



HAL
open science

Sensibilité d'Entérobacterales du groupe III à la témocilline et impact de la méthode d'étude in vitro

Anaïs Melin

► **To cite this version:**

Anaïs Melin. Sensibilité d'Entérobacterales du groupe III à la témocilline et impact de la méthode d'étude in vitro. Sciences pharmaceutiques. 2020. dumas-03289851

HAL Id: dumas-03289851

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03289851>

Submitted on 19 Jul 2021

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 NORMANDIE
UFR SANTE – Département PHARMACIE

Année 2020

THESE

pour le DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 4 décembre 2020

par

Anaïs MELIN

Né(e) le 20 juillet 1992 à Bois-Bernard

**SENSIBILITE D'ENTEROBACTERALES DU GROUPE III A LA
TEMOCILLINE ET IMPACT DE LA METHODE D'ETUDE *IN VITRO***

Président du jury : Madame le Professeur Martine PESTEL-CARON

Membres du jury : Monsieur le Docteur Kevin ALEXANDRE

Madame le Docteur Sandrine DAHYOT

Madame le Docteur Claire PLASSART

UNIVERSITE DE ROUEN NORMANDIE
UFR SANTE – Département PHARMACIE

Année 2020

MEMOIRE POUR LE DIPLOME D'ETUDES SPECIALISEES DE
BIOLOGIE MEDICALE

Conformément aux dispositions du décret 2003/76 du 23
janvier 2003, tenant lieu de

THESE D'EXERCICE POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR
EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement le 4 décembre 2020

Par Anaïs MELIN

Né(e) le 20 juillet 1992 à Bois-Bernard

SENSIBILITE D'ENTEROBACTERALES DU GROUPE III A LA
TEMOCILLINE ET IMPACT DE LA METHODE D'ETUDE *IN VITRO*

Président du jury : Madame le Professeur Martine PESTEL-CARON

Membres du jury : Monsieur le Docteur Kevin ALEXANDRE

Madame le Docteur Sandrine DAHYOT

Madame le Docteur Claire PLASSART

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

ANNEE UNIVERSITAIRE 2020 - 2021

U.F.R. SANTÉ DE ROUEN

DOYEN : **Professeur Benoît VEBER**

ASSESEURS : **Professeur Loïc FAVENNEC**
Professeur Agnès LIARD
Professeur Guillaume SAVOYE

I - MEDECINE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mr Frédéric ANSELME	HCN	Cardiologie
Mme Gisèle APTER	Havre	Pédopsychiatrie
Mme Isabelle AUQUIT AUCKBUR	HCN	Chirurgie plastique
Mr Jean-Marc BASTE	HCN	Chirurgie Thoracique
Mr Fabrice BAUER	HCN	Cardiologie
Mme Soumeya BEKRI	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mr Ygal BENHAMOU	HCN	Médecine interne
Mr Jacques BENICHOU	HCN	Bio statistiques et informatique médicale
Mr Olivier BOYER	UFR	Immunologie
Mme Sophie CANDON	HCN	Immunologie
Mr François CARON	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Philippe CHASSAGNE	HCN	Médecine interne (gériatrie)
Mr Moïse COEFFIER	HCN	Nutrition
Mr Vincent COMPERE	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mr Jean-Nicolas CORNU	HCN	Urologie
Mr Antoine CUVELIER	HB	Pneumologie
Mr Jean-Nicolas DACHER	HCN	Radiologie et imagerie médicale
Mr Stéfan DARMONI	HCN	Informatique médicale et techniques de communication
Mr Pierre DECHELOTTE	HCN	Nutrition
Mr Stéphane DERREY	HCN	Neurochirurgie

Mr Frédéric DI FIORE	CHB	Cancérologie
Mr Fabien DOGUET	HCN	Chirurgie Cardio Vasculaire
Mr Jean DOUCET	SJ	Thérapeutique - Médecine interne et gériatrie
Mr Bernard DUBRAY	CHB	Radiothérapie
Mr Frank DUJARDIN	HCN	Chirurgie orthopédique - Traumatologique
Mr Fabrice DUPARC	HCN	Anatomie - Chirurgie orthopédique et traumatologique
Mr Eric DURAND	HCN	Cardiologie
Mr Bertrand DUREUIL	HCN	Anesthésiologie et réanimation chirurgicale
Mme Hélène ELTCHANINOFF	HCN	Cardiologie
Mr Manuel ETIENNE	HCN	Maladies infectieuses et tropicales
Mr Thierry FREBOURG	UFR	Génétique
Mr Pierre FREGER (<i>urnombre</i>)	HCN	Anatomie - Neurochirurgie
Mr Jean François GEHANNO	HCN	Médecine et santé au travail
Mr Emmanuel GERARDIN	HCN	Imagerie médicale
Mme Priscille GERARDIN	HCN	Pédopsychiatrie
M. Guillaume GOURCEROL	HCN	Physiologie
Mr Dominique GUERROT	HCN	Néphrologie
Mme Julie GUEUDRY	HCN	Ophthalmologie
Mr Olivier GUILLIN	HCN	Psychiatrie Adultes
Mr Claude HOUDAYER	HCN	Génétique
Mr Fabrice JARDIN	CHB	Hématologie
Mr Luc-Marie JOLY	HCN	Médecine d'urgence
Mr Pascal JOLY	HCN	Dermato – Vénéréologie
Mme Bouchra LAMIA	Havre	Pneumologie
Mme Annie LAQUERRIERE	HCN	Anatomie et cytologie pathologiques
Mr Vincent LAUDENBACH	HCN	Anesthésie et réanimation chirurgicale
Mr Hervé LEFEBVRE	HB	Endocrinologie et maladies métaboliques
Mr Thierry LEQUERRE	HCN	Rhumatologie
Mme Anne-Marie LEROI	HCN	Physiologie
Mr Hervé LEVESQUE	HCN	Médecine interne
Mme Agnès LIARD-ZMUDA	HCN	Chirurgie Infantile
Mr Pierre Yves LITZLER	HCN	Chirurgie cardiaque
M. David MALTETE	HCN	Neurologie
Mr Christophe MARGUET	HCN	Pédiatrie
Mme Isabelle MARIE	HCN	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	Hépto-gastro-entérologie
M. Benoit MISSET (<i>détachement</i>)	HCN	Réanimation Médicale
Mr Marc MURAINÉ	HCN	Ophthalmologie
Mr Christian PFISTER	HCN	Urologie
Mr Jean-Christophe PLANTIER	HCN	Bactériologie - Virologie
Mr Didier PLISSONNIER	HCN	Chirurgie vasculaire
Mr Gaëtan PREVOST	HCN	Endocrinologie
Mr Jean-Christophe RICHARD (<i>détachement</i>)	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 (<i>détachement</i>)	HCN	Gynécologie - Obstétrique
Mr Jean-Christophe SABOURIN	HCN	Anatomie – Pathologie
Mr Mathieu SALAUIN	HCN	Pneumologie
Mr Guillaume SAVOYE	HCN	Hépto-gastrologie
Mme Céline SAVOYE-COLLET	HCN	Imagerie médicale
Mme Pascale SCHNEIDER	HCN	Pédiatrie
Mr Lilian SCHWARZ	HCN	Chirurgie Viscérale et Digestive
Mr Michel SCOTTE	HCN	Chirurgie digestive
Mme Fabienne TAMION	HCN	Thérapeutique
Mr Luc THIBERVILLE	HCN	Pneumologie
Mr Hervé TILLY (<i>surnombre</i>)	CHB	Hématologie et transfusion
M. Gilles TOURNEL	HCN	Médecine Légale
Mr Olivier TROST	HCN	Anatomie -Chirurgie Maxillo-Faciale
Mr Jean-Jacques TUECH	HCN	Chirurgie digestive
Mr Benoît VEBER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation chirurgicale
Mr Pierre VERA	CHB	Biophysique et traitement de l'image
Mr Eric VERIN	Les Herbiers	Médecine Physique et de Réadaptation
Mr Eric VERSPYCK	HCN	Gynécologie obstétrique
Mr Olivier VITTECOQ	HC	Rhumatologie
Mr David WALLON	HCN	Neurologie
Mme Marie-Laure WELTER	HCN	Physiologie

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES – PRATICIENS HOSPITALIERS

Mme Najate ACHAMRAH	HCN	Nutrition
Mme Elodie ALESSANDRI-GRADT	HCN	Virologie
Mme Noëlle BARBIER-FREBOURG	HCN	Bactériologie – Virologie
Mr Emmanuel BESNIER	HCN	Anesthésiologie - Réanimation
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	Neurophysiologie
M. Vianney GILARD	HCN	Neurochirurgie
Mr Serge JACQUOT	UFR	Immunologie
Mr Joël LADNER	HCN	Epidémiologie, économie de la santé
Mr Jean-Baptiste LATOUCHE	UFR	Biologie cellulaire
M. Florent MARGUET	HCN	Histologie
Mme Chloé MELCHIOR	HCN	Gastroentérologie
M. Sébastien MIRANDA	HCN	Chirurgie Vasculaire
Mr Thomas MOUREZ (<i>détachement</i>)	HCN	Virologie
Mr Gaël NICOLAS	UFR	Génétique
Mme Muriel QUILLARD	HCN	Biochimie et biologie moléculaire
Mme Laëtitia ROLLIN	HCN	Médecine du Travail
Mme Pascale SAUGIER-VEBER	HCN	Génétique
M. Abdellah TEBANI	HCN	Biochimie et Biologie Moléculaire
Mme Anne-Claire TOBENAS-DUJARDIN	HCN	Anatomie
Mr Julien WILS	HCN	Pharmacologie

PROFESSEUR AGREGE OU CERTIFIE

Mr Thierry WABLE	UFR	Communication
Mme Mélanie AUVRAY-HAMEL	UFR	Anglais

ATTACHE TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE à MI-TEMPS

Mme Justine SAULNIER	UFR	Biologie
-----------------------------	-----	----------

II - PHARMACIE

PROFESSEURS DES UNIVERSITES

Mr Jérémy BELLIEN (PU-PH)	Pharmacologie
Mr Thierry BESSON	Chimie Thérapeutique
Mr Jean COSTENTIN (Professeur émérite)	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Abdelhakim EL OMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie Organique
Mr Loïc FAVENNEC (PU-PH)	Parasitologie
Mr Jean Pierre GOULLE (Professeur émérite)	Toxicologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON (PU-PH)	Microbiologie
Mr Rémi VARIN (PU-PH)	Pharmacie clinique
Mr Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

MAITRES DE CONFERENCES DES UNIVERSITES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et Minérale
Mr Frédéric BOUNOURE	Pharmacie Galénique
Mr Thomas CASTANHEIRO MATIAS	Chimie Organique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Camille CHARBONNIER (LE CLEZIO)	Statistiques
Mme Elizabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation pharmaceutique et économie de la santé
Mme Cécile CORBIERE	Biochimie
Mme Nathalie DOURMAP	Pharmacologie
Mme Isabelle DUBUC	Pharmacologie
Mme Dominique DUTERTE- BOUCHER	Pharmacologie
Mr Gilles GARGALA (MCU-PH)	Parasitologie
Mme Nejla EL GHARBI-HAMZA	Chimie analytique
Mme Marie-Laure GROULT	Botanique
Mr Chervin HASSEL	Virologie

Mme Maryline LECOINTRE	Physiologie
Mme Hong LU	Biologie
Mme Marine MALLETER	Toxicologie
M. Jérémie MARTINET (MCU-PH)	Immunologie
M. Romy RAZAKANDRAINIBE	Parasitologie
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-DETUNCQ	Pharmacie officinale
Mme Caroline BERTOUX	Pharmacie

PAU-PH

M. Mikaël **DAOUPHARS**

PROFESSEUR CERTIFIE

Mme Mathilde **GUERIN** Anglais

ASSISTANTS HOSPITALO-UNIVERSITAIRES

Mme Alice **MOISAN** Virologie
M. Henri **GONDÉ** Pharmacie

ATTACHES TEMPORAIRES D'ENSEIGNEMENT ET DE RECHERCHE

Mme Soukaina **GUAOUA-ELJADDI** Informatique
Mme Clémence **MEAUSOONE** Toxicologie

ATTACHE TEMPORAIRE D'ENSEIGNEMENT

Mme Ramla **SALHI** Pharmacognosie

LISTE DES RESPONSABLES DES DISCIPLINES PHARMACEUTIQUES

Mme Cécile BARBOT	Chimie Générale et minérale
Mr Thierry BESSON	Chimie thérapeutique
Mr Abdeslam CHAGRAOUI	Physiologie
Mme Elisabeth CHOSSON	Botanique
Mme Marie-Catherine CONCE-CHEMTOB	Législation et économie de la santé
Mme Isabelle DUBUS	Biochimie
Mr Abdelhakim EL OMRI	Pharmacognosie
Mr François ESTOUR	Chimie organique
Mr Loïc FAVENNEC	Parasitologie
Mme Christelle MONTEIL	Toxicologie
Mme Martine PESTEL-CARON	Microbiologie
Mr Mohamed SKIBA	Pharmacie galénique
Mr Rémi VARIN	Pharmacie clinique
M. Jean-Marie VAUGEOIS	Pharmacologie
Mr Philippe VERITE	Chimie analytique

III – MEDECINE GENERALE

PROFESSEUR MEDECINE GENERALE

Mr Jean-Loup **HERMIL** (PU-MG) UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCE MEDECINE GENERALE

Mr Matthieu **SCHUERS** (MCU-MG) UFR Médecine générale

PROFESSEURS ASSOCIES A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTE

Mr Pascal **BOULET** UFR Médecine générale

Mr Emmanuel **LEFEBVRE** UFR Médecine Générale

Mme Elisabeth **MAUVIARD** UFR Médecine générale

Mr Philippe **NGUYEN THANH** UFR Médecine générale

Mme Yveline **SEVRIN** UFR Médecine générale

MAITRE DE CONFERENCES ASSOCIE A MI-TEMPS – MEDECINS GENERALISTES

Mme Laëtitia **BOURDON** UFR Médecine Générale

Mme Elsa **FAGOT-GRIFFIN** UFR Médecine Générale

Mr Emmanuel **HAZARD** UFR Médecine Générale

Mme Lucile **PELLERIN** UFR Médecine générale

ENSEIGNANTS MONO-APPARTENANTS

PROFESSEURS

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)
M. Sylvain FRAINEAU (med)	Physiologie (Inserm U 1096)
Mme Pascaline GAILDRAT (med)	Génétique moléculaire humaine (UMR 1079)
Mr Nicolas GUEROUT (med)	Chirurgie Expérimentale
Mme Rachel LETELLIER (med)	Physiologie
Mr Antoine OUVRARD-PASCAUD (med)	Physiologie (Unité Inserm 1076)
Mr Frédéric PASQUET	Sciences du langage, orthophonie
Mme Anne-Sophie PEZZINO	Orthophonie
Mme Christine RONDANINO (med)	Physiologie de la reproduction
Mr Youssan Var TAN	Immunologie
Mme Isabelle TOURNIER (med)	Biochimie (UMR 1079)

DIRECTEUR ADMINISTRATIF : M. Jean-Sébastien VALET

HCN - Hôpital Charles Nicolle

HB - Hôpital de BOIS GUILLAUME

CB - Centre Henri Becquerel

CHS - Centre Hospitalier Spécialisé du Rouvray

CRMPR - Centre Régional de Médecine Physique et de Réadaptation

SJ - Saint Julien Rouen

Madame le Professeur Martine PESTEL-CARON,

Vous me faites l'honneur de présider cette thèse.

Votre disponibilité, votre rigueur et vos précieux conseils m'ont permis de réaliser ce travail
et d'enrichir mes connaissances.

Merci pour ces deux semestres passés dans votre service.

Veillez trouver ici l'expression de ma sincère gratitude pour la qualité de votre
enseignement.

Madame le Docteur Sandrine DAHYOT,

Tu me fais l'honneur de juger cette thèse.

Je te remercie pour ton soutien tout au long de ce travail, ta disponibilité, et tes conseils
avisés.

Tu trouveras ici l'expression de ma gratitude la plus sincère.

Madame le Docteur Claire PLASSART,

Tu me fais l'honneur de juger cette thèse.

Tu trouveras ici l'expression de ma sincère gratitude pour l'intérêt que tu portes à ce travail.

Monsieur le Docteur Kevin ALEXANDRE,

Vous me faites l'honneur de siéger parmi le jury de cette thèse.

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

Aux Docteurs Boyer, Frébourg, Lemée et Skalli ,

Merci pour le partage de votre expérience et pour vos enseignements dispensés au cours de
ces semestres en bactériologie.

Au personnel de l'IBC,

Merci pour toutes ces années d'internat.

Aux biologistes et à toute l'équipe du laboratoire du CHI d'Elbeuf,

Merci pour le semestre passé chez vous, riche en enseignements. Merci de m'accueillir à nouveau pour 6 mois de plus !

François, toutes mes félicitations pour ton nouveau poste !

Capucine et Margaux,

Mille mercis. Sans vous cette thèse n'aurait pas vu le jour. Merci pour votre aide et votre implications, pour ces nombreuses après-midi passées sous la hotte. Merci pour votre bonne humeur. Ces mois de confinement sont passés vite en votre compagnie !

Louise,

Une amie en or, je suis heureuse de t'avoir rencontrée !

A tous mes co-internes,

Merci pour ces années passées en votre compagnie.

A mes amis de la fac,

Célia, je suis heureuse de te compter parmi mes amies.

Nos années fac resteront à jamais gravées dans ma mémoire ;))

Thibault, pour nos nombreuses heures passées au téléphone à refaire le monde ...

A Chloé, et Orane,

pour toutes nos heures passées ensemble à la BU ...

Nos repas hebdomadaires me manquent !

A mes parents :

Un immense merci pour votre présence, votre confiance et votre soutien sans faille depuis toutes ces années (et pour les dépannages informatiques de toute dernière minute !)

Vous avez su me donner les cartes nécessaires pour que j'en arrive ici aujourd'hui.

A Coco

La sudiste finalement diplômée avant moi ..

Je te souhaite le meilleur pour ta vie, tant professionnelle que personnelle. Reviens nous voir
de temps en temps !

SOMMAIRE

LISTE DES ABRÉVIATIONS	19
LISTE DES TABLEAUX	20
LISTE DES FIGURES	21
LISTE DES ANNEXES.....	22
INTRODUCTION	23
RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES.....	25
1. Témocilline.....	25
1.1. Historique.....	25
1.2. Structure chimique et mécanisme d'action	26
1.3. Paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques.....	27
1.3.1. Absorption	27
1.3.2. Distribution.....	28
1.3.3. Élimination.....	29
1.3.4. Pharmacodynamie.....	30
1.4. Spectre d'activité.....	31
1.5. Mécanismes de résistance	34
1.5.1. Inactivation par les β -lactamases	35
1.5.2. Imperméabilité et efflux.....	38
1.6. Tolérance	39
1.7. Indications et recommandations actuelles.....	40
1.7.1. Utilisation de la témocilline en France	40
1.7.2. Utilisation de la témocilline en Belgique	42
2. Méthodes d'étude de la sensibilité aux antibiotiques et détermination des concentrations critiques.....	44
2.1. Détermination de la sensibilité en milieu solide.....	44
2.1.1. Méthode par diffusion en milieu gélosé : antibiogramme par la méthode des disques	44
2.1.2. Détermination de la CMI en milieu gélosé : bandelette ETEST®	45
2.2. Détermination de la sensibilité en milieu liquide	46
2.2.1. Détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide.....	46

2.2.2.	Antibiogramme automatisé en milieu liquide	46
2.3.	Détermination des concentrations critiques	48
2.3.1.	Par qui ?	48
2.3.2.	Comment ?	49
2.3.3.	Catégorisation clinique : S/I/R	51
2.4.	Cas particulier de la témocilline	53
	TRAVAIL PERSONNEL	56
1.	Matériel et méthodes.....	56
1.1.	Recueil des souches	56
1.1.	Recueil des données patients	57
1.2.	Détermination de la sensibilité à la témocilline	57
1.2.1.	Préparation en amont des plaques de microdilution	58
1.2.2.	Préparation des inocula	59
1.2.3.	Méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques)	60
1.2.4.	Détermination de la CMI à la témocilline par méthode E-test®	60
1.2.5.	Estimation de la CMI à la témocilline par la méthode VITEK.....	61
1.2.6.	Mesure de la CMI par microdilution en milieu liquide (méthode de référence).....	61
1.2.7.	Contrôle de qualité (CQ).....	63
1.2.8.	Analyse des résultats	63
1.3.	Analyses statistiques	66
2.	Résultats	66
2.1.	Description de la population.....	66
2.1.1.	Patients et contexte clinique	66
2.1.2.	Espèces bactériennes	67
2.1.3.	Mécanisme de résistance acquise aux β -lactamines	68
2.2.	Évaluation de la sensibilité à la témocilline vis-à-vis des souches de contrôle qualité....	68
2.3.	Présence de colonies à l'intérieur de la zone d'inhibition	69
2.4.	Évaluation de la sensibilité de 103 souches d'Entérobactérales à la témocilline par 4 méthodes	70
2.4.1.	Détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide, méthode de référence	70
2.4.2.	Détermination de la CMI par ETEST®	71
2.4.3.	Évaluation de la sensibilité par la méthode automatisée Vitek-2® (bioMérieux)	72

2.4.4.	Évaluation de la sensibilité par la méthode des disques	72
2.4.5.	Comparaison de méthodes	74
2.5.	Sensibilité à la témocilline en fonction du genre bactérien	78
2.6.	Sensibilité à la témocilline en fonction du mécanisme de résistance acquis aux β-lactamines.	80
	DISCUSSION	82
1.	<i>Nouvelles concentrations critiques de l'EUCAST controversées</i>	82
2.	<i>Méthodologie de notre étude.....</i>	83
3.	<i>Comparaison des méthodes d'études de la sensibilité à la témocilline</i>	85
4.	<i>Sensibilité des Entérobactérales du groupe III à la témocilline</i>	87
4.1	Sensibilité en fonction du genre bactérien	88
4.2	Sensibilité en fonction du mécanisme de résistance	89
	CONCLUSION ET PERSPECTIVES.....	91
	BIBLIOGRAPHIE.....	92
	ANNEXE	99

LISTE DES ABRÉVIATIONS

AMM	Autorisation de mise sur le marché
AST	Antibiotic susceptibility testing
ATU	Autorisation temporaire d'utilisation
BHRe	Bactéries Hautement Résistantes émergentes
BLSE	β -lactamase à spectre étendu
BSAC	<i>British Society for Antimicrobial Chemotherapy</i>
C ₃ G	Céphalosporine de 3 ^{ème} génération
CA-SFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CLSI	<i>Clinical & Laboratory Standards Institute</i>
CC	Concentrations critiques
CMB	Concentration Minimale Bactéricide
CMI	Concentration Minimale Inhibitrice
CQ	Contrôle Qualité
DC	Diamètres critiques
ECBU	Examen cytotatériologiques des urines
ECDC	<i>European Centre for Disease Prevention and Control</i>
ECOFF	<i>Epidemiological cut-off</i>
EPC	Entérobactérales Productrices de Carbapénémases
EUCAST	<i>European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing</i>
HAS	Haute Autorité de Santé
ICD	Infection à <i>Clostridium difficile</i>
IU	Infection urinaire
IM	Intramusculaire
IV	Intraveineuse
McF	MacFarland
MH	Mueller Hinton
PBDP	Prélèvement Bronchique Distal Protégé
PK/PD	<i>Pharmacokinetics/Pharmacodynamics</i>
PLP	Protéines liant les pénicillines
PNA	Pyélonéphrite aigue
RCP	Résumé des Caractéristiques du Produit
SC	Sous-cutané
S / I / R	Sensible / Intermédiaire / Résistant
TMP-SXT	Triméthoprim-sulfaméthoxazole (ou co-trimoxazole)

LISTE DES TABLEAUX

TABLEAU 1 : CONCENTRATIONS TISSULAIRES ET DISTRIBUTION DE LA TEMOCILLINE DANS L'ORGANISME	28
TABLEAU 2 : AJUSTEMENTS POSOLOGIQUES CHEZ LES PATIENTS INSUFFISANTS RENAU (D'APRES ALEXANDRE AND FANTIN, 2018)	30
TABLEAU 3 : ACTIVITE <i>IN VITRO</i> DE LA TEMOCILLINE VIS A VIS DE BACTERIES SANS MECANISME ACQUIS DE RESISTANCE SELON LES DONNEES DE LA LITTERATURE (D'APRES ALEXANDRE AND FANTIN, 2018)	33
TABLEAU 4 : ACTIVITE <i>IN VITRO</i> DE LA TEMOCILLINE EVALUEE VIS-A-VIS DE 2280 ENTEROBACTERALES (<i>E. COLI</i> , <i>KLEBSIELLA SPP.</i> , ET <i>ENTEROBACTER SPP.</i>) MULTIRESISTANTES (D'APRES WOODFORD ET AL)	37
TABLEAU 5 : PLACE DE LA TEMOCILLINE DANS LE TRAITEMENT DES INFECTIONS A ENTEROBACTERALE SELON LES RECOMMANDATIONS DE LA HAS (2019)	40
TABLEAU 6 : INDICATIONS ET POSOLOGIES DES β -LACTAMINES EN ALTERNATIVES AUX CARBAPENEMES, SELON LES RECOMMANDATIONS DE LA HAS (2019).	42
TABLEAU 7 : CONCENTRATIONS ET DIAMETRES CRITIQUES PROPOSES PAR LES DIFFERENTES AUTORITES	53
TABLEAU 8 : NOUVELLE CATEGORISATION DE LA SENSIBILITE A LA TEMOCILLINE EN FONCTION DE LA CMI, SELON EUCAST CLINICAL BREAKPOINTS FOR TEMOCILLIN, APRIL 2020	54
TABLEAU 9 : CRITERES D'INTERPRETATION DE LA SENSIBILITE A LA TEMOCILLINE, D'APRES LE CA-SFM 2020 V1.1 ET L'EUCAST 2020.	64
TABLEAU 10 : RESULTATS DES PASSAGE DE CQ INITIAUX SELON LES DIFFERENTES METHODES TESTEES	69
TABLEAU 11 : SENSIBILITE A LA TEMOCILLINE SELON LES DIAMETRES CRITIQUES DU CA-SFM 2020 V1.1 OU DE L'EUCAST 2020, EN FONCTION DES DIFFERENTS FOURNISSEURS DE DISQUES.....	73
TABLEAU 12 : CONCORDANCES ET DISCORDANCES DES DIFFERENTES TECHNIQUES, EN COMPARAISON AVEC LA TECHNIQUE DE MICRODILUTION MANUELLE	77
TABLEAU 13 : REPARTITION DES CMI EN FONCTION DU GENRE BACTERIEN, PAR LA METHODE DE MICRODILUTION EN MILIEU LIQUIDE	78
TABLEAU 14 : SENSIBILITE DES SOUCHES D'ENTEROBACTERALES DU GROUPE III EN FONCTION DU GENRE BACTERIEN	79
TABLEAU 15 : SENSIBILITE DES SOUCHES D'ENTEROBACTERALES DU GROUPE III EN FONCTION DU MECANISME DE RESISTANCE AUX β - LACTAMINES	81
TABLEAU 16 : VALEURS DE CQ PROPOSE PAR L'EUCAST POUR LA SOUCHE <i>E. COLI</i> ATCC®25922™	85

