



HAL
open science

Alternatives aux carbapénèmes en réanimation : étude de la prévalence du portage des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (e-blse), de leur sensibilité aux antibiotiques, et caractérisation moléculaire des mécanismes de résistance

Thibaut Cockenpot

► **To cite this version:**

Thibaut Cockenpot. Alternatives aux carbapénèmes en réanimation : étude de la prévalence du portage des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (e-blse), de leur sensibilité aux antibiotiques, et caractérisation moléculaire des mécanismes de résistance. Médecine humaine et pathologie. 2016. dumas-01591997

HAL Id: dumas-01591997

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01591997>

Submitted on 22 Sep 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Alternatives aux carbapénèmes en réanimation : étude de la prévalence du portage des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (e-blse), de leur sensibilité aux antibiotiques, et caractérisation moléculaire des mécanismes de résistance.

Thibaut Cockenpot

► **To cite this version:**

Thibaut Cockenpot. Alternatives aux carbapénèmes en réanimation : étude de la prévalence du portage des entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu (e-blse), de leur sensibilité aux antibiotiques, et caractérisation moléculaire des mécanismes de résistance.. Médecine humaine et pathologie. 2016. <dumas-01591997>

HAL Id: dumas-01591997

<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-01591997>

Submitted on 22 Sep 2017

HAL is a multi-disciplinary open access archive for the deposit and dissemination of scientific research documents, whether they are published or not. The documents may come from teaching and research institutions in France or abroad, or from public or private research centers.

L'archive ouverte pluridisciplinaire **HAL**, est destinée au dépôt et à la diffusion de documents scientifiques de niveau recherche, publiés ou non, émanant des établissements d'enseignement et de recherche français ou étrangers, des laboratoires publics ou privés.

Thèse pour l'obtention du
DIPLOME D'ETAT DE DOCTEUR EN MEDECINE

Présentée et soutenue publiquement
A Bordeaux, le 29 septembre 2016 par

Thibaut COCKENPOT

Né le 12 avril 1988 à l'Union (31)

Alternatives aux carbapénèmes en réanimation : étude de la prévalence du portage des entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (E-BLSE), de leur sensibilité aux antibiotiques, et caractérisation moléculaire des mécanismes de résistance

Directeur de thèse

Madame le Professeur Véronique DUBOIS

Jury

Madame le Professeur Cécile BEBEAR,
Monsieur le Professeur Didier GRUSON,
Monsieur le Professeur Gilles HILBERT,
Madame le Docteur Chloé GISBERT,
Monsieur le Docteur Julien GORET

Présidente,
Rapporteur,
Juge,
Juge,
Juge.

A mon fils Gaspard

Au président du jury

Madame le Professeur Cécile BEBEAR

Professeur des Universités-Praticien hospitalier

Laboratoire de Bactériologie

Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux

Je vous suis très reconnaissant d'avoir accepté de présider ce jury. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.

Aux membres du jury

Madame le Docteur Chloé GISBERT

Praticien Hospitalier

Service de Réanimation Polyvalente

Centre Hospitalier de la Côte Basque

Je te remercie de me faire l'honneur de composer ce jury et d'avoir accepté de juger ce travail. Sois assurée de ma sincère considération.

Monsieur le Professeur Gilles HILBERT

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Service de Réanimation Médicale

Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux

Vous me faites l'honneur de juger ce travail. Je vous remercie pour toute l'attention que vous voudrez lui porter. Veuillez trouver ici le témoignage de mon profond respect.

Monsieur le Docteur Julien GORET

Assistant Hospitalo-Universitaire

Laboratoire de Bactériologie

Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux

Je te suis très reconnaissant d'avoir accepté d'être membre de ce jury. Je te remercie pour ton sens du partage et ta pédagogie.

Au rapporteur

Monsieur le Professeur Didier GRUSON

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Service de Réanimation Médicale

Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux

Je vous remercie d'avoir accepté d'être le rapporteur de ce travail. Veuillez trouver ici le témoignage de ma très profonde gratitude.

Au directeur de thèse

Madame le Professeur Véronique DUBOIS

Professeur des Universités-Praticien Hospitalier

Laboratoire de Bactériologie

Centre Hospitalier Universitaire de Bordeaux

Je te suis très reconnaissant d'avoir encadré ce travail. Je tiens à t'exprimer mes plus sincères remerciements pour ta disponibilité, tes conseils, ta patience et ta sympathie. Ce fut un plaisir de travailler à tes côtés.

Remerciements

A Maeva, pour son indéfectible amour.

Merci d'être là et de m'avoir donné un si bel enfant ! A la mirguette.

A mes parents, pour votre affection, votre bienveillance et votre présence à chacune des étapes importantes de ma vie. Merci de m'avoir donné le goût de tant de choses.

A ma sœur et à mes frères, sacrés modèles pour un petit garçon. Loïc ne t'en fais pas, nous irons à Aragón en 2017 pour un énième titre du doctor !

A mes grands-parents et à ma famille.

A mes amis, compagnons aveugles (ou pas), Chaminous, Gimontois, Bordelais ou Limougeauds. A tous ces beaux moments partagés. Aux flaconades.

A Françoise Durrieu, Valérie Dumas et Jean-François Moreau, pour votre enseignement durant mon internat et pour votre grande sympathie.

A toutes les équipes aux côtés desquelles j'ai eu le plaisir d'évoluer pendant quatre ans.

A Catherine André,

Je te remercie pour ta participation active à cette thèse.

Au laboratoire de Bactériologie,

Je remercie l'ensemble des praticiens hospitaliers du service qui ont su me faire aimer la microbiologie.

Au service de Réanimation Médicale,

Je remercie l'équipe médicale et paramédicale pour leur accueil et leur sympathie pendant ces 6 mois passés au sein de leur unité.

« Préservons l'intérêt collectif sans nuire à l'intérêt individuel ».

Liste des abréviations

ADN	acide désoxyribonucléique
AMK	amikacine
ARN	acide ribonucléique
AUC	aire sous la courbe
BET	bromure d'éthidium
BHR	bactérie hautement résistante
BHRe	bactérie hautement résistante émergente
BL	β -lactamine
BLSE	β -lactamase à spectre étendu
BMR	bactérie multi-résistante
BSAC	British Society for Antimicrobial Chemotherapy
C1G	céphalosporine de première génération
C2G	céphalosporine de deuxième génération
C3G	céphalosporine de troisième génération
C4G	céphalosporine de quatrième génération
CA-SFM	Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAZ	ceftazidime
CHDL	carbapenems hydrolyzing class D β -lactamases
CHU	Centre Hospitalier Universitaire
CIP	ciprofloxacine
CLSI	Clinical and Laboratory Standards Institute
Cmax	concentration maximale
CMI	concentration minimale inhibitrice
CMT	Complex Mutant TEM
CRO	ceftriaxone
CTX-M	BLSE de type Céfotaximase-Munich
DI	densité d'incidence
dNTP	désoxyribonucléotides triphosphates
DO	densité optique
EARSS	European Antimicrobial Resistance Surveillance System
E-BLSE	entérobactérie productrice de β -lactamase à spectre étendu
EDTA	acide éthylène diamine tétra-acétique
EHPAD	établissement d'hébergement pour personnes âgées dépendantes

EPC	entérobactérie productrice de carbapénémase
ERG	entérocoque résistant aux glycopeptides
ERT	ertapénème
ES	établissement de santé
EUCAST	European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing
F	femme
FDA	Food and Drug Administration
FEP	céfépime
FOS	fosfomycine
FOX	céfoxitine
GEN	gentamicine
GES	Guyana extended-spectrum- β -lactamase
GH	groupe hospitalier
H	homme
HCSP	Haut Conseil de la Santé Publique
I	intermédiaire
IBL	inhibiteur de β -lactamase
IMI	imipénémase
IMP	imipénème
IN	infection nosocomiale
JH	jour d'hospitalisation
KPC	<i>Klebsiella pneumoniae</i> carbapenemase
LPS	lipopolysaccharide
MALDI-TOF	Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation - Time Of Flight
MBL	métallo- β -lactamase
MDR	multiple drug resistant
MgCl ₂	chlorure de magnésium
MH	Mueller Hinton
NABM	Nomenclature des Actes de Biologie Médicale
NaCl	chlorure de sodium
NDM	New Delhi Metallo- β -lactamase
NIT	nitrofurantoïne
OMS	Organisation Mondiale de la Santé
OXA	oxacillinase
PAVM	pneumopathie acquise sous ventilation mécanique
PB	paire de bases

PCC	précautions complémentaires contact
PCR	polymerase chain reaction
PDR	pandrug resistant
PHA	produit hydro-alcoolique
Pk/Pd	pharmacocinétique/pharmacodynamique
PLP	protéine liant les pénicillines
PTZ	pipéracilline-tazobactam
PS	précautions standard
R	résistant
Raisin	Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des IN
S	sensible
SARM	Staphylocoque aureus résistant à la méticilline
SDS	sodium dodecyl sulfate
SHV	sulphydryl variable
SIL	système informatique du laboratoire
SME	<i>Serratia marcescens</i> enzyme
SXT	triméthoprim-sulfaméthoxazole
TEM	témocilline
TOB	tobramycine
TRI	TEM résistante aux inhibiteurs
TrisHCl	Tris hydrochloride
VIM	Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase
VPN	valeur prédictive négative
VPP	valeur prédictive positive
XDR	extensively drug resistant

Table des matières

Liste des abréviations	8
Table des matières	11
Liste des figures et tableaux	13
Introduction et objectifs.....	17
Etude bibliographique	20
1. Entérobactéries	20
1.1. Taxonomie et phylogénie	20
1.2. Habitat et pathogénie.....	20
1.3. Structure et caractères cultureux	21
1.4. Manifestations cliniques	21
1.5. <i>Escherichia coli</i>	22
1.6. <i>Klebsiella pneumoniae</i>	23
2. Résistance aux antibiotiques	23
2.1. Catégorisation clinique des souches bactériennes.....	23
2.2. Mécanismes et supports de la résistance aux β -lactamines.....	25
2.3. Les β -lactamases	26
2.3.1. Les β -lactamines : cibles des β -lactamases.....	27
2.3.2. Classifications des β -lactamases : Ambler et Bush	28
2.3.2.1. Enzymes de classe A (classification d'Ambler)	28
2.3.2.2. Enzymes de classe B (classification d'Ambler)	29
2.3.2.3. Enzymes de classe C (classification d'Ambler)	29
2.3.2.4. Enzymes de classe D (classification d'Ambler).....	30
2.3.3. Résistance naturelle des entérobactéries vis-à-vis des β -lactamines	30
2.4. Résistance acquise des entérobactéries vis-à-vis des C3G : les BLSE	32
2.4.1. Historique et différents types d'enzymes	33
2.4.1.1. BLSE de type TEM et SHV.....	33
2.4.1.2. BLSE de type OXA	34
2.4.1.3. BLSE de type CTX-M	35
2.5. Résistance acquise des entérobactéries vis-à-vis des C3G : autres phénotypes résistants	39
2.5.1. Phénotype « céphalosporinase haut niveau ».....	39
2.5.2. Phénotype « résistant aux carbapénèmes ».....	40
2.5.2.1. Les carbapénémases.....	41
2.5.2.2. Associations de mécanismes de résistance	44
3. Entérobactéries productrices de BLSE	45
3.1. Notion de Bactérie Multi-Résistante (BMR).....	45
3.2. Transmission croisée et pression de sélection	47
3.2.1. Transmission croisée	47
3.2.2. Pression de sélection des antibiothérapies.....	48
3.3. Portage digestif de E-BLSE.....	49
3.3.1. Situation épidémiologique	49
3.3.2. Facteurs de risque de colonisation digestive à E-BLSE	50
3.4. Infections à E-BLSE	51
3.4.1. Situation épidémiologique	51
3.4.2. Facteurs de risque d'infection à E-BLSE.....	52
3.5. Lutte contre les E-BLSE	53
3.5.1. Lutte contre la transmission croisée.....	54
3.5.1.1. Précautions standard (PS)	54
3.5.1.2. Précautions complémentaires « contact » (PCC)	55
3.5.1.3. Dépistage du portage digestif E-BLSE.....	56

