

UNIVERSITE TOULOUSE III PAUL SABATIER
FACULTE DE SANTE
DEPARTEMENT DES SCIENCES PHARMACEUTIQUES

ANNEE : 2022

THESE 2022/TOU3/2068

THESE

POUR LE DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN PHARMACIE

Présentée et soutenue publiquement
par

FELETTI Lucie

**COMPARAISON DE METHODES POUR LA DETERMINATION DE LA
SENSIBILITE A LA FOSFOMYCINE ET AU MECILLINAM DE
SOUCHES URINAIRES D'ENTEROBACTERIES**

Le 6 octobre 2022

Directeur de thèse : MASSIP Clémence, MCU-PH

JURY

Président : ROQUES-CESCHIN Christine, PU-PH

1er assesseur : DELOBEL Pierre, PU-PH

2ème assesseur : DUBOIS Damien, MCU-PH

3ème assesseur : MASSIP Clémence, MCU-PH

PERSONNEL ENSEIGNANT
du Département des Sciences Pharmaceutiques de la Faculté de santé
au 4 avril 2022

Professeurs Emérites

Mme BARRE A.	Biologie Cellulaire
M. BENOIST H.	Immunologie
M. BERNADOU J.	Chimie Thérapeutique
M. CAMPISTRON G.	Physiologie
Mme NEPVEU F.	Chimie analytique
Mme ROQUES C.	Bactériologie - Virologie
M. ROUGE P.	Biologie Cellulaire
M. SALLES B.	Toxicologie

Professeurs des Universités

Hospitalo-Universitaires

Mme AYYOUB M.	Immunologie
M. CESTAC P.	Pharmacie Clinique
M. CHATELUT E.	Pharmacologie
Mme DE MAS MANSAT V.	Hématologie
M. FAVRE G.	Biochimie
Mme GANDIA P.	Pharmacologie
M. PARINI A.	Physiologie
M. PASQUIER C.	Bactériologie - Virologie
Mme ROUSSIN A.	Pharmacologie
Mme SALLERIN B.	Pharmacie Clinique
M. VALENTIN A.	Parasitologie

Universitaires

Mme BERNARDES-GENISSON V.	Chimie thérapeutique
Mme BOUTET E.	Toxicologie - Sémiologie
Mme COUDERC B.	Biochimie
M. CUSSAC D. (Vice-Doyen)	Physiologie
M. FABRE N.	Pharmacognosie
Mme GIROD-FULLANA S.	Pharmacie Galénique
M. GUIARD B.	Pharmacologie
M. LETISSE F.	Chimie pharmaceutique
Mme MULLER-STAUMONT C.	Toxicologie - Sémiologie
Mme REYBIER-VUATTOUX K.	Chimie analytique
M. SEGUI B.	Biologie Cellulaire
Mme SIXOU S.	Biochimie
M. SOUCHARD J-P.	Chimie analytique
Mme TABOULET F.	Droit Pharmaceutique

Maîtres de Conférences des Universités

Hospitalo-Universitaires		Universitaires	
M. DELCOURT N.	Biochimie	Mme ARELLANO C. (*)	Chimie Thérapeutique
Mme JUILLARD-CONDAT B.	Droit Pharmaceutique	Mme AUTHIER H.	Parasitologie
Mme KELLER L.	Biochimie	M. BERGE M. (*)	Bactériologie - Virologie
M. PUISSET F.	Pharmacie Clinique	Mme BON C. (*)	Biophysique
Mme ROUCH L.	Pharmacie Clinique	M. BOUJILA J. (*)	Chimie analytique
Mme ROUZAUD-LABORDE C	Pharmacie Clinique	M. BROUILLET F.	Pharmacie Galénique
Mme SALABERT A.S.	Biophysique	Mme CABOU C.	Physiologie
Mme SERONIE-VIVIEN S (*)	Biochimie	Mme CAZALBOU S. (*)	Pharmacie Galénique
Mme THOMAS F. (*)	Pharmacologie	Mme CHAPUY-REGAUD S. (*)	Bactériologie - Virologie
		Mme COLACIOS C.	Immunologie
		Mme COSTE A. (*)	Parasitologie
		Mme DERA EVE C. (*)	Chimie Thérapeutique
		Mme ECHINARD-DOUIN V.	Physiologie
		Mme EL GARAH F.	Chimie Pharmaceutique
		Mme EL HAGE S.	Chimie Pharmaceutique
		Mme FALLONE F.	Toxicologie
		Mme FERNANDEZ-VIDAL A.	Toxicologie
		Mme GADEA A.	Pharmacognosie
		Mme HALOVA-LAJOIE B.	Chimie Pharmaceutique
		Mme JOUANJUS E.	Pharmacologie
		Mme LAJOIE-MAZENC I.	Biochimie
		Mme LEFEVRE L.	Physiologie
		Mme LE LAMER A-C. (*)	Pharmacognosie
		M. LE NAOUR A.	Toxicologie
		M. LEMARIE A.	Biochimie
		M. MARTI G.	Pharmacognosie
		Mme MONFERRAN S	Biochimie
		M. PILLOUX L.	Microbiologie
		M. SAINTE-MARIE Y.	Physiologie
		M. STIGLIANI J-L.	Chimie Pharmaceutique
		M. SUDOR J. (*)	Chimie Analytique
		Mme TERRISSE A-D.	Hématologie
		Mme TOURRETTE-DIALLO A.	Pharmacie Galénique
		(*)	Pharmacognosie
		Mme VANSTEELANDT M.	Mathématiques
		Mme WHITE-KONING M. (*)	

(*) Titulaire de l'habilitation à diriger des recherches (HDR)

Enseignants non titulaires

Assistants Hospitalo-Universitaires		Attaché Temporaire d'Enseignement et de Recherche (ATER)	
M. AL SAATI A	Biochimie	Mme AMRANE Dyhia	Chimie Thérapeutique
Mme BAKLOUTI S.	Pharmacologie		
Mme CLARAZ P.	Pharmacie clinique		
Mme CHAGNEAU C.	Microbiologie		
Mme LARGEAUD L	Immunologie		
M. LE LOUEDEC F.	Pharmacologie		
Mme STRUMIA M.	Pharmacie clinique		
Mme TRIBAUDEAU L.	Droit Pharmaceutique		

SERMENT DE GALIEN

En présence des Maitres de la Faculté, je fais le serment :

D'honorer ceux qui m'ont instruit(e) dans les préceptes de mon art et de leur témoigner ma reconnaissance en restant fidèle aux principes qui m'ont été enseignés et d'actualiser mes connaissances

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 Déontologie, de l'honneur, de la probité et du désintéressement ;

De ne jamais oublier ma responsabilité et mes devoirs envers la personne humaine et sa dignité

En aucun cas, je ne consentirai à utiliser mes connaissances et mon état pour corrompre les mœurs et favoriser des actes criminels.

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

De faire preuve de loyauté et de solidarité envers mes collègues pharmaciens

De coopérer avec les autres professionnels de santé

Que les Hommes m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses. Que je sois couvert(e) d'opprobre et méprisé(e) de mes confrères si j'y manque.

REMERCIEMENTS

A Madame le Professeur Christine ROQUES-CESCHIN,

Merci d'avoir accepté de présider ce jury de thèse et d'apporter votre expertise de bactériologiste. Veuillez trouver ici mes remerciements les plus sincères.

A Monsieur le Docteur Damien DUBOIS,

Merci d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse et d'avoir également participé à ce projet. Merci pour ta gentillesse et pour la transmissions de tes connaissances au cours des stages de bactériologie.

A Monsieur le Professeur Pierre DELOBEL,

Merci d'avoir accepté de participer à ce jury de thèse afin d'apporter un regard de clinicien infectiologue. Soyez assuré de ma reconnaissance et de mon respect.

A ma directrice de thèse, le Docteur Clémence MASSIP,

Merci d'avoir encadré cette thèse et d'accepter que je me lance avec toi dans ce projet. Je te remercie pour ton investissement, ta patience, tes corrections minutieuses et le temps que tu m'as accordé malgré ton planning chargé.

A tous les techniciens avec qui j'ai pu travailler dans la bonne ambiance, et notamment Maeva, Stéphanie et Jocelyne pour leur investissement dans ce projet.

TABLE DES MATIERES

LISTE DES ABREVIATIONS	9
TABLE DES FIGURES	10
TABLE DES TABLEAUX	11
INTRODUCTION	14
PARTIE 1 : REVUE DE LA LITTERATURE	15
I. PHYSIOPATHOLOGIE DES INFECTIONS URINAIRES	15
A. PATHOGENESE	15
B. FACTEURS DE RISQUES	16
C. LES BACTERIES UROPATHOGENES – LES ENTEROBACTERIES	17
1. GENERALITES SUR LES ENTEROBACTERIES	19
2. CLASSIFICATION DES ENTEROBACTERIES SELON LEURS SENSIBILITES AUX ANTIBIOTIQUES	20
3. <i>ESCHERICHIA COLI</i>	21
4. ENTEROBACTERIES NON <i>E. COLI</i>	23
4.1. <i>Klebsiella sp.</i>	23
4.2. <i>Enterobacter</i>	23
4.3. <i>Proteus</i>	24
4.4. <i>Citrobacter</i>	25
II. DIAGNOSTIC ET PRISE EN CHARGE DES INFECTIONS URINAIRES	26
A. DEFINITION	26
1. COLONISATION URINAIRE	26
2. IU CHEZ LA FEMME	27
2.1. CYSTITES AIGÛE	27
2.2. PYELONEPHRITE AIGÛE	28
B. DIAGNOSTIC	29
1. BANDELETTE URINAIRE	29
2. EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES (ECBU)	30
C. TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE	32
1. RECOMMANDATIONS	33
1.1. INFECTIONS URINAIRES DE L'ADULTE	33
1.1.1. CYSTITES SIMPLES	33
1.1.2. CYSTITES A RISQUE DE COMPLICATION	35
1.1.3. CYSTITES RECIDIVANTES	36
1.1.4. PYELONEPHRITE AIGUE (PNA)	36

1.2. INFECTIONS URINAIRES DE LA FEMME ENCEINTE	38
2. FOSFOMYCINE	40
3. PIVMECILLINAM	45
D. PREVENTION ET TRAITEMENT NON ANTIBIOTIQUE	48
PARTIE 2 : COMPARAISON DE METHODES POUR LA DETERMINATION DE LA SENSIBILITE A LA FOSFOMYCINE ET AU MECILLINAM DE SOUCHES URINAIRES D'ENTEROBACTERIES	49
I. CONTEXTE ET OBJECTIF DE L'ETUDE	49
II. MATERIELS ET METHODES	49
A. SELECTION DES PATIENTS	49
B. IDENTIFICATION ET CONSERVATION DES SOUCHES	50
C. DETERMINATION DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES	51
1. VALEURS CRITIQUES DETERMINANTS LES CATEGORIES CLINIQUES (BREAKPOINTS)	51
2. LE VITEK®2, DETERMINATION DES CMI EN MILIEU LIQUIDE	52
3. LA METHODE DE REFERENCE : DILUTION EN MILIEU AGAR	54
4. ANTIBIOGRAMME EN MILIEU SOLIDE PAR DISQUE IMPREGNE D'ANTIBIOTIQUE	55
5. BANDELETTE E-TEST®, DETERMINATION DIRECTE DES CMI EN MILIEU SOLIDE	56
6. ANALYSE DES DONNEES	57
III. RESULTATS	58
A. EPIDEMIOLOGIE DE LA RESISTANCE A LA FOSFOMYCINE ET AU MECILLINAM AU SEIN DE NOS SOUCHES	58
B. COMPARAISON DES METHODES POUR LA FOSFOMYCINE	60
1. <i>E. COLI</i>	60
2. ENTEROBACTERIES NON <i>E. COLI</i>	61
C. COMPARAISON DE METHODE POUR LE MECILLINAM	65
1. <i>ESCHERICHIA COLI</i>	66
2. ENTEROBACTERIES NON <i>E. COLI</i>	66
IV. DISCUSSION	69
V. CONCLUSION	74
VI. ANNEXES	75
VII. BIBLIOGRAPHIE	89

LISTE DES ABREVIATIONS

AC	Accord catégoriel
AE	Accord essentiel
AMM	Autorisation de mise sur le marché
ARESC	Antimicrobial Resistance Epidemiological Survey on Cystitis
ATCD	antécédant
BCP	Bromocrésol pourpre
C2G	Céphalosporine de 2 nd génération
C3G	Céphalosporine de 3 ^e génération
CA-SFM	Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
CMI	Concentration minimale inhibitrice
COS	Gélose au sang (base Colombia + 5% sang de mouton)
CPS	Gélose chromogène
DM	Discordance majeure
DTM	Discordance très majeure
EBLSE	Entérobactéries productrices de B-lactamase à spectre étendue
EUCAST	Comité Européen de la Sensibilité aux Antibiotiques
FDA	Food and Drug Administration
FDR	Facteur de risque
FQ	fluoroquinolone
FDA	Food and Drug Administration
G6P	Glucose-6-phosphate
HAS	Haute autorité de Santé
IU	Infections urinaires
ONERBA	Observatoire Nationale de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques
PEP	phosphoénolpyruvate
PLP	Protéine liant la pénicilline
PNA	Pyélonéphrite aiguë
UFC	Unité formatrice de colonies

TABLE DES FIGURES

Figure 1 Pathogénèse des infections des voies urinaires(1)	15
Figure 2 Répartition des espèces bactériennes dans les bactériuries(9).....	18
Figure 3 Répartition des bactéries dans les infections urinaires à risque de complication	18
Figure 4: Aspect de différentes entérobactéries sur gélose chromogène (selon oxoid)	31
Figure 5 Numération bactérienne sur ensemencement urinaire(37)	31
Figure 6 Prise en charge de la cystite simple(38).....	34
Figure 7 Prise en charge des cystites à risque de complication (34) (32) (41).....	35
Figure 8 Mécanisme d'action de la fosfomycine(51)	41
Figure 9 Résistance par inactivation enzymatique de la fosfomycine(13).....	42
Figure 10 Mécanisme de résistance au mécillinam avec mutation cysB(67).....	46
Figure 11 Interprétation des scores MALDI BioTyper	51
Figure 12 concentrations critiques et diamètres critiques pour les Entérobactéries(58).....	52
Figure 13 Principe du calcul de la CMI selon l'évolution du MPCTS en fonction du temps(78)	53
Figure 14 Panel des CMI testées pour la fosfomycine	55
Figure 15 Répartition de la CMI à la fosfomycine dans nos souches d'entérobactéries.....	59
Figure 16 Répartition de la CMI au mécillinam dans nos souches d'entérobactéries	60

TABLE DES TABLEAUX

Tableau 1 caractéristiques majeures des entérobactéries(11).....	19
Tableau 2: Résistances naturelles des entérobactéries en fonction de leur groupe	21
Tableau 3 Principe d'identification des milieux chromogènes(35)	31
Tableau 4 Seuil de significativité de la bactériurie en fonction du sexe	32
Tableau 5 niveau de pathogénicité des bactéries rencontrées dans les urines et seuils de significativité associé	32
Tableau 6 Traitement des pyélonéphrites aiguës(43).....	37
Tableau 7: Evolution des concentrations et diamètres critiques de la fosfomycine par le CASFM	44
Tableau 8 Résistance aux antibiotiques chez E. coli, P. mirabilis, Klebsiella spp., d'autres entérobactéries et S. saprophyticus (72).....	47
Tableau 9 Principe des choix de concentration en antibiotique de la carte(77).....	54
Tableau 10 Performance globale pour E. coli des trois méthodes comparées à la méthode de dilution en milieu agar.....	61
Tableau 11 Performance globale des trois méthodes pour la fosfomycine comparées à la méthode de référence	62
Tableau 12 comparaison des AC et DTM de la méthode Vitek® 2 en fonction du CASFM 2022 et 2020	63
Tableau 13 CMI Etest fosfomycine comparées à la méthode de référence de P. mirabilis	64
Tableau 14 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour P. mirabilis	65
Tableau 15 Performance globale pour E. coli des trois méthodes comparées à la méthode de dilution en milieu agar.....	66
Tableau 16 Performance globale des trois méthodes pour le mécillinam comparées à la méthode de référence	67
Tableau 17 Comparaison méthode de référence et CMI de la fosfomycine du VITEK® pour E. coli	75
Tableau 18 Comparaison méthode de référence et CMI de la fosfomycine du VITEK® pour P. mirabilis	75
Tableau 19 Comparaison méthode de référence et CMI de la fosfomycine du VITEK pour C. koseri	75
Tableau 20 Comparaison méthode de référence et CMI fosfomycine du VITEK pour E. cloacae	75

Tableau 21 Comparaison méthode de référence et CMI fosfomycine du VITEK pour K. oxytoca	75
Tableau 22 Comparaison méthode de référence et CMI fosfomycine du VITEK pour K. pneumoniae	76
Tableau 23 Comparaison méthode de référence et CMI fosfomycine du VITEK pour K. aerogenes	76
Tableau 24 CMI Etest® fosfomycine comparée à la méthode de référence de E. coli.....	76
Tableau 25 CMI Etest® fosfomycine comparée à la méthode de référence de C. koseri.....	76
Tableau 26 CMI Etest® fosfomycine comparée à la méthode de référence de E. cloacae.....	77
Tableau 27 CMI Etest® fosfomycine comparée à la méthode de référence de K. oxytoca.....	77
Tableau 28 CMI Etest® fosfomycine comparée à la méthode de référence de K. pneumoniae	77
Tableau 29 CMI Etest® fosfomycine comparée à la méthode de référence de K. aerogenes .	78
Tableau 30 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour E. coli	78
Tableau 31 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour C. koseri	78
Tableau 32 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour E. cloacae	79
Tableau 33 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour K. oxytoca	79
Tableau 34 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour K. pneumoniae	80
Tableau 35 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour K. aerogenes	80
Tableau 36 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour E. coli	81
Tableau 37 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour P. mirabilis.....	81
Tableau 38 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour C. koseri	81
Tableau 39 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour E. cloacae	81

Tableau 40 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour <i>K. oxytoca</i>	82
Tableau 41 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour <i>K. pneumoniae</i>	82
Tableau 42 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour <i>K. aerogenes</i>	82
Tableau 43 CMI Etest® mécillinam comparée à la méthode de référence de <i>E. coli</i>	82
Tableau 44 CMI Etest® mécillinam comparée à la méthode de référence de <i>P. mirabilis</i>	83
Tableau 45 CMI Etest® mécillinam comparée à la méthode de référence de <i>C. koseri</i>	83
Tableau 46 CMI Etest® mécillinam comparée à la méthode de référence de <i>E. cloacae</i>	83
Tableau 47 CMI Etest® mécillinam comparée à la méthode de référence de <i>K. oxytoca</i>	84
Tableau 48 Etest® mécillinam comparée à la méthode de référence de <i>K. pneumoniae</i>	84
Tableau 49 Etest® mécillinam comparée à la méthode de référence de <i>K. aerogenes</i>	84
Tableau 50 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour <i>E. coli</i>	85
Tableau 51 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour <i>P. mirabilis</i>	85
Tableau 52 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour <i>C. koseri</i>	86
Tableau 53 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour <i>E. cloacae</i>	86
Tableau 54 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour <i>K. oxytoca</i>	87
Tableau 55 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour <i>K. pneumoniae</i>	87
Tableau 56 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour <i>K. aerogenes</i>	88

INTRODUCTION

Les infections urinaires (IU) sont parmi les infections bactériennes les plus courantes qu'elles soient communautaires ou nosocomiales. En effet, elles constituent l'un des principaux motifs d'hospitalisation et la première cause d'infection nosocomiale devant les infections du site opératoire et les pneumonies. Elles sont causées par de nombreux agents pathogènes mais le plus souvent par *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Proteus mirabilis*, *Enterococcus faecalis* et *Staphylococcus saprophyticus*. Le spectre clinique est hétérogène, de l'infection bénigne non compliquée à l'infection compliquée des voies urinaires. La fosfomycine et le mécillinaam sont des antibiotiques de premier choix dans le traitement des cystites. De plus la prévalence croissante de β -lactamase à spectre étendue (BLSE) amène à une recrudescence de leur intérêt dans la prise en charge des infections urinaires. Malgré leur facilité d'utilisation, l'absence de leur rendu par des tests de sensibilités automatisés et rapides comme le Vitek®2, pour les entérobactéries non *E. coli*, entraîne une perte de chance pour les patientes. Pour pouvoir déterminer la sensibilité pour ces antibiotiques avec le Vitek®2, il est nécessaire de réaliser une comparaison de méthode avec la méthode de référence de dilution en milieu agar. C'est une méthode fastidieuse, difficile à mettre en place, longue et nécessitant le matériel adéquat. Aussi, *E. coli* étant l'espèce majoritairement présente dans les infections urinaires, les études se sont focalisées sur cette espèce au détriment des autres entérobactéries.

L'objectif de cette étude est de comparer différentes méthodes de sensibilité des à la fosfomycine et au mécillinaam (Vitek®2, diffusion en disque et bandelette Etest®) à la méthode de référence de dilution en milieu agar. La finalité étant de voir si le Vitek®2 serait approprié pour rendre la fosfomycine et le mécillinaam pour les entérobactéries non *E. coli* dans les infections urinaires.

PARTIE 1 : REVUE DE LA LITTERATURE

I. PHYSIOPATHOLOGIE DES INFECTIONS URINAIRES

A. PATHOGENESE

Il existe deux voies d'infection comme l'explique la figure 1 :

La voie majoritaire est la voie ascendante qui débute généralement par une contamination périurétrale par un uropathogène issu de la flore digestive. En effet, certaines bactéries ont des facteurs de virulence, comme des adhésines et pili, permettant leurs adhésions et leurs remontées de l'urètre à la vessie. Le système immunitaire de l'hôte élimine une partie des bactéries. Certains de ces pathogènes échappent à cette élimination par invasion des cellules hôtes ou des changements morphologiques. La multiplication, formation de biofilm et production de toxines par les bactéries vont entraîner des dommages cellulaires, qui libèrent des nutriments essentiels favorisant leur survie. Elles finiront par rejoindre le parenchyme rénal via les uretères ou conduit prostatique par la migration rétrograde des bactéries. Si l'infection urinaire n'est pas prise en charge elle peut évoluer en une bactériémie par le passage à travers la barrière épithéliale tubulaire du rein.(1)

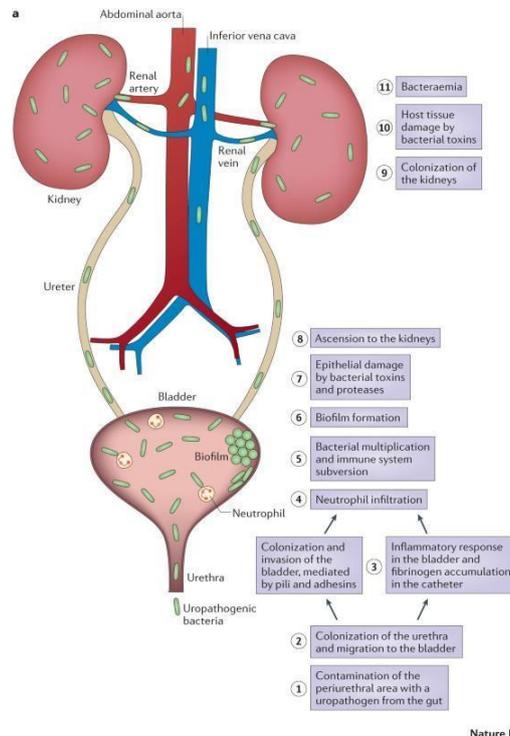


Figure 1 Pathogénèse des infections des voies urinaires(1)

La voie descendante, plus minoritaire, entraînant une infection urinaire haute, peut-être due à une dissémination hématogène de bactérie, telle que *Staphylococcus aureus*, en cas de bactériémie prolongée.(2)

B. FACTEURS DE RISQUES

Les facteurs de risques d'infections urinaires peuvent être divisés en plusieurs catégories : ceux exposant l'hôte à des agents uropathogènes, ceux favorisant la colonisation par ces bactéries et ceux amplifiant la réponse de l'hôte.

Les femmes sont plus vulnérables aux infections urinaires que les hommes du fait de la proximité de l'urètre avec l'anus et permet aux bactéries de la flore digestive, tels que *E. coli* uropathogène, un accès plus facile aux systèmes urinaires, de même pour la flore vaginale.

De plus, l'urètre féminin est plus court que celui de l'homme ce qui permet une remontée plus facile des agents pathogènes dans la vessie.

