

Les entérobactéries face aux céphalosporines de 3ème génération et carbapénèmes : évolution, actualité, problématique

Auteur : Sonnet, Mirabel

Promoteur(s) : Mainil, Jacques

Faculté : Faculté de Médecine Vétérinaire

Diplôme : Master en médecine vétérinaire

Année académique : 2019-2020

URI/URL : <http://hdl.handle.net/2268.2/9758>

Avertissement à l'attention des usagers :

Tous les documents placés en accès ouvert sur le site le site MatheO sont protégés par le droit d'auteur. Conformément aux principes énoncés par la "Budapest Open Access Initiative"(BOAI, 2002), l'utilisateur du site peut lire, télécharger, copier, transmettre, imprimer, chercher ou faire un lien vers le texte intégral de ces documents, les disséquer pour les indexer, s'en servir de données pour un logiciel, ou s'en servir à toute autre fin légale (ou prévue par la réglementation relative au droit d'auteur). Toute utilisation du document à des fins commerciales est strictement interdite.

Par ailleurs, l'utilisateur s'engage à respecter les droits moraux de l'auteur, principalement le droit à l'intégrité de l'oeuvre et le droit de paternité et ce dans toute utilisation que l'utilisateur entreprend. Ainsi, à titre d'exemple, lorsqu'il reproduira un document par extrait ou dans son intégralité, l'utilisateur citera de manière complète les sources telles que mentionnées ci-dessus. Toute utilisation non explicitement autorisée ci-avant (telle que par exemple, la modification du document ou son résumé) nécessite l'autorisation préalable et expresse des auteurs ou de leurs ayants droit.

**LES ENTÉROBACTÉRIES FACE AUX
CÉPHALOSPORINES DE 3^E ET 4^E GÉNÉRATION ET
CARBAPÉNÈMES : ÉVOLUTION, ACTUALITÉ,
PROBLÉMATIQUE**

*ENTEROBACTERIAS AGAINST THIRD AND FOURTH
GENERATION CEPHALOSPORINS AND CARBAPENEMS :
EVOLUTION, CURRENT SITUATION, PROBLEMATIC*

SONNET Mirabel

Travail de fin d'études
présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

Année académique 2019-2020

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur.

**LES ENTÉROBACTÉRIES FACE AUX
CÉPHALOSPORINES DE 3^E ET 4^E GÉNÉRATION ET
CARBAPÉNÈMES : ÉVOLUTION, ACTUALITÉ,
PROBLÉMATIQUE**

SONNET Mirabel

Tuteur : Prof. Jacques Mainil DMV, MSc Molecular Biology, PhD

Travail de fin d'études
présenté en vue de l'obtention du grade
de Médecin Vétérinaire

Année académique 2019-2020

Le contenu de ce travail n'engage que son auteur.

OBJECTIF DU TRAVAIL

Le but de ce travail est de faire le point sur la situation actuelle concernant les résistances des entérobactéries, notamment *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella enterica*, contre les β -lactamines et plus précisément les céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} génération et les carbapénèmes. Cette mise au point permettra de mettre en évidence les problèmes engendrés par l'évolution des mécanismes de résistance de ces bactéries et d'en mesurer l'impact afin de souligner l'importance d'une vision « One Health » dans l'émission de solutions à cette problématique.

RESUME

Les entérobactéries comme *E. coli*, *K. pneumoniae* et *S. enterica* sont fréquemment la cible thérapeutique d'antibiotiques et notamment ceux de la famille des β -lactamines tant en médecine humaine que vétérinaire. Depuis le début de l'utilisation de cette famille d'antibiotiques, ces organismes ont développé des mécanismes de résistance contre ces molécules, notamment par l'acquisition de gènes codant pour des β -lactamases. Ces enzymes inhibent un nombre croissant de β -lactames au fil du temps et nous arrivons dans une situation où il ne reste que peu de molécules encore actives face à certaines souches bactériennes, le risque étant de se retrouver dépourvu de toute arme contre des agents bactériens initialement maîtrisés par ces antibiotiques. Dans une optique globale de la santé, humaine et animale, des solutions sont proposées et appliquées afin de ralentir cette tendance et de prolonger notre vision d'avenir concernant l'antibiothérapie.

AIM OF THE WORK

The aim of this work is to take stock of the current situation concerning the resistance of enterobacteria, in particular *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella enterica*, against β -lactam antibiotics, and more specifically 3rd and 4th generation cephalosporins and carbapenems. This development will make it possible to highlight the problems caused by the evolution of the resistance mechanisms of these bacteria and to measure their impact in order to underline the importance of a "One Health" vision in providing solutions to this problem.

SUMMARY

Enterobacteriaceae such as *E. coli*, *K. pneumoniae* and *S. enterica* are frequently the therapeutic target of antibiotics, particularly those of the β -lactam family, in both human and veterinary medicine. Since the beginning of the use of this family of antibiotics, these organisms have developed mechanisms of resistance against these molecules, notably through the acquisition of genes coding for β -lactamases. These enzymes inhibit an increasing number of β -lactams over time and we are now reaching a situation where there are only a few molecules still active against certain bacterial strains, the risk being to find ourselves without any weapon against bacterial agents initially controlled by these antibiotics. From a global perspective of human and animal health, solutions are being proposed and applied to slow this trend and extend our vision of the future of antibiotic therapy.

Introduction

1. Entérobactéries
 - 1.1. Entérobactéries les plus concernées
 - 1.2. Pathologies engendrées par ces bactéries en médecine vétérinaire

2. Antibiotiques : β -lactamines
 - 2.1. Rappel : mode d'action
 - 2.2. Groupes de β -lactamines
 - 2.3. Les céphalosporines et carbapénèmes : point d'intérêt

3. Résistance et évolution
 - 3.1. Les résistances
 - 3.2. Génome et échanges de matériel génétique
 - 3.2.1. Composition du génome
 - 3.2.2. Plasticité génétique
 - 3.2.2.1. Mutations
 - 3.2.2.2. Transfert horizontal
 - 3.3. β -lactamases
 - 3.4. Résistance des entérobactéries
 - 3.4.1. *Klebsiella pneumoniae*
 - 3.4.2. *Escherichia coli*
 - 3.4.3. *Salmonella enterica*
 - 3.5. Transmission de souches résistantes
 - 3.6. Résistance chez les animaux de compagnie

4. Problématique
 - 4.1. Gravité
 - 4.2. Vision « One health »
 - 4.3. Perspectives d'avenir

Conclusion

1. Entérobactéries

La famille des entérobactéries englobe des bactéries Gram négatives (Gram –) comptant des organismes colonisant à la fois l’homme et les animaux. Au sein de cette famille, certains organismes sont communément identifiés comme responsables d’infections chez les animaux de compagnie, telles que des infections urinaires, respiratoires, digestives, cutanées, etc.

Les entérobactéries les plus communément rapportées sont *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella enterica*. Ces organismes sont donc souvent la cible thérapeutique des vétérinaires et des médecins qui, pour les contrer, recourent à un arsenal antibactérien qui eusse été très large à un moment donné, mais qui ne fait que de se réduire au fil de l’évolution de ces souches bactériennes. En effet, les résistances aux agents antimicrobiens acquises par ces bactéries deviennent une préoccupation majeure tant en médecine humaine que vétérinaire.

1.1. Entérobactéries les plus concernées

Comme énoncé précédemment, les entérobactéries sont des bacilles Gram négatifs, c’est à dire qu’elles possèdent une paroi composée d’une monocouche de peptidoglycan et d’une membrane externe (Figure 1). Cette structure leur confère une résistance constitutive aux antibiotiques comme les pénicillines mais, en évoluant, ces bactéries ont acquis d’autres mécanismes de résistance leur permettant de se développer même en présence d’antibiotiques possédant un spectre plus large. Les entérobactéries les plus concernées sont les suivantes :

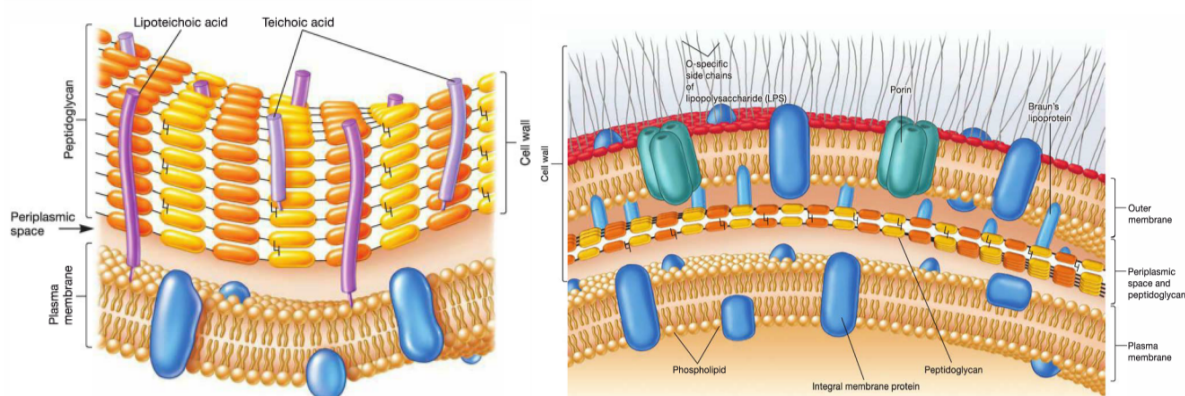


Figure 1 - Schémas représentant les structures des parois des Bactéries Gram + (à gauche) et Gram – (à droite). Images issues du cours de microbiologie du Professeur Gillet, 3^{ème} bachelier, 2019, Unamur.

Escherichia coli représente la majeure partie de la flore commensale gastrointestinale des humains et de mammifères (y compris ceux de compagnie), et vit la plupart du temps en symbiose avec l'hôte. C'est aussi l'un des pathogènes les plus communs tant chez l'homme que chez l'animal et est la cause d'un large éventail de maladies. Les souches pathogènes sont classifiées en différents pathotypes qui diffèrent au niveau de leurs cibles et des symptômes qu'ils peuvent causer (Allocati *et al.*, 2013). De plus, une transmission d'*E. coli* entre l'homme et l'animal peut subvenir via différentes voies comme le contact direct, le contact avec les excréments animales ou encore, via la chaîne alimentaire. (Poirel *et al.*, 2018)

Le genre bactérien *Klebsiella* fait partie intégrante du microbiome gastrointestinale chez les humains et animaux sains. Mais est aussi considéré comme étant un pathogène opportuniste colonisant les muqueuses sans forcément causer de maladie. Elle peut cependant disséminer vers d'autres tissus et causer des infections pouvant compromettre la vie de l'individu atteint. *Klebsiella pneumoniae* est responsable d'un nombre important d'infections d'origine communautaire dans le monde et représente près d'un tiers des infections à bactéries Gram négatives. Ces infections sont caractérisées par des taux de mortalité et de morbidité importants dus au fait que c'est un pathogène accumulant les résistances et contre lequel les options de traitement sont limitées (Bengoechea et Sa Pessoa, 2019).