3.5.1.4. Traitement d'une colonisation digestive à E-BLSE	57
3.5.2. Lutte contre la pression de sélection des antibiotiques	58
3.5.3. Traitement des infections à E-BLSE : quelles alternatives aux carbapénèmes en réanimation ?	59
Matériels et méthodes.	63
4. Patients, prélèvements et souches.....	63
5. Méthode diagnostique pour le dépistage du portage digestif de E-BLSE.....	64
5.1. Mise en culture sur milieu chromID EBSL®	64
5.2. Identification bactérienne par spectrométrie de masse MALDI-TOF	65
5.3. Détection de l'activité BLSE par le test MAST® AMPC & ESBL DETECTION DISCS	66
5.4. Validation et communication orale du résultat	67
6. Identification moléculaire des gènes codant pour les BLSE.....	67
6.1. Extraction d'ADN génomique par technique dite « SET »	67
6.2. Réaction d'amplification par PCR	68
6.2.1. Amorces.....	69
6.2.2. Préparation du mélange réactionnel (mix).....	70
6.2.3. Conditions de PCR.....	70
6.2.4. Migration des amplicons par électrophorèse sur gel d'agarose	70
6.2.5. Révélation des produits d'amplification par le BET	71
7. Etude de la sensibilité aux antibiotiques.....	71
7.1. Antibiogramme en milieu gélosé par diffusion.....	71
7.2. Détermination des CMI par méthode E-test.....	72
8. Etude des infections à E-BLSE chez les patients porteurs de E-BLSE	73
Résultats	75
9. Etude de la prévalence du portage digestif de E-BLSE	75
9.1. Résultats des dépistages, patients porteurs et souches E-BLSE.....	75
9.1.1. Dépistages.....	75
9.1.2. Patients porteurs	76
9.1.3. Souches E-BLSE	77
9.2. Résultats de l'identification moléculaire des gènes de résistance <i>bla</i>	79
10. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches E-BLSE.....	81
10.1. Résultats des antibiogrammes en milieu gélosé par diffusion.....	81
10.2. Résultats des CMI par méthode E-test	83
11. Etude des infections à E-BLSE chez les patients porteurs de E-BLSE au cours de leur séjour en réanimation	85
Discussion et perspectives	88
Conclusion.....	101
Références bibliographiques.....	104
Annexes.....	120

Liste des figures et tableaux

FIGURES

<u>Figure 1</u> : structure cellulaire d'une entérobactérie	21
<u>Figure 2</u> : un exemple d'indice Pk/Pd : C _{max} /CMI, AUC/CMI et T>CMI (W. Craig, 1998).....	24
<u>Figure 3</u> : principaux mécanismes de résistance aux β-lactamines chez les entérobactéries (Nordmann et al, 2012).....	25
<u>Figure 4</u> : structure chimique des principales β-lactamines et inhibiteurs de β-lactamase (Nordmann et al, 2012).....	27
<u>Figure 5</u> : relation des différents groupes CTX-M (D'Andrea et al, 2013).....	36
<u>Figure 6</u> : complexité hiérarchique des gènes <i>bla</i> _{CTX-M} au sein des structures génétiques et clones bactériens qui participent au maintien, à la mobilisation et à la propagation de ces gènes (Canton et al, 2012).....	37
<u>Figure 7</u> : représentation de la transmission croisée (Woerther et al, 2013).....	47
<u>Figure 8</u> : prévalence du portage digestif E-BLSE au niveau mondial chez des individus en bonne santé (Karanika et al, 2016).....	49
<u>Figure 9</u> : densités d'incidence des infections à E-BLSE et SARM pour 1000 journées d'hospitalisation en France (BMR-Raisin 2013).....	51
<u>Figure 10</u> : évolution de la consommation de β-lactamines en nombre de doses définies journalières (DDJ)/1000 journées d'hospitalisation (JH) dans la cohorte de 621 établissements ayant participé de 2009 à 2014 (pourcentage d'évolution entre 2009 et 2014) (ATB-Raisin 2014).....	53
<u>Figure 11</u> : milieu de culture chromogène et sélectif chromID ESBL® (Biomérieux®).....	64
<u>Figure 12</u> : méthode pour l'identification des bactéries par spectrométrie de masse MALDI-TOF à partir d'une culture bactérienne (Clark et al. 2013).....	65
<u>Figure 13</u> : schéma général du fonctionnement du spectromètre de masse MALDI-TOF (Clark et al. 2013).....	65
<u>Figure 14</u> : notice d'utilisation du test MAST® AMPC & ESBL DETECTION DISCS D68C.....	67
<u>Figure 15</u> : révélation au BET sous UV des produits de PCR ayant migré sur gel sous forme de bandes d'ADN fluorescentes.....	71

<u>Figure 16</u> : grille d'antibiogramme standard du laboratoire de bactériologie pour les β -lactamines chez les entérobactéries et images en « bouchon de champagne » caractéristiques du phénotype BLSE.....	72
<u>Figure 17</u> : CMI par méthode E-test (principe de lecture).....	73
<u>Figure 18</u> : nombre de dépistages et résultats.....	75
<u>Figure 19</u> : dépistage des patients porteurs de E-BLSE et caractère importé ou acquis des souches.....	76
<u>Figure 20</u> : résultats des dépistages en terme de souches E-BLSE de portage digestif.....	77
<u>Figure 21</u> : distribution des espèces bactériennes parmi les 63 souches E-BLSE de portage digestif non redondantes.....	78
<u>Figure 22</u> : distribution des espèces bactériennes parmi les 50 souches E-BLSE de portage digestif analysées.....	78
<u>Figure 23</u> : prévalence des gènes de résistance <i>bla</i> parmi les 50 souches E-BLSE de portage digestif analysées.....	79
<u>Figure 24</u> : distribution et combinaisons des gènes de résistance <i>bla</i> chez les 50 souches E-BLSE de portage digestif analysées.....	79
<u>Figure 25</u> : sensibilité (%) par antibiogramme des souches E-BLSE de portage digestif.....	81
<u>Figure 26</u> : distribution des valeurs de CMI par méthode E-test pour les souches E-BLSE de portage digestif.....	83

TABLEAUX

<u>Tableau 1</u> : classification des β -lactamases (Bush et al, 2010).....	28
<u>Tableau 2</u> : principales carbapénémases chez les entérobactéries (Nordmann et al, 2012).....	41
<u>Tableau 3</u> : distribution mondiale des différents types de BLSE de classe A en portage digestif chez des individus en bonne santé (Karanika et al, 2016).....	49
<u>Tableau 4</u> : évolution des taux d'incidence des E-BLSE au total pour 1000 JH de 2002 à 2013 (données globales) (BMR-Raisin 2013).....	52
<u>Tableau 5</u> : répartition (%) des souches E-BLSE selon l'espèce d'entérobactérie (BMR-Raisin 2013).....	52
<u>Tableau 6</u> : répartition (nombre et %) des souches E-BLSE par type de prélèvements (BMR-Raisin 2013).....	52
<u>Tableau 7</u> : évolution des taux d'incidence des E-BLSE en réanimation pour 1000 JH de 2002 à 2013 (données globales) (BMR-Raisin 2013).....	52
<u>Tableau 8</u> : liste des amorces utilisées.....	69
<u>Tableau 9</u> : patients porteurs de souches E-BLSE d'acquisition.....	77
<u>Tableau 10</u> : combinaisons des différents gènes de résistance <i>bla</i> des 50 souches E-BLSE de portage digestif analysées.....	79
<u>Tableau 11</u> : sensibilité aux β -lactamines des souches E-BLSE de portage digestif (par antibiogramme).....	81
<u>Tableau 12</u> : sensibilité aux autres antibiotiques des souches E-BLSE de portage digestif (par antibiogramme).....	81
<u>Tableau 13</u> : comparaison des résultats de sensibilité entre diamètres et CMI.....	84
<u>Tableau 14</u> : comparaison des résultats de sensibilité entre diamètres et CMI en fonction de l'espèce bactérienne et des gènes de résistance <i>bla</i>	84
<u>Tableau 15</u> : résultats des prélèvements cliniques positifs à E-BLSE et relation avec le portage digestif.....	85

INTRODUCTION

Introduction et objectifs

Les entérobactéries correspondent à une vaste famille de bactéries qui sont, pour la plupart, commensales du tractus digestif de l'Homme et des animaux. *Escherichia coli* est l'espèce aérobie quantitativement la plus importante du microbiote intestinal, mais c'est également la première espèce responsable d'infections communautaires et nosocomiales [1].

Le traitement des infections à entérobactéries fait très souvent appel aux β -lactamines, en particulier à l'hôpital. Cependant, l'efficacité de ces molécules est remise en cause par l'existence de nombreux mécanismes de résistance acquise [2]. De fait, la résistance bactérienne aux antibiotiques constitue aujourd'hui un problème majeur de santé publique au niveau mondial. En 2014, un rapport de l'Organisation Mondiale de la Santé (OMS) révèle que cette grave menace n'est plus une prévision, mais bien une réalité dans chaque région du monde [3]. Une bactérie est dite multi-résistante (BMR) lorsqu'elle n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique, du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques [4]. En France, la lutte contre les BMR est une priorité nationale de santé qui implique toute la communauté médicale. Parmi les BMR, les entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (E-BLSE), résistantes aux céphalosporines de 3^{ème} génération (C3G), ont pris une place très importante en raison de leur fréquence élevée et de leur fort potentiel pathogène. Mais c'est aussi leur commensalisme, et le caractère aisément transférable de leurs mécanismes de résistance qui font des E-BLSE des BMR cibles du programme national visant à prévenir et contrôler leur diffusion [5].

Au cours des années, et parallèlement à l'utilisation accrue des β -lactamines, sont apparues des entérobactéries produisant des β -lactamases au spectre de plus en plus large. Les β -lactamases à spectre étendu (BLSE) sont des enzymes hydrolysant les pénicillines et les céphalosporines, mais épargnant les céphamycines et les carbapénèmes. Les premières souches E-BLSE ont été rapportées au début des années 1980, peu après l'introduction en clinique des C3G. Dans les années 1980-90, les BLSE dites « classiques » – dérivées des enzymes TEM et SHV – étaient produites principalement par des souches de *Klebsiella* spp., et *Enterobacter* spp. Ces premières E-BLSE ont été observées à l'hôpital, et en particulier dans les services de réanimation où elles étaient responsables d'infections nosocomiales. Depuis les années 2000, nous assistons au niveau mondial à une dissémination

majeure, notamment au sein de la communauté, de « nouvelles » BLSE de type CTX-M produites principalement par *E. coli*, fréquemment retrouvées en situation de portage digestif [6].

En réanimation, le risque d'infections nosocomiales est bien plus important que celui encouru en hospitalisation conventionnelle [7], et cette vaste propagation des E-BLSE est au cœur des préoccupations des réanimateurs. En effet, les carbapénèmes sont devenus le traitement de référence des infections graves à E-BLSE [8], mais leur utilisation immodérée favorise en retour l'émergence et la diffusion d'entérobactéries productrices de carbapénémase (EPC) [9]. Il apparaît aujourd'hui primordial de préserver les carbapénèmes, car cette multi-résistance nous expose au risque réel d'impasse thérapeutique. Dans cette démarche d'épargne des carbapénèmes, la prescription d'une antibiothérapie appropriée pour traiter une infection grave chez un patient porteur d'une E-BLSE relève aujourd'hui du défi thérapeutique [10].

Nous avons réalisé une étude rétrospective et monocentrique, entre le 1^{er} janvier et le 30 juin 2015, dans le but d'étudier la prévalence du portage digestif de E-BLSE en contexte non-épidémique chez les patients du service de réanimation médicale du Groupe Hospitalier (GH) Pellegrin au Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de Bordeaux. Les souches ont été isolées à partir des prélèvements de dépistage rectal effectués de façon systématique chez les patients du service, et ont été identifiées au niveau de l'espèce par spectrométrie de masse. Pour chaque souche E-BLSE disponible, nous avons recherché par PCR les gènes codant pour les principales BLSE et pénicillinases circulant en France. Notre deuxième objectif a été d'étudier la sensibilité aux antibiotiques de ces souches E-BLSE de portage, en privilégiant les molécules qui pourraient constituer une alternative aux carbapénèmes en cas d'infection sévère. Enfin, un objectif secondaire de cette étude a été d'établir si les patients identifiés porteurs d'une E-BLSE ont présenté une infection à E-BLSE durant leur séjour en réanimation, en analysant les résultats bactériologiques des prélèvements biologiques réalisés à visée diagnostique chez ces patients.

ETUDE BIBLIOGRAPHIQUE

Etude bibliographique

1. Entérobactéries

1.1. Taxonomie et phylogénie

Au sein du règne *Bacteria*, les entérobactéries appartiennent à l'embranchement *Proteobacteria*. Le terme protéobactéries vient du grec Protée, dieu marin qui avait la capacité de se métamorphoser. Cela fait référence à la grande variété de bactéries au sein de ce groupe. L'analyse de la séquence du gène codant l'acide ribonucléique (ARN) ribosomique 16S permet de diviser les protéobactéries en 6 catégories, allant de α à ζ . Les entérobactéries appartiennent à la classe des *Gamma Proteobacteria*, puis à l'ordre des *Enterobacteriales*.

La famille des *Enterobacteriaceae* est une vaste famille qui représente près des trois quarts des isollements d'un laboratoire de bactériologie médicale [1]. C'est une famille hétérogène qui se compose d'environ 40 genres de bactéries et de plus de 130 espèces. Les espèces les plus communément isolées en bactériologie clinique appartiennent aux genres *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella* et *Yersinia*.

L'ère de la génomique a bouleversé la taxonomie des entérobactéries. L'arbre phylogénétique est désormais construit à partir des séquences d'ARN ribosomique 16S des entérobactéries et la classification traditionnelle en « tribus » fondée sur quelques caractères biochimiques est actuellement caduque [1].

1.2. Habitat et pathogénie

La plupart des entérobactéries ont comme habitat préférentiel le tractus digestif de l'Homme et des animaux (germes commensaux : *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *Klebsiella* sp.), bien qu'elles puissent également être retrouvées dans le milieu extérieur (germes saprophytes : *Serratia* sp., *Enterobacter* sp.). Les entérobactéries se propagent facilement entre les humains par le manuportage ainsi que par la nourriture et l'eau contaminées. Elles ont une propension à acquérir du matériel

généétique par transfert horizontal de gènes, principalement par le biais de plasmides et de transposons (cf. 2.2.).