Certains comportements peuvent favoriser les infections urinaires, comme dit précédemment l'activité sexuelle en est un. En effet, un rapport sexuel entraîne le déplacement des bactéries ce qui majore le risque d'infection urinaire.(3) Certaines contraceptions comme le diaphragme, spermicide ou préservatif peuvent entraîner une augmentation de ces infections. Le spermicide perturberait la flore vaginale en faveur d'une colonisation par des uropathogènes en étant toxique pour les lactobacilles mais par pour *E. coli*, prédisposant ainsi les femmes qui utilisent ces produits aux infections urinaires.(4)

La mise en place d'un cathéter est un facteur participant aux infections urinaires. Ils empêchent la mise en place de système de défense contre les microorganismes. Le cathéter induit une accumulation de fibrinogène fournissant un environnement idéal pour les bactéries.(1) L'absence de vidange correcte de la vessie ainsi qu'une augmentation du pH entraînent, entre autres, la formation de biofilm bactérien.(5)

La colonisation urinaire bactérienne est aussi favorisée chez les patients diabétiques. En effet, le taux de glucose plus élevé dans les urines pourrait entraîner une prolifération plus rapide des bactéries mais il n'existe pas encore d'études montrant l'association direct entre la glucosurie et le risque d'infection urinaire. De plus, l'hyperglycémie altère la production de cytokines mais aussi le recrutement des leucocytes et la fonction des granulocytes.(6)

Des mécanismes de défense de l'hôte permettent de limiter les infections urinaires. L'anatomie de l'urètre chez l'homme, le système anti-reflux des uretères par leur implantation oblique au niveau de la vessie qui empêche les reflux d'urines. Les mouvements péristaltiques amenant à l'élimination de l'urine. Mais aussi, des mictions fréquentes avec une vidange complète de la vessie. De plus, la vessie est recouverte d'un urothélium lui-même constitué d'uromucoïde permettant de protéger l'épithélium urinaire avec la formation d'un film mucopolysaccharidique qui empêche l'adhésion des bactéries sur l'urothélium. Chez la femme, la flore vaginale est peuplée de lactobacilles qui produisent de l'acide lactique entraînent un pH acide très défavorable à la croissance et à la colonisation par des bactéries uropathogènes.(7)

C. LES BACTERIES UROPATHOGENES – LES ENTEROBACTERIES

Le spectre des agents pathogènes retrouvés dans les infections urinaires basses et hautes non compliquées est le même. L'espèce bactérienne la plus fréquemment retrouvée est *Escherichia coli* dans 75 à 90% des cas. Parmi les autres espèces retrouvées, *Proteus mirabilis* est retrouvé dans 3 à 5% des cas, plus fréquemment chez les plus de 50 ans. *Staphylococcus saprophyticus* plus fréquent chez les femmes jeunes dans 3 à 4% des cas et *Klebsiella spp* (3-4%) en majorité chez les sujets de plus de 50 ans.(8)

Sur la figure 2 est schématisée la répartition des espèces bactériennes selon une étude de ARESC (antimicrobial resistance epidemiological survey on cystitis) regroupant l'épidémiologie de 2004 à 2006 des infections urinaires non compliquées de neuf pays européens et du Brésil.(9)

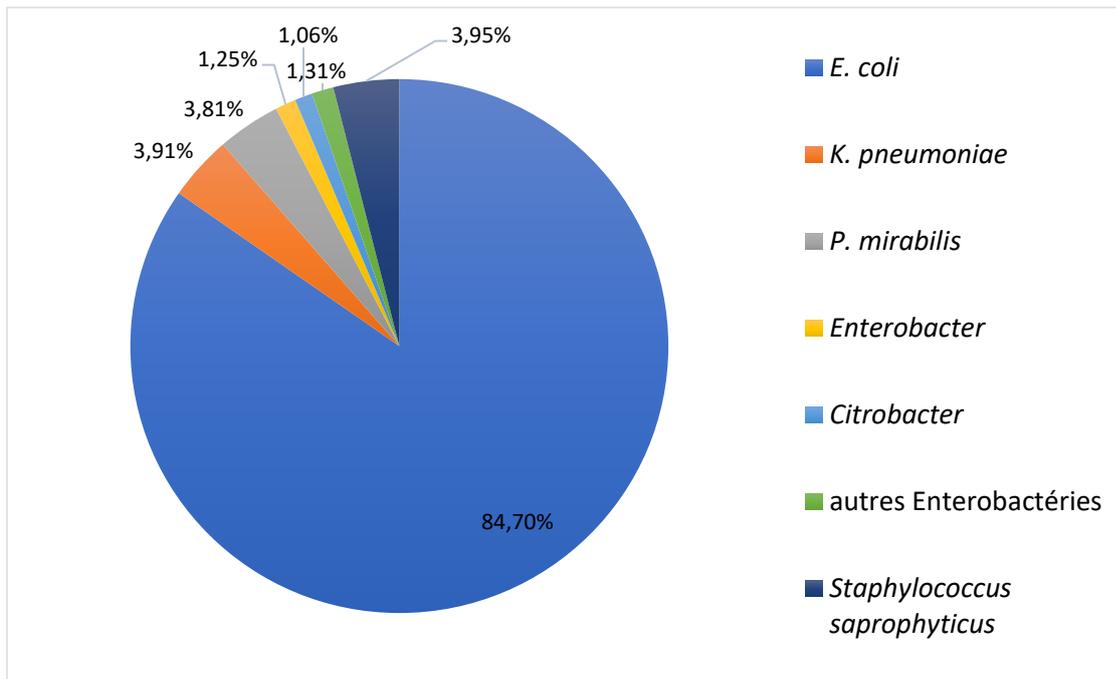


Figure 2 Répartition des espèces bactériennes dans les bactériuries(9)

Pour les infections urinaires à risque de complication, la répartition bactérienne est un peu différente. *E. coli* est toujours le pathogène dominant mais sa prévalence diminue modérément au profit de l'entérocoque, *K. pneumoniae* et *Candida spp.* (figure 3)(1)

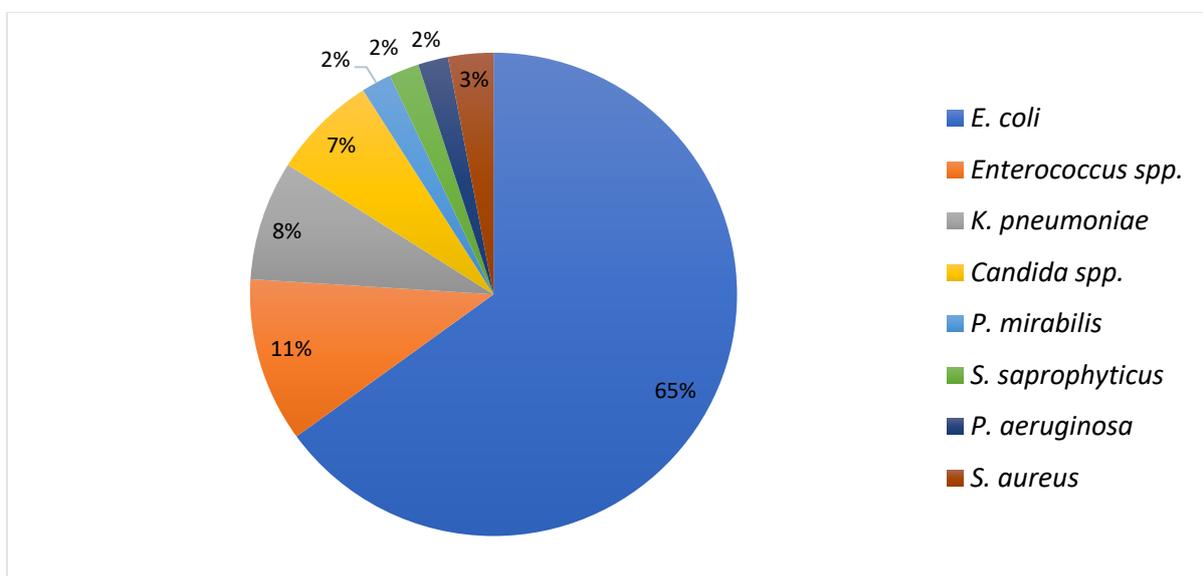


Figure 3 Répartition des bactéries dans les infections urinaires à risque de complication

Par rapport à *E. coli*, les genres *Citrobacter* et *Enterobacter* sont plus fréquemment retrouvés dans les infections urinaires compliquées chez des patients avec des affections sous-jacentes ou d'immunosuppression. Ils sont retrouvés plus fréquemment dans les pyélonéphrites, les infections urinaires récidivantes et chez ceux ayant eu une antibiothérapie prolongée.(10)

Parmi les bactéries responsables d'infections urinaires, les bacilles à Gram négatif sont très largement majoritaires, avec *E. coli* en tête suivi des autres entérobactéries. Nous y consacrons donc une partie de cette revue bibliographique.

1. GENERALITES SUR LES ENTEROBACTERIES

La famille des *Enterobacteriaceae* a été décrite pour la première fois en 1937. Mais *E. coli* a été précédemment décrit par Théodor Eschrich en 1885, isolé à partir de cas de diarrhées du nourrisson, qu'il nomma tout d'abord *Bacterium coli commune*.

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, elles répondent à plusieurs caractéristiques :

- Aéro-anaérobies facultatifs
- Mobiles (ciliature péritriche) ou rarement immobiles
- Non exigeantes
- Fermentant le glucose
- Dépourvues d'oxydase
- Catalase positive
- Possèdent une nitrate reductase

Elles sont très largement distribuées dans la nature mais font aussi partie de la flore commensale digestive de l'Homme. Les entérobactéries sont la première cause d'infections des voies urinaires.

Les caractéristiques des entérobactéries encore utilisées dans des tests d'orientation rapides sont résumées dans le tableau 1 ci-dessous.

Tableau 1 caractéristiques majeures des entérobactéries(11)

Genres	Mobilité	oxydase	Fermentation glucose	Lactose	indole	H2S	TDA	uréase
<i>Escherichia</i>	V	-	+	(+)	V	-	-	-
<i>Citrobacter</i>	+	-	+	+	V	+	-	+
<i>Klebsiella</i>	-	-	+	+	V	-	-	V
<i>Enterobacter</i>	+	-	+	+	-	-	-	-
<i>Proteus</i>	+	-	+	-	V	(+)	+	+

V=variable. (+)= caractère existant ou non pour la majorité des souches., TDA= tryptophane desaminase,

Les entérobactéries possèdent différentes caractéristiques antigéniques communes :

- Un antigène commun ou antigène K (Kunin) : antigène de capsule ou d'enveloppe
- Un antigène O ou somatique, de paroi, qui correspond aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides. Ils sont thermostables, résistent à l'alcool et ils sont responsables du pouvoir toxique.
- L'antigène H ou flagellaire, de nature protéique et thermolabile
- Antigènes F d'adhérence ou adhésines de nature protéique, portés par des pili communs

2. CLASSIFICATION DES ENTEROBACTERIES SELON LEURS SENSIBILITES AUX ANTIBIOTIQUES

La plupart des entérobactéries produisent des β -lactamases. Les β -lactamines sont des antibiotiques largement utilisés dans le traitement de toutes pathologies humaines, en ville comme à l'hôpital.

Ces β -lactamases ont comme caractéristiques, d'hydrolyser une liaison amide du groupe β -lactame des β -lactamines. L'antibiotique ne peut plus se fixer sur son site d'action, la PLP (protéine liant la pénicilline), enzyme impliquée dans la synthèse de la paroi bactérienne.

Les entérobactéries, grâce à la présence ou non, dans le chromosome bactérien, et la nature des β -lactamases, peuvent être classées selon leurs résistances naturelles aux β -lactamines. Comme résumé dans le tableau 2, elles sont divisées en 7 groupes :

- Groupe 0 : *Salmonella spp.*, *Proteus mirabilis*, sans résistance naturelle
- Groupe 1 : *E. coli*, *Shigella spp.*
⇒ Céphalosporinase *ampC* très faiblement exprimée
- Groupe 2 : *Klebsiella sp.*, *Citrobacter koseri*, *Raoultella spp.*, *Enterobacter hermannii*.
⇒ Pénicillinase de bas niveau qui hydrolyse les pénicillines et est inhibée par l'acide clavulanique et le tazobactam
- Groupe 3 : *Enterobacter complexe cloacae.*, *Klebsiella aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *M. morgani*, *Hafnia alvei*, *Providencia stuartii*, *Serratia marcescens*.
⇒ Céphalosporinase de bas niveau *ampC* inductible avec un risque d'hyperproduction sous pression des C3G.
- Groupe 4 : *Yersinia enterocolitica*, *Serratia fonticola*.
⇒ Pénicillinase et céphalosporinase

- Groupe 5 : *Proteus vulgaris*, *Proteus penneri*
⇒ Cefuroximase
- Groupe 6 : *Kluyvera spp*, *Citrobacter sedlakii*, *Rahnella aquatilis*, *Erwinia persicina*
⇒ BLSE chromosomique de bas niveau

Tableau 2: Résistances naturelles des entérobactéries en fonction de leur groupe

	Groupe 0	Groupe 1	Groupe 2	Groupe 3	Groupe 4	Groupe 5	Groupe 6
AMX	S	S/I	R	R	R	R	R
AMC	S	S/I	S	R	R	S	S/I
TIC	S	S	R	S	R	S	R
TZP	S	S	S	S	R	S	S/I
C1G	S	S/I	S	R	S	R	R
FOX	S	S	S	R/I	S	S	S
C3G	S	S	S	S	S	S	S/I
C4G	S	S	S	S	S	S	S/I
ATM	S	S	S	S	S	S	S
IMI	S	S	S	S	S	S	S

AMX : amoxicilline, AMC : amoxicilline-acide clavulanique, TIC : ticarcilline, TZP: pipéracilline-tazobactam, FOX: cefoxitine, ATM: aztréonam, IMI : imipénème

Grâce à l'arrivée de nouvelles techniques telle que la taxonomie numérique et des techniques d'hybridation ADN-ADN un très grand nombre de nouveaux genres et d'espèces ont vu le jour parmi la famille des *Enterobacteriaceae*. Parmi toutes les espèces décrites à ce jour, seule une vingtaine est habituellement rencontrée en clinique.

3. *ESCHERICHIA COLI*

C'est un hôte commensal du tube digestif de l'homme de des animaux à sang chaud. En effet, chez l'homme il représente l'espèce dominante de la flore intestinale aérobie.

Ses principales caractéristiques sont résumées dans le tableau 1. En milieux gélosés ordinaires, les colonies se développent en 18-24h avec un aspect non spécifique : rondes, plates et à bords réguliers. Quant à son identification, la spectrométrie de masse est limitée pour sa distinction, elle confond *E. coli* et *Shigella spp.* car elles sont phylogénétiquement proche mais cette erreur de distinction ne pose pas problème dans les prélèvements urinaires mais plutôt dans les infections intestinales. Dans ces cas-là, pour une coproculture, le Vitek®2 est utilisé pour l'identification. Il est aussi possible d'utiliser une galerie biochimique pour les différencier.

E. coli peut parfois devenir pathogène. Il est responsable d'infections intestinales et extra-intestinales dont les infections nosocomiales. En effet, selon l'Inserm 26% des infections nosocomiales seraient dues à *E. coli*.(12) Les infections extra-intestinales, dues à la capacité de *E. coli* à déjouer le système immunitaire, regroupent notamment les méningites néonatales et bactériémies. Il est aussi responsable d'infection urinaire dont les souches d'*E. coli* sont appelées UPEC « *Uro-pathogenic E. coli* ».(13)

Il est impliqué dans 90% des infections urinaires. Son pouvoir pathogène principal dans le tractus urinaire est dû à l'adhésion aux cellules uro-épithéliales. Les facteurs d'adhésions les plus fréquents sont les pili de type P. Ils reconnaissent un motif particulier porté par des structures glycolipidiques à la surface des cellules vésicales et rénales. D'autres types de pili sont impliqués, comme ceux de type 1, qui sont responsables de l'internalisation des bactéries dans les cellules hôtes. D'autres facteurs de pathogénicité sont impliqués, comme la synthèse de protéases et de toxines qui jouent un rôle dans l'inflammation.(11)

En ce qui concerne sa sensibilité aux antibiotiques, 45% des *E. coli* communautaires responsables d'infections urinaires sont résistants à l'ampicilline par production de pénicillinases plasmidiques et 65 à 75% des souches sont sensibles à l'amoxicilline-acide clavulanique. Quant aux BLSE (β -lactamase à spectre étendue), elles sont plutôt un problème hospitalier, même si une émergence de souches productrices de BLSE est observée en ville. Selon l'ONERBA (Observatoire Nationale de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques), en 2020, la proportion de souche *E. coli* BLSE toutes origines confondues serait de 8,2%.(14)(15) Une proportion de 3,3% de BLSE serait retrouvée dans les prélèvements urinaires en ambulatoire.(16)

C'est pour cela que pour la prise en charge de ces infections, il est important de reconnaître les facteurs de risque d'EBLSE (Enterobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendue) :

- Antécédent de colonisation/IU à EBLSE <6 mois
- Amoxicilline- acide clavulanique/C2G-C3G/ FQ <6 mois
- Voyage en zone d'endémie EBLSE
- Hospitalisation <3 mois
- Vie en institution de long séjour.(17)

4. ENTEROBACTERIES NON *E. COLI*

4.1. *Klebsiella* sp.

Il existe cinq espèces de *Klebsiella* : *K. granulomatis*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *K. variicola* et *K. singaporensis*. L'utilisation de techniques moléculaires a conduit à la reclassification de certaines espèces notamment *Enterobacter aerogenes* devenu *Klebsiella aerogenes* car son génome est plus proche du genre *Klebsiella* que *Enterobacter*.(11)

En ce qui concerne son pouvoir pathogène, *K. pneumoniae* est responsable d'infections communautaires, mais aussi d'infections nosocomiales, en particulier les infections urinaires sur sonde, bactériémies et pneumonies.

K. oxytoca est retrouvée le plus souvent dans les infections nosocomiales à type d'infections urinaires, pneumonies et bactériémies.

Comme le montre le tableau 2, *Klebsiella* possède naturellement une pénicillinase. Mais une augmentation croissante de résistance aux antibiotiques semble s'observer. En effet, selon l'ONERBA 17,9% des souches de *K. pneumoniae* ont une BLSE. Différentes BLSE sont apparues comme CTX-M largement répandue dans le monde. L'apparition de céphalosporinases hyperproduites a pu être observée, comme DHA-1, avec une résistance aux C3G, céphamycines et à l'acide clavulanique. Cette AmpC inductible d'origine plasmidique, viendrait de *Morganella morganii*. En effet, le gène codant pour DHA-1 est étroitement lié à au gène *ampC* chromosomique de *M. morganii* et il est associé sur le même plasmide avec le gène *ampR* responsable de l'inductibilité.(18)

Enfin l'apparition des carbapénémases plasmidiques avec VIM, KPC, IMP et OXA-48, qui est la plus fréquente en France, ont pu être constaté.(11)(19) En ce qui concerne *K. aerogenes*, son mécanisme de résistance naturelle se rapproche plus de *Enterobacter complexe cloacae* avec une céphalosporinase chromosomique naturelle AmpC de bas niveau.(11)

4.2. *Enterobacter*

Ce genre comprend 20 espèces dont le complexe *Enterobacter cloacae*. Il s'agit d'un regroupement d'espèces génétiquement proches avec plus de 60% d'homologie ADN-ADN. Ce groupe réunit *Enterobacter asburiae*, *Enterobacter kobei*, *Enterobacter carcinogenus*,

Enterobacter cloacae, *Enterobacter hormaechei*, *Enterobacter nimipressuralis* et *Enterobacter mori*.(20). Il est impliqué dans 10% des péritonites post-chirurgicales, 5% des septicémies et pneumonies nosocomiales et 3,3% des infections urinaires nosocomiales.(21)(11) Les patients colonisés par des souches multirésistantes sont en majorité trouvés en soins intensifs et gériatrie.

Enterobacter complexe cloacae possède une céphalosporinase naturelle inductible. Sa dérégulation peut entraîner la résistance à un grand nombre de β -lactamines, en particulier les C3G, seule la céfépime reste relativement efficace. Cette résistance représente 50% de la résistance aux β -lactamines et coexiste fréquemment avec l'expression de BLSE. Au laboratoire, il est de plus en plus fréquent de retrouver des *Enterobacter spp.* résistant à l'ertapénème sans atteinte des autres carbapénèmes. Ce mécanisme serait dû à la combinaison de la dérégulation de sa céphalosporinase ou une BLSE et une perte de porines. Dans une étude, cette résistance à l'ertapénème a été retrouvée dans en moyenne 14% des souches d'*E. cloacae* provenant de différents isolats (urines, peau, sang...)(22) et une autre étude a retrouvé parmi les entérobactéries résistantes à l'ertapénème 14,9% sont des *E. cloacae*.(23)

4.3. Proteus

Le genre *Proteus* est impliqué dans les infections nosocomiales. 2/3 des infections à *Proteus mirabilis* sont d'origine hospitalière. Selon une enquête de 2017 de Santé publique France, *Proteus mirabilis* serait retrouvé dans 4,96% des infections urinaires associés aux soins.(24)

Il fait partie des principales bactéries responsable d'infections urinaires. Il touche trois types de groupes :

- Infections urinaires non compliquées chez la femme jeune
- Infections à risque de complication
- Patients avec altérations structurales, physiologiques ou neurologiques impliqués dans le bon fonctionnement du tractus urinaire. Il est fréquemment retrouvé chez les patients diabétiques, drépanocytaires, dans le cancer des voies urinaires, et dans les actes chirurgicaux pour n'en citer que quelques-uns.(11)

Du fait de la grande quantité d'uréase qu'il produit, une alcalinisation des urines entraîne la précipitation de composés organiques et inorganiques aboutissant à la formation de cristaux et de calculs rénaux avec l'obstruction des cathéters urétraux quand ils sont présents. En effet, *Proteus* est la deuxième cause d'infection urinaire sur cathéter.(25)

Proteus est facilement reconnaissable du fait de sa forme d'envahissement des milieux de culture gélosé en vagues concentriques « swarming » et son odeur caractéristique. Ce « swarming » permet une diffusion plus rapide de la bactérie en augmentant la densité de flagelles de la bactérie. Il serait dû à la production de putrescine par l'arginine décarboxylase.(26) Comme nous le montre le tableau 1, *Proteus* utilise le tryptophane désaminase permettant son identification sur les milieux chromogènes.

En ce qui concerne sa sensibilité aux antibiotiques, *Proteus mirabilis* est naturellement sensible à l'ensemble des β -lactamines (tableau 2).

4.4.Citrobacter

La plupart des infections à *Citrobacter* sont nosocomiales. Les infections à *Citrobacter spp.* sont principalement urinaires (15 à 20%), gastro-intestinales, respiratoires ou infections de la peau et des tissus mous. *C. koseri* est le plus fréquemment retrouvé dans les infections urinaires.(11)

Citrobacter koseri possède une pénicillinase et donc un profil de résistance aux β -lactamines similaire à *Klebsiella pneumoniae*, contrairement au *Citrobacter freundii* qui possède une céphalosporinase chromosomique.

Une augmentation des résistances est observée depuis plusieurs années. Elle est essentiellement liée à l'augmentation des phénotypes de type BLSE pour *C. koseri* ou céphalosporinase de haut niveau pour *C. freundii*.(11)

Ces différentes entérobactéries sont retrouvées dans les infections urinaires. Ces dernières nécessitent donc un diagnostic précis afin d'avoir une prise en charge adaptée que nous allons voir dans la prochaine partie.

II. DIAGNOSTIC ET PRISE EN CHARGE DES INFECTIONS URINAIRES

A. DEFINITION

L'incidence des infections urinaires est très importante dans tous les pays. C'est le deuxième site d'infections rencontré en communautaire après les infections respiratoires (bactériennes et virales). Cela correspond à 4 à 6 millions de cas/an en France, ce qui revient à 6-9 épisodes pour 100 habitants/an.(27)

Pour guider la prise en charge, il est nécessaire de faire la différence entre une colonisation et une infection. Lors de cette étude, nous avons étudié le mécillinaam et la fosfomycine qui sont des traitements utilisés dans les cystites chez la femme. En conséquence, dans cette partie, il ne sera développé que les infections urinaires chez les femmes.

1. COLONISATION URINAIRE

Les colonisations urinaires correspondent à la présence de bactéries dans les urines sans manifestations cliniques, et qu'il existe ou non une leucocyturie associée. En effet, les urines sont normalement stériles. Il n'existe pas de seuil de bactériurie, excepté chez la femme enceinte avec un seuil de bactériurie $\geq 10^5$ UFC/ml (Unité formatrice de colonies).

La colonisation urinaire est fréquente, mais la prévalence dans la population varie énormément en fonction de l'âge, le sexe et la présence d'anomalie génito-urinaire.(28)
La prévalence d'une colonisation urinaire chez la jeune femme est corrélée à l'activité sexuelle. Effectivement, des études ont montré que les relations sexuelles étaient un facteur de risque chez les femmes préménopausées en rapport avec l'augmentation de la colonisation vaginale et vésicale avec *Escherichia coli* uropathogène.(29)

Cette colonisation urinaire n'est pas traitée, excepté pour la femme enceinte car une bactériurie asymptomatique chez la femme enceinte augmente de 20 à 30% le risque de pyélonéphrite aigüe, causé par le changement physiologique du tractus urinaire lors de la grossesse, et peut entraîner des risques de prématurité pour le fœtus.(30)
En effet des études ont montré qu'un traitement excessif de ces colonisations entraînerait l'apparition de résistance bactérienne aux antibiotiques. De plus, il a été démontré que la prise d'antibiotique ne diminue pas, et peut augmenter, le risque d'infection urinaire clinique.(31)

2. IU CHEZ LA FEMME

Bien que les hommes et les femmes peuvent être atteints, les infections urinaires sont majoritairement retrouvées chez les femmes, dont 50% de ces dernières sont touchées à travers leur vie. Le pic d'incidence étant entre 18 et 39 ans.

Selon qu'elles soient limitées aux voies urinaires basses, ou qu'elles s'accompagnent d'une atteinte du parenchyme rénale, il existe une distinction entre cystite et pyélonéphrite.

