

THESIS / THÈSE

MASTER EN SCIENCES PHARMACEUTIQUES

Perspectives dans la lutte contre les bactéries multi-résistantes

Overview des mesures actuelles et futures contre la propagation et les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) en Belgique

Florkin, Baptiste

Award date:
2022

Awarding institution:
Université de Namur
Université Catholique de Louvain

[Link to publication](#)

General rights

Copyright and moral rights for the publications made accessible in the public portal are retained by the authors and/or other copyright owners and it is a condition of accessing publications that users recognise and abide by the legal requirements associated with these rights.

- Users may download and print one copy of any publication from the public portal for the purpose of private study or research.
- You may not further distribute the material or use it for any profit-making activity or commercial gain
- You may freely distribute the URL identifying the publication in the public portal ?

Take down policy

If you believe that this document breaches copyright please contact us providing details, and we will remove access to the work immediately and investigate your claim.

Faculté de Médecine

Département de Pharmacie

Perspectives dans la lutte contre les bactéries multi-résistantes :

Overview des mesures actuelles et futures contre la propagation et les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) en Belgique

Auteur : Florkin Baptiste
Promoteur(s): Tré-Hardy Marie
Année académique 2021-2022
Intitulé du master et de la finalité : Master en sciences pharmaceutiques, à finalité spécialisée

ATTESTATION DE NON-PLAGIAT

Je soussigné(e),

Florkin Baptiste,

déclare être pleinement conscient que le plagiat de documents ou d'une partie d'un document publiés sous toute forme de support, y compris internet, constitue une violation des droits d'auteur ainsi qu'une fraude caractérisée. En conséquence, je m'engage à citer toutes les sources que j'ai utilisées pour écrire ce rapport ou mémoire intitulé :

« Perspectives dans la lutte contre les bactéries multi-résistantes : Overview des mesures actuelles et futures contre la propagation et les infections à *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) en Belgique »

Je suis conscient(e) que le fait de ne pas citer une source ou de ne pas la citer clairement et complètement est constitutif de plagiat, que le plagiat est considéré comme une faute grave au sein de l'Université et qu'il peut être sévèrement sanctionné.

Fait à Chapelle-à-Wattines, le 05/08/2022

Signature de l'Etudiant,



B. Florkin

Remerciements

Je tiens à remercier chaleureusement toutes les personnes qui m'ont accompagné durant la réalisation de ce mémoire :

Ma promotrice, la professeure Tré-Hardy Marie, pour ses conseils avisés apportés tout le long de la rédaction.

L'équipe du laboratoire de microbiologie clinique des Hôpitaux Iris Sud pour leurs explications précieuses sur les méthodes de dépistage de MRSA.

La pharmacienne clinicienne Marneffe Pauline pour son aide apportée et la relecture attentive de ce mémoire.

Mon collègue Dumont Valentin pour ses encouragements et sa bonne humeur qui m'ont permis de tenir bon dans les moments difficiles.

Mes parents, ma sœur, ma famille et mes amis pour leur soutien indéfectible durant la rédaction de ce mémoire, mais aussi durant ces cinq années d'études.

Table des matières

Remerciements	5
Table des figures	9
Liste des abréviations	10
1. Introduction	11
1.1. Bactéries multi-résistantes	11
1.1.1. Définition	11
1.1.2. Historique et contextualisation des résistances aux antibiotiques	11
1.1.3. Principales espèces de bactéries multi-résistantes.....	16
1.1.4. Conséquences sanitaires et économiques	19
2. Focalisation sur <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (MRSA).....	20
2.1. Caractéristiques générales de <i>Staphylococcus aureus</i>	20
2.2. Mécanismes de résistance	22
2.3. Epidémiologie de MRSA.....	24
2.3.1. Principaux groupes épidémiologiques	24
2.3.2. Epidémiologie de MRSA en Belgique	26
3. Dépistage du MRSA.....	28
3.1. Importance du dépistage.....	28
3.2. Techniques de dépistage de MRSA	29
3.2.1. Méthodes rapides de dépistage de MRSA	29
3.2.1.1. Test immunochromatographique	30
3.2.1.2. Test d'agglutination au latex de PBP2a.....	31
3.2.2. Méthodes basées sur la culture de MRSA	32
3.2.2.1. Méthodes conventionnelles.....	33
3.2.2.1.1. Identification de <i>S.aureus</i>	33
3.2.2.1.2. Identification de MRSA	35
3.2.2.2. Agars chromogéniques	36
3.2.3. Autres méthodes	37
4. Prévention de la propagation de MRSA	38
5. Prise en charge des patients positifs à MRSA	41
5.1. En cas d'infection à MRSA.....	41
5.1.1. En milieu familial	42
5.1.2. En collectivité.....	42
5.2. En cas de colonisation à MRSA	43
6. Traitement prometteur dans la lutte contre MRSA	44

6.1. Brilacidine	45
7. Conclusion	49
8. Méthodologie	50
9. Bibliographie	51

Table des figures

Figure 1. Découverte des nouvelles classes d'antibiotiques et de la découverte des premières souches de BMR au cours du 20ème siècle	12
Figure 2. Histoire de la découverte des antibiotiques et du développement concomitant de la résistance antibactérienne	13
Figure 3. BMR causant des infections nosocomiales et en ambulatoire dans les pays membres de l'OMS.....	14
Figure 4. Liste OMS des agents pathogènes prioritaires pour la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques	15
Figure 5. Colonie de Staphylococcus aureus sur gélose au sang	21
Figure 6. Mécanisme d'action des β -lactames.....	22
Figure 7. Structure de PBP2a a) Monomère de PBP2a b) Topologie de surface de PBP2a...	22
Figure 8. Structure de SCCmec.....	23
Figure 9. Evolution de la proportion moyenne de MRSA de 1994 à 2018 sur le nombre total de souches de S.aureus par région dans les hôpitaux belges de soins aigus dont la surveillance s'est étalée sur au moins 5 ans	26
Figure 10. Evolution de l'incidence brute de MRSA à l'admission de 2007 à 2018 dans les hôpitaux belges de soins aigus en prenant en compte l'historique infectieux du patient	27
Figure 11. Pourcentage de MRSA isolés de septicémies par province en Belgique en 2020..	27
Figure 12. Méthodologie de lecture du Clearview® PBP2a.....	31
Figure 13. Test d'agglutination au latex de PBP2a fortement positif : de gros agglomérats sont apparus dans le latex de test et le fond du latex est visible au contraire du fond du latex de contrôle qui est resté trouble	32
Figure 14. Milieu de Chapman : en zone A, la gélose a pris la couleur jaune démontrant la présence de S.aureus.....	34
Figure 15. Croissance de S.aureus sur gélose Columbia au sang. La gélose est devenue plus limpide dû aux propriétés hémolytiques de la bactérie	34
Figure 16. Exemple de test de diffusion sur disque sur S.aureus sur milieu Mueller-Hinton. Après mesure des résultats, il s'est avéré que qu'il s'agit ici d'une MSSA car le diamètre de la zone d'inhibition de la céfoxitine est supérieur à 22 mm	35
Figure 17. Plaque de microdilution en bouillon employée lors de tests automatisés.....	36
Figure 18. Colonie verte apparue sur un agar chromogénique de type chromID® MRSA confirmant la présence de MRSA dans l'échantillon	37
Figure 19. Structure de la brilacidine	45
Figure 20. Graphique de la concentration de S.aureus (en UFC/ml) en fonction du temps à diverses concentrations croissantes de brilacidine. Il est constaté qu'à une concentration de 20 μ g/ml, la brilacidine pouvait éliminer les germes de S.aureus en environ 2h	46

Liste des abréviations

Abréviations	Signification
BMR	Bactérie multi-résistante
MDR	Multirésistant (« multidrug-resistant » en anglais)
XDR	Ultrarésistant (« extensively drug-resistant » en anglais)
PDR	Pan-résistant (« pandrug-resistant » en anglais)
Gène R	Gène de résistance
OMS	Organisation mondiale de la Santé
MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline (« Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> » en anglais)
VRE	Entérocoques résistants à la vancomycine (« Vancomycin-resistant enterococci » en anglais)
EBLSE	Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi
PIB	Produit intérieur brut
EVCI	Espérance de vie corrigée sur l'incapacité
S.aureus	<i>Staphylococcus aureus</i>
PBP	Protéines liant la pénicilline (« Penicillin-binding protein » en anglais)
MSSA	Staphylocoque doré sensible à la méticilline (« Methicillin-susceptible <i>Staphylococcus aureus</i> »)
SCCmec	Cassette staphylococcique d'un chromosome codant pour une résistance à la méticilline
VRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la vancomycine (« Vancomycin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> » en anglais)
HA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline associé aux soins de santé (« Healthcare-associated MRSA » en anglais)
CA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline associé à la communauté (« Community associated MRSA » en anglais)
LA-MRSA	<i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la méticilline associé au bétail (« Livestock-associated MRSA » en anglais)
PVL	Leucocidine de Panton-Valentine (« Panton-Valentine Leukocidin ») en anglais
CSS	Conseil Supérieur de la Santé
EUCAST	Comité européen des tests de sensibilité aux antimicrobiens (« European committee on antimicrobial susceptibility testing » en anglais)
PCR	Réaction de polymérisation en chaîne (« Polymerase chain reaction » en anglais)
CMI	Concentration minimale inhibitrice
IgG	Immunoglobuline G
MALDI-TOF	Spectrométrie de masse couplant une source de désorption/ionisation laser assistée par une matrice et un analyseur par temps de vol
BAPCOC	Commission belge de coordination de la politique antibiotique
HDP	Peptide de défense de l'hôte (« Host Defence Protein ») en anglais

1. Introduction

1.1. Bactéries multi-résistantes

1.1.1. Définition

Les bactéries multi-résistantes (BMR) ou « Multi Drug Resistant (MDR) » en anglais sont composées d'un groupe hétérogène d'espèces de bactéries qui ont développé, à la suite d'un usage excessif d'antibiotiques, une résistance vis-à-vis des principales classes des antibiotiques utilisés dans l'arsenal thérapeutique actuel (CBIP, 2019).

Une BMR est considérée comme telle lorsqu'elle est résistante à au moins un antibiotique de trois classes différentes. Il existe également deux sous-classes de BMR comportant un niveau de résistance plus élevé. Il existe les bactéries ultra-résistantes (XDR), définies comme étant résistantes à pratiquement tous les agents antimicrobiens utilisés, à l'exception de quelques molécules de certaines classes précises. Enfin, lorsque la souche bactérienne ne possède plus aucune sensibilité à toutes les classes d'antibiotiques existantes employées en antibiothérapie, les bactéries sont alors considérées comme étant pan-résistantes (PDR) (Magiorakos et al., 2012).

1.1.2. Historique et contextualisation des résistances aux antibiotiques

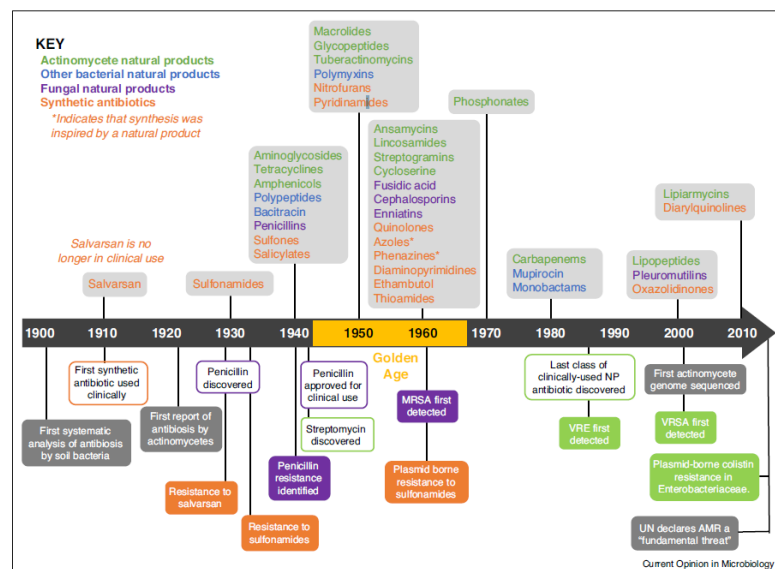
L'apparition du phénomène de résistance aux antibiotiques n'est en réalité pas un évènement récent. Les bactéries ont depuis toujours possédé ou développé divers gènes naturels de résistance afin de se défendre dans l'écosystème où elles demeuraient (Theuretzbacher, 2013).

Au fil de l'évolution, elles développèrent via différents mécanismes des gènes de résistance (gène R) qui furent ensuite transmis à d'autres groupes de bactéries. Certaines souches de bactéries auraient autrefois déjà possédé un gène R contre un antibiotique alors que ce dernier n'avait même pas encore été synthétisé par les mains de l'homme. En effet, il a été remarqué que des souches de bactéries, se trouvant pourtant dans des zones à faible exposition aux antibiotiques, possédaient des gènes R contre des antibiotiques tel que l'ampicilline, la tétracycline, ou encore le chloramphénicol. L'interaction complexe entre les différentes souches ainsi que l'évolution naturelle des bactéries causée par la pression de sélection ont mené à un large éventail de résistances qui se retrouvent dans de nombreuses colonies bactériennes actuelles (Rolain, Canton, & Cornaglia, 2012).

Néanmoins, ce phénomène d'apparition de résistance a été accentué par l'Homme par la création des premiers antibiotiques synthétiques qui ont révolutionné les soins de santé vers le début du 20^{ème} siècle. Bien que cela permit à l'humanité de pouvoir drastiquement améliorer sa durée de vie (23 ans de plus en moyenne comparé au début du siècle dernier), la surutilisation de ces médicaments a mené rapidement à l'apparition de BMR (Hutchings, Truman, & Wilkinson, 2019).

Durant le 20^{ème} siècle, l'apparition de résistances des bactéries aux premiers antibiotiques découverts put facilement être contournée grâce aux découvertes rapides et l'essor fulgurant de nouvelles molécules bactéricides. Grâce à la découverte de nouveaux mécanismes d'actions, il était possible de tuer les souches bactériennes infectieuses nouvellement résistantes aux anciens antibiotiques (cfr Figure 1). Néanmoins, le mauvais usage de l'ensemble de ces nouveaux produits a mené rapidement à un cul-de-sac thérapeutique : de nombreuses souches de bactéries ont évolué en BMR et par ce biais, les infections par BMR pathogènes sont devenues un véritable problème de santé publique (Davies & Davies, 2010; Theuretzbacher, 2013).

Figure 1. Découverte des nouvelles classes d'antibiotiques et de la découverte des premières souches de BMR au cours du 20^{ème} siècle. Source : (Hutchings et al., 2019)

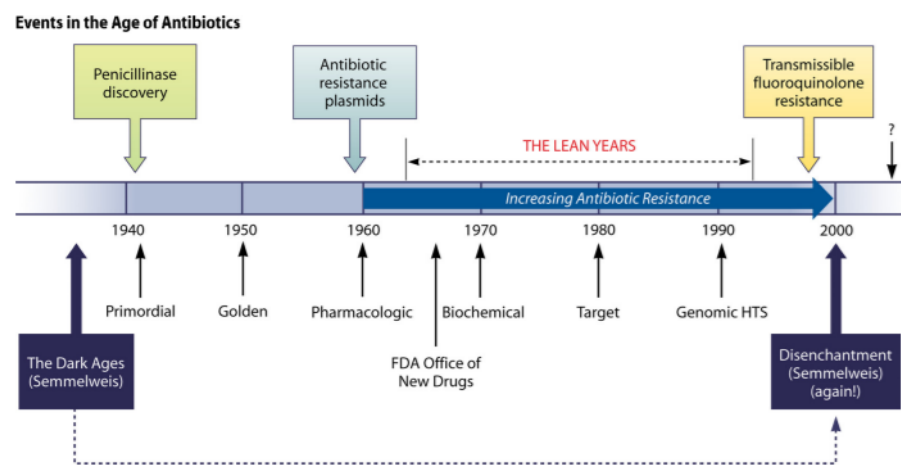


Historiquement, les premières souches de BMR ont été découvertes au début du 20^{ème} siècle avec la résistance de certaines bactéries au salvarsan en 1930 et aux sulfonamides en 1940 (Hutchings et al., 2019). Comme explicité ci-dessus, les scientifiques en tinrent peu compte à l'époque en raison de la forte émergence de nombreuses nouvelles molécules durant

« l'âge d'or des antibiotiques » des années 1950, ce qui venait pallier temporairement ce problème.

Toutefois, malgré cette création exponentielle de nouveaux antibiotiques durant l'âge d'or, le taux de résistance évolua aussi parallèlement depuis les années 1960 jusqu'à devenir le problème sanitaire connu aujourd'hui, dû majoritairement au manque de renouvellement de nouvelles thérapies efficaces (cfr Figure 2) (Davies & Davies, 2010).

Figure 2. Histoire de la découverte des antibiotiques et du développement concomitant de la résistance antibactérienne
Source : (Davies & Davies, 2010)



En effet, de nombreux antibiotiques devinrent obsolètes au fur et à mesure de leur utilisation à cause de la pression de sélection qu'ils ont exercé sur les populations bactériennes durant leur période d'utilisation. Peu après le début de leur utilisation, des résistances ont été rapidement observées (C. T. Walsh & Wencewicz, 2014).

Dans cette même continuité, une augmentation remarquable de l'émergence de souches de BMR a été observée mondialement depuis le début des années 2000. (Carlet et al., 2020; de Laroche et al., 2021)

La plupart des pays membres de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) rapporte une hausse significative d'infections par des BMR (cfr Figure 3) (OMS, 2014).

Le problème de la résistance aux antibiotiques est tel, qu'il est aujourd'hui préoccupant dans le monde entier. La plupart des pays observent des seuils critiques de résistance dans les populations bactériennes (OMS, 2020).

L'apparition des BMR varie en fonction de la zone géographique dans laquelle évoluent les populations bactériennes en question. A titre d'exemple, la richesse du pays dans laquelle elles se développent aura un impact sur leur développement. En effet, un pays à haut produit intérieur brut (PIB) aura tendance à surdévelopper ces souches de bactérie à cause d'un haut

usage important d'antibiotiques dans les hôpitaux, mais aussi en ambulatoire (Laxminarayan et al., 2013). Cependant, une rude augmentation de l'utilisation d'antibiotiques a été relevé dans les élevages de pays en voie de développement, ce qui renforce l'émergence de ces souches au niveau mondial. (Thomas P Van Boeckel et al., 2015)

A titre d'exemple, une augmentation de 35% de la consommation d'antibiotiques a été constatée dans le monde durant l'avant-dernière décennie, passant d'une consommation annuelle mondiale d'environ 50 milliards d'unités d'antibiotiques en 2000, à 70 milliards d'unités en 2010. Parmi ces 35% d'augmentation, 76% provenaient de pays tels que le Brésil, l'Inde, ou encore la Chine. Une utilisation déraisonnable des antibiotiques de dernier recours tels que les carbapénèmes y avait été également rapportés (T. P. Van Boeckel et al., 2014).