L'ensemble des entérobactéries peut schématiquement être subdivisé en deux groupes responsables de deux grands types de manifestations pathologiques : (i) d'une part les espèces pathogènes pour l'intestin dont l'ingestion provoque une infection intestinale à type de diarrhées (*Salmonella* sp., *Yersinia* sp., *Shigella* sp. et certaines souches d'*E. coli*) ou un syndrome bactériémique (*Salmonella typhi*) ; (ii) d'autre part les entérobactéries commensales du microbiote intestinal ou saprophytes, qui sont des pathogènes opportunistes (*E. coli*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp., *Proteus* sp., *Morganella* sp., *Providencia* sp., *Serratia* sp., *Citrobacter* sp.). Ces espèces sont responsables d'infections extra-intestinales, en particulier d'infections urinaires.

1.3. Structure et caractères cultureux

Les entérobactéries sont des bacilles à Gram négatif, le plus souvent courts (1 à 6 µm), droits, immobiles ou mobiles par une ciliature péritriche (Figure 1), aéro-anaérobie facultatifs, fermentaires, oxydase négative, catalase positive, nitrate réductase positive (rares exceptions).

L'ensemble de ces bactéries pousse habituellement très aisément sur milieux ordinaires. La température optimale de croissance est généralement de 35 à 37 °C, à l'exception de quelques genres tels *Yersinia*, *Pantoea* et *Erwinia*.

Les entérobactéries possèdent de très nombreux antigènes différents dont quelques-uns peuvent être utilisés pour le diagnostic : antigènes O [antigène somatique de paroi constitué de la partie polysaccharidique du lipopolysaccharide (LPS) thermostable à 100°C], antigènes H (antigène flagellaire thermolabile, composé de protéines appelées flagellines), antigènes d'enveloppe (K, Vi...).

1.4. Manifestations cliniques

Les entérobactéries ont un spectre pathogène très large. Ce sont les bactéries les plus fréquemment impliquées en pathologie infectieuse humaine, à la fois dans les infections communautaires et nosocomiales [11], ce qui s'explique par leur abondance dans l'intestin, leur mobilité, leur vitesse de multiplication, et l'acquisition

de mécanismes de résistance aux antibiotiques. Cependant, seul un petit nombre d'espèces dont *E. coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *P. mirabilis*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*, et *Serratia marcescens*, est à l'origine de la majorité des infections [12]. Il s'agit principalement d'infections urinaires, de bactériémies, de pneumopathies nosocomiales et associées au soins, de diverses infections intra-abdominales dont les péritonites, et de méningites [13].

1.5. *Escherichia coli*

E. coli est l'espèce la plus fréquemment isolée dans un laboratoire de bactériologie, et de loin le pathogène le plus important pour les humains [11]. C'est un commensal de l'appareil digestif humain et animal à sang chaud qui représente à lui seul la plus grande partie de la flore bactérienne aérobie de l'intestin, à raison de 10^6 à 10^9 bactéries par gramme de selles (flore totale : 10^{11} à 10^{12} bactéries par gramme) [14]. De plus, *E. coli* est également retrouvé comme saprophyte de l'eau et des boues [15]. Cette ubiquité peut s'expliquer par la diversité de l'espèce. En effet, l'espèce *E. coli* totalise environ 20.000 gènes [16] et une souche *E. coli* comprend 4200 à 5500 gènes au sein de son génome. L'espèce *E. coli* est actuellement classée en huit groupes phylogénétiques : A, B1, B2, C, D, E, F appartenant à *E. coli stricto sensu* alors que le huitième correspond à *E. coli* clade I [17]. Les quatre groupes principaux sont A, B1, B2, et D.

En raison de divers facteurs de virulence et de différents mécanismes pathogéniques, les infections à *E. coli* sont de gravité très variable. Elles sont de deux types : (i) infections du tractus digestif entraînant des diarrhées, (ii) et infections extra-intestinales, principalement des infections urinaires [18]. Les souches dites « uropathogènes » parviennent à coloniser l'arbre urinaire grâce à la présence de pili ou fimbriae (adhésines) à leur surface et pour lesquels il existe des récepteurs à la surface des cellules épithéliales urinaires. En général, l'utilisation de matériel de type cathéter, sonde urinaire, ou sonde d'intubation oro-trachéale favorise les infections nosocomiales (IN) à *E. coli* qui représentent environ 26 % des IN au sein des établissements de santé français [19] et 9,1 % des IN en réanimation [7]. En effet, cette bactérie est capable de créer un foyer infectieux en se développant sur l'implant sous forme de biofilms. *E. coli* est également responsable d'infections néonatales (méningite), de prostatites, et de suppurations diverses à partir de la flore

digestive (infections des voies biliaires, péritonites, salpingites, infections post-opératoires). Toutes ces infections peuvent se compliquer de bactériémies.

1.6. *Klebsiella pneumoniae*

K. pneumoniae est isolée principalement dans les infections urinaires et respiratoires, parfois compliquées de bactériémies, mais est aussi retrouvée dans les infections de plaie [12]. Ce germe est principalement isolé en milieu hospitalier et représente environ 5 % des IN au sein des établissements de santé français [19] et 5,7 % des IN en réanimation [7]. En effet, *K. pneumoniae* a la capacité d'adhérer et de se multiplier sur les surfaces inertes, et peut coloniser différents matériels sous forme de biofilms, ce qui constitue un important facteur de virulence [20]. Son portage est fortement accru chez les patients immunodéprimés hospitalisés pendant de longues périodes ou ayant reçu des antibiothérapies au long cours, mais aussi chez les patients atteints de maladies respiratoires chroniques. De plus, il semblerait que la contamination de l'environnement hospitalier soit plus fréquente en cas de portage digestif ou d'infection à *K. pneumoniae* BLSE par rapport à *E. coli* BLSE [21].

2. Résistance aux antibiotiques

2.1. Catégorisation clinique des souches bactériennes

La sensibilité ou la résistance d'une souche à un antibiotique ne peuvent pas être directement mesurées, mais doivent être déduites de l'activité *in vitro* de l'antibiotique. La catégorisation clinique, c'est-à-dire le classement des souches bactériennes en sensibles « S », intermédiaires « I » et résistantes « R » vis-à-vis d'un antibiotique donné, c'est-à-dire en possibilité ou non de traiter une infection avec la molécule, est basée sur le choix des valeurs critiques qui sont des concentrations minimales inhibitrices (méthode de référence) ou des diamètres de zones d'inhibition [2]. Les valeurs critiques sont proposées par des comités nationaux tels que le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) en France, l'European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) en Europe ou le Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) aux Etats-Unis.

Les concentrations critiques sont établies sur trois types de critères : bactériologiques, pharmacocinétiques/pharmacodynamiques (Pk/Pd) et cliniques [2].

Les critères bactériologiques sont basés sur la détermination de la concentration minimale inhibitrice (CMI) pour des souches appartenant à une même espèce et un antibiotique donné. La CMI est définie comme la concentration minimale d'antibiotique permettant d'inhiber (bactériostase) toute culture visible d'une souche bactérienne, après 18 à 24 heures d'incubation à 37 °C. Il est ainsi possible d'individualiser des souches sensibles (CMI basses) et des souches résistantes (CMI élevées) à un antibiotique donné.

Les critères Pk/Pd reposent sur la relation entre la CMI déterminée *in vitro* et la concentration au site de l'infection. Une souche est dite sensible à un antibiotique si la CMI est inférieure aux taux sanguins, tissulaires ou présents dans les principaux foyers pathologiques avec une antibiothérapie à doses usuelles. Une souche est dite « R » si la CMI dépasse les concentrations les plus élevées qu'il est possible d'obtenir *in vivo*. Elle est dite « I » si sa CMI est supérieure aux taux sanguins, et inférieure aux taux obtenus dans certains sites de l'organisme, notamment urinaire ou biliaire. Ainsi, la concentration critique inférieure séparant les catégories « S » et « I » repose essentiellement sur la concentration sérique de l'antibiotique obtenue avec des doses usuelles. Les informations sur l'absorption (pour les antibiotiques administrés par voie orale), la distribution, la biotransformation et les voies d'élimination des antibiotiques sont indispensables pour déterminer les valeurs critiques. Des indices Pk/Pd (Figure 2) ont ainsi été développés. Le rapport concentration maximale (C_{max}) / CMI appelé quotient inhibiteur, et le rapport aire sous la courbe (AUC) / CMI sont les deux indices prédictifs de l'efficacité des antibiotiques à bactéricidie concentration-dépendante comme les aminosides. Le temps (T) pendant lequel la concentration d'antibiotique est au-dessus de la CMI du germe est l'indice prédictif de l'efficacité des antibiotiques à bactéricidie temps-dépendante comme les β-lactamines, avec peu d'influence de la concentration [2].

Enfin, les critères cliniques sont issus d'études cliniques souvent comparatives. Concernant les études menées sur les antibiotiques utilisés en réanimation, le critère principal le plus pertinent est la mortalité. Ils complètent les critères précédents par la notion de succès (survie) ou d'échec thérapeutique (décès) en fonction des concentrations critiques proposées.

De nombreuses études ont ainsi démontré que dans les infections sévères à entérobactéries (patient de réanimation avec un volume de distribution augmenté, pneumopathies nosocomiales, etc.) les concentrations sériques doivent être 4 à 5 fois supérieures à la CMI de la souche bactérienne en cause, et maintenues pendant au moins 50 % du temps entre 2 injections ($T > CMI$) [22].

2.2. Mécanismes et supports de la résistance aux β -lactamines

Les antibiotiques, contrairement aux antiseptiques, agissent sur les bactéries en inhibant des fonctions physiologiques précises. Les β -lactamines agissent sur les bactéries en phase de multiplication en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne par fixation aux protéines liant les pénicillines (PLP) qui sont impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. Les bactéries ont démontré leur capacité à développer des résistances aux antibiotiques, par différents mécanismes – probablement hérités de la compétition naturelle entre microorganismes – dont la nature et l'efficacité varient suivant les espèces et les molécules. Les principaux mécanismes de résistance aux antibiotiques sont : l'inactivation enzymatique de l'antibiotique, la modification de la cible, la diminution de la perméabilité membranaire, et l'efflux actif. Ces mécanismes peuvent être associés (Figure 3). L'un des plus répandus et des plus efficaces chez les bactéries à Gram négatif vis-à-vis des β -lactamines consiste à modifier la structure même de l'antibiotique de façon à lui faire perdre sa capacité à se lier à sa cible cellulaire, et par conséquent à l'inactiver. Ainsi, les entérobactéries ont la capacité de produire des β -lactamases qui hydrolysent le cycle β -lactame des β -lactamines, les empêchant de se fixer de façon covalente aux PLP.

La résistance aux antibiotiques peut être naturelle ou acquise. La résistance naturelle ou intrinsèque préexiste à l'introduction des antibiotiques et est caractéristique d'une espèce bactérienne. Elle délimite le spectre naturel de l'antibiotique (phénotype sauvage) et constitue une aide à l'identification. Le support génétique de cette résistance est chromosomique et de ce fait toujours transmissible à la descendance (transmission verticale). La résistance acquise apparaît chez certaines souches au sein d'une espèce normalement sensible. Cette résistance est le résultat de modifications génétiques secondaires à des mutations ponctuelles de gènes endogènes ou à l'acquisition de gènes exogènes via des éléments génétiques mobiles comme les plasmides et les transposons. La transmission peut donc être

verticale et/ou horizontale. Les mutations peuvent également modifier un gène de résistance acquis au préalable, élargissant ainsi le spectre de la résistance. En effet, des mutations ponctuelles entraînant des substitutions d'acides aminés au niveau du site actif des β -lactamines ont permis un élargissement de la poche catalytique et donc une nouvelle compétence hydrolytique pour les C3G [23]. C'est le cas de la BLSE SHV-2 dérivant par une variation d'un acide aminé de la pénicillinase à spectre étroit SHV-1 [24]. La résistance acquise par mutation aboutit, sous réserve de la viabilité et du « fitness » des mutants, à l'émergence de ces derniers principalement par transmission verticale. Cette résistance représente environ 20% des résistances observées en clinique.

L'acquisition de gènes de résistance exogènes, via des éléments génétiques mobiles, est plus fréquente et représente ainsi 80% des résistances décrites en clinique. Les plasmides sont des molécules d'acide désoxyribonucléique (ADN) double brin extra-chromosomique, de structure en général circulaire et de taille variable (1 à plus de 200 kb) qui sont doués de répllication autonome. Ils peuvent posséder un ou plusieurs gènes de résistance. Les plasmides jouent un rôle important dans la diffusion de ces gènes car ils peuvent être échangés entre bactéries par des mécanismes de conjugaison quand ils sont auto-transférables, ou de mobilisation grâce à un autre plasmide. Les transposons sont des molécules d'ADN double brin, incapables d'autorépllication mais pouvant « sauter » d'un réplicon (plasmide ou chromosome) à un autre et au sein d'un même réplicon. Ainsi il faut considérer les génomes bactériens comme un ensemble dynamique qui est propice à la diffusion des gènes de résistance aux antibiotiques.