2.1. CYSTITES AIGÛE

2.1.1. CYSTITES SIMPLES

Il s'agit d'une infection localisée des voies urinaires basses (vessie). Le diagnostic repose sur des signes fonctionnels urinaires tels que :

- Brûlures ou douleurs mictionnelles
- Pollakiurie
- Mictions impérieuses

D'autres signes moins fréquents peuvent être observés : une pesanteur pelvienne, un spasme rétro-pubien en fin de miction, une hématurie.

2.1.2. CYSTITES A RISQUE DE COMPLICATIONS

Ce sont des infections urinaires survenant chez des patientes comportant au moins un facteur de risque pouvant rendre l'infection plus sévère ou plus difficile à traiter.

Différents critères permettent de classer ces infections urinaires à risque de complication :

- Une anomalie fonctionnelle ou organique de l'arbre urinaire : telle qu'une uropathie obstructive ou iatrogène.
- Un terrain à risque de complication : la grossesse est à risque de complication, tout comme les personnes âgées de plus de 65 ans avec plus de trois critères de fragilité (critères de Fried, voir ci-dessous), ou plus de 75 ans, les insuffisants rénaux chroniques sévères et une immunodépression grave.

Les critères de fragilité, aussi appelés critères de Fried, regroupent :

1. Une perte de poids involontaire au cours de la dernière année
2. Vitesse de marche lente
3. Faible endurance
4. Faiblesse/fatigue
5. Activité physique réduite(32)

2.2.PYELONEPHRITE AIGÛE

La pyélonéphrite aiguë (PNA) est une infection bactérienne des voies urinaires hautes et du parenchyme rénal. Elle complique ou associe une cystite.

Le diagnostic repose, pour la clinique :

- Signes d'une cystite simple : brûlure lors de la miction, pollakiurie, pyurie et hématurie
- Association d'une fièvre et de douleur lombaire unilatérale irradiant vers les organes génitaux externes et/ou provoquée par la palpation ou percussion de la fosse lombaire. Des signes digestifs peuvent aussi être retrouvés.

Il faut distinguer une PNA grave ou non, conditionnant la prise en charge thérapeutique. Elle se différencie grâce à la présence d'au moins un critère de gravité :

- Sepsis (Quick SOFA ≥ 2)
- Choc septique
- Indication de geste urologique, hors sondage vésical simple (33)

Il existe un risque de complication vers des abcès péri-rénaux, ou des chocs septiques par le passage de la bactérie dans le sang. Une évolution vers la chronicité peut être observée avec une inflammation subaiguë du rein jusqu'à donner une insuffisance rénale.

En ce qui concerne les examens biologiques, le diagnostic repose sur la bandelette urinaire positive aux nitrites et leucocytes. De plus, la présence de bactéries à l'examen cyto-bactériologique des urines (ECBU) permet le diagnostic définitif.(17)

Des examens complémentaires, comme l'imagerie par échographie rénale et radiographie de l'abdomen sans préparation, permettent de rechercher un obstacle, lithiase et des signes de complication. En effet, la PNA, hors contamination par voie ascendante de l'appareil urinaire et voie descendante, peut être occasionnée par une obstruction des voies

urinaires : tumeur de la vessie, rétrécissement de l'urètre, hyperplasie bénigne de la prostate ou calculs urinaires.

B. DIAGNOSTIC

Le diagnostic biologique d'une infection urinaire repose sur deux tests biologiques : la bandelette urinaire (BU) et l'ECBU qui sont les examens clés.

1. BANDELETTE URINAIRE

La BU permet la détection :

- Des leucocytes avec un taux de détection $\geq 10^4/\text{mL}$, plus précisément l'estérase leucocytaire
- Des nitrites, produites par les entérobactéries, à partir de 10^5 bactéries/mL.(17)

Les performances diagnostiques de la BU restent variables en fonction du sexe. L'absence simultanée de leucocytes et de nitrites est une très bonne valeur prédictive négative chez la femme symptomatique. Chez l'homme symptomatique, la BU a plutôt une valeur prédictive positive élevée.

Le principe consiste à tremper la bandelette dans des urines du 2^e jet dans un récipient propre mais non stérile, sans toilette préalable. Le résultat est disponible en 2 minutes.

Pour une cystite simple, la BU est suffisante pour affirmer le diagnostic. Du fait de son importante valeur prédictive négative, une BU négative devra entraîner la recherche d'un autre diagnostic. Tandis que pour les autres formes d'infections urinaires, la BU est optionnelle et le diagnostic est posé sur l'ECBU, permettant par la suite d'adapter l'antibiothérapie à l'identification de la bactérie et son antibiogramme.(32)

2. EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES (ECBU)

L'ECBU est indispensable avant toute antibiothérapie pour toutes les infections urinaires exceptée la cystite simple.

Le prélèvement se fait au moins 4h après la dernière miction, pour permettre un temps de stase suffisant dans la vessie et avoir un compte maximal de bactéries. Il est précédé d'une hygiène des mains et de la région urétrale ou vulvaire pour éviter toute contamination. L'analyse se fait sur des urines du 2^e jet dans un flacon stérile permettant d'éliminer la flore physiologique de l'urètre distal. Un sondage « aller-retour » peut être réalisé en cas d'incontinence.

L'urine doit être transportée rapidement ou bien récupérée dans un tube boraté pour ralentir la multiplication bactérienne.

L'ECBU consiste en :

- Un examen macroscopique
- Un examen cytologique : dénombre le nombre de leucocytes, hématurie et cristaux.
- Un examen direct avec la coloration de Gram
- Identification de la bactérie par culture et réalisation d'un antibiogramme

Au CHU de Toulouse, des géloses chromogènes chromID® CPS ELITE sont ensemencées. Ces milieux permettent l'isolement, la numération et l'identification directe de *E.coli*, et une orientation dans l'identification pour les enterocoques, pour *Proteus* et le groupe KESC (*Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter*) en une seule étape dans les urines.

Des substrats spécifiques tels que la bêta-glucuronidase, la bêta-galactosidase et la bêta-glucosidase permettent cette orientation par coloration des colonies (tableau 3) (figure 4).

Tableau 3 Principe d'identification des milieux chromogènes(34)

Enzymes	<i>E.coli</i>	<i>Klebsiella, Enterobacter, Serratia, Citrobacter</i>	<i>Proteus, Morganii, Providencia</i>	<i>Enterococcus</i>
β D glucuronidase : colonie rose	+	-	-	-
β D galactosidase : colonie rose	+	+	-	-
β D glucosidase : colonie bleue	-	+	-	+
Tryptophane désaminase ; pigmentation beige de la gélose	-	-	+	-
Couleur des colonies sur CPS ID 3	Rose	Bleue foncé	Beige	Bleu claire

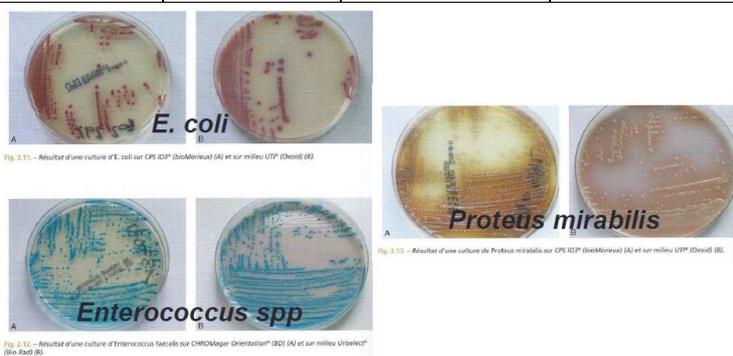


Figure 4: Aspect de différentes entérobactéries sur gélose chromogène (selon Oxoid)

Le seuil de bactériurie significative dépend de l'espèce bactérienne en cause et du sexe du patient. La numération bactérienne est réalisée en convertissant l'aspect de la culture en UFC/mL (figure 5) :

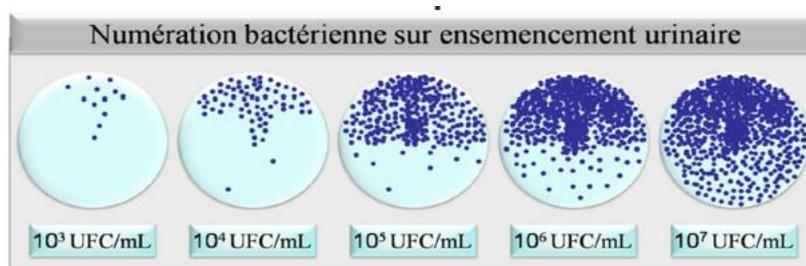


Figure 5 Numération bactérienne sur ensemencement urinaire(35)

Une leucocyturie $\geq 10^4$ /ml est considérée significative. Les seuils de significativité de bactériurie retrouvés dans les recommandations sont résumés ci-dessous (tableau 4) (33)(17):

Tableau 4 Seuil de significativité de la bactériurie en fonction du sexe

Espèces bactériennes	Seuil de significativité	Sexe
<i>E. coli</i> , <i>S. saprophyticus</i>	10 ³ UFC/mL	Homme ou femme
Entérobactéries	10 ³ UFC/mL	Homme
Entérobactéries autres que <i>E. coli</i>, entérocoque, <i>C. urealyticum</i>, <i>P. aeruginosa</i>, <i>S.aureus</i>	10 ⁴ UFC/mL	Femme
	10 ³ UFC/mL	Homme

Au laboratoire du CHU de Toulouse, les seuils de significativité ont été établis pour un ensemble plus large de bactéries (tableau 5) permettant aux techniciens de laboratoire de connaître la conduite à tenir en fonction de la bactérie. Effectivement, les infections urinaires sont plus volontiers d'origine nosocomiale qu'en laboratoire de ville et chez des patients présentant des facteurs de risque de complications.

Tableau 5 niveau de pathogénicité des bactéries rencontrées dans les urines et seuils de significativité associés

Groupe	Espèces bactériennes	Seuil de significativité pour la bactériurie (UFC/mL)	
		Homme	Femme
1	<i>E. coli</i> , <i>S. saprophyticus</i>	≥ 10 ³	≥10 ³
2	Entérobactéries autres que <i>E. coli</i> , entérocoque, <i>C. urealyticum</i> , <i>P. aeruginosa</i> , <i>S. aureus</i>	≥10 ³	≥10 ⁴
3	<i>S. agalactiae</i> , SCN autres que <i>S. saprophyticus</i> , <i>Acinetobacter spp</i> , <i>S. maltophilia</i> , <i>Pseudomonas</i> autres que <i>P. aeruginosa</i> , <i>Aerococcus</i> , <i>Actinobaculum schaalii</i>	≥10 ⁵	≥10 ⁵
4	<i>Lactobacillus</i> , streptocoques alpha-hémolytiques dont <i>milleri</i> , <i>G. vaginalis</i> , corynébactéries autres que <i>C. urealyticum</i>	Pas de seuil, contaminants probables.	

C. TRAITEMENT ANTIBIOTIQUE

Les infections urinaires touchent majoritairement la femme avec plus de la moitié des femmes qui auront une infection urinaire au cours de leur vie. Lors de cette thèse nous avons choisi de nous intéresser qu'aux femmes adultes en raison des recommandations de traitements

des cystites qui ne concernent que les femmes adultes. Il ne sera donc pas abordé dans ce chapitre la prise en charge des infections urinaires chez l'homme.

1. RECOMMANDATIONS

Différents types de prise en charge existent. L'antibiothérapie mais aussi la prévention non antibiotique, peuvent être des solutions à ces infections.

Pour le choix de l'antibiothérapie, plusieurs paramètres sont à prendre en compte.

- Une bonne diffusion au niveau des urines, avec une bonne élimination rénale et une sensibilité de la souche à l'antibiotique. Ce qui conditionnera une bonne efficacité.
- La tolérance à l'antibiotique est nécessaire, le respect de la balance bénéfice/risque est important. Une cystite simple traitée par un antibiotique avec de nombreux effets indésirables n'apporte aucun bénéfice au patient.
- L'impact écologique sur le microbiote intestinal : la fosfomycine et le pivmécillinam ont un faible impact.(33)

En ce qui concerne l'antibiothérapie probabiliste dans l'infection urinaire, il existe un seuil admissible d'antibiorésistance :

- 10% pour les PNA et infection urinaires masculines imposant une antibiothérapie urgente
- Nettement moins de 10% pour les formes les plus sévères d'uro-sepsis
- 20% pour les cystites simples, car il existe 50% de guérison spontanée et un risque très faible de transformation en PNA
- 10% pour les cystites gravidiques et les cystites « compliquées » car à risque de transformation vers la PNA.(32)

1.1. INFECTIONS URINAIRES DE L'ADULTE

1.1.1. CYSTITES SIMPLES

En France, pour les cystites simples, un traitement probabiliste est recommandé, guidé par une simple BU, sans ECBU préalable. Le traitement de première intention est le

fosfomycine-trométamol (figure 6). En effet, la grande majorité des cystites simples sont dues à *E. coli* (75-95% des infections urinaires non compliquée(9)) qui a une très grande sensibilité à la fosfomycine (>97% de sensibilité).

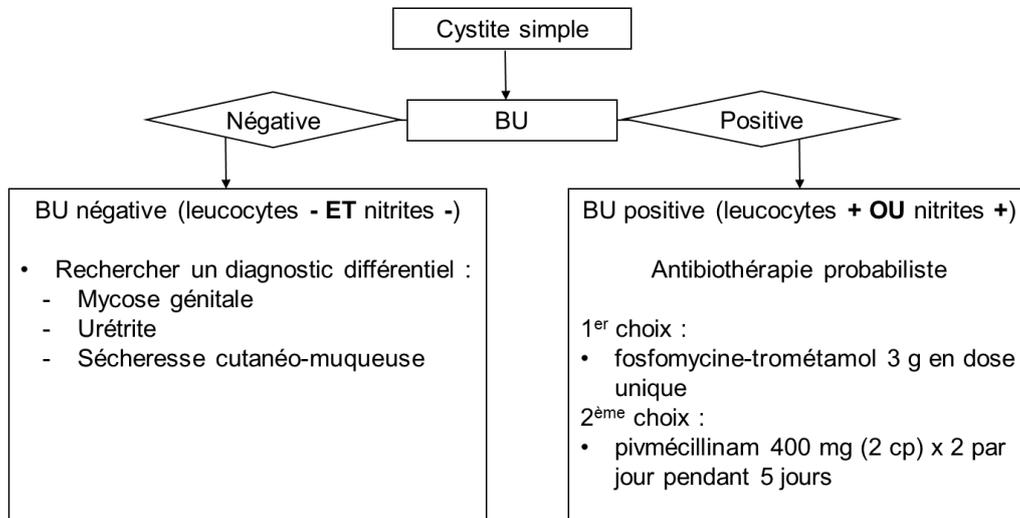


Figure 6 Prise en charge de la cystite simple(36)

Une publication de l’HAS (Haute Autorité de Santé) en 2021 (37), a revu la durée de l’antibiothérapie du pivmécillinam de 5 à 3 jours. Mais l’AFU (Association française d’urologie) a souligné qu’une seule étude a montré une absence de différence entre 3 et 5 jours de pivmécillinam et cela ne montrait pas qu’il y avait une équivalence.(38)

Les FQ ne sont pas recommandées du fait de leur pression de sélection sur des mutants résistants. Effectivement les patients ayant reçu un traitement par quinolones dans les 6 mois précédents ne sont pas éligibles à cet antibiotique. Eviter leur utilisation pour des infections simples permet aussi de les épargner pour des infections plus sévères.(17)(33)

La nitrofurantoïne, malgré son taux de résistances très faible, a vu son utilisation restreinte du fait de ses effets indésirables hépatiques et pulmonaires.

Pour le cotrimoxazole, le risque de résistance acquise et son impact sur le microbiote non négligeable n’en fait pas un antibiotique de choix.

S’il existe une contre-indication à la fosfomycine ou au pivmécillinam, un ECBU sera recommandé.

Dans d’autres pays, comme l’Angleterre, pour les cystites simples, une abstention thérapeutique peut être envisagée avec une prescription « de secours » d’antibiotique en cas

d'absence d'amélioration dans les 48h, ce qui permet d'éviter des effets indésirables gênants et parfois inutiles du fait de l'amélioration spontanée de l'infection urinaire.(39)

Pour les cystites simples, le suivi de l'efficacité du traitement est uniquement clinique et jugé par la patiente elle-même. Une absence d'amélioration des symptômes dans les 72h ou une aggravation des symptômes devra amener la patiente à consulter son médecin et à réaliser un ECBU.(17)

1.1.2. CYSTITES A RISQUE DE COMPLICATION

Pour les cystites à risque de complication, un ECBU est indispensable après une BU positive. Le mieux est d'attendre le résultat de l'antibiogramme pour adapter l'antibiothérapie. En effet, le risque d'antibiorésistance dans ce contexte est beaucoup plus élevé par l'utilisation répétée d'antibiotiques. L'utilisation de l'amoxicilline sera à privilégier si la souche bactérienne est sensible. Si le traitement ne peut être différé, une antibiothérapie probabiliste par nitrofurantoïne peut être envisagée (figure 7).

La fosfomycine-trométamol peut être indiquée dans les cystites à risque de complication (figure 7). Elle ne sera pas prise en monodose comme nous l'avons vu précédemment dans la cystite simple, mais en 3 doses à J1, J3 et J5.

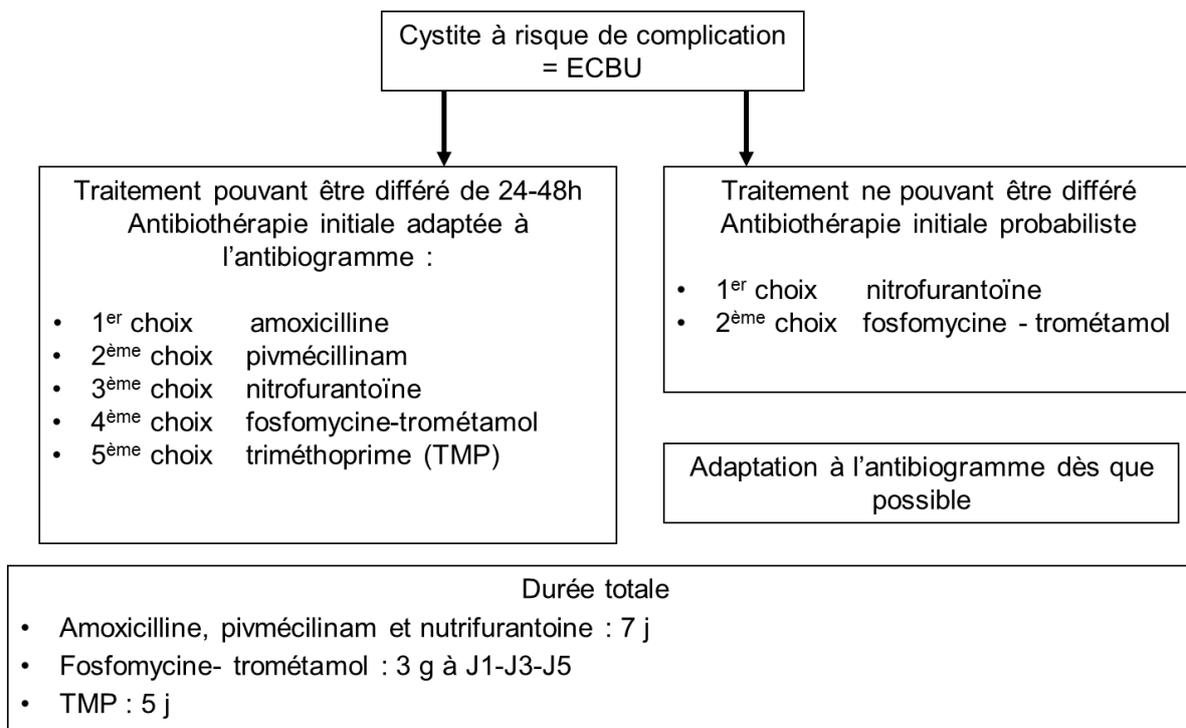


Figure 7 Prise en charge des cystites à risque de complication (33) (32)

Les FQ et C3G ont été abandonnées en antibiothérapie documentée du fait du risque accru de résistance sur ces terrains et leur mauvaise écologie.

Le suivi de l'efficacité sera le même que pour les cystites aiguës simples et donc basé sur la clinique.

1.1.3. CYSTITES RECIDIVANTES

Une cystite récidivante est qualifiée par au moins quatre épisodes de cystites par an. Le traitement est le même que les cystites simples, en évitant la nitrofurantoïne qui peut entraîner des réactions immuno-allergiques lors de prises répétées.

Si la patiente présente plus d'un épisode par mois, une antibioprophylaxie peut être envisagée en dernier recours du fait du risque de toxicité et de résistance. Deux situations existent :

- Cystite post-coïtale : elle consiste à une prise d'antibiotique 2h avant ou 2h après le rapport sexuel de triméthoprimé ou fosfomycine-trométamol.
- Autres situations : triméthoprimé ou fosfomycine-trométamol de manière hebdomadaire. La posologie du triméthoprimé sera de 150 mg par jour ou 400-80 mg/j pour le cotrimoxazole (utilisation hors AMM), et pour la fosfomycine-trométamol 3g en dose unique tous les 7 à 10 jours a été validé dans une étude.(40)

Le suivi, ici aussi, reste clinique sans ECBU systématique. L'objectif étant la disparition des symptômes et pas la stérilisation des urines.

1.1.4. PYELONEPHRITE AIGUE (PNA)

Le traitement de la PNA est différent selon qu'il y ait ou pas des critères de gravité (tableau 6). Pour une PNA sans signes de gravité et sans facteurs de risque de complication les FQ seront à privilégier, alors que la présence de facteurs de risque entraînera un traitement par C3G en parentéral. Dans le cas d'une PNA avec des signes de gravité une bithérapie sera privilégiée avec un aminoside.

Tableau 6 Traitement des pyélonéphrites aiguës(33)

PNA sans signes de gravité		PNA avec signes de gravité	
PNA simple	PNA avec FDR de complications	qSOFA ≥ 2 sans choc septique ou geste urologique urgent	
<ul style="list-style-type: none"> - Fluoroquinolone (ciprofloxacine ou lévofloxacine) sauf si prise dans les 6 mois - C3G parentérale : céfotaxime ou ceftriaxone - Si contre-indication : aminoside ou aztréonam 	<ul style="list-style-type: none"> - C3G injectable à privilégier - Fluoroquinolones 	<ul style="list-style-type: none"> - C3G parentérale + amikacine - Si allergie : aztréonam + amikacine - Si ATCD de EBLSE <6 mois : pipéracilline-tazobactam + amikacine si souche sensible - A défaut carbapénème + amikacine 	
		Choc septique	
		<ul style="list-style-type: none"> - Si ATCD de EBLSE <6 mois, ou amox-clav/C2G-C3G/FQ <6 mois ou voyage en zone d'endémie EBLSE: carbapénème + amikacine 	
Relais par voie orale après antibiogramme			
<ul style="list-style-type: none"> - 1^{ère} intention : amoxicilline 1g 3 fois par jour pendant 10 jours - Ou cotrimoxazole : 800 mg/160 mg 2 fois par jour pendant 10 jours - Ou amoxicilline-acide clavulanique 1g 3 fois par jour pendant 10 jours - Ou ciprofloxacine 500 mg 2 fois par jour ou lévofloxacine 500 mg 1 fois/jour pendant 7 jours - Ou céfixime pendant 10 jours - Ou ceftriaxone 1g à 2g par jour pendant 7 jours 			

Les FQ ont plusieurs avantages : une très bonne biodisponibilité, prise par voie orale, durée courte (7j), moins de sélection des EBLSE que les C3G. Mais elles présentent aussi des inconvénients : un taux de résistance variable, en effet l'ofloxacine a été retiré du fait de son taux de mutation important, mais qui est moindre pour la ciprofloxacine et lévofloxacine. Mais l'utilisation dans les 6 mois précédent d'une fluoroquinolone, contre-indique son utilisation du fait du risque important d'acquisition de résistance. Pour les PNA à risque de complications, les C3G parentérales seront privilégiées du fait d'une augmentation des résistances pour les FQ.(32)

Dans les nouvelles recommandations de la HAS 2021, les aminosides et aztréonam ont été retirés dans la prise en charge des PNA sans signe de gravité car il s'agit de molécules non disponibles en ville.(41)

La durée de traitement est de 7 à 10 jours en fonction de la molécule pour les PNA sans facteurs de risque de complication, alors qu'elle augmente de 10 à 14 jours pour celles ayant des facteurs de risque.

En ce qui concerne le suivi, une réévaluation clinique à 72 heures est nécessaire. Il n'est pas nécessaire de faire un ECBU de contrôle si l'évolution clinique est favorable. Si l'évolution est défavorable, il est recommandé d'effectuer un ECBU et un uroscanner.(41)

1.2. INFECTIONS URINAIRES DE LA FEMME ENCEINTE

La grossesse est une situation favorisant les infections urinaires. En effet, l'imprégnation en progestérone provoque une myorelaxation de la vessie permettant une capacité vésicale plus importante et une stase d'urine favorisant la multiplication des bactéries. De plus, la différence entre le pH urinaire et l'osmolalité, ainsi que la glycosurie induite par la grossesse facilite la croissance bactérienne. Le reflux vésico-urétéral augmente, mais aussi un relatif état d'immunodépression chez la femme enceinte peuvent être une cause d'augmentation de la fréquence des infections urinaires.(42)

Le traitement de la colonisation devient nécessaire car une colonisation urinaire non traitée peut persister pendant toute la grossesse, entraînant un risque élevé de pyélonéphrite entre 20 et 40%.(17) Ces infections peuvent avoir des effets indésirables sur la femme enceinte mais surtout le fœtus avec une naissance prématurée, un petit poids à la naissance, une rupture prématurée des membranes pouvant entraîner une infection néonatale à *E. coli* lors de l'accouchement par contamination de la filière génitale ou *in utero*.