LISTE DES FIGURES

FIGURE 1 : ÉVOLUTION DU NOMBRE DE PUBLICATIONS PORTANT SUR LA TEMOCILLINE PUBLIEES SUR PUBMED, MOTEUR DE RECHERCHE DE DONNEES BIBLIOGRAPHIQUES.....	25
FIGURE 2 : STRUCTURE CHIMIQUE DE LA TICARCILLINE ET DE LA TEMOCILLINE (VERBIST, 1982).....	26
FIGURE 3 : RECOMMANDATIONS D'UTILISATION DE LA TEMOCILLINE EN TRAITEMENT EMPIRIQUE EN BELGIQUE, D'APRES HTTPS://ORGANESDECONCERTATION.SANTE.BELGIQUE.BE	43
FIGURE 4 : PRINCIPE DE L'ANTIBIOGRAMME PAR DIFFUSION EN MILIEU GELOSE (ISSUE DE JEHL ET AL., 2015).....	45
FIGURE 5 : ELLIPSE D'INHIBITION OBSERVEE POUR LA DETERMINATION DE LA CMI PAR ETEST® (ISSUE DE BIOMERIEUX.FR)	46
FIGURE 6 : CARTE DE TEST DE SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES ET AUTOMATE VITEK® 2 (HTTPS://WWW.BIOMERIEUX.FR).....	48
FIGURE 7 : REPRESENTATION DE L'E-COFF : CONCENTRATION QUI SEPRE LA POPULATION SAUVAGE (EN BLEU) DE LA POPULATION NON SAUVAGE (EN BLANC) (CA-SFM V1.1 2020)	49
FIGURE 8 : CORRELATION ENTRE LES CMI ET LES DIAMETRES D'INHIBITION OBSERVEE POUR DES SOUCHES D' <i>E. COLI</i> , <i>K. PNEUMONIAE</i> , ET <i>P. MIRABILIS</i> (EUCAST, 2020).....	54
FIGURE 9 : LECTURE DE LA CMI ET DES DIAMETRES D'INHIBITION DE LA TEMOCILLINE D'UNE SOUCHE D' <i>ENTEROBACTER SPP.</i>	61
FIGURE 10 : LECTURE DE CMI EN MICRODILUTION.....	62
FIGURE 11 : TYPES DE PRELEVEMENTS D'ISOLEMENT DES 103 SOUCHES D'ENTEROBACTERALES TESTEES.....	67
FIGURE 12 : REPARTITION DES ESPECES BACTERIENNES DES 103 SOUCHES D'ENTEROBACTERALES TESTEES.....	68
FIGURE 13 : MECANISME DE RESISTANCE AUX β -LACTAMINES DES 103 SOUCHES D'ENTEROBACTERALES TESTEES	68
FIGURE 14 : COLONIES A L'INTERIEUR DU DIAMETRE D'INHIBITION, D'APRES EUCAST 2020.....	70
FIGURE 15 : DISTRIBUTION DES CMI PAR MICRODILUTION EN MILIEU LIQUIDE (METHODE DE REFERENCE).....	71
FIGURE 16 : DISTRIBUTION DES CMI DETERMINEES PAR LA METHODE ETEST®	71
FIGURE 17 : DISTRIBUTION DES CMI ESTIMEES PAR MICRODILUTION SUR AUTOMATE VITEK-2®	72
FIGURE 18 : DISTRIBUTION DES DIAMETRES D'INHIBITION (EN MM) DE LA TEMOCILLINE SELON LES FOURNISSEURS DE DISQUES BD®, BIO-RAD®, i2A® ET Oxoïd®	73
FIGURE 19 : CORRELATION ENTRE LA CMI EVALUEE PAR ETEST® ET LA CMI EVALUEE PAR LA METHODE BMD.....	74
FIGURE 20 : CORRELATION ENTRE LA CMI ESTIMEE PAR VITEK-2® ET LA CMI EVALUEE PAR LA METHODE BMD	75
FIGURE 21 :CORRELATION ENTRE LES DIAMETRES D'INHIBITION PAR LA METHODE DES DISQUES DES FOURNISSEURS BD®(A), BIO-RAD®(B), i2A®(C) ET Oxoïd®(D), ET LA CMI EVALUEE PAR LA METHODE DE MICRODILUTION ERREUR ! SIGNET NON DEFINI.	
FIGURE 22 : REPARTITION DES CMI DE LA TEMOCILLINE EN FONCTION DU MECANISME DE RESISTANCE AUX β -LACTAMINES, SELON LA METHODE DE MICRODILUTION EN MILIEU LIQUIDE (METHODE DE REFERENCE)	80

LISTE DES ANNEXES

ANNEXE 1 : CALCUL DES ERREUR DE CATEGORIES ET DES ACCORDS DE CATEGORIES.....	99
ANNEXE 2 : SOUCHES D'ENTEROBACTERALES DU GROUPE III RECUEILLIES POUR NOTRE ETUDE ET DEMOGRAPHIE DES PATIENTS	100
ANNEXE 3 : RESULTATS DES CONTROLES DE QUALITES DES SOUCHES D' <i>E. COLI</i> ATCC®25922™ ET ATCC®35218™ PAR (A) MICRODILUTION (BMD), ETEST®, VITEK-2®	104
ANNEXE 4 : DISTRIBUTION DES CMI DE LA TEMOCILLINE DETERMINEES PAR (A) ETEST® ET (B) VITEK-2® <i>VERSUS</i> PAR MICRODILUTION EN MILIEU LIQUIDE.	105
ANNEXE 5 : DISTRIBUTION DES CMI A LA TEMOCILLINE PAR MICRODILUTION <i>VERSUS</i> LES DIAMETRES OBTENUS PAR LA METHODE DES DISQUES BD®(A), BIO-RAD®(B), I2A®(C) ET OxoïD®(D).	106

INTRODUCTION

La dissémination hospitalière puis rapidement communautaire des souches d'Entérobactérales résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C₃G) par sécrétion d'une β -lactamase à spectre étendu (BLSE) ou par hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique a conduit à un recours fréquent aux carbapénèmes. En France, la consommation d'imipénème en établissement de santé a ainsi doublé entre 1999 et 2009, et a encore augmenté de 42.6% entre 2009 et 2016 ([RESEAU ATB-RAISIN, 2018](#)).

Mais l'utilisation massive des carbapénèmes est une « fausse bonne solution » selon le rapport du Haut Conseil de la Santé Publique publié en février 2010. En effet, très vite, les Entérobactérales Productrices de Carbapénémases (EPC) se sont répandues à travers le monde. Si en France, moins de 1% des *Klebsiella pneumoniae* responsables d'infections invasives sont résistantes aux carbapénèmes, en Grèce, ce sont plus de 50% qui sont devenues résistantes aux carbapénèmes ([EUROPEAN CENTRE FOR DISEASE PREVENTION AND CONTROL, 2018](#); [HAUT CONSEIL DE LA SANTE PUBLIQUE, 2010](#)).

L'augmentation de la prévalence de ces Bactéries Hautement Résistantes émergentes (BHRe) menace sérieusement notre système de santé actuel. Selon le rapport Carlet, si cette situation perdure, nous pourrions connaître à nouveau un monde sans antibiotique, soit un retour en arrière de 70 ans, avec des effets sur les systèmes de santé pires que si les antibiotiques n'avaient jamais existé ([CARLET AND LE COZ, 2015](#)).

En France, le « plan national d'alerte sur les antibiotiques 2011-2016 » préconise de limiter l'usage des carbapénèmes aux cas strictement nécessaires afin de ne pas sélectionner d'avantage les résistances, et d'utiliser dans la mesure du possible des antibiotiques à spectre plus étroit ([MINISTERE CHARGE DE LA SANTE, 2016](#)).

C'est ainsi que des molécules anciennes, telles que la témocilline, connaissent un regain d'intérêt.

La témocilline est une 6- α -méthoxy-pénicilline stable vis-à-vis de la plupart des β -lactamases (y compris les BLSE) (DUPLOYEZ ET AL., 2019; JULES AND NEU, 1982; KUCH ET AL., 2020; LIVERMORE AND TULKENS, 2008; SLOCOMBE ET AL., 1981).

Développée dans les années 80, mais jugée peu utile à l'époque en raison de son spectre étroit, elle est aujourd'hui présentée comme une alternative aux carbapénèmes pour le traitement des infections à Entérobactérales sensibles.

Cependant, l'utilisation de la témocilline fait débat : une incertitude règne toujours concernant sa posologie optimale, et les concentrations critiques (seuils permettant aux laboratoires de catégoriser les souches en sensibles, intermédiaires ou résistantes) ne sont pas clairement établies, avec plusieurs valeurs avancées selon les différentes sociétés savantes internationales.

En 2019, le comité européen chargé de définir les recommandations pour l'interprétation des tests de sensibilité aux antibiotiques (EUCAST : *European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*) a établi les concentrations critiques (CC) et diamètres critiques (DC) de la témocilline vis-à-vis des Entérobactérales, mais a limité ses recommandations à *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* (sauf *Klebsiella aerogenes*) et *Proteus mirabilis*, par manque de données sur les autres espèces (EUCAST, 2020).

Dans ce contexte, notre objectif a été de déterminer la sensibilité des Entérobactérales du groupe III à la témocilline, et d'évaluer l'impact de la méthode utilisée, ainsi que des concentrations critiques et diamètres critiques utilisés, sur la catégorisation clinique des souches.

Ainsi, après une revue des données de la littérature sur la témocilline et sur les méthodes de détermination de la sensibilité aux antibiotiques, il sera présenté un travail visant à déterminer la sensibilité à la témocilline, par quatre méthodes, de 103 souches d'Entérobactérales du groupe III collectées prospectivement au CHU de Rouen, et d'analyser les résultats obtenus au regard des recommandations françaises et européennes, et des méthodes mises en œuvre.

RAPPELS BIBLIOGRAPHIQUES

1. Témocilline

1.1. Historique

La témocilline a été développée dans les années 1980 par la société Beecham Pharmaceuticals (Worthing, Royaume-Uni).

Elle est commercialisée depuis 1984 en Belgique et au Luxembourg, et depuis 1989 au Royaume-Uni, où elle fut cependant peu utilisée en raison de son spectre étroit, qui était alors perçu comme un inconvénient majeur. C'est de ces pays que les données d'utilisation clinique actuelles proviennent principalement.

En France, la témocilline était considérée comme un médicament orphelin et était disponible jusqu'en 2014 uniquement pour le traitement des infections pulmonaires à *Burkholderia cepacia*, chez les patients atteints de mucoviscidose, via une Autorisation temporaire d'utilisation (ATU) nominative.

A la fin des années 2000, dans le contexte d'émergence d'Entérobactérales productrices de BLSE, la témocilline connaît un regain d'intérêt, comme en témoigne le nombre de publications scientifiques à son sujet (Figure 1).

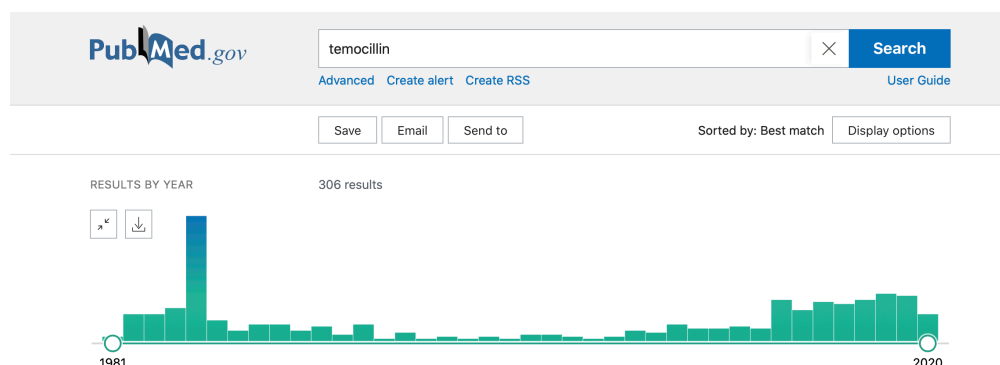


Figure 1 : Évolution du nombre de publications portant sur la témocilline publiées sur Pubmed, moteur de recherche de données bibliographiques

En effet, son spectre très étroit, presque limité aux Entérobactérales, ainsi que sa résistance à l'hydrolyse par de nombreuses β -lactamases sont désormais reconnus comme un avantage écologique et bactériologique .

En 2014, l'Autorisation de Mise sur le Marché (AMM) de la spécialité Negaban® (Eumédica ; Bruxelles, Belgique) est accordée en France sur la base d'une procédure de reconnaissance mutuelle avec comme état membre de référence la Belgique, où elle est recommandée dans le traitement des infections des voies urinaires compliquées (incluant les pyélonéphrites), des infections des voies respiratoires basses, des bactériémies et des infections de plaies. L'intérêt de la témocilline réside dans le fait qu'elle pourrait être utilisée comme alternative aux antibiotiques à large spectre, sa délivrance en France est soumise à une prescription hospitalière obligatoire afin de garantir son utilisation appropriée ([HAUTE AUTORITE DE SANTE, 2015](#)).

1.2. Structure chimique et mécanisme d'action

La témocilline est une molécule semi-synthétique dérivée de la ticarcilline. Seul l'ajout d'un radical méthoxy en position 6- α diffère entre les deux molécules (*Figure 2*).

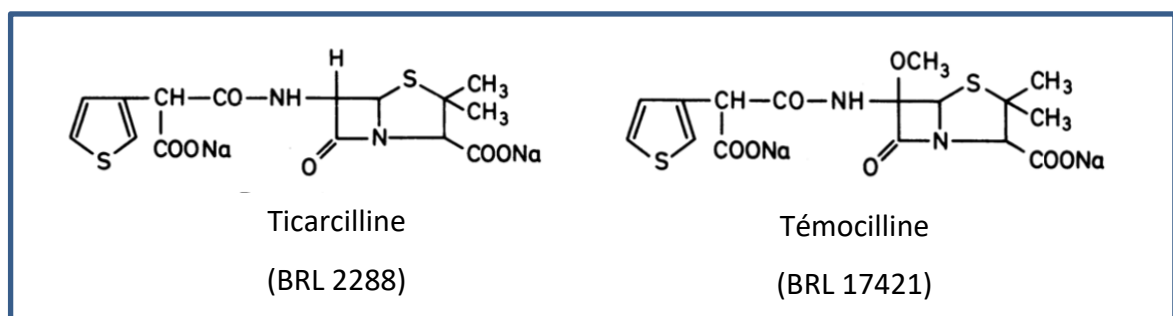


Figure 2 : Structure chimique de la ticarcilline et de la témocilline (Verbist, 1982)

En bloquant l'entrée d'une molécule d'eau dans le site actif des β -lactamases, ce groupement α -méthoxy confère une résistance à l'hydrolyse par les β -lactamases de la classe A (pénicillinases, BLSE et carbapénémases de type KPC ou GES) et de la classe C (céphalosporinase de type AmpC, chromosomique ou plasmidique) de la classification

d'Ambler. Il ne protège pas en revanche de l'hydrolyse par les β -lactamases de la classe B (métallo-enzymes) ou de la classe D (MATAGNE ET AL., 1993).

L'ajout de ce groupement α -méthoxy est cependant responsable de la réduction du spectre. En effet, la présence de ce groupement est responsable de la diminution de l'affinité de la témocilline pour les PLP 1a, 1b, et 3, et supprime complètement celle pour la PLP 2.

En revanche, il augmente l'affinité pour les PLP 4, 5 et 6 (LABIA ET AL., 1984). Ceci explique son activité sur les Entérobactérales et son inefficacité vis-à-vis des bactéries à Gram positif et des bactéries anaérobies (GEORGOPAPADAKOU AND LIU, 1980; MATAGNE ET AL., 1993).

La témocilline est un antibiotique bactéricide appartenant à la famille des β -lactamines. Elle agit donc sur la paroi bactérienne en inhibant la synthèse du peptidoglycane.

Ses cibles sont les protéines de liaison aux pénicillines (PLP) qui sont les enzymes (transpeptidases et carboxypeptidases) impliquées dans l'étape finale de la synthèse du peptidoglycane (SLOCOMBE ET AL., 1981).

A noter que contrairement à d'autres β -lactamines, la témocilline ne paraît pas avoir fréquemment d'effet synergique avec les aminosides vis-à-vis des bactéries à Gram négatif (moins de 15% des souches) (JULES AND NEU, 1982).

1.3. Paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques

1.3.1. Absorption

La témocilline n'étant pas absorbée par voie orale, son administration se fait uniquement par voie intraveineuse (IV) ou intramusculaire (IM), à la dose de 2g, deux à trois fois par jour (ALEXANDRE AND FANTIN, 2018).

Une étude récente a étudié la faisabilité d'une injection sous-cutanée (SC), dans le but de minimiser les soins infirmiers notamment en soins palliatifs et / ou gériatriques. L'administration sous-cutanée de la témocilline est faisable car elle conduit à des concentrations plasmatiques suffisantes. Néanmoins, elle a montré quelques problèmes de

tolérance locale, potentiellement évitables en augmentant la concentration de la lidocaïne utilisée pour l'anesthésie locale (MATZNELLER ET AL., 2020).

1.3.2. Distribution

Le pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques (LPP) de la témocilline est élevé, mais à forte concentration plasmatique, la capacité de liaison des protéines plasmatiques peut être saturée (OVERBOSCH ET AL., 1985). Le pourcentage de LPP diminue donc quand la dose administrée augmente : de l'ordre de 85% après une administration IV de 500mg, contre 63% après une administration IV de 2g de témocilline (HAMPEL ET AL., 1985).

La diffusion tissulaire de la témocilline rapportée dans diverses études permet d'atteindre des concentrations supérieures à une à deux fois la CMI des germes sensibles, et ce de manière prolongée, dans la plupart des tissus (Tableau 1).

Par contre, la témocilline, comme les autres β -lactamines, diffuse peu dans le liquide céphalorachidien, même en cas de méningite (BRÜCKNER ET AL., 1985).

Tableau 1 : Concentrations tissulaires et distribution de la témocilline dans l'organisme

Tissu	Dose (g)	Nombre de patients	Temps entre l'injection et le prélèvement (h)	Concentration moyenne	Ratio concentration Tissu / plasma
Poumon (Cowan et al., 1985)	2g IV	8	0,5	45mg/kg	0,26
Liquide péritonéal (Wise et al., 1983)	1g IV	28	1	58mg/L	0,48
Foie (Gould et al., 1985)	2g IV	1	4	34,3 mg/kg	0,25
Bile (Spelsberg et al., 1985)	1 g IV	16	1	120mg/L	1,1
Prostate (Baert et al., 1989)	2g IV	20	1,5 - 2	38mg/kg (périphérie) 27mg/kg (centre)	0,35 (périphérie) 0,26 (centre)
Peau (Gould et al., 1985)	2g IV	7	4	9,3 mg/kg	0,08
Muscle (Gould et al., 1985)	2g IV	6	4	18mg/kg	0,15
Urines (Slocombe et al., 1981)	500mg IM	10	12	490mg/L	98
LCR (Brückner et al., 1985)	2g IV	8	2	10mg/L	0,08 (hors méningite) 0,15 (contexte de méningite)

1.3.3. Élimination

La témocilline est excrétée principalement par voie urinaire. Durant les 24 heures suivant l'injection, plus de 70 % de la dose est retrouvée sous forme inchangée dans les urines ([HAMPEL ET AL., 1985](#); [SOUBIROU, 2013](#)).

La demi-vie d'élimination chez le patient normo-rénal est de 4 à 6h. Elle est donc bien supérieure à celle de la plupart des β -lactamines, notamment de la ticarcilline dont elle est dérivée, dont la demi-vie est de 70 minutes ([RCP TICARCILLINE](#)).

Cette longue demi-vie, qui permet une administration toutes les 12h, s'explique en partie par le pourcentage élevé de liaison aux protéines plasmatiques.

Par ailleurs, la témocilline est en partie sécrétée activement au niveau des tubules rénaux comme le prouve la diminution de sa clairance rénale après injection de probénécid, un uricosurique qui agit par inhibition de la sécrétion tubulaire rénale. Ce mécanisme semble cependant mineur comparativement à d'autres β -lactamines ([SOUBIROU, 2013](#)).

Les concentrations urinaires atteintes dépendent de la diurèse mais fluctuent entre 300 et 800 mg/L après injection de 500 mg en IM deux fois par jour ([SLOCOMBE ET AL., 1981](#); [SOUBIROU, 2013](#)).

Une adaptation posologique est nécessaire en cas d'insuffisance rénale. Étant donné que l'effet antibactérien de la témocilline est temps-dépendant et que les concentrations sériques de témocilline au cours des 4 premières heures ne sont pas affectées par une insuffisance rénale, il est préférable d'ajuster les intervalles entre les injections plutôt que la dose administrée. Le Tableau 2 propose un schéma d'adaptation posologique en fonction du degré d'insuffisance rénale ([ALEXANDRE AND FANTIN, 2018](#)).

Tableau 2 : Ajustements posologiques chez les patients insuffisants rénaux (d'après Alexandre AND FANTIN, 2018)

CL_{CR} = Clairance de la créatinine

CL _{CR} (mL/min)	Daily dose		
	2 g ^a	4 g ^a	6 g ^b
>50	1 g q12 h	2 g q12 h	2 g q8 h
31–50	1 g q12 h	2 g q24 h	1 g q8 h
10–30	1 g q24 h	2 g q24 h	1.5 g q24 h
<10	1 g q48 h	2 g q48 h	750 mg q24 h
Haemodialysis ^c	NA	2 g q48 h ^c	2 g q48 h ^c

1.3.4. Pharmacodynamie

La témocilline exerce un effet bactéricide (en moins de 8h) sur les Entérobactérales pour des inocula standards. Les concentrations minimales bactéricides (CMB) sont en effet très proches des CMI observées (ratio CMB/CMI entre 1 et 2). Comme pour l'ensemble des β- lactamines, l'effet bactéricide est concentration indépendant au-delà de quatre fois la CMI (MALOTTKE AND POTEL, 1985; SOUBIROU, 2013).

Cependant, il a été observé que la bactéricidie est plus lente vis-à-vis des Entérobactérales de groupe III, productrices de β-lactamases chromosomique de type AmpC (BAUERNFEIND, 1985).

L'effet inoculum est modeste sur les propriétés antibactériennes de la témocilline (BOLIVAR ET AL., 1982). Les CMI n'augmentent que d'une ou deux dilutions tout au plus quand un inoculum d'*E. coli* ou *K. pneumoniae* passe de 10³ à 10⁷ UFC/mL.

Cependant, l'effet inoculum est plus marqué pour les Entérobactérales du groupe III, avec une augmentation de 8 fois la CMI entre 10⁵ et 10⁷ UFC/mL (JULES AND NEU, 1982).

Un effet inoculum a également été observé avec des souches d'*E. coli* productrices de β-lactamase de type CTX-M-15, avec une augmentation de quatre fois la CMI quand l'inoculum passe de de 10³ à 10⁷ UFC/ml.

Cependant, les conditions de cet effet inoculum observé *in vitro* sont rarement atteintes en pratique clinique en dehors des collections suppurées et abcédées. Par ailleurs, la témocilline

étant éliminée sous forme active dans les urines, elle reste active *in vivo* dans le traitement des infections urinaires (SOUBIROU ET AL., 2015).

En présence de sérum ou d'albumine humaine, les CMI sont augmentées d'un facteur 2 à 4 du fait d'une diminution de la fraction libre active de la témocilline. Ces constatations sont comparables à ce qui a pu être observé avec d'autres molécules fortement liées aux protéines plasmatiques comme la ceftriaxone, l'ertapénème ou la moxifloxacine et doivent inciter à interpréter les paramètres pharmacocinétiques et pharmacodynamiques (PK/PD) à partir des concentrations de forme libre d'antibiotique.

Enfin, les variations de conditions acido-basiques du milieu n'entraînent aucune modification des propriétés antibactériennes de la témocilline.

Deux études effectuées sur des modèles murins suggèrent que le meilleur paramètre PK/PD corrélé à l'efficacité de la témocilline serait le pourcentage de temps cumulé pendant lequel la concentration de médicament libre dépasse la CMI sur une période de 24 h (% fT > CMI). Une fT > CMI de 40 à 50% serait associée à une efficacité *in vivo* (ALEXANDRE AND FANTIN, 2018; SOUBIROU ET AL., 2015).

D'après les simulations de Monte Carlo, un schéma posologique de 2 g de témocilline toutes les 12 h paraît le plus approprié pour traiter une infection causée par des souches d'Entérobactérales ayant une CMI jusqu'à 16 mg/L. Dans les populations particulières présentant des paramètres PK et PD modifiés, tels que les patients hospitalisés en unités de soins intensifs, le schéma de 2 g toutes les 8 h semble être plus adapté pour des souches de même CMI (ALEXANDRE AND FANTIN, 2018).

1.4. Spectre d'activité

La témocilline possède une très bonne activité vis-à-vis des bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*, et vis-à-vis d'autres bactéries à Gram négatif telles que *Haemophilus influenzae*, et *Neisseria gonorrhoeae* (Tableau 3) (SLOCOMBE ET AL., 1981; VERBIST, 1982).

Elle n'a aucune activité vis-à-vis des bacilles à Gram négatif non fermentants tels que *Acinetobacter spp*, mais les espèces *Comamonas acidovorans* et *Burkholderia cepacia* sont sensibles (RODRIGUEZ-VILLALOBOS ET AL., 2006).

Elle a longtemps été considérée comme inactive vis-à-vis de *Pseudomonas aeruginosa* (JULES AND NEU, 1982; SLOCOMBE ET AL., 1981) du fait de mécanismes d'efflux (cf. ci-après) ou de faible pénétration intracellulaire, mais Chaloub et al. ont récemment montré que 15 à 30% des souches de *P. aeruginosa* isolées chez des patients atteints de mucoviscidose avaient une CMI à la témocilline basse, inférieure ou égale à 16mg/L (CHALHOUB ET AL., 2017).

La témocilline est naturellement inactive sur les bactéries à Gram positif, par défaut de fixation sur sa cible (absence totale d'affinité pour les PLP) (Tableau 3) (BOLIVAR ET AL., 1982; LIVERMORE AND TULKENS, 2008; SLOCOMBE ET AL., 1981).

Tableau 3 : Activité *in vitro* de la témocilline vis à vis de bactéries sans mécanisme acquis de résistance selon les données de la littérature (d'après Alexandre and Fantin, 2018)

Espèce bactérienne	N. d'isolats	CMI (mg/L)		
		Extrêmes	CMI ₅₀	CMI ₉₀
Enterobacteriaceae				
<i>Citrobacter freundii</i>	172	2 - 64	4	16
<i>Enterobacter cloacae</i>	445	1 - 128	4	8
<i>Escherichia coli</i>	932	0,5 - 32	4	8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	547	0,5 - 32	4	8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	119	0,5 - 16	2	4
<i>Morganella morganii</i>	119	1 - 8	4	8
<i>Proteus mirabilis</i>	353	0,5 - 32	2	4
<i>Proteus vulgaris</i>	113	0,5 - 4	2	4
<i>Providencia stuartii</i>	86	1 - 256	2	4
<i>Salmonella spp.</i>	212	1 - 16	4	8
<i>Serratia marcescens</i>	303	2 - 256	16	32
<i>Shigella spp.</i>	27	2 - 32	8	16
Autres bacilles Gram négatif				
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	104	64 - ≥256	≥256	≥256
<i>Acinetobacter spp.</i>	51	2 - ≥256	≥256	≥256
<i>Burkholderia cepacia</i>	106	2 - ≥256	8	32
<i>Haemophilus influenzae</i>	218	0,1 - 2	1	2
Cocci Gram positif				
<i>Staphylococcus spp.</i>	110	≥256	≥256	≥256
<i>Streptococcus spp.</i>	21	64 - ≥256	≥256	≥256
<i>Enterococcus spp.</i>	50	≥256	≥256	≥256
Cocci Gram négatif				
<i>Neisseria gonorrhoeae</i>	484	0,05 - 2	0.5	1
<i>Neisseria meningitidis</i>	32	0,05 - 0,25	0.125	0,125
Anaérobie				
<i>Bacteroides spp.</i>	118	8 - ≥256	32	≥256
<i>Clostridium spp.</i>	9	≥256	≥256	≥256

CMI : concentration minimale inhibitrice ; CMI₅₀ : concentration nécessaire pour inhiber la croissance de 50 % des isolats ; CMI₉₀ : concentration nécessaire pour inhiber la croissance de 90 % des isolats

La témocilline étant une molécule à spectre étroit inactive sur les bactéries anaérobies, son potentiel à modifier la flore intestinale normale et à sélectionner des bactéries multirésistantes (BMR) ou *Clostridium difficile* est faible.

Le risque d'infection à *C.difficile* (ICD) après un traitement par témocilline a été étudié dans deux modèles expérimentaux. Aucune modification de flore ni de colite associée à *C. difficile* n'a été observée chez les animaux traités par témocilline, contrairement aux animaux ayant reçu de la clindamycine ou de la céfoxitine (BOON AND BEALE, 1985; DE VRIES-HOSPERS ET AL., 1985).