Pour l'homme, *Salmonella enterica* est l'un des pathogènes d'origine alimentaire le plus répandu dans le monde. Plus de 2500 sérotypes ont été identifiés à ce jour. Ces bactéries sont présentes dans l'environnement et se retrouvent chez les animaux domestiques et sauvages en tant qu'agent pathogène ou commensal. Ces organismes peuvent infecter l'homme via des aliments contaminés comme les œufs, la viande de poulet et de porc (crue ou mal cuite), les fruits et légumes... Les symptômes provoqués chez l'homme suite à une infection par *Salmonella* spp. sont principalement gastro-intestinaux (diarrhée, vomissements, douleur abdominale, ...) et généralement accompagnés de fièvre (Maca et Popowska, 2016). Cette entérobactérie pose un problème majeur pour la sécurité alimentaire et la santé publique car un grand nombre de toxi-infections alimentaires est rapporté chaque année.

1.2. Pathologies engendrées par ces bactéries en médecine vétérinaire

Escherichia coli provoque un large panel d'affections, qui reste relativement similaire entre chevaux, bovins, porcs, chiens et chats : entérite, infection du tractus urinaire et génital,

méningo-encéphalite, infections du nouveau-né, mammite (bovin et porc), avortement, septicémie, infection des glandes anales et otite (chiens et chats),...

Klebsiella pneumoniae, quant à elle, affecte plus les bovins et chevaux et peut provoquer : des infections respiratoire, urinaire et/ou génitale, une mammite, une infection du nouveau-né.

Salmonella enterica enterica contamine les mammifères et oiseaux, le sérotype le plus commun est Thyphimurium, on retrouve aussi les sérotype Hadar chez les chevaux et Dublin chez les bovins. Une atteinte par ce pathogène provoque différents symptômes, pas nécessairement concomittants :

- entérite (mucus, hémorragie, débris nécrotiques, ...) avec diarrhée, anorexie, abattement, déshydratation, fièvre, ...
- septicémie avec foyers de nécrose sur les organes internes et lésions ostéo-articulaires, respiratoires, nerveuses
- un avortement, suite à la septicémie

Les symptômes causés par *Salmonella* sont globalement les mêmes chez les bovins, porcs, chats, chiens et chevaux.

Le traitement des infections causées par les entérobactéries consiste, en règle générale, en l'administration d'antibiotiques. Il est recommandé de choisir l'antibiotique sur base d'un antibiogramme, ceci dans le but de limiter l'émergence et la propagation de résistances. Mais dans la majorité des cas, on recourt à l'utilisation des β -lactamines. Par exemple, pour la salmonellose chez le chien ou le chat, le premier choix d'antibiothérapie est l'amoxicilline ou la cefalexine, pour le bovin, l'ampicilline (Mainil, 2017). En effet, certaines molécules de cette famille ont un spectre d'action contre les entérobactériacées et feront l'objet du point suivant.

2. Antibiotiques : les β -lactamines

Les antibiotiques les plus utilisés dans le monde sont ceux de la famille des β -lactamines. Depuis la découverte de la benzylpénicilline en 1920 par Alexander Fleming, un grand nombre d'autres pénicillines et dérivés de β -lactames ont été découverts. Ces antibiotiques sont relativement bien tolérés et ont une bonne efficacité, ceci leur vaut d'être

considérablement prescrits dans le monde tant en médecine humaine que vétérinaire (Bush et Bradford, 2016).

2.1. Rappel : mode d'action

Les β -lactamines ont pour cible la synthèse du peptidoglycan qui compose la paroi bactérienne. Celui-ci ne possède pas d'équivalent eucaryote et confère donc à cette famille antibactérienne une grande sélectivité d'action (Letesson, 2014).

Pour comprendre le mode d'action de ces antibiotiques, il est utile de rappeler brièvement les étapes de la synthèse de ce peptidoglycan : le précurseur, l'UDP-N-acetylmuramique-pentapeptide, est produit au niveau du cytoplasme. Ensuite, ce précurseur est transporté vers l'extérieur de la bactérie grâce à un transporteur lipidique membranaire : le bactoprénol. Lors de ce transport, le précurseur est complété avec de l'acide N-acétylglucosamique. On obtient alors le monomère disaccharidique initial du peptidoglycan. Le transporteur est ensuite relâché. Le monomère se trouve maintenant à l'extérieur de la bactérie et c'est ici que des réactions de polymérisation des muropeptides ont lieu. Ces réactions sont médiées par différentes enzymes :

- la transglycosylase qui permet l'assemblage des disaccharides entre eux
- la carboxypeptidase permettant la rupture de la liaison entre les 2 derniers acides aminés de la chaîne peptidique et fournissant l'énergie nécessaire à la transpeptidation
- la transpeptidase qui forme le lien entre la lysine et l'alanine dextrogyre de deux monomères disaccharidiques

L'action de ces enzymes permet la formation d'une structure tridimensionnelle faisant office de paroi bactérienne (Letesson, 2014).

Notons que ces enzymes sont des « penicillin binding protein » et donc, comme leur nom l'indique, sont le substrat de la pénicilline par laquelle elles sont inhibées.

Les β -lactamines sont les principaux antibiotiques agissant sur la paroi bactérienne. Ils ont une action bactéricide sur les bactéries en croissance qui leur est conférée par leur interférence dans la dernière étape de la synthèse du peptidoglycan : la transpeptidation, qui lie les chaînes peptidiques du squelette carbohydrate entre elles.

Ces antibiotiques se fixent de manière covalente à la transpeptidase. En effet, le lien amide du noyau β -lactame est un analogue structural du lien D-ala-D-ala formé par la transpeptidation lors de la synthèse du peptidoglycan (Figure 2). Cette liaison covalente entre la transpeptidase et l'antibiotique empêche la poursuite de la formation de la paroi bactérienne et va engendrer

une réaction suicide de la cellule bactérienne par l'activation d'autolysines (enzymes endogènes qui dégradent le peptidoglycan) et par conséquent, la mort de la bactérie.

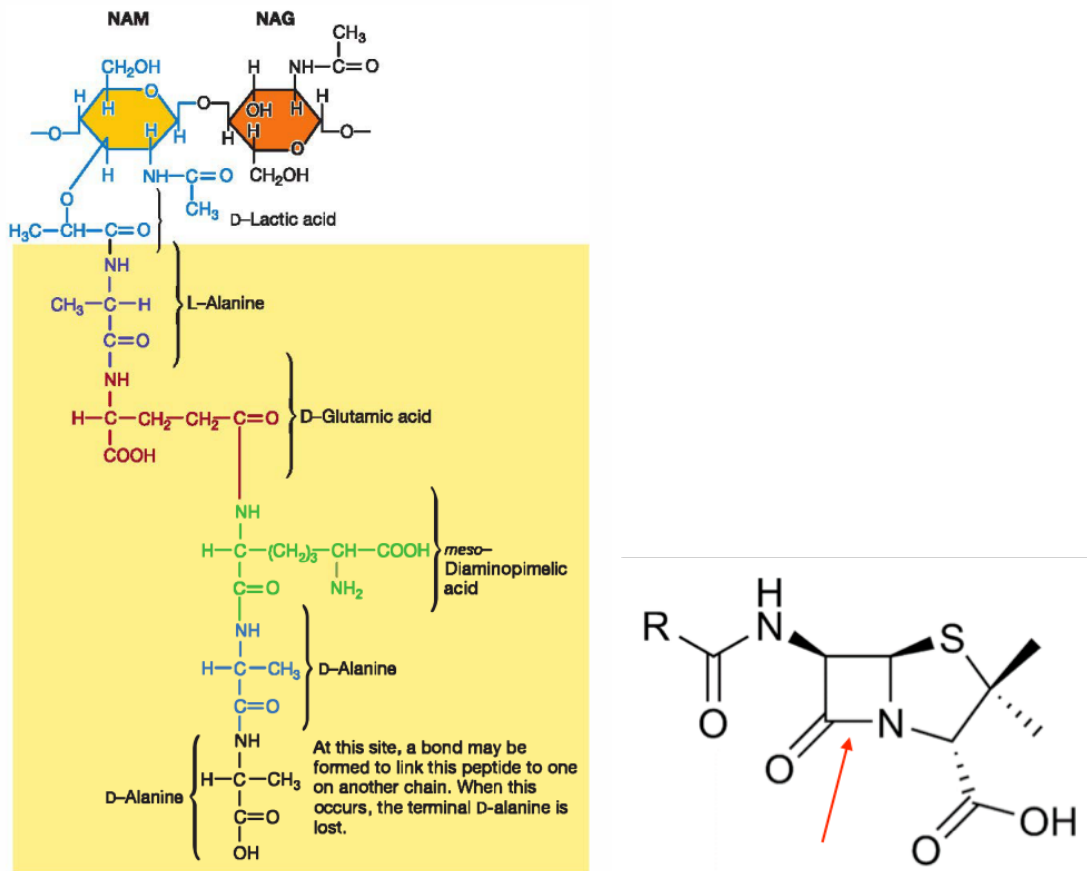


Figure 2 - Schémas représentant le monomère disaccharidique formant le peptidoglycane et sa chaîne peptidique montrant le lien D-ala – D-ala reconnu par la transpeptidase (à gauche) avec en comparaison la molécule de la pénicilline G avec le lien amide analogue mis en évidence par la flèche rouge (à droite). Images issues du cours de microbiologie du Professeur Gillet, 3^{ème} bachelier, 2019, Unamur.

2.2. Groupes de β -lactamines

Il existe au sein de la famille des β -lactamines différents groupes d'antibiotiques qui diffèrent par leur structure de base tout en possédant chacun un noyau β -lactame : les pénicillines, les céphalosporines, les carbapénèmes, l'acide clavulanique et les monobactames (figure 3).

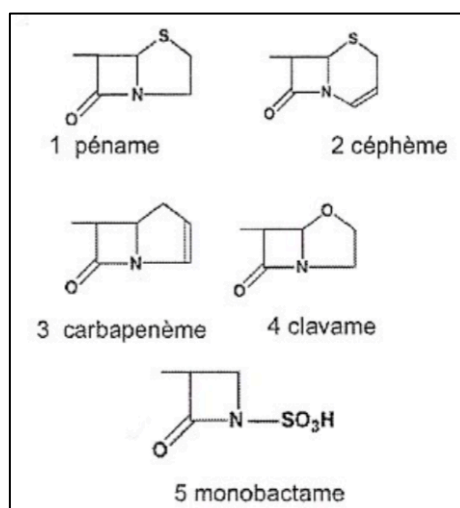


Figure 3 - Grands groupes d'antibiotiques à noyau β -lactame.