Figure 3. BMR causant des infections nosocomiales et en ambulatoire dans les pays membres de l'OMS Source : (OMS, 2014)

Name of bacterium/ resistance	Examples of typical diseases	No. out of 194 Member States providing data	No. of WHO regions with national reports of 50% resistance or more
<i>Escherichia coli</i> - vs 3 rd gen. cephalosporins - vs fluoroquinolones	Urinary tract infections, blood stream infections	86 92	5/6 5/6
<i>Klebsiella pneumoniae</i> - vs 3 rd gen. cephalosporins - vs 3 rd carbapenems	Pneumonia, blood stream infections, urinary tract infections	87 71	6/6 2/6
<i>Staphylococcus aureus</i> - vs methicillin "MRSA"	Wound infections, blood stream infections	85	5/6

L'élevage agricole intensif est aussi l'une des causes principales de l'émergence dramatique de ces résistances à travers le monde (Medina & Pieper, 2016).

Elle a pour conséquence une utilisation excessive des antibiotiques, utilisés à titre prophylactique contre les infections du bétail mais aussi pour faciliter la croissance des animaux, menant inévitablement à une augmentation paroxysmique du taux de résistance dû à la gargantuesque pression de sélection induite dans ces milieux (Thomas P Van Boeckel et al., 2015).

Aujourd'hui, nombreuses sont les espèces de bactéries ayant évolué afin de devenir ces pathogènes multi-résistants. Certaines espèces sont même devenues particulièrement dangereuses car elles ont muté en organismes PDR. L'OMS a par ailleurs publié récemment une liste par ordre d'urgence des BMR à travers le monde contre lesquels il est nécessaire de trouver de nouveaux antibiotiques au niveau mondial (OMS, 2017). Cette liste est visible en Figure 4.

Figure 4. Liste OMS des agents pathogènes prioritaires pour la recherche et le développement de nouveaux antibiotiques
Source : (OMS, 2017)

<p>Priorité 1: CRITIQUE</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Acinetobacter baumannii</i>, résistance aux carbapénèmes• <i>Pseudomonas aeruginosa</i>, résistance aux carbapénèmes• Enterobacteriaceae, résistance aux carbapénèmes, production de BLSE <p>Priorité 2: ÉLEVÉE</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Enterococcus faecium</i>, résistance à la vancomycine• <i>Staphylococcus aureus</i>, résistance à la méthicilline, résistance intermédiaire ou complète à la vancomycine• <i>Helicobacter pylori</i>, résistance à la clarithromycine• <i>Campylobacter</i> spp., résistance aux fluoroquinolones• <i>Salmonellae</i>, résistance aux fluoroquinolones• <i>Neisseria gonorrhoeae</i>, résistance aux céphalosporines, résistance aux fluoroquinolones <p>Priorité 3: MOYENNE</p> <ul style="list-style-type: none">• <i>Streptococcus pneumoniae</i>, insensible à la pénicilline• <i>Haemophilus influenzae</i>, résistance à l'ampicilline• <i>Shigella</i> spp., résistance aux fluoroquinolones

Par conséquent, à cause de la mauvaise utilisation des antibiotiques dans le passé mais encore aujourd'hui (même si de nombreux moyens sont mis en place dans la grande majorité des institutions de santé afin de limiter leur emploi et optimiser leur utilisation) et le manque de nouvelles technologies antibactériennes, la menace des BMR plane aujourd'hui sur l'avenir sanitaire de l'humanité. Le taux de souches de BMR à travers le monde croît de jour en jour et devient très préoccupant. L'OMS estime que si le rythme d'apparition de résistances se maintient au rythme actuel, environ 10 millions de personnes succomberont à une infection due à une BMR, et le PIB chutera de 2 à 3,5% par an d'ici 2050 (C. H. Wang, Hsieh, Powers, & Kao, 2020). Le 21^{ème} siècle pourrait être une nouvelle ère sanitaire qui mènerait à nouveau aux temps où l'Homme pouvait succomber à une simple blessure à la suite d'une infection bactérienne : une situation similaire à l'époque pré-antibiotique pourrait revenir si rien n'est fait pour l'en empêcher (Munita & Arias, 2016; OMS, 2014). En effet, le manque de nouveaux antibiotiques va bientôt mener à un panel de maladies infectieuses incurables sans alternatives valables à cause de l'apparition de bactéries PDR. (Lehtinen, Blanquart, Lipsitch, & Fraser, 2019)

L'Homme doit donc mener une course contre-la-montre afin de trouver une solution contre la propagation fulgurante de ces BMR afin de ne pas supprimer tous les accomplissements réalisés en la matière en à peine un siècle.

1.1.3. Principales espèces de bactéries multi-résistantes

Comme vu antérieurement au point 2.1.2., toute bactérie peut développer des propriétés de résistance aux antibiotiques. Néanmoins, certaines espèces bactériennes sont à l'heure actuelle beaucoup plus nuisibles de que d'autres sur le plan sanitaire du fait de leurs résistances marquées. Ces bactéries, dont la fréquence d'infection est de plus en plus remarquée en communauté ou en milieu hospitalier, sont regroupées sous l'acronyme ESKAPE. ESKAPE comprend *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et *Enterobacter spp.* (De Oliveira et al., 2020).

Ainsi caractérisés par leur facilité de développement de résistances, ces pathogènes sont également le foyer de la transmission de nombreux gènes R, amplifiant leur nature d'organismes néfastes pour la santé publique, contre lesquels il est plus que jamais nécessaire de trouver de nouveaux antibiotiques (Pendleton, Gorman, & Gilmore, 2013).

Voici ci-dessous une brève description des pathogènes ESKAPE. *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA) étant le sujet central de ce mémoire, ce dernier profitera d'une présentation plus détaillée au sein de ce mémoire.

Enterococcus faecium est une bactérie à Gram positif de la famille des *Enterococci*. Ces bactéries siègent habituellement dans le tractus gastro-intestinal humain et de diverses espèces animales. Il s'agit donc par définition de bactéries faisant partie de la flore commensale (Miller, Murray, Rice, & Arias, 2016).

Robustes, ces organismes sont capables de résister aux milieux hostiles, notamment à de températures élevées (jusqu'à 60°C pendant une trentaine de minutes) et possèdent également une résistance intrinsèque contre divers antibiotiques tels que les β -lactames et les aminoglycosides. Ils sont généralement responsables d'infections urinaires, intra-abdominales, intra-pelviennes, de septicémies, ou encore d'endocardites (Raza, Ullah, Mehmood, & Andleeb, 2018).

En outre, ils acquièrent facilement de nouveaux gènes de résistance via des mécanismes de transferts horizontaux, qui ont permis en particulier à certaines souches composées majoritairement de *Enterococcus faecium* et *Enterococcus faecalis* de développer des résistances contre les antibiotiques de dernier recours tels que le linézolide, ou encore les glycopeptides comme la vancomycine ou la téicoplanine. Ces entérocoques sont nommés

« Enterococcus résistant à la vancomycine » (VRE) et font partie des bactéries multi-résistantes les plus préoccupantes aujourd'hui sur le plan sanitaire du fait de leur forte pathogénicité et de leur fonction de réservoirs de gènes R (Ahmed & Baptiste, 2018).

Klebsiella pneumoniae est une bactérie à Gram négatif de la famille des Entérobactéries. Elle se retrouve de façon omniprésente dans l'environnement (eau, végétaux, ...) mais aussi à la surface des muqueuses de l'homme et d'autres espèces animales, en particulier dans le système respiratoire et le tractus gastro-intestinal. Elle fait donc également partie de la flore commensale. Riche de nombreux génomes accessoires (plasmides), les caractéristiques des souches de *Klebsiella pneumoniae* peuvent varier en fonction de la présence de ces derniers. Ces plasmides peuvent rendre les germes opportunistes, hypervirulents ou encore MDR (G. Wang, Zhao, Chao, Xie, & Wang, 2020).

Elle est l'une des principales causes des infections nosocomiales, particulièrement au niveau du système respiratoire, urinaire et circulatoire. Elle est naturellement résistante aux pénicillines et acquiert ainsi avec aisance des gènes de résistance via des mécanismes de transferts horizontaux. Certaines souches sont dès lors devenues productrices de β -lactamases à spectre étendu et de carbapénémases, et sont ainsi considérées comme de menaces sérieuses envers la santé publique (Martin & Bachman, 2018).

Acinetobacter baumannii est une bactérie non fermentant, de type coccobacille à Gram positif aérobic. Dans le genre *Acinetobacter*, cette bactérie est considérée comme étant responsable de la majorité des infections nosocomiales et comme étant l'espèce la plus virulente, c'est-à-dire comme ayant le plus haut taux d'infections en pratique clinique (Lin & Lan, 2014).

Ce pathogène est l'une des causes les plus fréquentes d'infections opportunistes de la peau, de la circulation sanguine, des voies urinaires, et des tissus mous. Elle est intrinsèquement résistante à de nombreux antibiotiques dû à la faible perméabilité naturelle de sa membrane. (Zahn, Bhamidimarri, Baslé, Winterhalter, & Van den Berg, 2016)

De plus, elle a développé grâce à des transferts horizontaux de nombreux mécanismes de résistance grâce à l'acquisition de gènes R codant pour des β -lactamases, capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines, et même les carbapénèmes. Cette bactérie a également reçu des gènes R codant pour des pompes à efflux permettant de rejeter l'antibiotique en dehors l'organisme, et d'autres gènes R permettant de modifier la cible de nombreux traitements, les rendant inefficaces. Cette bactérie développe, via la pression de sélection

induite aujourd'hui, des mécanismes de résistance de plus en plus complexes et difficiles à dépasser, rendant certaines souches pratiquement invincibles à l'heure actuelle (Bagińska, Pichlak, Górski, & Jończyk-Matysiak, 2019). En raison de cela, cette bactérie est comprise en Figure 4 dans la liste de priorité critique de recherche de nouvelles antibiothérapies de l'OMS.

Pseudomonas aeruginosa, tout comme *Acetivobacter baumannii*, est également une bactérie non fermentant comprise dans la liste de priorité critique de recherche de l'OMS visible en Figure 4. Il s'agit d'une γ -protéobactérie à Gram négatif de la famille des *Pseudomonadaceae*. Elle est capable de résister à de nombreux environnements différents grâce à son génome versatile lui permettant une polyvalence métabolique et une adaptabilité aisée dans de nouveaux milieux. Elle est ainsi retrouvée dans des habitats aquatiques ou le sol par exemple, mais colonise aussi des organismes vivants incluant les végétaux, les animaux et par conséquent les humains (Pang, Raudonis, Glick, Lin, & Cheng, 2019).

Elle est considérée comme une bactérie pathogène opportuniste et est liée à de nombreuses infections aiguës et chroniques compliquées à traiter pouvant causer potentiellement la mort de l'individu. Elle est d'ailleurs l'un des pathogènes les plus fréquemment identifiés lors d'infections nosocomiales de type pneumonie, septicémie ou infection urinaire. (Botelho, Grosso, & Peixe, 2019)

L'évolution de cette bactérie est sous étroite surveillance au vu de sa capacité à développer des mécanismes de résistances intrinsèquement par encodage sur des gènes chromosomiques et de façon acquise via des éléments génétiques mobiles. Des résistances aux aminoglycosides, aux pénicillines, aux céphalosporines, aux fluoroquinolones et même aux carbapénèmes ont ainsi été remarquées, ce qui complique énormément le traitement des infections médiées par cette bactérie (Nguyen, Garcia, Gruenberg, & MacDougall, 2018).

Enfin, *Enterobacter spp.* correspond aux bactéries de la famille des *Enterobacteriaceae*. Ce sont des bacilles à Gram négatif, qui se regroupent en une vingtaine de genres différents ayant pour caractéristique commune de vivre dans le tube digestif de l'Homme ou de divers animaux. Certaines sont naturellement pathogènes comme les genres *Shigella* ou *Salmonella* tandis que d'autres habitent naturellement le système digestif de l'être humain constituant le microbiote intestinal tels que les genres *Escherichia* ou *Proteus*, qui peuvent se montrer malgré tout pathogènes opportunistes en cas de baisse d'immunité. Ces organismes, du fait pour la plupart d'une résistance assez élevée aux antibiotiques, sont responsables d'infections urinaires,

pulmonaires et de septicémies d'une nocuité certaine. (Larousse, 2021) *Klebsiella pneumoniae*, comme cité précédemment, fait d'ailleurs partie de cette famille.

Les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre élargi (EBLSE) sont des bactéries de cette famille ayant développé une enzyme particulière, la β -lactamase, capable d'hydrolyser les antibiotiques possédant un cycle β -lactame tels que les pénicillines et les céphalosporines. Une entérobactérie est considérée comme EBLSE lorsque cette dernière possède une résistance contre les pénicillines, les céphalosporines de 1^{ère}, 2^{ème}, 3^{ème}, et 4^{ème} génération ainsi qu'à l'aztréonam, grâce à des β -lactamases. Ces enzymes peuvent être organisées en différentes classes structurales (A, B, C, et D), ayant chacune des propriétés différentes (Vodovar, Marcadé, Raskine, Malissin, & Mégarbane, 2013).

Parmi ces organismes, certaines sont devenues productrices de carbapénémases et donc résistantes aux carbapénèmes. Elles sont considérées comme de graves menaces pour la santé publique car elles sont associées à une mortalité et une morbidité très élevée, pour cause d'un panel de traitements très limité, tout en jouant le rôle de réserve de gène R pour d'autres bactéries. (Logan & Weinstein, 2017)

1.1.4. Conséquences sanitaires et économiques

L'émergence accrue de ces souches de BMR ont pour conséquence d'importants problèmes sanitaires et économiques.

D'une façon générale, les infections dues à des BMR mènent à une mortalité et une morbidité accrue chez les personnes âgées de plus de 65 ans et les nourrissons de moins d'un mois, notamment en Europe et aux Etats-Unis. (Colomb-Cotinat et al., 2016; Health & Services, 2018; Neubeiser et al., 2020; Wattal et al., 2020)

Il a été également constaté dans de nombreux pays européens une augmentation importante, dans la population infectée par des BMR, de l'espérance de vie corrigée de l'incapacité (EVCI) (Cassini et al., 2019). Pour rappel, le EVCI est un indicateur de mortalité (nombre d'années de vie perdues par mort prématurée) et de morbidité (nombre d'années de vie avec un handicap) combinée : il indique ainsi l'impact d'une pathologie sur le nombre d'années de vie. (OMS, 2021). Cela souligne donc que les personnes infectées par ces pathogènes multi-résistants perdent donc drastiquement en longévité.

L'infection d'un individu par ce genre d'organismes multi-résistants mène généralement à une plus longue durée d'hospitalisation, cela étant nécessaire pour maintenir l'état de santé du patient stable dans la mesure du possible. En effet, en l'absence

d'antibiotiques performants, l'état des patients infectés a tendance à se dégrader rapidement. (Giske, Monnet, Cars, & Carmeli, 2008; Vázquez-López et al., 2020).

Du fait de la plus grande durée de prise en charge du patient, les hospitalisations liées à ces infections sont également très onéreuses en termes de soins de santé. Cela peut s'expliquer par une fréquence plus importante d'intervention chirurgicale (Cosgrove, 2006) , une moyenne de temps plus longue sous respiration artificielle (ventilation mécanique) lors d'infection pulmonaire et une durée de traitement plus longue en unité de soins intensifs afin de maintenir le patient en vie. Des complications liées à l'hospitalisation peuvent également apparaître et des frais de gestion liés à cela peuvent également apparaître. (Wilke, 2010)

En outre, afin d'éviter les contaminations d'autres patients hospitalisés par ces germes multi-résistants et minimiser les risques d'infections nosocomiales pouvant être létales, il est nécessaire également d'isoler le patient infecté : cette action est très coûteuse du fait de tous les moyens mis en place pour pouvoir réaliser cela dans de bonnes conditions (Landelle, Pagani, & Harbarth, 2013). Cela ajoute donc un coût supplémentaire non négligeable en soins de santé.

Les impacts sanitaires et économiques de la multiplication et du renforcement de ces souches de BMR sont donc très importants et ne peuvent être négligés. Il est important de trouver plusieurs solutions au danger que sont ces organismes vivants pour ces raisons.

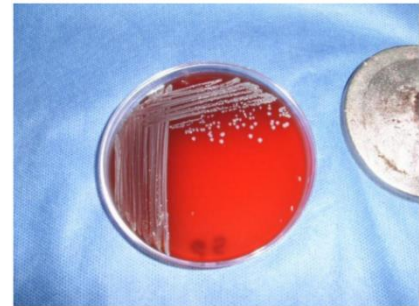
2. Focalisation sur *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline (MRSA)

2.1. Caractéristiques générales de *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus (*S.aureus*) est une bactérie à Gram positif en forme de coccus, généralement disposée sous forme de « grappes de raisins ». Ces bactéries peuvent se développer dans des conditions aérobies (ou anaérobies facultativement) et sont capables de croître dans une gamme de températures comprises entre 18°C et 40°C. Elles supportent également des concentrations en sels jusqu'à 10%. Leurs colonies apparaissent généralement de couleur jaune voire dorée (cfr Figure 5), d'où leur nom scientifique (Taylor & Unakal, 2017).

Ces bactéries colonisent généralement la peau et les muqueuses des humains mais aussi de plusieurs espèces animales. Elles appartiennent le plus souvent à la flore commensale de l'épithélium des muqueuses nasales antérieures. Cette flore nasale sert de réservoir pour cette espèce et permet de coloniser d'autres tissus mais aussi d'autres individus. Le taux de colonisation cutané est quant à lui communément plus faible comparé à d'autres germes du microbiote cutané tel que *Staphylococcus epidermidis*, mais il y est tout de même présent. Accessoirement, il est possible de retrouver également des colonies dans la gorge et les intestins (Parlet, Brown, & Horswill, 2019; Rasigade & Vandenesch, 2014).

Figure 5. Colonie de *Staphylococcus aureus* sur gélose au sang Source : (Cervantes-García, García-Gonzalez, Reyes-Torres, Resendiz-Albor, & Salazar-Schettino, 2015)



Il est à noter qu'environ 20% de la population humaine est considérée comme porteuse constante asymptomatique de ces germes dans les fosses nasales, 60% comme transporteur intermittent et 20% de la population ne le transporterait jamais. Les porteurs sont conséquemment plus sujets à subir des infections de ce pathogène (Foster & Geoghegan, 2015).

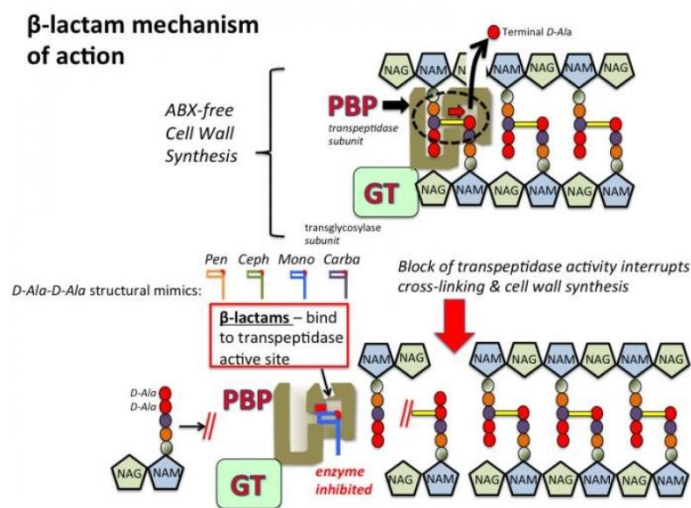
En effet, *S.aureus* est à l'origine de nombreuses infections chez l'être humain. Il est considéré comme l'un des pathogènes les plus fréquents lors d'infections nosocomiales. Les infections sont globalement asymptomatiques mais sont opportunistes. En effet, en fonction de la virulence de la souche bactérienne et de l'immunité de l'individu infecté, l'infection peut être plus ou moins grave, les immunodéficients étant particulièrement vulnérables. Cet organisme peut être ainsi à l'origine de multiples pathologies infectieuses, localisées à plusieurs endroits du corps humain. A titre d'exemple, cette bactérie peut être la cause d'impétigo, de furoncles, d'abcès, de pneumonies, d'endocardites, de septicémies ou encore de fasciites nécrosantes. Ces quatre dernières pathologies peuvent d'ailleurs être mortelles si elles ne sont pas traitées rapidement (Maree et al., 2022; Mehraj et al., 2016).