Dans une étude maintenant ancienne (MITTERMAYER, 1985), six volontaires sains (n'ayant pas reçu d'antibiothérapie depuis 3 mois) ont reçu 1g de témocilline 2 fois par jour, pendant 7

jours. Des échantillons de selles recueillis avant, pendant, et jusqu'à 14 jours après la fin du traitement ont été ensemencés sur des milieux adaptés pour dénombrer les germes aérobies et anaérobies. La témocilline n'a pas eu d'influence significative sur le nombre total de bactéries anaérobies strictes ni sur le nombre total de bactéries aérobies dans la flore intestinale de ces volontaires. Une augmentation des entérocoques pendant le traitement a été observée mais n'a pas été statistiquement significative, probablement en raison du petit nombre de patients inclus dans l'étude. Une diminution importante de la quantité d'Entérobactérales a été observée au cours du traitement, mais un retour au niveau initial a été observé après 9 à 14 jours après l'arrêt du traitement, et aucune BMR n'a été sélectionnée par ce traitement .

Habayeb et al. ont conclu également à un risque d'ICD plus faible après un traitement par la témocilline (0%), par rapport à un traitement par l'association pipéracilline-tazobactam (7%) (HABAYEB ET AL., 2015).

Enfin, dans une étude anglaise multicentrique, 2 cas de diarrhée associée à *C. difficile* parmi les 92 patients traités par témocilline ont été signalés. Ces cas n'étaient pour autant pas attribuables à la témocilline, un patient ayant été traité précédemment par de l'amoxicilline/acide clavulanique (trois doses), et l'autre patient ayant reçu une cure de 8 jours de méropénème immédiatement avant (BALAKRISHNAN ET AL., 2011).

1.5. Mécanismes de résistance

La résistance naturelle des bactéries à la témocilline peut être liée à un défaut de pénétration de l'antibiotique, une affinité réduite de la témocilline pour les PLP et/ou un mécanisme d'efflux actif via une expression constitutive de la pompe MexAB-OprM. Ces mécanismes ont été évoqués pour expliquer la résistance intrinsèque de *P. aeruginosa* à la témocilline (BUYCK ET AL., 2012; LABIA ET AL., 1984; LIVERMORE AND TULKENS, 2008). Deux études récentes apportent des éléments nouveaux. Sacco et al ont en effet montré que le groupement α -méthoxy de la témocilline en position 6 déstabilise le site actif de la PLP3, et conduit à l'hydrolyse de la témocilline par la PLP (SACCO ET AL., 2019).

Par ailleurs, des mutations dans le gène *mexA* (codant la protéine de jonction périplasmique MexA) ou dans le gène *mexB* (codant la protéine d'efflux MexB située dans la membrane cytoplasmique) ont été mises en évidence chez 15 à 30% des souches de *P. aeruginosa* isolées chez des patients atteints de mucoviscidose. Ces souches présentaient des CMI de l'ordre de 2 à 4 mg/L, laissant supposer qu'une « sensibilité acquise » du *P. aeruginosa* à la témocilline est possible (CHALHOUB ET AL., 2017).

La proportion de mutants spontanés résistants à la témocilline est faible : elle est estimée entre 10^{-8} et 10^{-10} . (ADAMS-HADUCH ET AL., 2009; SOUBIROU ET AL., 2015).

Dans les travaux de Slocombe et al., 7 repiquages successifs d'une souche d'*Enterobacter aerogenes* ont été nécessaires pour passer d'une CMI de 4 à 40mg/L (SLOCOMBE ET AL., 1981).

De la même façon, la sélection de mutants résistants survient rarement sous traitement *in vivo* chez l'animal (SOUBIROU ET AL., 2015) ou chez l'homme (GUPTA ET AL., 2009).

Par ailleurs, la témocilline est un faible inducteur de l'expression de céphalosporinase AmpC par les Entérobactérales du groupe III, contrairement aux céphalosporines ou à l'imipénème (STAPLETON ET AL., 1995).

Comme pour les autres β -lactamines, la résistance acquise à la témocilline peut être médiée par différents mécanismes : l'inactivation enzymatique, l'imperméabilité ou l'hyperproduction de pompes d'efflux (LIVERMORE AND TULKENS, 2008).

1.5.1. Inactivation par les β -lactamases

Si l'ajout du groupement α -méthoxy la protège de l'hydrolyse par les β -lactamases de la classe A (pénicillinases, BLSE, KPC) et de la classe C (céphalosporinases AmpC), la témocilline reste sensible à l'hydrolyse par les β -lactamases de la classe B (métallo-enzymes telles VIM, NDM et IMP) et certaines de la classe D (notamment l'oxacillinase OXA-48).

1.5.1.1. Hydrolyse par les Carbapénémases

Globalement, la témocilline est hydrolysée par la plupart des carbapénémases, mais elle conserve une activité potentielle contre les Entérobactérales productrices de carbapénémases de classe A KPC (ADAMS-HADUCH ET AL., 2009; LIVERMORE ET AL., 2011).

Dans l'étude de Woodford et al. portant sur 2280 Entérobactérales multirésistantes, la témocilline était active *in vitro* sur la moitié (50,8%) des souches productrices de carbapénémases de classe A de type KPC quand la CC de 8 mg/L était utilisée, et sur 93,4% de ces souches avec une CC de 32 mg/L. En revanche, elle n'était active sur aucune des souches productrices de carbapénémases de classe B (VIM, IMP, NDM) ou de classe D (OXA-48 et OXA-48 likes). (Tableau 4) (WOODFORD ET AL., 2014).

Mais une étude récente rapporte des chiffres de sensibilité bien inférieurs puisque seules 42,5% des 40 souches productrices de KPC d'une étude polonaise (KUCH ET AL., 2020) étaient sensibles à la témocilline à la CC de 32mg/L, et aucune n'était sensible à la CC de 8 mg/L. De la même façon, Tsakris et al n'ont trouvé que 8,6% de souches grecques productrices de KPC sensibles, à la CC de 8mg/L (TSAKRIS ET AL., 2020).

A côté de l'impact éventuel de méthodologies différentes (E-TEST® versus microdilution), et d'une collection de souches clonales, ces variations peuvent être liées aux mécanismes additionnels de résistance portés par ces souches (TSAKRIS ET AL., 2020). Ces études suggèrent un intérêt limité de la témocilline pour le traitement d'infections systémiques pour lesquelles la CC de 32mg/L s'applique selon la *British Society for Antimicrobial Chemotherapy* (BSAC) (Andrews et al., 2007).

Tableau 4 : Activité in vitro de la témocilline évaluée vis-à-vis de 2280 Entérobactérales (*E. coli*, *Klebsiella* spp., et *Enterobacter* spp.) multirésistantes (d'après Woodford et al)

Table 1. In vitro activity of temocillin versus 2280 multiresistant *E. coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp

Major β -lactamase ^a	Number (%) of isolates with MIC (mg/L)							
	≤ 1	2	4	8 ^b	16	32 ^c	64	≥ 128
All isolates								
KPC (n=669)	6 (1)	14 (2)	91 (14)	229 (34)	200 (30)	88 (13)	32 (5)	9 (1)
OXA-48 (n=108)	—	—	—	—	—	4 (4)	6 (5)	98 (91)
VIM (n=138)	—	—	—	—	1 (1)	3 (2)	3 (2)	131 (95)
IMP (n=1)	—	—	—	—	1 (100)	—	—	—
NDM (n=113)	—	—	—	—	5 (4)	18 (16)	36 (32)	54 (48)
other (n=1251)	33 (3)	60 (5)	184 (15)	303 (24)	279 (22)	239 (19)	90 (7)	63 (5)
total (n=2280)	39 (2)	74 (3)	275 (12)	532 (23)	486 (22)	352 (15)	167 (7)	355 (16)
<i>E. coli</i>								
KPC (n=131)	—	1 (1)	14 (11)	41 (31)	68 (52)	5 (4)	2 (1)	—
OXA-48 (n=33)	—	—	—	—	—	2 (6)	2 (6)	29 (88)
VIM (n=3)	—	—	—	—	—	—	—	3 (100)
IMP (n=1)	—	—	—	—	1 (100)	—	—	—
NDM (n=38)	—	—	—	—	2 (5)	4 (10)	11 (30)	21 (55)
other (n=495)	10 (2)	13 (3)	93 (19)	149 (30)	79 (16)	84 (17)	37 (7)	30 (6)
total (n=701)	10 (1)	14 (2)	107 (15)	190 (27)	150 (21)	95 (14)	52 (7)	83 (12)
<i>Klebsiella</i> spp.								
KPC (n=500)	6 (1)	13 (3)	72 (14)	182 (37)	119 (24)	72 (14)	29 (6)	7 (1)
OXA-48 (n=67)	—	—	—	—	—	2 (3)	2 (3)	63 (94)
VIM (n=130)	—	—	—	—	1 (1)	3 (2)	2 (2)	124 (95)
NDM (n=63)	—	—	—	—	2 (3)	11 (17)	21 (33)	29 (47)
other (n=373)	16 (4)	19 (5)	42 (11)	65 (18)	91 (24)	84 (23)	34 (9)	22 (6)
total (n=1133)	22 (2)	32 (3)	114 (10)	247 (22)	213 (18)	172 (15)	88 (8)	245 (22)
<i>Enterobacter</i> spp.								
KPC (n=38)	—	—	5 (13)	6 (16)	13 (34)	11 (29)	1 (3)	2 (5)
OXA-48 (n=8)	—	—	—	—	—	—	2 (25)	6 (75)
VIM (n=5)	—	—	—	—	—	—	1 (20)	4 (80)
NDM (n=12)	—	—	—	—	1 (8)	3 (25)	4 (33)	4 (33)
other (n=383)	7 (2)	28 (7)	49 (13)	89 (23)	109 (28)	71 (19)	19 (5)	11 (3)
total (n=446)	7 (2)	28 (6)	54 (12)	95 (21)	123 (28)	85 (19)	27 (6)	27 (6)

^aMany isolates also produced other undefined β -lactamases, including CTX-M or other ESBLs, and intrinsic or acquired AmpC enzymes.

^bBSAC systemic breakpoint.

^cBSAC urinary breakpoint.

Light grey, isolates resistant at systemic breakpoint; dark grey, isolates also resistant at urinary breakpoint.

Livermore et al. ont montré chez *E. coli* que l'acquisition d'un plasmide comportant un gène codant pour une carbapénémase de type KPC n'augmentait la CMI de la témocilline que d'une dilution (passant de 8 à 16mg/L) alors celle d'un plasmide codant une enzyme de type NDM ou OXA-48 conduisait à une augmentation beaucoup plus significative de la CMI (CMI passant de 8 à 64 et >128mg/L, respectivement). Dans cette même étude, 95% (18/19) des souches d'Entérobactérales productrices d'OXA-48 et 97% (32/35) des souches avec une métallocarbapénémase (IMP, NDM ou VIM) étaient résistantes à la témocilline au seuil de 32mg/L (LIVERMORE ET AL., 2011).

Les souches productrices d'OXA-48 (carbapénémase la plus fréquemment isolée en France) montrent toujours un très haut niveau de résistance à la témocilline. Cette résistance à haut

niveau est par ailleurs utilisée comme marqueur phénotypique de la présence d'une OXA-48 dans les algorithmes de détection des carbapénémases (WOODFORD ET AL., 2014)

1.5.1.2. Hydrolyse par les BLSE

La témocilline est décrite comme résistante à l'hydrolyse par les BLSE (JULES AND NEU, 1982; SLOCOMBE ET AL., 1981).

Une étude belge menée sur 162 souches d'*E. coli* productrices de BLSE isolées chez des patients hospitalisés a étudié l'impact du type de BLSE produit (CTX-M, TEM, SHV) sur la sensibilité à la témocilline. La distribution des CMI de la témocilline, déterminée par dilution en milieu gélosé, n'a pas été influencée par le type BLSE produite, même pour les isolats produisant une combinaison de différentes BLSE. Cependant, 12 souches étaient résistantes à la témocilline (CMI > 32 mg / L), suggérant l'existence d'un autre mécanisme de résistance (RODRIGUEZ-VILLALOBOS ET AL., 2006).

La sensibilité de souches d'*E. coli* productrices de BLSE varie dans la littérature entre 61% (FOURNIER ET AL., 2013) et 83% à la concentration critique de 8mg/L (TÄRNBERG ET AL., 2011). Cette différence de sensibilité peut potentiellement s'expliquer par le choix de la méthode de détermination de la sensibilité utilisée (ici respectivement BMD et ETEST®)

Au seuil de 32mg/L, plus de 98% des *E. coli* producteurs de BLSE sont sensibles (FOURNIER ET AL., 2013) (DUPLOYEZ ET AL., 2019) (TÄRNBERG ET AL., 2011)(ALEXANDRE ET AL., 2018).

1.5.2. Imperméabilité et efflux

En dehors de l'hydrolyse par certaines β -lactamases, les mécanismes de résistance à la témocilline ne sont pas totalement élucidés. Des mécanismes d'imperméabilité par modification des porines ou par un mécanisme d'efflux actif sont évoqués.

Le rôle des pompes d'efflux dans la résistance à la témocilline a notamment été mis en évidence *in vitro* chez *K. pneumoniae* par la construction de variants isogéniques de pompes d'efflux, de leurs gènes régulateurs, et de porines. L'étude de Nicolas-Chanoine et al a ainsi

montré que des mutations dans le gène *ramR* (gène codant le répresseur de l'expression du gène *acrAB*) a conduit à une résistance à la témocilline (CMI= 16mg/L), liée à une surproduction de la pompe d'efflux AcrAB (NICOLAS-CHANOINE ET AL., 2018).

Gravey et al ont également mis en évidence *in vivo* ce mécanisme chez une souche d'*Enterobacter hormaechei* (*cloacae complex*) devenue multirésistante chez un patient hospitalisé en unité de soins intensifs et traité par de multiples antibiotiques. Les souches collectées après traitement n'avaient pas acquis de plasmide, mais présentaient une délétion dans le gène *ramR*. Cette délétion conduisait à une augmentation de l'expression de RamA, AcrA, AcrB, TolC42, et une diminution de l'expression de OmpF, induisant entre autres une résistance à la témocilline (CMI passant de 4 à 16mg/L) par augmentation de l'efflux via la pompe AcrAB-TolC (GRAVEY ET AL., 2020).

1.6. Tolérance

L'expérience clinique liée à l'utilisation de la témocilline n'a pas mis en évidence de préoccupations majeures de sécurité d'emploi (HAS COMMISSION DE LA TRANSPARENCE). Appartenant à la famille des β -lactamines, elle est uniquement contre-indiquée en cas d'hypersensibilité aux molécules de cette classe.

Les effets indésirables possibles suite à l'injection de témocilline sont :

- Un risque de réaction allergique (urticaire, purpura, fièvre, parfois oedème de Quincke, beaucoup plus rarement choc anaphylactique)
- des affections vasculaires (phlébite, thrombophlébite) après administration IV
- des troubles neurologiques avec convulsions, notamment après injection IV de doses élevées chez les patients souffrant d'insuffisance rénale
- troubles généraux et anomalies au site d'administration (RCP TEMOCILLINE)

Il existe par ailleurs des incompatibilités de la témocilline avec d'autres médicaments, en cas de co-administration par la même voie veineuse. Les principales incompatibilités concernent notamment les carbapénèmes, la pipéracilline-tazobactam et l'amoxicilline-acide

clavulanique, le céfépime (incompatibilités chimiques), ainsi que la vancomycine, la ciprofloxacine, la clindamycine, le propofol et le midalozam (incompatibilités physiques) (DE JONGH ET AL., 2008).

1.7. Indications et recommandations actuelles

1.7.1. Utilisation de la témocilline en France

La témocilline est actuellement recommandée en France chez les adultes et les enfants pour le traitement des infections des voies urinaires compliquées, incluant les pyélonéphrites aiguës (PNA), des voies respiratoires basses, des bactériémies et des infections de plaies (COMMISSION DE LA TRANSPARENCE AVIS DU 1ER AVRIL 2015).

La Haute Autorité de Santé (HAS) recommande d'utiliser la témocilline en alternative aux carbapénèmes pour le traitement des infections urinaires à Entérobactérales résistantes aux C₃G aux posologies suivantes :

- entre 4 g/j et 6 g/j chez le patient sans signes de gravité ;
- 6 g/j et en perfusion continue après une dose de charge de 2 g chez le patient avec signes de gravité.

Cependant, étant donné le manque de données cliniques suffisantes, il n'est actuellement pas recommandé d'utiliser la témocilline dans les infections d'origine non urinaire sans avis spécialisé. (Tableau 5)

Il n'est de même pas recommandé d'utiliser la témocilline en traitement probabiliste.

Tableau 5 : Place de la témocilline dans le traitement des infections à Entérobactérale selon les recommandations de la HAS (2019)

L'encadré bleu souligne les indications de la témocilline dans le traitement des infections urinaires et des pneumonies

Infections urinaires

		PNA ou IU masculine documentée, avec une évolution favorable	
		Infection à EBLSE	Infection à entérobactérie résistante aux C3G par hyperproduction de céphalosporinase et sans production de BLSE
Ordre de préférence des antibiotiques	1 ^{er}	Cotrimoxazole	Cotrimoxazole
	2 ^e	Ciprofloxacine, lévofloxacine, ofloxacine, par voie orale (ordre alphabétique)	Ciprofloxacine, lévofloxacine, ofloxacine par voie orale (ordre alphabétique)
	3 ^e	Céfoxitine (pour <i>E. coli</i>) ou témocilline	Céfépime ou témocilline
	4 ^e	Amoxicilline-acide clavulanique (pour PNA simple à <i>E. coli</i>) ou pipéracilline-tazobactam	Amikacine ou gentamicine ou tobramycine (ordre alphabétique), uniquement pour les PNA simples, pour une durée de 5 jours, à éviter en cas d'insuffisance rénale (ordre de préférence)
	5 ^e	Amikacine ou gentamicine ou tobramycine (ordre alphabétique), uniquement pour les PNA simples, pour une durée de 5 jours, à éviter en cas d'insuffisance rénale	Un carbapénème (imipénème ou méropénème ou ertapénème)
	6 ^e	Un carbapénème (imipénème ou méropénème ou ertapénème)	-

Pneumonies

Dans les pneumonies documentées à entérobactérie résistante aux C3G, il est recommandé une monothérapie (AE).

Pneumonie documentée		
Infection à EBLSE		Infection à entérobactérie résistante aux C3G par hyperproduction de céphalosporinase sans production de BLSE
En cas de traitement probabiliste par un carbapénème	En cas de traitement probabiliste par pipéracilline-tazobactam	
Relais possible par pipéracilline-tazobactam si évolution clinique favorable et souche sensible à la pipéracilline-tazobactam (CMI ≤ 4 mg/L)	Poursuite possible du traitement par pipéracilline-tazobactam si évolution clinique favorable et souche sensible à la pipéracilline-tazobactam (CMI ≤ 4 mg/L)	Utiliser de préférence le céfépime à un carbapénème
Relais possible par une fluoroquinolone (ciprofloxacine, lévofloxacine, ofloxacine – par ordre alphabétique) si évolution clinique favorable et souche sensible à toutes les quinolones		
Utilisation possible de la témocilline et du cotrimoxazole sous réserve d'un avis spécialisé en antibiothérapie		

Le Tableau 6 précise les modalités de prescription de la témocilline en alternative aux carbapénèmes (HAUTE AUTORITE DE SANTE, 2019).

Tableau 6 : Indications et posologies des β -lactamines en alternatives aux carbapénèmes, selon les recommandations de la HAS (2019).

Béta-lactamine	Situation clinique	Posologie
Céfépime	Infections à entérobactérie résistante aux C3G par hyperproduction de céphalosporinase sans production de BLSE, quel que soit le site de l'infection	Forte posologie (4 à 6 g/j chez le patient sans insuffisance rénale) sous surveillance neurologique
Pipéracilline-tazobactam	Infections à EBLSE sans signes de gravité, avec ou sans bactériémie Pour une infection d'origine non urinaire, une CMI est nécessaire et doit être ≤ 4 mg/L	Perfusion prolongée ou continue sur 24 heures après une première dose de 4 g sur 30 minutes, avec une posologie élevée (au moins 16 g/j chez le patient ayant une fonction rénale normale en cas de poids > 60 kg)
Témocilline	Infections urinaires à entérobactérie résistante aux C3G Utilisation dans les autres infections à envisager après avis spécialisé	Entre 4 g/j et 6 g/j chez le patient sans signes de gravité 6 g/j et en perfusion continue après une dose de charge de 2 g chez le patient avec signes de gravité
Céfoxitine	Infections urinaires à <i>E. coli</i> BLSE sans signes de gravité	Posologie élevée (100 mg/kg/j sans dépasser 8 g/j), en perfusion prolongée ou continue après une dose de charge initiale de 2 g
Amoxicilline-acide clavulanique	Pyélonéphrites aiguës simples, sans signes de gravité, à <i>E. coli</i> BLSE <i>Attention : ne pas utiliser les concentrations critiques établies pour les cystites</i>	Traitement initial en perfusion à la posologie de 2 g d'amoxicilline et 200 mg d'acide clavulanique 3 fois par jour En relais d'une antibiothérapie parentérale efficace : par voie orale, à la posologie de 1 g d'amoxicilline et 200 mg d'acide clavulanique 3 fois par jour

1.7.2. Utilisation de la témocilline en Belgique

En Belgique, la témocilline est recommandée en première ligne dans le traitement des PNA compliquées des patients ne présentant pas de sepsis sévère ni de facteur de risque d'infection à pathogène résistant, à la dose de 2 g IV toutes les 12h pendant 14 jours.

Pour les patients présentant des facteurs de risque d'infection à pathogène résistant (patients de plus de 45 ans, ayant des antécédents urologiques, récemment hospitalisés, ou ayant été exposés à des antibiotiques durant les mois précédant), il est recommandé d'y associer de l'amikacine.

La témocilline est également indiquée en association avec de l'amikacine (témocilline 2 g IV toutes les 12h, amikacine IV en dose unique de 15 à 20 mg/kg) dans le traitement des infections des voies urinaires des patients avec cathétérisme vésical, ou en association avec de la ciprofloxacine (400mg IV toutes les 8 à 12h) ou du triméthoprime-sulfaméthoxazole (TMP 160mg ; SXT 800mg en IV toutes les 12h) dans le traitement des infections urinaires des patients avec reins polykystiques. (Figure 3) (THE BELGIAN ANTIBIOTIC POLICY COORDINATION COMMITTEE (BAPCOC), 2017).

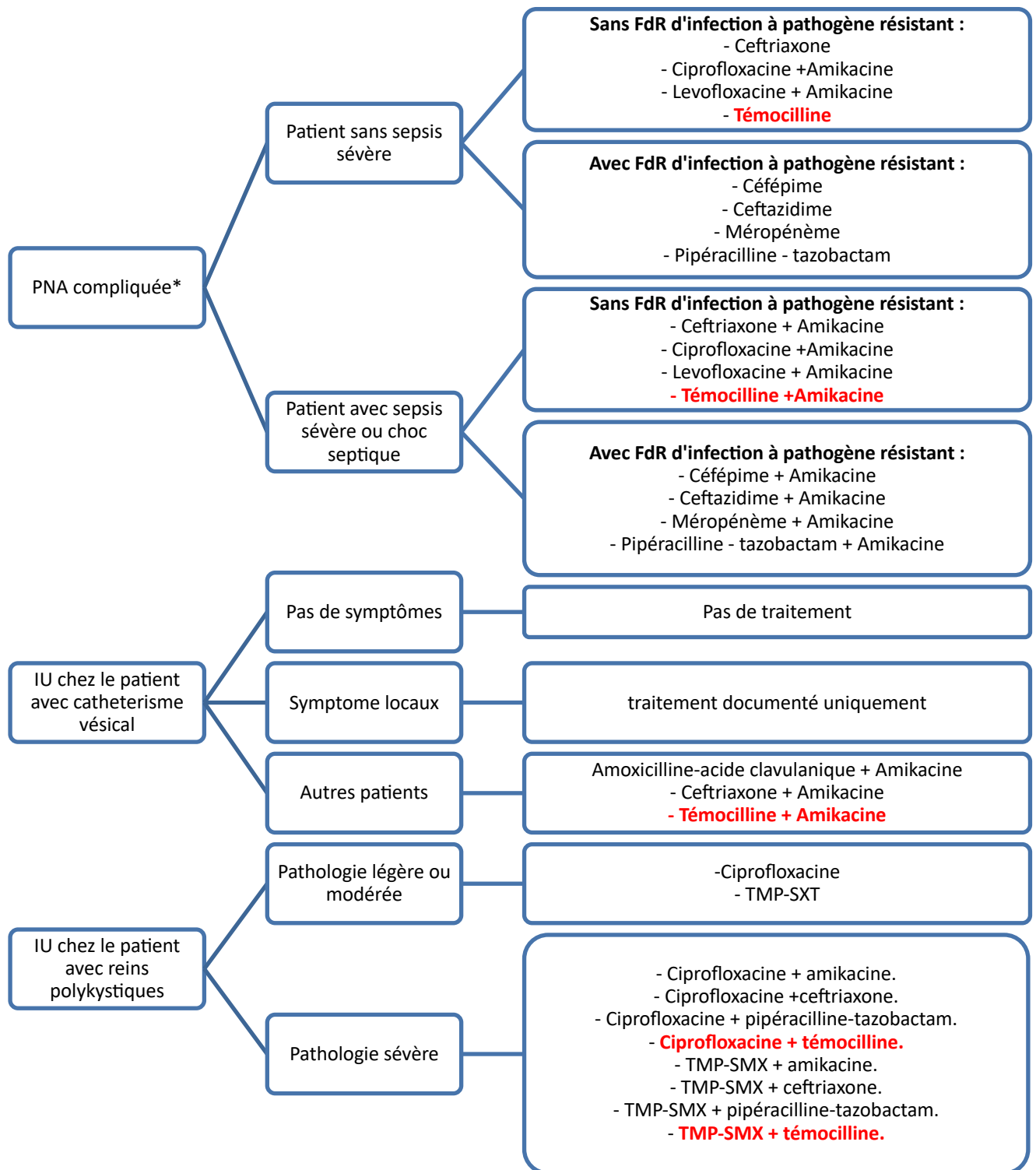


Figure 3 : Recommandations d'utilisation de la témocilline en traitement empirique en Belgique, d'après <https://organesdeconcertation.sante.belgique.be>

* La pyélonéphrite compliquée concerne les patients :

- de sexe masculin
- avec une anomalie anatomique, structurelle ou fonctionnelle des voies urinaires
- avec une pathologies sous-jacente majeure (diabète, insuffisance rénale ou hépatique, immunosuppression, cancer, infection au VIH, hypothermie, ...).
- hémodynamiquement instables.
- ne pouvant être traités par voie orale ou en ambulatoire.
- Les patientes enceintes.

2. Méthodes d'étude de la sensibilité aux antibiotiques et détermination des concentrations critiques

Deux types de méthodes existent pour déterminer la sensibilité des bactéries aux antibiotiques : les méthodes en milieu solide, ou les méthodes en milieu liquide. Certaines de ces méthodes peuvent désormais être automatisées.

2.1. Détermination de la sensibilité en milieu solide

2.1.1. Méthode par diffusion en milieu gélosé : antibiogramme par la méthode des disques

La technique d'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé, ou méthode des disques, est l'une des plus anciennes approches de détermination de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques et demeure l'une des méthodes les plus utilisées en routine ([SOCIETE FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE, 2019](#)).

Cette méthode consiste à ensemencer une gélose Mueller-Hinton (MH) à partir d'un inoculum standardisé d'une souche bactérienne donnée, puis à y déposer des disques imprégnés d'une concentration définie d'antibiotique. La diffusion de l'antibiotique dans le milieu conduit à un gradient de concentration décroissant autour du disque. Après 18h d'incubation à 35°C, on mesure le diamètre de la zone d'inhibition de la culture autour du disque. (*Figure 4*)

Pour chaque antibiotique testé, le diamètre d'inhibition est comparé aux diamètres critiques (DC) établis par le comité d'expert, le CA-SFM (Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie). Si le diamètre est supérieur ou égal au diamètre correspondant à la concentration critique basse, la souche est sensible (S) vis-à-vis de l'antibiotique testé, tandis que si le diamètre est inférieur au diamètre correspondant à la concentration critique haute, la souche est catégorisée résistante (R). Entre ces deux valeurs, la souche est dite intermédiaire (I).