2.3. Les β -lactamases

Les β -lactamases sont des enzymes hydrolysant le cycle β -lactame des β -lactamines et dont le support génétique peut être chromosomique ou plasmidique. Elles sont retrouvées chez de nombreuses bactéries, soit naturellement, soit au décours de l'acquisition de gènes. La production de ces enzymes inactivatrices est le mécanisme de résistance aux β -lactamines le plus fréquemment rencontré chez les entérobactéries. L'action des β -lactamases repose sur un résidu sérine actif ou sur un ou plusieurs ions métalliques Zn^{2+} . Dans les deux cas, l'inactivation des β -lactamines est due à l'ouverture du cycle β -lactame au niveau de la liaison amide,

selon une réaction d'hydrolyse. Selon le substrat hydrolysé, les β -lactamases portent le nom de pénicillinase, céphalosporinase, BLSE ou carbapénémase.

2.3.1. Les β -lactamines : cibles des β -lactamases

Les β -lactamines forment une famille d'antibiotiques constituée d'un grand nombre de molécules. Du fait de cette diversité, d'une activité bactéricide associée à une faible toxicité et d'un spectre d'action plus ou moins étendu, ce sont des antibiotiques largement utilisés en médecine de ville comme à l'hôpital, notamment dans le traitement des infections à entérobactéries. Les β -lactamines agissent sur les bactéries en phase de multiplication en se fixant aux protéines liant les pénicillines (PLP) qui sont impliquées dans la synthèse du peptidoglycane, inhibant ainsi la synthèse de la paroi bactérienne. Leur structure moléculaire de base est le noyau β -lactame indispensable à l'activité antibiotique. Les molécules sont réparties en groupes selon la nature des cycles et/ou des radicaux. On retrouve les pénicillines (pénicillines G, M, A, carboxypénicillines, uréidopénicillines) et les céphalosporines (C1G, C2G, C3G et C4G), les inhibiteurs de β -lactamase (IBL) (acide clavulanique, sulbactam, et tazobactam) les monobactames (β -lactamines monocycliques), et les carbapénèmes (Figure 4).

Parmi les différentes classes de β -lactamines, l'évolution la plus importante concerne les céphalosporines. La classification en générations successives est globalement superposable à leur développement au cours du temps (même si certaines céphalosporines plus récentes ont été classées dans une génération antérieure), mais reflète surtout une meilleure activité associée à l'élargissement du spectre d'action. Les C3G sont ainsi actives sur des souches produisant des pénicillinases de haut niveau qui hydrolysent les C1G et C2G (à l'exception des céphamycines). Les C4G sont actives sur des souches productrices de céphalosporinase de haut niveau. Enfin la ceftaroline, présentée comme une C5G, présente un intérêt pour les souches de staphylocoque résistant à la méticilline (SARM) sur lesquelles elle demeure active malgré la présence de PLP2A anormales [25].

2.3.2. Classifications des β -lactamases : Ambler et Bush

La diversité des β -lactamases a conduit à de nombreuses tentatives de classification. Deux sont classiquement utilisées : la classification structurale de R.P. Ambler [26] qui est basée sur des critères moléculaires, et la classification fonctionnelle de Bush-Jacoby-Medeiros [27] qui repose sur des caractéristiques phénotypiques (Tableau 1).

La classification d'Ambler définit 4 grandes classes désignées de A à D. Elle est basée sur l'homologie de séquence en acides aminés d'éléments conservés du site actif des β -lactamases. Les protéines de classe A, C et D sont les enzymes à sérine active et les enzymes de classe B correspondent aux métallo-enzymes à zinc. C'est la classification la plus simple et la plus utilisée en pratique courante médicale.

La classification de Bush repose, quant à elle, sur l'activité hydrolytique des β -lactamases, et sur leur sensibilité aux IBL. Cette classification offre la possibilité de relier les enzymes à leur rôle clinique, permettant ainsi au biologiste de relier les propriétés d'une β -lactamase avec le profil de résistance microbienne observée pour une souche bactérienne [27].

2.3.2.1. Enzymes de classe A (classification d'Ambler)

Au sein des enzymes de classe A, une grande diversité fonctionnelle est observée et plusieurs groupes de la classification de Bush y sont rassemblés :

- le groupe fonctionnel 2a qui rassemble les pénicillinases à spectre restreint sensibles à l'acide clavulanique et dont le spectre d'hydrolyse est limité aux pénicillines,
- le groupe fonctionnel 2b qui correspond aux pénicillinases à spectre étroit telles que les enzymes TEM-1, TEM-2 et SHV-1, sensibles à l'acide clavulanique et possédant un spectre élargi aux C1G, et dans une moindre mesure aux C2G n'appartenant pas aux céphamycines,
- le groupe fonctionnel 2br qui rassemble les enzymes résistantes aux inhibiteurs et qui sont pour la plupart dérivées par mutation ponctuelle des pénicillinases TEM-1 et TEM-2. Ces enzymes appelées TEM Résistantes aux Inhibiteurs (TRI) possèdent une efficacité hydrolytique amoindrie sur les céphalosporines.

- le groupe fonctionnel 2be qui correspond aux BLSE. Il s'agit d'enzymes TEM et SHV sensibles à l'acide clavulanique, mais de spectre étendu recouvrant l'ensemble des pénicillines et des céphalosporines, à l'exception des céphamycines. Le groupe 2be inclut également les enzymes de type CTX-M et sera abordé en détail dans la suite de ce travail.
- le sous-groupe 2ber qui comprend des enzymes TEM combinant un spectre étendu avec une résistance plus ou moins marquée aux IBL.
- le groupe fonctionnel 2f qui correspond à des carbapénémases, actives sur les pénicillines, les céphalosporines, l'aztréonam et les carbapénèmes et qui possèdent une sensibilité variable à l'acide clavulanique.

2.3.2.2. Enzymes de classe B (classification d'Ambler)

Les enzymes de classe B correspondent au groupe fonctionnel 3 de la classification de Bush. Ce sont des carbapénémases aussi appelées métallo- β -lactamases (MBL) car leur cofacteur est l'ion zinc. Elles ont un large spectre d'action qui comprend les pénicillines, les céphalosporines, et les carbapénèmes, mais pas l'aztréonam. Elles ne sont pas inhibées par les IBL, mais elles sont sensibles à l'action inhibitrice de l'acide éthylène diamine tétra-acétique (EDTA), qui est un chélateur de cations divalents.

2.3.2.3. Enzymes de classe C (classification d'Ambler)

Les enzymes de classe C sont des céphalosporinases de type AmpC qui forment un ensemble hétérogène d'enzymes appelé groupe 1 dans la classification fonctionnelle de Bush. Ces enzymes sont résistantes aux IBL comme l'acide clavulanique. Leur spectre d'hydrolyse comprend les amino-pénicillines, les C1G, et selon la nature de l'enzyme les C2G dont les céphamycines. Les enzymes AmpC hydrolysent dans une moindre mesure les carboxypénicillines, les uréidopénicillines et les C3G, mais les enzymes hyperproduites peuvent inactiver efficacement ces substrats. Elles ne confèrent généralement pas de résistance aux carbapénèmes et aux C4G (céfépime et cefpirome).

2.3.2.4. *Enzymes de classe D (classification d'Ambller)*

Les enzymes de classe D comprennent les oxacillinasés (OXA) qui correspondent au groupe fonctionnel 2d de la classification de Bush [28]. Elles sont nommées OXA car elles possèdent une activité hydrolytique plus importante sur les pénicillines M (oxacilline, cloxacilline, méticilline) que sur les autres substrats [29]. Ces enzymes confèrent une résistance à l'ampicilline, à la ticarcilline et aux C1G. Elles ne sont inhibées ni par l'acide clavulanique ni par l'EDTA, mais par le NaCl à un degré variable [30]. La plupart s'apparentent aux enzymes du groupe 2br (TRI) par leur résistance à l'acide clavulanique et leur spectre d'action. Toutefois, certaines de ces oxacillinasés confèrent une diminution, souvent discrète, de la sensibilité aux C4G, ce qui permet alors de les distinguer des enzymes TRI [2]. D'autres oxacillinasés possèdent un spectre étendu aux C2G, C3G et C4G, ce sont les BLSE de classe D. Enfin, d'autres encore possèdent une faible activité d'hydrolyse des carbapénèmes, ce sont les « carbapenems hydrolyzing class D β -lactamasés » (CHDL).

2.3.3. *Résistance naturelle des entérobactéries vis-à-vis des β -lactamines*

Les entérobactéries sont toutes naturellement résistantes à la pénicilline G et aux pénicillines M, et la plupart d'entre elles produisent en plus naturellement diverses β -lactamasés, ce qui a permis de les classer en sept groupes phénotypiques de résistance [2].

Le groupe 0 correspond aux espèces pour lesquelles le phénotype sauvage est sensible à toutes les β -lactamines actives, et qui sont dépourvues de gène de β -lactamase, comme *Salmonella* spp. et *P. mirabilis*.

Le groupe 1 correspond aux espèces pour lesquelles le phénotype sauvage est sensible à toutes les β -lactamines actives, mais qui possèdent naturellement une céphalosporinase chromosomique de type AmpC, dont l'expression est réprimée à l'état sauvage. C'est le cas chez *E. coli* et *Shigella* spp..

Le groupe 2 correspond aux espèces présentant un phénotype sauvage de type « pénicillinase bas niveau ». En effet, certaines entérobactéries (*K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter amalonaticus* et *Escherichia hermannii*) produisent naturellement et de façon constitutive des pénicillinasés de bas niveau, et

sont de ce fait résistantes aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines et, à moindre degré, aux uréidopénicillines. Dans ces cas, les associations pénicillines – IBL sont actives.

Le groupe 3 correspond aux espèces présentant un phénotype sauvage de type « céphalosporinase bas niveau ». Les espèces appartenant à ce groupe sont productrices de céphalosporinases de type AmpC, chromosomiques, inductibles ou non par les β -lactamines selon les espèces. Ces céphalosporinases sont retrouvées chez des entérobactéries isolées en routine au laboratoire de bactériologie telles que *E. cloacae*, *E. aerogenes*, *S. marcescens*, *Morganella morganii*, *Providencia stuartii*, *Providencia rettgeri*, *Citrobacter freundii*, *Hafnia alvei* et *Pantoea agglomerans*. Leur spectre d'hydrolyse comprend les aminopénicillines, leurs associations à l'acide clavulanique et les C1G. Le comportement vis-à-vis des C2G et des céphamycines permet de répartir les espèces en 3 sous-groupes : (i) les espèces sensibles au céfuroxime (C2G) et à la céfoxitine (céphamycine) : *H. alvei*, *P. stuartii*, *P. rettgeri*, et *P. agglomerans* ; (ii) les espèces plus résistantes à la céfoxitine qu'au céfuroxime : *E. cloacae*, *E. aerogenes*, et *C. freundii* ; (iii) enfin les espèces plus résistantes au céfuroxime qu'à la céfoxitine : *S. marcescens*, *M. morganii*.

Le groupe 4 est représenté par les espèces *Yersinia enterocolitica* et *Serratia fonticola*. Ces deux espèces d'entérobactéries produisent naturellement une céphalosporinase de classe C et une pénicillinase de classe A.

Le groupe 5 correspond aux espèces dont le phénotype sauvage est de type « céfuroximase ». Il s'agit de *Proteus vulgaris* et *Proteus penneri* qui produisent naturellement une céphalosporinase de classe A inductible par les β -lactamines. Le phénotype se caractérise par une résistance aux aminopénicillines, aux C1G, aux C2G (notamment le céfuroxime) en dehors des céphamycines, et une sensibilité aux associations pénicillines – IBL.

Enfin, le groupe 6 correspond aux espèces pour lesquelles le phénotype sauvage est de type « β -lactamase à spectre étendu chromosomique ». Il regroupe les espèces d'entérobactéries suivantes : *Kluyvera ascorbata*, *Kluyvera cryocrescens*, *Kluyvera georginia*, *Rahnella aquatilis*, *Citrobacter sedlakii* et *Erwinia persicina* qui produisent naturellement des BLSE de classe A inhibées par les IBL. Ces BLSE, souvent exprimées à bas niveau, confèrent une diminution de sensibilité ou une

résistance aux aminopénicillines, aux carboxypénicillines, aux C1G et C2G, à l'exception des céphamycines. La résistance aux uréidopénicillines et aux C3G est souvent inapparente.

A la résistance naturelle des entérobactéries aux β -lactamines peuvent s'ajouter un ou plusieurs mécanismes de résistance acquise vis-à-vis de cette famille d'antibiotique. La résistance par acquisition ou hyperproduction de β -lactamase est le mécanisme le plus fréquemment rencontré chez les bactéries à Gram négatif et notamment les entérobactéries. Tous les mécanismes et les phénotypes de résistance acquise rencontrés chez les entérobactéries ne seront pas traités ici, mais exclusivement les mécanismes donnant des phénotypes de résistance aux C3G, et notamment les BLSE et les carbapénémases.