Les infections à *S.aureus* étaient classiquement résolues au départ par l'emploi d'antibiotiques à β -lactames tels que les pénicillines ou encore les céphalosporines. Cependant, à cause de la pression de sélection induite par ces mêmes antibiotiques, de nombreuses souches de *S.aureus* ont évolué et ont développé de multiples résistances contre ces agents bactéricides. Leur prolifération alarmante et leur présence grandissante est une menace contre la santé publique. Parmi eux, l'une de ces souches est plus préoccupante que les autres, il s'agit de celles contenant MRSA (Santajit & Indrawattana, 2016).

Les premières souches de MRSA ont été décrites au début des années 1960, où il fut remarqué que certaines colonies développaient de plus en plus de résistances à un antibiotique de la famille des pénicillines, la méticilline. En raison de sa toxicité, son utilisation est tombée en désuétude et il a été remplacé ensuite par des pénicillines plus stables et plus sûres d'utilisation tels que l'oxacilline, mais le terme MRSA continue d'être utilisé aujourd'hui malgré tout. Ainsi, le terme MRSA est employé aujourd'hui lorsqu'une forte résistance à l'oxacilline est remarquée chez *S.aureus*. (A. S. Lee et al., 2018)

2.2. Mécanismes de résistance

Figure 6. Mécanisme d'action des β -lactames Source : (Safain, 2020)

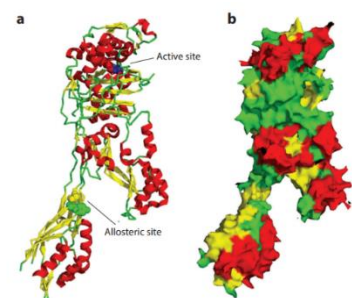


lactamases, capable de dégrader le cycle β -lactame des antibiotiques β -lactamiques par hydrolyse. (Vestergaard, Frees, & Ingmer, 2019)

Pour rappel, le mécanisme d'action des antibiotiques β -lactamiques est l'inhibition de la synthèse de la paroi cellulaire des bactéries, composées de peptidoglycanes, elles-mêmes composées d'une association de disaccharides de type N-acétylglucosamine et N-acétylmuramique. Plus précisément, ils inhibent des transpeptidases, appelées protéines de liaison à la pénicilline (PBP), permettant en temps normal la réticulation de la paroi en substituant les précurseurs des peptidoglycanes, comportant une analogie structurale avec eux. Ils possèdent en effet tous deux un fragment peptidique D-Ala-D-Ala C-terminal. L'enzyme confond alors la molécule bactéricide avec le précurseur naturel, et l'antibiotique forme alors un complexe de

Aujourd'hui, il est estimé que plus de 99% des souches de *S.aureus* sont résistantes aux pénicillines à cause de la pression de sélection induite par la surutilisation des antibiotiques. Cela est dû à l'acquisition du gène *blaZ*, élément transposable pouvant se trouver dans le chromosome après intégration ou bien à l'intérieur d'éléments génétiques mobiles (ex : plasmide). Il encode les enzymes β -

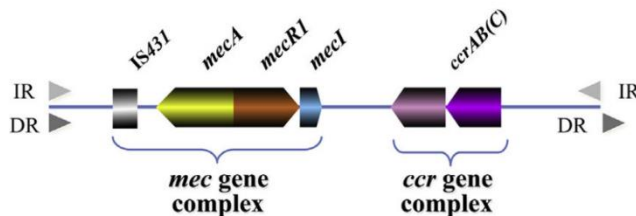
Figure 7. Structure de PBP2a a) Monomère de PBP2a b) Topologie de surface de PBP2a Source : (Peacock & Paterson, 2015)



longue demi-vie en se liant à une sérine nucléophile de la PBP via un processus d'acylation. L'enzyme ainsi inhibée, la paroi cellulaire ne peut plus être synthétisée, car le pontage du précurseur sur la chaîne peptidique du peptidoglycane en formation au niveau de l'acide aminé L-lysine de ce dernier est désormais impossible. (cfr Figure 6). Cela induit alors la mort du procaryote. (Bush & Bradford, 2016; Peacock & Paterson, 2015)

La particularité des MRSA, comparé aux *Staphylococcus aureus* sensibles à la méticilline (MSSA), est que les souches ont acquis, notamment par le biais de transferts horizontaux, le gène *mecA* codant pour PBP2a, une transpeptidase alternative à celle des MSSA. (cfr Figure 7). Cette variante de l'enzyme possède, en comparaison aux PBP des MSSA, une affinité presque nulle envers les antibiotiques β -lactamiques dû à un changement de structure de la protéine. (Tenover, 2006) En effet, à cause de ce changement de conformation, l'antibiotique ne peut plus atteindre la sérine nucléophile. Par ce biais, la liaison covalente est désormais impossible et le mécanisme d'action des β -lactames est rendu caduc. Il est à noter que PBP2a réduit également le taux d'acylation du complexe enzyme-antibiotique, diminuant encore leur efficacité. (Peacock & Paterson, 2015)

Figure 8. Structure de SCCmec Source : (Hiramatsu et al., 2014)



Le gène *mecA* se trouve sur un élément chromosomique typique des MRSA, appelé cassette staphylococcique d'un chromosome codant pour une résistance à la méticilline (SCCmec), dont la structure est visible en Figure 8. Cet

élément génétique mobile de 20 à 60 kb comporte de multiples gènes de résistance en son sein, autres que *mecA*. Il comprend entre autres le complexe de gènes *ccr* permettant de synthétiser le matériel nécessaire (recombinases) pour l'intégration de SCCmec sur un site d'attachement nommé *attB* à la terminaison 3' du gène *orfX* dans le génome bactérien, près du site de réplication du chromosome. Ce gène permet ainsi à SCCmec de s'implanter dans le génome d'autres bactéries sous forme fragmentée après des transferts horizontaux, tels que la transduction ou la conjugaison. (Maree et al., 2022; Peacock & Paterson, 2015)

Bien que la présence du gène *mecA* soit la caractéristique principale de MRSA, il ne faut toutefois pas omettre qu'il peut accumuler d'autres gènes R vis-à-vis d'autres familles d'antibiotiques via d'autres éléments génétiques mobiles. Par exemple, la résistance à l'érythromycine peut être acquise chez MRSA via le transposon Tn554 ou le plasmide contenant le gène *ernC*. Les tétracyclines, le triméthoprime, ou encore la mupirocine peuvent

être inefficaces, par l'acquisition de plasmides contenant des gènes R spécifiques. (Lindsay, 2013).

De même, il existe désormais aujourd'hui des MRSA ayant développé des résistances à la vancomycine, l'un des seuls traitements suffisamment efficaces pour lutter contre leurs infections. Ces germes appelés *Staphylococcus aureus* résistant à la vancomycine (VRSA) ont acquis un gène supplémentaire nommé *vanA*, situé sur un plasmide obtenu par conjugaison. Les VRSA ont altéré la terminaison D-Ala-D-Ala des peptidoglycanes en D-Ala-D-lactate, rendant la vancomycine inefficace car elle ne peut plus se lier au complexe originel pour empêcher PBP de réaliser son action catalytique. (Appelbaum, 2006).

Par conséquent, MRSA peut devenir PDR via de nombreux mécanismes et il est plus que jamais important de trouver une solution contre la prolifération de ces résistances.

2.3. Épidémiologie de MRSA

2.3.1. Principaux groupes épidémiologiques

La population de MRSA peut être subdivisée en trois groupes épidémiologiques distincts en fonction du milieu dans lequel il a évolué. Le premier groupe, historiquement le premier découvert dans les années 60, est constitué de MRSA liés aux soins de santé, nommés HA-MRSA. HA-MRSA est essentiellement retrouvé dans les hôpitaux, où ils sont à l'origine de nombreuses infections nosocomiales. En plus d'être classiquement résistants aux β -lactames, ils sont généralement résistants à un grand nombre d'antibiotiques non β -lactamiques. Leurs résistances sont généralement homogènes dans les zones où ils sont retrouvés. Ils sont considérés comme les souches de MRSA originelles. (David & Daum, 2017; Knight et al., 2012) Il est considéré pragmatiquement qu'un individu est infecté par HA-MRSA, lorsque ce dernier a développé une infection à MRSA plus de 48h après l'hospitalisation et qu'il n'a pas été porteur du germe dans les 12 derniers mois. (Sciensano, 2018)

Cependant, dans les années 1990, une nouvelle variante du MRSA fut observée chez des patients ayant développé une infection à MRSA, qui n'avaient été en aucun cas hospitalisés ou opérés. Ces clones différents ne se développant qu'en dehors des institutions de santé sont appelés MRSA communautaires (CA-MRSA), formant le deuxième groupe épidémiologique principal. (Chambers & DeLeo, 2009; Maree et al., 2022)

Les souches de CA-MRSA possèdent certains éléments permettant de les dissocier des HA-MRSA conventionnels. Par exemple, ils sont nettement plus sensibles globalement que les

HA-MRSA aux antibiotiques β -lactamiques et sont par conséquent généralement plus faciles à vaincre que leurs équivalents hospitaliers. Par ailleurs, ils ont un panel de résistance plus hétérogènes que HA-MRSA, dû à un profil génétique également plus éclectique entre les différentes souches de CA-MRSA. (Chambers & DeLeo, 2009; David & Daum, 2017)

CA-MRSA possède également une version de *SCC_{mec}* (de type IV ou V) plus petite (21 à 27 kb) que celle de son alter ego HA-MRSA. De plus, ce clone est généralement porteur d'un gène codant pour une toxine, la leucocidine de Panton-Valentin (LVP), qui transforme CA-MRSA en une bactérie particulièrement virulente, capable de causer des pneumonies ou des fasciites nécrosantes assez pernicieuses. (Argudín et al., 2021; David & Daum, 2017; Vestergaard et al., 2019)

Il est à noter toutefois que la distinction entre HA-MRSA et CA-MRSA devient de moins en moins pertinente car CA-MRSA est de plus en plus présent dans les unités de soins de santé et se confond avec HA-MRSA. En effet, les particularités typiques de CA-MRSA, les *SCC_{mec}* de petite taille ainsi que le gène codant pour PVL, sont retrouvés plus abondamment dans les souches retrouvées en hospitalier qu'autrefois. Il semblerait qu'au vu de la virulence et la contagiosité élevée de CA-MRSA, ce dernier se confondra totalement à l'avenir avec HA-MRSA, jusqu'à complète fusion des deux populations de clones, n'ayant plus qu'un seul et même génotype. (Chambers & DeLeo, 2009; Vestergaard et al., 2019).

Enfin, le dernier groupe épidémiologique de MRSA, découvert dans les années 1970, est celui du MRSA lié au bétail (nommé LA-MRSA). Également génotypiquement différent de HA-MRSA et CA-MRSA, ce clone se développe majoritairement dans les élevages d'animaux de façon asymptomatique, en majorité dans des élevages porcins. Leur proportion dans les populations d'animaux en élevage dépend du taux d'antibiotiques employés dans les systèmes d'exploitation. Ce dernier groupe épidémiologique est important à prendre en compte car LA-MRSA peut coloniser les personnes étant en contact fréquent avec les animaux porteurs de ces souches et ils peuvent ainsi disséminer LA-MRSA dans la communauté ou dans les hôpitaux. (Christiane Cuny, Wieler, & Witte, 2015) Il est à noter que les LA-MRSA possédant le complexe clonal CC398 sont capables d'infecter l'Homme et ainsi de provoquer des pathologies infectieuses similaires à celles provoquées par HA-MRSA et CA-MRSA, bien que leurs infections restent encore à l'heure actuelle peu fréquentes et restreintes à de petites communautés. (C. Cuny et al., 2009; A. S. Lee et al., 2018)

2.3.2. Epidémiologie de MRSA en Belgique

A l'instar de nombreux pays dans le monde, MRSA est devenu également endémique en Belgique. MRSA a de fait colonisé les établissements de soins de santé belges depuis au moins une trentaine d'année selon des données de surveillance belge. Depuis leur découverte, la présence de souches de MRSA n'a jamais cessé de croître dès lors, jusqu'au début des années 2000 environ. (Sciensano, 2018; Vandendriessche et al., 2012) En effet, depuis leur découverte, la proportion de MRSA parmi *S.aureus* a augmenté jusqu'à atteindre une valeur moyenne de 30% dans les hôpitaux de soins aigus en 2004. (Sciensano, 2018)

Ensuite, cette proportion a chuté d'environ du tiers dans l'ensemble du pays, plus de 14 ans après la tendance initiale croissante (cfr Figure 9). A l'avenant, cette tendance diminutive est également suivie par les patients admis à l'hôpital étant infecté par CA-MRSA au préalable (c'est-à-dire ceux dont l'infection à MRSA a été remarquée endéans 48h d'hospitalisation) puisqu'une diminution de l'incidence de CA-MRSA d'environ 50% a été remarquée en moyenne entre 2007 et 2018 dans les hôpitaux de soins aigus à l'admission. (cfr Figure 10). (Sciensano, 2018) Il est en outre remarqué sur ce graphe que les patients infectés à l'admission ayant un passif infectieux dans les hôpitaux diminue également, corrélant donc avec la diminution globale des populations de MRSA d'une façon générale dans les milieux hospitaliers.

Figure 9. Evolution de la proportion moyenne de MRSA de 1994 à 2018 sur le nombre total de souches de *S.aureus* par région dans les hôpitaux belges de soins aigus dont la surveillance s'est étalée sur au moins 5 ans (Sciensano, 2018)

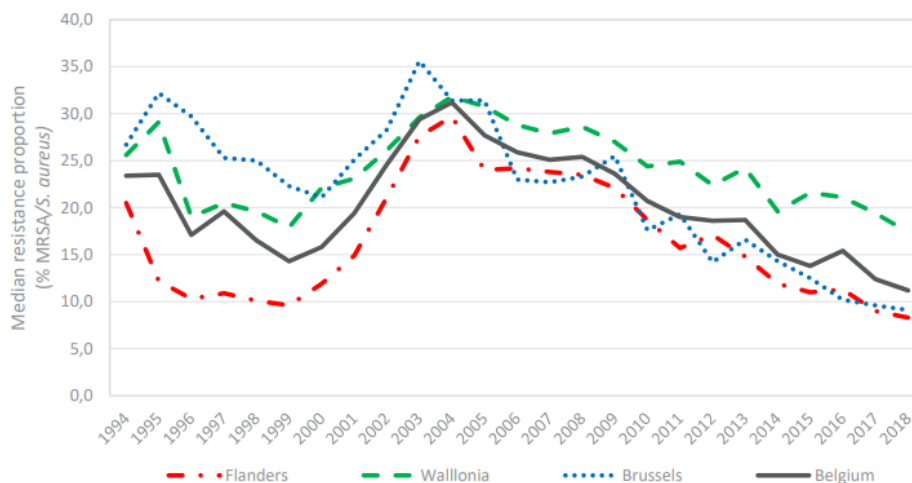
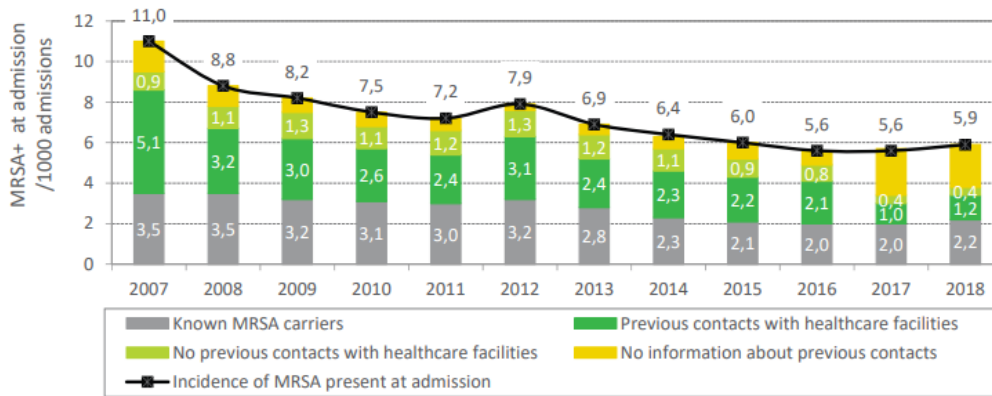


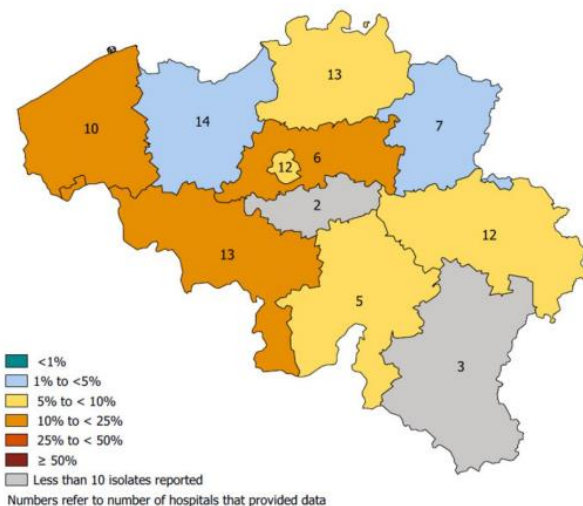
Figure 10. Evolution de l'incidence brute de MRSA à l'admission de 2007 à 2018 dans les hôpitaux belges de soins aigus en prenant en compte l'historique infectieux du patient Source : (Sciensano, 2018)



Si l'augmentation de la proportion de MRSA était due, comme développé auparavant, à la très grande pression de sélection induite par la surutilisation des antibiotiques, la diminution observée en Figure 9 et 10 est quant à elle due à une amélioration globale du programme national du contrôle des infections en Europe, ainsi qu'une meilleure gestion des antibiotiques, qui ont permis de réguler de façon efficace les populations de MRSA naissantes, en Belgique d'une part, mais de façon étendue en Europe d'autre part. (A. S. Lee et al., 2018)

Il est à noter que les populations de MRSA retrouvés en hôpitaux de soins chroniques suivent également le même pattern d'évolution que ceux retrouvés en hôpitaux de soins aigus, avec une diminution des populations remarquées ces dernières années. (Sciensano, 2018)

Figure 11. Pourcentage de MRSA isolés de septicémies par province en Belgique en 2020 Source : (Sciensano, 2021)



3. Dépistage du MRSA

3.1. Importance du dépistage

Comme élaboré au point précédent, la proportion de MRSA dans les hôpitaux a considérablement diminué ces dernières années, dû majoritairement à un meilleur contrôle des infections. Ce contrôle est classiquement médié entre autres par le biais d'un élément central dans la lutte contre les BMR : le dépistage.