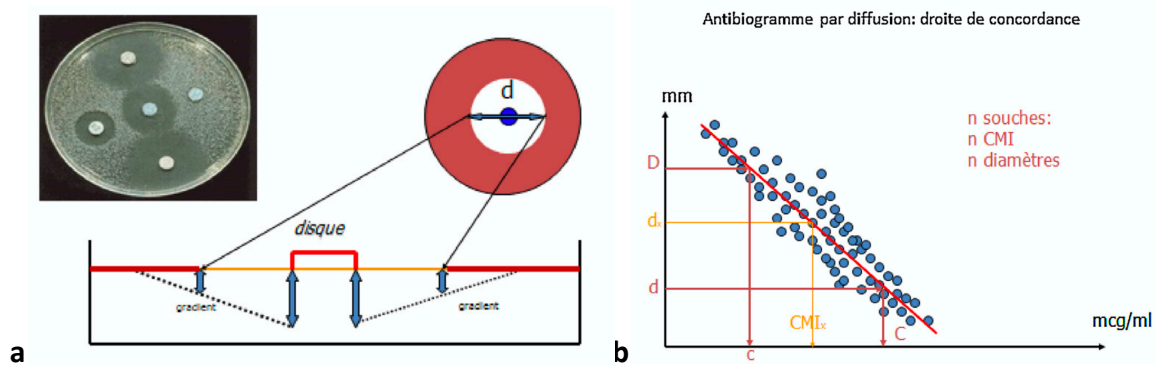


Figure 4 : Principe de l'antibiogramme par diffusion en milieu gélosé (issue de Jehl et al., 2015)

a. gradient de diffusion de l'antibiotique dans le milieu gélosé

b. Droite de concordance entre les diamètres critiques (DC) et les concentrations critiques (CC)

c : CC basse C : CC haute

La méthode des disques est une technique simple et peu coûteuse, qui nécessite peu de matériel et qui permet de tester simultanément plusieurs antibiotiques.

Cette méthode peut être automatisée pour les phases d'inoculation (automate Prelud[®], i2A) ou de lecture (Sirscan[®], i2A ; Adagio[®], Bio-Rad).

2.1.2. Détermination de la CMI en milieu gélosé : bandelette ETEST[®]

Cette technique permet de déterminer la concentration minimale inhibitrice (CMI) grâce à l'utilisation de bandelettes imprégnées d'un gradient continu de l'antibiotique à tester. Ces bandelettes sont déposées à la surface d'un milieu gélosé (MH) préalablement ensemencé avec un inoculum standardisé de la souche à étudier. Après incubation, l'inhibition de la croissance se traduit par une ellipse d'inhibition dont les points d'intersection avec la bandelette définissent la CMI. (Figure 5)

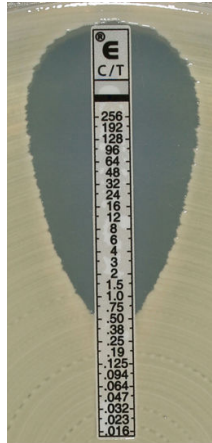


Figure 5 : Ellipse d'inhibition observée pour la détermination de la CMI par ETEST® (Issue de biomerieux.fr)

2.2. Détermination de la sensibilité en milieu liquide

2.2.1. Détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide

La microdilution en milieu liquide (ou BMD, *broth microdilution*) est la **méthode de référence** pour la détermination de la CMI d'un antibiotique donné vis-à-vis d'une souche bactérienne (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2018).

Cette procédure implique la préparation préalable de dilutions croissantes d'antibiotiques dans un milieu de croissance liquide. Les puits contenant des antibiotiques sont inoculés avec une suspension bactérienne standardisée de 5×10^5 UFC/mL. Après une incubation d'une nuit à 35°C, les puits sont examinés pour déterminer la plus faible concentration d'antibiotiques empêchant la croissance visible de la souche bactérienne.

Les principaux inconvénients de la méthode de microdilution sont la tâche fastidieuse et manuelle de préparation des solutions antibiotiques pour chaque test, comprenant la possibilité d'erreurs dans la préparation des solutions antibiotiques. Ces inconvénients en font une méthode peu réalisable en routine, sauf si elle est automatisée.

2.2.2. Antibiogramme automatisé en milieu liquide

La méthode par microdilution en bouillon peut être automatisée, telles les microplaques standards MicroScan® (Beckman Coulter) et Sensititre® (ThermoFisher Diagnostics),

contenant 8 séries de 12 puits d'une gamme de concentration d'antibiotiques déshydratés, avec un dispositif mécanique de réhydratation et/ou d'inoculation. Des microplaques peuvent également être préparées à la demande (Sensititre®) . Ces systèmes utilisent des dispositifs automatiques de lecture photométrique de la croissance bactérienne après incubation dans une étuve standard pendant 16 à 18h à 37°C.

L'étude de la sensibilité aux antibiotiques via l'automate VITEK® repose sur une carte AST (*Antibiotic susceptibility testing*) unique, autonome et jetable propre à chaque isolat. Ces cartes sont composées de plusieurs puits contenant des antibiotiques sous forme déshydratée. Chaque carte contient plusieurs puits avec une gamme de concentration croissantes d'antibiotiques, et au moins un puits de contrôle de croissance sans antibiotique.

(Figure 6)

Après chargement dans l'automate, la carte est automatiquement déplacée au travers des postes de lecture des codes-barres, de dilution de l'inoculum, d'inoculation puis de fermeture. Le système de transport place alors les cartes sur un carrousel pour l'incubation. Le système utilise une mesure en transmittance à 660 nm pour détecter la croissance bactérienne toutes les 15 minutes en 16 points de chaque puit.

La CMI de chaque antibiotique est déterminée par l'automate par comparaison de la croissance de l'isolat du patient à la croissance d'isolats dont les CMI sont connues. Pour chaque antibiotique, un algorithme convertit les valeurs brutes des CMI calculées et le résultat est interprété selon le CA-SFM. Cette méthode ne détermine donc pas des CMI vraies mais seulement une estimation de ces valeurs ([HTTPS://WWW.BIOMERIEUX-MICROBIO.COM/FR/EDUCATION-FR/COMMENT-VITEK-2-GENERE-T-IL-DES-VALEURS-DE-CMI/](https://www.biomerieux-microbio.com/fr/education-fr/comment-vitek-2-generer-t-il-des-valeurs-de-cmi/)).

Le Vitek® est une méthode rapide (résultats en 6 à 8h selon les espèces) et qui nécessite peu de manipulations. En revanche, le coût est plus élevé qu'avec la méthode par diffusion, et il n'y a pas de flexibilité dans le choix des antibiotiques à tester. De plus, il est impossible de visualiser la pureté de l'inoculum et les interactions antibiotiques évocatrices de mécanismes de résistance particuliers (QUENTIN-NOURY, 2016).

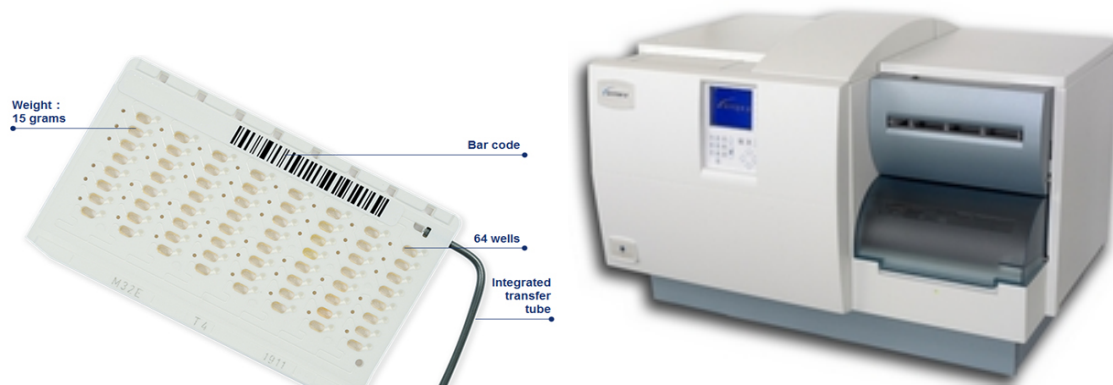


Figure 6 : Carte de test de sensibilité aux antibiotiques et automate Vitek® 2 (<https://www.biomerieux.fr>)

Cette méthode automatisée diminue l'intervention humaine, et limite donc les risques d'erreurs de manipulation ou de lecture. Cet automate intègre également un logiciel d'interprétations appelés « système expert », qui interprète les résultats de CMI obtenues en phénotypes possibles pour l'espèce bactérienne testée.

2.3. Détermination des concentrations critiques

2.3.1. Par qui ?

Le besoin d'une harmonisation européenne dans la méthodologie des tests de sensibilité aux antibiotiques et leur interprétation a conduit en 1997 à la création de l'EUCAST.

L'EUCAST est organisé par la Société européenne de microbiologie clinique et des maladies infectieuses (ESCMID), le Centre européen de prévention et de contrôle des maladies (ECDC), et 6 comités nationaux actifs sur les concentrations critiques en Europe. Actuellement, ces comités nationaux sont

- France : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM),
- Allemagne : *German National AST Committee*
- Norvège: *Norwegian Working Group on Antibiotics*
- Suède : *Swedish Reference Group for Antibiotics*

- Pays-Bas : *Danish Society of Clinical Microbiology*
- Royaume-Uni : *The British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC)*.

2.3.2. Comment ?

L'établissement des concentrations critiques se fait en fonction des données bactériologiques, pharmacocinétiques, pharmacodynamiques et cliniques (JEHL AND SCHRAMM, 2013).

- **Données bactériologiques :**

Elles sont représentées essentiellement par les concentrations critiques épidémiologiques ou cut-off épidémiologiques (E-COFF).

L'E-COFF correspond pour un couple antibiotique/ espèce, à la concentration qui sépare la population sauvage de celle exprimant phénotypiquement un mécanisme de résistance (dite non sauvage) : elle est établie sur la base des répartitions des CMI d'un antibiotique vis-à-vis d'un grand nombre de souches sauvages d'une espèce donnée. (Figure 7)

A noter que la concentration critique clinique inférieure ne doit jamais être inférieure à l'E-COFF (mais elle peut y être égale) et que plus ces deux valeurs sont éloignées, plus il est facile de discriminer les souches résistantes des souches sensibles (CA-SFM 2020 v1.1).

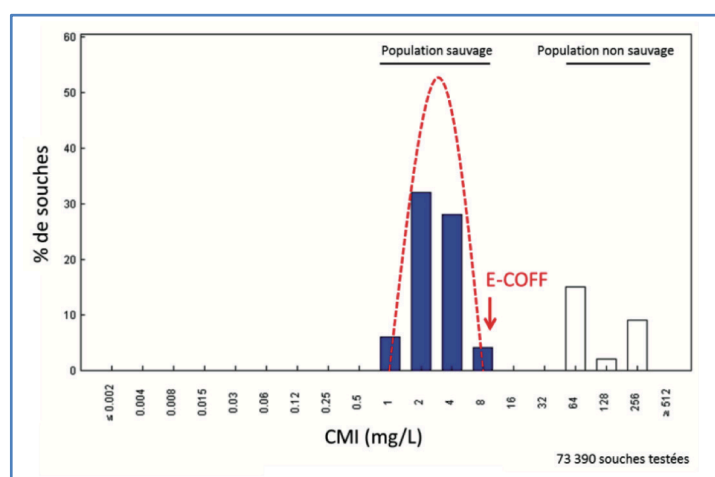


Figure 7 : Représentation de l'E-COFF : concentration qui sépare la population sauvage (en bleu) de la population non sauvage (en blanc) (CA-SFM V1.1 2020)

- **Pharmacocinétique et pharmacodynamie**

Si l'on considère la relation entre la CMI déterminée *in vitro* et la concentration au site de l'infection, une souche est dite « sensible » si la CMI est inférieure aux taux sanguins, tissulaires ou présents dans les foyers pathologiques avec un traitement à doses usuelles. Elle est dite « résistante » si la CMI dépasse les concentrations les plus élevées qu'il est possible d'obtenir *in vivo*.

Pour contribuer à déterminer les valeurs critiques, des études pharmacocinétiques et pharmacodynamiques doivent être réalisées. Ces paramètres sont complémentaires et étroitement liés, et reliés sous le terme anglo-saxon « PK/PD » (*pharmacokinetics/pharmacodynamics*).

Les informations suivantes doivent être connues :

- La (ou les) formulation(s) disponible(s) : voie orale, IV, IM, SC...
- PK : la concentration sérique au pic (C_{max}) et le temps mis pour l'atteindre (T_{max}), temps de demi-vie ($t_{1/2}$), le pourcentage de liaison aux protéines plasmatiques, la biotransformation (et les éventuelles propriétés antibactériennes des métabolites), la voie d'élimination et le pourcentage de forme active ...
- PD : la variation de l'effet bactéricide au site d'infection en fonction du temps ou de la concentration d'antibiotique, obtenu grâce à des modèles *in vitro*, ou des modèles d'infection expérimentales *in vivo*. Ces informations peuvent également être issues de processus de modélisation, tels que la simulation de Monte Carlo.

L'association des paramètres PK/PD permet de calculer des marqueurs prédictifs de l'efficacité des antibiotiques, tels que le temps passé par 24h où la concentration sérique d'antibiotique est supérieure à la CMI de la souche traitée ($\%fT > CMI$), ou le rapport entre la concentration sérique maximale atteinte et la CMI (C_{max}/CMI).

- **Clinique**

Les données cliniques doivent obligatoirement compléter les critères précédents par la notion de succès ou d'échec thérapeutique en fonction des concentrations critiques proposées et des CMI des bactéries responsables.

2.3.3. Catégorisation clinique : S/I/R

L'EUCAST a défini des catégorisations permettant de prédire les résultats cliniques en fonction des concentrations critiques et des CMI des bactéries.

Nous allons dans un premier temps rappeler les définitions qui se sont appliquées jusqu'en 2019, avant de développer les nouvelles définitions applicables de nos jours.

Anciennes définitions

En 2002, l'EUCAST a défini les catégorisations cliniques suivantes pour identifier les micro-organismes qui peuvent être traités par l'agent antimicrobien testé :

- **Sensible (S)** : souches pour lesquelles la **probabilité de succès thérapeutique est forte** dans le cas d'un traitement par voie générale ou orale selon les recommandations des différents tableaux spécifiques d'espèces ou non (PK/PD) (CMI inférieures ou égales à la concentration critique basse).
- **Intermédiaire (I)** : souches pour lesquelles la **probabilité de succès thérapeutique est incertaine**.
- **Résistant (R)** : souches pour lesquelles il existe une **forte probabilité d'échec thérapeutique** quelle que soit la dose d'antibiotique utilisée (souches pour lesquelles la CMI est supérieure à la concentration critique haute).

Jusqu'ici, un micro-organisme était défini de sensibilité « Intermédiaire » à un agent microbien quand *l'effet thérapeutique était incertain*. Cela impliquait qu'une infection due à l'isolat pouvait être traitée de manière appropriée dans des sites corporels où les **médicaments**

étaient physiologiquement concentrés ou lorsqu'un *dosage élevé de médicament* pouvait être utilisé; cela indiquait également une « zone tampon » pour éviter que des *facteurs techniques* ne provoquent de grandes divergences d'interprétation (incertitude de mesure)([EUCAST, 2019A](#)).

Cette définition reposait sur des données microbiologiques, pharmacocinétiques, pharmacotoxicologiques, et méthodologiques, et la part de chacune n'était pas dissociable par la catégorisation « I ». Certains paramètres sont en effet de la responsabilité du laboratoire, alors que d'autres sont de la responsabilité des destinataires du résultat. Cette catégorisation était donc difficilement interprétable par les cliniciens.

De ce fait, ces derniers étaient susceptibles de considérer un résultat «intermédiaire» comme «impossible à interpréter » ou comme un substitut de «résistant», choisissant donc un antibiotique pour lequel le résultat est réponde sensible.

Cependant, en raison du développement et de la propagation de la résistance aux antimicrobiens et du manque de nouveaux agents disponibles, ces catégorisations cliniques ont été redéfinies.

Nouvelles définitions

L'EUCAST a ainsi modifié en 2019 les définitions des catégories de tests de sensibilité S, I et R comme suit ([COMITE EUROPEEN SUR LES TESTS DE SENSIBILITE AUX ANTIMICROBIENS, 2019](#)) ([SOCIETE FRANÇAISE DE MICROBIOLOGIE, 2019](#)) :

- ***S : Sensible au schéma posologique standard*** : Un micro-organisme est classé comme «Sensible au schéma posologique standard » lorsqu'il existe une forte probabilité de succès thérapeutique en utilisant un schéma posologique standard de l'agent antimicrobien.
- ***I : « Sensible à forte exposition»*** : Un micro-organisme est classé comme « Sensible à forte exposition» lorsqu'il existe une forte probabilité de succès thérapeutique si

l'exposition à l'agent antimicrobien est augmentée par l'ajustement du schéma posologique ou par sa concentration au site d'infection.

- **R : Résistant** : Un micro-organisme est classé comme «résistant» lorsqu'il existe une forte probabilité d'échec thérapeutique, même en cas d'exposition accrue.

L'exposition dépend de plusieurs facteurs : le site de l'infection, la dose et l'intervalle entre les doses, la voie d'administration, le temps de perfusion, ainsi que la distribution et l'excrétion de l'agent antimicrobien.

2.4. Cas particulier de la témocilline

Les concentrations critiques à utiliser pour définir la sensibilité d'une souche à la témocilline font débat. Selon le pays, une souche est considérée sensible à la témocilline si la CMI est inférieure ou égale à 8, 16 ou 32mg/L. Par ailleurs, la société savante anglaise a défini deux concentrations critiques selon le contexte clinique d'isolement de la souche. (Tableau 7)

Tableau 7 : Concentrations et diamètres critiques proposés par les différentes autorités

		Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques* (mm) (Vanstone et al., 2013)	
		S ≤	R >	S ≥	R <
(Fuchs et al., 1985)		16	32	17	
(BSAC 2007)	Infections systémiques	<u>8</u>	<u>8</u>	20	20
	IU non compliquées	32	32	12	12
CA-SFM (2019)		8	8	20	20

*Disques chargés à 30µg de témocilline

En décembre 2019, l'EUCAST a proposé de nouvelles concentrations critiques, suite à une consultation générale ayant eu lieu du 11 octobre 2019 au 30 novembre 2019. **Les isolats avec des CMI ≤ 16 mg / L sont désormais catégorisés comme «I», (sensible à forte exposition)** (Tableau 8).

Cependant, ces nouvelles concentrations critiques sont limitées à *E. coli*, *Klebsiella spp.* (sauf *K. aerogenes*), et *P. mirabilis*, par manque de données pour les autres espèces (Tableau 8).

Tableau 8 : nouvelle catégorisation de la sensibilité à la témocilline en fonction de la CMI, selon EUCAST clinical breakpoints for temocillin, April 2020

Organisms	MIC breakpoint (mg/L)		Disk content (µg)	Zone diameter breakpoint (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
Enterobacterales (<i>E. coli</i> , <i>Klebsiella spp.</i> (except <i>K. aerogenes</i>), <i>P. mirabilis</i> only)	0.001	16	30	50 ¹	17 ¹
PK/PD (non-species related) breakpoints	IE	IE	-	-	-

Ces Entérobactérales présentent, sans mécanisme de résistance acquis aux β-lactamines, des CMI de l'ordre de 1 à 16 mg/L (avec un E-COFF égal à 16 mg / L pour *E. coli*)

Une concentration critique de 4 ou 8 mg/L ne permettant pas d'obtenir des résultats reproductibles, en raison des variations aléatoires au sein du type sauvage, le seuil de 16 mg/L a été retenu car il permet une distinction plus robuste entre les isolats sensibles ou résistants, et donc une meilleure reproductibilité dans la catégorisation (Figure 8).

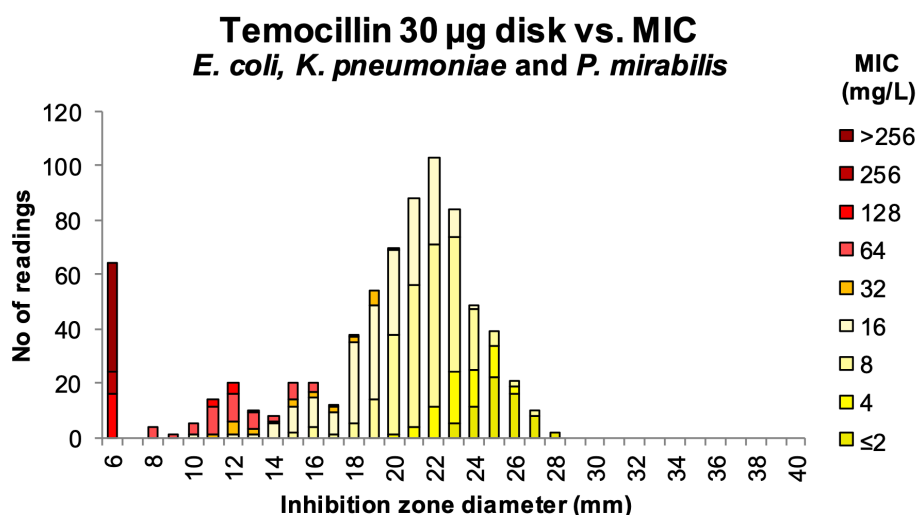


Figure 8 : Corrélation entre les CMI et les diamètres d'inhibition observée pour des souches d'*E. coli*, *K. pneumoniae*, et *P. mirabilis* (EUCAST, 2020)

D'autre part, les nouveaux seuils proposés s'appliquent uniquement dans le cadre de la posologie maximale (2 g x3 IV) pour les infections systémiques, et de la posologie standard (2g

x2 IV) pour les infections urinaires non compliquées. La témocilline ayant une élimination urinaire élevée sous forme inchangée, la posologie standard (2g x2 IV) suffit dans le cadre des infections urinaires simples pour fournir une « exposition accrue ».

Les Entérobactérales pour lesquelles les concentrations critiques sont indiqués par l'EUCAST sont certes les plus fréquemment isolées lors d'infections urinaires mais d'autres Entérobactérales peuvent être responsables d'infections respiratoires basses ou de bactériémie (FLORES-MIRELES ET AL., 2015).

Par exemple, parmi les Entérobactérales productrices de BLSE responsables de bactériémie nosocomiale en 2017, 18% des souches isolées n'étaient ni *E. coli*, ni *K. pneumoniae*, ni *P. mirabilis* (RESEAU BMR-RAISIN, FRANCE, 2017).

Limiter l'indication de la témocilline à ces germes peut potentiellement limiter l'utilisation de cette molécule, ce qui serait un frein à la stratégie d'épargne des carbapénèmes.

L'objectif de notre travail était d'évaluer d'une part le niveau actuel de sensibilité des souches d'Entérobactérales du groupe III à la témocilline et de déterminer la distribution des CMI de ces souches, et d'autre part de comparer les performances de 3 méthodes d'évaluation de la sensibilité en milieu solide (antibiogramme, détermination de la CMI par ETEST®) et liquide (estimation de la CMI par automate VITEK®) par rapport à la méthode de référence (microdilution en milieu liquide).

1. Matériel et méthodes

1.1. Recueil des souches

103 souches consécutives d'Entérobactérales du groupe III responsables d'infections ont été collectées prospectivement au laboratoire de Bactériologie du Centre Hospitalier Universitaire de Rouen du 7 décembre 2019 au 14 mai 2020, et congelées à -20°C jusqu'à l'évaluation de leur sensibilité à la témocilline.

Ces souches (une par patient) ont été isolées de prélèvements urinaires, respiratoires (prélèvement bronchique distal protégé [PBDP]) et d'hémocultures.

Pour être inclus dans cette étude, les patients devaient présenter des critères d'infection à Entérobactérale du groupe 3 :

- Concernant les infections urinaires, les critères de sélection étaient une leucocyturie supérieure au seuil ($\geq 10^4$ leucocytes/ml) et une bactériurie significative ($\geq 10^3$ UFC/ml) et monomicrobienne à Entérobactérale du groupe III.
 - o Pour les urines prélevées sur sonde vésicale, seul le critère d'une culture pure à Entérobactérale du groupe 3 avec un seuil $\geq 10^5$ UFC/ml était requis.

- Concernant les prélèvements respiratoires (PBDP), seules les cultures pures et supérieures au seuil de significativité de 10^3 UFC/mL ont été conservées.
- Concernant les hémocultures, seuls les prélèvements monomicrobiens ont été recueillis.

1.1. Recueil des données patients

Les données médicales générales (sexe, âge, poids, taille, IMC) des patients ont été recueillies, ainsi que le service et la date d'hospitalisation, et les facteurs de risque d'acquisition ou antécédents de colonisation à BLSE.

Les facteurs de risque d'acquisition de BLSE relevés étaient ceux décrits par la SPILF ([SPILF, 2015](#)) :

- antécédent de colonisation urinaire à EBLSE datant de moins de 6 mois ;
- antibiothérapie par amoxicilline-acide clavulanique/C2G, C3G ou fluoroquinolone datant de moins de 6 mois
- voyage en zone d'endémie d'EBLSE
- hospitalisation < 3 mois
- vie en institution de long séjour

Il a également été relevé si l'infection était d'origine communautaire ou associée au soins, c'est-à-dire survenant plus de 48h après la prise en charge médicale du patient ([COMITE TECHNIQUE DES INFECTIONS NOSOCOMIALES ET DES INFECTIONS LIEES AUX SOINS, 2007](#)).

Le mécanisme de résistance acquise aux β -lactamines des souches retenues a également été relevé (pénicillinase, BLSE, ou céphalosporinase déréprimée).

1.2. Détermination de la sensibilité à la témocilline

L'analyse de la sensibilité à la témocilline a été réalisée a posteriori à partir des isolats congelés.

Les souches ont été décongelées par ensemencement sur gélose chromogène non sélective (chromID® CPS ELITE ; bioMérieux SA, Marcy l'Étoile, France), incubée en aérobiose pendant 18 à 24h à 35+/- 2°C.

La sensibilité à la témocilline a été étudiée pour chaque souche à l'aide de 4 techniques différentes mises en œuvre le même jour à partir d'un même inoculum :

- Détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide (BMD, méthode de référence)
- Détermination de la CMI par ETEST® (bioMérieux ; Marcy-l'Étoile, France)
- Estimation de la CMI par méthode automatisée VITEK® (bioMérieux ; Marcy-l'Étoile, France)
- Méthode de diffusion en milieu gélosé (ou méthode des disques), en utilisant des disques de 4 fournisseurs différents :
 - Oxoid® (Dardilly, Royaume-Uni)
 - BD® (Franklin Lakes, New Jersey, États-Unis)
 - Bio-Rad® (Marnes-la-Coquette, France)
 - i2A® (Montpellier, France).

1.2.1. Préparation en amont des plaques de microdilution

La méthode de microdilution en milieu liquide en plaque de 96 puits (Nunclon Delta surface ThermoScientific® ; Waltham, Massachusetts, États-Unis) a été effectuée selon les recommandations du *Clinical & Laboratory Standards Institute (CLSI)* (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2018). Il s'agit d'une technique non automatisée nécessitant la préparation au préalable d'une gamme de concentration d'antibiotique.

Nous avons choisi de tester une gamme de concentration de 0,25 à 128 mg/L de témocilline. Sur chaque rangée, nous avons également laissé un puit non inoculé qui constituait le contrôle de stérilité, ainsi qu'un puit sans antibiotique qui constituait le témoin de croissance.

Préparation d'une solution mère de témocilline à 4 fois la concentration la plus haute souhaitée

Nous avons reconstitué un flacon de témocilline (Negaban® 1g ; Eumedica, Bruxelles, Belgique ; lot L159828 ; exp 05/2022) dans 10 mL de NaCl 0,9% selon les recommandations du fabricant. A partir de cette solution, nous avons effectué des dilutions pour obtenir une solution mère de témocilline à 512mg/L .

