1%	0 0,0%	1 4,5%	1 4,5%	1 4,5%	1 4,5%
I+R	14 63,6%	0 0,0%	1 4,5%	1 4,5%	1 4,5%	1 4,5%

Annexe 38 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services d'obstétrique.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	22	22	22	22	22
S	22 100,0%	22 100,0%	22 100,0%	21 95,5%	15 68,2%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 4,5%	7 31,8%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 4,5%	7 31,8%

Annexe 39 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services d'obstétrique.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	22	22	22	22	22
S	21 95,5%	21 95,5%	21 95,5%	21 95,5%	22 100,0%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	1 4,5%	1 4,5%	1 4,5%	1 4,5%	0 0,0%
I+R	1 4,5%	1 4,5%	1 4,5%	1 4,5%	0 0,0%

Annexe 40 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services d'obstétrique.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 18 SOUCHES DE *E. Coli* ISSUES DE PATIENTS HOSPITALISÉS DANS DES SERVICES DE SOINS INTENSIFS

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	18	18	18	18	18
S	8 44,4%	8 44,4%	8 44,4%	9 50,0%	15 83,3%
I	0 0,0%	3 16,7%	0 0,0%	3 16,7%	0 0,0%
R	10 55,6%	7 38,9%	10 55,6%	6 33,3%	3 16,7%
I+R	10 55,6%	10 55,6%	10 55,6%	9 50,0%	3 16,7%

Annexe 41 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de soins intensifs.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfaloine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	18	18	18	18	18	18
S	8 44,4%	16 88,9%	14 77,8%	14 77,8%	14 77,8%	14 77,8%
I	5 27,8%	2 11,1%	2 11,1%	1 5,6%	3 16,7%	0 0,0%
R	5 27,8%	0 0,0%	2 11,1%	3 16,7%	1 5,6%	4 22,2%
I+R	10 55,6%	2 11,1%	4 22,2%	4 22,2%	4 22,2%	4 22,2%

Annexe 42 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de soins intensifs.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	18	18	18	18	18
S	18 100,0%	18 100,0%	18 100,0%	16 88,9%	15 83,3%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	2 11,1%	3 16,7%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	2 11,1%	3 16,7%

Annexe 43 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de soins intensifs.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	18	18	18	18	18
S	18 100,0%	13 72,2%	13 72,2%	14 77,8%	18 100,0%
I	0 0,0%	0 0,0%	1 5,6%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	5 27,8%	4 22,2%	4 22,2%	0 0,0%
I+R	0 0,0%	5 27,8%	5 27,8%	4 22,2%	0 0,0%

Annexe 44 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de soins intensifs.

SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES DES 3 SOUCHES DE *E. Coli* ISSUES DE PATIENTS HOSPITALISÉS DANS DES SERVICES DE CANCÉROLOGIE

	Ampicilline	AMC	Ticarcilline	TCC	TZP
n=	3	3	3	3	3
S	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%

Annexe 45 : Sensibilité aux pénicillines et associations pénicillines+inhibiteur de bêta-lactamases des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de cancérologie.

AMC=amoxicilline+acide clavulanique ; TCC=ticarcilline+acide clavulanique ;

TZP=pipéracilline+tazobactam

	Céfalotine	Céfoxitine	Ceftriaxone	Ceftazidime	Céfépime	Céfixime
n=	3	3	3	3	3	3
S	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%

Annexe 46 : Sensibilité aux céphalosporines des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de cancérologie.

	Imipénème	Ertapénème	Amikacine	Gentamicine	SXT
n=	3	3	3	3	3
S	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%	2 66,7%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 33,3%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 33,3%

Annexe 47 : Sensibilité aux carbapénèmes, aux aminosides et au cotrimoxazole des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de cancérologie.

SXT=cotrimoxazole

	Nitrofurantoïne	Acide nalidixique	Norfloxacine	Ciprofloxacine	Fosfomycine
n=	3	3	3	3	3
S	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%	3 100,0%	2 66,7%
I	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%
R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 33,3%
I+R	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	1 33,3%

Annexe 48 : Sensibilité à la nitrofurantoïne, aux quinolones et à la fosfomycine des souches de *E. coli* issues de patients hospitalisés dans des services de cancérologie.

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.



BOURGOIN Gaëtan

Etude de la sensibilité aux antibiotiques par méthode semi-automatisée en milieu liquide de 293 souches consécutives de *Escherichia coli* isolées d'ECBU au CHU de Rouen ; apport de la méthode E-Test® pour l'évaluation de la sensibilité à l'association amoxicilline-acide clavulanique.