C'est pour cela qu'un dépistage mensuel est recommandé chez la femme enceinte à partir du 4^e mois de grossesse.

Les bactéries en cause sont les mêmes que pour la femme non enceinte. Il est retrouvé, plus particulièrement, *E. coli*, et plus rarement *Klebsiella* et *Enterobacter spp*. La bactériurie à streptocoque B, reflet de sa colonisation génitale, doit être prise en charge pour éviter l'infection néonatale lors de l'accouchement.

Le choix de l'antibiothérapie doit inclure une innocuité pour la mère mais aussi pour le fœtus. De plus, les changements physiologiques chez la femme enceinte peuvent altérer la pharmacocinétique du traitement. Il existe, par exemple, une augmentation du débit sanguin, de la filtration glomérulaire, mais aussi des volumes plasmatiques plus importants.(30)

Les antibiotiques utilisés comprennent l'amoxicilline, les céphalosporines, nitrofurantoïne et le triméthoprime-sulfaméthoxazole.

Les fluoroquinolones ne sont pas recommandées en première intention étant donné des études contradictoires sur la tératogénicité possible de cette classe d'antibiotiques. En effet, un risque malformatif a été démontré dans des études animales anciennes avec une toxicité rénale, au niveau du système nerveux central, malformations cardiaques et atteinte osseuse et cartilagineuse.(43) Si l'utilisation de fluoroquinolone est nécessaire, il est préférable d'utiliser la ciprofloxacine, mieux connue chez la femme enceinte.

Dans une méta-analyse de 8 essais, 3 essais cas-témoins ont montré une possible association entre la nitrofurantoïne et une hypoplasie du cœur droit au cours du premier trimestre, mais la présence de biais et des données opposées pour les 5 autres essais ont conclu qu'il n'y avait pas de risque malformatif en cas d'exposition. Cet antibiotique est à éviter s'il existe un risque de déficit en G6PD.(44)

Pour le triméthoprime-sulfaméthoxazole, il est contre-indiqué lors du premier trimestre de grossesse car des études sur l'animal ont montré une malformation des fentes palatines. Durant le troisième trimestre, il existe un risque de développement d'ictère nucléaire chez le nourrisson, en effet les sulfamides peuvent interférer avec la liaison à la bilirubine. Mais il reste envisageable au cours du 2^e et 3^e trimestre, car il n'a pas été observé à ce jour d'ictère nucléaire lors de son administration à proximité de l'accouchement.(42)

Le traitement est systématique dès la découverte d'une bactériurie $\geq 10^5$ UFC/ml même si asymptomatique. L'antibiothérapie sera d'emblée adaptée aux résultats de l'antibiogramme pour la bactériurie asymptomatique :

- 1^{ère} intention : amoxicilline
- 2^e intention : pivmécillinam
- 3^e intention : fosfomycine-trométamol en dose unique
- 4^e intention : triméthoprime (à éviter les deux premiers mois de grossesses)
- 5^e intention : nitrofurantoïne, cotrimoxazole (à éviter les 2 premiers mois), amoxicilline-acide clavulanique ou céfixime

Il a plusieurs années, une étude a montré un risque accru d'entérocolite ulcéro-nécrosante chez le nouveau-né lors de la prise d'amoxicilline-acide clavulanique en fin de grossesse. Mais plusieurs études qui ont suivi, n'ont pas pu démontrer ce risque. Il reste donc un traitement de choix quand cela est nécessaire.(45)

Mise à part le fosfomycine-trométamol, la durée de traitement sera de 7 jours.

Pour la cystite gravidique, un antibiotique probabiliste doit être débuté sans attendre les résultats de l'antibiogramme.

- 1^{ère} intention : fosfomycine-trométamol, du fait de sa faible prévalence d'antibiorésistance et de son excellente tolérance materno-fœtale
- 2^e intention : pivmécillinam
- 3^e intention : nitrofurantoïne, céfixime ou ciprofloxacine

Un ECBU 8 à 10j après le traitement est recommandé puis suivi d'un ECBU mensuel jusqu'à l'accouchement.

Le traitement antibiotique des infections urinaires est devenu compliqué à cause de l'émergence de bactéries multirésistantes. La fosfomycine et le mécillinam, grâce à leur mécanisme d'action différent et à leur absence de résistance croisée avec les autres traitements, sont des antibiotiques de choix dans la prise en charge des infections urinaires. De plus, leur très bonne tolérance et leur faible impact écologique les rendent d'autant plus intéressants. C'est pour cela que dans notre étude, nous avons trouvé pertinent de nous consacrer davantage à ces molécules.

2. FOSFOMYCINE

Du fait de l'augmentation du taux des résistances acquises aux antibiotiques, notamment pour les bacilles Gram négatif, l'utilisation d'alternative thérapeutique devient nécessaire. Mais devant l'absence de nouvelle thérapeutique, le retour à d'anciens antibiotiques peut être une solution. Les cystites sont les seules indications de la fosfomycine-trométamol par voie orale. La fosfomycine intraveineuse peut être utilisée dans certains pays européens, comme la France, dans les infections du système nerveux central en association ou dans les infections à bacille Gram négatif multirésistants en dernier recours.

La fosfomycine a été découverte en 1969 à partir de culture de *Streptomyces*. Elle est bactéricide et concentration-dépendante. Elle agit en inhibant la synthèse de peptidoglycane par action sur la pyruvyl transférase, appelé *murA*. Elle est responsable de la première étape de la synthèse du peptidoglycane en catalysant la liaison du phospho-énolpyruvate (PEP) à l'UDP-N-acétylglucosamine, précurseur du peptidoglycane, empêchant ainsi la synthèse de la paroi bactérienne (figure 8). Son action est intracytoplasmique, nécessitant de pénétrer dans la bactérie grâce à des mécanismes de transport :

- GlpT : système de transport du glycérolphosphate, prépondérant, d'expression continue
- UhpT : système de transport des hexoses monophosphates, secondaire, d'expression inductible. Du fait de cette inductibilité par le glucose-6-phosphate (G6P), la présence de G6P est nécessaire dans les milieux utilisés pour tester la sensibilité des bactéries.

La structure chimique de la fosfomycine imite le glucose-3-phosphate et le G6P pour permettre son passage dans ces transporteurs.(46)(47)

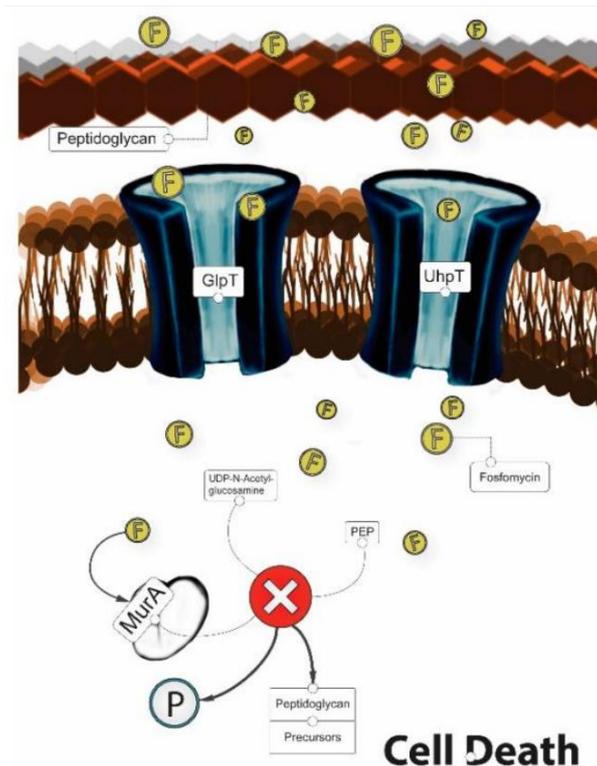


Figure 8 Mécanisme d'action de la fosfomycine(48)

De plus, elle inhibe l'adhérence des bactéries aux cellules épithéliales urinaires. En effet, elle interfère notamment avec la production de fimbriae d'*E. coli*.(49)

Son spectre d'activité englobe les bactéries à Gram positif tel que les staphylocoques indépendamment de sa résistance à la méticilline (excepté le *S. saprophyticus*), streptocoques, pneumocoques et *Enterococcus faecalis* (dont les entérocoques résistants à la vancomycine). Mais elle cible aussi les bactéries à Gram négatif comme les entérobactéries, *Pseudomonas*, *Neisseria meningitidis* et des anaérobies comme le *Fusobactérium*.

Parmi certaines bactéries à Gram positif, comme *Corynebacterium*, *Listeria*, *S. saprophyticus*, une résistance naturelle à la fosfomycine est observée. Une résistance est aussi observée pour des bactéries à Gram négatif avec *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas*, et

Morganella. Parmi les anaérobies, *Bacteroides*, *Clostridium* et *Prevotella* sont résistants à la fosfomycine.

Parmi les mécanismes de résistance à la fosfomycine, la réduction du transport intracellulaire de l'antibiotique, par des mutations dans les gènes codant pour le transporteur glycérol-3-phosphate ou le transporteur G6P, est la plus fréquente des mutations acquises et résulte de mutations chromosomiques.

Le changement de cible avec des mutations au niveau du site de liaison de l'enzyme (*murA*) est un autre mécanisme de résistance. Chez *E. coli* la mutation au niveau de Cys115, résidu clé dans le site actif de MurA, entraîne une résistance à la fosfomycine.(13) Ce mécanisme est un des plus courant parmi les résistances intrinsèques notamment pour *Mycobacterium tuberculosis*, mais il reste moins fréquent parmi les mutations acquises qu'une diminution de la perméabilité.

L'inactivation directe de la fosfomycine par des métalloenzymes (FosA, FosB et FosX) ou des kinases (FomA et FomB) entraîne des résistances, soit par clivage enzymatique du cycle époxyde, soit par phosphorylation du groupe phosphonate (figure 9).(48)(50) C'est un mécanisme généralement plasmidique mais il reste en très faible proportion comparé aux autres mécanismes. Il est souvent associé à d'autres mécanismes de résistance comme des BLSE CTX-M.(13)

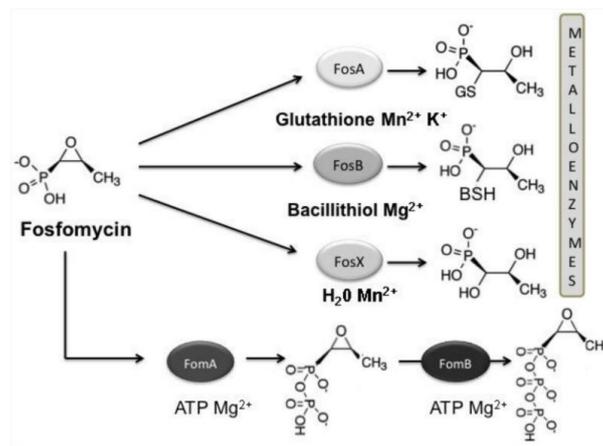


Figure 9 Résistance par inactivation enzymatique de la fosfomycine(13)

Lors d'une perte d'expression de *uhpT*, sur l'antibiogramme par diffusion, il est possible d'observer des colonies dans le halo d'inhibition, qui n'est pas corrélé à un impact clinique. En effet, la fenêtre de sélection de mutants résistants peut être évitée avec de fortes doses de fosfomycine. VanScoy *et al.* ont montré qu'une concentration à 256 fois la CMI permet de

réduire le taux de mutants comparé à 5 fois la CMI.(50) De plus, l'utilisation en monodose à de forte concentration de la fosfomycine permet de tuer rapidement les bactéries et d'éviter la sélection de mutants résistants.

Dans les infections urinaires, la fosfomycine est sous forme orale, fosfomycine-trométamol qui est un sel de fosfomycine monobasique hydrosoluble mieux absorbé dans le sang. L'association fosfomycine-trométamol permet d'augmenter le pH et de ralentir l'hydrolyse de la fosfomycine catalysée par l'acidité gastrique.

Grâce à cette association, la biodisponibilité par voie orale est de 40 à 50%. La nourriture réduit son absorption. De plus, une bonne diffusion dans les tissus est observée grâce à son faible poids moléculaire. Non métabolisée, elle est éliminée par voie rénale sous forme active. (51)

Du fait d'un pic de concentration atteint en 4 heures et de sa persistance à concentration efficace (>128 mg/L) au-delà de 30h, une administration à dose unique de 3g est suffisante dans les cystites non compliquées.

En ce qui concerne les effets indésirables, la fosfomycine-trométamol a une bonne innocuité, de légers troubles gastro-intestinaux peuvent être observés. De plus, une foetotoxicité n'a pas été observée dans la littérature permettant d'utiliser cette association chez la femme enceinte.(51)(52)

- **Epidémiologie de la résistance à la fosfomycine :**

Le seuil, au-delà duquel les souches sont considérées comme résistantes à la fosfomycine-trométamol, est défini par le CA SFM (Comité de l'Antibiogramme par la Société Française de Microbiologie). De récentes évolutions ont eu lieu pour s'aligner avec l'EUCAST (Comité Européen de la Sensibilité aux Antibiotiques). En effet, dans le CASFM 2020 la CMI au-delà de laquelle la souche d'entérobactérie est résistante était estimée à 32 mg/L. Mais depuis le CASFM 2021, une souche est estimée résistante pour une CMI strictement supérieure à 8 mg/L et un diamètre supérieur à 24 mm. Ce diamètre d'inhibition a aussi fait l'objet de modification. En effet en 2019 le CASFM estimait le diamètre critique à 19 mm alors qu'en 2020 il est passé à 24 mm (tableau 7).(53)

Tableau 7: Evolution des concentrations et diamètres critiques de la fosfomycine par le CASFM

	Diamètre (mm)	CMI (mg/L)
	S _≥	≤S
CASFM 2019	19	32
CASFM 2020	24	32
CASFM 2021	24	8

Pour l'EUCAST, la concentration critique de la CMI est proposée uniquement pour les infections urinaires non compliquées à *E. coli* laissant pour les autres entérobactéries une estimation incertaine de cette concentration.(54) Quant au CASFM, depuis 2022 la concentration critique est proposée uniquement pour *E. coli* pour s'aligner avec l'EUCAST.(53)

Les données relatives à la sensibilité de la fosfomycine sont en majorité retrouvées dans des souches isolées d'infections urinaires du fait de son indication. Pour les entérobactéries, la fosfomycine reste sensible pour une grande majorité. En effet, une étude venant du réseau REUSSIR de 2020, a montré que malgré le changement des diamètres critiques et concentrations critiques, *E. coli* reste sensible à la fosfomycine dans 95% des cas, pour *P. mirabilis* un taux de résistance est observée dans 16,2% des souches ce qui reste acceptable pour un traitement d'infections « non graves ». Par contre, avec ces changements, *K. pneumoniae* devient résistant dans 88,2% des cas.(55) Malgré ces modifications, les souches *E. coli* BLSE sont restées sensibles à la fosfomycine.(56)

Par contre pour *K. pneumoniae*, *Enterobacter spp.* et *Proteus mirabilis*, les CMI de la fosfomycine sont hétérogènes et plus élevées que *E. coli*.(57)(51) En ce qui concerne *K. pneumoniae*, cette diminution de sensibilité serait due au gène *fosA*, comme vu précédemment avec un mécanisme chromosomique chez *K. pneumoniae*, et que l'on retrouve aussi chez d'autres entérobactéries sous forme plasmidique.(58) Pour les autres entérobactéries, la sensibilité à la fosfomycine est rarement décrite mais est plutôt supérieure à 70%.(51)

Les entérobactéries productrices de BLSE ont un faible niveau de résistance croisée à la fosfomycine, contrairement aux autres antibiotiques, comme les fluoroquinolones et cotrimoxazole, utilisés dans cette indication, ce qui en fait un traitement intéressant pour ces bactéries. Ces résultats seraient dus au fait que la résistance à la fosfomycine chez les

entérobactéries ne semble pas médiée principalement par des plasmides mais serait plutôt chromosomique.(59)

3. PIVMECILLINAM

Le pivmécillinam fait partie du groupe des amidopénicillines. Il a été découvert en 1970 et a une excellente efficacité dans les traitements des infections urinaires non compliquées. Il présente de nombreux avantages par rapport à d'autres β -lactamines :

- Une très grande concentration dans les urines
- Il est bien toléré et peut être donné aux insuffisants rénaux
- Une stabilité face aux β -lactamases qui sont fréquentes parmi les pathogènes urinaires communautaires. En effet, pour *E. coli* une résistance à l'amoxicilline est retrouvée pour 42,1% des souches urinaires.(60)
- Il développe peu de résistance
- Il a peu d'impact sur le microbiote.

Le pivmécillinam est la prodrogue du mécillinam sous forme orale. En effet, après absorption une hydrolyse permet la libération du mécillinam. 45% de la forme mécillinam est excrétée dans les urines en 6h.

C'est un antibiotique bactéricide temps-dépendant, qui interfère avec la synthèse de la paroi bactérienne. Contrairement aux autres β -lactamines qui se lient à la protéine de liaison à la pénicilline (PLP) 1A ou 1B, le mécillinam se lie à la PLP-2. Cette protéine est essentielle à la synthèse de peptidoglycane et à la formation en bâtonnet des bactéries à Gram négative. Quand ces bactéries sont traitées par mécillinam, elles deviennent de grandes sphères et finissent par se lyser. (figure 10)(61)

Il a une très bonne activité antibactérienne contre les bacilles à Gram négatif, notamment les entérobactéries. Mais du fait de son site de liaison différent des autres β -lactamines, son action contre les bactéries à Gram positif reste faible, en effet il a été démontré que l'action sur les Gram positif est moins efficace et pas différente que lors de l'utilisation d'une β -lactamine classique. Il n'agit pas contre *Enterococcus spp.* et *Staphylococcus aureus*. Il présente des CMI élevées pour *Staphylococcus saprophyticus* (8-64 mg/l). Mais du fait de son importante

concentration urinaire, son taux de guérison clinique et microbiologique est comparable aux autres traitements.(62)

L'inactivation du gène *cysB*, impliqué dans la biosynthèse de la cystéine, est le principal mécanisme de résistance retrouvé pour le mécillinaam chez *E. coli* dans les infections urinaires. Le rôle mécanistique de *cysB* est mal élucidé . Cette inactivation entrainerait l'augmentation intracellulaire d'un nucléotide, le ppGpp, impliqué dans le signal cellulaire pour la formation de la bactérie. Un article, de Thulin et Andersson, a montré que la mutation de *cysB* entraîne une surexpression des protéines PLP1B, LpoB et FtsZ, impliquées dans la biosynthèse du peptidoglycane qui serait impliquée dans cette résistance. L'augmentation de l'expression de LpoB et PLP1B permettrait la biosynthèse de la paroi cellulaire *via* une voie alternative, en contournant le besoin de PLP2 inhibé par le mécillinaam (figure 10).(63) Plusieurs autres mutations sont retrouvées *in vitro*, mais le développement de résistance *in vivo* reste faible. En effet, la lenteur du développement des mutants résistants réduit leur capacité à se fixer dans la vessie du fait des mictions fréquentes. De plus, la forte concentration de mécillinaam dans la vessie empêche d'atteindre le seuil nécessaire à leur maintien.(61)

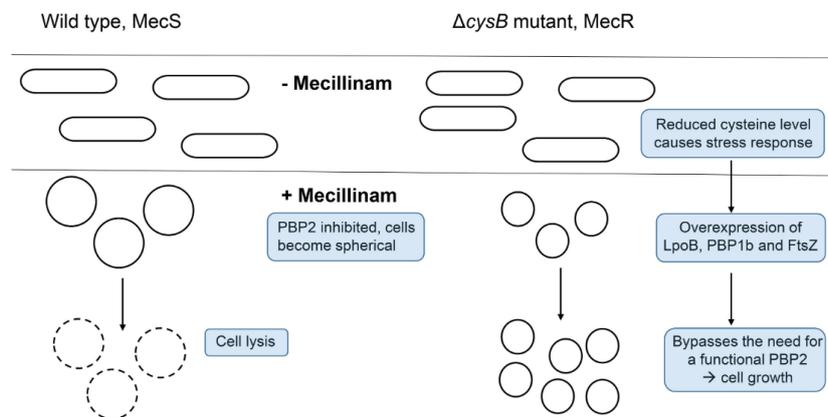


Figure 10 Mécanisme de résistance au mécillinaam avec mutation *cysB*(63)

En France, le pivmécillinaam a l'AMM dans les cystites aiguës simples à une posologie de 400 mg 2 fois par jour pendant 5 jours. Cet antibiotique est recommandé dans certains pays, notamment nordiques, dans la prise en charge de pyélonéphrite aiguë non compliquée. Il semblerait que son utilisation à une posologie minimale de 400 mg pendant au moins 14 jours serait nécessaire pour avoir un temps suffisant au-dessus de la CMI et cibler les EBLSE.(64) Le mécillinaam résiste à l'hydrolyse par les β-lactamases, ce qui permettrait son utilisation chez les EBLSE. En effet, une diminution de l'activité de certaines β-lactamases par le mécillinaam

a été mise en évidence combinée à une faible affinité de cet antibiotique pour certaines β -lactamases.(65)

Plusieurs études *in vitro* montrent son efficacité, mais les études *in vivo* sont assez rares. Il existe une étude sur les pyélonéphrites récurrentes causées par *E. coli* producteur de BLSE CTX-M avec traitement par pivmécillinam à long terme qui serait corrélé au fait que le mécillinam a une meilleure activité *in vitro* contre les EBLSE CTX-M. (66) Mais d'autres études ont montré, à CMI équivalente, un risque d'échec plus important pour les EBLSE contrairement au non BLSE, ce qui serait expliqué par un inoculum important et une posologie insuffisante.(67)

Contrairement aux autres β -lactamines, le pivmécillinam, du fait de son spectre antibactérien restreint, n'agissant pas sur les anaérobies, n'entraîne pas de perturbations majeures au niveau du microbiote intestinale et donc pas de prolifération bactérienne d'entérobactéries résistantes. Par ailleurs, il a un impact écologique minime sur la flore vaginale. En effet il n'agit pas contre les lactobacilles. Ce faible impact permet un maintien de la protection des femmes contre le développement d'infections urinaires, mais aussi d'effets indésirables sur le microbiote telle que les vaginoses ou diarrhées.(68)(62)

Malgré son utilisation répandue et de longue date, peu d'effets indésirables et de résistances ont pu être observés. Une étude a regroupé des patientes avec des infections urinaires basses non compliquées de 16 pays européens et le Canada, avec le pourcentage de résistance des bactéries aux antibiotiques. Elle a regroupé 2889 souches d'entérobactéries. Comme nous montre cette étude (tableau 8), la résistance au pivmécillinam reste faible pour les entérobactéries d'où l'intérêt de son utilisation. Ceci serait dû à son faible impact sur l'environnement et sur notre microbiote.(69)

Tableau 8 Résistance aux antibiotiques chez *E. coli*, *P. mirabilis*, *Klebsiella spp.*, d'autres entérobactéries et *S. saprophyticus* (69)

Agents antimicrobiens (résistance en pourcentage)		
Bactérie	Fosfomycine	Pivmécillinam
<i>E. coli</i>	0,7	1,2
<i>P. mirabilis</i>	3,1	4,2
<i>Klebsiella spp.</i>	56,7	5,2
Autres Entérobactéries ¹	15,6	1,6
<i>S. saprophyticus</i>	100	100

¹*Citrobacter spp.*, *Enterobacter spp.*, *Morganella morgani*

D. PREVENTION ET TRAITEMENT NON ANTIBIOTIQUE

La prévention passe par plusieurs mesures.

- Celles qui diminuent le risque de fixation de la bactérie au niveau de la vessie : notamment hygiéno-diététiques avec une bonne hydratation. Des mictions fréquentes, complètes et systématiques après un rapport sexuel diminuent ce risque. Mais aussi réguler le transit intestinal en favorisant des aliments riches en fibres, éviter les spermicides et le port de diaphragme qui perturberaient la flore vaginale.
- Celles qui limitent la colonisation urétrale par la flore digestive : s'essuyer d'avant en arrière et une hygiène intime quotidienne. Elle passe aussi par l'habitude vestimentaire : des vêtements serrés favorisent les infections.

