

ANNEXE 2

Argumentaires pour les recommandations faites en 2011 à propos des céphalosporines de 3^e génération et l'aztréonam vis-à-vis des entérobactéries

Décembre 2011

CÉPHALOSPORINES DE 3^E GÉNÉRATION/AZTRÉONAM ET ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES DE β -LACTAMASES À SPECTRE ÉTENDU (BLSE) EN 2011

Depuis 2009, le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) a modifié les concentrations critiques des céphalosporines de 3^e génération (C3G) et de l'aztréonam (AZT) pour les entérobactéries sur la base des propositions faites par l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Ainsi, une souche est, depuis 2009, catégorisée sensible (S) quand la CMI des C3G et AZT est ≤ 1 mg/L alors qu'elle l'était auparavant quand la CMI était ≤ 4 mg/L.

Arguments pour l'abaissement des concentrations critiques

1. Pharmacocinétique/Pharmacodynamique (PK/PD)

Les C3G et l'AZT sont des antibiotiques dont l'activité est temps-dépendante ce qui signifie que le paramètre pharmacodynamique prédictif de leur efficacité *in vivo* est le temps pendant lequel les concentrations sériques restent supérieures à un certain nombre de fois la CMI soit $T > n \text{ CMI} = X \%$. Ce temps est exprimé en % de l'intervalle entre deux administrations afin de pouvoir comparer entre eux les antibiotiques ayant un rythme d'administration différent. Dans les infections peu ou modérément sévères, $n = 1$ et $X = 70$, soit $T > \text{CMI} = 70\%$. Dans le cas d'infections sévères, chez un patient fragilisé, immunodéprimé ou dues à certaines espèces (ex : *Pseudomonas aeruginosa*, entérobactéries du groupe 3), l'exigence PK/PD est nettement supérieure soit $T > 8 \text{ CMI} = 100\%$ (1). Ceci revient à dire que la concentration sérique résiduelle doit être de 8 fois la CMI. En conséquence, la concentration résiduelle exigée est de 32 mg/L au regard d'une souche pour laquelle la CMI des C3G ou AZT est de 4 mg/L. Une concentration résiduelle de 32 mg/L est très difficile à atteindre avec les C3G et AZT, sauf si les posologies sont élevées et si l'antibiotique est administré en perfusion continue. Ces exigences de PK/PD suggèrent qu'il n'est pas licite de catégoriser S aux C3G ou AZT une souche pour laquelle les CMI de ces

antibiotiques est de 4 mg/L. Compte tenu qu'une concentration résiduelle de 8 mg/L (soit $8 \times \text{CMI} = 1 \text{ mg/L}$) peut être obtenue avec les C3G et AZT donnés aux doses et selon le mode d'administration habituels, il a été proposé d'abaisser la concentration critique basse des C3G et AZT à 1 mg/L et donc de catégoriser S à ces antibiotiques les souches pour lesquelles les CMI sont ≤ 1 mg/L. Ainsi, au regard des critères PK/PD, même les infections dues à des souches avec des mécanismes de résistance acquise (BLSE ou une hyperproduction de la β -lactamase chromosomique), mais pour lesquelles la CMI des C3G et AZT est ≤ 1 mg/L peuvent être traitées avec une C3G ou AZT.

2. Distribution des CMI des C3G et AZT vis-à-vis des souches sauvages et des souches ayant acquis des mécanismes de résistance aux C3G et AZT conforte cette approche

Au regard de la distribution des CMI des C3G et AZT vis-à-vis des entérobactéries, il s'avère que l'adoption d'une concentration critique basse de 1 mg/L, résulte en la catégorisation intermédiaire (I) ou résistante (R) de la majorité des souches ayant acquis des mécanismes de résistance modifiant l'activité des C3G et AZT (BLSE, hyperproduction de céphalosporinase).