Th. D. Pharm., Rouen, 2016, 136 p.

RESUME

Les infections urinaires constituent un ensemble de pathologies très courantes, aussi bien en ville qu'à l'hôpital. Elles entraînent un nombre élevé de prescriptions d'antibiotiques, ce qui contribue à la pression de sélection sur les souches bactériennes. La détermination de la sensibilité aux antibiotiques des souches responsables d'infections urinaires apparaît indispensable pour une juste utilisation de ces médicaments.

Ce travail a pour but de déterminer la sensibilité aux antibiotiques par méthode semi-automatisée en milieu liquide (automate Phoenix®) de 293 souches consécutives de *Escherichia coli* isolées d'ECBU au CHU de Rouen, puis dans un second temps de comparer les résultats obtenus à une méthode manuelle, le E-Test®, pour la seule association amoxicilline-acide clavulanique (AMC).

La sensibilité aux antibiotiques de ces souches est globalement conforme aux données de la littérature, avec des données inquiétantes pour certaines molécules et rassurantes pour d'autres. En appliquant les critères du CASFM 2013, les taux de sensibilité de *E. coli* à l'AMC varient considérablement selon la technique utilisée (de 45,7% par automate Phoenix® à 55,3% par E-Test®). L'utilisation de la microdilution en milieu liquide, méthode de référence, permettrait de déterminer laquelle est la plus précise.

En utilisant les critères du CASFM en vigueur depuis 2014, la sensibilité des souches à l'AMC dans le cas de cystites s'élève à 100%, autorisant sa prescription en traitement probabiliste en l'absence d'alternatives.

MOTS-CLES : *Escherichia coli* - Amoxicilline-acide clavulanique - Infections urinaires - Phoenix® - E-Test®

JURY :

Président : Madame PESTEL-CARON Martine, PU-PH

Membres : Madame THARASSE Christine, MCF

Madame HAIMET Christine, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE : 05 juillet 2016

BOURGOIN Gaëtan

Etude de la sensibilité aux antibiotiques par méthode semi-automatisée en milieu liquide de 293 souches consécutives de *Escherichia coli* isolées d'ECBU au CHU de Rouen ; apport de la méthode E-Test® pour l'évaluation de la sensibilité à l'association amoxicilline-acide clavulanique.

Th. D. Pharm., Rouen, 2016, 136 p.

RESUME

Les infections urinaires constituent un ensemble de pathologies très courantes, aussi bien en ville qu'à l'hôpital. Elles entraînent un nombre élevé de prescriptions d'antibiotiques, ce qui contribue à la pression de sélection sur les souches bactériennes. La détermination de la sensibilité aux antibiotiques des souches responsables d'infections urinaires apparaît indispensable pour une juste utilisation de ces médicaments.

Ce travail a pour but de déterminer la sensibilité aux antibiotiques par méthode semi-automatisée en milieu liquide (automate Phoenix®) de 293 souches consécutives de *Escherichia coli* isolées d'ECBU au CHU de Rouen, puis dans un second temps de comparer les résultats obtenus à une méthode manuelle, le E-Test®, pour la seule association amoxicilline-acide clavulanique (AMC).

La sensibilité aux antibiotiques de ces souches est globalement conforme aux données de la littérature, avec des données inquiétantes pour certaines molécules et rassurantes pour d'autres. En appliquant les critères du CASFM 2013, les taux de sensibilité de *E. coli* à l'AMC varient considérablement selon la technique utilisée (de 45,7% par automate Phoenix® à 55,3% par E-Test®). L'utilisation de la microdilution en milieu liquide, méthode de référence, permettrait de déterminer laquelle est la plus précise.

En utilisant les critères du CASFM en vigueur depuis 2014, la sensibilité des souches à l'AMC dans le cas de cystites s'élève à 100%, autorisant sa prescription en traitement probabiliste en l'absence d'alternatives.

MOTS-CLES : *Escherichia coli* - Amoxicilline-acide clavulanique - Infections urinaires - Phoenix® - E-Test®

JURY :

Président : Madame PESTEL-CARON Martine, PU-PH

Membres : Madame THARASSE Christine, MCF

Madame HAIMET Christine, Docteur en Pharmacie

DATE DE SOUTENANCE : 05 juillet 2016