En ce qui concerne les infections récidivantes, il faut renforcer ces mesures mais aussi favoriser certains aliments comme la canneberge, qui serait un analogue des récepteurs à *E. coli* permettant de diminuer l'adhérence d'*E. coli* à l'urothélium, mais les études sont contradictoires vis-à-vis de cet aliment. En effet, une méta-analyse n'a pas montré d'effet significatif contrairement à un placebo ou de l'eau, mais cinq autres méta-analyses ont montré son efficacité dans certaines populations. Ces différences seraient dues à l'hétérogénéité clinique et la différence de méthodologie entre les études.(70) Les œstrogènes pour les femmes ménopausées mais aussi les probiotiques sont intéressants pour restaurer et réguler la flore génitale, mais une méta-analyse a montré que les probiotiques ne diminuaient pas plus le risque d'infections urinaires comparé à la prise de placebo.(71)

Selon European Association of Urology (EAU), une méta-analyse et essai randomisé ont montré que le D-mannose serait efficace dans la prévention des infections urinaires comparé à un placebo, mais d'autres études sont nécessaires pour confirmer son efficacité.(70) Une revue sur les sels de méthamine hippurate a montré qu'ils pouvaient être efficaces dans la prévention des infections urinaires à court terme, chez les personnes sans anomalies du tractus urinaire.(72) Une méta-analyse de 2021 a montré un bénéfice de ces sels mais non significative, ce qui entraîne une absence de leur mention dans les recommandations de prévention.(70)

Des vaccins sont en développement, mais jusqu'à maintenant ils n'ont qu'un succès marginal avec une perte d'efficacité au bout de quelques semaines. Des vaccins sublinguaux ont aussi été étudiés chez les patients immunodéprimés avec des résultats assez prometteurs. Ils sont composés de lysats bactériens lyophilisés de différents uropathogènes ou différentes souches de *E. coli* en fonction du vaccins.(73)

PARTIE 2 : COMPARAISON DE METHODES POUR LA DETERMINATION DE LA SENSIBILITE A LA FOSFOMYCINE ET AU MECILLINAM DE SOUCHES URINAIRES D'ENTEROBACTERIES

I. CONTEXTE ET OBJECTIF DE L'ETUDE

La fosfomycine et le mécillinam ont une place importante dans le traitement des cystites qu'elles soient simples, à risque de complication ou récidivantes. Mais elles sont rendues au laboratoire par le Vitek®2 uniquement pour *Escherichia coli*, qui est la bactérie prédominante pour les cystites aiguës simples mais moins dans les cystites à risque de complications. Cela amène à une perte de chance pour certaines patientes du fait de l'allongement du délai de rendu des résultats pour ces deux antibiotiques largement utilisés dans les infections urinaires.

Notre étude a pour objectif de comparer les différentes méthodes de routine (Vitek®2 AST-N372, CMI Etest® et diffusion en disques) et la méthode de référence (dilution en milieu agar) pour déterminer la sensibilité vis-à-vis de la fosfomycine et du mécillinam de souches urinaires d'entérobactéries, plus précisément non *Escherichia coli*.

II. MATERIELS ET METHODES

A. SELECTION DES PATIENTS

Pour le choix de nos souches à inclure dans notre étude, nous nous sommes basées sur des ECBU :

- De femmes adultes
- Prélèvement à mi-jet,
- Leucocyturie $>20/\text{mm}^3$
- Avec présence d'une seule entérobactérie (non *E. coli*) à taux significatif ($\geq 10^4$ UFC/mL)
- Sont exclues les patientes sondées

Nous avons pu réunir un nombre total de 347 souches. Avec 50 souches de *Proteus mirabilis*, 49 de *Citrobacter koseri*, 51 *Enterobacter complexe cloacae*, 50 *Klebsiella oxytoca*, 48 *Klebsiella aerogenes*, 49 *Klebsiella pneumoniae*, et 50 *E. coli* pour comparaison. Pour cela

nous avons récupéré des souches au CHU de Toulouse, mais aussi des CHU de Poitiers, Reims, Clermont-Ferrand et Montpellier.

Les souches des différents CHU ont été anonymisées.

B. IDENTIFICATION ET CONSERVATION DES SOUCHES

Avant l'étude, les souches du CHU de Toulouse ont été conservées à une température de -80°C. Pour les souches des centres extérieurs, par soucis de stabilité lors du transport, elles ont été envoyées et conservées à température ambiante dans des tubes gélosés. L'ensemble des souches ont été ensemencées sur des milieux de cultures COS (gélose Columbia + 5% de sang de mouton) et mises à l'étuve à 35°C +/-2°C pendant 18 à 24h.

A partir des colonies, les souches ont toutes été ré-identifiées par le spectrophotomètre de masse MALDI-TOF (Matrice Assisted Laser Desorption Ionization- Time of Flight) BioTyper de la société Bruker. Cette ré-identification a été effectuée pour s'assurer de la qualité des souches conservées et confirmer l'identification au niveau de l'espèce des souches d'entérobactéries.

La spectrométrie de masse est une technique d'analyse dans laquelle les échantillons sont ionisés en molécules chargées et le rapport de leur masse sur charge (m/z) peut être mesuré. Ici, la source d'ions est la désorption/ionisation par laser frappant une matrice pour faire passer les molécules d'analyte dans la phase gazeuse sans les fragmenter ou les décomposer. Ces molécules sont séparées dans le temps en fonction du m/z par un analyseur et une représentation de ces ions est générée par un logiciel.

Le spectrophotomètre permet d'identifier l'espèce bactérienne par comparaison des pics protéiques obtenus avec les banques de données. Après analyse du spectre, un score et une couleur sont obtenus, accompagnés des 10 meilleurs spectres de souches inclus dans la base de données correspondant le mieux à ces spectres. Comme nous le montre la figure 11 :

- Si les scores sont supérieurs à 2 et concernent la même espèce, l'identification est considérée comme à forte probabilité d'identification de l'espèce.
- Si les scores sont entre 1,7 et 2, l'identification est douteuse et sera acceptée ou refusée en fonction de la concordance des 10 propositions.
- Si le score est inférieur à 1,7 : l'identification est rejetée.

Valeur	Description	Symboles	Couleur
2.300 ... 3.000	forte probabilité d'identification à l'espèce	(+++)	vert
2.000 ... 2.299	identification du genre sécurisée, identification à l'espèce probable	(++)	vert
1.700 ... 1.999	identification au genre probable	(+)	jaune
0.000 ... 1.699	degré de confiance insuffisant pour l'identification	(-)	rouge

Figure 11 Interprétation des scores MALDI BioTyper

C. DETERMINATION DE LA SENSIBILITE AUX ANTIBIOTIQUES

La sensibilité à la fosfomycine et au mécilinam a été déterminée par quatre techniques différentes :

- La détermination des CMI en milieu liquide par le Vitek®2
- La méthode de référence de dilution en milieu agar
- La détermination des CMI par bandelette E-test®
- La détermination du diamètre grâce aux disques imprégnés d'antibiotiques

L'ensemble des techniques a été réalisé dans le laboratoire du CHU de Toulouse excepté la méthode de référence qui a été faite chez BioMérieux.

1. VALEURS CRITIQUES DETERMINANTS LES CATEGORIES CLINIQUES (BREAKPOINTS)

Ces valeurs permettent de définir la sensibilité et la résistance aux antibiotiques. Elles permettent d'indiquer au prescripteur la probabilité qu'un traitement soit efficace dans la prise en charge du patient souffrant d'une infection provoquée par l'organisme isolé.

Selon la méthode d'antibiogramme utilisée, ces valeurs sont exprimées soit en concentration soit en diamètre de zone d'inhibition. Ces concentrations et diamètres critiques, pour chaque antibiotique, sont établis en fonction de plusieurs paramètres :

- Critères pharmacocinétiques et pharmacodynamiques
- Critères bactériologiques : répartition des CMI pour une population sauvage connue, marqueurs phénotypiques et génotypiques de résistance *in vitro*.

- Critères techniques : variabilités statistiques des méthodes utilisées (reproductibilité des résultats)
- Selon l'expérience clinique, en évaluant la relation entre la CMI et la guérison des patients (confrontation des résultats obtenus *in vitro* et *in vivo* dans les essais cliniques)

La détermination de la sensibilité des souches d'entérobactéries à la fosfomycine et au mécillinaam a été interprétée en respectant les recommandations du CASFM (figure 12).

Autres antibiotiques	Concentrations critiques (mg/L)			Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		
	S ≤	R >	ZIT		S ≥	R <	ZIT
Chloramphénicol	8	8		30	17	17	
Colistine	2 ¹	2 ¹			Note ^A	Note ^A	
Fosfomycine IV	32	32		200	24 21 ^B	24 21 ^B	
Fosfomycine orale (infections urinaires non compliquées uniquement)	32 8 ²	32 8 ²		200	24 ^B	24 ^B	
Mécillinaam oral (infections urinaires non compliquées uniquement) <i>E. coli</i> , <i>Citrobacter</i> spp., <i>Klebsiella</i> spp., <i>Raoultella</i> spp., <i>Enterobacter</i> spp. et <i>P. mirabilis</i>	8 ^B	8 ^B		10	15 ^C	15 ^C	

Figure 12 concentrations critiques et diamètres critiques pour les Entérobactéries(53)

2. LE VITEK®2, DETERMINATION DES CMI EN MILIEU LIQUIDE

L'appareil Vitek®2 permet l'identification et la réalisation d'antibiogramme des bactéries à l'aide de différents types de cartes :

- Tests biochimiques et enzymatiques pour l'identification
- Croissance en milieu liquide pour les antibiogrammes : Des cartes en plastique contiennent l'antibiotique sous forme déshydratée.

Un logiciel d'analyse et d'expertise de résultat permet de valider automatiquement les résultats d'identification et d'antibiogramme en les comparant à sa base de données. Il est configuré selon le standard européen EUCAST et CA-SFM.

Le principe de ce système est le calcul de la CMI grâce à un algorithme basé sur la vitesse de croissance en l'absence d'antibiotique et en présence de concentration d'épreuve. Les résultats sont disponibles en 4 à 16h.

Pour rentrer dans les détails, une carte est composée de 64 puits, avec :

- 1 témoin de croissance qui est le contrôle positif
- 3 ou 4 cupules par antibiotiques pour les bactéries à Gram négatif.

Chaque cupule est lue 48 fois toutes les 15 minutes. La croissance bactérienne est évaluée par turbidimétrie pour une longueur d'onde de 660 nm. Un ratio d'unité de transmittance (RTU) est calculé pour évaluer la CMI :

$$RTU = \frac{\text{lumière transmise}}{\text{lumière émise}}$$

Cette CMI calculée est corrélée à la technique de référence et tient compte de 4 paramètres (figure 13) :

- Maximum du pourcentage de changement de transmission du signal (MPCTS) : si l'intensité de la lumière est stable, la souche est sensible. Si une diminution de la lumière émise est observée, c'est une souche résistante.
- Pente maximum de la courbe de croissance
- Surface sous la courbe
- Taux maximum d'évolution de la surface sous la courbe

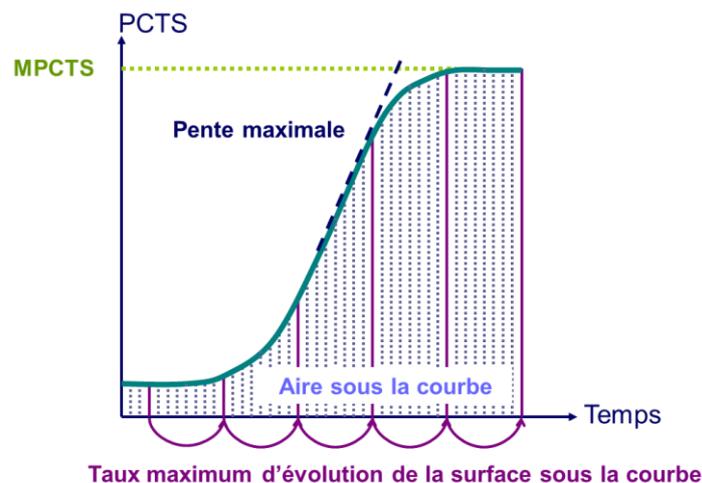


Figure 13 Principe du calcul de la CMI selon l'évolution du MPCTS en fonction du temps(74)

Dans un premier temps, la durée d'incubation doit être évaluée (bactérie à croissance rapide ou lente). Elle est déterminée grâce à une variation de transmittance connue dans le puits contrôle (déterminée par l'industriel) dans un temps seuil de 2h.

Pour choisir les concentrations d'antibiotiques de la carte (tableau 9), un panel de concentrations est testé en µg/ml avec des CMI vraies de populations de souches « témoins », différentes MPCTS sont obtenues pour chaque CMI « témoins » et concentrations testées. Le but étant d'évaluer à quelle concentration testée, le MPCTS permet d'être le mieux séparé en fonction des CMI. Par exemple, sur le tableau 9, trois concentrations sont choisies pour être testées, la concentration 8 µg/ml car elle permet de bien différencier les CMI 4, 8 et 16 µg/ml.

Tableau 9 Principe des choix de concentration en antibiotique de la carte(74)

Concentrations testées en µg/ml sur la carte	1	2	4	8	16	32	64	128
CMI vraies de populations de souches « témoin »	MPCTS obtenus pour chaque population « témoin » et pour chaque concentration testée							
4	0.860	0.812	0.542	0.264	0.201	0.190	0.261	0.250
8	0.923	0.896	0.772	0.513	0.299	0.225	0.271	0.243
16	0.924	0.911	0.862	0.782	0.571	0.261	0.296	0.266
32	0.930	0.913	0.885	0.841	0.718	0.513	0.370	0.277
64	0.920	0.906	0.894	0.881	0.827	0.736	0.621	0.466
128	0.958	0.953	0.943	0.928	0.911	0.846	0.797	0.675

Pour notre étude, nos souches ont été identifiées en tant que *E. coli* pour permettre leurs analyses.

Parallèlement à la réalisation de ces antibiogrammes, une souche de pureté a été ensemencée sur BCP, milieu non enrichi et non sélectif, permettant de voir si notre souche est pure.

Suite au changement de la concentration critique par le CA-SFM pour la fosfomycine, BioMérieux réévalue actuellement ses CMI pour abaisser le seuil de détection. En effet, la carte N372 ne permet actuellement pas de descendre à des CMI inférieures à 16 µg/ml, alors que la nouvelle concentration critique est de 8 mg/L.

3. LA METHODE DE REFERENCE : DILUTION EN MILIEU AGAR

Lors de la dilution en milieu agar, l'antibiotique testé est dilué avec un solvant adapté, pour réaliser une série de concentrations différentes, et est incorporé dans le milieu gélosé, chaque plaque contenant une concentration différente de l'antibiotique. Une plaque sans antibiotique

est utilisée comme contrôle pour vérifier la pousse de la bactérie. Un volume de chaque concentration d'antibiotique est combiné avec la solution d'agar et l'inoculum bactérien.

Ces plaques seront incubées à 37°C pendant 16 à 20h. Après ce temps d'incubation, la croissance bactérienne sera observée et la CMI sera déterminée avec la plus petite concentration d'antibiotique qui inhibe totalement la croissance bactérienne.(75)

Pour la fosfomycine, la dilution en milieu agar est réalisée avec un panel de 12 concentrations d'antibiotiques différentes de 0,25 à 512 mg/L et le contrôle.

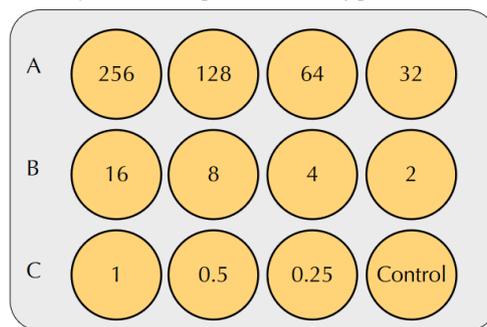


Figure 14 Panel des CMI testées pour la fosfomycine

Pour le mécillinam, le panel des CMI testées est compris de 0,032 à 256 mg/L.

C'est une technique fastidieuse qui ne permet de tester qu'un seul antibiotique à la fois. C'est pour cela que cette technique n'est pas utilisée en routine et a été réalisée par BioMérieux pour notre étude.

4. ANTIBIOGRAMME EN MILIEU SOLIDE PAR DISQUE IMPREGNE D'ANTIBIOTIQUE

La méthode par diffusion en milieu gélosé consiste à un disque papier imprégné d'une charge d'antibiotique. La charge du disque est variable selon l'antibiotique. Ici, pour la fosfomycine la charge est de 200 µg et pour le mécillinam de 10 µg.

Un inoculum bactérien est calibré et déposé à la surface d'une gélose Mueller-Hinton, d'une épaisseur de 4 mm. Cet inoculum est obtenu à partir d'une culture de 18-24h sur milieu gélosé. En effet nos souches ont étéensemencées sur gélose au sang, milieu enrichi et non sélectif, appelé gélose COS. A partir de cette culture, une suspension en bouillon Mueller-Hinton ou en

solution saline (0,9% NaCl) a été préparée pour arriver à un équivalent de 0,5 McFarland. La solution a été ensemencée par écouvillonnage par la technique des trois directions.

L'incubation se fait à 35°C +/-2°C pendant 16h à 24h. La lecture se fait par la mesure du diamètre d'inhibition de la culture autour du disque. Comme le recommande le CA-SFM, pour le mécillinam et la fosfomycine nous n'avons pas pris en compte les colonies isolées à l'intérieur du halo d'inhibition. En ce qui concerne le *P. mirabilis*, nous avons ignoré le voile lié au « swarming » pour lire l'inhibition de croissance.

Il existe une corrélation entre le diamètre de la zone d'inhibition et la CMI. Ces corrélations sont établies grâce à de nombreuses mesures avec des panels de souches aux propriétés de culture identiques dont les CMI pour l'antibiotique ont été établies par la méthode de référence. Une courbe du diamètre d'inhibition en fonction du logarithme des CMI peut être obtenue. La méthode de diffusion à partir des disques ne permet pas de chiffrer directement les valeurs de CMI.

5. BANDELETTE E-TEST®, DETERMINATION DIRECTE DES CMI EN MILIEU SOLIDE

La méthode Etest® se compose d'une mince bandelette de plastique inerte et non poreuse de 5 mm de large sur 60 mm de long. C'est une macro-méthode quantitative basée sur le principe d'un gradient prédéfini exponentiel et continu d'antibiotique. La bandelette comprend un gradient de 15 concentrations d'antibiotiques.

Le principe consiste à l'application de la bandelette sur la surface d'un milieu gélosé préalablement inoculé. Après incubation, une ellipse d'inhibition est observée. La valeur de CMI (en mg/L) se lit sur l'échelle graduée à l'intersection entre l'ellipse d'inhibition et la bandelette. Tout comme la méthode par disque en milieu gélosé, les micro/macrocolonies et « swarming » n'ont pas été pris en compte.

L'échelle de concentration pour la fosfomycine est de 0.032 à 512 mg/L et de 0.016 à 256 mg/L pour le mécillinam.

Pour notre étude, de nouvelles bandelettes de fosfomycine, pas encore commercialisées par BioMérieux mais dont les études sont finalisées et validées, ont été utilisées. En effet, les précédentes bandelettes de fosfomycine ont montré des préoccupations quant à l'exactitude des

résultats. Pour certaines souches, les microcolonies et macrocolonies conduisent à une mauvaise interprétation et à une lecture incorrecte des valeurs CMI avec une faible concordance essentielle et un taux élevé d'erreurs très majeures, surtout pour *Klebsiella spp.*(76)

6. ANALYSE DES DONNEES

Les résultats des Etest® fosfomycine et mécillinam ont été arrondis à la dilution suivante de la méthode de référence lorsque la CMI se situait entre deux dilutions de la méthode de référence (une CMI à 0,38 mg/L en Etest® sera arrondis à 0,5 mg/L). Pour évaluer les performances à atteindre selon la FDA, la concordance essentielle était évaluée comme un écart maximum de 1 dilution entre la méthode de référence et la méthode de routine évaluée. La concordance catégorielle est déterminée comme un résultat interprétatif en accord avec le CA-SFM (sensible ou résistant).

En cas de discordances, celles-ci sont catégorisées selon la méthode proposée par le QUAMIC (Comité qualité de la Société française de micrologie) 2019/FDA:

- Discordance majeure (DM) : souche rendue résistante alors qu'elle est en réalité sensible. Ce type de discordance n'expose pas le patient à un échec thérapeutique mais l'empêche de bénéficier d'un traitement par la molécule rendue à tort résistante.
- Discordance très majeure (DTM) : souche catégorisée comme sensible alors qu'elle est en réalité résistante. Ce type de résistance expose le patient à un échec thérapeutique

Le taux de de concordance essentielle et catégorielle doit être $\geq 90\%$ le taux de discordance majeure et très majeure doit être $<3\%$.(77)

Pour le Vitek®2, les concentrations critiques utilisées chez les entérobactéries pour la fosfomycine sont ceux de l'EUCAST/CASFM 2020, la CMI la plus basse rendue étant 16 mg/L. Pour le mécillinam la CMI la plus basse rendue est 1 mg/L.

III. RESULTATS

Dans notre étude, nous avons comparé les différentes techniques à la méthode de dilution en milieu agar. La comparaison a été faite par espèce. Il est à noter que certains résultats de ce travail doivent être vérifiés. Cela n'a pas pu être fait avant la rédaction de cette thèse, mais cette étude constitue néanmoins un premier travail d'analyse.

A. EPIDEMIOLOGIE DE LA RESISTANCE A LA FOSFOMYCINE ET AU MECILLINAM AU SEIN DE NOS SOUCHES

En utilisant la méthode de dilution en milieu agar, nous avons étudié la répartition de la sensibilité de nos souches d'entérobactéries non *E. coli* à la fosfomycine (figure 15). 71,4 % de nos souches sont sensibles à la fosfomycine, ce qui concorde avec plusieurs études épidémiologiques où la résistance à la fosfomycine était de 15% par des méthodes en Vitek®2, diffusion en disque et dilution en milieu agar.(56)(69)

En détaillant par bactéries, nous avons retrouvé, 71,4% (35) des *K. pneumoniae*, 76% (38) des *P. mirabilis*, 56,9% (29) des *E. cloacae*, 66,7% (32) des *K. aerogenes*, 62% (31) des *K. oxytoca* et 96% (47) des *C. koseri* qui sont sensibles à la fosfomycine. La médiane pour *C. koseri* et *P. mirabilis* est respectivement à 0,5 mg/L et 1 mg/L alors que pour l'ensemble des *Klebsiella spp.* et *E. cloacae* la médiane est estimée à 8 mg/L, c'est-à-dire proche de la concentration critique.

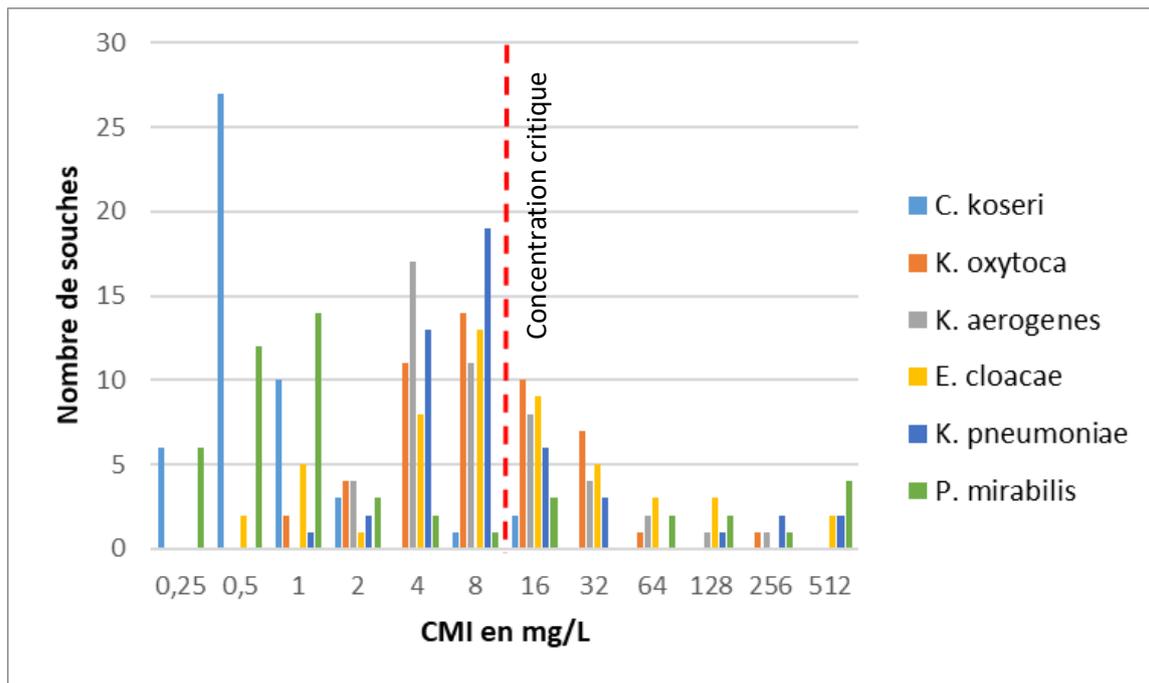


Figure 15 Répartition de la CMI à la fosfomycine dans nos souches d'entérobactéries

La répartition de la sensibilité au mécillinam de nos souches d'entérobactéries non *E. coli* a été étudiée (figure 16). Nous retrouvons 86,5% de nos souches sensibles au mécillinam ce qui concorde avec les enquêtes épidémiologiques.(78)(69) Ainsi 85,7% (42) des *K. pneumoniae*, 89,8% (44) des *K. oxytoca*, 94,1% (48) des *E. cloacae*, 68% (34) des *P. mirabilis*, 87,5% (42) des *K. aerogenes* et 93,9% (46) des *C. koseri* sont sensibles au mécillinam. Si nous regardons la médiane, pour *C. koseri* elle est à 0,125 mg/L, pour *K. oxytoca*, *E. cloacae* et *K. pneumoniae* elle est estimée à 0,5 mg/L, pour *K. aerogenes* elle est à 1 mg/L et pour finir *P. mirabilis* à 3 mg/L.