Le dépistage permet en effet de valider quatre objectifs nécessaires à la régulation des souches de BMR (et par extension des souches de MRSA) dans les institutions de soins de santé. Premièrement, il permet d'identifier les porteurs éventuels de ces germes, que ce soit à l'admission, mais aussi à la sortie ou au transfert vers d'autres hôpitaux. (Lucet, 2002)

Deuxièmement, et par ce biais, cela permet ensuite de pouvoir isoler ces derniers afin d'éviter qu'ils ne propagent le pathogène multi-résistant. L'isolement ainsi réalisé permet de créer une barrière physique entre le patient infecté par MRSA, et ceux ne l'étant pas. De cette façon, la contamination des autres individus hospitalisés est limitée, voire nulle. Subséquemment, cela permet par ailleurs au personnel médical (et accessoirement aux visiteurs) de prendre les précautions nécessaires afin qu'ils ne deviennent pas eux-mêmes porteurs, et deviennent responsables à leur tour de la dissémination de MRSA. (Cookson et al., 2011; Lucet, 2002)

Troisièmement, cela permet d'éradiquer les germes multi-résistants en employant un antibiotique compatible, si traitement possible il y a, tout en évitant de faciliter l'apparition de résistances. Ainsi, cela permettra de trouver le désinfectant adéquat afin de permettre la décolonisation du germe dans le milieu colonisé, mais également de trouver l'antibiothérapie adéquate pour combattre l'infection développée par le patient. (Forum, 2018; Lucet, 2002)

En effet, l'un des problèmes majeurs du traitement empirique, employé en urgence lorsque le profil de résistance du pathogène est encore inconnu, est la pression sélective trop importante qu'il entraîne, qui peut causer avec aisance l'émergence de résistances. De plus, puisque le traitement empirique couvre un spectre étendu par définition, il est cependant très peu spécifique : il se peut que le traitement choisi soit inefficace car la bactérie infectante possède une résistance contre l'antibiotique employé, rendant son emploi caduc. L'identification des résistances permet donc de choisir un traitement davantage adapté pour le

patient, ce qui offre un plus haut taux de survie, tout en diminuant la probabilité d'apparition des résistances. (Forum, 2018)

Enfin, le dépistage permet de surveiller la propagation de souches de MRSA à travers le monde, de pouvoir évaluer l'épidémiologie des géotypes observés et par ce biais d'adapter le traitement empirique en fonction de la fréquence des résistances détectée. Cela permet aussi de pouvoir isoler efficacement un patient lorsqu'il est connu qu'il revient d'une région où le taux de BMR est particulièrement élevé et ainsi donc d'éviter la propagation de ces germes dans les hôpitaux par exemple. (Cookson et al., 2011; Forum, 2018)

Par conséquent, afin de prévenir les contaminations à MRSA et minimiser les colonisations, le Conseil Supérieur de la Santé (CSS) conseille de dépister systématiquement toute personne connue comme porteuse de MRSA, toute personne provenant d'un autre hôpital ou d'une institution de soins de santé, toute personne ayant été hospitalisé endéans douze mois, toute personne restée en contact au moins douze heures avec un voisin de chambre positif au MRSA et enfin toute personne admise dans une unité de soins à haut risque.(CSS, 2020a)

Le prélèvement des échantillons se fait généralement au niveau des fosses nasales antérieures (lieu principal de colonisation de MRSA), de la gorge ainsi que du périnée ou du rectum. (CSS, 2020b)

En somme, le dépistage de MRSA est un élément absolument prépondérant dans la lutte contre sa propagation au sein des établissements de soins de santé. Afin de dépister une éventuelle contamination ou infection à MRSA, il existe plusieurs techniques de dépistage recommandées et employées en Belgique afin de pouvoir confirmer ou infirmer leur présence. Leur utilisation et leur intérêt seront expliqués ci-dessous succinctement.

3.2. Techniques de dépistage de MRSA

3.2.1. Méthodes rapides de dépistage de MRSA

Afin de détecter la présence de MRSA dans les plus brefs délais lors de l'admission d'un patient en soins hospitaliers ou lorsqu'une infection est suspectée, l'utilisation de méthodes rapides peut être utilisée et est même recommandée par l'EUCAST (comité européen des tests de sensibilité aux antimicrobiens). (EUCAST, 2017)

En raison de leur grande rapidité de dépistage, il est généralement plus adéquat d'employer ces types de tests en première instance plutôt que les tests conventionnels de type test de diffusion sur disque ou test de microdilution en bouillon par exemple (Laurent, 2010),

dont la lecture des résultats peut mettre 24 à 48h avant d'être disponible. (Marcel, 2005; Schaechter, 2009). Mêmement, la détection du gène *mecA* par réaction en chaîne par polymérase (PCR), bien que considéré comme méthode de référence pour le dépistage de MRSA, est très onéreuse et peut être relativement chronophage.(Abbott, 2019) A contrario, ces méthodes de dépistage, grâce à leur grande vitesse, permettent de mettre en place promptement les quatre objectifs principaux du dépistage abordés précédemment. En effet, la lecture de ces tests met en moyenne 5 min à 4h, le gain de temps est donc non négligeable et est précieux en particulier en cas d'urgence médicale. (Mainardi, 2018)

Cependant, ils ne remplacent pas la culture de bactéries ou l'antibiogramme en eux-mêmes, ils permettent plutôt de compléter leur réponse. S'ils permettent une réponse rapide à la question de la différenciation entre MSSA et MRSA, ils ne permettent néanmoins pas la décision du choix de l'antibiothérapie idéale, qui se fait toujours à l'aide de l'antibiogramme.(Sanofi-aventis, 2020)

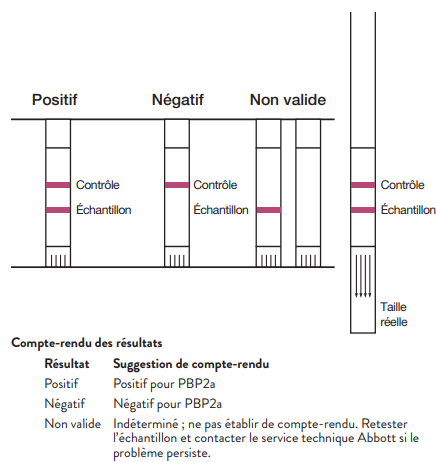
Par ailleurs, si leur utilisation est très pratique, les tests de dépistage rapide peuvent avoir un prix relativement élevé. (Defourny, 2015) Cela fait que paradoxalement malgré leur avantage certain d'utilisation, ils ne sont utilisés qu'en cas d'impérativité dans certains hôpitaux, malgré un bénéfice pharmaco-économique certain à long terme selon certaines études. Néanmoins, ils prennent une place de plus en plus importante dans les laboratoires de dépistage, au vu de l'amélioration de la prise en charge des patients qu'ils apportent. (Laurent, 2010; Mainardi, 2018)

Aujourd'hui, il existe plusieurs méthodes de dépistages rapides, ayant chacune leurs avantages et inconvénients. Voici ci-dessous un bref descriptif des tests validés par l'EUCAST, utilisés en Belgique afin de dépister rapidement MRSA.

3.2.1.1. Test immunochromatographique

Sur le marché, il existe plusieurs tests immunochromatographiques utilisables afin de dépister rapidement et efficacement une souche de MRSA. Le test BinaxNow[®] *S.aureus* et le test Clearview[®] PBP2a en sont de bons représentants. Ces deux tests fonctionnent en symbiose puisque le premier permet de détecter si la souche cultivée dans une gélose spécifique pour hémoculture de coques à Gram positif est composée de *S.aureus* et le second permet de détecter la présence de PBP2a chez *S.aureus*, permettant de ce fait conclure si la souche de bactéries isolée est bien composée de MRSA. (Kong, Tong, Zhang, Fu, & Li, 2014)

Figure 12. Méthodologie de lecture du Clearview® PBP2a Source : (Abbott, 2019)



Tous deux fonctionnent sur un même principe immunochromatographique. BinaxNow® *S.aureus* permet de détecter une protéine spécifique de *S.aureus* par le biais d'anticorps polyclonaux hautement sensibles qui vont venir s'y fixer. En plus ou moins 30 min, il est possible d'identifier la présence de *S.aureus* ou non. (Defourny, 2015; Kong et al., 2014) Clearview® PBP2a permet de détecter PBP2a via un anticorps monoclonal hautement spécifique dirigé contre cette enzyme. (Kong et al., 2014)

Cet anticorps monoclonal nommé rFab est associé à une protéine de contrôle sur une membrane de nitrocellulose sur deux lignes distinctes associées à un tampon d'échantillon, un tampon conjugué rose/violet et enfin un tampon d'absorption pour créer une bandelette réactive. Les isolats bactériens (dont il a été confirmé au préalable qu'il s'agit avec exactitude de *S.aureus*) repris de cultures fraîches de moins de 24h sont au préalable mélangés à deux réactifs liquides compris dans le kit du test. Les échantillons sont agités brièvement au vortex jusqu'à devenir limpides. Ensuite, la bandelette réactive est ensuite immergée dans la solution pour enclencher la chromatographie. Par ailleurs, il est obligatoire que les échantillons prélevés pour le test proviennent de milieux de culture de type gélose tryptone soja, gélose Columbia, tous deux avec 5% de sang de mouton ou encore de type gélose Mueller-Hinton pour s'assurer du bon fonctionnement de la procédure. (Abbott, 2019) Au bout de 5 minutes, les résultats apparaissent alors de façon similaire à la Figure 12, et il est possible de conclure si MRSA est présent ou non.

Ce test est très fiable, il possède en moyenne une sensibilité et une spécificité de respectivement 100% et 98.5% (Abbott, 2019)

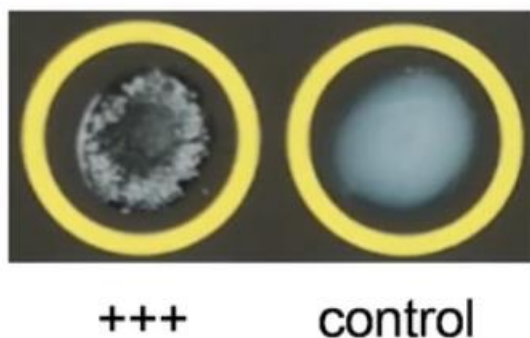
3.2.1.2. Test d'agglutination au latex de PBP2a

Il existe en outre un autre type de test recommandé par l'EUCAST afin de détecter rapidement la présence de MRSA. Ce test est appelé test d'agglutination au latex de PBP2a. (EUCAST, 2017). A l'image des tests immunochromatographiques, ces tests requièrent également comme prérequis que l'échantillon utilisé contienne avec certitude *S.aureus* en son sein et que ce dernier soit cultivé dans des milieux de culture similaires pour que la procédure de dépistage puisse fonctionner (les méthodes traditionnelles de dépistage de *S.aureus* seront

explicitées plus tard au sein de ce mémoire). Les échantillons prélevés doivent être également issus de cultures dont l'incubation doit être comprise entre 24 et 48h. (ThermoFisher, 2015)

Le fonctionnement du test est basé sur le concept suivant : ces tests de dépistage sont composés de latex dont les particules ont été sensibilisées avec un anticorps monoclonal créé pour réagir spécifiquement avec l'enzyme PBP2a de MRSA. Une agglutination des particules de latex est alors observée si l'échantillon mis en contact contient l'enzyme PBP2a. Pour réaliser ce test, il est nécessaire que l'échantillon prélevé contienne nécessairement l'enzyme

Figure 13. Test d'agglutination au latex de PBP2a fortement positif : de gros agglomérats sont apparus dans le latex de test et le fond du latex est visible au contraire du fond du latex de contrôle qui est resté trouble. Source : (Boonsiri et al., 2020)



PBP2a. Pour ce faire, l'inoculum prélevé du milieu de culture est mis en contact dans un tube de microcentrifugation avec deux types de liquide d'extraction de PBP2a, est bouilli à une température supérieure à 95°C pendant trois minutes et doit être enfin centrifugé à 1500 g pendant 3 minutes. Un surnageant apparaît alors et ce dernier peut être prélevé pour être mis en contact avec le latex de test et le latex de contrôle (latex amorphe ne réagissant pas avec PBP2a). Si

une agglutination apparaît sur le latex de test après trois minutes, alors l'échantillon peut être identifié comme MRSA (cfr Figure 13). Au plus les agrégats seront gros et au plus le fond sera transparent et limpide, au plus la certitude qu'il s'agisse de MRSA sera élevée. (ThermoFisher, 2015)

La sensibilité de ce test est de 100% et sa spécificité est en moyenne de 97% en fonction des milieux de culture. Sa fiabilité étant très élevée, ce test offre une excellente alternative aux tests immunochromatographiques pour détecter avec grande célérité les souches de MRSA. (CSS, 2005; ThermoFisher, 2015)

3.2.2. Méthodes basées sur la culture de MRSA

Comme vu précédemment, les méthodes rapides de dépistage apportent une grande plus-value dans le dépistage de MRSA. Cependant, au vu de leur caractéristique dispendieuse, ils ne sont utilisés qu'en cas de grande nécessité en routine dans la plupart des hôpitaux belges. De façon générale, les méthodes conventionnelles basées sur la culture de MRSA sont plus utilisées, bien que généralement plus chronophages (les résultats peuvent être obtenus environ après 48h à 72h dans certains cas). (Elizabeth L Palavecino, 2014) Le dépistage conventionnel de MRSA se fait

en trois étapes successives : l'identification de *S.aureus*, la caractérisation de la résistance à l'oxacilline (dépistage et confirmation) et enfin la détermination de résistances éventuelles à d'autres antibiotiques (CSS, 2005). Ci-dessous seront présentés les principales méthodes de dépistage.

3.2.2.1. Méthodes conventionnelles

La technique traditionnelle de dépistage est le test de diffusion par disque (nommé également test de Kirby-Bauer). Bien qu'il s'agisse d'une des méthodes de dépistage les plus anciennes, il s'agit toujours à l'heure actuelle de l'une des méthodes les plus utilisées en laboratoire de microbiologie clinique. Cela est dû au fait que cette méthode, lorsque les recommandations internationales sont respectées, possède une précision et reproductibilité certaines. De plus, tout type d'agent antimicrobien peut y être testé et nécessitant peu de matériel spécifique, ce test est considéré comme moins cher en comparaison d'autres types de test. (Matuschek, Brown, & Kahlmeter, 2014)

3.2.2.1.1. Identification de *S.aureus*

A l'instar des tests rapides, il est nécessaire au préalable de s'assurer que l'espèce bactérienne présente sur l'échantillon soit bien *S.aureus* pour poursuivre la démarche de dépistage de MRSA. Dans une culture conventionnelle de bactéries, des milieux non-sélectifs tels que le milieu de type Mueller-Hinton sont généralement employés afin de faire croître les colonies bactériennes. (Hudzicki, 2009; Marcel, 2005) Cependant, dans le but de faire croître en particulier *S.aureus* et par ce fait, gagner du temps dans l'identification du germe, des milieux spécifiques ou enrichis sont employés. (CSS, 2005, 2020b) Ces milieux sont généralement des milieux concentrés fortement en NaCl, pour permettre à *S.aureus* de croître plus spécifiquement. En effet, *S.aureus* est une bactérie dite halophile, c'est-à-dire qu'elle est capable de se développer dans des milieux dont la concentration en sels est élevée. (Kushner, 1968) Ce milieu permet dès lors d'empêcher la flore d'accompagnement non-halophile de croître. Les milieux de culture choisis sont soit des géloses de type Mueller-Hinton soit de type Trypticase-Soja dont le milieu a été enrichi avec du NaCl à une concentration de 6,5% en leur sein. L'inoculum y est alors étalé et les germes se développent après une incubation de 18 à 24h à 35°C. Il est à noter qu'une concentration en sels de 2,5% serait la concentration optimale pour la croissance des germes de *S.aureus* car il permettrait d'obtenir une sensibilité optimale

de détection. Cependant, la concentration est perçue comme trop faible pour permettre l'inhibition de la flore d'accompagnement ; la norme de concentration est pour cette raison maintenue à 6,5%. (Bruins, Juffer, Wolfhagen, & Ruijs, 2007; CSS, 2020b)

Figure 14. Milieu de Chapman : en zone A, la gélose a pris la couleur jaune démontrant la présence de *S.aureus* Source : (Shields & Tsang, 2006)



de présence de *S.aureus*, la bactérie en question va réaliser une réaction de fermentation avec le mannitol, ce qui va acidifier le milieu et le colorer en jaune.(cfr Figure 14). Ce milieu permet ainsi de distinguer les bactéries halophiles des non-halophiles mais aussi de celles capables de fermenter de celles qui en sont incapables. (Shields & Tsang, 2006)

En outre, l'utilisation de gélose de type Columbia enrichie au sang peut également aider à identifier la présence de *S.aureus* car il possède en général des propriétés hémolytiques grâce à une cytotoxine nommé α -hémolysine, transformant la gélose au sang où il a crû en un milieu plus limpide car le sang présent a été dégradé. (cfr Figure 15). (CSS, 2005; K. Lee, Lee, Ryu, Cho, & Lee, 2014)

Sur la même thématique sanguine, il est possible aussi de détecter rapidement leur présence via leur activité coagulante puisque l'espèce possède une enzyme appelée coagulase. (CSS, 2005; Normanno et al., 2005). Ce test est appelé test de coagulase et peut avoir lieu en tube ou sur lame. Le principe du test de coagulase en tube consiste à prélever du sang issu d'une hémoculture incubé pendant 18h et d'incuber un échantillon dilué de ce dernier dans du plasma pendant 4h à 37°C, puis pendant une nuit à température ambiante. Si un caillot sanguin est apparu dans le tube, cela signifie que la bactérie possède des coagulases libres et peut donc être identifié comme coagulase-libre. (Thirunavukkarasu & Rathish, 2014) Ce test est plus utilisé comme test de référence, tandis que le test sur lame est utilisé plutôt en pratique comme test rapide. Ce dernier est un test

Il existe également des milieux spécifiques à la croissance de *S.aureus* facilitant son identification tel que le milieu de Chapman (appelé aussi gélose de sel de mannitol), dont la concentration en sels est de 7,5%. Le fonctionnement est similaire aux milieux enrichis, à l'exception qu'il contient du mannitol et du rouge de phénol (pKa = 7,8) servant d'indicateur de pH. A pH inférieur à 6,9, le milieu se colore en jaune tandis qu'à un niveau supérieur le milieu devient rouge-rose. En cas

Figure 15. Croissance de *S.aureus* sur gélose Columbia au sang. La gélose est devenue plus limpide dû aux propriétés hémolytiques de la bactérie Source : Photo prise dans le cadre de la visite du laboratoire de microbiologie clinique des Hôpitaux Iris Sud Bruxelles



d'agglutination fonctionnant sur un principe similaire du test d'agglutination au latex de PBP2a, à l'exception que le latex est recouvert ici de fibrinogène et d'immunoglobuline G (IgG). Si l'inoculum mis en contact contient de la coagulase liée, l'enzyme va alors réagir avec le fibrinogène et le latex va s'agglutiner. L'IgG, quant à elle, réagira avec la protéine A de *S.aureus* provoquant également l'agglutination prouvant alors la présence de *S.aureus*. (ThermoFisher, 2011)

3.2.2.1.2. Identification de MRSA

Figure 16. Exemple de test de diffusion sur disque sur *S.aureus* sur milieu Mueller-Hinton. Après mesure des résultats, il s'est avéré que qu'il s'agit ici d'une MSSA car le diamètre de la zone d'inhibition de la céfoxitine est supérieur à 22 mm Source : Photo prise dans le cadre de la visite du laboratoire de microbiologie clinique des Hôpitaux Iris Sud Bruxelles



Lorsqu'il a été démontré que le pathogène mis en culture est bien *S.aureus*, un inoculum est alors prélevé et est mis en culture sur une gélose non-sélective apte à la croissance de *S.aureus* tel que Mueller-Hinton par exemple. La turbidité de l'inoculum employé doit être équivalente à un standard de McFarland (suspensions de sulfate de baryum ou de particules de latex permettant la comparaison de la densité de bactéries dans l'inoculum) dont l'unité est de 0,5.(Hudzicki, 2009) En effet, si la turbidité est trop faible ou trop élevée, une erreur dans les résultats pourrait survenir. L'inoculum est étalé sur la gélose et ensuite de multiples disques de papier contenant chacun un antibiotique différent avec une concentration équivalente à la concentration minimale inhibitrice y sont disposés sur la gélose.(Hudzicki, 2009) La boîte de Pétri est alors incubé à 35°C à l'air ambiant durant une période totale de 24h. (CSS, 2005)

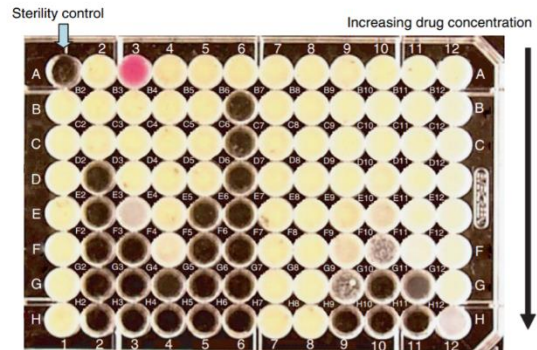
Au terme de la période d'incubation, des zones d'inhibitions apparaissent autour des disques d'antibiotiques de diamètres différents (cfr Figure 16). Les diamètres de ces zones sont alors mesurés et ces mesures sont interprétées afin de pouvoir évaluer la sensibilité de la souche bactérienne aux différents antibiotiques évalués.