2.4. Résistance acquise des entérobactéries vis-à-vis des C3G : les BLSE

Il n'existe pas de définition consensuelle précise des BLSE [31]. Le phénotype BLSE comprend une résistance bactérienne aux pénicillines et aux céphalosporines, mais pas aux céphamycines ni aux carbapénèmes. La résistance aux C3G, C4G et à l'aztréonam est plus ou moins marquée selon les enzymes et les souches [2]. De plus, les BLSE sont inhibées par les IBL comme l'acide clavulanique ou le tazobactam [27], ces derniers pouvant restaurer l'activité des pénicillines et des C3G sur les BLSE. L'activité des associations β -lactamines - IBL (BL-IBL) est cependant variable car dépendante du type enzymatique et de son niveau de production. Elle reste généralement suffisante pour être la base de la détection phénotypique sur antibiogramme en milieu gélosé, par la mise en évidence d'une image de synergie entre les IBL et les C3G et/ou les C4G et/ou l'aztréonam décrivant la fameuse image en « bouchon de champagne » caractéristique des BLSE.

A l'exception des enzymes de type OXA qui appartiennent à la classe D (BLSE de classe D), les BLSE font partie de la classe A au sein de la classification structurale d'Ambler. Cependant il s'agit d'un groupe hétérogène au sein duquel les BLSE partagent entre 20 et 99 % de leur identité moléculaire [32].

Chez *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. mirabilis*, *Salmonella enterica* et d'autres membres de la famille des entérobactéries, deux grandes stratégies d'évolution ont abouti à

l'apparition des enzymes de type BLSE : (i) par sélection de mutants ayant une spécificité de substrat élargie aux C3G et à l'aztréonam et dérivant par modifications ponctuelles des pénicillinases de type TEM et SHV ; ces enzymes codées par des plasmides étaient répandues chez les entérobactéries depuis les années 1970; (ii) par capture de nouveaux gènes codant pour des β -lactamases du métagénome environnemental, naturellement douées d'une activité BLSE. Parmi ce deuxième groupe, les enzymes de type CTX-M sont devenues le type de BLSE le plus répandu dans le monde entier [6].

2.4.1. Historique et différents types d'enzymes

2.4.1.1. BLSE de type TEM et SHV

La première β -lactamase d'acquisition plasmidique a été décrite chez les entérobactéries en 1965, en Grèce. Elle provenait d'une souche d'*E. coli* isolée de l'hémoculture d'un patient nommé Temoniera [33], et fut ainsi appelée TEM-1 [34]. Son support génétique mobile par des plasmides et des transposons a facilité la diffusion de TEM-1 aux autres espèces bactériennes. En quelques années, TEM-1 s'est répandue à travers le monde chez de nombreuses entérobactéries, chez *Pseudomonas aeruginosa*, *Haemophilus influenzae*, et *Nisseria gonorrhoeae* [35]. TEM-2 est une enzyme moins fréquente, ayant le même profil hydrolytique que TEM-1, mais différant par son promoteur et son point isoélectrique.

SHV-1 (pour sulphydryl variable) est une autre β -lactamase retrouvée chez *E. coli* et *K. pneumoniae* [36]. SHV-1 a un support chromosomique chez la majorité des souches de *K. pneumoniae*, mais est habituellement codée par un gène porté par un plasmide chez *E. coli*. Les enzymes TEM-1, TEM-2 et SHV-1 sont des pénicillinases à spectre étroit hydrolysant les pénicillines et les C1G, plus ou moins les C2G, et sensibles à l'acide clavulanique. Elles appartiennent au groupe 2b de la classification fonctionnelle de Bush [28].

Au cours des années, la pression de sélection engendrée par l'utilisation massive de nouvelles β -lactamines a sélectionné de nouveaux variants de β -lactamase [35] nommés BLSE. Ces enzymes appartiennent au groupe 2be de la classification de Bush, le « e » signifiant qu'elles ont un spectre d'action « étendu ». Les BLSE ont émergé durant les années 1980-90, juste après l'introduction en médecine humaine

des C3G [31], et ont connu un succès écologique important dans les services de réanimation où l'utilisation de ces molécules est très répandue. Ces BLSE étaient généralement codées par des gènes plasmidiques facilitant leur diffusion, et elles ont surtout été observées chez des souches de *K. pneumoniae* et *Enterobacter* spp., responsables d'épidémies d'infections nosocomiales. En effet, la première BLSE de classe A nommée SHV-2 a été décrite en Allemagne en 1983 chez *K. ozaenae* [24]. Elle dérivait de la pénicillinase SHV-1 par la simple variation d'un acide aminé (glycine en sérine à la position 238) [37], ayant pour conséquence de modifier l'activité enzymatique en élargissant le spectre d'hydrolyse aux C3G et l'aztréonam. En 1984, une souche de *K. pneumoniae* productrice d'une BLSE dérivée de la pénicillinase TEM-2, a été caractérisée en France. L'enzyme avait d'abord été nommée CTX-1 en raison de sa forte activité hydrolytique vis-à-vis du céfotaxime, puis le nom retenu fut finalement TEM-3, l'enzyme différant de TEM-2 par seulement deux substitutions d'acides aminés.

La nature des mutations détermine le spectre de substrat de l'enzyme. Cela permet de classer les BLSE schématiquement en deux grands groupes : les ceftazidimases qui confèrent un plus haut niveau de résistance au ceftazidime qu'au céfotaxime (Ex : TEM-5, TEM-24, SHV-4, SHV-5) et les céfotaximases qui confèrent un niveau de résistance équivalent à ces deux molécules (Ex : TEM-3, SHV-2) [2]. Les BLSE de type TEM et SVH sont présentes dans le monde entier, et actuellement représentées par au moins 136 membres (www.lahey.org/Studies/). La plupart sont des ceftazidimases, et seules quelques-unes sont des céfotaximases [32].

2.4.1.2. BLSE de type OXA

Les enzymes OXA constituent une autre famille de β -lactamases qui diffère des TEM et SHV (cf. 2.3.2.4.). Elles sont retrouvées principalement chez *Acinetobacter baumannii* et *P. aeruginosa* [29], mais ont été détectées dans de nombreuses autres bactéries à Gram négatif telles que les entérobactéries. La plupart des β -lactamases de type OXA ne sont pas considérées comme BLSE car elles n'hydrolysent pas les C3G à un degré significatif, elles sont dites à « spectre étroit ». Cependant, certaines OXA BLSE possèdent un spectre étendu aux C2G, C3G et C4G. Alors que la plupart des BLSE de classe A sont retrouvées chez les entérobactéries (*E. coli*, *K. pneumoniae*, etc.), les BLSE de type OXA (classe 2de de la classification fonctionnelle de Bush pour « étendu ») sont principalement retrouvées chez *P. aeruginosa*, chez qui elles ont été découvertes pour la première fois dans un

hôpital d'Ankara en Turquie [38]. Il en existe deux principaux types : (i) certaines BLSE sont simplement dérivées d'oxacillinase à spectre étroit par mutation ponctuelle. Un grand nombre d'oxacillinases BLSE ont été identifiées parmi les variants d'OXA-10 (OXA-11, 14, 16 et 17, 35, 142, 145, 147), d'OXA-2 (OXA-15, 32, 34, 36, 53, 141) ou d'OXA-13 (OXA-19, 28). Cette évolution à partir d'enzymes mères à spectre plus étroit vers des BLSE a de nombreux parallèles avec l'évolution des BLSE de type TEM et SHV [31] ; (ii) d'autres peuvent être des enzymes complètement différentes avec une homologie de séquence d'acides aminés faible comme OXA-18, et 45 [39]. Toutes confèrent une résistance franche au céfotaxime, parfois à la ceftazidime et à l'aztréonam.

Plus récemment, de nouvelles BLSE codées par des plasmides et non dérivées des pénicillinases TEM, SHV, et OXA ont émergé. Il s'agit des céfotaximases de type CTX-M, et des ceftazidimases de type PER, BES GES (ou IBC) et VEB [35]. Les enzymes de type PER sont surtout observées en Turquie (PER-1) et en Amérique du Sud (PER-2), VEB-1 en Asie, et les enzymes de type GES en Europe et Amérique du Sud. A l'exception des CTX-M qui seront traitées ci-dessous, ces BLSE ne seront pas abordées dans ce travail.

2.4.1.3. BLSE de type CTX-M

L'épidémiologie des BLSE a été bouleversée par l'émergence des enzymes de type CTX-M chez toutes les entérobactéries. *E. coli* et *K. pneumoniae* sont les espèces les plus couramment productrices de CTX-M, mais ces enzymes ont aussi été détectées chez de nombreuses autres espèces, dont *S. enterica*, *Shigella* sp., *Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter* sp., *Pantoea agglomerans*, *Citrobacter* sp., *S. marcescens*, *P. mirabilis*, *M. morgani* et *Providencia* sp. [40]. Cette émergence a été observée en milieu hospitalier mais aussi en milieu communautaire [41], ce qui la différencie de celle des autres BLSE. Les CTX-M ont été décrites à partir de la deuxième moitié des années 1980, et leur taux de diffusion parmi les entérobactéries a augmenté de façon spectaculaire depuis le début des années 2000. Ces enzymes sont ainsi devenues en quelques années les BLSE les plus fréquentes dans le monde entier [42].

En 1986, une BLSE non-TEM, non-SHV, désignée FEC-1, a été découverte au Japon chez une souche d'*E. coli* résistante au céfotaxime, isolée de la flore fécale

d'un chien de laboratoire utilisé pour des études à visée pharmacocinétique sur les β -lactamines [43]. En 1989, une équipe allemande a rapporté une souche clinique d'*E. coli* résistante au céfotaxime, isolée à partir de l'exsudat de l'oreille d'un nouveau-né. Cette souche produisait une BLSE non-TEM et non-SHV, désigné CTX-M-1, en référence à son activité hydrolytique vis-à-vis du céfotaxime [44]. Dans le même temps, la diffusion de souches de salmonelles résistantes au céfotaxime débutait en Amérique du Sud [45]. Les β -lactamases observées dans ces différentes régions avaient toutes des valeurs de point isoélectrique alcalines, elles possédaient une activité hydrolytique supérieure pour le céfotaxime et conféraient donc un niveau de résistance plus élevé au céfotaxime qu'au ceftazidime, avec une sensibilité aux IBL. En 1992, le même type de BLSE a été rapporté chez une souche clinique de *E. coli*, isolée au début de l'année 1989 en France chez un patient ressortissant italien [46]. Le séquençage de cette enzyme désignée MEN-1 montrait seulement 39% d'identité avec les enzymes TEM et SHV. Quelques années plus tard, une enzyme liée à MEN-1 (83% d'homologie) a été rapportée au Japon. Elle était produite par une souche de *E. coli* résistante au céfotaxime et fut nommée Toho-1 [47]. Plus tard, en 1996, le séquençage a permis de révéler que CTX-M-1 était identique à MEN-1, et qu'il s'agissait d'une variante de Toho-1. Cette dernière a alors été désignée CTX-M-2 chez une souche de *Salmonella* sp. résistante au céfotaxime isolée en Argentine en 1990 [48]. La même année, une variante de CTX-M-1 désignée CTX-M-3, a été identifiée chez différentes espèces d'entérobactéries [49]. Depuis lors, les BLSE de type CTX-M ont formé une famille d'enzymes dont la diffusion à travers le monde a été très rapide, touchant une large gamme de bactéries cliniques, en particulier des entérobactéries.

Cette famille assez hétérogène comprend au moins six sous-lignages ou groupes (CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et KLUC, du nom des enzymes archétypales de chaque groupe) (Figure 5). Chacun des groupes diffère des autres par au moins 10% des résidus d'acides aminés [6]. Chaque groupe comprend à son tour un certain nombre de variants alléliques mineurs qui diffèrent les uns des autres par une ou plusieurs substitutions d'acides aminés ($\leq 5\%$ de différence en résidus d'acides aminés). De plus, il y a au moins quatre variants CTX-M qui présentent une structure hybride. Il s'agit de CTX-M-45 (anciennement Toho-2) qui est un hybride de CTX-M-14 avec une protéine d'origine inconnue, et CTX-M-64, CTX-M-123 et CTX-M-132 qui sont des hybrides de CTX-M-15 avec différents segments de CTX-M-14. La majorité des enzymes se trouvent au sein des groupes CTX-M-1 et 9, ce qui

suggère une plus grande plasticité dans ces groupes, ou bien reflète simplement un nombre plus élevé de membres dans ces groupes [41] ce qui leur donne une plus grande opportunité d'évoluer en donnant des variants.

L'origine des gènes *bla*_{CTX-M} codant pour les enzymes CTX-M a été élucidée. Il s'agirait d'une mobilisation de gènes chromosomiques présents à l'état naturel chez certaines entérobactéries environnementales du genre *Kluyvera* spp. (*Kluyvera ascorbata*, *Kluyvera gorgiana* et *Kluyvera cryocrescens*) vers d'autres entérobactéries. Les espèces du genre *Kluyvera* spp. sont rarement associées à des infections humaines [50] et les BLSE y sont souvent exprimées à bas niveau pouvant passer inaperçues sur le test de synergie utilisé pour leur détection [2]. Chaque groupe CTX-M est probablement dérivé d'une ou plusieurs souches différentes de *Kluyvera*, et l'existence de plusieurs groupes de gènes transférables *bla*_{CTX-M} est compatible avec une histoire de multiples événements de capture de gènes [6]. Les variants alléliques mineurs au sein de chaque groupe pourraient refléter différents événements de capture de gènes ou d'évolution post-capture des protéines ayant lieu dans des hôtes secondaires, et probablement influencés par la pression de sélection antibiotique rencontrée dans les milieux cliniques et vétérinaires [6]. Enfin, les enzymes CTX-M présentant une structure hybride sont probablement dérivées d'événements de recombinaison entre des gènes des différents groupes. En effet, la coexistence de plusieurs variants CTX-M au sein d'une même bactérie a été rapportée [51], et pourrait favoriser l'émergence de tels hybrides.