1. Pénicillines (noyau pénème) ; 2. Céphalosporines (noyau céphème) ; 3. Carbapénèmes ; 4. Acide clavulanique (noyau clavulane) ; 5. monobactames

Figure extraite du cours de microbiologie du Prof. Letesson, 2014, Unamur

Les pénicillines sont les premières à avoir été découvertes. Elles possèdent un spectre plus ou moins étroit se limitant aux bactéries Gram + et quelques Gram – (en fonction des différentes pénicillines). En effet, la sensibilité des Gram + aux pénicillines est expliquée par le fait que leur paroi est essentiellement composée de peptidoglycan. Les Gram – en possèdent généralement beaucoup moins ce qui explique leur résistance naturelle à cette famille d'antibiotiques. De plus, ces derniers doivent traverser la membrane externe, peu perméable, des Gram – pour atteindre les « penicillin binding proteins », pour qui, les pénicillines ont une faible affinité (Gustin, 2017). Selon le type de pénicillines, le spectre est plus ou moins large (Tableau I).

	Pénicillines naturelles	Pénicillines pénicillinase-résistantes	Aminopénicilline
Exemples de molécules	Pénicilline G, pénicilline V	Méticilline, cloxacilline, ...	Ampicilline, amoxicilline, ...
Spectre	Gram + surtout anaérobies, quelques Gram –	Gram + anaérobies, quelques Gram –, Staphylococcus aureus	Gram + anaérobies, spectre élargi à quelques Gram –
Résistance	Staphylocoques, nombreuses bactéries Gram –	Staphylocoques (non due à la production de pénicillinases)	Staphylocoques et autres bactéries produisant des pénicillinases

Tableau I – Classification des pénicillines et leur spectre d'action.

Les céphalosporines possèdent un cycle dihydrothiazine attaché au noyau β -lactame (figure 4). Les céphalosporines sont classées en différents groupes selon leurs propriétés pharmacologiques et pharmacocinétiques.

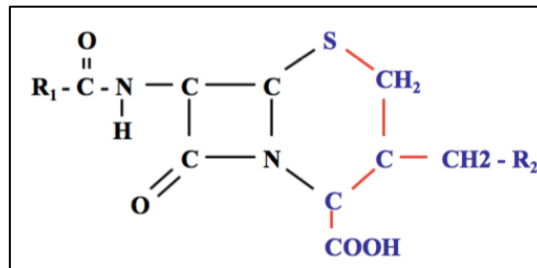


Figure 4 - Structure de base des céphalosporines : noyau β -lactame et cycle dihydrothiazine. Figure extraite du cours de pharmacologie vétérinaire, tome III du Prof. P. Gustin, Université de Liège.

Pour élargir le spectre de ces antibiotiques, il est possible d'y associer des inhibiteurs de β -lactamases comme l'acide clavulanique qui est le plus connu. En effet, certaines bactéries possèdent des mécanismes de résistance aux β -lactamines qui sont médiés par la production d'enzymes : les β -lactamases. Elles hydrolysent le cycle β -lactame des pénicillines, céphalosporines et autres antibiotiques apparentés, ceci désactivant leurs propriétés bactéricides (Gustin, 2017).

Les monobactames sont des β -lactames monocycliques actifs contre les bactéries Gram –, un exemple de molécule est l'aztréonam.

Les carbapénèmes sont des antibiotiques plus récents et possèdent un des plus larges spectre d'activité par rapport aux autres β -lactames. Leur structure les rend résistant à la plupart des β -lactamases classiques (Letesson, 2014). Cet antibiotique est utilisé en dernier recours pour des infections causées par des bactéries résistantes autres β -lactames telles que *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae*. Récemment, des souches bactériennes résistantes aux carbapénèmes ont été découvertes. La production de carbapénèmases par ces bactéries est une nouvelle plus qu'alarmante pour l'avenir de l'antibiothérapie et de la santé humaine et animale (McKenna, 2013).

2.3. Les céphalosporines et carbapénèmes : point d'intérêt

Les céphalosporines sont réparties en différents groupes, possédant chacun des spectres d'action et des propriétés pharmacologiques différents. On retrouve donc les céphalosporines actives suite à une administration *per os* et les céphalosporines administrées par voie parentérale (Gustin, 2017).

Des exemples de molécules et les spectres d'action sont repris dans le tableau II, dont voici un bref résumé : les molécules comprises dans le groupe des céphalosporines orales agissent contre les bactéries Gram + et ont une faible activité contre les Gram -. Il en est de même pour les céphalosporines du groupe I administrées par voie parentérale à l'exception d'une activité un peu plus élargie pour les Gram -. Les céphalosporines du groupe II sont efficaces contre les Gram - dont les entérobactéries. En ce qui concerne les groupes III et IV de céphalosporines parentérales, elles possèdent une activité excellente mais variable contre les entérobactéries, Staphylocoques et Streptocoques (Gustin, 2017).

	Céphalosporines actives oralement	Céphalosporines parentérales		
		Groupe I	Groupe II	Groupes III et IV
Exemples de molécules	Céfachlore, céphalexine, céphadrine, ...	Céfacétrile, céfapirine, céphalotine, céphazoline, ...	Céfamandole, céfotiam, ceftiofure, cefquinome, céfacétil, céfotaxime, ...	Céfopérazone, ceftazidine, cefsulodine, céfoxitine, cefmétazole, céfotetan
Spectre d'activité	Gram + Faible contre Gram -	Gram + Modéré contre Gram -	Actif contre les Gram - dont entérobactéries	Très bonne activité contre les Gram - dont entérobactéries

Tableau II - Classification des céphalosporines et leurs spectre d'action.

L'utilisation des céphalosporines du groupe II chez les animaux de compagnie est indiquée en cas d'infections provoquées par les entérobactériacées, les septicémies, les infections respiratoires et pulmonaires (Gustin, 2017). Ceci rendant les céphalosporines très utiles en cas d'atteintes potentiellement mortelles chez les animaux de compagnie.

Cependant, ces antibiotiques deviennent de moins en moins actifs contre certaines souches bactériennes, et notamment les entérobactéries, suite à l'acquisition de nouvelles résistances. Pour contrer ces affections parfois mortelles, le recours aux antibiotiques critiques, à savoir les céphalosporines des groupes III et IV, devient de plus en plus fréquent et nécessaire. Leur utilisation en médecine vétérinaire, et spécialement pour les animaux producteurs de denrées alimentaires, fait l'objet de recommandations rédigées par l'AMCRA (Centre de

connaissance concernant l'utilisation et les résistances des antibiotiques chez les animaux) et de lois (AR du 21 juillet 2016¹) pour limiter le développement de résistances contre ces antibiotiques à large spectre d'action étant utiles tant en médecine humaine que vétérinaire. L'avenir de l'antibiothérapie en dépend grandement.

3. Résistance et évolution

Rappelons que la résistance aux antibiotiques est un phénomène naturel. En effet, les bactéries vivant dans l'environnement d'autres organismes, comme des champignons ou autres bactéries qui synthétisent des substances antimicrobiennes, ne peuvent survivre et se multiplier qu'en développant des mécanismes de résistance à ces substances (AMCRA, 2020). L'usage considérable des antibiotiques par l'homme entraîne une sélection des résistances qui tendent à diffuser dans les populations bactériennes.

2.4. Les résistances

Il existe deux sortes de résistances : les résistances **constitutives**, qui font partie des propriétés intrinsèques de la bactérie, et les résistances **acquises**, qui sont des propriétés nouvellement acquises par la bactérie. Dans le cadre de ce travail, c'est à ces dernières que l'intérêt sera porté.

Les résistances nouvellement acquises découlent de modifications de gènes déjà existants au sein de la bactérie ou de l'obtention de nouveaux gènes d'origine externe. Ces derniers entrent dans la bactérie, s'intègrent de manière stable dans le génome et sont ensuite transférés entre bactéries. Les mécanismes d'entrée et de transfert des gènes seront décrits plus loin.

Les résistances aux antibiotiques se font par différents mécanismes agissant sur :

- sur la cible (la paroi, le génome, la synthèse des protéines,...)
- la concentration intracellulaire
- l'antibiotique

L'action sur la cible se fait par plusieurs mécanismes tels que : la synthèse d'une cible mutante insensible, la synthèse de novo d'une cible insensible ou analogue (via un nouveau gène), la modification enzymatique de la cible, une augmentation de production de cible ou de

¹ Arrêté royal relatif aux conditions d'utilisation des médicaments par les médecins vétérinaires et par les responsables des animaux.

précurseurs ou par une protection de la cible par récupération de l'antibiotique ou interaction avec ce dernier.

La concentration intracellulaire en antibiotique peut être altérée suite à une imperméabilisation de la membrane ou par un mécanisme d'efflux spécifique.

Enfin, la bactérie peut aussi directement agir sur l'antibiotique par modification ou hydrolyse enzymatique. (Mainil, 2017) C'est notamment le cas des entérobactéries qui produisent des enzymes, les β -lactamases qui viennent alors hydrolyser les β -lactamines au niveau du noyau β -lactame. Ces enzymes sont produites naturellement par certaines bactéries mais de plus en plus de souches possèdent ce mécanisme de résistance.

Le point suivant traite de la façon dont ces gènes codant pour les résistances entrent et se transmettent entre les bactéries.

2.5. Génome et échanges de matériel génétique

Les β -lactamases sont donc encodées par des gènes, qui, comme on vient de le dire, sont acquis par la bactérie de différentes manières. Il est utile de rappeler comment ces gènes, entre autres, entrent dans la bactérie, sont intégrés dans le génome et sont transmis entre différentes souches bactériennes.

2.5.1. Composition du génome

Rappelons tout d'abord que le génome bactérien est composé du chromosome et des plasmides et au sein de ce génome, on retrouve des éléments génétiques accessoires.

La plupart des bactéries possèdent des **plasmides** en plus de leur chromosome. Ils sont généralement de forme circulaire, sont composés d'ADN double brin et ont une capacité de répllication autonome. Les fonctions encodées sur les plasmides sont réparties en 3 grands groupes :

- la fonction qui spécifie sa répllication autonome qui est assurée par une unité de répllication ou réplicon composé de l'origine de répllication ORI et de ses éléments de commande.
- la fonction assurant la transmission du plasmide par conjugaison lui permet de gérer son propre transfert entre individus non apparentés. Ceci correspond au transfert horizontal de gènes.

- les fonctions conférant un avantage à la bactérie, il s'agit de fonctions qui contribuent à l'adaptation de la bactérie à son environnement, à la résistance à certains agents antimicrobiens et à l'ajustement du métabolisme en fonction de la disponibilité en nutriments, ...

