

Evaluation de l'association céfoxitine-céfépime sur les entérobactéries résistantes aux céphalosporines de 3ème génération.

ARNAUD SERRES⁽¹⁾, LUCIE GIBOLD^(1,3), GUILLAUME DALMASSO⁽³⁾, FRÉDÉRIC
ROBIN^(1,2,3), RICHARD BONNET^(1,2,3), JULIEN DELMAS^(1,3).

(1) Service de Bactériologie, CHU Gabriel Montpied, Clermont-Ferrand

(2) CNR de la Résistance aux Antibiotiques, laboratoire associé Entérobactéries BLSE/Céphalosporinase, Clermont-Ferrand.

(3) Microbes, Intestins, Inflammation et Susceptibilité de l'Hôte, INSERM U1071-USC INRA 2018, Université d'Auvergne.

Introduction

- * L'augmentation de la résistance des entérobactéries aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G) est responsable d'une utilisation accrue des carbapénèmes à l'origine de l'émergence d'enzymes capables de les hydrolyser, les carbapénémases.
- * Les 2 principaux mécanismes de résistance aux C3G sont la production de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et l'hyperproduction de céphalosporinase (HCASE).
- * La céfoxitine est habituellement efficace *in vitro* sur les *Escherichia coli* produisant les BLSE CTX-M et Lepeule et coll. ont montré, dans un modèle murin d'infection urinaire, l'efficacité de cet antibiotique sur une souche de *E. coli* produisant une BLSE CTX-M-15 (1).
- * La céfoxitine est peu utilisée en clinique du fait de l'apparition de mutants résistants (2).

Objectif de l'étude

- * Proposer une alternative aux carbapénèmes dans le traitement des entérobactéries résistantes aux C3G :
 - * Le céfépime n'est pas hydrolysé par les céphalosporinases (AmpC)
 - * La céfoxitine est un inhibiteur des BLSE de type CTX-M (3).
- ⇒ le but de l'étude était d'étudier l'efficacité de l'association **céfoxitine-céfépime** sur les entérobactéries résistantes aux C3G.

Matériel et Méthodes

* Souches cliniques étudiées :

- * 7 souches BLSE : *E. coli* CTX-M-1, *E. coli* CTX-M-2, *E. coli* CTX-M-14, *E. coli* CTX-M-15, *E. coli* CTX-M-9 et TEM-3, *Klebsiella pneumoniae* CTX-M-15, *Enterobacter aerogenes* TEM-24.
- * 2 souches hyperproductrices d'AmpC (HCASE) : *E. coli* et *Enterobacter cloacae*.

* Détermination des concentrations minimales inhibitrices (CMI) en milieu liquide sur microplaques.

* Recherche de synergie par la méthode de l'échiquier (4)

- * différentes concentrations de céfoxitine (1 à 64 µg/ml) sont combinées à différentes concentrations de céfépime (0,25 à 64 µg/ml).

* Détermination de la fréquence d'apparition de mutants résistants : ensemencement d'un inoculum lourd de la souche (10^{10} UFC/ml) sur des géloses comprenant différentes concentrations de céfoxitine et/ou céfépime.

L'efficacité du céfépime sur les souches BLSE est améliorée lorsqu'il est associé à la céfoxitine

Souches et β -lactamase	CMI céfoxitine mg/L (S \leq 8 ; R > 32)	CMI céfépime mg/L (S \leq 1 ; R > 32)	CMI céfépime + céfoxitine à 1 mg/L	CMI céfépime + céfoxitine à 8 mg/L
<i>E. coli</i> CTX-M-1	2	4	1	<0,25
<i>E. coli</i> CTX-M-2	8	16	8	<0,25
<i>E. coli</i> CTX-M-14	2	2	0,25	<0,25
<i>E. coli</i> CTX-M-9/TEM-3	16	16	8	<0,25
<i>E. coli</i> CTX-M-15	2	2	<0,25	<0,25
<i>E. aerogenes</i> TEM-24	>64	2	0,25	0,25
<i>K. pneumoniae</i> CTX-M-15	16	>64	32	16
<i>E. coli</i> AmpC	64	0,5	0,25	0,25
<i>E. cloacae</i> AmpC	>64	1	1	1

- * Après addition de céfoxitine (8 mg/l), *E. coli* et *Enterobacter aerogenes* producteurs de BLSE devenaient sensibles au céfépime.
- * L'effet inhibiteur de la céfoxitine était retrouvé avec *K. pneumoniae* CTX-M-15 mais il n'était pas suffisant, du fait de la haute valeur de CMI au céfépime (>64 mg/l).
- * L'association céfoxitine-céfépime n'était pas antagoniste vis-à-vis des souches AmpC.