Préparation de la gamme de concentration dans la microplaque

Afin d'obtenir une gamme de concentrations de 0 à 128 mg/L (0 ; 0,25 ; 0,5 ; 1 ; 2 ; 4 ; 8 ; 16 ; 32 ; 64 et 128 mg/L), nous avons procédé de la façon suivante :

- Dépôt de 50µl de bouillon MHB dans les puits des colonnes n° 1 à 12 (100µl dans la colonne 1)
- Dépôt de 50µl de la solution mère de témocilline à 512 mg/L dans les puits de la colonne n°2
- Dilution en cascade au ½ : 50µl de puits en puits, des colonnes n° 2 à 11.

Les concentrations intermédiaires suivantes (en mg/L) ont été obtenues :

Puit n°1	Puit n°2	Puit n°3	Puit n°4	Puit n°5	Puit n°6	Puit n°7	Puit n°8	Puit n°9	Puit n°10	Puit n°11	Puit n°12
BLANC	256	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0 (T+)

Les plaques ont ensuite été congelées dans un sachet hermétique à -80°C.

1.2.2. Préparation des inocula

Toutes les souches ont été testées selon les différentes méthodes de façon simultanée à partir d'un même inoculum , calibré à 0,5 Mc Farland (correspondant à environ 1 à 2 x10⁸ UFC/mL pour *E. coli*) dans une solution saline à 0,9% à l'aide d'un densitomètre Densicheck (bioMérieux®).

1.2.3. Méthode de diffusion en milieu gélosé (méthode des disques)

La détermination de la sensibilité à la témocilline par la méthode des disques a été réalisée selon les recommandations du CA-SFM 2020 V1.1 :

Dans les 15 minutes suivant la préparation de l'inoculum, un écouvillon en coton stérile a été plongé dans la suspension bactérienne et l'excès de liquide a été éliminé en tournant l'écouvillon sur les parois du tube. Des géloses MH (Bio-Rad®) ont été écouvillonnées sur la totalité de la surface de la gélose dans trois directions.

Dans les 15 minutes suivant l'ensemencement, des disques imprégnés de témocilline 30µg de 4 fournisseurs différents (Oxoid®, i2A®, BD®, Bio-Rad®) ont été déposés manuellement à la surface des géloses, puis celles-ci ont été incubées à 35±2°C en aérobiose pendant 18±2h.

Les diamètres d'inhibition ont été lus à l'aide d'un pied à coulisse sur un fond noir.

La présence de colonies dans la zone d'inhibition n'a pas été prise en compte dans l'interprétation des résultats, comme recommandé par l'EUCAST 2020, mais a été relevée (EUCAST, 2020).

1.2.4. Détermination de la CMI à la témocilline par méthode E-test®

Pour chaque souche, une bandelette E-test® (bioMérieux SA, Marcy l'Etoile, France) a été déposée sur la même gélose que celles où ont été déposés les disques et en même temps qu'eux.

Après incubation à 35±2°C en aérobiose pendant 18±2h, les CMI ont été lues à l'œil nu, à l'intersection entre la bandelette et la zone d'ellipse d'inhibition de la culture (*Figure 9*).

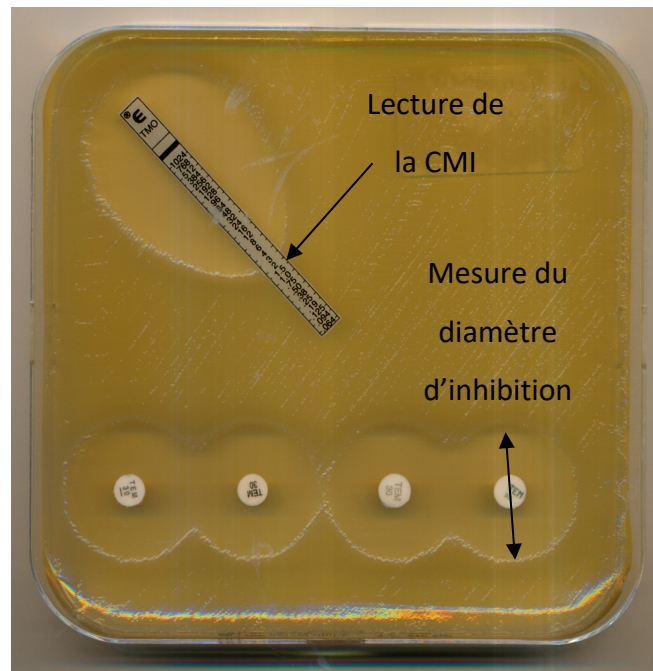


Figure 9 : Lecture de la CMI et des diamètres d'inhibition de la témocilline d'une souche d'*Enterobacter spp.*
De gauche à droite, disques de témocilline 30µg commercialisés par les sociétés Oxoid®, i2A®, BD® et Bio-Rad®

1.2.5. Estimation de la CMI à la témocilline par la méthode VITEK

La sensibilité à la témocilline a été déterminée en milieu liquide sur automate VITEK2® (bioMérieux), à partir du même inoculum à 0,5 McF, en utilisant la carte AST-N372. L'inoculum a été chargé dans l'automate moins de 30 minutes après réalisation de la suspension.

1.2.6. Mesure de la CMI par microdilution en milieu liquide (méthode de référence)

Préparation des inocula bactériens et ensemencement des plaques de microdilution :

La microdilution en milieu liquide s'effectuant à partir d'un inoculum de $5 \cdot 10^5$ UFC/ml, l'inoculum calibré à 0,5 McF a été dilué successivement 2 fois au $1/10^{\text{ème}}$ (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2018).

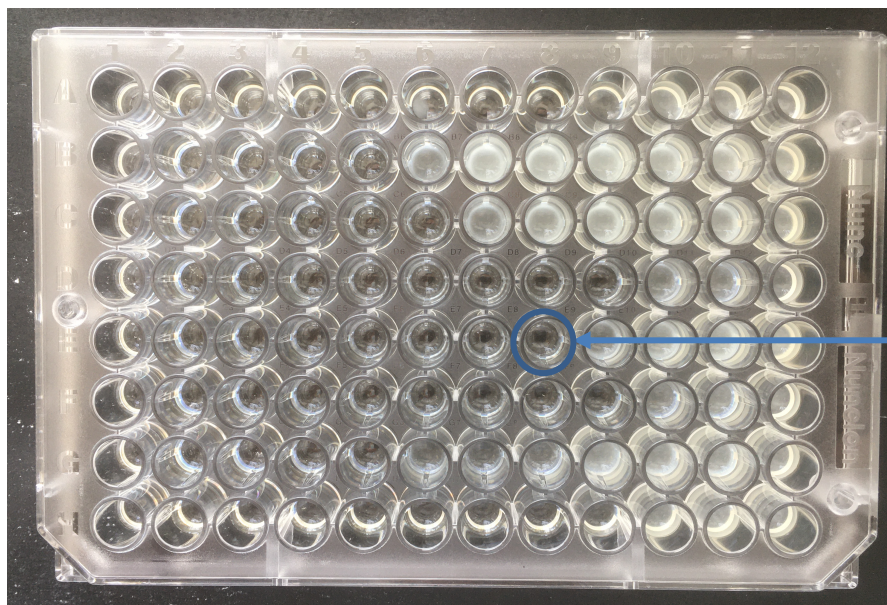
50µl de cette dilution ont été déposés dans les puits n° 2 à 12 avec une pipette multi-canaux selon le plan de plaque. Cette étape permet de diluer au 1/2 les antibiotiques et ainsi d'obtenir la gamme de concentrations finales désirées (de 0,25 à 128mg/L) :

Puit n°1	Puit n°2	Puit n°3	Puit n°4	Puit n°5	Puit n°6	Puit n°7	Puit n°8	Puit n°9	Puit n°10	Puit n°11	Puit n°12
BLANC	128	64	32	16	8	4	2	1	0,5	0,25	0 (T+)

Les plaques ont ensuite été incubées dans une étuve à 35±2°C en aérobiose pendant 18 ± 2h dans un bac avec un flacon ouvert contenant de l'eau pour éviter tout phénomène de dessiccation.

Le lendemain, la CMI de chaque souche a été déterminée : elle correspondait au premier puits (la plus faible concentration) pour lequel aucune culture bactérienne (trouble) n'était visible.

(Figure 10)



CMI = premier puit pour laquelle aucune culture bactérienne n'est visible à l'œil nu

Figure 10 : Lecture de CMI en microdilution

CONTROLE DE L'INOCULUM :

10µl du puit de contrôle (puit n°1) ont été dilués dans 10ml de NaCl. 100µl de cette dilution ont ensuite été ensemencés au râteau sur une gélose non sélective.

Après incubation, les colonies ont été dénombrées, un inoculum de 5.10^5 UFC/ml correspondant à 20 à 80 colonies.

1.2.7. Contrôle de qualité (CQ)

Deux souches de contrôles qualité (CQ) ont été utilisées : *E. coli* ATCC®25922™ (souche sauvage) et *E. coli* ATCC®35218™ (souche productrice de β -lactamase TEM-1).

Les souches de CQ étant congelées sur billes à -80°C dans un bouillon de glycérol (BHI). Chaque semaine, 1 bille a été inoculée sur un milieu non sélectif, et des repiquages ont été effectués chaque jour de la semaine où des tests étaient réalisés, selon les recommandations de l'EUCAST.

Les souches de CQ ont été testées (HUMPHRIES ET AL., 2018) :

- Initialement (en amont des tests effectués sur les souches cliniques, afin de valider les méthodes utilisées) :
 - o 9 fois pour la microdilution en milieu liquide : 3 séries de 3 afin d'étudier la reproductibilité inter- et intraplaque
 - o 3 fois pour les autres méthodes évaluées (méthodes des disques, ETEST®, et Vitek®)
- Puis à chaque série de tests, pour chaque méthode.

Les limites acceptables proposées par Maurissen pour ces souches sont 3-24mg/L (12–25 mm) pour *E. coli* ATCC®25922™, et 2– 6 mg /L (ou 19-28mm) pour *E. coli* ATCC®35218™ (MAURISSEN ET AL., 2015).

1.2.8. Analyse des résultats

Chaque souche a été classée selon les règles d'interprétation définies par le CA-SFM 2020 V1.1, et en parallèle selon les recommandations de l'EUCAST 2020.

Pour les souches catégorisées « sensible à forte exposition », nous avons choisi de conserver le terme « intermédiaire », pour des raisons de simplification de propos.

Pour la méthode des disques, les souches ont été classées sensibles si le diamètre d'inhibition était supérieur ou égal à 20 mm, et résistantes si le diamètre était inférieur à 20 mm, selon le CA-SFM 2020 V1.1, ou classées intermédiaires si le diamètre était supérieur ou égal à 17 mm, et résistantes si le diamètre était inférieur à 17 mm, selon l'EUCAST 2020.

Pour les autres méthodes, les souches ont été classées sensibles si la CMI était inférieure ou égale à 8mg/L, et résistantes si la CMI était supérieure à 8mg/L selon le CA-SFM 2020 V1.1, ou intermédiaires si la CMI était inférieure ou égale à 16mg/L et résistante si la CMI était supérieure à 16 mg/L selon l'EUCAST. (Tableau 9)

Tableau 9 : Critères d'interprétation de la sensibilité à la témocilline, d'après le CA-SFM 2020 V1.1 et l'EUCAST 2020.

	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)	
	S ≤	R >		S ≥	R <
CA-SFM	8	8	30	20	20
EUCAST	0,001	16		50	17

Les CMI₅₀ et CMI₉₀ ont été déterminées. La CMI₅₀ est définie comme la plus petite concentration d'antibiotique permettant d'inhiber la croissance de 50% des souches. La CMI₉₀ est la plus petite concentration d'antibiotique permettant d'inhiber la croissance de 90% des souches.

La lecture a été réalisée systématiquement par deux personnes différentes. Les diamètres d'inhibition et les valeurs de CMI étaient considérés comme discordants lorsque la différence entre les deux diamètres était supérieure à 2mm, ou la différence entre les CMI supérieure à une dilution d'écart respectivement. Enfin, les résultats étaient considérés comme discordants si une modification de la catégorisation (S, R ou I) était observée (HUMPHRIES ET AL., 2018).

En cas de discordance, une troisième lecture était réalisée.

Une analyse de concordance a été réalisée entre les résultats obtenus à partir des différentes méthodes de détermination de la sensibilité, en calculant le pourcentage de « *category agreement* » (CA).

Deux méthodes de détermination de la sensibilité à la témocilline ont été définies comme concordantes lorsque la souche était catégorisée de manière identique par les 2 méthodes.

Le CA doit être supérieur ou égal à 90% pour être acceptable selon le CLSI ([CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2018](#)).

L'*Essential Agreement* (EA) est le pourcentage de souche dont la CMI diffère au plus d'une dilution par la méthode testée par rapport à la méthode de référence (*Annexe 1*).

Les discordances entre les tests ont été catégorisées comme suit, selon les recommandations du CLSI ([CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2016](#)):

- Une erreur majeure (terme dérivé de *major error* [ME]) est définie comme la catégorisation « résistante » d'une souche par la méthode testée, alors qu'elle est catégorisée « sensible » par la méthode de référence.
- Une erreur très majeure (terme dérivé de *very major error* [VME] de la nomenclature anglo-saxonne) est définie comme la catégorisation « sensible » d'une souche par la méthode testée, alors qu'elle est catégorisée « résistante » avec la méthode de référence.
- Une erreur mineure (terme dérivé de *minor error* [mE]) concerne une souche de sensibilité intermédiaire par une méthode donnée mais catégorisée résistante à la témocilline par la méthode de référence.

La nouvelle catégorisation de l'EUCAST « I » signifiant « sensible à forte exposition », et dans un souci d'uniformisation avec les catégorisations du CA-SFM, seuls les termes de ME et VME ont été utilisés ici.

Les taux de ME et VME acceptables définis par le CLSI sont inférieurs à 3% (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2016). Cependant, étant donné que les erreurs très majeures sont les plus préoccupantes, la Food and Drug Administration considère que le taux de VME doit être inférieur à 1,5% pour être acceptable (HUMPHRIES ET AL., 2018).

1.3. Analyses statistiques

Afin de déterminer si le taux de sensibilité à la témocilline obtenu était significativement différent selon les méthodes testées, nous avons calculé la p-value selon le test de Fisher sur le site biostatgv.sentiweb.fr

2. Résultats

2.1. Description de la population

2.1.1. Patients et contexte clinique

Sur les 103 souches d'Entérobactérales du groupe III collectées prospectivement au CHU, 62 ont été isolées chez des hommes et 41 chez des femmes. Les patients étaient âgés de 8 mois à 98 ans, l'âge moyen étant de 67,2 ans (*Annexe 2*).

Les services d'accueil des patients étaient répartis comme suit :

- 13 des services d'urgences du CHU
- 10 de services de chirurgie
- 38 de services de médecine
- 20 de Soins de suite et Réadaptation (SSR)
- 22 de service de réanimation / soins intensifs

Les souches étaient responsables d'infections associées au soins pour 72% des patients (74/103) et communautaires pour 28% (29/103).

49 souches ont été isolées d'hémocultures, 59 de prélèvements urinaires, et 4 de prélèvements respiratoires bronchiques distaux protégés (PBDP) (Figure 11).

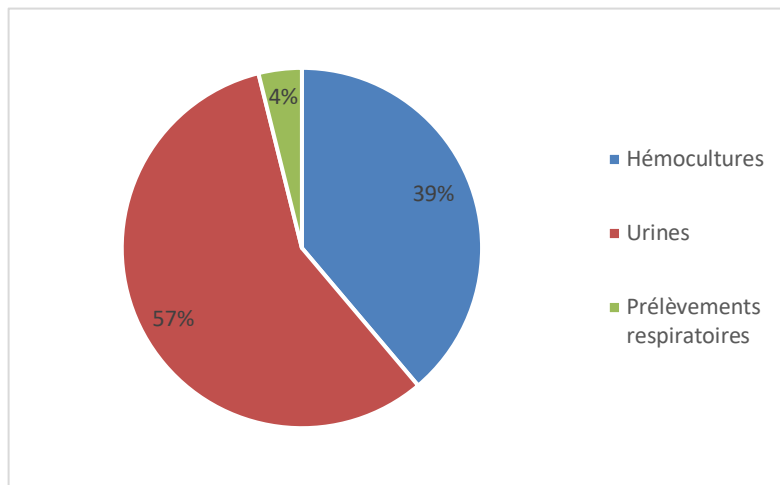


Figure 11 : Types de prélèvements d'isolement des 103 souches d'Entérobactérales testées

2.1.2. Espèces bactériennes

Les espèces bactériennes des souches recueillies ont été identifiées par spectrométrie de masse MALDI-TOF (Microflex® ; Bruker Daltonics, Billerica, Massachusetts, États-Unis) et se répartissaient comme suit (Figure 12) :

- 64 *Enterobacter* sp. (43 *E. cloacae* complex et 21 *Klebsiella aerogenes* [anciennement *E.aerogenes*]) ;
- 16 *Morganella morganii*
- 9 *Citrobacter freundii* complex
- 7 *Serratia marcescens*
- 4 *Providencia* sp. (2 *P. rettgeri*, 2 *P. stuartii*)
- 3 *Hafnia alvei*.

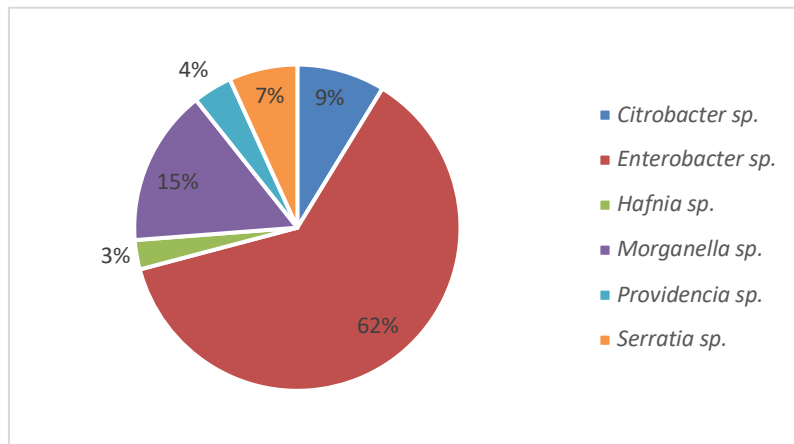


Figure 12 : Répartition des espèces bactériennes des 103 souches d'Entérobactérales testées

2.1.3. Mécanisme de résistance acquise aux β -lactamines

57% (59/103) des souches étudiées ne présentaient aucun mécanisme de résistance acquis aux β -lactamines.

Parmi les 45 souches ayant un mécanisme de résistance acquis aux β -lactamines, 13 étaient productrices de BLSE, 30 surexprimaient leur céphalosporinase naturelle AmpC, et 2 produisaient une pénicillinase (Figure 13).

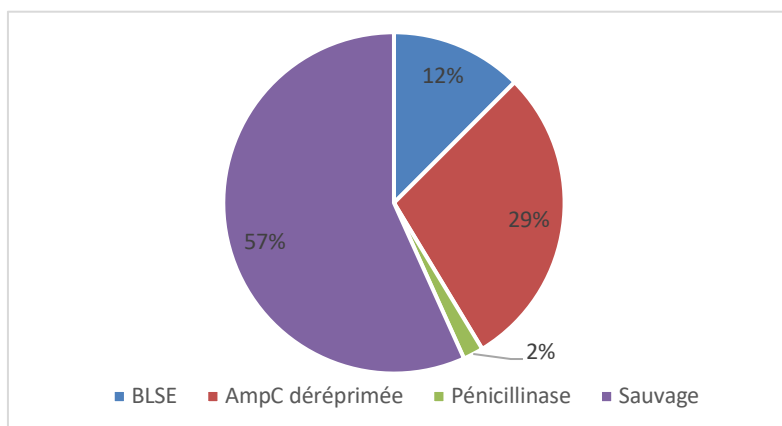


Figure 13 : mécanisme de résistance aux β -lactamines des 103 souches d'Entérobactérales testées

2.2. Évaluation de la sensibilité à la témocilline vis-à-vis des souches de contrôle qualité

Les résultats des CQ obtenus initialement afin de valider les méthodes, en amont des tests effectués sur les souches cliniques, sont indiqués dans le Tableau 10 :

Tableau 10 : Résultats des passage de CQ initiaux selon les différentes méthodes testées

Souche de CQ	Nombre de passages initiaux	<i>E. coli</i> ATCC 25922			<i>E. coli</i> ATCC 35218		
		Min	Max	Med	Min	Max	Med
Méthode testée							
Microdilution (mg/L)	9	3	16	8	1	2	2
ETEST (mg/L)	3	8	12	8	3	3	3
Vitek (mg/L)	3	8	8	8	≤4	≤4	≤4
BD® (mm)	3	20	21	20	25	26	25,5
Biorad® (mm)	3	20	21	20	25	28	26
i2A® (mm)	3	19	19	19	25	28	25,5
Oxoid® (mm)	3	20	22	20	25	28	27

Nous avons observé pour ces contrôles initiaux une grande variation des CMI obtenues par microdilution pour la souche ATCC® 25922™, avec des CMI allant de 3 à 16 mg/L sur 9 tests réalisés, mais ceci était conforme aux valeurs attendues (MAURISSEN ET AL., 2015).

En revanche, les CMI de la souche d'*E. coli* ATCC® 35218™ obtenues étaient non conformes 2 fois sur les 9 tests initiaux, avec des CMI allant jusqu'à 1mg/L, alors que les valeurs attendues allaient de 2 à 6mg/L (MAURISSEN ET AL., 2015).

Les résultats de CQ obtenus lors des séries de tests des souches cliniques sont indiqués en Annexe 3.

2.3. Présence de colonies à l'intérieur de la zone d'inhibition

Nous avons noté la présence de colonies à l'intérieur des disques d'inhibition. (Figure 14).



Figure 14 : Colonies à l'intérieur du diamètre d'inhibition, d'après EUCAST 2020

Sur les 103 souches testées, ces colonies sont apparues avec 13 souches avec les disques Bio-Rad® et Oxoid®, 12 fois avec les disques BD et 10 avec les disques i2A®.

Ces colonies ont également été observées avec 6 souches avec la méthode ETEST®

Comme recommandé par l'EUCAST 2020, la présence de ces souches n'a pas été prise en compte dans la lecture des diamètres et des CMI (EUCAST, 2020).

2.4. Évaluation de la sensibilité de 103 souches d'Entérobactérales à la témocilline par 4 méthodes

2.4.1. Détermination de la CMI par microdilution en milieu liquide, méthode de référence

Les CMI obtenues par la méthode de référence variaient de 1 à 64 mg/L, avec une CMI₅₀ de 4mg/L, et une CMI₉₀ de 16mg/L. (Figure 15)

83% des souches testées (86/103) étaient sensibles à la témocilline selon les recommandations du CA-SFM 2020 V1.1.

Selon les critères de l'EUCAST 2020, le nombre de souches classées intermédiaires s'élevait à 98% (101/103). Les deux seules souches résistantes selon l'EUCAST étaient des souches d'*E. aerogenes*.

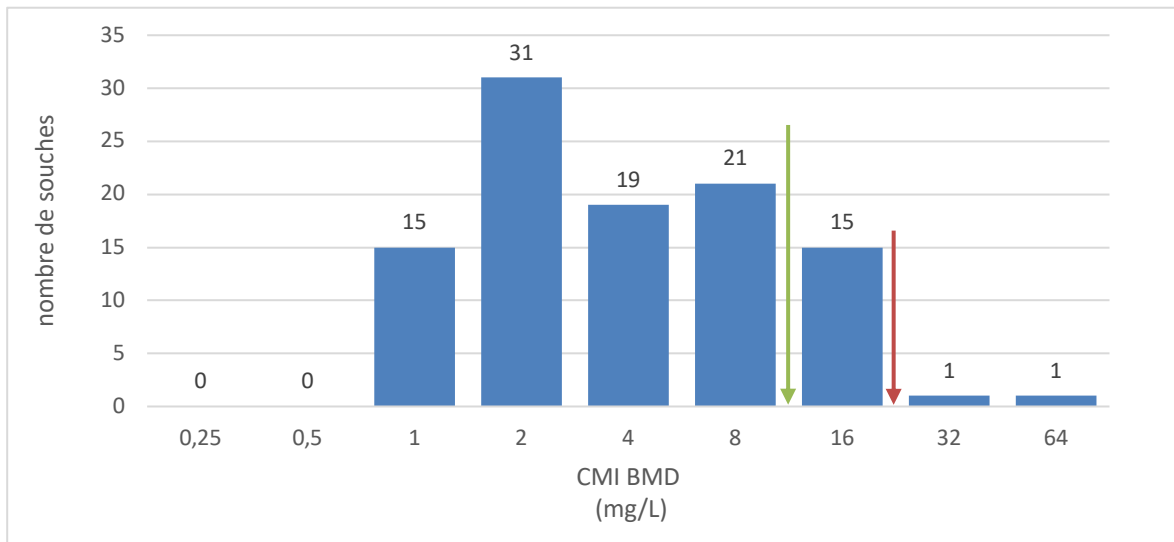


Figure 15 : Distribution des CMI par microdilution en milieu liquide (méthode de référence)

La flèche verte représente la concentration critique définie par le CA-SFM 2020 V1.1

La flèche rouge représente la concentration critique définie par l’EUCAST 2020

2.4.2. Détermination de la CMI par ETEST®

Les CMI déterminées par ETEST® variaient de 1 à 32mg/L, avec une CMI₅₀ égale à 4mg/L, et une CMI₉₀ égale à 12mg/L.

83% (86/103) des souches étaient catégorisées sensibles selon le CA-SFM 2020 V1.1, et 95% (98/103) étaient catégorisées intermédiaires selon les concentrations critiques définies par l’EUCAST 2020 (Figure 16).

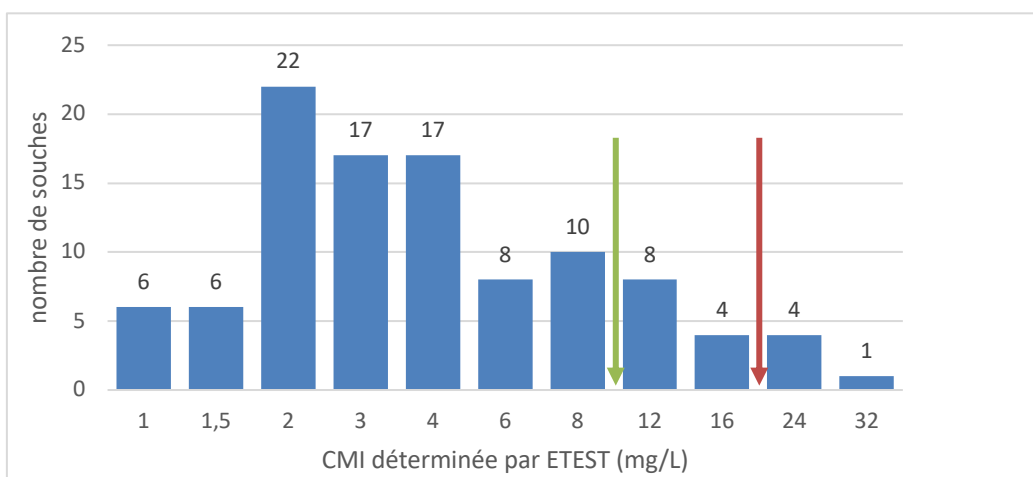


Figure 16 : Distribution des CMI déterminées par la méthode ETEST®

La flèche verte représente la concentration critique définie par le CA-SFM 2020 V1.1

La flèche rouge représente la concentration critique définie par l’EUCAST 2020

2.4.3. Évaluation de la sensibilité par la méthode automatisée Vitek-2® (bioMérieux)

L'automate VITEK-2® n'a pas pu déterminer la sensibilité d'une souche de *Morganella morganii*, par défaut de croissance, et ce malgré plusieurs tentatives.

Sur les 102 souches pour lesquelles le VITEK® a pu estimer la CMI, 75% (76/102) avaient une CMI ≤ 8 mg/L (76 souches / 102), et 89% avaient une CMI ≤ 16 mg/L (91/102) (Figure 17).