Cette dernière fonction est très importante en médecine humaine et vétérinaire puisqu'elle reprend des plasmides codant pour la résistance aux antibiotiques. Ces plasmides sont appelés facteurs R (R=résistance) et encodent des enzymes qui inactivent des antibiotiques, comme les β -lactamases, ou modifient la perméabilité bactérienne par exemple. Un grand nombre de facteurs R confère une poly-résistance, d'autant plus que ces plasmides ont une gamme d'hôte très large (Letesson, 2014).

Parmi les **éléments génétiques accessoires**, on retrouve les éléments génétiques transposables qui sont présents au sein des plasmides et du chromosome et qui ont la propriété de se déplacer dans le génome. Ces éléments dépendent d'un réplicon (molécule ou segment d'ADN ou ARN pouvant se répliquer de manière autonome) pour assurer leur transmission verticale (Letesson, 2014).

La plupart des éléments génétiques transposables se transloquent en insérant une copie d'eux-mêmes à un endroit du chromosome (ou du plasmide) tout en laissant la copie originale à sa localisation de départ. Les transposons font partie de ces éléments transposables et encodent une large variété de propriétés dont la résistance aux antibiotiques. D'ailleurs, les gènes codant la résistance aux antibiotiques des facteurs R sont souvent portés par des transposons. Cependant, le fait de posséder des éléments génétiques mobiles ne confère pas toujours un avantage à la bactérie. En effet, certains résultats de transposition peuvent être préjudiciables, menant à une perte de fonction de certains gènes ou à une perturbation de la régulation génique au niveau du site d'intégration (Letesson, 2014).

Autres éléments génétiques accessoires et non pas des moindres, les éléments intégratifs et conjugatifs (EIC) sont des éléments génétiques auto-transmissibles codant pour les mécanismes de conjugaison, d'excision et d'intégration au sein du chromosome bactérien. Ils ne peuvent cependant pas être maintenus dans un état extra-chromosomique comme les plasmides. Ces EIC codent pour des fonctions « sociales » comme la résistance aux antibiotiques.

Enfin, les intégrons représentent les derniers éléments génétiques accessoires à aborder. Ces éléments sont exclusivement retrouvés chez les bactéries et permettent de convertir des cassettes génétiques (gènes libres sans promoteur) en gènes fonctionnels et d'assurer leur expression en les intégrant au sein d'éléments réplicatifs (chromosome, plasmide, transposons). Ces intégrons sont constitués d'un gène codant pour une intégrase, d'un site d'intégration spécifique et d'un promoteur fort. Ils constituent donc une plateforme fonctionnelle qui précède des gènes normalement non exprimés et permet donc leur expression. Ces intégrons seraient responsables de la présence d'éléments transposables codant pour des gènes de résistance au sein des plasmides. Ces gènes de résistance sont donc récoltés et rassemblés sur les éléments transposables grâce aux intégrons. En effet, l'intégrase est sous le contrôle d'un système SOS qui est lui-même induit par un stress subi par la bactérie et qui conditionne donc le phénomène d'intégration. Les intégrons peuvent être perçus comme des systèmes d'adaptation des bactéries leur permettant d'améliorer leur résistance au stress.

2.5.2. Plasticité génétique

2.5.2.1. Mutations

D'autres sources de modifications génétiques existent et parmi celles-ci, on retrouve les **mutations**. Les mutations sont des changements héréditaires se produisant au niveau du génome, elles se transmettent donc verticalement de la cellule mère à la descendance. Ces changements surviennent spontanément lors du processus répliatif ou sont alors induits par des agents mutagènes. N'importe quel gène d'une bactérie peut être muté et donc conférer une propriété nouvelle à cette dernière. Si la nouvelle propriété donne un avantage sélectif à la bactérie dans son environnement, cette mutation sera sélectionnable. La résistance aux antibiotiques est un exemple de mutation que l'on peut sélectionner. Seules les bactéries possédant la mutation conférant la résistance pousseront en présence de l'antibiotique contre lequel la résistance est orientée. Il faut aussi savoir que toutes les mutations ne confèrent pas forcément un avantage à la cellule bactérienne, elles peuvent aussi être létales ou ne rien changer. Moléculairement parlant, il existe deux types de mutations, les micro- et les macrolésions. Les microlésions (décalage du cadre de lecture, remplacement de base) correspondent à l'altération d'une seule base contrairement aux macrolésions qui sont plus étendues (délétions, duplications, inversions, translocations). La fréquence de mutation est très

élevée pour une population de bactéries et il n'est donc pas étonnant d'y retrouver de nombreux mutants différents, ce qui procure à cette population un potentiel de variabilité énorme, prêt à répondre en cas de modification environnementale.

2.5.2.2. Transfert horizontal

Avec une pression sélective appropriée, de nouveaux gènes et éléments génétiques peuvent apparaître, évoluer et se propager. Plusieurs exemples ont déjà été mentionnés ci-dessus : les éléments génétiques mobiles codant pour des résistances aux antibiotiques ou encore les mutations. Ces gènes peuvent facilement être transférés d'une bactérie à une autre par transfert horizontal de matériel génétique. Différents mécanismes sont décrits : la transformation, la transduction et la conjugaison.

Ces mécanismes d'échanges génétiques possèdent des caractéristiques communes : il ne constituent pas une étape indispensable au cycle vital de la bactérie, le transfert est toujours polarisé et se fait donc entre une bactérie donneuse et une receveuse, l'échange génétique n'est jamais complet c'est-à-dire que seuls des fragments du génome sont transmis et enfin, sauf si c'est un plasmide, le matériel génétique échangé ne constitue pas un réplicon, cela veut dire qu'il doit s'intégrer au génome de la bactérie receveuse pour pouvoir être conservé lors des divisions ultérieures.

Tout d'abord, la transformation est le seul des trois mécanismes qui est encodé sur le chromosome et consiste en la capture d'ADN présent en solution dans l'environnement par des cellules bactériennes compétentes (possédant les gènes nécessaires au processus). Certaines bactéries sont capables de ce mécanisme naturellement car cela est encodé chromosomiquement. Chez d'autres bactéries, comme *E. coli* par exemple, la transformation est dite artificielle car elles ne possèdent pas le matériel génétique nécessaire à la rendre compétente. La transformation est alors artificielle dans ce genre de cas puisque la cellule est rendue compétente suite à des techniques artificielles comme l'électroporation par exemple.

Ensuite, la transduction est considérée comme étant un processus accidentel par lequel l'ADN bactérien est transmis d'une bactérie à l'autre par l'intermédiaire d'un vecteur viral, le bactériophage. Les phages sont des virus de bactérie, ils possèdent deux types de cycles réplicatifs :

- le cycle lysogénique qui est caractérisé par l'intégration du génome du phage dans le génome de la bactérie hôte, qui continue à vivre et à se reproduire normalement transmettant l'ADN du phage aux descendants. Ce n'est que lors d'événements ultérieurs, comme le rayonnement UV par exemple, que le génome du phage peut s'exciser du chromosome bactérien et alors entamer le cycle lytique libérant des milliers de phages filles lors de la lyse de la bactérie. Les phages effectuant ce cycle sont appelés « tempérés ».
- le cycle lytique débute par la fixation du phage et l'injection de son génome au sein de la bactérie. Le phage détourne la machinerie de la bactérie à son profit pour produire son ADN et ses protéines qui seront par la suite assemblés en virus complets. La paroi bactérienne est alors lysée et des milliers de particules phagiques sont libérées. Les phages effectuant ce cycle sont appelés « virulents ».

La transduction est la conséquence d'erreurs lors du cycle de certains bactériophages, qu'ils soient virulents ou tempérés. En effet, certaines particules phagiennes se remplissent d'ADN bactérien et phagien à la place d'ADN phagien seul. Ces particules sont alors nommées particules de transduction, le phage alors formé manque d'une partie de son ADN et est donc défectueux mais possède toujours la capacité de s'attacher à une bactérie et de lui transmettre l'ADN qu'il contient. C'est ainsi que l'ADN d'une bactérie est transféré à une autre.

Enfin, la conjugaison est un mécanisme de transfert horizontal nécessitant un contact direct entre les cellules donneuse et receveuse via un pili sexuel. Ce mécanisme est médié par les plasmides conjugatifs qui sont capables d'organiser leur propre transfert et occasionnellement le transfert de fragments de chromosome. Ces plasmides codent notamment pour le pili sexuel de conjugaison et pour les gènes responsables de leur réplication.

La cellule possédant le plasmide ou cellule donneuse, va s'attacher à la cellule receveuse par l'intermédiaire de ce pili. Cet attachement va déclencher le transfert répliatif du plasmide qui va alors pénétrer dans l'autre cellule sous forme de simple brin. Ce plasmide sera alors rendu double brin et recircularisé. Il est possible que le plasmide s'intègre au chromosome bactérien, la souche bactérienne formée est alors appelée Hfr (Haute fréquence de recombinaison). Le transfert conjugatif à partir de ces souches est accompagné de la transmission de fragments du chromosome bactérien d'autant plus long que le temps de conjugaison se prolonge.

Les mutations, les modifications de gènes et leur transfert génétique entre cellules bactériennes mènent à l'accélération de l'évolution des bactéries. Les modifications spontanées peuvent donner une nouvelle fonction (par exemple une résistance) et même si cela se produit à basse fréquence, une fois que la fonction est mise au point, elle peut se propager à d'autres populations bactériennes. Ces échanges représentent le facteur limitant de la propagation de ces nouvelles fonctions et ils dépendent des conditions dans lesquelles se trouvent les bactéries, certaines conditions sont très propices aux échanges génétiques. Cela contribue grandement à la propagation des résistances.

2.6. β -lactamases

Les enzymes produites, entre autres, par les entérobactéries hydrolysent le lien amide du noyau β -lactame de la molécule antibiotique (figure 5). Ces enzymes sont encodées sur des gènes que la bactérie possède déjà ou qu'elle obtient soit par modification de ses propres gènes, soit par acquisition extérieure. Il existe différentes classes de β -lactamases agissant contre différents antibiotiques.