Selon l'EUCAST, si la zone d'inhibition autour du disque de 30 µg de céfoxitine est inférieure à 22 mm, la bactérie peut alors être considérée comme MRSA.(EUCAST, 2017, 2022) Bien que l'oxacilline, après la méticilline, eût été l'antibiotique de référence pour détecter MRSA, il fut remplacé par la céfoxitine car elle possède une sensibilité et une spécificité plus

grande que l'oxacilline afin de détecter la résistance à la méticilline dû à la présence du gène *mecA*. (Brown et al., 2005; CSS, 2005)

Par ailleurs, à la place de réaliser une culture sur gélose, il est également possible de réaliser la technique de microdilution en bouillon. Ce test se déroule en milieu liquide dans lequel un volume identique de bouillon de culture de type Mueller-Hinton est injecté dans des plaques de microdilution à 96 puits où a été déposé dans chaque colonne de la plaque un antibiotique différent dont la concentration

Figure 17. Plaque de microdilution en bouillon employée lors de tests automatisés Source : (Schaechter, 2009)

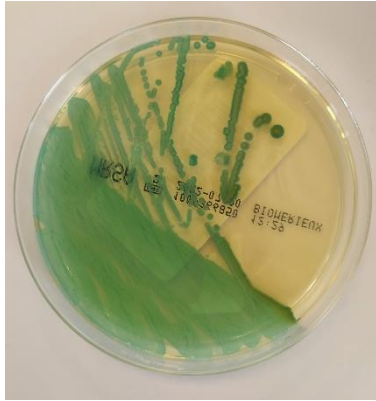


augmente de puits en puits. Un nombre fixe de bactéries y sont ensuite ensemencées pour y être cultivées à 35°C durant 24 heures. Cette méthode est aujourd'hui essentiellement automatisée afin de gagner du temps pour l'obtention des résultats. (Schaechter, 2009) Après cette période d'incubation, il est ainsi possible de déterminer visuellement la concentration minimale inhibitrice (CMI) des différents antibiotiques testés en fonction de l'opacité du puits. Si un puits paraît translucide, il est considéré que la CMI correspond à la concentration en antibiotique de ce dernier (cfr Figure 17). En fonction de la CMI atteinte, il est alors possible de déterminer si la souche est sensible, de sensibilité intermédiaire ou résistante. (Schaechter, 2009) Selon l'EUCAST, MRSA est détecté lorsque la CMI est supérieure à 4 mg/L pour la céfoxitine et à 2 mg/L pour l'oxacilline. (EUCAST, 2022)

3.2.2.2. Agars chromogéniques

Enfin, il existe également des techniques de dépistage d'une rapidité relative comparés aux tests immunochromatographiques ou d'agglutination, permettant via un système de culture de détecter la présence de MRSA. Ces tests sont appelés tests sur agars chromogéniques. Ils permettent, à la première culture, d'identifier directement la présence de MRSA via l'apparition de couleur à la suite d'une réaction biochimique entre les bactéries croissantes et la gélose en elle-même. Ces géloses contiennent très souvent des antibiotiques contre lesquels la bactérie à identifier est résistante, permettant d'accroître la sélectivité en inhibant la croissance de germes étant justement sensible à ces derniers, ce qui par conséquent augmente la spécificité du test. Ces milieux sont par ailleurs très souvent enrichis afin d'augmenter la sensibilité du test. En

Figure 18. Colonie verte apparue sur un agar chromogénique de type chromID® MRSA confirmant la présence de MRSA dans l'échantillon
Source : Photo prise dans le cadre de la visite du laboratoire de microbiologie clinique des Hôpitaux Iris Sud Bruxelles



moyenne, la durée d'incubation nécessaire afin d'obtenir les résultats est de 24h. (Elizabeth L Palavecino, 2014; Xu et al., 2016)

Il est à noter que les différents tests disponibles sur le marché possèdent des spécificités intrinsèques qui les rendent plus adaptés à utiliser en fonction des types de prélèvements. Cela est donc à prendre en compte lors du choix de l'agar chromogénique pour le dépistage de MRSA. En effet, certains agars sont conçus pour détecter MRSA dans des prélèvements nasaux (BBL®CHROMagar® MRSA et MRSA Select®), tandis que d'autres sont plus polyvalents (CHROMagar® MRSA, Oxoid Brilliant® MRSA et chromID® MRSA) et peuvent être

utilisés pour des échantillons nasaux, périnéaux, ou encore de la gorge.(Xu et al., 2016)

A titre d'exemple, chromID® MRSA est un milieu chromogène des laboratoires Biomérieux® utilisé pour dépister MRSA. Il contient un mélange sélectif contenant entre autres de la céfoxitine empêchant la croissance des MSSA, mais aussi d'autres inhibiteurs sélectifs de bactéries n'étant pas du genre *Staphylococcus*, et également des levures. (Diederer et al., 2006). La gélose contient en son sein de l' α -glucosidase, qui au contact de MRSA va transformer les colonies en une couleur bleu-vert. Ainsi, si les colonies obtenues après 18-24h d'incubation à 37°C ont verdi, l'échantillon peut être considéré comme MRSA-positif (cfr Figure 18). Ce test possède une fiabilité assez importante, sa sensibilité et spécificité étant respectivement de 93,3% et 98,7%. (BioMérieux, 2014; Xu et al., 2016)

3.2.3. Autres méthodes

Afin de dépister MRSA, il existe d'autres méthodes, notamment employées comme test de référence (gold standard) en routine ou lors d'études cliniques. Brièvement abordé auparavant, le test PCR (test moléculaire de référence) est très efficace afin de dépister la présence de MRSA d'un échantillon. En une à trois heures, il est possible de détecter via ce processus la présence du gène *mecA*, confirmant alors avec sûreté la présence de MRSA. (Anand, Agrawal, Kumar, & Kapila, 2009; Elizabeth L Palavecino, 2014) Néanmoins, du fait de son coût important, ce dernier est beaucoup moins utilisé en pratique malgré ses avantages certains, et il n'est pas accessible pour tous les laboratoires. (Van Hoecke, Deloof, & Claeys, 2011) Les méthodes rapides et basées sur la culture sont donc privilégiées en pratique dans les

laboratoires pour le dépistage tandis que les méthodes moléculaires tels que le test PCR sont davantage utilisées dans le cadre de tests de confirmation de résistance, afin de s'assurer de la véracité des tests traditionnellement utilisés.(CSS, 2005)

Enfin, il existe une dernière technique en vogue permettant l'identification rapide de MRSA. Il s'agit de l'identification par spectrométrie de masse couplant une source de désorption/ionisation laser assistée par une matrice et un analyseur par temps de vol, autrement appelée MALDI-TOF. Cette méthode permet de déterminer l'identité inconnue d'une bactérie cultivée sur agar, sur base d'un spectre de masse des différentes protéines bactériennes ionisées durant le processus. Le spectre obtenu est alors comparé via un logiciel aux spectres de référence stockés dans une base de données, qui correspondent chacun à l'identité d'une espèce de bactérie. Si l'un des spectres de référence coïncident avec le spectre obtenu, la bactérie de l'échantillon est alors identifiée comme la bactérie du spectre de référence.(Degand et al., 2008; E. L. Palavecino, 2020) Vis-à-vis de la différenciation de MRSA par rapport à MSSA, le MALDI-TOF est considérée comme fiable, très rapide (au total le délai d'identification peut mettre de 2 à 3h), et son utilisation est peu coûteuse, une fois que le MALDI-TOF a été acquis. Cependant, malgré ses bénéfices certains, le MALDI-TOF n'est que très peu utilisé aujourd'hui en routine pour la détection des résistances, et doit faire encore l'objet de différentes études afin d'optimiser son fonctionnement dans la détection des résistances bactériennes.(Mainardi, 2018; E. L. Palavecino, 2020)

4. Prévention de la propagation de MRSA

Un autre pendant de la lutte contre MRSA est tout naturellement la prévention de sa propagation que ce soit en communauté ou en milieu hospitalier. Dans la prévention contre MRSA, mais également contre tout type de BMR, il y a deux points centraux à respecter : la bonne gestion des antibiotiques d'une part, et le contrôle de la transmission interindividuelle d'autre part (BAPCOC, 2021; CSS, 2020b; GDEPIH, 2005).

Ainsi, pour éviter de faciliter l'apparition de nouveaux gènes R dû de la pression de sélection menée par les antibiotiques, il est important de les utiliser de façon rationnelle. En effet, la plupart du temps, les infections courantes se résolvent d'elles-mêmes grâce au système immunitaire et ne nécessitent pas l'emploi d'antibiotiques. Ils ne sont généralement nécessaires que lorsque la personne infectée est immunodéprimée, ou bien que la bactérie pathogène soit très virulente et que son évolution soit fulgurante chez l'individu infecté.(BAPCOC, 2021)

Lorsque l'utilisation d'un antibiotique est nécessaire, il convient d'utiliser une dose correcte sur une durée de traitement optimale, avec une fréquence d'utilisation également optimale à respecter en fonction de la pathologie. Par conséquent, il convient également de faire en sorte de limiter au maximum l'emploi d'antibiotiques par la communauté ou une population plus large pour limiter l'essor de résistances et donc de MRSA. (Allerberger et al., 2016; BAPCOC, 2021)

Également, le contrôle de la transmission interindividuelle est l'un des points les plus importants dans la régulation des populations de MRSA. Comme évoqué précédemment, le dépistage permet de connaître en peu de temps la présence de MRSA dans une colonie, et de prendre subséquemment les mesures adéquates afin de combattre la contamination et sa prolifération. La prise en charge des infections en elle-même sera abordée plus tard au sein de ce mémoire.

Pour rappel, les principaux modes de transmission de MRSA se font soit par contact direct avec une personne colonisée provenant du personnel hospitalier par exemple, ou bien indirecte via, par exemple, des surfaces contaminées. (Harris, Taylor, Napierkowski, & Zechmann, 2021) Plus rarement, la transmission peut se faire

Afin d'éviter toute forme de contamination, il existe plusieurs précautions véritablement importantes qui sont recommandées notamment par le CSS dans la lutte contre la propagation de MRSA. L'élément le plus important est incontestablement l'hygiène des mains. En effet, il a été remarqué via divers études que le vecteur principal de MRSA en milieu hospitalier étaient les mains. (Marimuthu, Pittet, & Harbarth, 2014) Le port de bijoux et bagues est interdit lors de contacts physiques et il est recommandé de couper ses ongles de façon courte, car ils sont responsables du portage de nombreux micro-organismes robustes. (GDEPIH, 2005; INSPQ, 2006) Que ce soit pour le personnel soignant ou les patients, il est capital qu'il y ait une désinfection des mains par une solution hydroalcoolique avant et après tout contact avec une personne positive à MRSA. Rapide, efficace et moins fastidieuse que le lavage de mains au savon (cependant recommandé au préalable si les mains sont fortement souillées), il s'agit de la méthode de base de prévention de la propagation. (GDEPIH, 2005)

Dans le même ordre d'idée, il est conseillé, pour le personnel soignant, de porter des gants non-stériles uniques et de porter une blouse (avec une surblouse supplémentaire si contact possible avec des liquides biologiques il y a) en cas de contact physique direct ou indirect par des surfaces ou matériaux étant contaminés par le patient. Après chaque manipulation auprès du patient contaminé, il est conseillé de jeter les gants et la surblouse dans des poubelles adaptées aux déchets biologiques qui seront stockées dans des locaux spécifiques. Au surplus,

il est conseillé de retirer la blouse avant de quitter la chambre.(CSS, 2020b; GDEPIH, 2005) En outre, s'il existe un possible risque de contamination par les airs par transmission de gouttelettes (à cause de toux, d'éternuements, ou de la parole), il est recommandé de porter un masque et de se tenir au minimum à un mètre de distance du patient. Nonobstant, le port du masque permet surtout l'avantage d'éviter le contact main-nez via des gestes parasites, épargnant ainsi une colonisation nasale, lieu de colonisation de prédilection de MRSA.(CSS, 2020a, 2020b)

Concernant le matériel présent dans la chambre du patient positif au MRSA, il doit être limité et doit être absolument nettoyé et désinfecté après utilisation dès que possible. Les surfaces des chambres doivent être également nettoyées quotidiennement par l'usage de désinfectants usuels (alcool dénaturé à 70% (v/v), chlorhexidine, ...), mais aussi après le départ du résident positif au MRSA. Le nettoyage et la désinfection sont également des piliers de la gestion de la propagation des BMR, bien qu'ils ne permettent que de limiter le nombre de germes présents, sans toutefois les faire totalement disparaître. (CSS, 2005, 2020b) Le patient infecté ne doit se déplacer en dehors de son lieu d'isolement qu'en cas de nécessité et tout déplacement nécessite une chaise roulante ou une civière qui doit elle aussi être désinfectée et nettoyée. Dans le même ordre d'idée, il convient également de limiter au maximum les visites du patient infecté et chaque visiteur doit respecter les règles d'hygiène fondamentales évoquées ci-dessus. (INSPQ, 2006) Par ailleurs, la communication entre hôpitaux lors d'un transfert d'un patient positif au MRSA se doit également d'être optimale, afin de s'assurer du respect des précautions sanitaires dans l'établissement accueillant le patient.(Ong et al., 2013)

Enfin, l'un des derniers points les plus capitaux est la formation du personnel de santé entier vis-à-vis des mesures sanitaires à respecter et à mettre en exécution. Grâce à un bon apprentissage des précautions, l'incidence des infections est amoindrie et l'observance est augmentée par ce biais, surtout si des évaluations sont réalisées régulièrement. Une mesure régulière de l'observance permet en outre de pouvoir adapter les besoins de formation de différentes instances de santé.(CSS, 2020b) De même, il est également primordial de maintenir une bonne éducation du patient mais aussi de son entourage vis-à-vis du respect de ces mesures, car ils sont également acteurs de la possible transmission de MRSA. Par le biais d'information transmise par le staff médical, particulièrement les infirmiers (Noble, 2009), et l'utilisation de brochures récapitulatives, l'observance des patients est considérablement augmentée et le risque de contamination dans la communauté est elle aussi réduite (INSPQ, 2006; Robinson, Edgley, & Morrell, 2014).

5. Prise en charge des patients positifs à MRSA

Lorsqu'un patient est déclaré positif à MRSA, un protocole, notamment recommandé par le CSS et par la commission belge de coordination de politique antibiotique (BAPCOC), est alors à suivre. La prévention de la propagation abordée précédemment fait naturellement partie des points centraux de la prise en charge.

Ce protocole possède des variations dans sa procédure en fonction, d'une part, de la situation épidémiologique du patient (éclosion de germes de MRSA en situation familiale ou en collectivité) et d'autre part, en fonction de son statut infectieux (colonisé ou infecté). Ces éléments sont très importants à prendre compte car la prise en charge clinique est différente. (BAPCOC, 2021; Bradley, 2011) Pour rappel, une personne est dite colonisée (ou porteuse) lorsqu'un échantillon prélevé de n'importe quel site corporel contient MRSA et qu'elle est asymptomatique (Bradley, 2011). A l'inverse, une personne est dite infectée lorsqu'un échantillon prélevé de sites normalement stériles (sang, liquide encéphalo-rachidien,...) contient MRSA ou lorsqu'un échantillon issu de milieux non-stériles (plaies, urine, ...) contient MRSA et est associé à la présence de symptômes chez l'individu. (Nathwani, Davey, & Marwick, 2010) Ci-dessous seront abordés les prises en charge optimales de MRSA en fonction de ces paramètres.