En quelques années, les BLSE de type CTX-M sont ensuite devenues les plus fréquentes à travers le monde [42], en raison de la facilité de diffusion des gènes *bla*_{CTX-M} dont la complexité hiérarchique est représentée dans la figure 6. Les gènes acquis sont généralement portés par les plasmides conjugatifs [52], [53] bien que pour certaines souches (la plupart du temps chez *P. mirabilis*), ils sont intégrés au chromosome [54]. L'analyse de l'environnement génétique des gènes *bla*_{CTX-M} acquis a révélé des situations hétérogènes. Dans la plupart des cas, les gènes *bla*_{CTX-M} sont associés à l'*ISEcp1* ou l'*ISCR1*, deux séquences d'insertion différentes capables de mobiliser des fragments d'ADN voisins [55]. Ces séquences d'insertion semblent impliquées dans la capture des gènes *bla*_{CTX-M} à partir du chromosome de *Kluyvera* sp. et dans leur transposition sur des plasmides, comme cela a été démontré pour *ISEcp1* dans un modèle expérimental [56]. Les gènes *bla*_{CTX-M} acquis sont généralement flanqués de régions supplémentaires dérivées du chromosome

de *Kluyvera* sp. dont les tailles peuvent varier caractérisant ainsi différents événements de mobilisation [41]. Les séquences d'insertion impliquées dans la capture et la mobilisation des gènes *bla*_{CTX-M} fournissent également des promoteurs forts pour une expression de haut niveau, ce qui est classique pour des gènes acquis, et nécessaire pour conférer une résistance au nouvel hôte bactérien. L'*ISEcp1* est retrouvée associée à des membres de tous les groupes CTX-M [40], [57] et jouerait ainsi le rôle le plus important dans la capture et la mobilisation des gènes *bla*_{CTX-M}. L'étendue de l'espacement entre l'*ISEcp1* et le gène *bla*_{CTX-M} en aval peut influencer le niveau d'expression du gène et par conséquent la résistance [58]. L'*ISCR1* a pour sa part été retrouvée associée avec les membres des groupes CTX-M-2 et CTX-M-9 [59].

La mobilisation des gènes *bla*_{CTX-M} a été un véritable succès, et a conduit à leur dissémination rapide chez pratiquement tous les grands groupes plasmidiques circulant au sein des entérobactéries [40], [52], [53], [60], [61]. Certains de ces plasmides ont joué un rôle majeur dans la diffusion des CTX-M, par le biais d'épidémies plasmidiques. Les exemples typiques sont la diffusion pandémique du gène *bla*_{CTX-M-15} favorisée par des plasmides IncFII [54], [60], la diffusion du gène *bla*_{CTX-M-3} en Pologne et dans d'autres pays d'Europe de l'Est par des plasmides IncN [62], la diffusion du gène *bla*_{CTX-M-65} en Chine par des plasmides de type F33:A-B [63], et la diffusion de gène *bla*_{CTX-M-14} en Espagne et au Royaume-Uni par des plasmides IncK [64]–[66].

D'autre part, l'association de gènes plasmidiques codant pour des enzymes CTX-M avec des souches clonales d'*E. coli* et de *K. pneumoniae*, a généré un certain nombre de clones virulents et multirésistants dits à « haut risque » [67], ce qui a également contribué à la diffusion rapide et globale des BLSE de type CTX-M. Les exemples les plus emblématiques sont représentés par la pandémie à *E. coli* clone ST131 (groupe phylogénétique B2), associé à l'enzyme CTX-M-15 [68], et par la diffusion des clones d'*E. coli* des complexes clonaux STC405 et STC38 (groupe phylogénétique D), liés aux enzymes du groupe CTX-M-9 (principalement CTX-M-14 et CTX-M-9) et à CTX-M-15 [69]. Enfin, *E. coli* ST10 (groupe phylogénétique A), qui appartient à la flore intestinale humaine mais qui est également responsable d'infections intestinales et extra-intestinales, a été récemment associée à la diffusion de plusieurs groupes d'enzymes de type CTX-M (groupes CTX-M-1, CTX-M-2 et

CTX-M-9) [64], [70]–[74]. Chez *K. pneumoniae*, des souches du complexe clonal 11 ont été associées à la diffusion d'enzymes de type CTX-M-15 et CTX-M-14 [75]–[77].

Enfin, bien que les enzymes de type CTX-M soient principalement rapportées chez des entérobactéries, il faut néanmoins noter qu'elles ont parfois été signalées chez d'autres espèces bactériennes, comme *P. aeruginosa* (CTX-M groupe 2, en Amérique latine) [78], [79], *Acinetobacter* spp. (CTX-M-15, dans différentes régions) [80], [81], *Vibrio cholerae* (CTX-M-2, en Amérique latine) [82], *Aeromonas* sp. (CTX-M-3 et CTX-M-15) [83], et *Stenotrophomonas maltophilia* (CTX-M-1) [84]. Cela souligne la possibilité d'une transmission des gènes *bla*_{CTX-M} à des espèces n'appartenant pas aux entérobactéries. Cependant, la plupart des cas rapportés étaient sporadiques, sans aucune tendance significative à la transmission croisée et à la diffusion, ce qui suggère que les plasmides diffusent moins ou sont moins bien adaptés à ces espèces qui sont peu propices à la dissémination des gènes *bla*_{CTX-M} [6].

2.5. Résistance acquise des entérobactéries vis-à-vis des C3G : autres phénotypes résistants

2.5.1. Phénotype « céphalosporinase haut niveau »

Le phénotype « céphalosporinase haut niveau » correspond à une résistance plus ou moins marquée aux pénicillines, aux C1G, aux C2G, à l'aztréonam et à au moins une C3G. Les céphamycines ne sont généralement pas actives, mais les C4G restent le plus souvent actives [85]. La résistance aux C3G peut être totalement ou partiellement restaurée en présence de cloxacilline, mais pas par les IBL. Par conséquent, le test de synergie entre les C3G, C4G ou l'aztréonam et les IBL est négatif pour les céphalosporinases de haut niveau, ce qui permet de les différencier des BLSE [31].

Chez les espèces du groupe 3 productrices d'AmpC chromosomiques et inductibles (*Enterobacter* spp., *S. marcescens*, *C. freundii*, *Providencia* spp.), le phénotype « céphalosporinase haut niveau » est généralement la conséquence de l'hyperproduction constitutive d'AmpC due à des mutations affectant les gènes responsables de sa régulation. En outre, de très rares souches de *E. cloacae*,

C. freundii et *S. marcescens* produisent des enzymes AmpC mutantes ayant une activité accrue sur les C4G [86].

Le phénotype « céphalosporinase haut niveau » peut également être observé chez *E. coli*. La production de l'enzyme n'est jamais inductible, elle résulte de mutations de la zone promotrice ou d'un gène atténuateur et/ou de duplications du gène de structure. Comme chez les espèces précédentes, des enzymes AmpC mutantes ayant acquis une activité accrue sur les C4G peuvent être observées chez *E. coli*.

Enfin, chez *E. coli*, le phénotype « céphalosporinase haut niveau » résulte le plus souvent de l'acquisition d'un gène *ampC* plasmidique. Ces enzymes plasmidiques ont été découvertes en 1989 [87] puis ont été retrouvées dans le monde entier au sein de souches bactériennes nosocomiales et communautaires. Mobilisés par transposition, les gènes *ampC* ont migré du chromosome des espèces naturellement productrices d'AmpC vers des plasmides souvent conjugatifs qui ont ensuite diffusé au sein de nombreuses espèces d'entérobactéries telles que *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Salmonella* spp., et *P. mirabilis* [88]. Des différences mineures dans la séquence d'acides aminés ont donné naissance à différentes familles d'AmpC nommées CMY, MIR, MOX, LAT, FOX, DHA, etc. Les gènes codant pour ces céphalosporinases plasmidiques sont souvent associés à des co-résistances à d'autres antibiotiques (par exemple aux aminoglycosides, tétracyclines, et sulfamides) en raison de la présence de gènes de résistance à ces antibiotiques sur les mêmes plasmides [89].

2.5.2. Phénotype « résistant aux carbapénèmes »

Globalement, 98 % des entérobactéries sont sensibles aux carbapénèmes [2]. La résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries est due à la présence de β -lactamases hydrolysant les carbapénèmes appelées carbapénémases ou à l'association de mécanismes de résistance impliquant le plus souvent un mécanisme d'imperméabilité.

2.5.2.1. Les carbapénémases

Les β -lactamases ayant une activité carbapénémase représentent le mécanisme de résistance aux carbapénèmes le plus inquiétant de par leur diffusion. Les carbapénémases constituent un groupe hétérogène d'enzymes dont le point commun est d'hydrolyser au moins un carbapénème. Les premières carbapénémases identifiées chez les entérobactéries étaient *Serratia marcescens* enzyme (SME-1) à Londres [90] en 1982 et Imipenemase (IMI-1) aux Etats-Unis en 1984 [91].

Les carbapénémases produites par les entérobactéries peuvent appartenir à trois des quatre classes de β -lactamases de la classification de Ambler : les classes A, B et D [11]. Leurs différences sont non seulement basées sur des critères génétiques et biochimiques, mais aussi cliniques, car le profil de résistance (Tableau 2) et l'épidémiologie de ces souches diffèrent. Les gènes codant pour ces enzymes sont principalement situés sur des plasmides et associés à diverses structures génétiques mobiles (séquences d'insertion, transposons, intégrons), qui favorisent leur propagation. En pratique, ces souches sont souvent résistantes à presque tous les antibiotiques, car elles sont associées à d'autres gènes de résistance portés par les mêmes plasmides.

Trois grands types de carbapénémases de classe A sont connus, correspondant aux enzymes IMI, SME (les deux ont un support chromosomique) et *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC) qui a un support plasmidique [11]. Ces trois types d'enzymes hydrolysent l'ensemble des β -lactamines, y compris les céphamycines, les C3G, les C4G, les carbapénèmes et l'aztréonam. L'activité hydrolytique est inhibée *in vitro* par les IBL (acide clavulanique, tazobactam, avibactam) mais l'image de synergie est peu voire non visible entre les disques contenant de l'acide clavulanique et de l'imipénème.

KPC est le type de carbapénémase le plus commun au sein de la classe A. Le terme KPC est relativement inadéquat car il s'agit d'enzymes dont les gènes peuvent être transférés très facilement d'une entérobactérie à une autre, ce qui ne les limite pas à l'espèce *K. pneumoniae* chez qui elles ont été mises en évidence pour la première fois. En effet, une souche porteuse d'une carbapénémase plasmidique nommée KPC-2 a été observée pour la première fois en Caroline du Nord en 1996. Il s'en est suivi la diffusion de cette enzyme dans de nombreux hôpitaux de la côte Est des

USA [92]. Puis, après une expansion rapide, les enzymes KPC ont été rapportées presque partout dans le monde, en Europe, en Amérique du Sud, au Moyen-Orient et en Asie. Depuis lors, 22 variants de KPC ont été identifiés (KPC-2 à KPC-24) (www.lahey.org/Studies/). En France, la première souche productrice de KPC a été observée en 2005 chez un patient de retour de New York [93]. Le foyer endémique principal en Europe se trouve en Grèce [94] suivi par l'Italie, et la plupart des patients colonisés signalés en France viennent d'Italie [95]. Il existe de nombreuses souches en circulation, même si certains clones prédominent, en particulier *K. pneumoniae* ST258 [96]. Le gène *bla*_{KPC} est situé sur un transposon nommé Tn4401, qui est capable de mobiliser des gènes *bla*_{KPC} à haute fréquence, favorisant ainsi la diffusion des carbapénémases de type KPC dans le monde entier [97].

Un quatrième type d'enzymes correspond au type Guyana extended-spectrum- β -lactamase (GES) qui a été initialement considéré comme une famille de BLSE « classique » car GES-1 ne possède pas d'activité carbapénémase. Cependant des variants possédant une activité carbapénémase faible mais significative ont par la suite été identifiés.

Le deuxième groupe de carbapénémases appartient à la classe B d'Ambler ; ce sont des métallo-enzymes. Trois principaux types d'enzymes sont connues au sein de ce groupe : Imipenemase (IMP), Verona Integron-encoded Metallo- β -lactamase (VIM) et New Delhi Metallo- β -lactamase (NDM). Elles présentent un large spectre d'activité hydrolytique incluant toutes les pénicillines, les céphalosporines, et les carbapénèmes, à l'exception de l'aztréonam. Les métallo-enzymes sont inhibées par l'EDTA, mais pas par les IBL classiques (acide clavulanique, tazobactam, sulbactam).