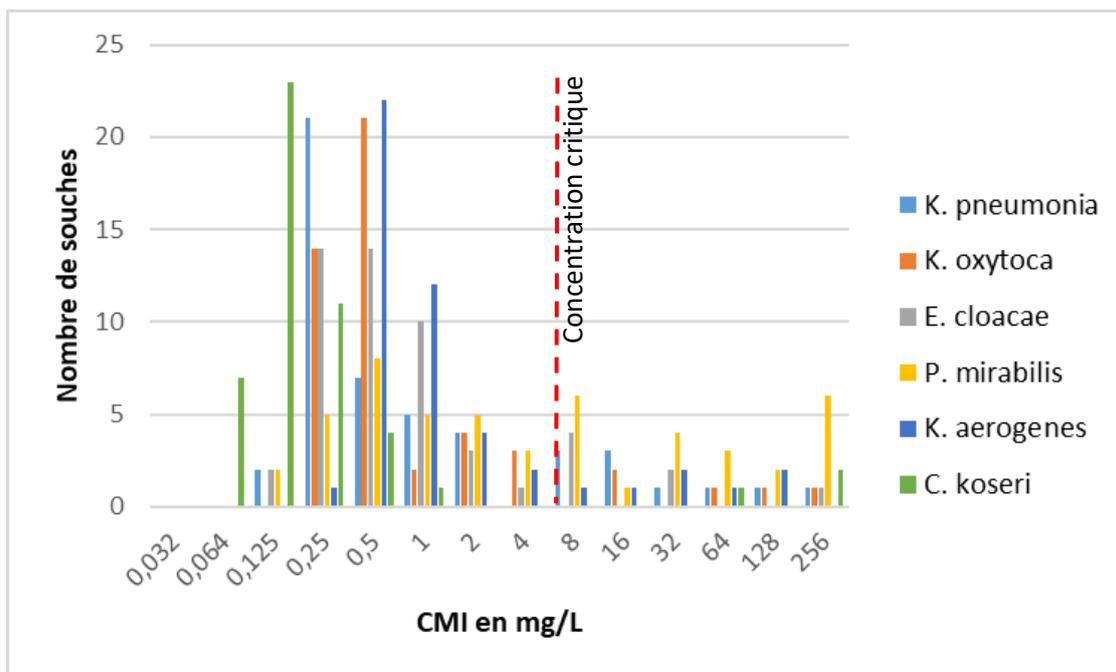


Figure 16 Répartition de la CMI au mé�illinam dans nos souches d'entérobactéries

B. COMPARAISON DES METHODES POUR LA FOSFOMYCINE

Les résultats ont été interprétés selon un diagramme de dispersion des CMI de la méthode de référence par rapport au CMI Etest®, diamètre de la diffusion en disque et CMI du Vitek®2. Ces différents tableaux avec le détail des résultats figurent en annexe de cette Thèse. Les nombres représentent le nombre de souches pour chaque paire CMI de la méthode de référence-CMI Etest®, CMI méthode de référence-CMI Vitek®2 et CMI de la méthode de référence-diamètre de la méthode en diffusion.

1. *E. COLI*

Dans notre étude, les souches de *E. coli* ont été analysées pour avoir un élément de comparaison avec la littérature. En effet, les différentes techniques de routine (Vitek®2, Etest® et disque) n'ont à ce jour été validées par rapport à la méthode de référence que pour *E. coli*. Comme nous pouvons le voir sur le tableau 10, *E. coli* possède de très bonnes concordances essentielles et catégorielles pour toutes les méthodes. Les deux discordances très majeures observées pour le Vitek®2 ont une CMI à 16 mg/L pour la méthode de référence (voir annexe 1). Le Vitek®2 ne descendant qu'à 16 mg/L, et la concentration critique étant à 8 mg/L, la détermination de la sensibilité est difficilement prévisible avec le Vitek®2 dans ce contexte.

Tableau 10 Performance globale pour *E. coli* des trois méthodes comparées à la méthode de dilution en milieu agar

Espèce	Nombre	Méthode (exigences FDA)	AE (90%)	AC (90%)	DM (3%)	DTM (3%)
<i>E. coli</i>	50	Etest®	96% (48)	98% (49)	0%	2% (1)
		Vitek®	100%	98% (49)	0%	4% (2)
		Disque		100%	0%	0%

AE : accord essentiel, AC : Accord catégoriel, DM : discordance majeure, DTM : discordance très majeure

2. ENTEROBACTERIES NON *E. COLI*

Les différents paramètres de performance (accord essentiel, accord catégoriel, discordance majeure, discordance très majeure) sont résumés dans le tableau 11 pour les entérobactéries autres que *E. coli*.

Pour *E. cloacae*, seules 50 souches ont pu être analysées par le Vitek®2, étant donné une erreur d'analyse.

Tableau 11 Performance globale des trois méthodes pour la fosfomycine comparées à la méthode de référence

Espèces	Nombre de souches	Méthode (exigences FDA)	AE (90%)	AC (90%)	DM (3%)	DTM (3%)
<i>P. mirabilis</i>	50	Etest®	88% (44)	94% (47)	4% (2)	2% (1)
		Vitek®	86% (43)	94% (47)	0%	6% (3)
		Disque		88% (44)	10% (5)	2% (1)
<i>C. koseri</i>	49	Etest®	96% (47)	98% (48)	0%	2% (1)
		Vitek®	100%	96% (47)	0%	4% (2)
		Disque		98% (49)	0%	2% (1)
<i>E. cloacae</i>	51	Etest®	92% (47)	84% (43)	12% (6)	4% (2)
		Vitek®	40% (20)	70% (35)	28% (14)	2% (1)
		Disque		61% (31)	39% (20)	0%
<i>K. oxytoca</i>	50	Etest®	92% (46)	82% (41)	16% (8)	2% (1)
		Vitek®	50% (25)	70% (35)	26% (13)	4% (2)
		Disque		42% (21)	58% (29)	0%
<i>K. pneumoniae</i>	49	Etest®	88% (43)	67% (33)	31% (15)	2% (1)
		Vitek®	78% (37)	76% (37)	20% (10)	4% (2)
		Disque		33% (16)	58% (32)	2% (1)
<i>K. aerogenes</i>	48	Etest®	75% (36)	67% (32)	25% (12)	8% (4)
		Vitek®	78% (37)	90% (43)	4% (2)	6% (3)
		Disque		33% (16)	67% (32)	0%

AE : accord essentiel, AC : Accord catégoriel, DM : discordance majeure, DTM : discordance très majeure

Point problématique, la CMI la plus basse rendue par le Vitek®2 est 16 mg/L basée sur l'ancienne concentration critique du CA-SFM mais qui n'est plus concordant avec notre « breakpoint » actuel de 8 mg/L. Dans cette étude, nous sommes parties du principe que toute CMI à 16 mg/L au Vitek®2 est sensible puisque la concentration critique de 8 mg/L ne peut être atteinte. Par exemple, parmi les 3 discordances très majeures obtenues pour *P. mirabilis*, 2 souches ont une CMI à 16 mg/L à la fois en Vitek®2 et en méthode de référence. Elles sont donc considérées comme des discordances très majeures, uniquement du fait du problème de seuil de détection du Vitek®2, alors qu'elles sont parfaitement concordantes à la méthode de référence.

Le tableau 12 compare les accords catégoriels (AC) et discordances très majeures qui sont obtenus pour la méthode Vitek®2 en utilisant le référentiel CASFM 2022 (concentration critique à 8 mg/L) et le référentiel CASFM 2020 (concentration critique à 16 mg/L) qui est le seul atteignable par le Vitek®2 actuellement. Nous pouvons observer que pour *P. mirabilis* et *C. koseri* la performance globale est meilleure si nous restons à une concentration critique de 16 mg/L gardant un taux de DTM <3% comme le recommande la FDA. Effectivement, parmi les 3 discordances très majeures obtenues pour *P. mirabilis*, 2 souches ont une CMI observée à 16 mg/L, à la fois en Vitek®2 et en méthode de référence, phénomène que nous retrouvons pour *C. koseri* (annexe 1). Elles sont donc considérées comme des DTM, uniquement du fait du problème de seuil de détection de Vitek®2, alors qu'elles sont parfaitement concordantes.

Nous observons le même phénomène pour les autres espèces, comme *K. pneumoniae* ou *K. aerogenes* où une des discordances très majeures est d'interprétation impossible avec la nouvelle concentration critique du CA-SFM 2022 (annexe 1), mais une diminution de la concordance catégorielle est relevée. Il serait judicieux de vérifier les valeurs de CMI pour ces souches.

Tableau 12 comparaison des AC et DTM de la méthode Vitek® 2 en fonction du CASFM 2022 et 2020

Espèce	Nombre	AC	AC	DTM	DTM
		(CC=16 mg/L)	(CC=8 mg/L)	(CC=16 mg/L)	(CC=8 mg/L)
<i>P. mirabilis</i>	50	96% (48)	94% (47)	2% (1)	6% (3)
<i>C. koseri</i>	49	100%	96% (47)	0%	4% (2)
<i>E. cloacae</i>	50	52% (26)	70% (35)	2% (1)	2% (1)
<i>K. oxytoca</i>	50	54% (27)	70% (35)	2% (1)	4% (2)
<i>K. pneumoniae</i>	49	67% (33)	76% (37)	2% (1)	4% (2)
<i>K. aerogenes</i>	48	77% (48)	90% (43)	4% (2)	6% (3)

CC : concentration critique

Pour *P. mirabilis* et *C. koseri*, la méthode Etest® (tableau 11)(tableau 13) montre respectivement 88% et 96% des souches qui ont une concordance essentielle, pour une concordance catégorielle de 94% et 98% respectivement. Parmi les discordances très majeures obtenues pour ces deux bactéries, les CMI sont à la limite de la concentration critique gardant une concordance essentielle mais pas catégorielle (annexe 2). De même pour *E. cloacae*, *K. pneumoniae* et *K. aerogenes* qui ont respectivement 12%, 31% et 25% de discordances majeures, pour la majorité des discordances majeures retenues, nous constatons une CMI à

16 mg/L pour la méthode Etest® au lieu de 8 mg/L pour la méthode de référence qui est la concentration limite selon le CA-SFM 2022. Même constat pour *K. oxytoca* où 16% de discordances majeures sont obtenues mais la moitié de ces souches ont la même CMI limite à 16 mg/L que *E. cloacae*. Ces souches gardent donc une concordance essentielle malgré un rendu à tort résistant (annexe 3).

Tableau 13 CMI Etest fosfomycine comparées à la méthode de référence de *P. mirabilis*

		Méthode de référence CMI FO en mg/L													
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	24	32	64	128	256	512	
CMI Etest®	S	S							R						
		0,25		1											
		0,5	4		1										
		1		11	3	1									
		2			9										
		4	1		1	2	2								
		8							1						
	R	16	1						1						
		24													
		32													
		48													
		64													
		128						1	1			1	1		
		256											1		
		512										1		1	4

Pour la méthode de diffusion en disque (tableau 14) (tableau 11), les meilleures performances obtenues sont pour *P. mirabilis* et *C. koseri* avec une concordance catégorielle de 88% pour *P. mirabilis* et 98% pour *C. koseri*, avec une discordance très majeure pour chacun. Mais pour *P. mirabilis* cette discordance a une CMI à 16 mg/L en méthode de dilution en milieu agar qui est une CMI limite à la concentration critique et le diamètre correspondant est de 24 mm qui est aussi le diamètre critique de sensibilité à la fosfomycine. Il est observé cette même discordance avec *C. koseri* où la discordance très majeure a une CMI proche de la concentration critique (annexe 3).

Également, pour *P. mirabilis*, 5 discordances majeures sont constatées pour la diffusion en disque. Ce phénomène est retrouvé de manière amplifiée pour *E. cloacae*, *K. pneumoniae* et *K. aerogenes* où nous retrouvons respectivement 39%, 58% et 67% de discordances majeures, rendant à tort plus résistantes nos souches contrairement à la méthode de référence (annexe 3).

Pour une majorité de ces bactéries, nous pouvons voir que le Vitek®2 a une tendance à faire des erreurs majeures et donc à rendre plus résistantes nos souches par rapport à la méthode de référence comme pour *E. cloacae*, *K. oxytoca* et *K. pneumoniae* qui ont une concordance catégorielle de 70% pour les deux premières et 67%, mais un taux de discordances majeures

respectivement à 28%, 26% et 20%. Mais nous constatons aussi que le Vitek®2 fait souvent moins d'erreurs très majeures comparé aux autres méthodes.

Tableau 14 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *P. mirabilis*

Diamètre FO disque en mm		CMI FO Référence en mg/L											
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
		S						R					
35	S	2											
34													
33			1	1									
32													
31			1	1									
30			3	4	1	1							
29			1	3		1							
28													
27			1	2	3		1						
26					1	1							
25			1	1	1								
24				1					1				
23	R												
22													
21													
20				2									
19			1										
18									1				
17													
16													
15												1	
14										1			
13							1				1		
12													
11													
10									1				
9													
8													
7													
6					1						1	1	3
5													
4												1	

C. COMPARAISON DE METHODE POUR LE MECILLINAM

Les résultats ont été interprétés de la même manière que pour la fosfomycine, selon un diagramme de dispersion des CMI de la méthode de référence par rapport au CMI Etest®, diamètre de la diffusion en disque et CMI du Vitek®2.

Pour le Vitek®2, il est à noter que la CMI la plus basse rendue est 1 mg/L et la plus haute à 32 mg/L.

1. *ESCHERICHIA COLI*

Pour le mécillinam, les concordances essentielles et catégorielles sont supérieures à 90% pour la méthode Etest® et Vitek®2 (tableau 15), avec tout de même une moins bonne concordance catégorielle pour la diffusion en disque. Les performances sont légèrement moins bonnes que pour la fosfomycine, même si ici aucune discordance très majeure n'a été observée.

Tableau 15 Performance globale pour *E. coli* des trois méthodes comparées à la méthode de dilution en milieu agar

Espèce	Nombre de souches	Méthode (exigences FDA)	AE (90%)	AC (90%)	DM (3%)	DTM (3%)
<i>E. coli</i>	50	Etest®	98% (48)	100% (50)	0%	0%
		Vitek®	92% (46)	92% (46)	8% (4)	0%
		Disque		86% (43)	14% (7)	0%

2. ENTEROBACTERIES NON *E. COLI*

Les différents paramètres de performances (accord essentiel, accord catégoriel, discordance majeure, discordance très majeure) sont résumés dans le tableau 16 pour les entérobactéries autres que *E. coli*.

Contrairement à la partie de notre travail concernant la fosfomycine, il est à prendre en compte que le nombre de *K. oxytoca* est passé à 49 car une souche était ininterprétable avec la méthode de référence.

Tableau 16 Performance globale des trois méthodes pour le mé�illinam comparées à la méthode de référence

Espèces	Nombre de souches	Méthode (exigences FDA)	AE (90%)	AC (90%)	DM (3%)	DTM (3%)
<i>P. mirabilis</i>	50	Etest®	76% (38)	86% (43)	4% (2)	10% (5)
		Vitek®	44% (22)	44% (22)	56% (28)	0%
		Disque		84% (42)	8% (4)	8% (4)
<i>C. koseri</i>	49	Etest®	90% (44)	96% (47)	0%	4% (2)
		Vitek®	94% (46)	94% (46)	0%	6% (3)
		Disque		96% (47)	0%	4% (2)
<i>E. cloacae</i>	51	Etest®	88% (45)	94% (48)	0%	6% (3)
		Vitek®	76% (38)	86% (43)	14% (7)	2% (1)
		Disque		88% (45)	8% (4)	4% (2)
<i>K. oxytoca</i>	49	Etest®	81% (40)	92% (45)	0%	8% (4)
		Vitek®	44% (22)	66% (35)	27% (13)	2% (1)
		Disque		86% (42)	10% (5)	4% (2)
<i>K. pneumoniae</i>	49	Etest®	71% (35)	88% (43)	4% (2)	8% (4)
		Vitek®	59% (29)	70% (34)	27% (13)	4% (2)
		Disque		86% (42)	8% (4)	6% (3)
<i>K. aerogenes</i>	48	Etest®	71% (34)	90% (43)	0%	10% (5)
		Vitek®	29% (14)	33% (16)	65% (31)	2% (1)
		Disque		90% (43)	0%	10% (5)

Comparé aux méthodes Etest® et de diffusion en disque qui montrent respectivement une concordance catégorielle de 86% et 84%, le Vitek®2 n'a qu'une concordance catégorielle de 44% pour *P. mirabilis* et une tendance à rendre une majorité de souches plus résistantes (56%) (tableau 16). En effet, en regardant le tableau en annexe 4, nous pouvons voir que le Vitek®2 rend quasiment tout le temps une CMI \geq 32 mg/L qui pourrait possiblement être due au « swarming » du *P. mirabilis*.

Pour *E. cloacae*, il est aussi observé une tendance du Vitek®2 à rendre plus résistantes nos souches avec un taux de discordances majeures à 14%, de même pour *K. pneumoniae* et *K. aerogenes*.

Pour l'ensemble de nos bactéries étudiées, il est à noter que cette méthode rend peu de discordances très majeures comparé aux autres méthodes. En regardant les tableaux des annexes 5 et 6 pour *K. oxytoca*, nous pouvons voir que la souche rendue sensible à tort par le Vitek®2, avec une CMI à 128 mg/L en méthode de référence concorde entre la méthode Etest® (0,5 mg/L) et de diffusion en disque. Nous constatons cela aussi avec *K. aerogenes* où la même souche trouvée avec une CMI à 256 mg/L par méthode de référence est discordante pour toutes les méthodes (annexe 4, 5 et 6). Ces résultats suggèrent une probable erreur analytique ou de contamination pour la méthode de référence, qui devra donc être refaite pour cette souche.

Alors que pour *C. koseri*, les trois méthodes ont une très bonne concordance essentielle et catégorielle supérieures à 90% (tableau 16). Deux souches sont retrouvées avec une discordance très majeure dans les trois méthodes (annexe 4, 5 et 6). Un phénomène similaire est retrouvé pour *K. pneumoniae*, où il est constaté, de manière récurrente, pour une souche qui a une CMI à 64 mg/L en méthode de référence, la CMI est sensible pour les trois méthodes (annexe 4, 5 et 6). Il serait judicieux pour ces souches de vérifier une potentielle contamination ou erreur de lecture et de refaire un contrôle en méthode de dilution en milieu agar.

Pour les trois méthodes, une concordance catégorielle supérieure à 80% est observée pour *E. cloacae*. La méthode Etest® étant la plus fiable (94%), tout comme *K. oxytoca* qui possède une concordance essentielle à 81% et catégorielle à 92% pour cette méthode. Mais pour cette dernière, un taux de discordances très majeures est estimé à 8%. Parmi ces discordances très majeures, deux souches ont une CMI à 8 mg/L alors que la méthode de référence les rend à 16 mg/L donc proches de la concentration critique et gardant une concordance essentielle (annexe 5).

Il est tout de même important de mentionner que la diffusion en disque, même si elle garde une bonne concordance catégorielle, possède parfois un taux de discordances majeures trop important, comme nous pouvons le remarquer pour *P. mirabilis*, *E. cloacae* et *K. pneumoniae*, comparé à la méthode Etest®.

IV. DISCUSSION

Le pivmécillinam et la fosfomycine sont des antibiotiques largement utilisés dans les infections urinaires. D'après la littérature, la sensibilité des entérobactéries est importante pour ces antibiotiques, entraînant un regain de leur intérêt avec l'émergence de résistances, notamment les EBLSE. Beaucoup d'études se sont intéressées à leur utilisation dans les infections urinaires à *E. coli*, mais peu pour les autres entérobactéries. Effectivement, *E. coli* représente la majorité de ces infections entraînant une concentration des études sur cette espèce. Mais la récente utilisation de la fosfomycine et du mécillinam dans les cystites à risque de complication entraîne une recrudescence de l'intérêt pour les autres entérobactéries. *E. coli* étant moins prédominant dans les infections urinaires à risque de complication.

Malgré la facilité d'utilisation de ces antibiotiques dans cette pathologie, un facteur potentiel limitant leur utilisation est l'absence d'une méthode de routine approuvée, pour les entérobactéries non *E. coli*, dans des tests de sensibilités automatisés et rapides comme le Vitek®2. En effet, pour utiliser cette méthode automatisée, il faut que les performances soient concordantes, notamment avec les critères de la FDA, par rapport à la méthode de référence de dilution en milieu agar. Actuellement, du fait de l'immense majorité de souches *E. coli* dans les infections urinaires, ce travail n'a été réalisé que pour cette espèce.

La méthode de dilution en milieu agar étant fastidieuse, elle n'est pas réalisable en routine. Cette méthode nécessite de fabriquer extemporanément les milieux avec de multiples concentrations différentes d'antibiotiques, des contrôles qualités des différentes concentrations, des conditions strictes de stérilité. Tout cela nécessite un personnel formé et même spécialisé, entraînant une mise en place difficile dans un laboratoire. Plusieurs alternatives existent à cette méthode : la diffusion en disque, l'obtention de la CMI grâce aux bandelettes Etest® et l'obtention de la CMI grâce au système automatisé comme le Vitek®2.

Cette étude a été réalisée pour déterminer l'activité de la fosfomycine et du mécillinam contre une collection d'entérobactéries non *E. coli* et pour évaluer la performance de plusieurs méthodes alternatives pour les tests de sensibilités en laboratoire de routine. Les CMI de référence ont été obtenues par dilution en milieu agar réalisée par le laboratoire BioMérieux.

Nous avons pu comparer la répartition de la sensibilité de nos souches d'entérobactéries à l'épidémiologie nationale. Pour *E. coli*, il est retrouvé une sensibilité à la fosfomycine de 96% et aucune résistance n'a été décelée envers le mécillinam ce qui concorde avec les résultats

français de 2020 du réseau REUSSIR avec respectivement 96,3% et 94,1% de sensibilité pour la fosfomycine et le mécillinam.(79) Pour les autres entérobactéries, une sensibilité globale de 71,4% a été retrouvée pour la fosfomycine et de 86,5% pour le mécillinam. Les espèces avec une sensibilité moins importante pour la fosfomycine sont *E. cloacae*, *K. oxytoca* et *K. aerogenes*. Peu d'études ont évalué la sensibilité en détail des entérobactéries non *E. coli* pour la fosfomycine et le mécillinam. Pour *P. mirabilis* et *K. pneumoniae* une sensibilité équivalente a été retrouvée dans le réseau REUSSIR pour la fosfomycine.(79) Nous avons pu constater que la médiane des CMI à la fosfomycine de nos souches de *P. mirabilis* et *C. koseri* est autour de 0,5-1 mg/L alors que pour *Klebsiella spp.* et *E. cloacae* la médiane est plutôt à la limite de la concentration critique de 8 mg/L. Cette répartition de CMI est similaire à la distribution des CMI faite par l'EUCAST pour chaque entérobactérie.(54) Quant au mécillinam, la sensibilité de nos souches est la moins bonne pour *P. mirabilis* (68%), mais il existe peu d'éléments de comparaison pour les entérobactéries autres que *E. coli*.

En ce qui concerne nos résultats pour *E. coli*, que ça soit pour la fosfomycine ou le mécillinam les performances des trois méthodes concordent avec les critères de la FDA (accord catégoriel et essentiel $\geq 90\%$) et les précédentes études réalisées.(80)(81) Pour la fosfomycine un taux de discordances très majeures plus important est observé pour le Vitek®2 en rapport avec le fait que le Vitek®2 ne peut rendre que des CMI ≥ 16 mg/L.

Même dans des conditions idéales, des erreurs peuvent être observées entre la méthode de référence réalisée chez BioMérieux et nos méthodes Etest®, disque et Vitek®2 réalisées dans notre CHU. Les erreurs classiques sont les erreurs de transcriptions. En effet, en fonction de la personne qui lit les antibiogrammes en disque ou en Etest® les valeurs peuvent varier, il est délicat de lire au millimètre près. Après relecture de tous les tests de sensibilités Etest® et diamètre par une deuxième personne, nous avons relancé ceux où les discordances persistent et sont actuellement en cours de réalisation. Si l'erreur persiste, une étude des autres mécanismes de résistances (BLSE, carbapénémase...) pourrait être réalisée en étudiant les profils de résistances dirigés contre d'autres antibiotiques que possède chaque souche. En effet, certains mécanismes de résistances peuvent être à l'origine de l'erreur. Par exemple la substitution dans les porines peut nuire à la croissance de certaines souches dans le bouillon mais pas sur la gélose, ce qui donne un phénotype plus résistant avec les méthodes à base d'agar alors que la molécule serait sensible pour le patient.(77)

Il est aussi important de notifier qu'un des problèmes majeurs de notre étude est l'absence d'actualisation, pour le Vitek®2, de la concentration critique pour la fosfomycine. En

effet, lors de notre étude 6 souches d'entérobactéries sont rendues sensibles à tort par le Vitek®2 en raison de la non couverture de la concentration critique de 8 mg/L. En actualisant cette concentration critique, certaines entérobactéries, comme *P. mirabilis*, seraient en accord avec les critères de la FDA.