5.1. En cas d'infection à MRSA

Lors d'une infection à MRSA, le traitement antibiotique choisi dépendra de nombreux facteurs. En effet, le choix de l'antibiotique dépendra en particulier des résultats de l'antibiogramme obtenu après le dépistage, mais aussi du site de l'infection, des caractéristiques du patient, mais aussi des paramètres épidémiologiques. Moutlt traitements sont envisageables mais nécessitent le résultat des analyses et un avis critique des acteurs de santé responsables de la gestion de l'infection pour être choisis de façon optimale. (Farmaka, 2021)

En fonction du groupe épidémiologique de MRSA, l'antibiothérapie choisie va varier assez fortement. En effet, comme vu précédemment, HA-MRSA possède généralement des résistances nombreuses, et peu d'antibiotiques disponibles sur le marché sont alors efficaces contre ses infections. Majoritairement, des antibiotiques de dernier recours de la famille des glycopeptides tel que la vancomycine sont employés pour combattre les infections invasives à HA-MRSA. (BAPCOC, 2017; CBIP, 2022) La vancomycine est d'ailleurs considérée aujourd'hui comme le médicament anti-MRSA ayant le plus de recul d'utilisation et est souvent

vu comme traitement de référence pour comparer son efficacité à d'autres antibiotiques lors d'études cliniques. (Nathwani et al., 2010; Steinmetz, Eliakim-Raz, Goldberg, Leibovici, & Yahav, 2015)

A l'inverse, comme vu précédemment, CA-MRSA est généralement beaucoup plus sensible à la plupart des antibiotiques non β -lactamiques. Pour CA-MRSA, bien que l'utilisation d'un traitement bactéricide ne soit recommandée qu'en présence de facteurs de gravité, les antibiotiques recommandés en cas d'infection (si sensibilité démontrée il y a) sont le cotrimoxazole, la clindamycine et la doxycycline. (Gerard, 2016) Accessoirement, la mupirocine sous forme de pommade est également recommandée en cas d'impétigo à MRSA.(BAPCOC, 2021)

5.1.1. En milieu familial

Lorsqu'une personne est infectée par MRSA en milieu familial, la BAPCOC recommande l'utilisation du traitement uniquement chez la personne en question. Une fois la personne guérie, il est alors nécessaire de la décoloniser pour éliminer le germe. Cela n'est pas nécessaire pour les autres membres de la famille vivant sous le même toit, sauf si des infections récurrentes à MRSA (en particulier PVL-positif) sont remarquées. Dans ce cas, l'ensemble de la famille doit subir, après guérison du patient, une décolonisation simultanée, débutée le même jour. (BAPCOC, 2021)

5.1.2. En collectivité

En collectivité, la BAPCOC préconise les mêmes considérations qu'en famille pour les personnes infectées (le traitement antibiotique, suivi d'une décolonisation). Néanmoins, la BAPCOC insiste sur le fait qu'il est capital de connaître la source de la propagation du germe dans la collectivité afin de pouvoir limiter au maximum les risques d'infections supplémentaires. Par ailleurs, ils doivent subir un isolement marqué, d'autant plus si les personnes possèdent une hygiène médiocre des mains et de leur plaie. Ainsi, ils ne peuvent plus accéder à d'autres milieux (école, travail, ...) tant que l'infection n'a pas été maîtrisée. (BAPCOC, 2017) L'isolement pourra être levée, si et seulement si, la décolonisation a été réussie et que l'éradication a été confirmée par le biais de trois cultures négatives 48h après la fin de la décolonisation.(CSS, 2020a)

5.2. En cas de colonisation à MRSA

En cas de colonisation par MRSA, et donc conséquemment aussi après chaque infection, un traitement de décolonisation est préconisé par les instances belges de santé et donc par le CSS.

En général, ce traitement de décolonisation consiste en l'application d'un onguent nasal de mupirocine (appelé aussi acide pseudomonique) à une fréquence de trois fois par jour dans les narines antérieures pendant cinq jours. De plus, il se doit d'être accompagné une fois par jour d'un lavage rigoureux du corps entier (cuir chevelu compris) à l'aide d'un savon antiseptique composé de chlorhexidine ou de povidone iodée au choix, lui aussi durant une période de cinq jours. L'onguent peut être également appliqué sur d'autres sites potentiellement colonisés comme le périnée. (CSS, 2020a; Gerard, 2016). Après 48h, une semaine et un mois, un frottis suivi d'une mise en culture doit être systématiquement réalisé afin de s'assurer la négativité de la personne. (GDEPIH, 2005) Le processus de décolonisation peut être réitéré jusqu'à maximum deux fois en cas de résultat positif après 48h, mais se doit d'être interrompu par la suite, au vu d'une probable résistance à la mupirocine qui pourrait éventuellement apparaître, mais aussi car le portage de MRSA pourrait éventuellement être résistant à la mupirocine. (Poovelikunnel, Gethin, & Humphreys, 2015)

La décolonisation est de fait un élément important de la lutte contre MRSA, puisqu'il a été remarqué via divers études que la colonisation par MRSA augmente grandement le risque d'infection (il est estimé que 23% des personnes colonisées développeront une infection l'année suivante), que ce soit en tant que porteur immédiat ou à long terme. (Coates, Bax, & Coates, 2009). En sus, au plus la densité bactérienne de *S.aureus* intranasale est élevée, au plus la probabilité d'auto-infection, lors notamment d'activités chirurgicales, est élevée (Kalmeijer, van Nieuwland-Bollen, Bogaers-Hofman, & de Baere, 2000). De plus, lorsqu'une personne est porteuse de MRSA, cette dernière est considérée comme réservoir de MRSA et augmente hautement les risques de transmission (Cookson et al., 2011; CSS, 2020a). La décolonisation permet donc de lutter contre ces phénomènes facilitant la propagation de MRSA.

La mupirocine a fait ses preuves dans la décolonisation du patient porteur de MRSA. Il s'agit d'un antibiotique ayant démontré une efficacité très importante dans l'élimination de MRSA, notamment au niveau nasal, puisqu'une revue systémique a démontré que le risque relatif de développer une infection nosocomiale à *S.aureus* était de 0,55 lors d'une utilisation correcte (van Rijen, Bonten, Wenzel, & Kluytmans, 2008). Cependant, l'apparition récente de souches de MRSA résistante à la mupirocine, bien que rare, commence à être préoccupante car

le protocole de décolonisation se conclut parfois par un échec après plusieurs tentatives (Patel, Gorwitz, & Jernigan, 2009).

6. Traitement prometteur dans la lutte contre MRSA

Enfin, malgré tous les moyens développés précédemment afin de restreindre la propagation de MRSA et optimiser son élimination, le dépistage, la prévention et une prise en charge optimale ne font hélas que retarder l'inévitable et sempiternelle progression des résistances antibactériennes.

L'émergence de résistance est un phénomène continu qui ne peut être stoppé, seulement éternellement retardé. Lorsqu'un nouvel antibiotique est sur le marché, bien qu'il soit efficace dans un premier temps et que de nombreuses mesures sont prises afin d'en optimiser son utilisation, des souches résistantes finiront par apparaître par la nouvelle pression de sélection émise par l'emploi du nouvel antibiotique. Cette pression induite permettra aux germes intrinsèquement résistants ou résistants par acquisition, certes peu abondants au départ, de proliférer et de transmettre des éléments génétiques plus facilement que les bactéries au départ sensibles. (C. Walsh, 2003)

Cette logique s'applique ainsi également à MRSA. Comme abordé précédemment, la vancomycine est généralement le traitement de premier choix en cas d'infection sévère à MRSA du fait de leur sensibilité correcte. Néanmoins, malgré la tentative de respect des règles de bonne gestion des antibiotiques, les premières souches de VRSA sont apparues et seront à l'avenir un problème de santé publique encore bien plus importants que MRSA.

En effet, bien que d'autres antibiotiques de dernier recours restent encore efficaces la plupart du temps contre VRSA, tel que le linézolide, la téicoplanine, la daptomycine ou encore l'association de quinupristine et de dalfopristine, certaines souches ont déjà développé des résistances envers ces derniers, faisant de ces souches des organismes PDR dont l'impact sanitaire est inquiétant (Khan, Wilson, & Gould, 2018; Loomba, Taneja, & Mishra, 2010). Par ce biais, il est plus que nécessaire de développer de nouveaux antibiotiques, qui permettront de combattre cette émergence de résistance via une collaboration mondiale, nécessaire à assurer l'efficacité de la mesure (Browne et al., 2020).

Cependant, la création de nouveaux antibiotiques nécessite une longue période avant d'arriver sur le marché (8 à 10 ans environ) et un investissement financier considérable (la somme totale excède souvent plus de 500 millions d'euros), ce qui fait qu'énormément

d'industries pharmaceutiques sont pusillanimes à s'engager dans la recherche de nouveaux antibiotiques, car elles perçoivent l'action comme peu rentable à terme. Cela a fait qu'aujourd'hui le nombre de nouveaux antibiotiques dans le pipeline est dramatiquement faible. (Charles & Grayson, 2004)

Toutefois, il existe malgré tout à l'heure actuelle différentes molécules antibiotiques étudiées lors d'essais cliniques, qui sont autant de nouveaux espoirs afin de lutter efficacement contre l'émergence de BMR et par conséquent MRSA (et ses évolutions PDR) (Bassetti, Del Puente, Magnasco, & Giacobbe, 2020).

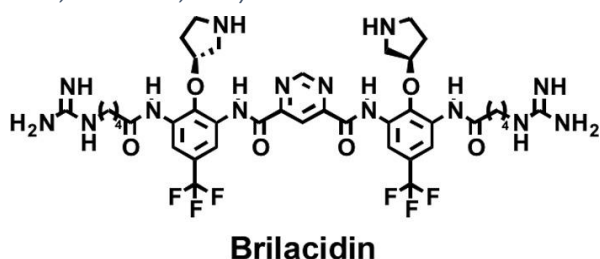
Parmi ces nouvelles molécules en étude clinique peuvent être citées à titre d'exemple l'iclaprim, une nouvelle diaminopyridine inhibant la dihydrofolate réductase bactérienne, le tédizolide, de la classe des oxazolidinones, inhibant le processus de traduction en se fixant à la sous-unité ribosomale 50S, ou encore l'omadacycline, une nouvelle molécule de la classe des tétracyclines, inhibant aussi le processus de traduction mais en se fixant sur la sous-unité ribosomale 30S (Khan et al., 2018).

Dans le pipeline des traitements innovants, il existe également certaines molécules dont la classe médicamenteuse et le mécanisme d'action sont originaux. Voici ci-dessous un zoom sur un nouvel antibiotique de ce genre qui pourrait être l'un des nouveaux espoirs vis-à-vis de MRSA, la brilacidine.

6.1. Brilacidine

La brilacidine est une nouvelle molécule, faisant parti d'une toute nouvelle classe d'antibiotiques, appelés mimétiques de la défensine. Actuellement en phase II d'étude clinique, deux essais cliniques randomisés ont déjà été réalisés et les démarches ont été initialisées pour commencer une nouvelle étude de phase III depuis 2015.(Bassetti et al., 2020; Khan et al., 2018)

Figure 19. Structure de la brilacidine Source :(Mensa, Howell, Scott, & DeGrado, 2014)



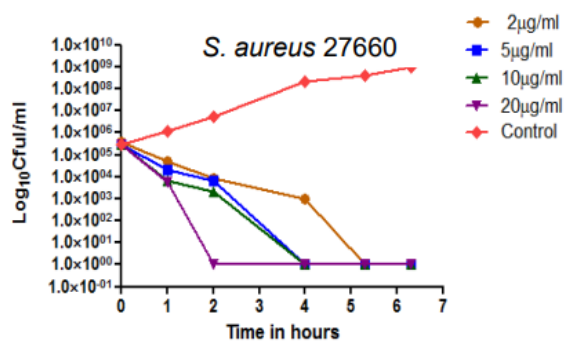
La brilacidine est une molécule amphiphile synthétique non peptidique apparentée aux protéines dite peptides de défense de l'hôte (HDP) ou défensines, qui sont des molécules naturelles produites par le système immunitaire, afin de se défendre en cas

d'infection médiée par des microorganismes. Les HDP possèdent ainsi des propriétés

immunomodulatrices et bactéricides, d'où le nom de peptides antimicrobiens (Scott et al., 2015) La structure amphiphile moléculaire de la brilacidine est visible en Figure 19.

La brilacidine mime ainsi les propriétés structurales des HDP, copiant leur mécanisme d'action qui consiste majoritairement en une dépolarisation au niveau de la membrane de la bactérie - le caractère amphiphile de la brilacidine serait d'ailleurs une des causes du pouvoir de dépolarisation des membranes (Perron, Zasloff, & Bell, 2006) - entraînant la mort de la bactérie. Ce mécanisme est relativement similaire au mécanisme de la daptomycine, l'un des antibiotiques de dernier recours contre MRSA. (Kowalski, Romanowski, Yates, & Mah, 2016; Mensa et al., 2014)

Figure 20. Graphique de la concentration de *S.aureus* (en UFC/ml) en fonction du temps à diverses concentrations croissantes de brilacidine. Il est constaté qu'à une concentration de 20µg/ml, la brilacidine pouvait éliminer les germes de *S.aureus* en environ 2h Source : (Scott et al., 2015)



Vis-à-vis de son spectre d'action, il a été démontré que cette molécule possède une activité bactéricide à spectre large remarquée sur les bactéries à Gram positif et négatif, et possède une action bactéricide efficace à l'égard de MRSA. (Kowalski et al., 2016) Dose-dépendant, il offre dès sa première utilisation un pouvoir bactéricide presque immédiat. (Bassetti et al., 2020) En effet, il a été remarqué via une étude que la brilacidine pouvait éliminer en 2 à 6

heures une colonie de *S.aureus* (cfr Figure 20). Il en va de même pour des colonies de MRSA (Scott et al., 2015).

Un autre point très avantageux vis-à-vis de la brilacidine est sa propension à limiter l'apparition de résistance des bactéries contre elle-même (Nijnik & Hancock, 2009; Scott et al., 2015). Cela est dû en réalité à une propriété intrinsèque des peptides antimicrobiens, qui grâce à une série de mécanismes bactéricides disjoints, attaquent de nombreuses cibles sur les organismes bactériens avec une faible affinité, plutôt que de cibler fortement une seule cible (particularité de la quasi-totalité des antibiotiques actuels sur le marché). De plus, la composante immunomodulatrice des peptides antimicrobiens est elle aussi un facteur non négligeable dans la lutte contre l'apparition des résistances, car cela stimule l'immunité naturelle, qui va combattre avec l'antibiotique la bactérie infectieuse, réduisant encore plus la pression de sélection (Nijnik & Hancock, 2009).

Pendant de nombreuses années, de nombreux analogues de peptides antimicrobiens de synthèse, peptidiques ou non, ont été étudiés pour les propriétés intéressantes mentionnées ci-dessus. Cependant, des effets indésirables importuns tels que de la cytotoxicité et des propriétés

hémolytiques, une faible biodisponibilité due à une sensibilité élevée aux protéases et une haute clairance ont bloqué la mise sur le marché de nombreuses molécules à l'étude de cette nouvelle classe médicamenteuse (Hargraves, Greub, & Jacquier, 2020; Molchanova, Hansen, & Franzyk, 2017). En imitant la structure des peptides antimicrobiens grâce à un squelette composés d'arylamides et de groupes chargés, la brilacidine a les propriétés de faire disparaître ces éléments gênants tout en gardant les avantages des HDP. (Pucci & Bush, 2013)

Du fait de tous ces éléments, la brilacidine est par conséquent une molécule apportant énormément d'espoir dans la lutte contre MRSA. Afin de prouver son intérêt vis-à-vis des molécules de référence employées en pratique mais aussi de vérifier son innocuité, deux essais cliniques randomisés de phase II ont donc été réalisés comme cité précédemment. Parmi ces deux essais, les résultats d'une d'entre elles étaient disponibles.

Il s'agit de l'étude clinique randomisée en double aveugle NCT01211470 (Jorgensen, Scott, O'Riordan, & Tack, 2015; PolyMedix, 2012), dont les résultats ont été publiés et présentés en 2015 lors d'un congrès international (Bassetti et al., 2020). Dans cette étude, le but était principalement d'évaluer l'efficacité, mais aussi l'innocuité de la brilacidine chez des patients ayant une infection bactérienne aiguë de la peau et des surfaces cutanées, afin de faciliter la détermination de la dose thérapeutique lors d'études cliniques à venir. L'outcome principal était de s'assurer l'éradication bactériologique à la fin du traitement de *S.aureus* y compris MSSA et MRSA. Des outcomes secondaires étaient également prévus : évaluation de la sécurité, des réponses cliniques et également de la pharmacocinétique accessoirement. Le comparateur choisi était la daptomycine (qui pour rappel est une alternative viable à la vancomycine, le traitement de référence de MRSA). (Lebeaux & Revest, 2020; PolyMedix, 2012)

La réalisation de l'étude clinique s'est déroulée comme tel : 215 personnes y ont été engagées et furent répartis en quatre groupes équivalents randomisés. Le premier groupe a été traité par une seule prise de brilacidine à une dose de 0,6 mg/kg, le second à une dose de 0,8 mg/kg. Le troisième groupe a subi trois jours de traitements : le premier jour, une dose de 0,6 mg/kg devait être prise. Ensuite, une dose de 0,3 mg/kg/jour était administrée au deuxième et troisième jour. Le quatrième groupe, quant à lui, a dû suivre une thérapie continue de daptomycine durant 7 jours. Au bout 48 à 72h, les résultats étaient observés. Une réponse au traitement était considérée comme efficace, si une réduction d'au moins 20% de la plaie était observé chez les patients.(Bassetti et al., 2020; PolyMedix, 2012)

Les résultats furent donc concluants : les patients ayant reçu la brilacidine eurent une réponse clinique élevée. Plus de 90% des patients ont eu une réponse clinique correcte et rapide,

et similaire à ceux du groupe ayant la daptomycine comme traitement. De plus, aucun effet indésirable grave n'a été remarqué. Seuls une sensation de picotement et d'engourdissement d'intensité moyenne avaient été rapportés régulièrement chez 65 à 87% des patients (Bassetti et al., 2020; Pucci & Bush, 2013).

Par cette étude clinique randomisée, il est à remarquer que la brilacidine pourrait donc avoir un impact significatif sur la régulation des populations de MRSA, tout en ayant peu d'effets indésirables. Toutefois, la réalisation d'autres études cliniques de phase II, et surtout la réalisation d'études cliniques de plus grande envergure en phase III permettra de conclure si la brilacidine fera partie des antibiotiques de demain.

7. Conclusion

Ce mémoire sous forme d'overview avait pour but d'offrir un survol général de la problématique de la prolifération de MRSA, tout en y décrivant les méthodes et nouveaux espoirs afin de limiter cette propagation alarmante et leur importance dans ce combat. Le phénomène de résistance aux antibiotiques est un problème d'ampleur mondiale, dont les conséquences sanitaires, mais aussi économiques, sont dramatiques. MRSA fait partie des pathogènes multi-résistants ESKAPE, envers qui l'OMS a émis une priorité très élevée afin de trouver de nouveaux antibiotiques afin de les canaliser.

Cependant, la recherche et le développement d'antibiotiques prend un temps considérable et les industries pharmaceutiques sont en général peu intéressées de s'y investir, car l'effort fourni ne serait que peu rentable financièrement. De nouvelles molécules sont toutefois à l'étude en phase avancée, tel que la brilacidine, un mimétique des HDP, dont les propriétés bactéricides rapides et efficaces, ainsi que sa capacité à réduire voire empêcher l'émergence de résistances envers elle-même, sont une percée immense dans la lutte contre MRSA. Elle pourrait être une excellente alternative à la vancomycine et à la daptomycine en cas de résistances.

Néanmoins, au vu du manque actuel de nouvelles molécules antibiotiques, le dépistage de MRSA, la prévention de la propagation de MRSA, et l'optimisation de la prise en charge des patients positifs à MRSA sont plus importants que jamais. S'ils sont correctement employés, ils permettent de ralentir drastiquement la prolifération de MRSA et leur évolution en microorganismes invincibles PDR. Le dépistage, point central des mesures prises contre MRSA, permet s'il est effectué correctement et rapidement, d'opérer au plus vite le contrôle de la transmission interindividuelle et de déterminer l'antibiothérapie idéale pour limiter la propagation des résistances. Par ce fait, les méthodes rapides de dépistage, ainsi que le MALDI-TOF, bien qu'encore peu utilisé aujourd'hui comme identificateur de résistance, ont toute leur importance dans ce combat.

En conclusion, l'émergence de la résistance aux antibiotiques est un problème éternel. A chaque nouvel antibiotique mis sur le marché, bien qu'ils soient efficaces dans un premier temps, les bactéries développeront tôt ou tard des résistances vis-à-vis de ce dernier. La quête de nouveaux antibiotiques est perpétuelle. Afin de laisser le temps aux industries pharmaceutiques d'en développer, il est capital d'éviter la propagation de MRSA par le dépistage, la prévention et une gestion optimale des antibiotiques.