Les carbapénémases de type IMP ont été parmi les premières métallo-enzymes acquises identifiées chez les entérobactéries, *Pseudomonas* spp., et *Acinetobacter* spp. [98]. IMP-1 a d'abord été rapportée chez une souche de *S. marcescens* isolée au Japon en 1991 [99]. Depuis lors, 53 variants IMP ont été identifiés dans le monde entier (www.lahey.org/Studies/). La propagation endémique des enzymes de type IMP a été rapportée au Japon, à Taïwan, dans l'Est de la Chine, et plus récemment en Grèce. Il a été suggéré que la sélection des gènes de type IMP s'est produite en premier au Japon en raison de l'utilisation massive des carbapénèmes. L'analyse de l'environnement génétique du gène *bla*_{IMP} a le plus souvent révélé des caractéristiques d'intégrons de classe 1 [98], généralement situés au sein de transposons, permettant ainsi leur propagation.

Les enzymes de type VIM constituent une autre grande famille de métallo-enzymes. VIM-1 a été identifiée pour la première fois en Italie en 1997 [100], et peu de temps après, le variant VIM-2 a été signalé en France [101], à partir de souches *P. aeruginosa*. Le groupe des enzymes de type VIM contient actuellement 46 variants, principalement identifiés à partir de *P. aeruginosa*, et dans une moindre mesure à partir de souches d'entérobactéries [11]. Les gènes correspondent à des cassettes de gènes situés au sein d'intégrons de classe 1. VIM-2 est la métallo-enzyme la plus fréquemment rapportée dans le monde entier, avec une propagation endémique dans toute l'Europe du Sud (Grèce, Espagne, Italie) et les pays du pourtour méditerranéen et également en Asie du Sud-Est (Corée du Sud, Taiwan) [102].

Actuellement, NDM-1 est la métallo- β -lactamase qui est au centre de l'attention dans le monde entier. Elle a été décrite pour la première fois en 2009 chez un patient suédois d'origine indienne, hospitalisé en Suède au retour de New Delhi [103]. Elle a été caractérisée à partir d'une souche de *K. pneumoniae* isolée dans les urines du patient. Cette β -lactamase a ensuite été retrouvée chez diverses autres espèces d'entérobactéries dont *E. coli*, mais aussi chez *A. baumannii*, puis *P. aeruginosa*. De nombreuses souches productrices de NDM-1 ont été localisées dans le sous-continent indien : l'Inde, le Pakistan, le Bangladesh et le Sri Lanka. Cependant de nombreuses études ont récemment rapporté la présence de ces souches à travers le monde [104], principalement dans des pays comme la Grande-Bretagne, ayant des liens étroits avec l'Inde et le Pakistan [105], [106]. Le gène *bla*_{NDM-1} n'est pas associé à un seul clone, ni à une seule espèce bactérienne, ni même à un plasmide spécifique. De nombreuses souches productrices de NDM-1 peuvent exprimer d'autres gènes de résistance, tels que ceux codant pour d'autres carbapénèmases (OXA-48, VIM), des céphalosporinases plasmidiques (AmpC), des BLSE, ainsi que des gènes de résistance aux aminosides, aux macrolides, à la rifampicine et au sulfaméthoxazole [11]. Ces souches sont donc souvent résistantes à presque tous les antibiotiques, excepté la tigécycline, la colistine, et dans une moindre mesure la fosfomycine [107]. Une des principales préoccupations concernant NDM-1 est que l'enzyme est maintenant produite par des souches d'*E. coli*. En effet, une souche *E. coli* de type ST131 productrice de NDM-1 a été observée dans une infection communautaire [54]. Ce clone est responsable de la diffusion mondiale des BLSE de type CTX-M-15 (cf. plus haut). Compte-tenu de sa puissance de diffusion, et de la résistance caractérisant NDM-1, une diffusion mondiale de ces souches NDM,

similaire à celle observée pour les souches E-BLSE de type CTX-M pourrait être dramatique [104].

Enfin, le troisième groupe des carbapénémases appartient à la classe D d'Ambler. Ce sont des oxacillinasés appelées CHDL (cf. plus haut) qui possèdent une faible activité d'hydrolyse des carbapénèmes, et ne sont inhibées ni par l'acide clavulanique ni par l'EDTA, mais par le NaCl. À l'exception d'un variant (OXA-163) qui, par ailleurs, a une très faible activité carbapénémase, les CHDL hydrolysent peu ou pas les C3G et C4G. Bien que la plupart des variants de CHDL ont été identifiés chez *Acinetobacter* spp., OXA-48 n'a été retrouvée que chez les entérobactéries. OXA-48 a été identifiée pour la première fois en Turquie en 2003 à partir d'une souche *K. pneumoniae* [108]. Depuis lors, des souches productrices d'OXA-48 ont été largement rapportées en tant que sources d'épidémies nosocomiales en Turquie [109], et identifiées dans les pays d'Europe du Sud et d'Afrique à partir de souches de *K. pneumoniae*, d'*E. coli* ou d'*E. cloacae* [110]. Le réservoir est dans ce cas beaucoup plus proche de la France, ce qui explique la fréquence de ces souches chez nous. Actuellement, OXA-48 est l'enzyme le plus souvent impliquée dans les souches productrices de carbapénémase détectées en France, et sa propagation est une source de grande préoccupation. En effet, un plasmide hautement conjugatif est la principale source de dissémination du gène *bla*_{OXA-48} chez plusieurs espèces d'entérobactéries dont *E. coli* [111]. L'association à d'autres β-lactamases se retrouve fréquemment dans les souches productrices de carbapénémases de type OXA-48. En effet, l'enzyme de type OXA-48 est rarement responsable à elle seule du phénotype de résistance à l'ensemble des β-lactamines chez les entérobactéries, et elle est associée à d'autres enzymes codant par exemple pour des BLSE, en particulier *bla*_{CTX-M} [104], élargissant ainsi le spectre de résistance aux β-lactamines.

2.5.2.2. Associations de mécanismes de résistance

L'hyperproduction d'une céphalosporinase chromosomique ou plasmidique associée à une imperméabilité est la cause la plus fréquente de résistance aux carbapénèmes chez les entérobactéries [2]. La membrane externe des entérobactéries contient des protéines spécifiques, appelées porines, qui forment des canaux hydrophiles permettant l'absorption sélective de substances nutritives essentielles et d'autres composés, y compris les antibiotiques. Toute modification du nombre ou de l'activité des porines bactériennes peut avoir un effet sur la résistance aux antibiotiques par

un mécanisme d'imperméabilité [112]. Ce phénotype de résistance aux carbapénèmes a été observé au départ chez des entérobactéries, en particulier chez *Enterobacter* spp. hyperproduisant leur céphalosporinase chromosomique AmpC et associant des modifications des porines OmpC ou OmpF [113]. Des mécanismes similaires ont été rapportés pour *Serratia* sp., *C. freundii*, *M. morganii* et *E. coli*, mais aussi chez d'autres entérobactéries qui ne possèdent pas naturellement de céphalosporinase, comme *K. pneumoniae* et *Salmonella* spp. (cf. plus haut). Dans ces cas, la résistance correspond à l'expression d'une AmpC plasmidique de type CMY-2, DHA-1, ou ACC-1 par exemple, conjointement avec des modifications des porines OmpK35/36 pour *K. pneumoniae*, OmpF et OmpC pour *E. coli*, et OmpF pour *Salmonella typhimurium* [114]–[116].

De la même façon, une imperméabilité membranaire associée à la production d'une BLSE de type TEM, SHV ou CTX-M peut aussi conférer une résistance aux carbapénèmes. Ce mécanisme a été signalé chez presque toutes les espèces d'entérobactéries, dont *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Salmonella* spp., et *Enterobacter* spp. [117], [118]. Néanmoins, plusieurs études suggèrent que la résistance aux carbapénèmes par anomalies des porines est instable chez les entérobactéries [114]. De plus, les souches résistantes aux carbapénèmes sans production de carbapénémase sont généralement moins résistantes aux antibiotiques d'autres familles, et leur résistance n'est pas transférable horizontalement. Pour ces raisons, elles sont considérées comme moins préoccupantes que les souches d'entérobactéries productrices de carbapénémase [11].

3. Entérobactéries productrices de BLSE

3.1. Notion de Bactérie Multi-Résistante (BMR)

De nombreuses définitions différentes sont retrouvées dans la littérature médicale pour caractériser les différents profils de résistance des bactéries sujettes à la multi-résistance et responsables d'infections associées aux soins que sont les entérobactéries, *Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp., *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. En 2012, un groupe d'experts internationaux a proposé une terminologie internationale normalisée pour ces bactéries : multi-résistante (BMR ou MDR en anglais), hautement résistante (BHR ou XDR en anglais) et pan-résistante

(PDR) [119]. MDR a été défini comme la non-sensibilité à au moins une molécule dans trois classes d'antibiotiques au minimum, XDR a été défini comme la non-sensibilité à au moins un antibiotique d'une classe, excepté dans deux classes au maximum (c'est-à-dire que ces bactéries XDR ne sont plus sensibles qu'à une ou deux classes d'antibiotiques) et PDR a été défini comme la non-sensibilité à tous les agents antimicrobiens dans toutes les catégories d'antibiotiques. Pour assurer la bonne application de ces définitions, il est nécessaire de tester les bactéries au sein de chaque classe contre tous (ou presque tous) les antibiotiques précisés dans les recommandations, ce qui n'est pas le cas actuellement. En effet, il existe des différences dans les antibiotiques recommandés pour les tests de sensibilité par les sociétés savantes que sont l'EUCAST, le CLSI et la FDA. Cette absence d'homogénéisation complique la possibilité d'une définition unique de la multi-résistance.

En France, une bactérie est dite multi-résistante aux antibiotiques (BMR) lorsque du fait de l'accumulation de résistances acquises à plusieurs familles d'antibiotiques, elle n'est plus sensible qu'à un petit nombre d'antibiotiques utilisables en thérapeutique. Les BMR cibles visées par le programme national sont le *S. aureus* résistant à la méticilline (SARM) et les E-BLSE du fait de leur fréquence élevée, de leur potentiel pathogène se traduisant par une morbidité, mortalité et des coûts accrus, de leur caractère commensal qui expose au risque de diffusion, de leur caractère clonal ou du caractère aisément transférable des mécanismes de résistance impliqués.

Les BMR ont une place importante dans les IN en France, comme le montrent les enquêtes nationales de prévalence de 1996, 2001, 2006, et 2012. La notion de "patient porteur de BMR ciblées" définie par le Réseau d'Alerte d'Investigation et de Surveillance des IN (Raisin) pour la surveillance des BMR au cours du séjour dans les services de réanimation, comporte tous les résultats positifs, qu'ils soient issus de dépistage systématique (prélèvement à visée écologique), d'une colonisation ou d'une infection (prélèvement à visée diagnostique), qu'elle soit nosocomiale ou non (plusieurs BMR possibles).

Enfin, les BMR évoluent sur un mode endémo-épidémique en France et sont à différencier des bactéries hautement résistantes émergentes (BHRe) appelées plus haut XDR qui émergent en France. Actuellement en France, ne sont considérées

comme BHRé que les EPC et *Enterococcus faecium* résistant aux glycopeptides (ERG) [120]. Il s'agit de bactéries commensales du tube digestif, résistantes à de nombreux antibiotiques, avec des mécanismes de résistance transférables entre bactéries et n'ayant à ce jour diffusé en France que sur un mode sporadique ou épidémique limité.

3.2. Transmission croisée et pression de sélection

La diffusion des E-BLSE est la conséquence de deux phénomènes : transmission croisée favorisant leur dissémination, et pression de sélection antibiotique favorisant leur émergence et l'augmentation de la densité de colonisation.

Les services de réanimation sont un secteur hospitalier à fort potentiel de diffusion des E-BLSE dit « service BMR ». Les données de EARSS France montrent que ces services présentent un risque d'acquisition d'infection nosocomiale plus élevé car les patients sont soumis à une forte densité de soins, à de nombreuses antibiothérapies et à des durées d'hospitalisation longues.

3.2.1. Transmission croisée

La transmission croisée des E-BLSE se fait par voie digestive féco-orale. Les E-BLSE représentent aujourd'hui un nouveau péril fécal.

La transmission croisée se définit par la transmission d'un agent infectieux (ici d'une E-BLSE) à partir d'un réservoir (patient, personnel, animaux, environnement) à un individu réceptif. La transmission croisée est portée par une chaîne épidémiologique (Figure 7). Elle peut avoir lieu en milieu hospitalier, dans les établissements médicaux-sociaux (EHPAD), dans les collectivités et le milieu familial [121]. Elle est favorisée par la taille du réservoir. A titre d'exemple, l'homme héberge dans son tube digestif plus de 10^8 *E. coli* par gramme de selles, soit un total de 10^{10} à 10^{11} . Ainsi, un porteur de *E. coli* BLSE peut éliminer chaque jour dans l'environnement, via ses excréta, plus de 10^{10} *E. coli* BLSE. L'augmentation de la densité d'inoculum d'une souche E-BLSE au sein de la flore digestive accroît donc le risque de dissémination.

Comme abordé plus haut, les gènes de résistance codant pour les BLSE sont portés par des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons) qui facilitent la dissémination interhumaine des gènes d'une entérobactérie à une autre, qu'elles appartiennent ou non à la même espèce. La transmission croisée peut donc se faire

à partir de la bactérie elle-même ou des gènes de résistance *bla* portés par des plasmides que la bactérie héberge. Il s'agit d'un phénomène complexe impliquant différents mécanismes : la diffusion clonale de souches (épidémie de souches), la diffusion de plasmides (épidémie de plasmides), la diffusion de gènes de résistance (épidémie de gènes), ce qui en pratique aboutit au même résultat. L'endémie croissante de E-BLSE CTX-M et plus spécifiquement *E. coli* CTX-M apparaît néanmoins plus comme une endémie de gènes de résistance ou de supports de gènes, que comme une endémie de souches [121], [122], même si la propagation de souches clonales telles que *E. coli* ST131 a été mise en évidence dans de nombreuses circonstances [54], [123].