3. Les échecs cliniques

Des échecs cliniques ont été rapportés par Paterson *et al* (2) lors de l'utilisation de C3G pour le traitement des infections bactériémiques dues à des *Klebsiella pneumoniae* productrices de BLSE et catégorisées S aux C3G ou AZT selon les critères du CLSI (CMI ≤ 8 mg/L). Ces échecs ont principalement été observés lorsque la CMI de la C3G ou de l'AZT utilisé dans le traitement était ≥ 2 mg/L. Dans cette étude la recherche de la production d'une BLSE (test de synergie) n'avait pas été faite au moment de la mesure de la sensibilité aux antibiotiques par le laboratoire et la catégorisation S aux C3G et/ou AZT des souches reposait sur la lecture brute du test de sensibilité aux antibiotiques. Compte tenu du fait que des tests de détection des BLSE ne sont pas systématiquement appliqués, une façon de prévenir les échecs cliniques liés aux souches productrices de BLSE non détectées est d'abaisser la concentration

critique basse à 1 mg/L en accord avec la pharmacodynamie et les paramètres de distribution des CMI des C3G et AZT chez les entérobactéries.

Le communiqué de 2011 du CASFM recommande de ne plus faire de lecture interprétative pour la catégorisation des souches d'entérobactéries ayant acquis des mécanismes de résistance aux C3G et AZT, tout en continuant de détecter les BLSE. Pourquoi ?

Catégoriser systématiquement I aux C3G et AZT les souches détectées (test de synergie) productrices de BLSE relevait du principe de précaution (on ne sait pas ce qui peut se passer chez le malade). Le corollaire de cette catégorisation a été l'utilisation quasi systématique des carbapénèmes (dont la pharmacocinétique n'est, par ailleurs, pas toujours en adéquation avec les exigences pharmacodynamiques) pour traiter les infections dues à ces bactéries. Face à deux nouvelles situations, (i) l'augmentation massive des souches productrices de BLSE notamment chez *Escherichia coli* et (ii) l'émergence sous la pression antibiotique de souches d'entérobactéries résistantes aux carbapénèmes, nous avons été amenés à reconsidérer la validité de notre principe de précaution. Cependant, comme il y a lieu de continuer de surveiller l'évolution des souches productrices de BLSE et de prévenir leur diffusion, notamment dans les hôpitaux, il semble logique qu'il faille continuer de détecter la présence de BLSE par un test de synergie.

Application en pratique de ces deux recommandations

Le microbiologiste peut être confronté quotidiennement à la détection d'une BLSE chez une souche catégorisée S à certaines C3G et pas à d'autres. Ce phénotype peut

résulter de deux situations :

1. Présence d'une BLSE qui n'hydrolyse que très faiblement certaines C3G [absence totale d'image de synergie entre la C3G et l'inhibiteur (acide clavulanique)] comme, par exemple, la ceftazidime et les BLSE de type CTX-M-1 et CTX-M-14 qui occupent les 2^e et 3^e places au sein des CTX-M en France. Cette situation est similaire à celle décrite pour d'autres types de β -lactamases : β -lactamase chromosomique hyperproduite de *Klebsiella oxytoca* qui n'hydrolyse pas la ceftazidime mais la ceftriaxone, le céfotaxime, le céfépime et l'aztréonam ou céphalosporinase chromosomique hyperproduite d'*Enterobacter cloacae* qui n'hydrolyse pas le céfépime mais le céfotaxime, la ceftriaxone, la ceftazidime et l'aztréonam. L'usage des C3G non hydrolysées pour le traitement d'infections dues à ce type de souches de *K. oxytoca* ou d'*E. cloacae* est classique.

2. Présence d'une BLSE qui manifestement hydrolyse (image de synergie) la C3G vis-à-vis de laquelle la souche est catégorisée S. C'est devant un tel résultat qu'il est demandé d'abandonner le principe de précaution antérieurement appliqué (interpréter I une souche catégorisée S selon la lecture brute du test de sensibilité aux antibiotiques) et d'expliquer au clinicien l'enjeu écologique de cet abandon (réduire l'usage des carbapénèmes). La question légitime que pose le clinicien est « êtes-vous sûr qu'un traitement par la C3G en question va être efficace chez le patient infecté par la souche catégorisée S à la C3G hydrolysée par la BLSE ? ». Dans ce cas, il est proposé de déterminer la CMI exacte de la C3G en question et de confronter cette valeur à la valeur résiduelle normalement attendue à la posologie utilisée, puis de suivre l'efficacité du traitement par cette C3G si elle est retenue pour le traitement.