Les performances du Vitek®2 sont variables en fonction des bactéries. *P. mirabilis* et *C. koseri* sont proches des critères de la FDA pour la fosfomycine. Effectivement, pour *P. mirabilis* une concordance catégorielle de 94% est obtenue pour la fosfomycine. Une discordance très majeure de 6%, supérieure aux recommandations, est retrouvée mais cette discordance n'est pas due aux performances du Vitek®2 mais plutôt au fait que l'automate ne peut rendre que des CMI ≥ 16 mg/L ne permettant pas d'atteindre la nouvelle concentration critique. *P. mirabilis* étant la troisième entérobactérie en cause dans les infections urinaires, il est donc important de rendre un antibiogramme complet dans les plus brefs délais. Une nouvelle carte Vitek® N372 est en cours de développement par BioMérieux pour permettre d'atteindre la concentration critique de 8 mg/L. Nos résultats laissent entrevoir que cette amélioration pourrait permettre d'utiliser le Vitek®2 pour déterminer la sensibilité à la fosfomycine de *P. mirabilis*. A l'inverse, pour le mécillinam, le Vitek®2 a un taux d'erreurs majeures inacceptable avec une grande majorité de souches dont la CMI est rendue ≥ 32 mg/L quelle que soit la CMI en méthode de référence. Le phénomène de « swarming » est peut-être interprété par l'automate comme une croissance pour le mécillinam, alors que ce problème ne semble pas exister pour la fosfomycine.

Pour les quatre autres espèces, exceptée *K. aerogenes* qui a une concordance catégorielle de 90% en Vitek®2, l'AC et l'AE ne sont pas très bons en Vitek®2 pour la fosfomycine. Mais nous avons pu observer que ces performances pouvaient être pire en Etest® et en disque alors que ces méthodes peuvent être utilisées en routine actuellement au laboratoire sur la demande du clinicien.

De façon rassurante, ces discordances sont plutôt dues à une surestimation des résistances. Ce qui entraîne une perte de chance pour le patient mais pas un risque d'échec thérapeutique.

Nous avons pu voir que le Vitek®2 rend pour beaucoup de souches des CMI plus résistantes donc trop élevées comparé aux autres techniques. Il a été montré dans des études antérieures que les valeurs de CMI, en microdilution en bouillon (base de la plupart des systèmes automatisés), seraient supérieures à celles obtenues par dilution en gélose. Une étude a étudié le rôle de l'inoculum dans cette différence, qui enrichirait l'inoculum initial avec des

sous-populations résistantes.(82) Pour la méthode de dilution en milieu agar, l'inoculum est standardisé à 10^4 UFC/puits, alors que pour la méthode de microdilution en bouillon, le CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) recommande un inoculum de 2×10^5 à 8×10^5 UFC/ml (2 à 8×10^4 UFC/puits pour $100 \mu\text{l}$), c'est-à-dire que l'inoculum de départ dans la méthode à microdilution est 2 à 8 fois plus élevé, pouvant expliquer ce phénomène.

La difficulté d'interprétation des CMI de *K. pneumoniae*, *K. aerogenes* et *E. cloacae* par le Vitek®2 peut être due à leur résistance à la fosfomycine par leur gène *fosA*, comme décrit précédemment, mais aussi des mutations dans les gènes *glpT* et *uhpT* nécessaire au transport de la fosfomycine. Cette résistance se produit rapidement *in vitro* mais elle est faiblement retrouvée *in vivo*.(83) De plus, dans une étude rétrospective, la fosfomycine est associée à un échec thérapeutique pour *Klebsiella spp.* même lorsque la fosfomycine est rendue sensible par une méthode automatisée de microdilution en milieu liquide. C'est pour cela que l'EUCAST ne rend pas de concentrations critiques pour les entérobactéries non *E. coli*.(54)(84)

En ce qui concerne le mécillinam, les performances sont meilleures en Etest® et en diffusion en disque par rapport au Vitek®2 et plus particulièrement avec *P. mirabilis* et *Klebsiella spp.* Ces valeurs restent à vérifier, mais pour *P. mirabilis*, la question du « swarming » se pose, avec un possible impact dans sa détection par le Vitek®2. Pour *C. koseri*, les performances globales du Vitek®2 sont conformes aux recommandations, même si un taux d'erreurs très majeures de 6% semble trop élevé pour le mécillinam. Il serait judicieux de vérifier les deux souches discordantes au vu de la concordance de ces souches avec les méthodes Etest® et de diffusion en disque avec l'automate. De surcroît, il est nécessaire d'augmenter l'effectif de nos souches. Effectivement, nous constatons que la moindre erreur observée augmente rapidement le pourcentage de discordances.

De plus, il a été montré que des souches résistantes au mécillinam *in vitro* gardaient un succès thérapeutique *in vivo*. En effet, la forte concentration urinaire du mécillinam et une forte concentration de cystéine dans les urines, nécessaire au fonctionnement du mécillinam, peuvent expliquer ce succès malgré la résistance *in vitro*.(85)

Un autre phénomène n'a pas été pris en compte et pourrait expliquer les variations de résultats : la présence de microcolonies dans la zone d'inhibition en milieu gélosé. Nous ne les avons pas prises en compte comme le recommande le CA-SFM et l'EUCAST pour la lecture des diamètres des disques ou des CMI Etests®. En revanche, nous ne savons pas l'impact que ces colonies peuvent avoir en milieu liquide (1/3 des souches avec colonies). Ces microcolonies poussant à l'intérieur de la zone d'inhibition acquièrent très rapidement une résistance *in vitro*

qui est due principalement à une perte de fonction du transporteur UhpT. Mais ce défaut de transporteur a des effets délétères sur la capacité de croissance pour la bactérie. Ainsi, les microcolonies résistantes n'atteindraient pas *in vivo* une concentration nécessaire à leur établissement dans la vessie et seraient surpassées par les colonies sensibles à la fosfomycine qui ont un métabolisme conservé.(86)

Pour la comparaison avec les bandelettes Etest®, des études antérieures ont déjà été réalisées. La plus grande étude était Van den Bijllaardt et *al.* qui comprenait 775 souches de *E. coli* et 201 isolats de toutes origines de *K. pneumoniae*. L'Etest® a bien fonctionné sur *E. coli* mais pour *K. pneumoniae* un accord catégorique n'était observé que pour 84,8% des souches. L'étude montre une difficulté pour détecter la résistance chez les souches BLSE. Dans cette même étude, une comparaison avec les méthodes automatisées a été réalisée, montrant de meilleur résultat que l'Etest®.(87) Si nous regardons les performances de *K. pneumoniae* et *K. aerogenes*, pour la méthode Etest® dans notre étude, les CMI ont tendance à être plus élevées comparé au Vitek®2. Effectivement, un taux de discordances majeures plus important comparé au Vitek®2 est retrouvé. Ce phénomène a déjà été mis en évidence lors du test de ces bandelettes Etest®.(76)

Il existe plusieurs limites à notre étude. Tout d'abord, nous n'avons pas documenté les différentes résistances acquises possible de nos souches (BLSE, carbapénémases...) ni la présence de traitement antérieur chez ces patientes. En effet, certaines études ont remarqué un impact des souches BLSE, de la présence de certaines carbapénémases dans la sensibilité à la fosfomycine et au mécillinam.(87)(88)

De plus, notre étude a été réalisée que sur un petit nombre d'isolats entraînant une variation importante dans les DM et DTM dès qu'une souche est discordante. Cette comparaison de méthode doit être faite sur un nombre plus important d'isolats pour être représentative. Cette étude est un préambule à la réalisation d'études plus larges qui comprendront des souches d'entérobactéries dont les mécanismes de résistance à la fosfomycine et au mécillinam auront été préalablement déterminés. Effectivement, l'objectif ici a été de montrer l'intérêt de réaliser une comparaison de méthodes plus complète avec un nombre de souches plus important pour permettre l'application de ces tests de sensibilité par le Vitek®2.

V. CONCLUSION

L'objectif de notre étude a été de comparer les différentes méthodes d'antibiogrammes de routine pour la fosfomycine et le mécillinam (bandelettes Etest®, diffusion en disque et le système automatisé Vitek®2) à la méthode de référence de dilution en milieu agar pour les entérobactéries non *E. coli*. Cette comparaison est nécessaire pour envisager d'utiliser le Vitek®2 pour rendre la fosfomycine et le mécillinam, antibiotiques retrouvés en principale indication dans le traitement des cystites non compliquées, à risque de complication et récidivantes.

Les performances obtenues pour ces différentes méthodes sont variables en fonction des bactéries. Les performances des méthodes en diffusion (disques et Etest®) semblent correctes à quelques exceptions près (ex : fosfomycine et *K. aerogenes*). Il est d'ailleurs important de noter que les performances de ces méthodes sont loin d'être parfaites, alors qu'elles sont utilisées par de nombreux laboratoires en routine.

L'utilisation du Vitek®2 pour la détermination de la sensibilité à la fosfomycine et au mécillinam pourrait être prometteuse, au moins pour certaines entérobactéries non *E. coli*. Ainsi pour la fosfomycine, une bonne performance a été obtenue pour *P. mirabilis* et *C. koseri*. Pour toutes les méthodes de routine, les erreurs sont davantage des erreurs majeures que très majeures, c'est-à-dire qu'elles surestiment la résistance. Malgré le fait que ce rendu ne soit pas à l'origine d'échecs thérapeutiques, il empêche la patiente de bénéficier du traitement par la molécule étant rendue à tort résistante. Nous avons pu observer que le Vitek®2 faisait souvent moins d'erreurs très majeures comparé aux autres méthodes, et donc limiterait l'échec thérapeutique pour les patientes.

La première étape dans la suite de ce travail est de vérifier certaines valeurs de CMI discordantes pour permettre de terminer l'analyse des données.

Par ailleurs, les performances du Vitek®2 pour la fosfomycine seront très probablement améliorées avec la mise sur le marché d'une carte permettant d'atteindre la nouvelle concentration critique de 8 mg/L pour la fosfomycine.

Au final, cette étude ouvre la voie pour des études supplémentaires avec un plus grands nombres de souches pour confirmer ou infirmer les tendances que nous observons.

VI. ANNEXES

Annexe 1 : Comparaison méthode de référence et CMI fosfomycine du VITEK® en fonction des bactéries

Tableau 17 Comparaison méthode de référence et CMI de la fosfomycine du VITEK® pour *E. coli*

CMI VITEK®	Méthode de référence CMI FO en mg/L												
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
		S						R					
≤16	S	6	28	9	3	1	1	2					
32													
64													
≥128													

Tableau 18 Comparaison méthode de référence et CMI de la fosfomycine du VITEK® pour *P. mirabilis*

CMI VITEK®	méthode de référence CMI FO en µg/ml													
			S						R					
			0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
≤16	S		6	12	14	3	2	1	2		1			
32										1			1	
64	R								1					
128											2			4

Tableau 19 Comparaison méthode de référence et CMI de la fosfomycine du VITEK pour *C. koseri*

CMI VITEK®	Méthode de référence CMI FO en mg/L													
			S						R					
			0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
≤16	S		6	27	10	3		1	2					
32														
64	R													
≥128														

Tableau 20 Comparaison méthode de référence et CMI fosfomycine du VITEK pour *E. cloacae*

CMI VITEK®	Méthode de référence CMI FO en mg/L													
			S						R					
			0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	512	
≤16	S			2	4	1	5	2					1	
32					1		3	5	1			1		
64	R							4	3		1	1		
≥128								1	5	5	2	1	1	

Tableau 21 Comparaison méthode de référence et CMI fosfomycine du VITEK pour *K. oxytoca*

CMI VITEK®	Méthode de référence CMI FO en mg/L													
			S						R					
			0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
≤16	S			2	4	8	4	1	1					
32						3	3			1				
64	R						5	1						
≥128							2	5	6			1		

Tableau 22 Comparaison méthode de référence et CMI fosfomycine du VITEK pour *K. pneumoniae*

CMI VITEK®		Méthode de référence CMI FO en mg/L										
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	128	256	512
		S						R				
≤16	S			1	2	11	11	1			1	
32	R					2	4		2			
64							4	4				1
≥128									1	1	1	1

Tableau 23 Comparaison méthode de référence et CMI fosfomycine du VITEK pour *K. aerogenes*

CMI VITEK®		Méthode de référence CMI FO en mg/L											
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
		S						R					
≤16	S				4	17	9	1	1	1			
32	R						1	1	2	1			
64							1	4			1		
≥128								2	1				1

Annexe 2 : CMI Ettest® fosfomycine comparées à la méthode de référence en fonction des bactéries

Tableau 24 CMI Ettest® fosfomycine comparées à la méthode de référence de *E. coli*

CMI Ettest®		Méthode de référence CMI FO en mg/L											
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
		S						R					
0,25	S	5	8				1						
0,5		1	18	3									
1			2	4	3			1					
2				2									
4													
8							1	1					
16	R												
32													
64													
128													
256													
512													

Tableau 25 CMI Ettest® fosfomycine comparées à la méthode de référence de *C. koseri*

CMI Ettest®		Nombre de CMI FO en mg/L											
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
		S						R					
0,25	S	4	3	1									
0,5		2	8	1									
1			16	3	1		1						
2				5									
4					2								
8									1				
16	R							1					
32													
64													
128													
256													
512													

Tableau 26 CMI Etest® fosfomycine comparées à la méthode de référence de *E. cloacae*

CMI Etest®		Méthode de référence CMI FO en mg/L										
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	512
		S						R				
0,25	S		1	1								
0,5			1									
1				2								
2				2	1							
4						4						
8						4	7			1	1	
16	R						6	6	1		1	
32								3	3			
24												
64									1			
128										2		
512											1	2

Tableau 27 CMI Etest® fosfomycine comparées à la méthode de référence de *K. oxytoca*

CMI Etest®		Méthode de référence CMI FO en mg/L												
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
		S						R						
0,25	S													
0,5			1											
1														
2			1											
4					4	3	1							
8						7	6	1						
16	R					1	6	3	1	1				
32							1	6	1					
64									5			1		
128														
512														

Tableau 28 CMI Etest® fosfomycine comparées à la méthode de référence de *K. pneumoniae*

CMI Etest®		méthode de référence CMI FO en mg/L											
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
		S						R					
0,25	S												
0,5			1										
1													
2					2	1						1	
4						1							
8						9	6						
16	R						12	1	1				1
32								5	1				
48													
64							1		1				
128						1						1	
256						1							
512										1		1	

Tableau 29 CMI Etest® fosfomycine comparées à la méthode de référence de *K. aerogenes*

		Méthode de référence CMI FO en mg/L												
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
CMI Etest®	S	S					R							
		0,5												
		1									1			
		2												
		4				2								
		8				2	12	4		1	1	1		
	R	16					5	7	3					
		32							5	2				
		48												
		64								1				
		128												
		256												
		512												1

Annexe 3 : Diamètre critique de la fosfomycine comparé à la méthode de référence en fonction des bactéries

Tableau 30 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *E. coli*

		Méthode de référence CMI FO en mg/L												
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
Diamètre FO en mm	R	S						R						
		23												
	S	24												
		25	1	1	2	1	1							
		26	2	7	2	1			1					
		27	1	3	2	1								
		28		6	2				1					
		29		5	1									
		30		5				1						
		31	1	1										
		32												
		33												
		34												
		35												
36	1													

Tableau 31 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *C. koseri*

		Méthode de référence CMI FO en mg/L												
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
Diamètre FO en mm	S	S						R						
		32		2	1									
	R	31	1	1										
		30	2	3	1									
		29	1	5										
		28	1	3	1									
		27	1	7					1					
		26		6	4	2		1						
		25			1	1								
		24			2									
		23												
		22												
		21												
		20								1				

Tableau 32 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *E. cloacae*

		Méthode de référence CMI FO en mg/L											
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Diamètre FO en mm		S						R					
	30		1										
	29												
	28												
	27	S											
	26		1	2	1								
	25			1									
	24			2			1						
	23					1	1						
	22					4	3	1					
	21					1	2	2		1			
	20					2	3	2		1			
	19						2	2	2		1		
	18						1	1	2		1		1
	17							1					
	16								1				
	15	R											
	14												
	13												
	12												
11													
10													
9													
8									1				
7													
6											1	1	

Tableau 33 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *K. oxytoca*

		Méthode de référence CMI FO en mg/L											
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
Diamètre FO disque en mm		S						R					
	26					1							
	25	S		1									
	24												
	23												
	22				1								
	21				1	2	2						
	20			1	2	4	4	1					
	19					2	2	1		1			
	18	R				1	3	3					
	17						1	2					
	16					1	1	1	3				
	15						1	2	2			1	
	14									2			

Tableau 34 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *K. pneumoniae*

		Méthode de référence CMI FO en mg/L												
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
Diamètre FO en mm		S					R							
	24	S			1	1	1			1				
	23	R												
	22						1						1	
	21					1	3	1						
	20						2	2						
	19							5	2					
	18						2	6	1					1
	17						2	3	1	1				
	16								1					
	15							1	1	1				
	14						1	1						
	13													
	12												1	
	11													
	10						1							
	9													
	8													
	7													
6												1	1	

Tableau 35 Comparaison CMI méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *K. aerogenes*

		Méthode de référence CMI FO en mg/L												
		0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
Diamètre FO disque en mm		S					R							
	24	S												
	23	R												
	22						1			1				
	21					3	2							
	20					1	7	2		2				
	19						4	4	2		1			
	18						1	2	4			1		
	17						1	1	1					
	16							1		1				
	15													
	14													
	13													
	12						1			1				
	11													
	10								1		1			
	9													
	8													
	7													
6													1	

Annexe 4 : Comparaison méthode de référence et CMI mécillinam du VITEK® en fonction des bactéries

Tableau 36 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour *E. coli*

		Méthode de référence CMI MM en mg/L													
		0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	
CMI VITEK®		S							R						
	≤1	11	18	7	5	1									
	2				3	1									
	4														
	8														
	16				1	1	2								
	≥32														

Tableau 37 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour *P. mirabilis*

		Nombre de CMI MM en mg/L													
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
CMI VITEK®		S							R						
	≤1			1	2	1	1	1							
	2														
	4														
	8														
	16														
	≥32			1	3	7	4	4	3	6	1	4	3	2	6

Tableau 38 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour *C. koseri*

		Nombre de CMI MM en mg/L													
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
CMI VITEK®		S							R						
	≤1		7	23	11	4	1					1		2	
	2														
	4														
	8														
	16														
	≥32														

Tableau 39 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour *E. cloacae*

		Méthode de référence MM en mg/L													
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
CMI VITEK®		S							R						
	≤1			2	13	10	5	1							
	2					1	3	1							
	4					2	1			1		1			
	8														
	16								1	2					
	≥32				1	1	1			1		1		1	

Tableau 40 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour *K. oxytoca*

CMI VITEK®	Méthode de référence CMI MM en mg/L													
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	64	128	256
		S								R				
≤1	S				9	8	1						1	
2														
4					3	8		1						
8								1						
16	R							1						
≥32					2	5	1	1	3		2	1		1

Tableau 41 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour *K. pneumoniae*

CMI VITEK®	Méthode de référence CMI MM en mg/L														
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
		S								R					
≤1	S			2	16	2		2					1		
2							1								
4					2	2	1	1							1
8															
16	R										1				
≥32					3	3	3	1		3	3			1	

Tableau 42 Comparaison méthode de référence et CMI du mécillinam du VITEK® pour *K. aerogenes*

CMI VITEK®	Nombre de CMI MM en mg/L													
		0,032	0,064	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
		S								R				
≤1	S			1	4	1	1							
2														
4					1	2		1						1
8														
16	R													
≥32					17	9	3	1	1	1	2	1		1

Annexe 5 : CMI Etest® mécillinam comparées à la méthode de référence en fonction des bactéries

Tableau 43 CMI Etest® mécillinam comparées à la méthode de référence de *E. coli*

CMI Etest®	Méthode de référence CMI MM en mg/L													
		0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
		S							R					
0,125	S	10	4											
0,25		1	11	1										
0,5			3	2										
1				4	1									
2					6	2	1							
4					2	1	1							
8	R													
16														
32														
64														
128														
256														
512														

Tableau 44 CMI Etest® mécollinam comparées à la méthode de référence de *P. mirabilis*

		Méthode de référence CMI MM en mg/L														
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	
CMI Etest®	S	S								R						
		0,032														
		0,064			1											
		0,125			1	1										
		0,25				3	2									
		0,5				1	2	2		1	1			1		
		1					4	3	5	1						
		2								1			1			
		3												1		
		4													1	
	8									2		2				
	16									1						
	32															
	64	R											1			
128													1	1		
256										2		1		2	5	

Tableau 45 CMI Etest® mécollinam comparées à la méthode de référence de *C. koseri*

		Méthode de référence CMI MM en mg/L														
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	
CMI Etest®	S	S								R						
		0,032														
		0,064		3	4		1									
		0,125		4	18	3	1	1								
		0,25			1	3	1									1
		0,5				5	1									
		1												1		
		2														
		4														
		8														
	16	R														
	32															
	64															
	128															
256															1	

Tableau 46 CMI Etest® mécollinam comparées à la méthode de référence de *E. cloacae*

		Méthode de référence CMI MM en mg/L														
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	
CMI Etest®	S	S								R						
		0,032														
		0,064														
		0,125			1	2	2									
		0,25			1	11	6	1								
		0,5				1	6	3	1							1
		1						5	1		1		1			
		2						1	1							
		4								1						
		8									3		1			
	16	R														
	32															
	64															
	128															
256																

Tableau 47 CMI Etest® mécilinam comparées à la méthode de référence de *K. oxytoca*

		Méthode de référence CMI MM en mg/L																
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256			
CMI Etest®	S	S								R								
		0,032																
		0,064																
		0,125				2	2											
		0,25				9	12			1						1		
		0,5				2	5	1							1			
		1				1	2											
		2						1	1	1								
	4							2	2									
	8										2							
	16																	
	32																	
	64																	
	128																	
256													1					

Tableau 48 CMI Etest® mécilinam comparées à la méthode de référence de *K. pneumoniae*

		Méthode de référence CMI MM en mg/L																
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256			
CMI Etest®	S	S								R								
		0,032																
		0,064				1												
		0,125			1	10		1	1									
		0,25			1	7	2		2		1			1	1			
		0,5				2	2	1										
		1				1	3	2				1						
		2											1					
	4									1	1							
	8									1								
	16										1							
	32																	
	64																	
	128																	
256						1	1					1		1				

Tableau 49 CMI Etest® mécilinam comparées à la méthode de référence de *K. aerogenes*

		Méthode de référence CMI MM en mg/L																
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256			
CMI Etest®	S	S								R								
		0,032																
		0,064																
		0,125				1												
		0,25					15	1	1	1			2			1		
		0,5					4	11	3		1			1				
		1					3					1						
		2																
	4								1									
	8																	
	16																	
	32																	
	64																	
	128																	
256														1				

Annexe 6 : Diamètre critique du mécillinam comparé à la méthode de référence en fonction des bactéries

Tableau 50 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *E. coli*

Disque MM en mm	Méthode de référence CMI MM en mg/L													
		0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512
		S							R					
30				1										
29		1	1											
28		4	1											
27		2	3											
26		2	3											
25		1	2											
24		1	3	2										
23			1											
22			3											
21			1	1										
20				1										
19				1	1									
18														
17														
16				1	3	1								
15					2									
14					2	1	1							
13														
12					1									
11						1								
10														
9														
8														
7														
6							1							

Tableau 51 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *P. mirabilis*

Diamètre MM en mm	Méthode de référence CMI MM en mg/L														
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
		S							R						
27						1									
26					2				1						
25															
24				2											
23					1	1	1	1							
22					2	3	1	1	1	2					
21						1		1							1
20						2	3	2	1			1			
19															
18															
17															
16													1		
15												1			
14										1					
13															
12															1
11															
10												1			
9															
8															
7															
6										4		1	2	2	3
5															
4															1

Tableau 52 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *C. koseri*

Diamètre MM en mm		Méthode de référence CMI MM en mg/L													
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
		S						R							
30	S					1									
29			2	2	1										
28			1	2	1										
27				7	1										
26			1	6	1	2									
25			3	2	4		1								
24						1									
23				2	1										
22				2	1										1
21					1								1		
20															
19															
18															
17															
16															
15															
14	R														
13															
12															
11															
10															
9															
8															
7															
6														1	

Tableau 53 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *E. cloacae*

Diamètre MM en mm		Méthode de référence CMI MM en mg/L													
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256
		S						R							
30	S			1		1									
29					1										
28				1	2		1								
27					2	2									
26					2	1									
25					4	6	2								
24					3	2	1								
23							2								
22						1	2								
21									1						
20						1	1					1			
19															
18							1	1		1					
17								1							
16															
15															
14	R														
13									2						
12									1		1				
11									1						

Tableau 54 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *K. oxytoca*

		Méthode de référence CMI MM en mg/L												
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	64	128	256
Diamètre MM disque en mm		S						R						
	26					2								
	25				4	2								1
	24				3									
	23				1	3		1						
	22				1	2	1							
	21				2	3								
	20				1	6							1	
	19					1								
	18				2	1								
	17						1		1					
	16					1								
	15													
	14							1						
	13								1		1			
	12								1					
	11										1			
	10													
	9													
	8													
7														
6								2				1		

Tableau 55 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *K. pneumoniae*

		Méthode de référence CMI MM en mg/L												
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128
Disque MM diamètre en mm		S						R						
	28			1	1	1	1							
	27													
	26				2			1						
	25			1	6			1						1
	24				5	1							1	
	23							1						
	22				3									
	21				1									
	20				2	2								
	19				1		3				1			
	18					1	1							
	17													
	16					1				1				
	15													
	14					1								
	13										1			
	12													
	11									1				
	10									1				
9										1				
8														
7														
6								1				1		1