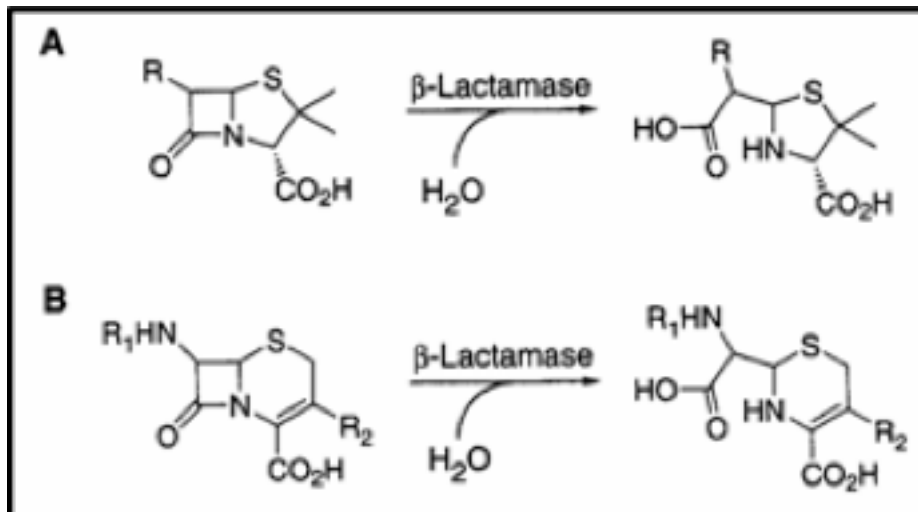


Figure 5 - Action des β -lactamases sur les pénicillines (A) et les céphalosporines (B). Figure issue du cours de 3^{ème} baccalauréat de bactériologie, J. Mainil, ULiège.

Ces enzymes sont classées selon leur structure ou selon leurs propriétés inhibitrices et hydrolytiques.

La classification sur base de la structure ou classification d'Ambler, est relativement simple. Quatre classes sont représentées : A, B, C et D. Les classes A,C et D comprennent les enzymes possédant une sérine au niveau du site actif et la classe B reprend les métalloenzymes qui utilisent un ion Zn au site actif (Bush et Jacoby, 2010).

La classification se basant sur la fonction enzymatique est plus complexe. Elle reprend trois groupes principaux eux-mêmes subdivisés en sous-groupes, chacun ayant des propriétés d'action différentes vis-à-vis des β -lactamines (figure 6).

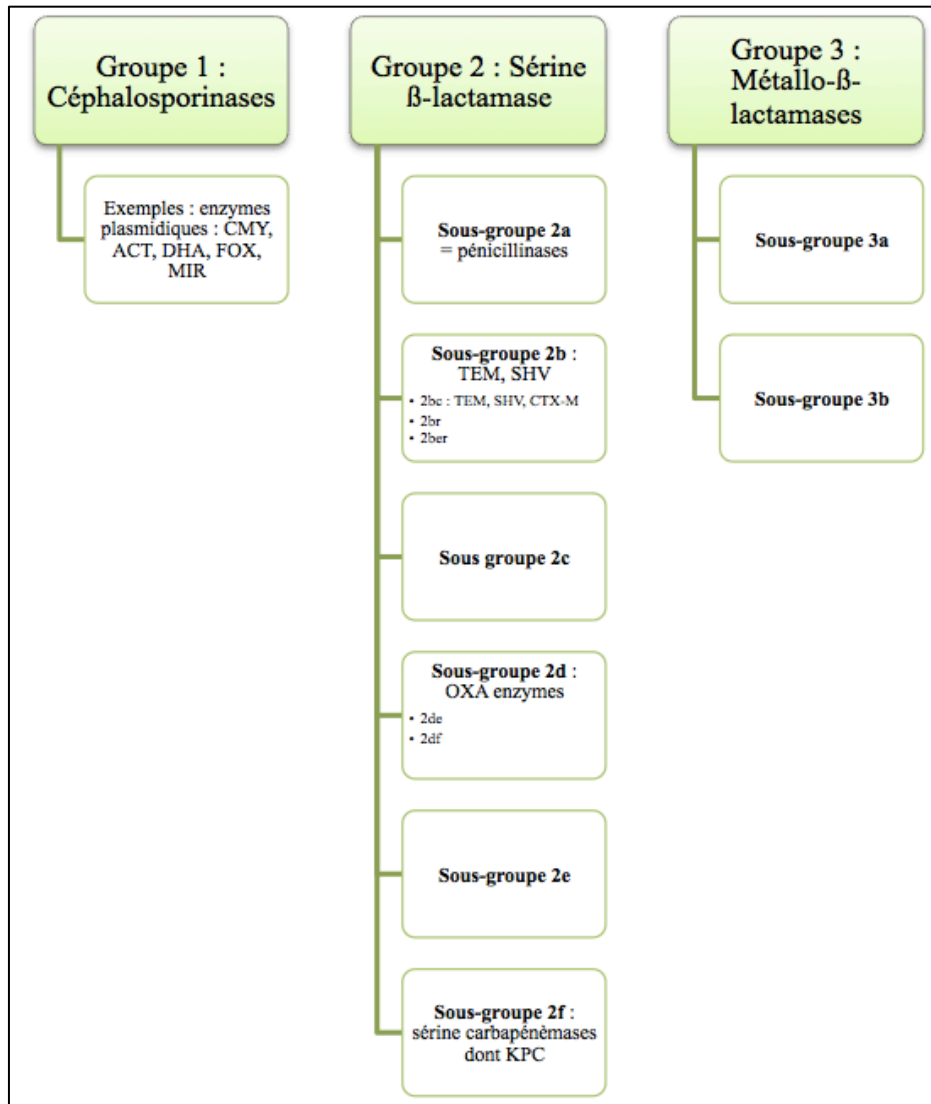


Figure 6 - Dichotomie représentant la classification des β -lactamases. Réalisé à partir de la lecture de l'article « *Updated functional classification of β -lactamases* » de Karen Bush et George A. Jacoby, 2010.

Le premier groupe est celui des **céphalosporinases** (Amp^C), les gènes codant pour ces enzymes sont présents sur le chromosome de beaucoup d'entérobactéries, mais ils peuvent aussi être d'origine plasmidique. Ces enzymes appartiennent à la classe C de la classification

d'Ambler. Elles ont une action préférentielle contre les 4 générations de céphalosporines et résistent à l'inhibition de l'acide clavulanique et du tazobactame. Elles ne sont pas actives contre les carbapénèmes. Il existe différentes sortes d'enzymes au sein de ce groupe dont CMY, MIR, FOX, ...

Le second groupe englobe les **β -lactamases ayant une sérine au niveau de leur site actif ou « sérine β -lactamases »**, et correspond aux classes A et D de la classification d'Ambler. Au sein de ce groupe, on retrouve plusieurs sous-groupes ayant des spectres d'action différents :

- **2a** : correspond aux pénicillinases, leur action se concentre donc sur les pénicillines ayant tout de même une très faible activité contre les céphalosporines. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactame et sont majoritairement d'origine chromosomique.
- **2b** : enzymes actives contre les pénicillines et les premières générations de céphalosporines. Elles sont sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases. Les majeures enzymes représentatives de ce sous-groupe sont TEM-1, TEM-2 et SHV-1 et sont d'origine plasmidique. Il existe différents sous-ensembles dans ce groupe 2b :
 - o Les enzymes du sous-ensemble **2be**, qui correspondent aux β -lactamases à spectre élargi (ou ESBL) et ont une action contre les céphalosporines à spectre large en plus des pénicillines. Elles sont inhibées par l'acide clavulanique et le tazobactame. Les enzymes faisant partie de ce groupe dérivent des enzymes TEM-1 et -2 et SHV-1. Les enzymes CTX-M font également partie de ce groupe et partagent les mêmes propriétés d'action mais se propagent cependant plus rapidement.
 - o Le sous-ensemble **2br** qui reprend les ESBL des familles TEM et SHV qui résistent à l'action des inhibiteurs de β -lactamases.
 - o Le groupe **2ber** inclut les enzymes TEM et combine un spectre d'action élargi avec une résistance relative aux inhibiteurs de β -lactamases.
- **2c** : ces enzymes sont des pénicillinases possédant une action contre la ticarcilline.
- **2d** : ce groupe est représenté par les enzymes OXA actives contre l'oxacilline.
- **2e** : action contre les céphalosporines à spectre élargi, ces molécules sont sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases.
- **2f** : ce groupe correspond aux carbapénémases à sérine, ces enzymes d'origine plasmidique sont inhibées par le tazobactame. Les enzymes KPC font partie de ce groupe.

Le troisième groupe est celui des **métallo- β -lactamases (MBL)**, elles diffèrent des autres enzymes par la présence d'un ion Zinc au niveau de leur site actif. Elles sont actives contre les carbapénèmes et, contrairement aux carbapénémases à sérine, sont sensibles aux inhibiteurs de β -lactamases et n'ont qu'une très faible activité contre les monobactames. Au départ, les MBL ont été identifiées sur les chromosomes des Gram + et de quelques rares Gram – et leur nombre est resté constant durant une longue période. Une fois que les gènes codant pour ces enzymes sont apparus sur des éléments transférables, ils ont été soumis à une pression sélective chez une variété d'hôtes, résultant en une augmentation du nombre d'enzymes différentes représentant ce groupe de β -lactamases (Bush et Jacoby, 2010). Ces MBL sont divisées en deux sous-groupes :

- **3a** : enzymes plasmidiques avec activité contre carbapénèmes, céphalosporines, pénicillines. Des enzymes comme IMP et VIM retrouvées chez les entérobactéries sont des exemples appartenant à ce groupe.
- **3b** : action préférentielle pour les carbapénèmes.

Cette description permet de mieux comprendre les fonctions de ces différentes enzymes et leurs interactions avec les β -lactames et inhibiteurs de β -lactamases. Grâce à cette classification par fonctionnalité, on observe que le nombre d'enzymes représentant un type de β -lactamases a largement augmenté au cours des dernières décennies. Il s'agit du groupe des sérine β -lactamases, dont font partie les ESBL (Figure 5). Dans la suite de ce travail, l'intérêt sera porté aux β -lactamases produites par les entérobactéries, la manière dont elles ont évolué et l'importance qu'elles ont dans la vision « One Health ».

2.7. Résistance des entérobactéries

L'évolution constante des mécanismes de résistances et de transfert de gènes de résistance ont mené à l'émergence de souches d'entérobactéries résistant à presque tous les antibiotiques disponibles sur le marché, sans autres possibilités de traitement. En effet, le spectre de résistance devient de plus en plus large, on parle actuellement de β -lactamases à spectre élargi (ESBL). La résistance aux β -lactames et plus précisément aux céphalosporines de 3^{ème} et 4^{ème} génération et aux carbapénèmes devient de plus en plus fréquente chez certaines entérobactéries de prévalence élevée comme *Klebsiella*, *Escherichia* ou *Salmonella*. Ceci est une réelle menace pour la santé humaine et animale ainsi que pour l'avenir de

l'antibiothérapie. Le point suivant donne une vue d'ensemble sur l'acquisition, l'évolution et l'actualité de ces résistances chez ces différentes bactéries.

2.7.1. *Klebsiella pneumoniae*

Le génome de cette bactérie englobe une multitude de gènes de résistance aux antibiotiques encodés sur des plasmides ou sur le chromosome, l'ensemble de ces gènes est appelé résistome. Sous la pression sélective causée par l'utilisation d'antibiotiques, *Klebsiella* a accumulé des gènes de résistance par mutations et par acquisition de plasmides et d'éléments génétiques transférables, menant à l'apparition de souches très résistantes.