1. Jehl *et al.* Revue Française des Laboratoires, 2011, **434**: 45-56.
2. Paterson *et al.* J Clin Microbiol. 2001, **39**: 2206-2212.

EN RÉSUMÉ

- Rechercher la production d'une β -lactamase à spectre étendu (BLSE).
- Ne plus faire d'interprétation des résultats bruts obtenus vis-à-vis des céphalosporines de 3^e génération (C3G) et l'aztréonam (AZT) pour les souches productrices de BLSE = catégoriser les souches en S, I, R sur la base du résultat brut.
- Si une souche productrice de BLSE est catégorisée « S » à une C3G ou à l'AZT, et si cette C3G ou l'AZT est utilisé pour traiter l'infection due à la souche productrice de BLSE, déterminer la CMI de la C3G en question ou de l'AZT.

Société Française de Microbiologie

191, rue de Vaugirard
75015 Paris

Tél. 01 45 66 77 46 / 79 44

Fax. 01 45 67 46 98

www.sfm-microbiologie.org

ANNEXE 1

Lettre d'information du CA-SFM concernant la détection de la production de carbapénèmases chez les entérobactéries

Janvier 2012

Deux mécanismes peuvent causer la résistance des entérobactéries aux carbapénèmes : (i) la production de carbapénèmases qui appartiennent à différentes classes de β -lactamases (classification d'Ambler) : classe A (KPC), classe B (métalloenzymes VIM, IMP, NDM) et classe D (OXA-48, OXA-23, OXA-181 et leurs variants) et (ii) un défaut d'accumulation de l'antibiotique associé à la production de céphalosporinases et/ou de BLSE.

Il faut d'abord noter que les espèces de la tribu des *Proteae*, notamment *Proteus mirabilis* et *Morganella morganii*, sont intrinsèquement moins sensibles aux carbapénèmes (notamment à l'imipénème) que les autres espèces d'entérobactéries à cause de PLP naturellement peu affines pour ces molécules. Le respect de l'inoculum bactérien lors de la réalisation des tests de sensibilité *in vitro* est important pour ces espèces pour éviter de fausses résistances aux carbapénèmes, notamment avec les techniques d'antibiogramme automatisées en milieu liquide. Une résistance acquise à l'imipénème (et au mércillinam) par mutation des PLP a été décrite chez *P. mirabilis*.

Les carbapénèmases rapportées en France à ce jour sont le plus souvent de type OXA-48 et KPC. Les principales espèces bactériennes impliquées sont *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens* et *Citrobacter freundii*. Ce sont souvent, jusqu'à ce jour, des souches importées de zones d'endémie (pourtour méditerranéen, Inde, Asie, USA).

Certaines souches productrices de carbapénèmases sont, quelle que soit la méthode d'antibiogramme utilisée, catégorisées sensibles (S) aux carbapénèmes, notamment aux molécules autres que l'ertapénème (imipénème, méropénème). L'ertapénème est le carbapénème le plus sensible pour la détection des souches productrices de carbapénèmases. On doit suspecter la production d'une carbapénémase lorsque le diamètre d'inhibition autour du disque d'ertapénème est < 28 mm ou que la CMI est $> 0,5$ mg/L. En cas de suspicion, la production de carbapénémase doit être faite confirmée à l'aide de techniques phénotypiques et/ou génotypiques. En effet, la détection des carbapénèmases est indispensable pour mettre en oeuvre les mesures de prévention pour empêcher la dissémination épidémique des souches et/ou des gènes dans la population, et le risque d'impasse thérapeutique qui en découlerait (souches pan-résistantes).