8. Méthodologie

Le sujet de ce mémoire fut choisi à l'origine du fait d'une interrogation personnelle vis-à-vis des perspectives dans la lutte contre les BMR. La problématique fut introduite dans le cadre de certains cours du cursus universitaire pharmaceutique de l'Université de Namur, notamment dans le cours de microbiologie médicale. Apprenant que la résistance aux antibiotiques était l'un des problèmes sanitaires majeurs du 21^{ème} siècle, je me suis rapidement intéressé aux différentes méthodes et projets mis en œuvre afin de combattre l'émergence dramatique des BMR. Dans le but de restreindre et d'affiner le sujet de mon mémoire, je me suis dirigé spécifiquement vers les perspectives de lutte d'une espèce de BMR en particulier, les MRSA, sous les conseils de ma promotrice, la professeure Marie Tré-Hardy.

Tout d'abord, la recherche d'information s'est principalement réalisée par l'emploi des moteurs de recherche PubMed et Google Scholar en utilisant des associations de mots-clés comprenant « MRSA », et « Screening », ou « Innovative therapy » par exemple. Cette association a été réalisée via des opérateurs booléens pour faciliter la découverte de nouveaux articles pertinents. Au fur et à mesure de la progression de la recherche, de nouveaux mots-clés de plus en plus spécifiques ont été employés afin de trouver des informations plus ciblées et précises.

Ensuite, le site internet ClinicalTrials fut également utile afin de trouver les informations vis-à-vis de nouveaux antibiotiques en étude clinique, tel que la brilacidine. De plus, le site internet de Sciensano permet également d'acquérir des données épidémiologiques vis-à-vis du MRSA en Belgique. Aussi, les documents de la BAPCOC et du CSS permirent d'obtenir un large éventail de documents vis-à-vis des recommandations de dépistage et de prise en charge du MRSA en Belgique. Enfin, la compréhension des techniques de dépistage fut améliorée lors d'une journée de stage d'observation au laboratoire de microbiologie des Hôpitaux Iris Sud. Cela me permit de mieux appréhender cette partie de mon mémoire et de permettre une explication des processus de dépistage avec plus de clarté.

Le format de l'overview fut choisi du fait de la nature conséquente du sujet. Il n'a ainsi pas pour but de fournir l'intégralité des solutions possibles à la problématique de MRSA, mais d'apporter une introduction générale, synthétique et pertinente sur le sujet, afin de prouver l'importance de ces mesures. Il offre un point de départ à quiconque souhaiterait approfondir l'un des chapitres de ce mémoire.

9. Bibliographie

- Abbott. (2019). Clearview PBP2a SA Culture Colony Test Package Insert. In.
- Ahmed, M. O., & Baptiste, K. E. (2018). Vancomycin-Resistant Enterococci: A Review of Antimicrobial Resistance Mechanisms and Perspectives of Human and Animal Health. *Microb Drug Resist*, 24(5), 590-606. doi:10.1089/mdr.2017.0147
- Allerberger, F., Amann, S., Apfalter, P., Brodt, H.-R., Eckmanns, T., Fellhauer, M., . . . Lemmen, S. (2016). Strategies to enhance rational use of antibiotics in hospital: a guideline by the German Society for Infectious Diseases. *Infection*, 44(3), 395-439.
- Anand, K., Agrawal, P., Kumar, S., & Kapila, K. (2009). Comparison of cefoxitin disc diffusion test, oxacillin screen agar, and PCR for mecA gene for detection of MRSA. *Indian journal of medical microbiology*, 27(1), 27-29.
- Appelbaum, P. (2006). The emergence of vancomycin-intermediate and vancomycin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Clinical Microbiology and Infection*, 12, 16-23.
- Argudín, M. A., Deplano, A., Nonhoff, C., Yin, N., Michel, C., Martiny, D., . . . Hallin, M. (2021). Epidemiology of the *Staphylococcus aureus* CA-MRSA USA300 in Belgium. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 40(11), 2335-2347.
- Bagińska, N., Pichlak, A., Górski, A., & Jończyk-Matysiak, E. (2019). Specific and Selective Bacteriophages in the Fight against Multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Virol Sin*, 34(4), 347-357. doi:10.1007/s12250-019-00125-0
- BAPCOC. (2017). *Recommandations de traitements anti-infectieux en milieu hospitalier*. Retrieved from https://organesdeconcertation.sante.belgique.be/sites/default/files/documents/bapcoc_guidelineshospi_2017_sbimc-bvikm_fr_v1.pdf. Consulté le 26/07/22
- BAPCOC. (2021). *Guide belge de traitement anti-infectieux en pratique ambulatoire 2021*. Retrieved from https://www.health.belgium.be/sites/default/files/uploads/fields/fpshealth_theme_file/guide_belge_bapcoc_fr_2021_a4.pdf. Consulté le 23/07/21
- Bassetti, M., Del Puente, F., Magnasco, L., & Giacobbe, D. R. (2020). Innovative therapies for acute bacterial skin and skin-structure infections (ABSSSI) caused by methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: advances in phase I and II trials. *Expert Opin Investig Drugs*, 29(5), 495-506. doi:10.1080/13543784.2020.1750595
- BioMérieux. (2014). chromID® MRSA agar / chromID® *S. aureus* agar (MRSA/SAID). In.

- Boonsiri, T., Watanabe, S., Tan, X.-E., Thitiananpakorn, K., Narimatsu, R., Sasaki, K., . . . Kiga, K. (2020). Identification and characterization of mutations responsible for the β -lactam resistance in oxacillin-susceptible mecA-positive *Staphylococcus aureus*. *Scientific Reports*, *10*(1), 1-22.
- Botelho, J., Grosso, F., & Peixe, L. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa* - Mechanisms, epidemiology and evolution. *Drug Resist Updat*, *44*, 100640. doi:10.1016/j.drug.2019.07.002
- Bradley, S. F. (2011). MRSA colonisation (eradicating colonisation in people without active/invasive infection). *BMJ Clin Evid*, *2011*.
- Brown, D. F., Edwards, D. I., Hawkey, P. M., Morrison, D., Ridgway, G. L., Towner, K. J., & Wren, M. W. (2005). Guidelines for the laboratory diagnosis and susceptibility testing of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA). *Journal of antimicrobial chemotherapy*, *56*(6), 1000-1018.
- Browne, K., Chakraborty, S., Chen, R., Willcox, M. D., Black, D. S., Walsh, W. R., & Kumar, N. (2020). A New Era of Antibiotics: The Clinical Potential of Antimicrobial Peptides. *Int J Mol Sci*, *21*(19). doi:10.3390/ijms21197047
- Bruins, M. J., Juffer, P., Wolfhagen, M. J., & Ruijs, G. J. (2007). Salt tolerance of methicillin-resistant and methicillin-susceptible *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, *45*(2), 682-683.
- Bush, K., & Bradford, P. A. (2016). β -Lactams and β -lactamase inhibitors: an overview. *Cold Spring Harbor perspectives in medicine*, *6*(8), a025247.
- Carlet, J., Jarlier, V., Acar, J., Debaere, O., Dehaumont, P., Grandbastien, B., . . . Rambaud, C. (2020). *Trends in Antibiotic Consumption and Resistance in France Over 20 Years: Large and Continuous Efforts but Contrasting Results*. Paper presented at the Open Forum Infectious Diseases.
- Cassini, A., Högberg, L. D., Plachouras, D., Quattrocchi, A., Hoxha, A., Simonsen, G. S., . . . Cecchini, M. (2019). Attributable deaths and disability-adjusted life-years caused by infections with antibiotic-resistant bacteria in the EU and the European Economic Area in 2015: a population-level modelling analysis. *The Lancet infectious diseases*, *19*(1), 56-66.
- CBIP. (2019). Usage rationnel des antibiotiques dans les infections aiguës des voies respiratoires en première ligne. Retrieved from <https://www.cbip.be/fr/articles/query?number=F46F10B> Consulté le 19/09/21

- CBIP. (2022). Glycopeptides. Retrieved from <https://www.cbip.be/fr/chapters/12?frag=10025>
Consulté le 25/07/22
- Cervantes-García, E., García-Gonzalez, R., Reyes-Torres, A., Resendiz-Albor, A. A., & Salazar-Schettino, P. M. (2015). Staphylococcus aureus small colony variants in diabetic foot infections. *Diabetic foot & ankle*, 6(1), 26431.
- Chambers, H. F., & DeLeo, F. R. (2009). Waves of resistance: Staphylococcus aureus in the antibiotic era. *Nature Reviews Microbiology*, 7(9), 629-641.
- Charles, P. G., & Grayson, M. L. (2004). The dearth of new antibiotic development: why we should be worried and what we can do about it. *Medical journal of Australia*, 181(10), 549-553.
- Coates, T., Bax, R., & Coates, A. (2009). Nasal decolonization of Staphylococcus aureus with mupirocin: strengths, weaknesses and future prospects. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 64(1), 9-15.
- Colomb-Cotinat, M., Lacoste, J., Brun-Buisson, C., Jarlier, V., Coignard, B., & Vaux, S. (2016). Estimating the morbidity and mortality associated with infections due to multidrug-resistant bacteria (MDRB), France, 2012. *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 5(1), 1-11.
- Cookson, B., Bonten, M. J., MacKenzie, F. M., Skov, R. L., Verbrugh, H. A., & Tacconelli, E. (2011). Meticillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA): screening and decolonisation. *International journal of antimicrobial agents*, 37(3), 195-201.
- Cosgrove, S. E. (2006). The relationship between antimicrobial resistance and patient outcomes: mortality, length of hospital stay, and health care costs. *Clinical Infectious Diseases*, 42(Supplement_2), S82-S89.
- CSS, C. S. d. I. S. (2005). *Recommandations pour le contrôle et la prévention de la transmission de Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline dans les hôpitaux belges*.
- CSS, C. S. d. I. S. (2020a). *Prévention de la transmission des Staphylococcus aureus résistants à la méticilline*. Retrieved from https://www.health.belgium.be/sites/default/files/uploads/fields/fpshealth_theme_file/avis_9277_mdro_annexe_1_mrsa_.pdf. Consulté le 15/07/22
- CSS, C. S. d. I. S. (2020b). *Recommandations en matière de prévention, maîtrise et prise en charge des patients porteurs de bactéries multi-résistantes aux antibiotiques (MDRO) dans les institutions de soins*.

- Cuny, C., Nathaus, R., Layer, F., Strommenger, B., Altmann, D., & Witte, W. (2009). Nasal colonization of humans with methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) CC398 with and without exposure to pigs. *PLoS One*, *4*(8), e6800. doi:10.1371/journal.pone.0006800
- Cuny, C., Wieler, L. H., & Witte, W. (2015). Livestock-associated MRSA: the impact on humans. *Antibiotics*, *4*(4), 521-543.
- David, M. Z., & Daum, R. S. (2017). Treatment of *Staphylococcus aureus* Infections. *Curr Top Microbiol Immunol*, *409*, 325-383. doi:10.1007/82_2017_42
- Davies, J., & Davies, D. (2010). Origins and evolution of antibiotic resistance. *Microbiology and molecular biology reviews*, *74*(3), 417-433.
- de Laroche, M., Fellous, L., Salomon, E., Saadeh, D., Duran, C., Bouchand, F., . . . Seridi, Z. (2021). Bloodstream infections in older population: epidemiology, outcome, and impact of multidrug resistance. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 1-8.
- De Oliveira, D. M. P., Forde, B. M., Kidd, T. J., Harris, P. N. A., Schembri, M. A., Beatson, S. A., . . . Walker, M. J. (2020). Antimicrobial Resistance in ESKAPE Pathogens. *Clin Microbiol Rev*, *33*(3). doi:10.1128/cmr.00181-19
- Defourny, L. (2015). *Evaluation du BinaxNOW Staphylococcus aureus & PBP2a Culture Colony Test pour l'identification rapide et la détection des MRSA dans les hémocultures positives*. Retrieved from
- Degand, N., Carbonnelle, E., Dauphin, B., Beretti, J.-L., Le Bourgeois, M., Sermet-Gaudelus, I., . . . Ferroni, A. (2008). Matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry for identification of nonfermenting gram-negative bacilli isolated from cystic fibrosis patients. *J Clin Microbiol*, *46*(10), 3361-3367.
- Diederren, B. M., van Leest, M. L., van Duijn, I., Willemse, P., van Keulen, P. H., & Kluytmans, J. A. (2006). Performance of MRSA ID, a new chromogenic medium for detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *J Clin Microbiol*, *44*(2), 586-588. doi:10.1128/jcm.44.2.586-588.2006
- EUCAST. (2017). EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. In (pp. 43).
- EUCAST. (2022). Clinical breakpoints - bacteria (v 12.0). In.
- Farmaka. (2021). Politique face aux germes multirésistants (MDRO: MRSA, ESBL-E, CPE, VRE, ...). Retrieved from <https://farmaka.cbip.be/fr/formulaire-p-a/319> Consulté le 26/07/22

- Forum, S. M. (2018). Méthodes pour la détermination des résistances aux antibiotiques. Retrieved from <https://medicalforum.ch/fr/detail/doi/fms.2018.03403> Consulté le 31/10/21
- Foster, T. J., & Geoghegan, J. A. (2015). Staphylococcus aureus. *Molecular Medical Microbiology*, 655-674.
- GDEPIH. (2005). *Mesures préventives de la transmission du Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (MRSA) dans les maisons de repos et de soins*.
- Gerard, M. (2016). Prise en charge ambulatoire du Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (MRSA) d'origine communautaire en Belgique. *Revue médicale de Bruxelles*, 37(4), 322-327.
- Giske, C. G., Monnet, D. L., Cars, O., & Carmeli, Y. (2008). Clinical and economic impact of common multidrug-resistant gram-negative bacilli. *Antimicrobial agents and Chemotherapy*, 52(3), 813-821.
- Hargraves, S., Greub, G., & Jacquier, N. (2020). Peptides antimicrobiens: une alternative aux antibiotiques? *Education*, 1, 14-16.
- Harris, D., Taylor, K. P., Napierkowski, K., & Zechmann, B. (2021). Indoor Finish Material Influence on Contamination, Transmission, and Eradication of Methicillin-Resistant Staphylococcus aureus (MRSA). *Herd*, 14(1), 118-129.
doi:10.1177/1937586720952892
- Health, U. D. o., & Services, H. (2018). Antibiotic resistance threats in the United States. Centers for Disease Control and Prevention. 2013. In.
- Hiramatsu, K., Katayama, Y., Matsuo, M., Sasaki, T., Morimoto, Y., Sekiguchi, A., & Baba, T. (2014). Multi-drug-resistant Staphylococcus aureus and future chemotherapy. *Journal of Infection and Chemotherapy*, 20(10), 593-601.
- Hudzicki, J. (2009). Kirby-Bauer disk diffusion susceptibility test protocol.
- Hutchings, M. I., Truman, A. W., & Wilkinson, B. (2019). Antibiotics: past, present and future. *Current opinion in microbiology*, 51, 72-80.
- INSPQ, I. n. d. s. p. d. Q. (2006). *Mesures de prévention et de contrôle des infections à Staphylococcus aureus résistant à la méthicilline (SARM) au Québec-2ème édition*. Retrieved from <https://www.inspq.qc.ca/pdf/publications/489-MesuresPreventionControleSARM.pdf>. Consulté le 18/07/22
- Jorgensen, D., Scott, R., O'Riordan, W., & Tack, K. (2015). *A randomized, double-blind study comparing single-dose and short-course brilacidin to daptomycin in the treatment of acute bacterial skin & skin structure infections (ABSSSI)*. Paper presented

at the 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID).

- Kalmeijer, M. D., van Nieuwland-Bollen, E., Bogaers-Hofman, D., & de Baere, G. A. (2000). Nasal carriage of *Staphylococcus aureus* is a major risk factor for surgical-site infections in orthopedic surgery. *Infect Control Hosp Epidemiol*, *21*(5), 319-323. doi:10.1086/501763
- Khan, A., Wilson, B., & Gould, I. M. (2018). Current and future treatment options for community-associated MRSA infection. *Expert Opin Pharmacother*, *19*(5), 457-470. doi:10.1080/14656566.2018.1442826
- Knight, G. M., Budd, E. L., Whitney, L., Thornley, A., Al-Ghusein, H., Planche, T., & Lindsay, J. A. (2012). Shift in dominant hospital-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (HA-MRSA) clones over time. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, *67*(10), 2514-2522.
- Kong, H., Tong, L., Zhang, W., Fu, Y., & Li, X. (2014). Combined use of the BinaxNOW *Staphylococcus aureus* test with the Clearview PBP2a assay for the early detection of methicillin-resistant *S. aureus* from positive blood cultures. *Diagn Microbiol Infect Dis*, *78*(3), 226-228. doi:10.1016/j.diagmicrobio.2013.11.018
- Kowalski, R. P., Romanowski, E. G., Yates, K. A., & Mah, F. S. (2016). An independent evaluation of a novel peptide mimetic, Brilacidin (PMX30063), for ocular anti-infective. *Journal of Ocular Pharmacology and Therapeutics*, *32*(1), 23-27.
- Kushner, D. (1968). Halophilic bacteria. *Advances in applied microbiology*, *10*, 73-99.
- Landelle, C., Pagani, L., & Harbarth, S. (2013). Is patient isolation the single most important measure to prevent the spread of multidrug-resistant pathogens? *Virulence*, *4*(2), 163-171. doi:10.4161/viru.22641
- Larousse, E. (2021). Entérobactérie. Retrieved from [https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/ent%C3%A9robact%C3%A9rie/12810#:~:text=Famille%20de%20bacilles%20\(bact%C3%A9ries%20en,homme%20ou%20celui%20des%20animaux](https://www.larousse.fr/encyclopedie/medical/ent%C3%A9robact%C3%A9rie/12810#:~:text=Famille%20de%20bacilles%20(bact%C3%A9ries%20en,homme%20ou%20celui%20des%20animaux). Consulté le 17/10/21
- Laurent, F. (2010). Méthodes de détection rapide des SARM.
- Laxminarayan, R., Duse, A., Wattal, C., Zaidi, A. K., Wertheim, H. F., Sumpradit, N., . . . Goossens, H. (2013). Antibiotic resistance—the need for global solutions. *The Lancet infectious diseases*, *13*(12), 1057-1098.
- Lebeaux, D., & Revest, M. (2020). Bactériémie à *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) : vancomycine ou daptomycine ?