En plus de sa prévalence importante, *K. pneumoniae* est une source non négligeable d'antibiorésistance pour les autres bactéries via transfert horizontal. Les données issues du site « European Antimicrobial Resistance Network » pour les années de 2005, 2010 et 2018 montrent une augmentation des taux de souches de *K. pneumoniae* résistantes aux carbapénèmes et aux céphalosporines de 3^{ème} génération (figures 6 et 7).

Les résistances aux carbapénèmes sont moins répandues que celles aux céphalosporines de 3^{ème} génération mais évoluent constamment. La figure 8 montre la situation de l'Europe en 2018 concernant les résistances de *Klebsiella* aux carbapénèmes. La situation est alarmante au vu de l'évolution rapide des résistances aux céphalosporines de 3^{ème} génération entre l'année 2005 et l'année 2018, il pourrait en être de même pour les carbapénèmes qui représentent une des dernières options thérapeutiques contre *Klebsiella pneumoniae*.

L'apparition grandissante des souches multi-résistantes de *Klebsiella pneumoniae* est le résultat d'un processus de dissémination multifactoriel de gènes incluant : la propagation des lignées résistantes, l'acquisition de plasmides de résistance et l'acquisition de gènes de résistance localisés sur des transposons. Ces plasmides et transposons font partie des éléments « mobiles » d'une bactérie à l'autre (intra ou interspécifique) via les transferts horizontaux. Tout ceci contribue grandement à l'évolution des souches résistantes de *Klebsiella pneumoniae*.

Tout d'abord, parlons des ESBL. Les résistances aux β -lactames chez *Klebsiella* ont été découvertes déjà peu de temps après le début de leur utilisation, dans les années 1960. Ces résistances sont portées par les gènes codant pour des β -lactamases : *bla*_{TEM-1} et *bla*_{SHV-1}. Dans les années 1980, la première ESBL faisait son apparition : *bla*_{SHV-2} et présente une résistance étendue aux céphalosporines de 3^{ème} génération et aux monobactames. L'apparition de ce

gène est suivie de près par celle du gène *bla*_{TEM-3}, porté par un plasmide. L'émergence croissante d'ESBL chez *Klebsiella* durant les années 1990-2000 la fait devenir le pathogène majeur portant des β -lactamases à spectre élargi. Durant cette période, des souches de *Klebsiella* ont acquis principalement des β -lactamases de type TEM et SHV avec une prépondérance et une dissémination importante. Dans les années 2000, un nouveau type de β -lactamases fait son apparition causant des épidémies importantes dans les hôpitaux : le type CTX-M. Les gènes *bla*_{CTX-M} ont été acquis par *Klebsiella* grâce au transfert de plasmides et de transposons, cela menant à la dominance des souches les possédant. D'autres type d'ESBL apparaissent au sein du résistome de *Klebsiella*, notamment le type OXA. Les gènes *bla*_{OXA} ont été obtenu par transfert horizontal, tout comme les gènes *bla*_{GES}, *bla*_{SFO} ou encore *bla*_{PER}, ces derniers étant plus rares. En plus des gènes codant pour les ESBL, des gènes codant pour des ESBL résistant aux inhibiteurs de β -lactamases ont aussi fait leur apparition.

Ensuite, les céphalosporinases. Cette classe de β -lactamases a fait son apparition chez *Klebsiella* dans les années 1980-1990, à peu près en même temps que les ESBL. Ces gènes sont d'origine plasmidique. Les types les plus importants composant la famille de gènes *bla*_{AmpC} sont : CMY, DHA, FOX et MOX. Au cours de l'évolution, l'incorporation de gènes de résistance dans le chromosome bactérien s'est déroulée, *bla*_{CMY-2} a été le premier gène de résistance identifié au sein du chromosome de *K. pneumoniae*.

Enfin, l'apparition de souches de *Klebsiella*, et d'autres entérobactériacées, multi-résistantes a mené à l'augmentation de l'utilisation des carbapénèmes, qui sont alors devenus les antibiotiques de dernier recours pour traiter les infections par ces souches bactériennes. Cette utilisation croissante résulte en l'évolution vers de nouveaux types de résistance avec en l'occurrence, l'apparition des carbapénémases. Ces dernières sont portées par les plasmides et rendent les souches qui les possèdent résistantes aux carbapénèmes et dont *Klebsiella* est le représentant majeur. Le premier type de carbapénémase identifié est IMP-1. Elles sont représentées par d'autres types comme VIM et NDM. L'émergence des KPC (*Klebsiella pneumoniae* carbapénémases) se fait en 1996 et deviennent rapidement les carbapénémases les plus présentes dans le monde. Les *bla*_{KPC} ont été décrites sur tous les continents et les gènes *bla*_{KPC-3} et *bla*_{KPC-2} sont les plus communs. La principale cause de dissémination de ces gènes est l'expansion du clone ST258 de *K. pneumoniae*, qui est présent de manière endémique dans le monde. Les gènes *bla*_{KPC} résident sur le transposon Tn4401 qui lui-même est inséré au sein de plasmides, cela facilitant la dissémination de ces gènes vers d'autres espèces bactériennes. Un exemple de transfert inter-espèce est celui du gène *bla*_{KPC-3} de *K. pneumoniae* à *E. coli*

mis en évidence chez un patient aux USA, chez ce même patient est retrouvé une autre bactérie, *Serratia marcescens*, qui porte un plasmide provenant d'*E. coli* et portant le transposon avec ce gène en question. Ceci démontre que *Klebsiella* est une source de gènes de résistance pour de multiples autres pathogènes. Ces gènes de résistance, normalement portés par des plasmides, sont également retrouvés au sein du chromosome bactérien suite à l'intervention des éléments génétiques mobiles. Cela rendant la dissémination encore plus importante.

Le fait de porter plusieurs gènes codant pour plusieurs β -lactamases chez une même souche est une caractéristique de *Klebsiella* qui contribue à la sélection de ces souches. Cette multi-résistance est due au fait que soit la souche de *Klebsiella* porte un plasmide avec plusieurs gènes de résistance soit elle porte plusieurs plasmides de résistance.

A propos des plasmides, il en existe différents types, portant différents gènes et présents chez différentes souches de *Klebsiella*. Certains types de plasmides sont plus fréquemment retrouvés que d'autres en fonction des zones géographiques et des souches de *Klebsiella* présentes. Une longue liste avec le nom de chaque plasmide avec le type de gène encodé et le nom des transposons transportant ces gènes pourrait être établie. Mais cela n'est pas nécessaire pour comprendre le rôle non négligeable qu'ils ont dans la dissémination des gènes de résistance de *Klebsiella*. En effet, la capacité de ces plasmides à se transmettre par conjugaison leur permet de devenir les transporteurs majeurs de résistance aux antibiotiques et transforme donc *Klebsiella* en une source de résistance pour les autres bactéries par l'intermédiaire du transfert horizontal de ses plasmides. Ce transfert horizontal se fait notamment vers les autres entérobactéries. Par exemple, le gène *bla*_{KPC-2} est retrouvé chez *Salmonella*, *E. coli* et *Proteus mirabilis* et provient bien de *Klebsiella* initialement. Le transfert de plasmides appartenant à *Klebsiella* a été rapporté au sein d'autres souches bactériennes importantes comme la souche ST131 d'*E. coli*, cette souche produisant déjà des ESBL, produit maintenant des carbapénèmases, cela la rendant hypervirulente. Ce phénomène de transfert depuis *Klebsiella* est applicable à beaucoup d'autres souches qu'*E. coli* et démontre ainsi sa dangerosité vis-à-vis de l'antibiorésistance.

2.7.2. *Escherichia coli*

Faisons tout d'abord le point sur l'évolution et l'actualité épidémiologiques d'*Escherichia coli*. La figure 9 montre l'évolution des pourcentages de souches résistantes d'*Escherichia coli* aux céphalosporines de 3^{ème} génération en Europe, on peut voir une nette augmentation entre l'année 2005 et 2018 pour la plupart des pays. En ce qui concerne les carbapénèmes, les résistances chez *Escherichia coli* restent rares (figure 10).

Nous venons de voir que *Klebsiella* pouvait transmettre ses gènes de virulence aux autres entérobactéries et notamment *Escherichia coli*, étendons nous un peu plus sur le résistome de cette dernière. *E. coli* est sensible de manière intrinsèque à presque tous les agents antimicrobiens, mais cette espèce a une bonne capacité d'accumulation des gènes de résistance, surtout via le transfert horizontal. Elle peut ainsi agir comme un réservoir de gènes de résistance, pouvant alors causer des échecs thérapeutiques tant en médecine humaine que vétérinaire (Poirel et al., 2018). Ce rôle de réservoir n'est pas le seul qu'elle possède, cette bactérie peut en effet, recevoir et transmettre les gènes de résistances à d'autres bactéries.

La résistance d'*E. coli* aux β -lactames se fait principalement grâce à l'acquisition d'éléments génétiques mobiles codant pour des mécanismes comme la production d'ESBL, céphalosporinases ou carbapénémases.

Les principaux types d'ESBL retrouvés chez *E. coli* avant les années 2000 sont les types SHV et TEM. Depuis lors, les ESBL de type CTX-M ont fait leur apparition et sont maintenant prédominantes tant chez les humains que chez les animaux. Chez ces derniers, les gènes codant pour les ESBL les plus communs sont *bla*_{CTX-M1}, *bla*_{CTX-M14}, *bla*_{CTX-M15} *bla*_{TEM-52} et *bla*_{SHV-12} (Poirel et al., 2018). Cependant, la distribution de ces gènes varie en fonction de la localisation géographique, l'animal ou encore le site de prélèvement. Chez l'homme, l'ESBL la plus fréquemment retrouvée est encodée par le gène *bla*_{CTX-M15}, et est régulièrement associée à la souche ST131 d'*E.coli*, qui n'est que très rarement retrouvée chez les animaux. Ces gènes sont généralement encodés sur des plasmides, qui jouent un rôle dans leur dissémination.

Les céphalosporinases les plus fréquemment rencontrées chez *E.coli* sont les types CMY, DHA et ACC, tous encodés sur des plasmides. Cependant le type CMY est prédominant dans le monde.

Les carbapénémases sont rarement identifiées chez des souches d'*E.coli* provenant d'animaux. En effet, ceci peut être expliqué par l'existence d'une faible pression de sélection puisque l'utilisation des carbapénèmes n'est autorisée que dans de rares cas pour les animaux non producteurs de denrées alimentaires. Cependant, au cours des dernières années des

souches d'entérobactéries, dont *E. coli*, produisant des carbapénèmases ont été isolées chez des animaux. Les types de carbapénèmases en cause sont les types VIM et NDM. Le type OXA-48, normalement retrouvé chez l'homme, a été identifié chez des chiens et chats en Allemagne, France, et d'autres pays encore (Poirel et al., 2018). Cela démontre bien le pouvoir de dissémination de ces gènes de résistance, la question encore non élucidée est de savoir le sens de ces propagations : le l'animal vers l'homme ou l'inverse via l'environnement par exemple.