On dispose à ce jour de plusieurs techniques phénotypiques pour détecter les carbapénèmases chez les entérobactéries. Ces techniques sont déjà utilisées dans de nombreux laboratoires. Cependant, parce que les performances exactes de ces techniques en termes de sensibilité, spécificité, valeurs prédictives et rapports de vraisemblance n'ont pas encore été suffisamment évaluées, le CA-SFM ne peut encore recommander un algorithme unique de détection. Il était cependant indispensable de communiquer dès maintenant à la communauté des bactériologistes des laboratoires de biologie médicale la liste des techniques les plus efficaces, sous forme d'une lettre d'information. Dès que possible, le CA-SFM recommandera un algorithme qui sera probablement basé sur une combinaison ordonnée de plusieurs tests.

La **détection phénotypique** des carbapénèmases peut être entreprise selon deux approches, des **tests d'inhibition** (ex. Kit carbapénémase Rosco, E-test MBL BioMérieux ou disque MBL BioRad) et le **test de Hodge** modifié.

1. Les tests d'inhibition reposent sur l'augmentation du diamètre d'inhibition autour d'un disque combinant un carbapénème (méropénème ou imipénème) et un inhibiteur ou la diminution de la CMI de ces molécules en présence d'inhibiteurs spécifiques de β -lactamases.

* EDTA ou acide dipicolinique pour les enzymes de classe B

* acides boroniques (ex. : acide para-amino-phenyl boronique) pour les enzymes KPC de classe A.

En testant les carbapénèmes sur un milieu contenant de la cloxacilline (inhibiteur de céphalosporinase) et, comparativement sur un milieu sans cloxacilline, on peut détecter une résistance aux carbapénèmes non liée à la production d'une carbapénémase mais à l'association de céphalosporinase et de défaut d'accumulation des carbapénèmes, qui se traduit par une augmentation importante des diamètres d'inhibition sur le premier milieu.

Il faut signaler que certains des inhibiteurs ci-dessus cités manquent de spécificité : les acides boroniques peuvent inhiber des céphalosporinases et l'EDTA peut avoir une activité antibiotique intrinsèque sur certaines souches.

A ce jour, il n'existe pas de test d'inhibition spécifique des carbapénémases de classe D (ex. OXA-48). La production de ces enzymes est suspectée si tous les tests d'inhibition cités ci-dessus sont négatifs. Dans ce cas le test de Hodges est particulièrement utile (cf ci-dessous).

2. Le test de Hodge modifié repose sur l'utilisation d'un disque d'ertapénème 10 µg (plus indiqué que imipénème, cf ci-dessus) et la souche de référence sensible *E. coli* ATCC 25922 ensemencée par écouvillonnage sur gélose Müller-Hinton à l'aide d'une suspension à 0,5 McFarland diluée au 1/10e. Les souches test suspectes de produire une carbapénémase et des souches témoins (ex. : témoin positif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1705 productrice de carbapénémase KP-2 et témoin négatif *K. pneumoniae* ATCC BAA-1706 non productrice de carbapénémase) sont ensemencés en strie depuis le disque vers le bord de la gélose sur une longueur d'au moins 20 mm. Le test est interprétable en cas de déformation de la zone d'inhibition de la souche de référence le long de la strie de la souche témoin +. Si une déformation semblable est observée avec la souche test suspecte, celle-ci peut-être considérée comme productrice d'une carbapénémase. Le test ne permet pas de donner une orientation sur la classe à laquelle appartient la carbapénémase.

Le test de Hodge peut parfois être faussement négatif, notamment avec les souches productrices de carbapénémases de NDM-1. L'ajout de ZnSO₄ (100 µg/ml) dans le milieu permet d'augmenter très notablement la sensibilité du test dans ce cas. Un test d'inhibition par des inhibiteurs spécifiques des β-lactamases de classe B (EDTA ou acide dipicolinique, ci-dessus) est également utile dans ce cas.

Le test de Hodge peut parfois être faussement positif pour les souches ayant un défaut d'accumulation des carbapénèmes associé à la production de céphalosporinases et/ou de BLSE. La réalisation du test de Hodge modifié en ajoutant de la cloxacilline sur le disque d'ertapénème (déposer 10 µl d'une solution aqueuse à 75 mg/ml de cloxacilline sur le disque d'ertapénème) permet d'éliminer les faux positifs liés à la production de céphalosporinase.

La méthode référence pour la détection des carbapénémases est l'amplification du gène codant pour la carbapénémase.