Ainsi, 75% des souches étaient catégorisées sensibles selon les recommandations du CA-SFM 2020 V1.1 et 89% intermédiaires selon les recommandations de l'EUCAST 2020.

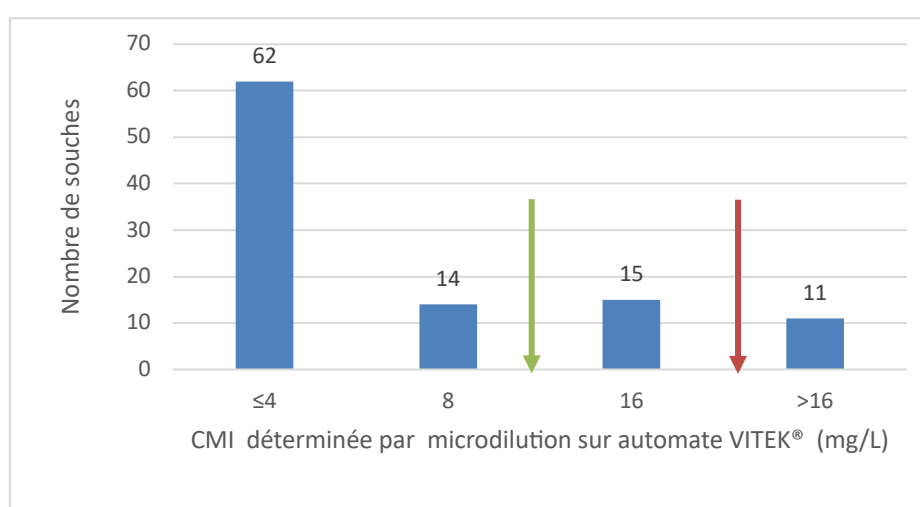


Figure 17 : Distribution des CMI estimées par microdilution sur automate VITEK-2®

La flèche verte représente la concentration critique définie par le CA-SFM 2020 V1.1

La flèche rouge représente la concentration critique définie par l'EUCAST 2020

2.4.4. Évaluation de la sensibilité par la méthode des disques

Selon les diamètres critiques du CA-SFM, 83% (85/103) des souches étaient classées sensibles à la témocilline par la méthode des disques en utilisant les disques des fournisseurs Bio-Rad® et Oxoid®, 82% (84/103) avec le fournisseur BD® et seulement 76% (78/103) avec le fournisseur i2A®.

Selon les diamètres critiques de l'EUCAST 2020, 95% (98/103) étaient catégorisées intermédiaires avec les disques du fournisseurs Oxoid®, 93% (98/103) avec les fournisseurs BioRad® et BD®, et 90% (93/105) avec le fournisseur i2a®. (Tableau 11 et Figure 18)

Tableau 11 : Sensibilité à la témocilline selon les diamètres critiques du CA-SFM 2020 V1.1 ou de l'EUCAST 2020, en fonction des différents fournisseurs de disques.

	Souches sensible selon le CA-SFM 2020 V1.1 S (≥ 20mm)	Souches de sensibilité intermédiaire selon l'EUCAST 2020 I (≥ 17mm)
BD®	82% (84/103)	93% (96/103)
Bio-Rad®	83% (85/103)	93% (96/103)
i2A®	76% (78/103)	90% (93/103)
Oxoïd®	83% (85/103)	95% (98/103)

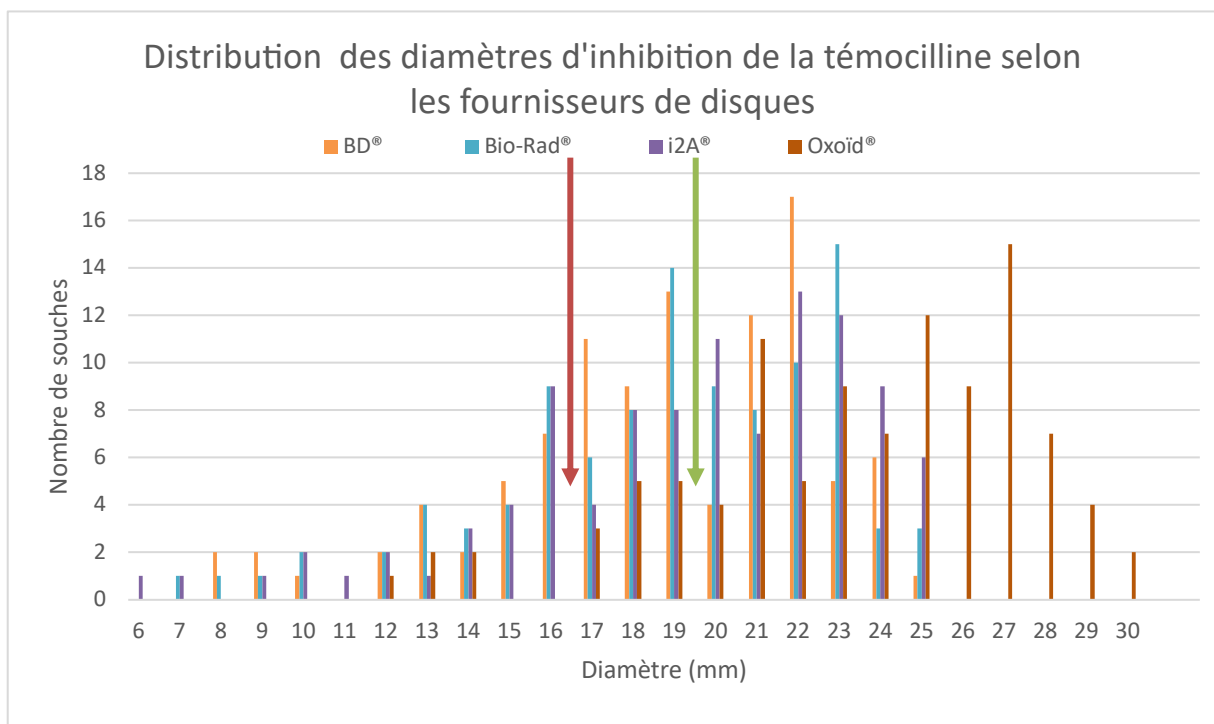


Figure 18 : Distribution des diamètres d'inhibition (en mm) de la témocilline selon les fournisseurs de disques BD®, Bio-Rad®, i2A® et Oxoïd®

La flèche verte représente le diamètre critique défini par le CA-SFM 2020 V1.1

La flèche rouge représente le diamètre critique défini par l'EUCAST 2020

Nous avons remarqué que les diamètres obtenus avec les disques Oxoïd® paraissent plus grands que ceux obtenus avec les autres fournisseurs, mais la différence de diamètre était non significative.

2.4.5. Comparaison de méthodes

2.4.5.1. Microdilution versus ETEST®

La méthode ETEST® présente une bonne corrélation avec la méthode de référence, avec seulement 1% (1/103) de ME et de VME selon les recommandations du CA-SFM 2020 V1.1. Selon la concentration critique de l'EUCAST 2020, 3 souches sont classées faussement résistantes (ME), mais aucune n'est classée faussement sensible (VME) (Figure 19, Tableau 12 et Annexe 4).

Le CA est de 98% et 97% respectivement selon le CA-SFM et l'EUCAST, et l'EA, calculable pour cette méthode, est de 94%.

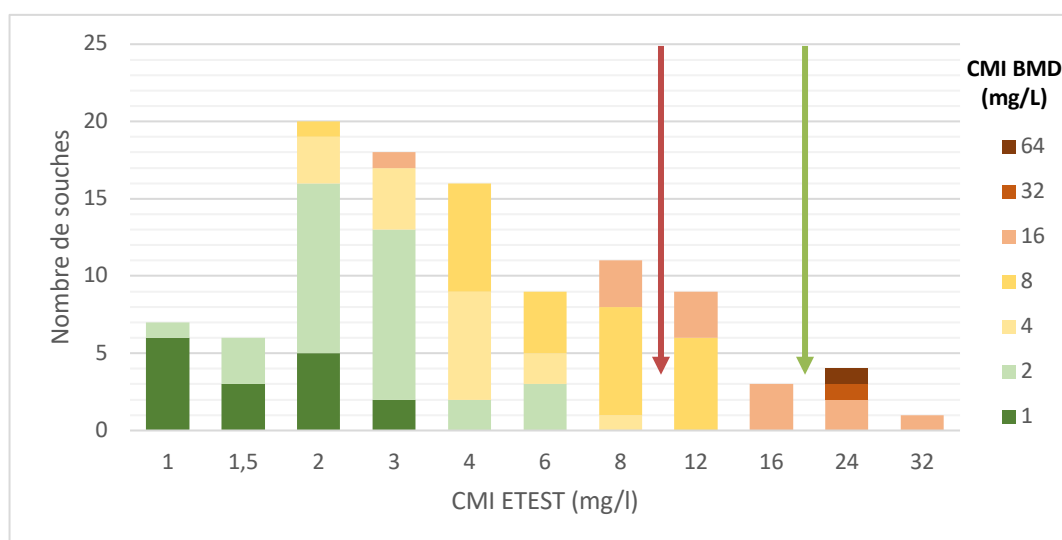


Figure 19 : Corrélation entre la CMI évaluée par ETEST® et la CMI évaluée par la méthode BMD

La flèche verte représente le diamètre critique défini par le CA-SFM 2020 V1.1

La flèche rouge représente le diamètre critique défini par l'EUCAST 2020

2.4.5.2. Microdilution versus VITEK-2®

La détermination de la sensibilité par VITEK-2 conduit à plus d'erreurs de catégorisation : 10% (10/103) de ME et 1% (1/103) de VME, quelle que soit la concentration critique considérée. Le CA, égal à 89% pour cette méthode, n'est pas acceptable selon les critères du CLSI. (Figure 20, Tableau 12 et Annexe 4) (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2016)

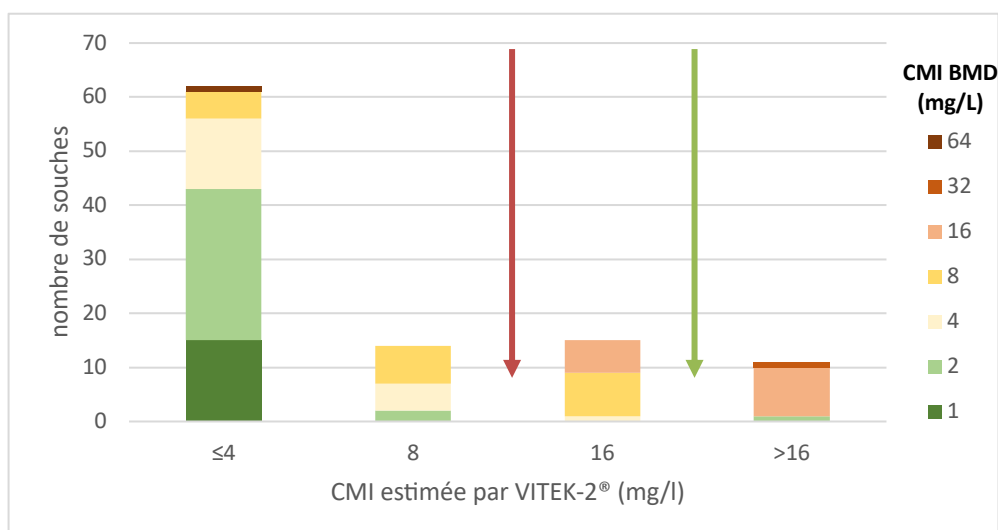


Figure 20 : Corrélation entre la CMI estimée par VITEK-2® et la CMI évaluée par la méthode BMD

La flèche verte représente le diamètre critique défini par le CA-SFM 2020 V1.1

La flèche rouge représente le diamètre critique défini par l'EUCAST 2020

2.4.5.3. Microdilution *versus* méthode des disques

La méthode des disques identifiait une souche faussement résistante dans 4% des cas (tous fournisseurs confondus) selon le CA-SFM, et dans 5,5% des cas selon l'EUCAST. En revanche, très peu de VME étaient observées : 1 seule souche a été classée faussement sensible selon le diamètre critique de l'EUCAST 2020, avec les disques d'un seul fournisseur (Oxoid®).

Parmi les différents fournisseurs de disques, seul i2A présentait des taux de ME (souches rendues faussement résistantes) non acceptable, à savoir 9% (CA-SFM) et 8% (EUCAST). Par ailleurs, les diamètres moyens semblaient plus petits pour ce fournisseur, mais sans différence significative.

Les disques des autres fournisseurs présentaient des résultats acceptables en considérant les diamètres critiques fournis par la CA-SFM 2020 V1.1 (respectivement 2%, 2% et 3% pour les fournisseurs BD®, Bio-Rad® et Oxoid®), mais en considérant les diamètres critiques de l'EUCAST, ces taux de ME augmentaient à 5%, 4% et 5% respectivement, dépassant le seuil d'acceptabilité du CLSI (*Tableau 12 et Annexe 5*) (CLSI, 2016).

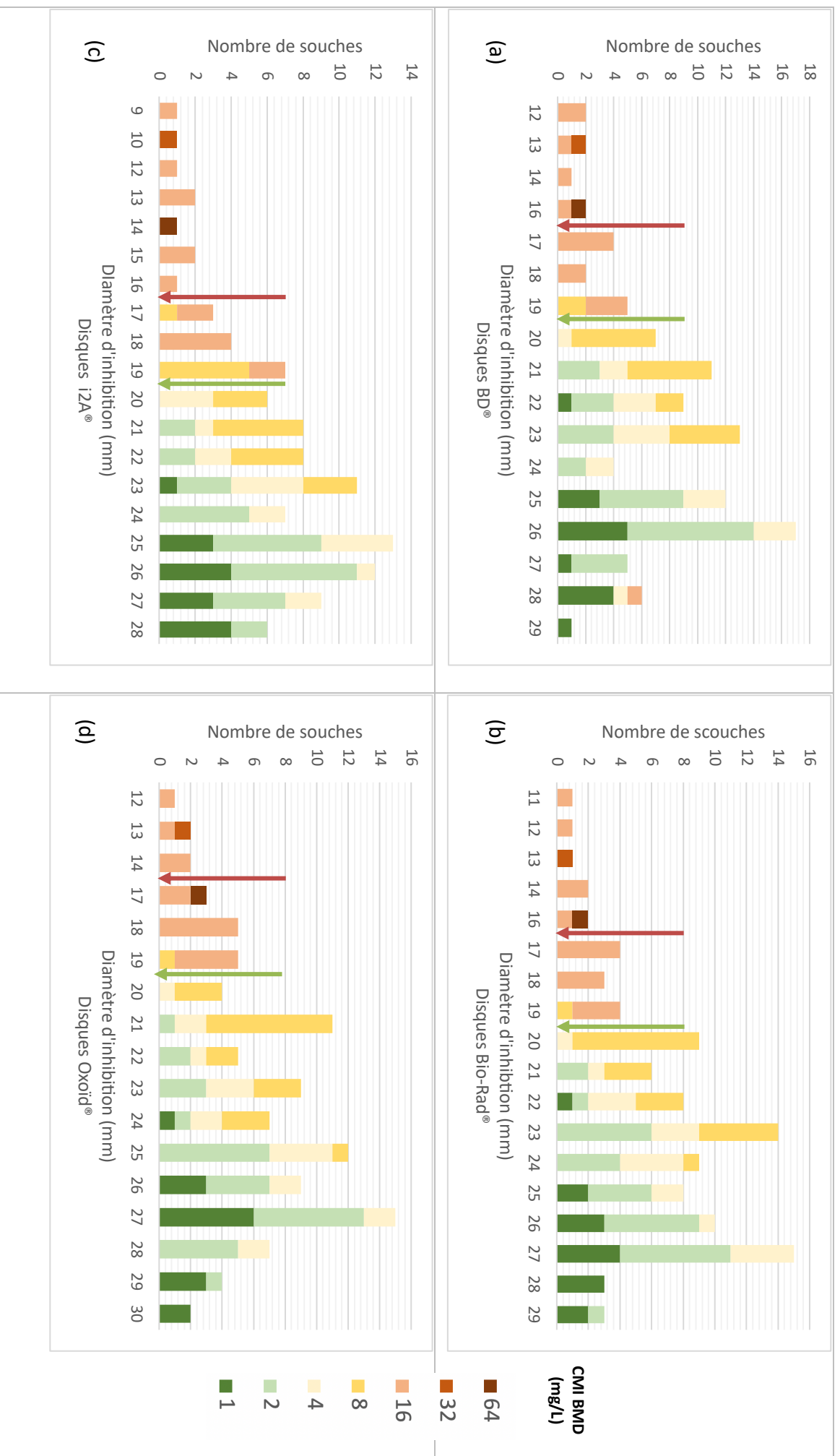


Figure 21 : Corrélation entre les diamètres d'inhibition par la méthode des disques des fournisseurs BD[®](a), Bio-Rad[®](b), iZA[®](c) et Oxoid[®](d), et la CMI évaluée par la méthode de microdilution. La flèche verte représente le diamètre critique défini par le CA-SFM 2020 V1.1. La flèche rouge représente le diamètre critique défini par l'EUCAST 2020

2.4.5.4. Comparaison des trois méthodes de routine de détermination de sensibilité à la témocilline testées *versus* la méthode de référence

Le Tableau 12 illustre les concordances et les discordances observées entre les résultats obtenus par ETEST®, VITEK-2®, et par la méthode des disques (selon les 4 fournisseurs) par rapport à la méthode de microdilution manuelle considérée comme la méthode de référence. Le VITEK présente un CA et un ME non acceptable selon le CLSI, à la concentration critique de la CA-SFM 2020 V1.1, comme à la concentration critique de l'EUCAST 2020 (CA = 89%, ME = 10%)

La méthode des disques présente des ME non acceptables selon les concentrations critiques de EUCAST 2020 pour les quatre fournisseurs testés (de 4 à 8%). Les disques i2A® ont également un taux de ME non acceptable selon les concentrations critiques du CA-SFM (9%)

Tableau 12 : Concordances et discordances des différentes techniques, en comparaison avec la technique de microdilution manuelle

Les résultats « non acceptables » sont représentés en rouge et en gras

CA = category agreement ; ME = Major Error ; VME = Very Major Error

Méthode	Selon CA-SFM			Selon EUCAST				
	souches S (%) CC = 8mg/L DC = 20mm	CA	ME	VME	souches I (%) CC = 0,001- 16mg/L DC = 50-17mm	CA	ME	VME
BMD	83%	-	-	-	98%	-	-	-
Vitek-2®	75%	89%	10%	1%	89%	89%	10%	1%
Etest®	83%	98%	1%	1%	95%	97%	3%	0%
Bio-Rad®	83%	98%	2%	0%	93%	95%	5%	0%
i2A®	78%	91%	9%	0%	90%	92%	8%	0%
Oxoid®	83%	98%	2%	0%	95%	95%	4%	1%
BD®	83%	97%	3%	0%	93%	95%	5%	0%

2.5. Sensibilité à la témocilline en fonction du genre bactérien

Toutes les Entérobactérales des genres *Hafnia spp.* (3 souches), *Morganella spp.* (16 souches) et *Providencia spp.* (4 souches) testées se sont révélées sensibles à la témocilline, selon les critères du CA-SFM 2020 V1.1 (Tableau 13 et Tableau 14).

89% des *Citrobacter spp.r.*, 83% des *Enterobacter spp.* et 43% des *Serratia spp.* sont catégorisées sensibles en tenant compte de la concentration critique définie par le CA-SFM 2020 V1.1. (Tableau 13 et Tableau 14).

Suivant la concentration critique proposée par l'EUCAST, seules 2 souches d'*Enterobacter spp.* étaient résistantes.

Tableau 13 : Répartition des CMI en fonction du genre bactérien, par la méthode de microdilution en milieu liquide

La flèche verte représente la concentration critique définie par le CA-SFM 2020 V1.1

La flèche rouge représente la concentration critique définie par l'EUCAST 2020

	n	CMI ₅₀	CMI ₉₀	min	max	Distribution des CMI
<i>Citrobacter sp.</i>	9	4	16	1	16	
<i>Serratia sp.</i>	7	16	16	4	16	

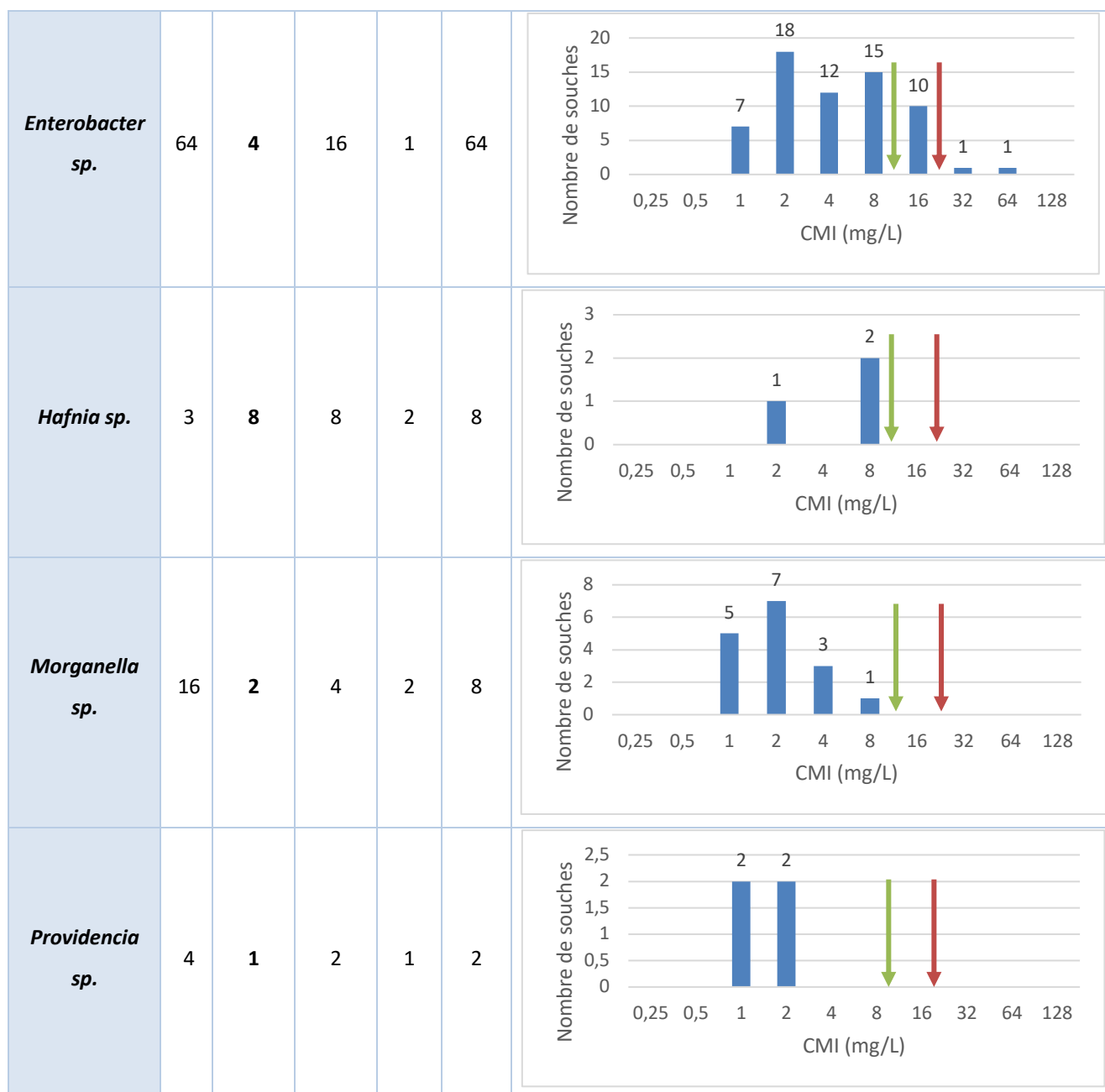


Tableau 14 : Sensibilité des souches d'Entérobactérales du groupe III en fonction du genre bactérien

Genre bactérien		<i>Citrobacter</i>	<i>Serratia</i>	<i>Enterobacter</i>	<i>Hafnia</i>	<i>Morganella</i>	<i>Providencia</i>
Total		9	7	64	3	16	4
CA-SFM (S ≤ 8 mg/L)	Nombre de souches « S »	8 (89%)	3 (43%)	53 (83%)	3 (100%)	16 (100%)	4 (100%)
EUCAST (I ≤ 16mg/L)	Nombre de souches « I »	9 (100%)	7 (100%)	62 (97%)	3 (100%)	16 (100%)	4 (100%)

2.6. Sensibilité à la témocilline en fonction du mécanisme de résistance acquis aux β -lactamines.

En considérant la concentration critique du CA-SFM 2020 V1.1, 97% (56/58) des Entérobactérales sauvages étaient sensibles à la témocilline, contre 69% (9/13) des Entérobactérales productrices de BLSE, et 67% (20/30) des souches hyperproductrices de céphalosporinase.

Selon la concentration critique proposée par l'EUCAST, 100% des Entérobactérales sauvages, productrices de pénicillinases ou de BLSE sont « Intermédiaires ». 93% des souches (28/30) exprimant avec une céphalosporinase à haut niveau sont « intermédiaires ». Les 2 seules souches qui ont été classées « résistantes » sont des *Enterobacter aerogenes* hyperproduisant leur céphalosporinase naturelle (Figure 21 ; Tableau 15).

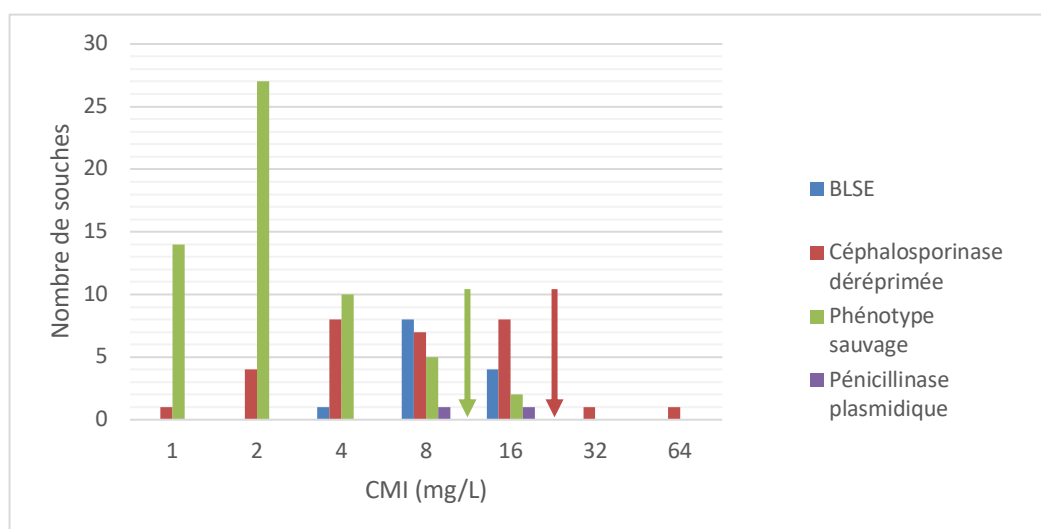


Figure 21 : Répartition des CMI de la témocilline en fonction du mécanisme de résistance aux β -lactamines, selon la méthode de microdilution en milieu liquide (méthode de référence)

La flèche verte représente la concentration critique définie par le CA-SFM 2020 V1.1.

La flèche rouge représente la concentration critique définie par l'EUCAST 2020.

Tableau 15 : Sensibilité des souches d'Entérobactérales du groupe III en fonction du mécanisme de résistance aux β -lactamines

Mécanisme de résistance aux β -lactamines		BLSE	Céphalosporinase déréprimée	Sauvage	Pénicillinase
		n= 13	n= 30	n= 58	n= 2
CA-SFM (S \leq 8 mg/L)	Nombre de souches « S »	9 (69%)	20 (67%)	56 (97%)	1 (50%)
EUCAST (I \leq 16mg/L)	Nombre de souches « I »	13 (100%)	28 (93%)	58 (100%)	2 (100%)

DISCUSSION

La témocilline est un antibiotique ancien qui connaît un regain d'intérêt en lien avec l'émergence actuelle de bactéries multirésistantes.