L'association céfoxitine-céfépime prévient l'apparition de mutants résistants à la céfoxitine

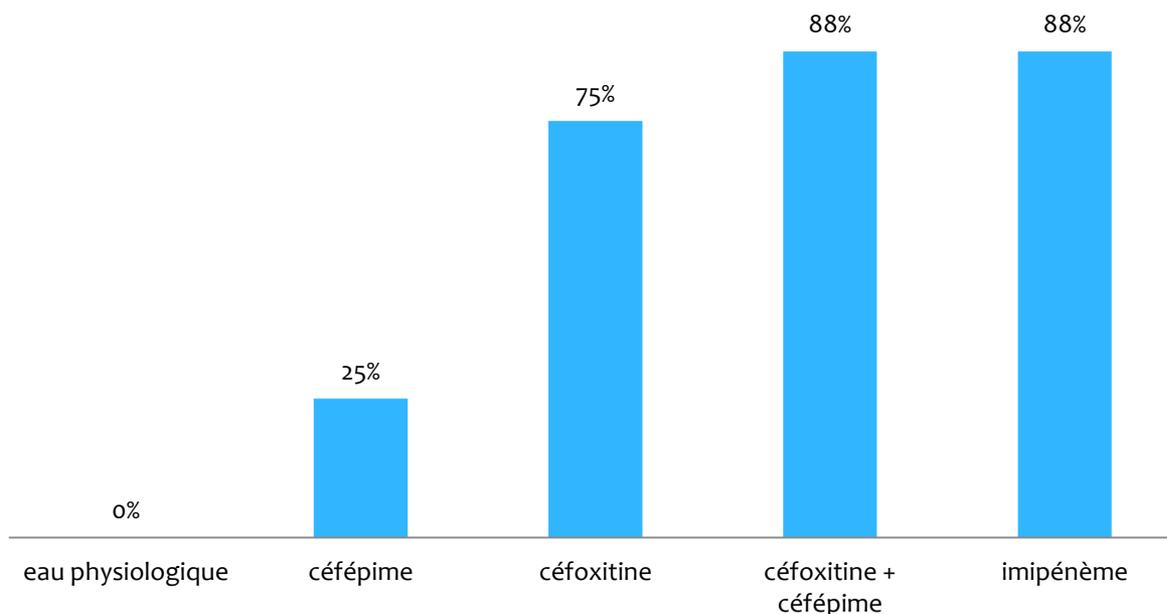
Souches et β -lactamases	Fréquence de mutations à la céfoxitine (pour 10^8 bactéries)					
	Céfoxitine 16 mg/L	Céfoxitine 16 mg/L + céfépime 1 mg/L	Céfoxitine 8 mg/L	Céfoxitine 8 mg/L + céfépime 1 mg/L	Céfoxitine 4 mg/L	Céfoxitine 4 mg/L + céfépime 1 mg/L
<i>E. coli</i> CTX-M-1	<0,01	< 0,01	5,8 (\pm 3,6)	<0,01	31,6 (\pm 8,2)	7,8 (\pm 4,3)
<i>E. coli</i> CTX-M-2	<0,01	< 0,01	60,1 (\pm 17,2)	0,02 (\pm 0,05)	CMI >	0,03 (\pm 0,08)
<i>E. coli</i> CTX-M-14	<0,01	< 0,01	2,35 (\pm 1,3)	<0,01	16,8 (\pm 9,6)	0,16 (\pm 0,44)
<i>E. coli</i> CTX-M-9/TEM-3	18,6 \pm 6,0	< 0,01	CMI >	0,18 (\pm 2,2)	CMI >	CMI >
<i>E. coli</i> CTX-M-15	<0,01	< 0,01	1,5 \pm 1,0	<0,01	20,0 \pm 14,0	2,0 \pm 0,8
<i>K. pneumoniae</i> CTX-M-15	CMI >	38,5 \pm 23,1	CMI >	CMI >	CMI >	CMI >

- * La concentration de céfoxitine prévenant l'apparition de mutants résistants était obtenue à une concentration correspond à 8 x CMI (sauf pour CTX-M-2 : 2 x CMI).
- * L'ajout de céfépime permettait de diminuer considérablement le nombre de mutants résistants à la céfoxitine des *E. coli* producteurs de BLSE.