Tableau 56 Comparaison CMI mécillinam méthode de référence et méthode de diffusion en disque pour *K. aerogenes*

Disque MM diamètre en mm		Méthode de référence CMI MM en mg/L												
		0,032	0,064	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	256
		S						R						
27	S				1	1								1
26						4								
25						8	2	2						
24						3	4	1						
23						3	3			1		1		
22							3				1			
21								3				1		
20						1			1	1				1
19						1						1		
18									1					
17						1								
16														
15														
14		R												
13														
12														
11														
10														
9														
8														
7														
6													1	

VII. BIBLIOGRAPHIE

1. Flores-Mireles AL, Walker JN, Caparon M, Hultgren SJ. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options. *Nat Rev Microbiol.* mai 2015;13(5):269-84.
2. McLellan LK, Hunstad DA. Urinary Tract Infection: Pathogenesis and Outlook. *Trends Mol Med.* nov 2016;22(11):946-57.
3. Foxman B, Geiger AM, Palin K, Gillespie B, Koopman JS. First-time urinary tract infection and sexual behavior. *Epidemiol Camb Mass.* mars 1995;6(2):162-8.
4. Hooton TM, Scholes D, Hughes JP, Winter C, Roberts PL, Stapleton AE, et al. A Prospective Study of Risk Factors for Symptomatic Urinary Tract Infection in Young Women. *Massachusetts Medical Society*; 2009. Disponible sur: <https://www.nejm.org/doi/10.1056/NEJM199608153350703>
5. Stickler DJ. Clinical complications of urinary catheters caused by crystalline biofilms: something needs to be done. *J Intern Med.* 2014;276(2):120-9.
6. J K, S Y. Complicated urinary tract infections with diabetes mellitus. *J Infect Chemother Off J Jpn Soc Chemother.* août 2021;27(8). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/34024733/>
7. Stapleton AE, Au-Yeung M, Hooton TM, Fredricks DN, Roberts PL, Czaja CA, et al. Randomized, Placebo-Controlled Phase 2 Trial of a *Lactobacillus crispatus* Probiotic Given Intravaginally for Prevention of Recurrent Urinary Tract Infection. *Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am.* 15 mai 2011;52(10):1212-7.
8. F. Bruyère, G. Cariou, J.-P. Boiteux, A. Hoznek, J.-P. Mignard, L. Escaravage, L. Bernard, A. Sotto, C.-J. Soussy, P. Coloby, Généralités, Progrès en Urologie. 2008. ISSN 1166-7087
9. Naber KG, Schito G, Botto H, Palou J, Mazzei T. Surveillance Study in Europe and Brazil on Clinical Aspects and Antimicrobial Resistance Epidemiology in Females with Cystitis (ARESC): Implications for Empiric Therapy. *Eur Urol.* 1 nov 2008;54(5):1164-78.
10. Gajdács M, Urbán E. Resistance Trends and Epidemiology of *Citrobacter-Enterobacter-Serratia* in Urinary Tract Infections of Inpatients and Outpatients (RECESUTI): A 10-Year Survey. *Medicina (Mex).* 18 juin 2019;55(6):285.
11. Freney J, Riegel P. *Précis de bactériologie clinique.* 3e éd. Paris: Éditions Eska; 2019.
12. Institut national de la santé et de la recherche médicale. Dossier sur les infections nosocomiales. Inserm. 5 juillet 2017. Disponible sur: <https://www.inserm.fr/dossier/infections-nosocomiales/>

13. Castañeda-García A, Blázquez J, Rodríguez-Rojas A. Molecular Mechanisms and Clinical Impact of Acquired and Intrinsic Fosfomycin Resistance. *Antibiotics*. juin 2013;2(2):217-36.
14. Santé Publique France. Dossier sur la résistance aux antibiotiques. 29 mars 2022. Disponible sur: <https://www.santepubliquefrance.fr/maladies-et-traumatismes/infections-associees-aux-soins-et-resistance-aux-antibiotiques/resistance-aux-antibiotiques>
15. Robert J. ONERBA 20 ans de surveillance de la résistance - Les grandes tendances. Contribution présenté dans le cadre du «RICAI 2017» Paris. Disponible sur: http://onerba-doc.onerba.org/Congres-Formations/2017/ONERBA_Ricai2017_20-ans-de-surveillance_Robert.pdf
16. Martin D, Thibaut-Jovelin S, Fougnot S, Caillon J, Gueudet T, de Mouy D, et al. Prévalence régionale de la production de bêta-lactamase à spectre élargi et de la résistance aux antibiotiques au sein des souches de Escherichia coli isolées d'infections urinaires en ville en 2013 en France. *Bull EpidémiolHebd*. 2016;(24-25):414-8. http://invs.santepubliquefrance.fr/beh/2016/24-25/2016_24-25_2.htm
17. Pilly E. *Maladies infectieuses et tropicales: prépa ECN, tous les items d'infectiologie*. 6e éd. Paris: Alinéa plus; 2019.
18. Philippon A, Arlet G, Jacoby GA. Plasmid-Determined AmpC-Type β -Lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*. janv 2002;46(1):1-11.
19. Munoz-Price LS, Poirel L, Bonomo RA, Schwaber MJ, Daikos GL, Cormican M, et al. Clinical epidemiology of the global expansion of Klebsiella pneumoniae carbapenemases. *Lancet Infect Dis*. sept 2013;13(9):785-96.
20. Davin-Regli A, Lavigne JP, Pagès JM. Enterobacter spp.: Update on Taxonomy, Clinical Aspects, and Emerging Antimicrobial Resistance. *Clin Microbiol Rev*. 17 juill 2019;32(4):e00002-19.
21. Mission Spares. Surveillance de l'antibiorésistance en établissement de santé. Données 2018. *Partie 2 : résistance bactérienne aux antibiotiques*. Saint-Maurice : Santé publique France, 2017. 53 p. Disponible à partir de l'URL : www.santepubliquefrance.fr
22. Yang FC, Yan JJ, Hung KH, Wu JJ. Characterization of Ertapenem-Resistant Enterobacter cloacae in a Taiwanese University Hospital. *J Clin Microbiol*. févr 2012;50(2):223-6.
23. Chung HS, Yong D, Lee M. Mechanisms of ertapenem resistance in Enterobacteriaceae isolates in a tertiary university hospital. *J Investig Med*. 1 juin 2016;64(5):1042-9.
24. Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé, mai-juin 2017. Saint-Maurice : Santé publique France, 2019. 270 p. Disponible à partir de l'URL : www.santepubliquefrance.fr
25. Jacobsen SM, Stickler DJ, Mobley HLT, Shirtliff ME. Complicated Catheter-Associated Urinary Tract Infections Due to Escherichia coli and Proteus mirabilis. *Clin Microbiol Rev*. janv 2008;21(1):26-59.

26. Armbruster CE, Hodges SA, Smith SN, Alteri CJ, Mobley HLT. Arginine promotes *Proteus mirabilis* motility and fitness by contributing to conservation of the proton gradient and proton motive force. *MicrobiologyOpen*. oct 2014;3(5):630-41.
27. Elkharrat D, Arrouy L, Benhamou F, Dray A, Grenet J, Corre AL. Épidémiologie de l'infection urinaire communautaire de l'adulte en France. *Infect Urin*. 2007;1-20.
28. Nicolle LE, Bradley S, Colgan R, Rice JC, Schaeffer A, Hooton TM. Infectious Diseases Society of America Guidelines for the Diagnosis and Treatment of Asymptomatic Bacteriuria in Adults. *Clin Infect Dis*. 1 mars 2005;40(5):643-54.
29. Sihra N, Goodman A, Zakri R, Sahai A, Malde S. Nonantibiotic prevention and management of recurrent urinary tract infection. *Nat Rev Urol*. déc 2018;15(12):750-76.
30. Glaser AP, Schaeffer AJ. Urinary Tract Infection and Bacteriuria in Pregnancy. *Urol Clin North Am*. 1 nov 2015;42(4):547-60.
31. Byron JK. Urinary Tract Infection. *Vet Clin North Am Small Anim Pract*. 1 mars 2019;49(2):211-21.
32. Caron F, Galperine T, Flateau C, Azria R, Bonacorsi S, Bruyère F, et al. Practice guidelines for the management of adult community-acquired urinary tract infections. *Med Mal Infect*. août 2018;48(5):327-58.
33. Urofrance | Recommandations pour la prise en charge des infections urinaires communautaires de l'adulte - *Urofrance*. Disponible sur: <https://www.urofrance.org/recommandation/recommandations-pour-la-prise-en-charge-des-infections-urinaires-communautaires-de-ladulte/>
34. Meddeb M, Maurer M, Grillon A, Scheftel JM, Jaulhac B. Comparaison de l'utilisation en routine de deux milieux chromogènes ChromID CPS® (bioMérieux) et UriSelect4® (Bio-Rad) pour la détection d'*Escherichia coli* et des principaux uropathogènes dans les urines. *Ann Biol Clin (Paris)*. 1 mars 2014;72(2):224-30.
35. Nedelec A. *Numération bactérienne sur ensemencement urinaire*. *Memobio*. Disponible sur: http://www.memobio.fr/html/bact/ba_pr_ecbu.html
36. Société française de microbiologie, éditeur. *Référentiel en microbiologie médicale: référentiel en microbiologie médicale*. 6 éd. Paris: Société française de microbiologie; 2018.
37. Haute Autorité de Santé HAS. Choix et durée de l'antibiothérapie : Cystite aiguë simple, à risque de complication ou récidivante, de la femme. Saint-Denis La Plaine; 2021. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_2722827/fr/choix-et-duree-de-l-antibiotherapie-cystite-aigue-simple-a-risque-de-complication-ou-recidivante-de-la-femme
38. Nicolle LE, Madsen KS, Debeeck GO, Blochlinger E, Borrild N, Bru JP, et al. Three days of Pivmecillinam or Norfloxacin for Treatment of Acute Uncomplicated Urinary Infection in Women. *Scand J Infect Dis*. janv 2002;34(7):487-92.

39. Recommendations | Urinary tract infection (lower): antimicrobial prescribing | Guidance | NICE. NICE. Disponible sur:
<https://www.nice.org.uk/guidance/ng109/chapter/recommendations>
40. Rudenko N, Dorofeyev A. Prevention of Recurrent Lower Urinary Tract Infections by Long-term Administration of Fosfomycin Trometamol. *Arzneimittelforschung*. juill 2005;55(07):420-7.
41. Haute Autorité de Santé HAS. Choix et durée de l'antibiothérapie : Pyélonéphrite aiguë de la femme. Saint-Denis La Plaine; 2021. Disponible sur: https://www.has-sante.fr/jcms/c_2722914/fr/choix-et-duree-de-l-antibiotherapie-pyelonephrite-aigue-de-la-femme
42. Habak PJ, Griggs J. Urinary Tract Infection In Pregnancy. In: StatPearls. *Treasure Island (FL): StatPearls Publishing*; 2022. Disponible sur:
<http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK537047/>
43. Yefet E, Salim R, Chazan B, Akel H, Romano S, Nachum Z. The safety of quinolones in pregnancy. *Obstet Gynecol Surv*. nov 2014;69(11):681-94.
44. Goldberg O, Moretti M, Levy A, Koren G. Exposure to Nitrofurantoin During Early Pregnancy and Congenital Malformations: A Systematic Review and Meta-Analysis. *J Obstet Gynaecol Can*. 1 févr 2015;37(2):150-6.
45. Vauzelle C. Amoxicilline-acide clavulanique (Augmentin®) en fin de grossesse [Amoxicillin-clavulanic acid in late pregnancy]. *Gynecol Obstet Fertil Senol*. 2022 Feb;50(2):205-207. French. doi: 10.1016/j.gofs.2021.12.008. Epub 2021 Dec 24. PMID: 34954405
46. López-Montesinos I, Horcajada JP. Oral and intravenous fosfomycin in complicated urinary tract infections. *Rev Esp Quimioter*. mai 2019;32(Suppl 1):37-44.
47. Raz R. Fosfomycin: an old—new antibiotic. *Clin Microbiol Infect*. 1 janv 2012;18(1):4-7.
48. Dijkmans AC, Ortiz Zacarías NV, Burggraaf J, Mouton JW, Wilms EB, van Nieuwkoop C, et al. Fosfomycin: Pharmacological, Clinical and Future Perspectives. *Antibiotics*. 31 oct 2017;6(4):24.
49. Gismondo MR, Drago L, Fassina C, Garlaschi ML, Rosina M, Lombardi A. *Escherichia coli*: effect of fosfomycin trometamol on some urovirulence factors. *J Chemother Florence Italy*. juin 1994;6(3):167-72.
50. Candel FJ, David MM, López JB. New perspectives for reassessing fosfomycin: applicability in current clinical practice. *Rev Esp Quimioter*. mai 2019;32(Suppl 1):1-7.
51. Pourbaix A, Guérin F. Fosfomycine, place et intérêt dans un contexte de multirésistance. *J Anti-Infect*. 1 sept 2016;18(3):85-97.
52. Patel SS, Balfour JA, Bryson HM. Fosfomycin tromethamine. A review of its antibacterial activity, pharmacokinetic properties and therapeutic efficacy as a single-dose oral treatment for acute uncomplicated lower urinary tract infections. *Drugs*. 1997 Apr;53(4):637-56. doi: 10.2165/00003495-199753040-00007. PMID: 9098664

53. CASFM. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie: recommandations 2022 V.1.0; https://www.sfm-microbiologie.org/wp-content/uploads/2022/05/CASFM2022_V1.0.pdf
54. Brown D. Rationale for the EUCAST clinical breakpoints. *The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing*. 2020 :12. https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Consultation/2020/EUCAST_General_Consultation_on_Fosfomycon_trometamol_2020.pdf.
55. Brieu N, Gallou J, Beaudron A, Billon L, Cadot L, Delarbre JM. 2020. Faut-il encore conseiller la Fosfomycine dans les infections urinaires ? Réseau REUSSIR 2020. Poster présenté dans le cadre du «RICAI 2021». Disponible sur: http://onerba.org/wp-content/uploads/2021/12/REUSSIR_Fosfomycine_urines_Ricai2021.pdf
56. Farfour E, Degand N, Riverain E, Fihman V, Le Brun C, Péan de Ponfilly G, et al. Fosfomycin, from susceptibility to resistance: Impact of the new guidelines on breakpoints. *Médecine Mal Infect*. 1 oct 2020;50(7):611-6.
57. Abbott IJ, Dekker J, van Gorp E, Wijma RA, Raaphorst MN, Klaassen CHW, et al. Impact of bacterial species and baseline resistance on fosfomycin efficacy in urinary tract infections. *J Antimicrob Chemother*. 1 avr 2020;75(4):988-96.
58. Ortiz-Padilla M, Portillo-Calderón I, de Gregorio-Iaria B, Blázquez J, Rodríguez-Baño J, Pascual A, et al. Interplay among Different Fosfomycin Resistance Mechanisms in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 17 févr 2021;65(3):e01911-20.
59. Falagas ME, Kastoris AC, Kapaskelis AM, Karageorgopoulos DE. Fosfomycin for the treatment of multidrug-resistant, including extended-spectrum beta-lactamase producing, Enterobacteriaceae infections: a systematic review. *Lancet Infect Dis*. janv 2010;10(1):43-50.
60. Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques. ONERBA Rapport d'activité de la surveillance de la résistance aux antibiotiques en France. Disponible sur: http://onerba-doc.onerba.org/Rapports/Rapport-ONERBA-2017/ONERBA_rapport_2017.pdf
61. Thulin E, Sundqvist M, Andersson DI. Amdinocillin (Mecillinam) Resistance Mutations in Clinical Isolates and Laboratory-Selected Mutants of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. mars 2015;59(3):1718-27.
62. Dewar S, Reed LC, Koerner RJ. Emerging clinical role of pivmecillinam in the treatment of urinary tract infection in the context of multidrug-resistant bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 1 févr 2014;69(2):303-8.
63. Thulin E, Andersson DI. Upregulation of PBP1B and LpoB in *cysB* Mutants Confers Mecillinam (Amdinocillin) Resistance in *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 23 sept 2019;63(10):e00612-19.
64. Jansåker F, Frimodt-Møller N, Benfield TL, Knudsen JD. Mecillinam for the treatment of acute pyelonephritis and bacteremia caused by Enterobacteriaceae: a literature review. *Infect Drug Resist*. 24 mai 2018;11:761-71.

65. Sougakoff W, Jarlier V. Comparative potency of mecillinam and other beta-lactam antibiotics against *Escherichia coli* strains producing different beta-lactamases. *J Antimicrob Chemother.* sept 2000;46 Suppl 1:9-14; discussion 63-65.
66. Titelman E, Iversen A, Kalin M, Giske CG. Efficacy of pivmecillinam for treatment of lower urinary tract infection caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Microb Drug Resist Larchmt N.* avr 2012;18(2):189-92.
67. Søråas A, Sundsfjord A, Jørgensen SB, Liestøl K, Jenum PA. High Rate of Per Oral Mecillinam Treatment Failure in Community-Acquired Urinary Tract Infections Caused by ESBL-Producing *Escherichia coli*. *PLOS ONE.* 15 janv 2014;9(1):e85889.
68. El Sakka N, Gould IM. Role of old antimicrobial agents in the management of urinary tract infection. *Expert Rev Clin Pharmacol.* 2 août 2016;9(8):1047-56.
69. Kahlmeter G. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO·SENS Project. *J Antimicrob Chemother.* 1 janv 2003;51(1):69-76.
70. EAU Guidelines. Edn. presented at the EAU Annual Congress Amsterdam, the Netherlands 2022. ISBN 978-94-92671-16-5
71. Gupta K, Grigoryan L, Trautner B. Urinary Tract Infection. *Ann Intern Med.* 3 oct 2017;167(7):ITC49-64.
72. Lee BSB, Bhuta T, Simpson JM, Craig JC. Methenamine hippurate for preventing urinary tract infections. *Cochrane Database Syst Rev.* 17 oct 2012;2012(10):CD003265.
73. Aggarwal N, Lotfollahzadeh S. Recurrent Urinary Tract Infections. In: *StatPearls Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2022.* Disponible sur: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK557479/>
74. Saint-Felix J. Le rendu des CMI par le VITEK 2. Contribution présentée dans le cadre de «Mérieux Université». 2018 déc.
75. European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). Determination of minimum inhibitory concentrations (MICs) of antibacterial agents by agar dilution. *Clin Microbiol Infect.* 1 sept 2000;6(9):509-15
76. Goer A, Blanchard LS, Belkum AV, Loftus KJ, Armstrong TP, Gatermann SG, et al. Multicenter Evaluation of the Novel ETEST Fosfomycin for Antimicrobial Susceptibility Testing of Enterobacterales, *Enterococcus faecalis*, and *Staphylococcus* Species. *J Clin Microbiol.* 23 juin 2022; Disponible sur: <https://journals.asm.org/doi/10.1128/jcm.00021-22>
77. Humphries RM, Ambler J, Mitchell SL, Castanheira M, Dingle T, Hindler JA, et al. CLSI Methods Development and Standardization Working Group Best Practices for Evaluation of Antimicrobial Susceptibility Tests. *J Clin Microbiol.* 26 mars 2018;56(4):e01934-17.

78. Ménard G, Leyer C, Piau-Couapel C, Auger G, Cornillet A, Lacroix A, et al. Épidémiologie locale de la résistance des entérobactéries au mécillinaam : adéquation aux recommandations actualisées de la SPILF. *Médecine Mal Infect.* 1 juin 2017;47(4, Supplement):S31-2.
79. Brieu N, Gallou J, Beaudron A, Billon L, Cadot L, Delarbre JM et al. *Données épidémiologiques des antibiotiques à visée urinaire, réseau REUSSIR.* Poster présenté dans le cadre du «RICAI 2021» Paris. 2020. Disponible sur: http://onerba.org/wp-content/uploads/2021/12/REUSSIR_Donnees_urinaires_Ricai2021.pdf
80. De Cueto M, López L, Hernández JR, Morillo C, Pascual A. In Vitro Activity of Fosfomycin against Extended-Spectrum- β -Lactamase- Producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: Comparison of Susceptibility Testing Procedures. *Antimicrob Agents Chemother.* janv 2006;50(1):368-70.
81. Hirsch EB, Raux BR, Zucchi PC, Kim Y, McCoy C, Kirby JE, et al. Activity of fosfomycin and comparison of several susceptibility testing methods against contemporary urine isolates. *Int J Antimicrob Agents.* 1 déc 2015;46(6):642-7.
82. M BT, F DP, Jm RM, Mc C, Ms RG, J B, et al. Role of inoculum and mutant frequency on fosfomycin MIC discrepancies by agar dilution and broth microdilution methods in Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect Off Publ Eur Soc Clin Microbiol Infect Dis.* mai 2017;23(5). Disponible sur: <https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28062317/>
83. Karageorgopoulos DE, Wang R, Yu X hong, Falagas ME. Fosfomycin: evaluation of the published evidence on the emergence of antimicrobial resistance in Gram-negative pathogens. *J Antimicrob Chemother.* 1 févr 2012;67(2):255-68.
84. Matthews PC, Barrett LK, Warren S, Stoesser N, Snelling M, Scarborough M, et al. Oral fosfomycin for treatment of urinary tract infection: a retrospective cohort study. *BMC Infect Dis.* 11 oct 2016;16(1):556.
85. Syre H, Hetland MAK, Bernhoff E, Bollestad M, Grude N, Simonsen GS, et al. Microbial risk factors for treatment failure of pivmecillinaam in community-acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing *Escherichia coli*. *APMIS Acta Pathol Microbiol Immunol Scand.* mars 2020;128(3):232-41.
86. Lucas AE, Ito R, Mustapha MM, McElheny CL, Mettus RT, Bowler SL, et al. Frequency and Mechanisms of Spontaneous Fosfomycin Nonsusceptibility Observed upon Disk Diffusion Testing of *Escherichia coli*. *J Clin Microbiol.* 26 déc 2017;56(1):e01368-17.
87. Van den Bijllaardt W, Schijffelen MJ, Bosboom RW, Cohen Stuart J, Diederens B, Kampinga G, et al. Susceptibility of ESBL *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* to fosfomycin in the Netherlands and comparison of several testing methods including Etest, MIC test strip, Vitek2, Phoenix and disc diffusion. *J Antimicrob Chemother.* 1 sept 2018;73(9):2380-7.
88. Fuchs F, Ahmadzada A, Plambeck L, Wille T, Hamprecht A. Susceptibility of Clinical Enterobacterales Isolates With Common and Rare Carbapenemases to Mecillinaam. *Front Microbiol.* 12 janv 2021;11:627267.

Méthod comparison for the determination of fosfomycin and mecillinam susceptibility of urinary enterobacterial strains

Fosfomycin and mecillinam are first-line antibiotics for cystitis. Urinary tract infections are most commonly caused by the Enterobacteriaceae family, with *E. coli* being the predominant species. However, other enterobacteria are increasingly found in these infections. Since susceptibility testing for fosfomycin and mecillinam for non-*E. coli* Enterobacteriaceae is not validated with Vitek®2, the aim of our study was to compare the routine methods with the reference agar dilution method for these two antibiotics. Overall, the performance obtained for these different methods varies depending on the species. The rate of very major errors with Vitek®2 is lower than with other techniques, which limits the risk to use with an ineffective molecule. In the end, this study, which results must be strengthened, paves the way for further studies with a larger number of strains to confirm the trends we observe.

Comparaison de méthodes pour la détermination de la sensibilité à la fosfomycine et au mécillinam de souches urinaires d'entérobactéries

Présentée et soutenue publiquement par : FELETTI Lucie

Directeur de thèse : MASSIP Clémence, MCU-PH, Bactériologie générale

Lieu et date de soutenance : CHU de Toulouse, le 6 octobre 2022

RESUME en français :

La fosfomycine et le mécillinam sont des antibiotiques de première ligne dans les cystites. Les infections urinaires sont le plus souvent causées par la famille des entérobactéries, *E. coli* étant l'espèce prédominante. Cependant d'autres entérobactéries sont de plus en plus retrouvées dans ces infections. Devant l'absence de détermination de la sensibilité à la fosfomycine et au mécillinam par le Vitek®2 pour les entérobactéries non *E. coli*, l'objectif de notre étude a été de comparer les méthodes de routine à la méthode de référence de dilution en milieu agar pour ces deux antibiotiques. Au global, les performances obtenues pour ces différentes méthodes sont variables en fonction des espèces. Le taux d'erreurs très majeures du Vitek®2 est plus faible comparé aux autres techniques permettant de limiter le risque de traiter par une molécule inefficace. Au final cette étude, dont les résultats doivent être consolidés, ouvre la voie à des études supplémentaires avec un plus grand nombre de souches pour confirmer les tendances observées.

DISCIPLINE administrative : Diplôme d'études spécialisées de Biologie Médicale

MOTS-CLES : infections urinaires, Entérobactéries non *E. coli*, fosfomycine, mécillinam, antibiogramme, Vitek®2

INTITULE ET ADRESSE DE L'UFR OU DU LABORATOIRE : Bactériologie CHU de Toulouse Purpan Institut Fédératif de Biologie (IFB) 330 Avenue de Grande Bretagne 31059 Toulouse