Son spectre limité (quasiment aux seules Entérobactérales) et sa bonne tolérance en font une molécule de choix pour le traitement des infections urinaires à Entérobactérales sensibles, notamment les Entérobactérales productrices de BLSE, dans le cadre de la stratégie d'épargne des carbapénèmes.

Les études actuelles sur la témocilline sont essentiellement ciblées sur la sensibilité des germes les plus fréquemment isolés dans les IU : *E. coli* et *K. pneumoniae*, productrices ou non de BLSE. Peu d'études portent sur la sensibilité des Entérobactérales du groupe III à la témocilline, et par manque de données sur ces espèces, l'EUCAST a restreint les concentrations critiques de la témocilline à *E. coli*, *Klebsiella spp.* (sauf *K. aerogenes*) et *P. mirabilis*.

Notre objectif a donc été d'étudier la sensibilité à la témocilline des Entérobactérales du groupe III, afin de déterminer si la témocilline pourrait être utilisée dans le traitement d'infection dues à ces espèces.

Nous avons également évalué l'impact de la méthode de détermination de la sensibilité de routine sur la catégorisation clinique de ces souches selon les critères du CA-SFM et de l'EUCAST.

1. Nouvelles concentrations critiques de l'EUCAST controversées

Les concentrations critiques proposées par l'EUCAST en 2020 suite à une consultation générale classent désormais les isolats ayant des CMI ≤ 16 mg/L intermédiaires à la témocilline (ou sensibles à forte posologie).

Ces nouvelles concentrations critiques sont cependant contestables, semblant trop « prudentes » pour beaucoup de microbiologistes (EUCAST, 2019b). En effet, la témocilline est utilisée en Belgique depuis plus de 30 ans. Si dans un premier temps, la concentration critique

de Fuchs a été retenue ($S \leq 16$ mg/L), depuis, c'est le seuil de 8 mg/L qui est principalement utilisé. Malgré une augmentation de l'utilisation, aucune augmentation de la résistance et ni de défaut d'efficacité n'ont été signalés en utilisant le schéma standard actuel de témocilline (EUCAST, 2019B).

Ainsi, rendre la témocilline « sensible à forte dose » inciterait la plupart des cliniciens à ne pas l'utiliser, ce qui risque d'augmenter la consommation de carbapénèmes pour le traitement des infections à Entérobactérales productrices de BLSE, et d'avoir de lourdes conséquences en termes de lutte contre la résistance aux antimicrobiens.

De plus, les concentrations critiques proposées par l'EUCAST sont limitées aux espèces *E. coli*, *Klebsiella spp.* (excepté *K. aerogenes*) et *P. mirabilis*. Des données suggèrent pourtant que l'utilisation de la témocilline serait possible pour le traitement d'infections liées à d'autres espèces d'Entérobactérales. Dans l'étude de Balakrishnan *et al.*, la témocilline (à 2 g toutes les 12 h) est apparue très efficace dans le traitement des IU liées à des Entérobactérales, alors que *E. coli* ne représentait que 55% des isolats et 16% des isolats étaient des *Enterobacter spp.* (BALAKRISHNAN ET AL., 2011).

2. Méthodologie de notre étude

Nous avons choisi de recueillir prospectivement les souches d'Entérobactérales du groupe III isolées de prélèvements urinaires, de prélèvements respiratoires, et d'hémoculture, afin de correspondre aux indications de la témocilline. Seuls les prélèvements répondant à des critères biologiques d'infection et monomicrobiens ont été sélectionnés, de façon à s'assurer que les souches testées étaient responsables de l'infection.

Pour répondre à l'objectif d'évaluer la fiabilité des méthodes de laboratoire, les quatre méthodes d'évaluation de la sensibilité à la témocilline ont été réalisées simultanément, à partir du même inoculum, selon les recommandations du CLSI (CLINICAL AND LABORATORY STANDARDS INSTITUTE, 2018; HUMPHRIES ET AL., 2018). Cette méthodologie permet de comparer de manière fiable ces méthodes, et d'éviter des résultats discordants entre les méthodes qui pourraient être dus à une conservation différente des souches ou à des inocula différents d'une méthode à l'autre.

Cependant, effectuer les quatre méthodes à partir du même inoculum a été très lourd en termes de manipulations, notamment pour respecter les délais recommandés pour chaque méthode (moins de 15 minutes entre la réalisation de la suspension bactérienne et la mise à l'étuve de la plaque de microdilution par exemple). Pour répondre à ces contraintes, nous avons travaillé en binôme, une personne effectuant la méthode par diffusion en milieu gélosé, et l'autre les manipulations du VITEK-2® et de microdilution en milieu liquide. De plus, nous avons choisi d'encadrer chaque série de manipulations par 2 souches de contrôle qualité, testées pour chacune des méthodes, même si l'EUCAST n'avait pas encore émis de recommandations concernant les souches de contrôle à utiliser.

En effet, dans la littérature, certaines études proposaient l'utilisation des souches de contrôle *E. coli* ATCC®25922™ (souche sauvage) et ATCC®35218™ (souche productrice de pénicillinase), associées à des limites acceptables. Ainsi, Vanstone et al. proposaient des diamètres cibles à 20 mm +/-1 mm pour la souche 25922 et 25 mm +/-1 mm pour la souche 35218 (VANSTONE ET AL., 2013). Dans l'étude d'Andrews et al., la souche 25922, dont la sensibilité a été testée à 100 reprises par la méthode des disques (Oxoid®), présentait des diamètres d'inhibition compris entre 16 et 21 mm (ANDREWS ET AL., 2007). Par la suite, Maurissen et al. ont suggéré l'utilisation préférentielle de la souche 35218 comme contrôle de qualité pour la témocilline par rapport à la souche 25922. En effet, par analyse de 420 mesures indépendantes, les gammes de diamètres mesurés s'étendaient de 19 à 28 mm (CMI de 2 à 6 mg/L) pour la souche 35218, contre 12 à 25 mm (CMI de 3 à 24 mg/L) pour la souche 2592 (MAURISSEN ET AL., 2015). Les valeurs obtenues pour la souche 35218 avaient ainsi une plus faible variabilité, et ne chevauchaient pas l'E-COFF (8 mg/L).

En Avril 2020, l'EUCAST a proposé des limites acceptables pour la témocilline concernant la souche 25922 (EUCAST 2020). Notons que les limites acceptables proposées de CMI et de diamètre (jusqu'à 32mg/L et 16 mm) peuvent classer la souche comme « résistante », alors que celle-ci présente un phénotype sauvage.

Tableau 16 : Valeurs de CQ proposé par l'EUCAST pour la souche *E. coli* ATCC®25922™

Organisms	MIC (mg/L)		Disk content (µg)	Inhibition zone diameter (mm)	
	Target	Range		Target	Range
<i>E. coli</i> ATCC 25922	16	8-32	30	19	16-22 ¹

Dans notre étude, pour la souche 25922, 100% des CQ étaient conformes par la méthode des disques selon les limites proposées par l'EUCAST. Pour les méthodes de détermination de la CMI, 90% (27/30), 96% (22/23) et 93% (21/24) de conformité était observé pour les méthodes BMD, ETEST® et VITEK-2® respectivement.

Pour la souche 35218, nous avons observé des diamètres plus importants que ceux obtenus par Maurissen et al., ainsi qu'une plus grande variabilité de ceux-ci (de 22 à 30 mm). Les CMI mesurées étaient également légèrement inférieures (1 à 4 mg/L par méthode BMD) à celles recommandées par Maurissen et al (2 à 6mg/L). Les valeurs de Maurissen et al. ne faisant pas office de référentiel, et l'EUCAST n'ayant pas encore fourni de valeurs de CQ au moment où nous avons réalisé nos tests de sensibilité, les séries de manipulations pour lesquelles les CQ étaient non conformes ont quand même été validés.

3. Comparaison des méthodes d'études de la sensibilité à la témocilline

Nous avons observé une bonne corrélation de la méthode ETEST® (CA de 98% et EA de 94%) avec la méthode de référence, comme cela a déjà été constaté dans plusieurs études (ALEXANDRE ET AL., 2018; PATEL ET AL., 2013; RODRIGUEZ-VILLALOBOS ET AL., 2009).

Au contraire, nos résultats suggéraient une surestimation de la résistance à la témocilline avec l'automate VITEK-2® (10% de ME), incitant à confirmer une résistance détectée au VITEK-2® par la méthode ETEST®. De la même façon, Patel et al. ont évalué les CMI à la témocilline de 246 souches d'Entérobactérales diverses par automate Phoenix® (BD, autre méthode automatisée de détermination de la CMI en milieu liquide), ETEST®, et BMD, et ont conclu que les résultats «sensibles» produits par le système Phoenix® sont fiables, mais que les isolats classés résistants doivent être retestés par une autre méthode (PATEL ET AL., 2013). Rodriguez-Villalobos et al. n'ont pas observé cette discordance entre les méthodes en comparant la

sensibilité de 153 souches d'*E. coli* par VITEK-2® (2% de ME au seuil de 16 mg/L), ETEST® et méthode des disques comparativement avec la méthode de dilution en milieu gélosé (Rodriguez-Villalobos et al., 2009).

Par ailleurs, dans notre étude, une souche a été classée faussement sensible par la méthode VITEK-2® (CMI estimée à 4 mg/L par l'automate mais égale à 64 mg/L par la méthode de référence). La résistance de cette souche a bien été détectée par les autres méthodes (CMI déterminée par ETEST® de 24 mg/L, et diamètres inférieurs à 16mm pour l'ensemble des disques). Cette souche a été retestée 2 fois (une fois par les quatre méthodes, et une fois par méthode VITEK-2® uniquement), confirmant le caractère sensible estimé par VITEK-2®.

La méthode des disques semblait également surestimer la résistance des souches de notre étude (ME entre 4 et 8% selon les fournisseurs), et ce de façon plus marquée pour le fournisseur i2A®. Duployez et al. ont observé également une sous-estimation de la sensibilité avec la méthode des disques (fournisseur Oxoid®). En effet, par analyse de 157 souches d'*E. coli* et 95 souches de *K. pneumoniae* productrices de BLSE, respectivement 61,1% et 67,4% des souches étaient sensibles par la méthode des disques, alors que par ETEST® ce pourcentage s'élevait à 71,3% et 77,9%.

A l'inverse, Andrews et al. ont évalué la sensibilité à la témocilline de 460 souches d'Entérobactérales, en comparant les CMI obtenues par la méthode de dilution en milieu gélosé et les diamètres obtenus par la méthode des disques (Oxoid®). Ils ont rapporté 2,2% de ME et 2,6% de VME, et 1,1% de ME et 0,4% de VME en considérant les seuils de la BSAC systémique (8 mg/L) et urinaire (32 mg/L), respectivement. Les 12 souches classées faussement sensibles au seuil de 8 mg/L étaient 1 *Klebsiella spp.*, 1 *Citrobacter spp.* et 10 *Serratia spp.* (CMI = 16mg/l). Ce taux élevé de fausse sensibilité en disque observé avec *Serratia* suggérait qu'une détermination de la CMI serait plus appropriée pour ce genre bactérien (ANDREWS ET AL., 2007).

Le problème de non-équivalence des disques selon le fournisseur a déjà été rapporté par Ahman et al., qui, dans 2 études successives en 2014 et 2017, ont évalué la qualité des disques de 9 fabricants. Des différences importantes de diamètre d'inhibition ont notamment été

observées pour les disques d'amoxicilline-acide clavulanique de 3 fournisseurs, pour lesquels les diamètres étaient en dehors des seuils acceptables (ÅHMAN ET AL., 2019).

Par la méthode des disques et par ETEST[®], nous avons observé la présence de colonies à l'intérieur des diamètres et des ellipses d'inhibition, sans pour autant en tenir compte pour l'interprétation des résultats. Ces colonies ont également été constatées dans d'autres études. En effet, Duployez et al ont observé ce phénomène cinq fois sur 15 tests pour la souche *E. coli* ATCC 25922 avec les disques du fournisseur Oxoïd[®] (DUPLOYEZ ET AL., 2019).

Maurissen et al. ont également décrit ces colonies dans 69% des 420 tests de sensibilités d'*E. coli* ATCC 25922 effectués par la méthode des disques (avec les fournisseurs BD[®] et Thermo-Fisher[®], et dans 51% des tests concernant la souche d'*E. coli* ATCC 35218. Ces colonies étaient également observées autour des ETEST[®] dans 53% des observations avec *E. coli* ATCC 25922, et 56% avec *E. coli* ATCC 35218 (MAURISSEN ET AL., 2015).

Dans ces 2 études, ces colonies ont été remises en culture puis retestées, et étaient résistantes à la témocilline. D'autres études seraient nécessaires pour comprendre le mécanisme de la résistance acquise à la témocilline par ces colonies, afin d'établir si cette résistance est acquise *in vitro* seulement ou si elle peut affecter l'efficacité clinique.

En Avril 2020, l'EUCAST a statué et a recommandé de ne pas tenir compte des colonies à l'intérieur du diamètre d'inhibition (COMITE EUROPEEN SUR LES TESTS DE SENSIBILITE AUX ANTIMICROBIENS. EUCAST CLINICAL BREAKPOINTS FOR TEMOCILLIN, AVRIL 2020. [HTTPS://EUCAST.ORG](https://eucast.org)).

Il serait intéressant, pour compléter cette étude, d'étudier l'impact du fournisseur de géloses MH sur la détermination de la sensibilité à la témocilline, ainsi que de tester d'autres méthodes automatisées (Phoenix[®], Microscan[®], Sensititre[®]).

4. Sensibilité des Entérobactérales du groupe III à la témocilline

83% des souches d'Entérobactérales du groupe III de notre série étaient sensibles à la témocilline à la concentration critique de 8 mg/L (CA-SFM 2020 V1.1) et 98% à la concentration critique de 16 mg/L (EUCAST 2020).

Ces résultats sont proches des taux de sensibilité à la témocilline de souches d'*E. coli* observés dans la littérature. En effet, une étude coréenne a rapporté 89,3% (à la CC de 8 mg/L) et 96,8% (à la CC de 16 mg/L) de sensibilité à la témocilline parmi les 346 souches d'*E. coli* isolées d'hémocultures et d'ECBU chez des patients hospitalisés (SEO ET AL., 2014). Ce pourcentage s'avère supérieur à celui des *E. coli* d'une étude iranienne qui a évalué la sensibilité à la témocilline de 500 souches (231 *E. coli* et 269 *K. pneumoniae*) isolées de prélèvements urinaires. 52% des souches étaient sensibles à la témocilline à la CC de 8 mg/L, et 94% à la CC de 32 mg/L, sans différence de sensibilité significative entre les 2 espèces. Cependant, le soucier iranien ne présentait pas les mêmes caractéristiques que le nôtre en termes de mécanismes de résistance aux β -lactamines, avec notamment 5% de souches productrices de carbapénémases, rendant difficile la comparaison entre les 2 études (RAHBAR ET AL., 2020). Par contre, notre pourcentage de sensibilité s'avère inférieur aux chiffres de sensibilité d'*E. coli* isolées d'IU communautaires de 98% (à la CC de 8mg/L) (ALEXANDRE ET AL., 2018).

4.1 Sensibilité en fonction du genre bactérien

Dans notre étude, le pourcentage de sensibilité à la témocilline variait en fonction du genre bactérien, en considérant les concentrations critiques du CA SFM 2020 V1.1, mais ceci devra être confirmé sur un plus grand nombre de souches.

Les genre *Morganella spp.*, *Hafnia spp.* et *Providencia spp.* semblaient plus sensibles, avec des CMI ne dépassant pas 8 mg/L. Des valeurs semblables de CMI sont retrouvées dans la littérature (ANDREWS ET AL., 2007 ; JULES AND NEU, 1982 ; MALOTKE AND POTEL, 1985 ; SLOCOMBE ET AL., 1981), mais le faible nombre de souches de ces genres testées dans notre étude (n=4) ne permet pas de tirer des conclusions solides.

Les *Serratia spp.* sont connues pour être moins sensibles à la témocilline que les autres Entérobactérales, avec des CMI₉₀ de 32, 25 et >256 mg/L selon 3 études, respectivement (MALOTKE AND POTEL, 1985)(SLOCOMBE ET AL., 1981)(JULES AND NEU, 1982).

Les 7 souches de *Serratia spp.* de notre série paraissaient plus sensibles, avec une CMI₉₀ identifiée à 16mg/L.

Dans notre étude, les souches les plus résistantes étaient des *Enterobacter aerogenes*, notamment celles présentant une dépression de leur céphalosporinase. Les CMI₉₀ des *Enterobacter spp.* sont assez variables selon les études (4, 8 et 128 selon Clarke, Malottke et Jules). Nous nous situons dans ces valeurs avec une CMI₉₀ de 16mg/L retrouvée pour les 64 *Enterobacter spp.* de notre série (CLARKE AND ZEMCOC, 1983; JULES AND NEU, 1982; MALOTTKE AND POTEL, 1985).

Les CMI₅₀ et CMI₉₀ des *Citrobacters spp.* sont identiques à celle obtenues par Jules et Neu (CMI₅₀ = 4mg/L, CMI₉₀ = 16mg/L), et Andrews et Malottke obtiennent les mêmes intervalles de CMI (CMI_{min} = 1 mg/L, CMI_{max} = 16mg/L) littérature (ANDREWS ET AL., 2007 ; JULES AND NEU, 1982 ; MALOTTKE AND POTEL, 1985)

Tous les genres bactériens avaient une CMI₉₀ inférieure ou égale à 16 mg/L, suggérant la possible utilisation des mêmes concentrations critiques que celles définies par les sociétés savantes.

4.2 Sensibilité en fonction du mécanisme de résistance

Dans notre étude, 69% (9/13) des Entérobactérales du groupe 3 productrices de BLSE étaient sensibles à la témocilline selon la concentration critique du CA-SFM, et 100% étaient sensibles à forte dose selon la concentration critique de l'EUCAST.

Le taux de sensibilité obtenu est proche de celui retrouvé dans plusieurs études ayant évalué la sensibilité de souches d'*E. coli* BLSE. Fournier et al. ont ainsi observé que 61% et 99% des 100 souches d'*E. coli* testées étaient sensibles à la témocilline, selon les CC de 8 et 16mg/l respectivement (FOURNIER ET AL., 2013). De la même façon, une étude suédoise portant sur 198 souches d'*E. coli* BLSE concluait à 83% de souches sensibles en considérant la CC de 8mg/L, et 100% des souches sensibles à la CC de 16mg/L (TÄRNBERG ET AL., 2011).

Une étude française testant la sensibilité de souches d'*E. coli* et *K.pneumoniae* producteurs de BLSE responsables d'infections urinaires, observait respectivement 71,3% et 77,9% de souches sensibles à la CC 8 mg/l, et 98,7 % et 98,9 % à la CC de 16 mg/l (DUPLOYEZ ET AL., 2019). Ces

chiffres étaient très comparables à ceux de Glupzunski et al., (652 Entérobactérales, incluant 191 Entérobactérales du groupe 3, avec 68% des souches productrices de BLSE sensibles à la témocilline, et 86% des souches hyperproductrices d'AmpC sensibles, à la CC de 16mg/L) (GLUPCZYNSKI ET AL., 2007).

Au total, le nombre de chaque espèce testées dans notre étude est insuffisant pour conclure, mais ce travail apporte des données préliminaires intéressantes. Il apparait que pour déterminer la sensibilité à la témocilline, la méthode la plus fiable en routine, par rapport à la méthode de référence lourde à mettre en place quand elle n'est pas automatisée, est la détermination de CMI par ETEST®, les autres méthodes testées ayant une tendance à la surestimation de la résistance à la témocilline.

Conclusion et perspectives

Notre étude a évalué la sensibilité à la témocilline de 103 souches d'Entérobactérales du groupe III responsables d'infection, recueillies prospectivement au CHU de Rouen, et la fiabilité de 3 méthodes utilisées en routine par rapport à la méthode de référence.

La comparaison des méthodes d'évaluation incite à confirmer la résistance détectée par l'automate VITEK® ou par la méthode des disques par la détermination d'une CMI par ETEST®.

Contrairement à ce que suggère l'EUCAST, l'activité de la témocilline pourrait être évaluée sur les Entérobactérales du groupe III, lesquelles sont très fréquemment sensibles, même à la concentration critique de 8 mg/L. Il est malgré tout difficile de conclure à une sensibilité selon les genres d'Entérobactérales du groupe III. Nos résultats mériteraient d'être confirmés par l'étude d'un plus grand nombre de souches.

De plus, une étude bactério-clinique serait intéressante afin de corrélérer les résultats de sensibilité observés *in vitro* à l'efficacité thérapeutique *in vivo* en fonction du contexte infectieux.

Bibliographie

Adams-Haduch, J.M., Potoski, B.A., Sidjabat, H.E., Paterson, D.L., and Doi, Y. (2009). Activity of Temocillin against KPC-Producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 53, 2700–2701.

Åhman, J., Matuschek, E., and Kahlmeter, G. (2019). The quality of antimicrobial discs from nine manufacturers—EUCAST evaluations in 2014 and 2017. *Clinical Microbiology and Infection* 25, 346–352.

Alexandre, K., and Fantin, B. (2018). Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Temocillin. *Clin Pharmacokinet* 57, 287–296.

Alexandre, K., Réveillon-Istin, M., Fabre, R., Delbos, V., Etienne, M., Pestel-Caron, M., Dahyot, S., and Caron, F. (2018). Temocillin against Enterobacteriaceae isolates from community-acquired urinary tract infections: low rate of resistance and good accuracy of routine susceptibility testing methods. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 73, 1848–1853.

Andrews, J.M., Jevons, G., Walker, R., Ashby, J., and Fraise, A.P. (2007). Temocillin susceptibility by BSAC methodology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 60, 185–187.

Baert, L., Aswarie, H., Verbist, L., and Horton, R. (1989). Penetration Of Temocillin Into Prostatic Tissue After Intravenous Dosing. *Acta Clinica Belgica* 44, 358–359.

Balakrishnan, I., Awad-El-Kariem, F.M., Aali, A., Kumari, P., Mulla, R., Tan, B., Brudney, D., Ladenheim, D., Ghazy, A., Khan, I., et al. (2011). Temocillin use in England: clinical and microbiological efficacies in infections caused by extended-spectrum and/or derepressed AmpC β -lactamase-producing Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 66, 2628–2631.

Bauernfeind, A. (1985). Bacteriostatic and Bactericidal Activity of Penicillins at Constant and Variable Concentrations: *Drugs* 29, 9–14.

Bolivar, R., Weaver, S.S., and Bodey, G.P. (1982). Comparative in vitro study of temocillin (BRL 17421), a new penicillin. *Antimicrob Agents Chemother* 21, 641–645.

Boon, R.J., and Beale, A.S. (1985). Studies with temocillin in a hamster model of antibiotic-associated colitis. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 27, 980–981.

Brückner, O., Trautmann, M., and Borner, K. (1985). A Study of the Penetration of Temocillin in the Cerebrospinal Fluid: *Drugs* 29, 162–166.

Buyck, J.M., Guenard, S., Plesiat, P., Tulkens, P.M., and Van Bambeke, F. (2012). Role of MexAB-OprM in intrinsic resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to temocillin and impact on

the susceptibility of strains isolated from patients suffering from cystic fibrosis. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 67, 771–775.

Carlet, J., and Le Coz, P. (2015). Propositions du groupe de travail spécial pour la préservation des antibiotiques.

Chalhoub, H., Pletzer, D., Weingart, H., Braun, Y., Tunney, M.M., Elborn, J.S., Rodriguez-Villalobos, H., Plésiat, P., Kahl, B.C., Denis, O., et al. (2017). Mechanisms of intrinsic resistance and acquired susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from cystic fibrosis patients to temocillin, a revived antibiotic. *Sci Rep* 7, 40208.

Clarke, A.M., and Zemcoc, S.J.V. (1983). Comparative *in-vitro* activity of temocillin (BRL 17421), a new penicillin. *J Antimicrob Chemother* 11, 319–324.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2008). Development of in vitro susceptibility testing criteria and quality control parameters; approved guidelines. 3rd ed. Document M23-A3. Wayne, PA: CLSI;

Clinical and Laboratory Standards Institute (2016). M23-A4. Development of In Vitro Susceptibility Testing Criteria and Quality Control Parameters : fourth edition.

Clinical and Laboratory Standards Institute (2018). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria That Grow Aerobically M07 11th Edition.

COMITE EUROPEEN SUR LES TESTS DE SENSIBILITE AUX ANTIMICROBIENS (2019). Redefining susceptibility testing categories S, I and R.

Comité technique des infections nosocomiales et des infections liées aux soins (2007). DEFINITION DES INFECTIONS ASSOCIEES AUX SOINS.

Cowan, W., Baird, A., Sleigh, J.D., Gray, J.M.B., Leiper, J.M., and Lawson, D.H. (1985). Lung Tissue Penetration of Temocillin: *Drugs* 29, 151–153.

De Jongh, R., Hens, R., Basma, V., Mouton, J.W., Tulkens, P.M., and Carryn, S. (2008). Continuous versus intermittent infusion of temocillin, a directed spectrum penicillin for intensive care patients with nosocomial pneumonia: stability, compatibility, population pharmacokinetic studies and breakpoint selection. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 61, 382–388.

De Vries-Hospers, H.G., Hofstra, W., Welling, G.W., and Van der Waaij, D. (1985). Influence of Temocillin on Colonisation Resistance and Consequences for Therapy: *Drugs* 29, 227–233.

Duployez, C., Loïez, C., Cattoen, C., Wallet, F., and Vachée, A. (2019). In vitro activity of temocillin against extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains isolated from urinary tract infections in France. *Médecine et Maladies Infectieuses* 49, 47–53.

EUCAST (2019a). Redefining susceptibility testing categories S, I and R.

EUCAST (2019b). EUCAST General Consultation - Responses to Comments Received. Consultation on Breakpoints for Temocillin.

EUCAST (2020). EUCAST clinical breakpoints for temocillin.

European Centre for Disease Prevention and Control (2018). Surveillance of antimicrobial resistance in Europe.

Flores-Mireles, A.L., Walker, J.N., Caparon, M., and Hultgren, S.J. (2015). Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol* 13, 269–284.

Fournier, D., Chirouze, C., Leroy, J., Cholley, P., Talon, D., Plésiat, P., and Bertrand, X. (2013). Alternatives to carbapenems in ESBL-producing *Escherichia coli* infections. *Médecine et Maladies Infectieuses* 43, 62–66.

Fuchs, P.C., Barry, A.L., Thornsberry, C., and Jones, R.N. (1985). Interpretive criteria for temocillin disk diffusion susceptibility testing. *Eur. J. Clin. Microbiol.* 4, 30–33.

Georgopapadakou, N.H., and Liu, F.Y. (1980). Binding of beta-lactam antibiotics to penicillin-binding proteins of *Staphylococcus aureus* and *Streptococcus faecalis*: relation to antibacterial activity. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 18, 834–836.

Glupczynski, Y., Huang, T.-D., Berhin, C., Claeys, G., Delmée, M., Ide, L., Ieven, G., Pierard, D., Rodriguez-Villalobos, H., Struelens, M., et al. (2007). In vitro activity of temocillin against prevalent extended-spectrum beta-lactamases producing Enterobacteriaceae from Belgian intensive care units. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 26, 777–783.

Gould, J.G., Meikle, G., Cooper, D.L., and Horton, R. (1985). Temocillin Concentrations in Human Tissues: *Drugs* 29, 167–170.

Gravey, F., Cattoir, V., Ethuin, F., Fabre, L., Beyrouthy, R., Bonnet, R., Le Hello, S., and Guérin, F. (2020). *ramR* deletion in an *Enterobacter hormaechei* isolate as a consequence of therapeutic failure to key antibiotics in a long-term hospitalized patient. *Antimicrob Agents Chemother* AAC.00962-20, aac;AAC.00962-20v1.

Habayeb, H., Sajin, B., Patel, K., Grundy, C., Al-Dujaili, A., and Van de Velde, S. (2015). Amoxicillin plus temocillin as an alternative empiric therapy for the treatment of severe hospital-acquired pneumonia: results from a retrospective audit. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 34, 1693–1699.