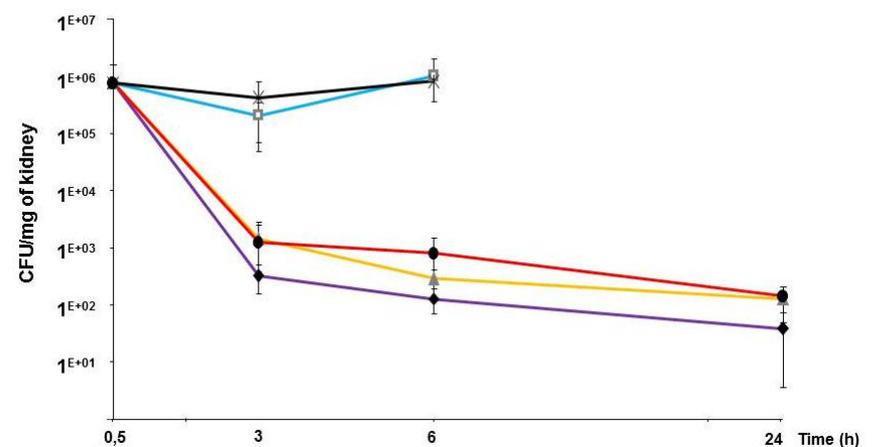
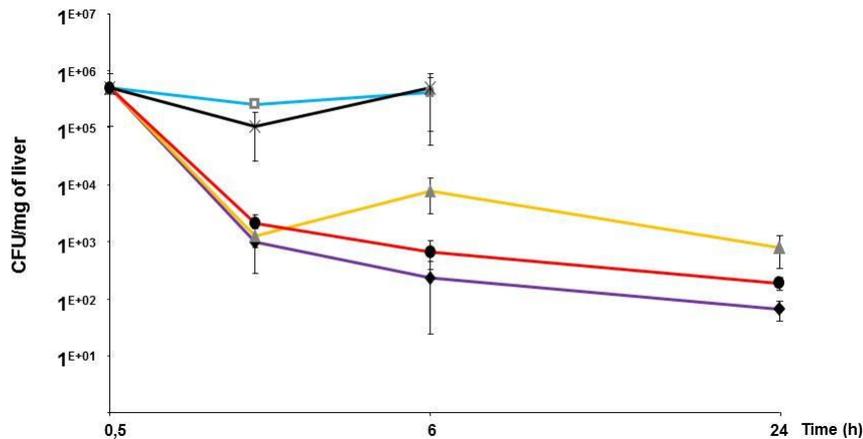
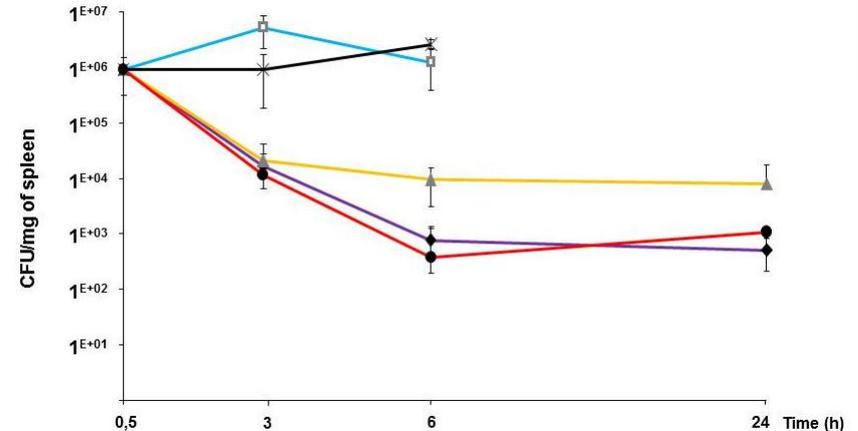
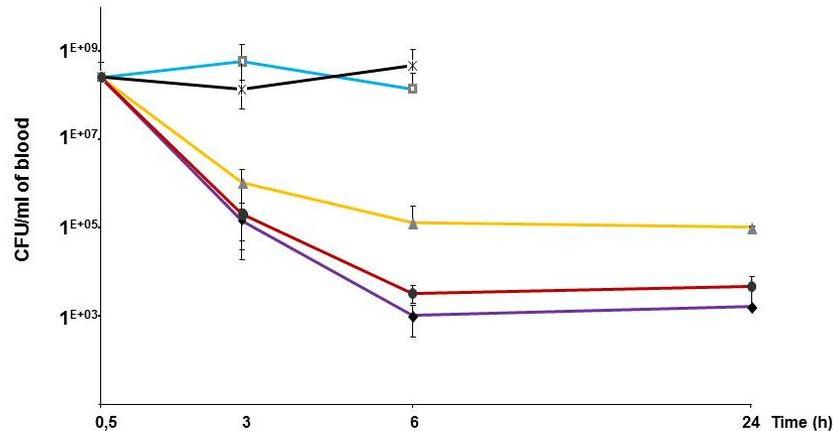
L'association céfoxitine-céfépime est aussi efficace que l'imipénème pour traiter un sepsis à *E. coli* CTX-M-14 dans un modèle murin