- Lee, A. S., de Lencastre, H., Garau, J., Kluytmans, J., Malhotra-Kumar, S., Peschel, A., & Harbarth, S. (2018). Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Nat Rev Dis Primers*, *4*, 18033. doi:10.1038/nrdp.2018.33
- Lee, K., Lee, J.-H., Ryu, S. Y., Cho, M. H., & Lee, J. (2014). Stilbenes reduce *Staphylococcus aureus* hemolysis, biofilm formation, and virulence. *Foodborne Pathogens and Disease*, *11*(9), 710-717.
- Lehtinen, S., Blanquart, F., Lipsitch, M., & Fraser, C. (2019). On the evolutionary ecology of multidrug resistance in bacteria. *PLoS Pathog*, *15*(5), e1007763. doi:10.1371/journal.ppat.1007763
- Lin, M.-F., & Lan, C.-Y. (2014). Antimicrobial resistance in *Acinetobacter baumannii*: From bench to bedside. *World Journal of Clinical Cases: WJCC*, *2*(12), 787.
- Lindsay, J. A. (2013). Hospital-associated MRSA and antibiotic resistance-what have we learned from genomics? *Int J Med Microbiol*, *303*(6-7), 318-323. doi:10.1016/j.ijmm.2013.02.005
- Logan, L. K., & Weinstein, R. A. (2017). The Epidemiology of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae: The Impact and Evolution of a Global Menace. *J Infect Dis*, *215*(suppl_1), S28-s36. doi:10.1093/infdis/jiw282
- Loomba, P. S., Taneja, J., & Mishra, B. (2010). Methicillin and Vancomycin Resistant *S. aureus* in Hospitalized Patients. *J Glob Infect Dis*, *2*(3), 275-283. doi:10.4103/0974-777x.68535
- Lucet, J. (2002). *Intérêt du dépistage du staphylocoque doré résistant à la méticilline en réanimation*. Paper presented at the Annales françaises d'anesthésie et de réanimation.
- Magiorakos, A.-P., Srinivasan, A., Carey, R. B., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., . . . Olsson-Liljequist, B. (2012). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, *18*(3), 268-281.
- Mainardi, J.-L. (2018). Les tests rapides de détection de la résistance aux antibiotiques: que demander, quelle pertinence clinique.
- Marcel, J. (2005). L'antibiogramme et son impact médical. *Antibiotiques*, *7*(1), 53-58.
- Maree, M., Thi Nguyen, L. T., Ohniwa, R. L., Higashide, M., Msadek, T., & Morikawa, K. (2022). Natural transformation allows transfer of SCCmec-mediated methicillin resistance in *Staphylococcus aureus* biofilms. *Nature communications*, *13*(1), 1-14.

- Marimuthu, K., Pittet, D., & Harbarth, S. (2014). The effect of improved hand hygiene on nosocomial MRSA control. *Antimicrob Resist Infect Control*, 3, 34. doi:10.1186/2047-2994-3-34
- Martin, R. M., & Bachman, M. A. (2018). Colonization, Infection, and the Accessory Genome of *Klebsiella pneumoniae*. *Front Cell Infect Microbiol*, 8, 4. doi:10.3389/fcimb.2018.00004
- Matuschek, E., Brown, D. F., & Kahlmeter, G. (2014). Development of the EUCAST disk diffusion antimicrobial susceptibility testing method and its implementation in routine microbiology laboratories. *Clinical Microbiology and Infection*, 20(4), O255-O266.
- Medina, E., & Pieper, D. H. (2016). Tackling Threats and Future Problems of Multidrug-Resistant Bacteria. *Curr Top Microbiol Immunol*, 398, 3-33. doi:10.1007/82_2016_492
- Mehraj, J., Witte, W., Akmatov, M. K., Layer, F., Werner, G., & Krause, G. (2016). Epidemiology of *Staphylococcus aureus* nasal carriage patterns in the community. *How to Overcome the Antibiotic Crisis*, 55-87.
- Mensa, B., Howell, G. L., Scott, R., & DeGrado, W. F. (2014). Comparative mechanistic studies of brilacidin, daptomycin, and the antimicrobial peptide LL16. *Antimicrob Agents Chemother*, 58(9), 5136-5145. doi:10.1128/aac.02955-14
- Miller, W. R., Murray, B. E., Rice, L. B., & Arias, C. A. (2016). Vancomycin-Resistant Enterococci: Therapeutic Challenges in the 21st Century. *Infect Dis Clin North Am*, 30(2), 415-439. doi:10.1016/j.idc.2016.02.006
- Molchanova, N., Hansen, P. R., & Franzyk, H. (2017). Advances in development of antimicrobial peptidomimetics as potential drugs. *Molecules*, 22(9), 1430.
- Munita, J. M., & Arias, C. A. (2016). Mechanisms of Antibiotic Resistance. *Microbiol Spectr*, 4(2). doi:10.1128/microbiolspec.VMBF-0016-2015
- Nathwani, D., Davey, P. G., & Marwick, C. A. (2010). MRSA: treating people with infection. *BMJ Clin Evid*, 2010.
- Neubeiser, A., Bonsignore, M., Tafelski, S., Alefelder, C., Schwegmann, K., Rüden, H., . . . Nachtigall, I. (2020). Mortality attributable to hospital acquired infections with multidrug-resistant bacteria in a large group of German hospitals. *J Infect Public Health*, 13(2), 204-210. doi:10.1016/j.jiph.2019.07.025
- Nguyen, L., Garcia, J., Gruenberg, K., & MacDougall, C. (2018). Multidrug-resistant *Pseudomonas* infections: hard to treat, but hope on the horizon? *Current infectious disease reports*, 20(8), 1-10.

- Nijnik, A., & Hancock, R. (2009). Host defence peptides: antimicrobial and immunomodulatory activity and potential applications for tackling antibiotic-resistant infections. *Emerg Health Threats J*, 2, e1. doi:10.3134/ehj.09.001
- Noble, D. B. (2009). Patient education on MRSA prevention and management: the nurse's vital role. *Medsurg Nurs*, 18(6), 375-378.
- Normanno, G., Firinu, A., Virgilio, S., Mula, G., Dambrosio, A., Poggiu, A., . . . Bolzoni, G. (2005). Coagulase-positive Staphylococci and Staphylococcus aureus in food products marketed in Italy. *International journal of food microbiology*, 98(1), 73-79.
- OMS. (2014). *Antimicrobial resistance global report on surveillance: 2014 summary*.
- OMS. (2017). L'OMS publie une liste de bactéries contre lesquelles il est urgent d'avoir de nouveaux antibiotiques [Press release]. Retrieved from <https://www.who.int/fr/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed> Consulté le 03/08/22
- OMS. (2020). Résistance aux antibiotiques. Retrieved from <https://www.who.int/fr/news-room/fact-sheets/detail/antibiotic-resistance> Consulté le 03/10/21
- OMS. (2021). Disability-adjusted life years (DALYs). Retrieved from <https://www.who.int/data/gho/indicator-metadata-registry/imr-details/158#> Consulté le 16/10/21
- Ong, M.-S., Magrabi, F., Post, J., Morris, S., Westbrook, J., Wobcke, W., . . . Coiera, E. (2013). Communication interventions to improve adherence to infection control precautions: a randomised crossover trial. *BMC infectious diseases*, 13(1), 1-9.
- Palavecino, E. L. (2014). Rapid methods for detection of MRSA in clinical specimens. *Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) protocols*, 71-83.
- Palavecino, E. L. (2020). Rapid Methods for Detection of MRSA in Clinical Specimens. *Methods Mol Biol*, 2069, 29-45. doi:10.1007/978-1-4939-9849-4_2
- Pang, Z., Raudonis, R., Glick, B. R., Lin, T. J., & Cheng, Z. (2019). Antibiotic resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: mechanisms and alternative therapeutic strategies. *Biotechnol Adv*, 37(1), 177-192. doi:10.1016/j.biotechadv.2018.11.013
- Parlet, C. P., Brown, M. M., & Horswill, A. R. (2019). Commensal Staphylococci Influence Staphylococcus aureus Skin Colonization and Disease. *Trends Microbiol*, 27(6), 497-507. doi:10.1016/j.tim.2019.01.008
- Patel, J. B., Gorwitz, R. J., & Jernigan, J. A. (2009). Mupirocin resistance. *Clinical Infectious Diseases*, 49(6), 935-941.

- Peacock, S. J., & Paterson, G. K. (2015). Mechanisms of Methicillin Resistance in *Staphylococcus aureus*. *Annu Rev Biochem*, 84, 577-601. doi:10.1146/annurev-biochem-060614-034516
- Pendleton, J. N., Gorman, S. P., & Gilmore, B. F. (2013). Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert review of anti-infective therapy*, 11(3), 297-308.
- Perron, G. G., Zasloff, M., & Bell, G. (2006). Experimental evolution of resistance to an antimicrobial peptide. *Proc Biol Sci*, 273(1583), 251-256. doi:10.1098/rspb.2005.3301
- PolyMedix. (2012). Randomized, Dose Ranging, Active Controlled Efficacy and Safety Evaluation of PMX-30063 As Initial Treatment for Acute Bacterial Skin and Skin Structure Infections (ABSSSI) Caused by *Staphylococcus Aureus*. Retrieved from <https://clinicaltrials.gov/ct2/show/NCT01211470> Consulté le 29/07/22
- Poovelikunnel, T., Gethin, G., & Humphreys, H. (2015). Mupirocin resistance: clinical implications and potential alternatives for the eradication of MRSA. *Journal of antimicrobial chemotherapy*, 70(10), 2681-2692.
- Pucci, M. J., & Bush, K. (2013). Investigational antimicrobial agents of 2013. *Clin Microbiol Rev*, 26(4), 792-821. doi:10.1128/cmr.00033-13
- Rasigade, J.-P., & Vandenesch, F. (2014). *Staphylococcus aureus*: a pathogen with still unresolved issues. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 510-514.
- Raza, T., Ullah, S. R., Mehmood, K., & Andleeb, S. (2018). Vancomycin resistant Enterococci: A brief review. *J Pak Med Assoc*, 68(5), 768-772.
- Robinson, J., Edgley, A., & Morrell, J. (2014). MRSA care in the community: why patient education matters. *Br J Community Nurs*, 19(9), 436-438, 440-431. doi:10.12968/bjcn.2014.19.9.436
- Rolain, J., Canton, R., & Cornaglia, G. (2012). Emergence of antibiotic resistance: need for a new paradigm. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(7), 615-616.
- Safain, K. S. (2020). *Detection of antibiotic resistance spectrum and resistance genes for aminoglycoside, macrolide, and β -lactam antibiotics using wound swab samples*. Brac University,
- Sanofi-aventis. (2020). Antibiothérapie commentée : la place de l'antibiogramme. Retrieved from <https://www.antibio-responsable.fr/antibiotiques/antibiogramme#:~:text=L'antibiogramme%20est%20un%20outil,et%20peut%20aider%20au%20diagnostic>. Consulté le 29/12/21
- Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *BioMed research international*, 2016.

- Schaechter, M. (2009). *Encyclopedia of microbiology*: Academic Press.
- Sciensano. (2018). *Surveillance of antimicrobial resistant bacteria in Belgian hospitals - Report 2018*. Retrieved from https://www.sciensano.be/sites/default/files/rapport_amr_y2018_final.pdf. Consulté le 12/07/22
- Sciensano. (2021). *Surveillance of bloodstream infections in Belgian hospitals*. Retrieved from https://www.wiv-isp.be/nsih/surv_sep/docs/BSI_Report_Sciensano_2021.pdf Consulté le 13/07/22
- Scott, R. W., Sonis, S. T., Korczak, B., Freeman, K. B., DeGrado, W. F., Kumar, A., . . . Ram, S. (2015). *Brilacidin, host defence peptide mimetic, one of a new class of immunomodulatory agents that can target multiple disease indications*. Paper presented at the 25th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID).
- Shields, P., & Tsang, A. Y. (2006). Mannitol salt agar plates protocols. Available from the *MicrobeLibrary* website: <http://www.microbelibrary.org/library/laboratory-test/3034-mannitol-salt-agar-plates-protocols>. Consulté le 19/07/22
- Steinmetz, T., Eliakim-Raz, N., Goldberg, E., Leibovici, L., & Yahav, D. (2015). Association of vancomycin serum concentrations with efficacy in patients with MRSA infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect*, 21(7), 665-673. doi:10.1016/j.cmi.2015.04.003
- Taylor, T. A., & Unakal, C. G. (2017). *Staphylococcus aureus*.
- Tenover, F. C. (2006). Mechanisms of antimicrobial resistance in bacteria. *The American journal of medicine*, 119(6), S3-S10.
- ThermoFisher. (2011). Stephaurex - ThermoFisher. In.
- ThermoFisher. (2015). Test d'agglutination au latex de la protéine fixatrice de pénicilline (PFP2). In.
- Theuretzbacher, U. (2013). Global antibacterial resistance: The never-ending story. *J Glob Antimicrob Resist*, 1(2), 63-69.
- Thirunavukkarasu, S., & Rathish, K. (2014). Evaluation of direct tube coagulase test in diagnosing staphylococcal bacteremia. *Journal of Clinical and Diagnostic Research: JCDR*, 8(5), DC19.
- Van Boeckel, T. P., Brower, C., Gilbert, M., Grenfell, B. T., Levin, S. A., Robinson, T. P., . . . Laxminarayan, R. (2015). Global trends in antimicrobial use in food animals. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(18), 5649-5654.

- Van Boeckel, T. P., Gandra, S., Ashok, A., Caudron, Q., Grenfell, B. T., Levin, S. A., & Laxminarayan, R. (2014). Global antibiotic consumption 2000 to 2010: an analysis of national pharmaceutical sales data. *Lancet Infect Dis*, *14*(8), 742-750.
doi:10.1016/s1473-3099(14)70780-7
- Van Hoecke, F., Deloof, N., & Claeys, G. (2011). Performance evaluation of a modified chromogenic medium, ChromID MRSA New, for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* from clinical specimens. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, *30*(12), 1595-1598.
- van Rijen, M., Bonten, M., Wenzel, R., & Kluytmans, J. (2008). Mupirocin ointment for preventing *Staphylococcus aureus* infections in nasal carriers. *Cochrane Database Syst Rev*, *2008*(4), Cd006216. doi:10.1002/14651858.CD006216.pub2
- Vandendriessche, S., Hallin, M., Catry, B., Jans, B., Deplano, A., Nonhoff, C., . . . Denis, O. (2012). Previous healthcare exposure is the main antecedent for methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* carriage on hospital admission in Belgium. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, *31*(9), 2283-2292.
- Vázquez-López, R., Solano-Gálvez, S. G., Juárez Vignon-Whaley, J. J., Abello Vaamonde, J. A., Padró Alonzo, L. A., Rivera Reséndiz, A., . . . Barrientos Fortes, T. (2020). *Acinetobacter baumannii* Resistance: A Real Challenge for Clinicians. *Antibiotics (Basel)*, *9*(4). doi:10.3390/antibiotics9040205
- Vestergaard, M., Frees, D., & Ingmer, H. (2019). Antibiotic Resistance and the MRSA Problem. *Microbiol Spectr*, *7*(2). doi:10.1128/microbiolspec.GPP3-0057-2018
- Vodovar, D., Marcadé, G., Raskine, L., Malissin, I., & Mégarbane, B. (2013). Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi: épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *La Revue de médecine interne*, *34*(11), 687-693.
- Walsh, C. (2003). Where will new antibiotics come from? *Nat Rev Microbiol*, *1*(1), 65-70.
doi:10.1038/nrmicro727
- Walsh, C. T., & Wencewicz, T. A. (2014). Prospects for new antibiotics: a molecule-centered perspective. *The Journal of antibiotics*, *67*(1), 7-22.
- Wang, C. H., Hsieh, Y. H., Powers, Z. M., & Kao, C. Y. (2020). Defeating Antibiotic-Resistant Bacteria: Exploring Alternative Therapies for a Post-Antibiotic Era. *Int J Mol Sci*, *21*(3). doi:10.3390/ijms21031061
- Wang, G., Zhao, G., Chao, X., Xie, L., & Wang, H. (2020). The Characteristic of Virulence, Biofilm and Antibiotic Resistance of *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Environ Res Public Health*, *17*(17). doi:10.3390/ijerph17176278

- Wattal, C., Kler, N., Oberoi, J. K., Fursule, A., Kumar, A., & Thakur, A. (2020). Neonatal Sepsis: Mortality and Morbidity in Neonatal Sepsis due to Multidrug-Resistant (MDR) Organisms: Part 1. *Indian J Pediatr*, 87(2), 117-121. doi:10.1007/s12098-019-03106-z
- Wilke, M. H. (2010). Multiresistant bacteria and current therapy-the economical side of the story. *European journal of medical research*, 15(12), 571-576.
- Xu, Z., Hou, Y., Peters, B. M., Chen, D., Li, B., Li, L., & Shirliff, M. E. (2016). Chromogenic media for MRSA diagnostics. *Molecular biology reports*, 43(11), 1205-1212.
- Zahn, M., Bhamidimarri, S. P., Baslé, A., Winterhalter, M., & Van den Berg, B. (2016). Structural insights into outer membrane permeability of *Acinetobacter baumannii*. *Structure*, 24(2), 221-231.

La résistance bactérienne aux antibiotiques est l'un des plus grands fléaux sanitaires du 21^{ème} siècle dans le monde, y compris en Belgique. En raison d'une utilisation inadéquate des antibiotiques et d'un apport insuffisant de nouvelles antibiothérapies dans l'arsenal thérapeutique, de nombreuses bactéries multi-résistantes ont proliféré rapidement, et les répercussions sanitaires et économiques associées à ce phénomène sont dramatiques.

Staphylococcus aureus résistant à la méticilline (MRSA) est l'un des pathogènes multi-résistants les plus préoccupants selon l'Organisation Mondiale de la Santé. Responsable d'infections nosocomiales et communautaires difficiles à éradiquer, il est un foyer de transmission des gènes de résistance et il est capable de développer rapidement de nouvelles résistances vis-à-vis de l'ensemble des antibiotiques disponibles sur le marché. Afin de combattre MRSA, de nombreuses mesures ont été mises en place dans le but de prévenir sa propagation en Belgique : le dépistage, la prévention, l'optimisation de la prise en charge des patients colonisés ainsi que la recherche de nouveaux traitements en sont les éléments centraux.

Ces quatre mesures feront l'objet de ce mémoire. Tout d'abord, la problématique des bactéries multi-résistantes y sera définie et contextualisée, et sera suivie d'une description générale de MRSA et de son principal mécanisme de résistance. Un aperçu épidémiologique de MRSA en Belgique sera également apporté. Ensuite, les principales méthodes de dépistage de MRSA et leur importance seront mis en exergue. Leur processus ainsi que leurs avantages et inconvénients y seront développés. Les techniques de prévention et les recommandations de prise en charge des patients colonisés seront ensuite abordées ainsi que leur nécessité dans la lutte contre MRSA. Enfin, la dernière partie de ce mémoire abordera l'importance de la recherche de nouveaux antibiotiques et analysera de nouveaux traitements prometteurs, en particulier une nouvelle molécule, la brilacidine.

Bacterial resistance to antibiotics is one of the biggest health scourges of the 21st century in the world, Belgium included. Due to the inadequate use of antibiotics and the insufficient supply of new bactericidal molecules in the therapeutic arsenal, many multidrug-resistant bacteria have rapidly proliferated, and the health and economic consequences associated with this phenomenon are dramatic.

Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) is one of the most concerning multidrug-resistant bacteria according to the World Health Organization. Responsible for nosocomial and community infections that are particularly difficult to eradicate, MRSA is a source of transmission of resistance genes and this microorganism can quickly develop resistance against all antibiotics currently available on the market. To combat MRSA, numerous measures have been implemented to prevent its spread in Belgium: screening, prevention, optimization of the colonized patients nursing, and research into new treatments are the central elements of this struggle.

These four measures will be the subject of this dissertation. First, the multidrug-resistant bacteria issue will be defined and contextualized, and this will be followed by a general description of MRSA and its main resistance mechanism. An epidemiological overview will also be provided. Then, the main screening methods of MRSA and its importance will be highlighted. Its processes but also its advantages and disadvantages too will be developed. Prevention techniques and recommendations for the colonized patients nursing will be discussed afterwards, as well as its necessity to fight MRSA. Finally, the last part of this dissertation will discuss the importance of research into new antibiotics and analyze promising treatments, especially brilacidin, a new molecule.