Hampel, B., Feike, M., Koeppe, P., and Lode, H. (1985). Pharmacokinetics of Temocillin in Volunteers: *Drugs* 29, 99–102.

Haut Conseil de la Santé Publique (2010). Recommandations relatives aux mesures à mettre en œuvre pour prévenir l'émergence des entérobactéries BLSE et lutter contre leur dissémination.

Haut Conseil de la santé publique (2010). Recommandations relatives aux mesures à mettre en œuvre pour prévenir l'émergence des entérobactéries BLSE et lutter contre leur dissémination.

Haute Autorité de Santé (2015). COMMISSION DE LA TRANSPARENCE Avis du 1er Avril 2015 Negaban.

Haute Autorité de Santé (2019). Antibiothérapie des infections à entérobactéries et à *Pseudomonas aeruginosa* chez l'adulte : place des carbapénèmes et de leurs alternatives.

Humphries, R.M., Ambler, J., Mitchell, S.L., Castanheira, M., Dingle, T., Hindler, J.A., Koeth, L., Sei, K., Hardy, D., Zimmer, B., et al. (2018). CLSI Methods Development and Standardization Working Group Best Practices for Evaluation of Antimicrobial Susceptibility Tests. *J Clin Microbiol* 56, e01934-17, /jcm/56/4/e01934-17.atom.

Jehl, F., and Schramm, F. (2013). Implications pratiques des changements de seuils de sensibilité aux bêtalactamines des entérobactéries. *Réanimation* 22, 365–373.

Jehl, F., Chabaud, A., and Grillon, A. (2015). L'antibiogramme : diamètres ou CMI ? *Journal des Anti-infectieux* 17, 125–139.

Jules, K., and Neu, H.C. (1982). Antibacterial activity and beta-lactamase stability of temocillin. *Antimicrob. Agents Chemother.* 22, 453–460.

Kuch, A., Zieniuk, B., Żabicka, D., Van de Velde, S., Literacka, E., Skoczyńska, A., and Hryniewicz, W. (2020). Activity of temocillin against ESBL-, AmpC-, and/or KPC-producing Enterobacterales isolated in Poland. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*

Labia, R., Baron, P., Masson, J.M., Hill, G., and Cole, M. (1984). Affinity of temocillin for *Escherichia coli* K-12 penicillin-binding proteins. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 26, 335–338.

Livermore, D.M., and Tulkens, P.M. (2008). Temocillin revived. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 63, 243–245.

Livermore, D.M., Warner, M., Mushtaq, S., Doumith, M., Zhang, J., and Woodford, N. (2011). What remains against carbapenem-resistant Enterobacteriaceae? Evaluation of chloramphenicol, ciprofloxacin, colistin, fosfomicin, minocycline, nitrofurantoin, temocillin and tigecycline. *International Journal of Antimicrobial Agents* 37, 415–419.

Malottke, R., and Potel, J. (1985). Antibacterial Activity of Temocillin1: *Drugs* 29, 67–73.

Matagne, A., Lamotte-Brasseur, J., Dive, G., Knox, J.R., and Frère, J.M. (1993). Interactions between active-site-serine β -lactamases and compounds bearing a methoxy side chain on the α -face of the β -lactam ring: kinetic and molecular modelling studies. *Biochemical Journal* 293, 607–611.

Matzneller, P., Ngougni Pokem, P., Capron, A., Lackner, E., Wulkersdorfer, B., Nussbaumer-Pröll, A., Österreicher, Z., Duchek, M., Van de Velde, S., Wallemacq, P.E., et al. (2020). Single-dose pharmacokinetics of temocillin in plasma and soft tissues of healthy volunteers after intravenous and subcutaneous administration: a randomized crossover microdialysis trial. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* dkaa176.

Maurissen, W., Sutter, G.D., Beenhouwer, H.D., Frans, J., Abeele, A.-M.V. den, Cartuyvels, R., Laffut, W., Vandecandelaere, P., and Coppens, G. (2015). Establishing quality control ranges for temocillin following CLSI-M23-A3 guideline. *Acta Clinica Belgica* 70, 11–15.

Ministère chargé de la Santé (2016). Plan national d’alerte sur les antibiotiques.

Mittermayer, H.W. (1985). Influence of Temocillin on Human Bowel Flora: *Drugs* 29, 43–48.

Nicolas-Chanoine, M.-H., Mayer, N., Guyot, K., Dumont, E., and Pagès, J.-M. (2018). Interplay Between Membrane Permeability and Enzymatic Barrier Leads to Antibiotic-Dependent Resistance in *Klebsiella Pneumoniae*. *Front. Microbiol.* 9, 1422.

Overbosch, D., van Gulpen, C., and Mattie, H. (1985). Renal Clearance of Temocillin in Volunteers: *Drugs* 29, 128–134.

Patel, T.A., Dilley, R., Williams, A., Vanstone, G.L., and Balakrishnan, I. (2013). Comparison of the Phoenix automated system, the Etest method and broth microdilution in determining temocillin susceptibility of Enterobacteriaceae. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 68, 1685–1686.

Quentin-Noury, C. (2016). Automatisation de l’antibiogramme au laboratoire de bactériologie. *Revue Francophone des Laboratoires* 2016, 49–59.

Rahbar, M., Van de Velde, S., Eslami, P., and Mardani, M. (2020). Activity of temocillin and comparators against urinary *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* from Iran. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 39, 1793–1796.

Réseau ATB-Raisin (2018). SURVEILLANCE DE LA CONSOMMATION DES ANTIBIOTIQUES - Résultats 2016.

Réseau BMR-Raisin, France (2017). SURVEILLANCE DES BACTÉRIES MULTIRÉSISTANTES DANS LES ÉTABLISSEMENT DE SANTÉ.

Rodriguez-Villalobos, H., Malaviolle, V., Frankard, J., Mendonça, R. de, Nonhoff, C., and Struelens, M.J. (2006). In vitro activity of temocillin against extended spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 57, 771–774.

Rodriguez-Villalobos, H., Cardentey-Reyes, A., Thiroux, C., Nonhoff, C., and Struelens, M.J. (2009). Comparison of four commercial methods for determining temocillin susceptibility of *Escherichia coli*. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 63, 832–834.

Sacco, M.D., Kroeck, K.G., Kemp, M.T., Zhang, X., Andrews, L.D., and Chen, Y. (2019). Influence of the α -Methoxy Group on the Reaction of Temocillin with *Pseudomonas aeruginosa* PBP3 and CTX-M-14 β -Lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 64.

Seo, M.-R., Kim, S.-J., Kim, Y., Kim, J., Choi, T.Y., Kang, J.O., Wie, S.-H., Ki, M., Cho, Y.K., Lim, S.-K., et al. (2014). Susceptibility of *Escherichia coli* from Community-Acquired Urinary Tract Infection to Fosfomycin, Nitrofurantoin, and Temocillin in Korea. *J Korean Med Sci* 29, 1178.

Slocombe, B., Basker, M.J., Bentley, P.H., Clayton, J.P., Cole, M., Comber, K.R., Dixon, R.A., Edmondson, R.A., Jackson, D., Merrikin, D.J., et al. (1981). BRL 17421, a novel beta-lactam antibiotic, highly resistant to beta-lactamases, giving high and prolonged serum levels in humans. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 20, 38–46.

Société Française de Microbiologie (2019). Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie Recommandations 2019 V.2.0.

Soubirou, J.-F. (2013). Témocilline, une alternative aux carbapénèmes pour traiter les infections à entérobactéries résistantes aux C3G ? *Journal des Anti-infectieux* 15, 60–70.

Soubirou, J.F., Rossi, B., Couffignal, C., Ruppé, E., Chau, F., Massias, L., Lepeule, R., Mentre, F., and Fantin, B. (2015). Activity of temocillin in a murine model of urinary tract infection due to *Escherichia coli* producing or not producing the ESBL CTX-M-15. *J. Antimicrob. Chemother.* 70, 1466–1472.

Spelsberg, F., Bauernfeind, A., Wiest, W., and Hanser, P. (1985). Biliary Concentrations of Temocillin: *Drugs* 29, 122–127.

SPILF (2015). Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte.

Stapleton, P., Shannon, K., and Phillips, I. (1995). The ability of beta-lactam antibiotics to select mutants with derepressed beta-lactamase synthesis from *Citrobacter freundii*. *J Antimicrob Chemother* 36, 483–496.

Tärnberg, M., Östholm-Balkhed, Å., Monstein, H.-J., Hällgren, A., Hanberger, H., and Nilsson, L.E. (2011). In vitro activity of beta-lactam antibiotics against CTX-M-producing *Escherichia coli*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 30, 981–987.

The Belgian Antibiotic Policy Coordination Committee (BAPCOC) (2017). Recommandations de traitements anti-infectieux en milieu hospitalier élaborées par la SBIMC.

Tsakris, A., Koumaki, V., Politi, L., and Balakrishnan, I. (2020). Activity of temocillin against KPC-producing Enterobacteriaceae clinical isolates. *International Journal of Antimicrobial Agents* 55, 105843.

Vanstone, G.L., Dilley, R., Schwenk, S., Williams, A., and Balakrishnan, I. (2013). Temocillin disc diffusion susceptibility testing by EUCAST methodology. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 68, 2688–2689.

Verbist, L. (1982). In vitro activity of temocillin (BRL 17421), a novel beta-lactamase-stable penicillin. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy* 22, 157–161.

Wise, R., Donovan, I.A., Drumm, J., Dyas, A., and Cross, C. (1983). The intraperitoneal penetration of temocillin. *J Antimicrob Chemother* 12, 93–96.

Woodford, N., Pike, R., Meunier, D., Loy, R., Hill, R., and Hopkins, K.L. (2014). In vitro activity of temocillin against multidrug-resistant clinical isolates of *Escherichia coli*, *Klebsiella* spp. and *Enterobacter* spp., and evaluation of high-level temocillin resistance as a diagnostic marker for OXA-48 carbapenemase. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy* 69, 564–567.

Annexe

Annexe 1 : calcul des erreurs de catégories et des accords de catégories

(ISSU DE HUMPHRIES ET AL., 2018)

Supplemental Table 1. Calculation of Method Comparison Agreement and Error Categories and Acceptable Criteria

Agreement or Error Category	Calculation Formula	Calculation Formula Terms	Acceptance Criteria ¹
Category Agreement (CA)	$N_{CA}/NT \times 100$	N_{CA} – number of isolates with an AST Result with the same categorical interpretation as reference method NT – number of isolates tested	$\geq 90\%$ CA
Essential Agreement (EA)	$N_{EA}/NT \times 100$	N_{EA} – number of isolates with the same or within one doubling dilution MIC value as the reference method NT – number of isolates with same or within one doubling dilution MIC value as the reference method	$\geq 90\%$ EA
Minor Error (mE)	$N_{ME}/NT \times 100$	N_{ME} – number of isolates having minor errors NT – number of isolates tested	$\leq 10\%$ mE
Major Error (ME)	$N_{ME}/N_{RefS} \times 100$	N_{ME} – number of isolates that yielded false-resistant results N_{RefS} – number of isolates susceptible by the reference method	$< 3\%$ ME
Very Major Error (VME)	$N_{VME}/N_{RefR} \times 100$	N_{VME} – number of isolates that tested false-susceptible N_{RefR} – number of isolates resistant by the reference method	$< 3\%$ VME ²

Annexe 2 : Souches d'Entérobactérales du groupe III recueillies pour notre étude et démographie des patients

n° inclusion	Sexe	Age (années)	Service d'hospitalisation	Origine de l'infection	Type de prélèvement	Espèce isolée	Mécanisme de résistance aux β -lactamines
1	F	59	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	Sauvage
2	H	45	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	BLSE
3	F	75	Chirurgie	IAS	Urines	<i>citrobacter freundii</i> complex	Sauvage
4	F	84	Services d'Urgences	Communautaire	Hémoculture	<i>Hafnia alvei</i>	Céphalosporinase déréprimée
5	F	35	Soins intensifs	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	Sauvage
6	H	47	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
7	H	98	SSR	IAS	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
8	H	52	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	BLSE
9	H	57	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sauvage
10	H	52	SSR	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae</i>	BLSE
11	F	64	SSR	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae</i>	Céphalosporinase déréprimée
12	F	89	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	Sauvage
13	F	94	Services d'Urgences	Communautaire	Urines	<i>Providencia stuartii</i>	Sauvage
14	H	66	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	Sauvage
15	H	83	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage
16	F	86	Services de médecine	IAS	Hémoculture	<i>citrobacter freundii</i> complex	Sauvage
17	H	74	Soins intensifs	IAS	PBDP	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage
18	H	95	Services d'Urgences	Communautaire	Urines	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	Céphalosporinase déréprimée
19	F	58	Services de médecine	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sauvage
20	F	64	Services de médecine	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Céphalosporinase déréprimée
21	F	66	SSR	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	Céphalosporinase déréprimée
22	H	63	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage
23	H	75	Chirurgie	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sauvage
24	F	61	Services de médecine	Communautaire	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae</i> complex	Sauvage
25	H	68	Services de médecine	IAS	Hémoculture	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
26	H	69	Services d'Urgences	Communautaire	Urines	<i>Providencia rettgeri</i>	Sauvage

27	F	85	Services d'Urgences	Communautaire	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
28	H	57	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sauvage
29	H	89	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Serratia marcescens</i>	Sauvage
30	F	94	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Citrobacter freundii complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
31	H	71	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
32	H	80	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
33	H	69	Chirurgie	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	BLSE
34	H	73	SSR	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
35	F	58	Services de médecine	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
36	F	64	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
37	F	38	Chirurgie	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
38	F	63	Soins intensifs	IAS	Urines	<i>citrobacter freundii complex</i>	Sauvage
39	H	66	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	BLSE
40	H		Services de médecine	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
41	H	71	Services d'Urgences	Communautaire	Urines	<i>Providencia rettgeri</i>	Sauvage
42	H	61	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
43	F	25	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sauvage
44	H	54	Chirurgie	IAS	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
45	H	73	SSR	IAS	Urines	<i>Providencia stuartii</i>	Sauvage
46	H	28	SSR	IAS	Urines	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sauvage
47	H	91	Services d'Urgences	IAS	Urines	<i>Citrobacter freundii</i>	Céphalosporinase déréprimée
48	F	0	Chirurgie	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
49	F	73	SSR	IAS	Urines	<i>citrobacter freundii complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
50	H	76	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Céphalosporinase déréprimée
51	H	48	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Céphalosporinase déréprimée
52	H	67	SSR	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Pénicillinase
53	H	70	Services de médecine	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sauvage
54	H	67	Services de médecine	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	BLSE
55	H	90	Services d'Urgences	Communautaire	Urines	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Céphalosporinase déréprimée
56	H	75	Services de médecine	IAS	Hémoculture	<i>Serratia marcescens</i>	Céphalosporinase déréprimée
57	H	44	Chirurgie	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sauvage
58	H	63	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>citrobacter freundii complex</i>	Sauvage

59	F	42	SSR	IAS	Urines	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sauvage
60	H	68	Soins intensifs	IAS	PBDP	<i>Hafnia alvei</i>	Sauvage
61	F	54	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
62	H	49	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Céphalosporinase déréprimée
63	F	71	Services de médecine	Communautaire	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
64	H	74	Services de médecine	Communautaire	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	BLSE
65	H	58	SSR	IAS	Urines	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Sauvage
66	F	31	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
67	F	51	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>citrobacter freundii complex</i>	Sauvage
68	H	82	SSR	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Céphalosporinase déréprimée
69	H	65	Soins intensifs	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	BLSE
70	H	73	Services d'Urgences	communautaire	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
71	H	77	Chirurgie	IAS	Urines	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Céphalosporinase déréprimée
72	H	71	Services de médecine	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
73	H	84	SSR	IAS	Urines	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Céphalosporinase déréprimée
74	F	60	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae</i>	BLSE
75	F	79	Services d'Urgences	Communautaire	Hémoculture	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
76	F	57	Soins intensifs	Communautaire	Hémoculture	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
77	F	62	Soins intensifs	IAS	PBDP	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	BLSE
78	F	50	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Céphalosporinase déréprimée
79	F	63	Chirurgie	IAS	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
80	H	75	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
81	F	72	SSR	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	BLSE
82	H	65	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
83	H	50	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
84	F	84	SSR	IAS	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
85	H	96	SSR	Communautaire	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
86	H		Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Céphalosporinase déréprimée
87	F	84	SSR	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
88	F	46	Services de médecine	IAS	Urines	<i>Hafnia alvei</i>	Sauvage
89	H	59	Services d'Urgences	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	BLSE
90	H	52	Soins intensifs	IAS	Urines	<i>Serratia marcescens</i>	BLSE
91	H	78	Services de médecine	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage

92	H	67	Soins intensifs	IAS	PBDP	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Céphalosporinase déréprimée
93	F	90	Services de médecine	Communautaire	Hémoculture	<i>Serratia marcescens</i>	Céphalosporinase déréprimée
94	H	73	Services d'Urgences	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
95	H	59	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Citrobacter freundii complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
96	H	63	SSR	IAS	Urines	<i>Enterobacter cloacae</i>	Pénicillinase
97	H	79	Services d'Urgences	Communautaire	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
98	F	69	Soins intensifs	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
99	F	86	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Céphalosporinase déréprimée
100	H	71	Chirurgie	IAS	Hémoculture	<i>Enterobacter cloacae complex</i>	Sauvage
101	H	77	SSR	IAS	Hémoculture	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
102	F	95	SSR	Communautaire	Urines	<i>Morganella morganii</i>	Sauvage
103	F	58	Services de médecine	Communautaire	Urines	<i>Enterobacter aerogenes</i>	Céphalosporinase déréprimée

Annexe 3 : Résultats des contrôles de qualités des souches d' *E. coli* ATCC®25922™ et ATCC®35218™ par
(a) microdilution (BMD), ETEST®, VITEK-2®
(b) diffusion en milieu gélosé.

(a)

Souche de CQ	CMI (mg/L) déterminée par la méthode de microdilution (BMD)					
	Nombre de tests	Médiane (mg/L)	Min (mg/L)	Max (mg/L)	Tests dans l'intervalle	Tests en dehors de l'intervalle
<i>E. coli</i> ATCC®25922™ (selon EUCAST)	30	8	3	16	27	3
<i>E. coli</i> ATCC®25922™ (selon Maurissen)					28	2
<i>E. coli</i> ATCC®35218™ (selon Maurissen)	30	2	1	4	25	3
Souche de CQ	CMI (mg/L) déterminée par ETEST®					
	Nombre de tests	Médiane (mg/L)	Min (mg/L)	Max (mg/L)	Tests dans l'intervalle	Tests en dehors de l'intervalle
<i>E. coli</i> ATCC®25922™ (selon EUCAST)	23	8	6	12	22	1
<i>E. coli</i> ATCC®25922™ (selon Maurissen)					22	1
<i>E. coli</i> ATCC®35218™ (selon Maurissen)	23	3	2	4	23	0
Souche de CQ	CMI (mg/L) estimée par VITEK-2					
	Nombre de tests	Médiane (mg/L)	Min (mg/L)	Max (mg/L)	Tests dans l'intervalle	Tests en dehors de l'intervalle
<i>E. coli</i> ATCC®25922™ (selon EUCAST)	24	non calculable	≤4	16	21	3
<i>E. coli</i> ATCC®25922™ (selon Maurissen)					NA	NA
<i>E. coli</i> ATCC®35218™ (selon Maurissen)	24	≤4	≤4	≤4	NA	NA

E. coli ATCC®25922™ (selon EUCAST 2020) : cible = 16 mg/L ; intervalle = 8 – 32 mg/L

L'EUCAST 2020 ne recommande pas d'utiliser la souche *E. coli* ATCC®35218™

E. coli ATCC®25922™ (selon Maurissen) : intervalle = 3 – 24 mg/L

E. coli ATCC®35218™ (selon Maurissen) : intervalle = 2 – 6 mg/L

(b)

Souche de CQ	<i>E. coli</i> ATCC®25922™					<i>E. coli</i> ATCC®35218™				
	Nombre de tests	Médiane (mm)	Min (mm)	Max (mm)	Tests dans l'intervalle / hors intervalle Selon EUCAST 2020	Tests dans l'intervalle / hors intervalle Selon Maurissen	Médiane (mm)	Min (mm)	Max (mm)	Tests dans l'intervalle / hors intervalle Selon Maurissen
Fournisseurs de disques :										
(BD®)	24	20	17	21	24 / 0	24 / 0	25	24	30	21 / 3
(Bio-Rad®)	24	20	17	22	24 / 0	24 / 0	26	24	29	21 / 3
(iZA®)	24	19	16	21	24 / 0	24 / 0	25	23	29	21 / 3
(Oxoid®)	24	21	18	22	24 / 0	24 / 0	26	22	29	21 / 3

E. coli ATCC®25922™ (selon EUCAST 2020) : cible = 19 mm ; intervalle = 16 - 22 mm

L'EUCAST ne recommande pas d'utiliser la souche *E. coli* ATCC®35218™

E. coli ATCC®25922™ (selon Maurissen) : intervalle = 12 - 25 mm

E. coli ATCC®35218™ (selon Maurissen) : intervalle = 19 - 28 mm

Annexe 4 : Distribution des CMI de la témocilline déterminées par (a) ETEST® et (b) VITEK-2® versus par microdilution en milieu liquide.

Les concentrations critiques sont représentés par un trait vert (CA-SFM) et rouge (EUCAST).

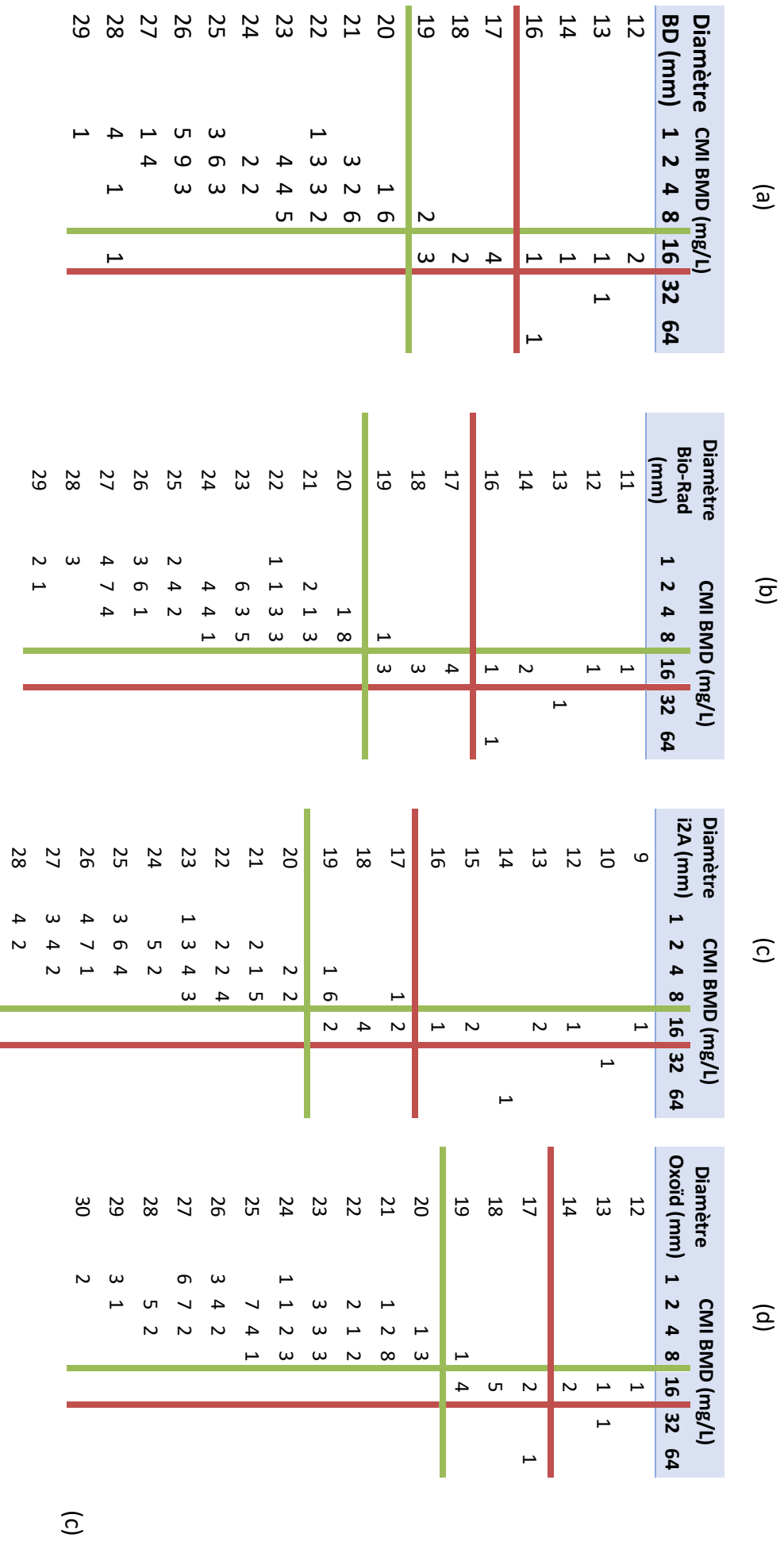
(a)

CMI ETEST (mg/L)	CMI BMD (mg/L)						
	1	2	4	8	16	32	64
1	5	1					
1,5	3	3					
2	5	12	5				
3	2	10	5				
4		2	7	8			
6		3	2	3			
8				9	1		
12				1	7		
16					4		
24					2	1	1
32					1		

(b)

CMI VITEK (mg/L)	CMI BMD (mg/L)						
	1	2	4	8	16	32	64
≤4	15	28	13	5			1
8		2	5	7			
16			1	8	6		
>16		1			9	1	

Annexe 5 : Distribution des CMI à la témocilline par microdilution *versus* les diamètres obtenus par la méthode des disques BD®(a), Bio-Rad®(b), iZA®(c) et Oxoïd®(d).
 Les diamètres et concentrations critiques sont représentés en vert (CA-SFM) et en rouge (EUCAST).



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.



MELIN Anaïs

SENSIBILITE D'ENTEROBACTERALES DU GROUPE III A LA TEMOCILLINE ET IMPACT DE LA METHODE D'ETUDE IN VITRO

Th. D. Pharm., Rouen, 2020, 108 p

RESUME

La témocilline est une molécule ancienne, qui a été peu utilisée du fait de son spectre étroit, mais qui est aujourd'hui présentée comme une alternative aux carbapénèmes pour le traitement des infections à Entérobactérales sensibles.

L'EUCAST a récemment établi des concentrations critiques de la témocilline en les limitant à *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* (à l'exception de *K. aerogenes*) et *Proteus mirabilis*, par manque de données sur les autres espèces. Ces concentrations sont différentes des concentrations critiques actuellement utilisées, recommandées par le CA-SFM.

Nous avons évalué la sensibilité *in vitro* de 103 souches d'Entérobactérales du groupe III collectées prospectivement au CHU de Rouen, et analyser l'impact de la méthode utilisée sur la catégorisation clinique selon les recommandations françaises et européennes.

Dans notre série, la sensibilité à la témocilline des Entérobactérales (84% selon le CA-SFM et 98% catégorisées sensibles à forte posologie selon l'EUCAST) était à peine inférieure à celle de *E. coli* dans la littérature. Contrairement à ce que suggère l'EUCAST, l'activité de la témocilline pourrait ainsi être évaluée sur les Entérobactérales du groupe III, lesquelles sont très fréquemment sensibles, même à la concentration critique de 8 mg/L recommandée par le CA-SFM.

Par ailleurs, la comparaison des méthodes d'évaluation incite à confirmer la résistance détectée par l'automate VITEK® ou par la méthode des disques par la détermination d'une CMI par ETEST®, ces méthodes ayant tendance à surestimer la résistance à la témocilline.

MOTS CLES :

témocilline, antibiothérapie, Entérobactérales du groupe III, étude de sensibilité *in vitro*, microdilution en milieu liquide, concentrations critiques

JURY

Président : Madame le Professeur Martine PESTEL-CARON

Membres du jury : Monsieur le Docteur Kevin ALEXANDRE
Madame le Docteur Sandrine DAHYOT
Madame le Docteur Claire PLASSART