- * Infection des souris par injection intra-péritonéale de *E. coli* CTX-M-14 à 10^9 bactéries/ml.
- * Traitement des souris (18 par groupes) par injection de céfépime (50mg/kg), de céfoxitine (200 mg/kg), de céfépime + céfoxitine, d'imipénème (50 mg/kg) ou d'eau physiologique, à 30 min, 3 et 6 heures post-infection.
- * Sacrifice de 5 souris par groupe à 3h, 6h et des souris survivantes à 24h.

Taux de survie à 24 heures (n=8 par groupe)



L'association céfoxitine-céfépime est aussi efficace que l'imipénème en un modèle murin de sepsis



- Diminution rapide (3 heures) du nombre de bactéries dans le sang et les organes chez les souris traitées par l'association ou l'imipénème par rapport aux souris non traitées ou traitées par le céfépime seule ($p < 0,05$).
- Effet partiel de la céfoxitine.

Conclusion

- * L'association céfoxitine-céfépime est efficace *in vitro* sur les *E. coli* et *Enterobacter* producteurs de BLSE, sans générer d'effet antagoniste sur les souches hyperproductrices de céphalosporinases. De plus, le nombre de mutants résistants à la céfoxitine était diminué du fait de l'association.
- * Les *E. coli* producteurs de BLSE CTX-M étant les entérobactéries résistantes aux C3G les plus fréquemment isolées dans le monde, nous avons confirmé l'efficacité de notre association sur une de ces souches dans un modèle murin de sepsis :
 - * L'efficacité était supérieure à l'utilisation de la céfoxitine ou du céfépime seul ;
 - * L'efficacité était identique à celle de l'imipénème.
- * Le céfépime pouvant être utilisé dans le traitement des infections par enterobactéries HCASES, la bi-antibiothérapie pourrait être envisagée en probabiliste dans le traitement des infections par entérobactéries présumées résistantes aux C3G. Elle pourrait donc être une véritable alternative à l'utilisation des carbapénèmes.

Références

1. Lepeule R, Ruppé E, Le P, Massias L, Chau F, Nucci A, Lefort A et Fantin B. Cefoxitin as an alternative to carbapenems in a murine model of urinary tract infection due to *Escherichia coli* harboring CTX-M-15-type extended-spectrum β -lactamase. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2012;56(3):1376-1381.
2. Pangon B, Bizet C, Buré A, Pichon F, Philippon A, Regnier B, et Gutmann L. *In vivo* selection of a cephamycin-resistant, porin-deficient mutant of *Klebsiella pneumoniae* producing a TEM-3 β -lactamase. *J. Infect. Dis.* 1989;159(5):1005-1006.
3. Chen Y, Shoichet B, Bonnet R. Structure, function, and inhibition along the reaction coordinate of CTX-M β -lactamases, *J Am Chem Soc.* 2005;127(15):5423-34.
4. Lode H, Combination therapy with β -lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother.* 1983;12(3):200-3.