2.7.3. *Salmonella enterica*

Article : ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF SALMONELLA SPP. ISOLATED FROM FOOD

2.8. Transmission des souches résistantes

Exemple article sur Klebsiella 2017

2.9. Ces résistances chez les animaux de compagnie

Although the spread of carbapenemase genes has been mainly recognized in the human sector but poorly recognized in animals, (Poirel et al, 2018)

For the other resistance traits, their cross-transfer between the human and animal sectors still remains controversial even though genomic investigations indicate that extended-spectrum β -lactamase producers encountered in animals are distinct from those affecting humans. (Poirel et al, 2018)

*ESBL-producing strains of *E. coli* are clinically relevant in veterinary medicine since they confer resistance to penicillins, aminopenicillins, and cephalosporins, including the third-generation cephalosporins ceftiofur and cefovecin and the fourth-generation cephalosporin cefquinome, which are approved veterinary drugs. Thus, ESBLs may be the cause of treatment failures and limit the therapeutic options of veterinarians, because they have been identified in increasing numbers in *E. coli* of food-producing and companion animals worldwide (Poirel, 2018)*

Intro au point suivant

→ The growing importance of antimicrobial resistance as a problem for food safety has been recognized by various international organizations [91]. This problem is multifaceted and intersectoral, and cooperation and the exchange of information between the sectors of agriculture, veterinary, food production and public health appear to be essential. The globalization of trade, which depends on the movement of goods, animals and food products,

means that resistant bacteria can become widely distributed and transferred to consumers around the world. (L. Maca, 2016)

3. Problématique de ces résistances en médecine humaine et vétérinaire

Voir site AMCRA rubrique « utilisation des antibiotique et antibiorésistance »

3.1. Expliquer le problème, la gravité : résistance en humaine, impact, ...

Each year, about 25,000 patients die in the EU, Iceland and Norway from infections with antibiotic-resistant bacteria, two-thirds of them Gram-negative. (Lukasc Maca, 2016)

Antimicrobial resistance in E. coli is an issue of the utmost importance since it occurs in both the human and animal sectors in a One Health perspective. In animals, multidrug resistance in E. coli may lead to difficult-to-treat infections, but even more importantly, it constitutes a major and shared reservoir of resistance determinants to most families of antimicrobial agents across a vast number of animal species, including humans. Even though the different transmission pathways of resistant E. coli isolates from animals to humans remain to be clarified and their relative importance quantified, some data may support the role of the food chain since those bacteria have been demonstrated as common colonizers of foodstuffs at retail in many countries and continents. Other routes of transmission may include direct contacts with animals or indirect transfers through the environment. Since E. coli is a bacterium that is widely spread in all sectors, antimicrobial resistance in E. coli in animals has led to numerous cross-sectorial and joint initiatives, encompassing translational research, epidemiology, and surveillance in both human and veterinary medicine. It is now considered that the battle against the increased occurrence of antimicrobial resistance in E. coli from humans cannot be won without acting on a very large scale. To tone down some current and alarming speculations, and in view of all the studies that have been conducted during recent years, it is, however, likely that the occurrence of carbapenemase-producing E. coli in animals does not represent a significant threat for human health (31). In contrast, recent data have demonstrated that animals are very significant reservoirs of plasmid-mediated colistin resistance genes—mostly present in E. coli isolates—which may represent a further risk for humans. (Poirel et Al., 2018)

3.2. One health

3.3. Perspectives d'avenir

3.3.1. Lois

3.3.2. Conduite à tenir (AMCRA, autres options thérapeutiques ...)

3.4. Rôle du vétérinaire là-dedans

Annexe des figures

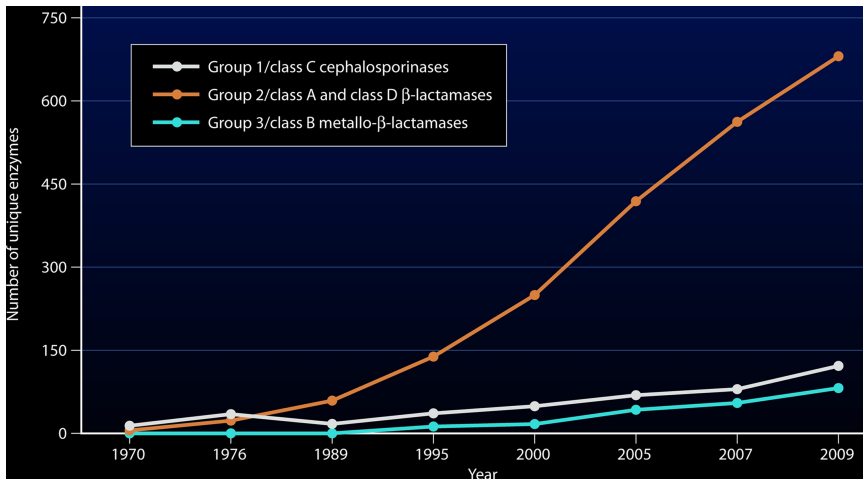
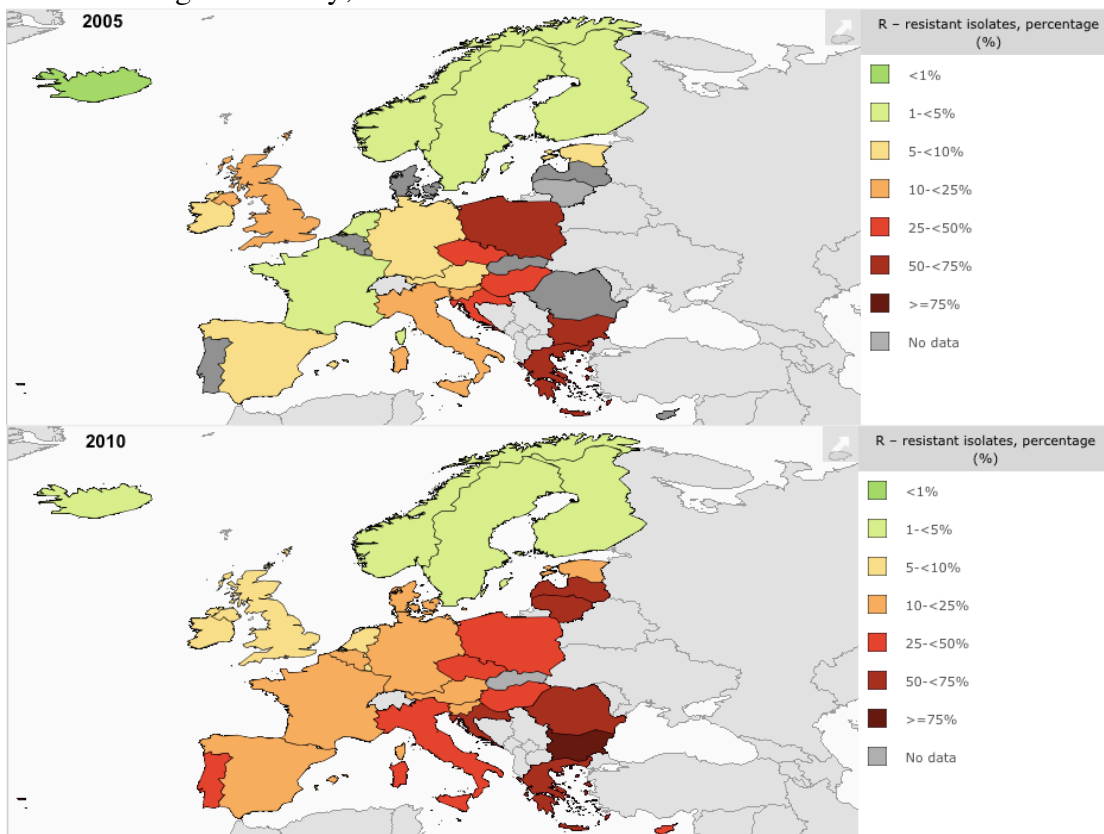


Figure 5 – Augmentation du nombre de β -lactamases des groupes 1, 2 et 3 depuis 1970 à 2009. Figure tirée de l'article « *Updated functional classification of β -lactamases* » de Karen Bush et George A. Jaboby, 2010.



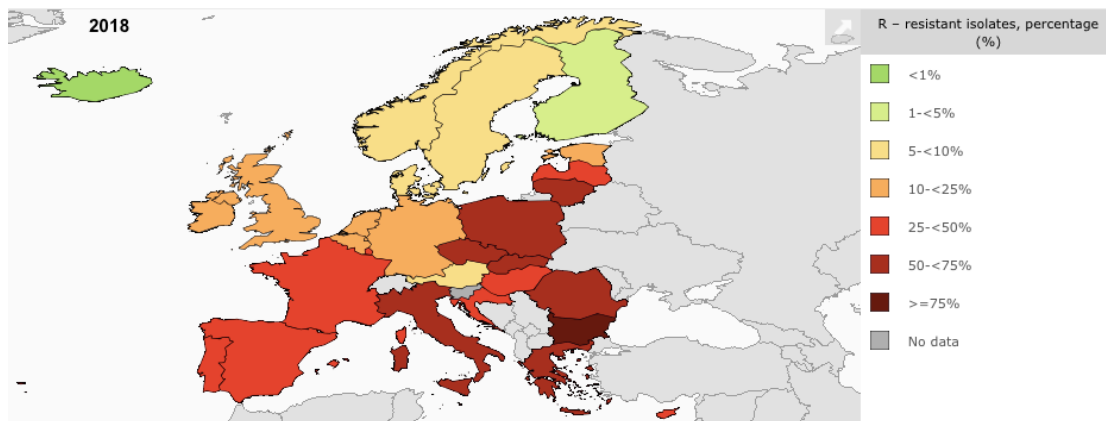


Figure 6 – Cartes de l’Europe montrant les pourcentages d’isolats de *Klebsiella pneumoniae* résistants aux céphalosporines de 3^{ème} génération observés par pays pour l’année 2005, 2010 et 2018.

Source : <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=4>

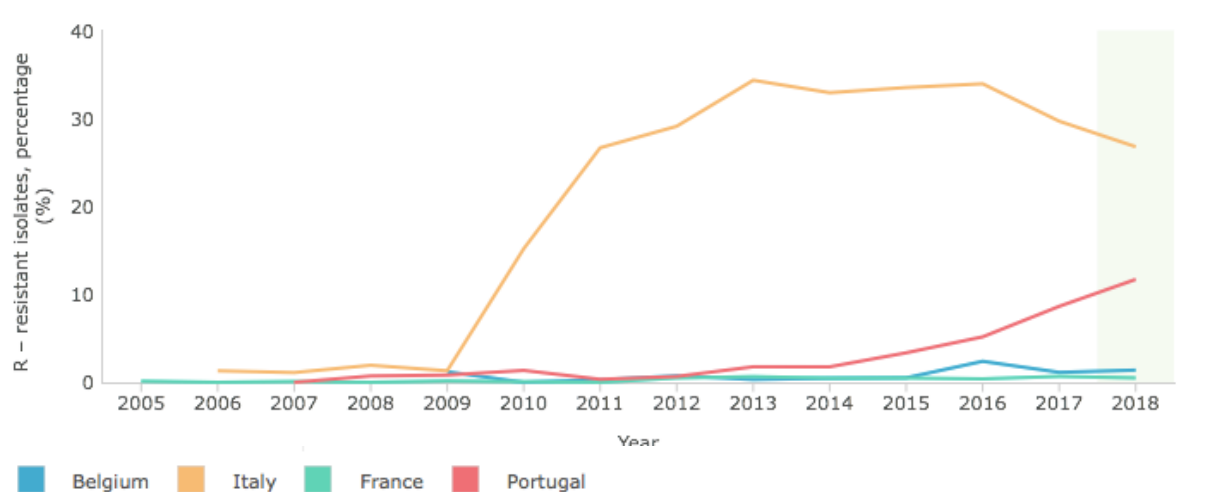


Figure 7 – Graphique représentant l’évolution des pourcentages de souches résistantes de *K. pneumoniae* pour quatre pays européens.

Site : <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=4>

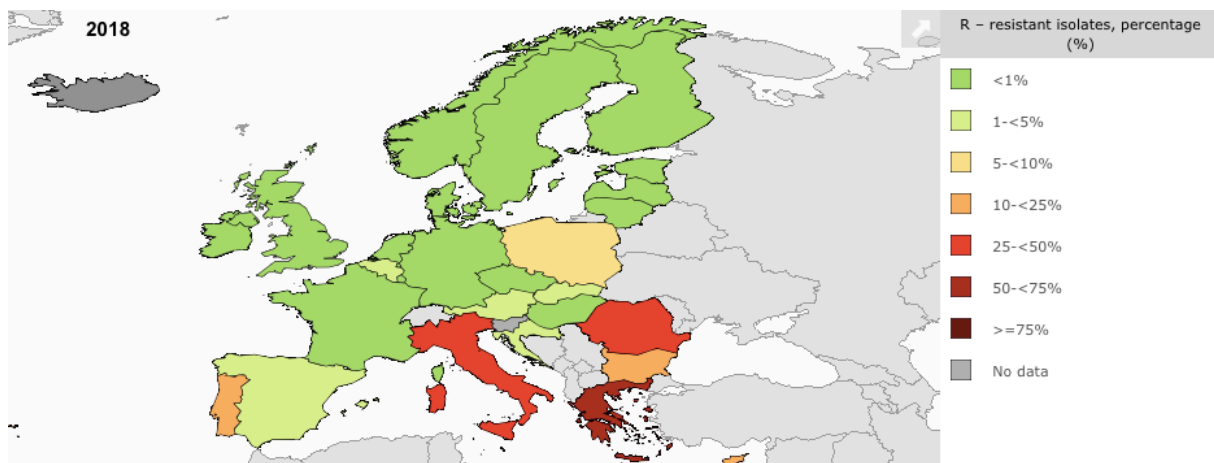


Figure 8 – Carte de l’Europe montrant les pourcentages d’isolats de *K. pneumoniae* résistant

aux carbapénèmes par pays pour l'année 2018.

Site : <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=4>

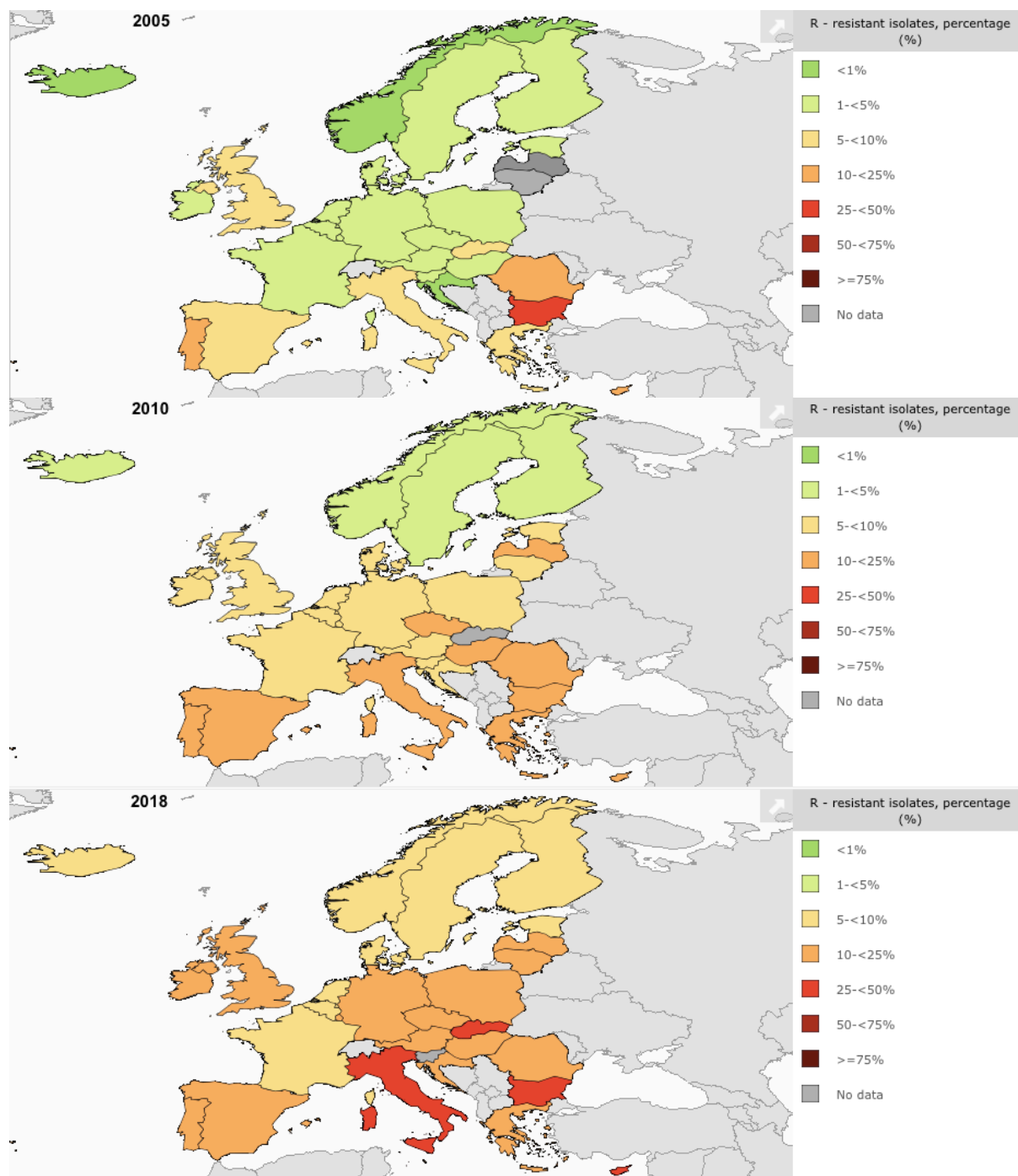


Figure 9 – Cartes de l'Europe montrant les pourcentages d'isolats d'*Escherichia coli* résistants aux céphalosporines de 3^{ème} génération observés par pays pour l'année 2005, 2010 et 2018.

Site : <https://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx?Dataset=27&HealthTopic=4>

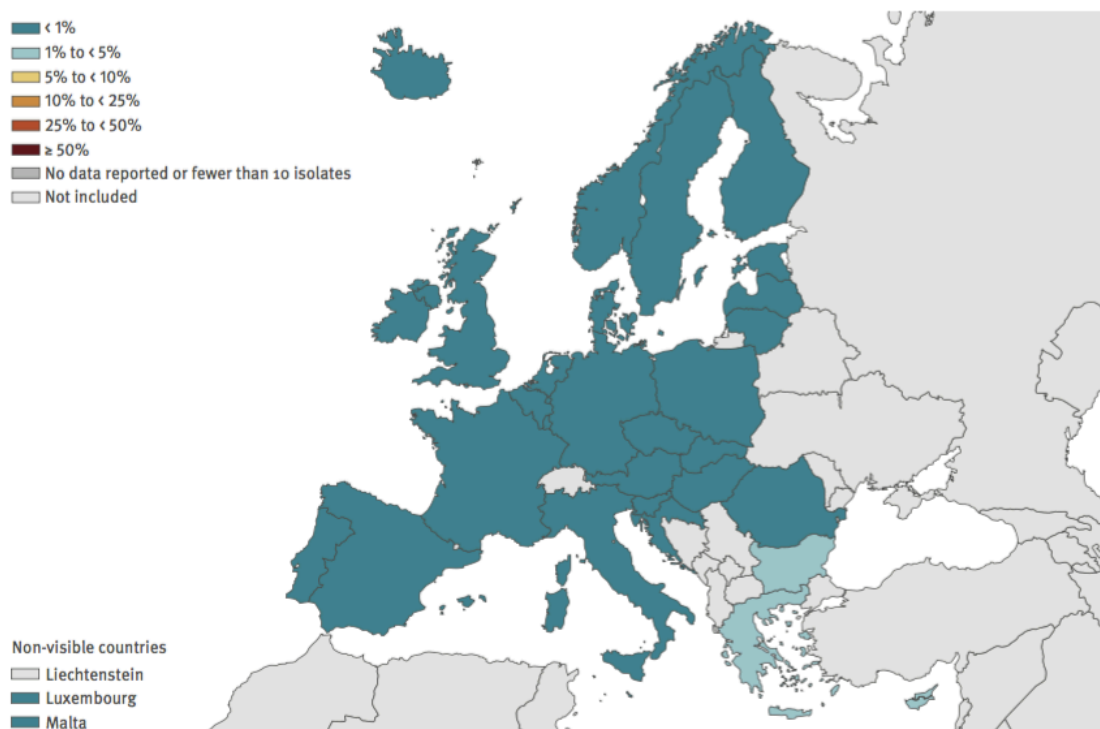


Figure 10 – Carte de l’Europe montrant les pourcentages de souches d’*Escherichia coli* résistantes aux carbapénèmes en 2018.

Figure issue du rapport « Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018 » téléchargeable via ce lien : https://www.ecdc.europa.eu/en/publications-data?f%5B0%5D=output_types%3A1244&f%5B1%5D=public_health_areas%3A1598&f%5B2%5D=public_health_areas%3A1667&f%5B3%5D=public_health_areas%3A2204