D'autre part, la circulation des E-BLSE au sein du monde animal est réelle même si on en connaît mal l'ampleur. Quant au transfert entre hommes et animaux (et réciproquement), par contact (animaux de compagnie ou contacts professionnels) ou par voie alimentaire, il n'est pas exclu mais reste très peu documenté [124], [125]. Des travaux complémentaires portant sur les aspects vétérinaires et environnementaux de la problématique des E-BLSE sont nécessaires, en prenant soin d'analyser l'impact de l'usage des antibiotiques en médecine vétérinaire et dans les pratiques d'élevage sur l'émergence des E-BLSE dans le tube digestif des animaux, dans l'alimentation mais aussi dans l'environnement. Enfin, le rapprochement des données de surveillance disponibles chez l'homme et dans le monde animal doit être encouragé.

3.2.2. Pression de sélection des antibiothérapies

La résistance bactérienne est le principal effet indésirable des antibiotiques. La pression de sélection est exercée par les antibiotiques utilisés en médecine humaine et probablement aussi vétérinaire. Après transmission interhumaine (ou à partir d'un autre réservoir), les E-BLSE s'implantent dans la flore digestive des receveurs qui deviennent des porteurs sains. Chez ces derniers, en cas d'antibiothérapie active sur les autres microorganismes composant la flore digestive, la souche E-BLSE pourra alors être sélectionnée et se multiplier. Chaque antibiotique consommé induit une pression de sélection sur les bactéries de la sphère digestive et concourt à l'émergence, à la concentration et à la diffusion de bactéries résistantes. L'impact écologique sur la flore digestive est d'autant plus délétère que la prise d'antibiotique est longue et importante. Il est cependant difficile d'établir une hiérarchie précise des

molécules antibiotiques les plus à risque vis-à-vis du risque de portage digestif de E-BLSE. Les prescriptions de C3G et de fluoroquinolones apparaissent tout particulièrement concernées [126], en ville comme à l'hôpital. A l'inverse, les molécules à spectre étroit (par exemple les pénicillines G et M) sont présumées à moindre risque de sélection par rapport à des molécules à spectre plus large.

3.3. Portage digestif de E-BLSE

3.3.1. Situation épidémiologique

Le portage digestif de E-BLSE est difficile à évaluer dans la population générale au niveau mondial car de nombreux pays ne pratiquent pas de dépistage. Une méta-analyse de 2016 retrouve au niveau international une prévalence globale du portage digestif E-BLSE égale à 14 % au sein d'une population d'individus en bonne santé, avec une tendance à la hausse de 5,38 % par an. Les taux de prévalence sont très variables selon la localisation géographique. Selon la répartition des régions par l'OMS, le taux de prévalence pour l'Europe est 4 % alors que les taux sont significativement plus élevés pour le Pacifique de l'Ouest (46 %), l'Asie du Sud-Est (22 %) et l'Afrique (22 %) comme représenté sur la figure 8.

Dans cette méta-analyse, les BLSE de type CTX-M étaient globalement les enzymes les plus répandues avec 69 % (21 % pour TEM et 10 % SHV). Au niveau européen, les taux étaient de 62, 24, et 14 % respectivement pour CTX-M, TEM et SHV.

Ces résultats ont mis en évidence la présence d'un important réservoir communautaire de E-BLSE au sein duquel les enzymes de type CTX-M étaient majoritaires. Au sein des CTX-M, les enzymes du groupe 1 prédominaient avec 57 % au niveau mondial et 49 % en Europe. Il existait cependant des disparités en fonction de la zone géographique. En effet, au sein de la région Pacifique de l'Ouest, les enzymes CTX-M du groupe 9 prédominaient. La distribution des différents types d'enzymes est représentée dans le tableau 3.

Une étude espagnole réalisée en situation non-épidémique a montré que la fréquence du portage intestinal de E-BLSE entre 1991 et 2003 avait augmenté très significativement à la fois chez les patients hospitalisés (de 0,3 à 11,8 %) et chez les patients communautaires (de 0,7 à 5,5 %) [127]. Une étude française comparable a montré une augmentation de 0,6 à 6 % de *E. coli* BLSE chez des patients en bonne santé entre 2006 et 2011 [128].

En France, selon le rapport REA-Raisin 2013, 6,1 % des patients hospitalisés plus de 48 heures en réanimation étaient des « patients porteurs d'E-BLSE ciblées » incluant tous les résultats positifs, qu'ils soient issus de dépistage, d'une colonisation ou d'une infection. De plus, 2,4 % étaient des « porteurs » de souches acquises dans le service de réanimation.

Deux études françaises monocentriques s'intéressant à la prévalence de la colonisation digestive à E-BLSE chez des patients de réanimation ont été récemment publiées. La première menée en 2011 rapporte un taux de prévalence de 15 % pour le portage E-BLSE, principalement *E. coli* (62 %) [129]. L'autre menée également en 2011 rapporte un taux de prévalence de 13 % avec là encore une prédominance de *E. coli* (52 %). L'analyse moléculaire des gènes de résistance *y* montre une prédominance des CTX-M (79 % des BLSE) et plus particulièrement du groupe 1 (environ 76 % des CTX-M) [130].

Les résultats d'une étude coréenne mettent en évidence les disparités observées en fonction de la zone géographique avec une prévalence du portage E-BLSE de 42,5 % en service de réanimation et 20,3 % chez des individus en bonne santé [131].

3.3.2. Facteurs de risque de colonisation digestive à E-BLSE

Dans la méta-analyse de Karanika et al., les deux seuls facteurs de risque de colonisation digestive à E-BLSE qui ont été retrouvés statistiquement significatifs sont : (i) l'utilisation d'une antibiothérapie dans les 4 ou 12 mois précédents et (ii) le voyage international [132].

Concernant le traitement antibiotique, plus celui-ci était proche du début de l'étude, plus le risque de portage digestif était grand.

Concernant les individus ayant effectué des voyages à l'international, ils avaient quatre fois plus de risque d'être porteurs digestifs d'une E-BLSE. Les régions les plus à risque étaient l'Asie et l'Afrique, et à titre d'exemple les individus ayant voyagé en Inde avaient un risque augmenté de 240 % d'être colonisés.

Dans cette méta-analyse ciblant les individus de la collectivité, une hospitalisation récente n'a pas été retrouvée comme un facteur de risque indépendant de colonisation. Cependant, chez les patients de réanimation, le contact préalable avec les soins de santé, notamment une chirurgie récente, semble bien être un facteur de risque d'acquisition d'une E-BLSE [129], [133]. Dans cette population, la présence de dispositifs invasifs potentiellement infectés a également été incriminée.

Enfin, le contact avec des animaux n'a pas non plus été retrouvé comme un facteur de risque significatif de portage digestif, probablement car la prévalence des E-BLSE chez les animaux demeure encore faible. Néanmoins, ce facteur de risque de colonisation pourrait émerger plus tard, si les conséquences de l'utilisation d'antibiotiques chez les animaux se révèlent plus évidentes [132].

3.4. Infections à E-BLSE

3.4.1. Situation épidémiologique

Contrairement au portage digestif, il existe de nombreuses données concernant les infections à E-BLSE. En effet, en France depuis 2002, le Raisin coordonne une surveillance des SARM et des E-BLSE isolés de prélèvements à visée diagnostique dans les établissements de santé français (ES), et notamment en réanimation. En 2013, 1 347 ES ont participé à la surveillance soit une augmentation de 182 % depuis 2002 pour une couverture de 78,3 % des lits d'hospitalisation de France. En 2013, les données nationales de surveillance montrent que les E-BLSE sont les BMR qui connaissent la plus grande augmentation d'incidence en terme d'infections en milieu hospitalier, à l'inverse du SARM dont la densité d'incidence (DI) a diminué de 53 % globalement et de 58 % en réanimation depuis 2002 [5] (Figure 9).



Figure 9. Densités d'incidence des infections à E-BLSE et SARM pour 1000 journées d'hospitalisation en France (BMR-Raisin 2013).

En 2013, la DI globale des infections à E-BLSE était de 0,55 pour 1 000 jours d'hospitalisation (JH), variant de 0,33 à 0,69 selon l'inter-région (Tableau 4). Depuis 2002, la DI des E-BLSE a été multipliée par 4 (+325 %).

Les *E. coli* BLSE ont particulièrement contribué à cette augmentation avec une DI en 2013 de 0,32 *E. coli* BLSE/1 000 JH ; ils ont représenté 58,8 % des souches E-BLSE isolées en 2013 contre 18,5 % en 2002. L'espèce *K. pneumoniae* arrive en deuxième position avec 22,9 % des souches E-BLSE isolées en 2013 (Tableau 5).

La répartition des E-BLSE par type de prélèvement montre une majorité de souches isolées à partir de prélèvements urinaires (69,3 %) suivis par les hémocultures (8,1 %) (Tableau 6).

Le nombre annuel d'IN à E-BLSE a été estimé entre 40 000 et 83 000, dont entre 4 000 et 9 000 bactériémies.

Dans la cohorte stable de 577 établissements de soins ayant participé à la surveillance chaque année de 2009 à 2013, la même tendance a été observée et l'évolution s'est faite dans le même sens dans chaque inter-région.

En réanimation, en 2013, la DI des infections à E-BLSE était de 2,46 pour 1000 jours d'hospitalisation (Tableau 7). Ce résultat était beaucoup plus élevé qu'en court séjour pris globalement (0,69), qu'en soins de suite et réadaptation (0,38) et qu'en séjour de longue durée (0,22) [5]. Parmi les entérobactéries isolées de prélèvements cliniques en réanimation, 19,8 % étaient productrices de BLSE et ont représenté 6,3 % de tous les micro-organismes isolés [7].

En résumé, la diminution de l'incidence des SARM suggère un impact positif des actions de prévention instituées dans les services participants au réseau. Mais l'augmentation de l'incidence des E-BLSE, en particulier des *E. coli* BLSE, est préoccupante et peut servir de réservoir potentiel pour l'émergence des EPC.

3.4.2. Facteurs de risque d'infection à E-BLSE

Plusieurs études ont identifié des facteurs de risque d'infection à E-BLSE : antécédents de traitement par antibiotiques, antécédent d'hospitalisation, contexte nosocomial avec manœuvres invasives et chirurgie.

Ainsi, une étude française sur les bactériémies à *E. coli* BLSE a montré que les deux tiers des cas étaient nosocomiaux et faisaient suite à des manœuvres invasives, souvent multiples (sonde urinaire, dispositif intravasculaire) et à une antibiothérapie

préalable, le plus souvent C3G et/ou fluoroquinolones [126]. Des résultats similaires ont été obtenus dans deux études espagnoles [134], [135].

En réanimation, un transfert à partir d'autres services ou hôpitaux et la prise d'antibiotiques ont été retrouvés comme des facteurs de risque de bactériémie à E-BLSE [136].

Concernant la colonisation digestive E-BLSE comme facteur de risque d'infection à E-BLSE, les données de la littérature sont partagées. Une étude chez des patients à haut-risque en transplantation hépatique a montré que le portage rectal E-BLSE était un facteur de risque indépendant d'infection à E-BLSE après une transplantation du foie [137]. Une autre a mis en évidence le rôle de la colonisation digestive à E-BLSE dans le développement d'une bactériémie chez des patients atteints d'hémopathies malignes [138] alors qu'une étude similaire chez le même type de patients n'identifiait pas de corrélation entre portage digestif E-BLSE et bactériémie [139]. Une autre étude française s'intéressant à l'implication des E-BLSE dans les pneumopathies acquises sous ventilation mécanique (PAVM) a mis en évidence une faible valeur prédictive positive (VPP) (41,4 %) du portage digestif E-BLSE concluant qu'elle pouvait conduire à une surestimation du risque qu'une E-BLSE soit en cause dans une PAVM chez les patients colonisés [140].

Des études complémentaires sont nécessaires. Toutefois, il apparaît que les infections à E-BLSE pourraient être associées à la colonisation et indépendamment du site d'infection, il semblerait que le tube digestif soit le réservoir principal [141].

3.5. Lutte contre les E-BLSE

La lutte contre les E-BLSE a un objectif double. Le premier est de limiter le nombre de porteurs de E-BLSE et donc le nombre d'infections. Le but n'est plus l'éradication d'un phénomène déjà installé, mais de maintenir le taux des E-BLSE de façon globale, en particulier de *E. coli* BLSE, le plus bas et le plus longtemps possible pour laisser le temps d'élaborer des stratégies préventives et thérapeutiques.

Le second objectif est de limiter l'émergence des EPC, en limitant l'usage des carbapénèmes dont la consommation est en constante augmentation (+39,5 % dans les établissements de santé français entre 2009 et 2014) (Figure 10) parallèlement à l'augmentation des E-BLSE.

A l'hôpital et en réanimation, la maîtrise de la diffusion des E-BLSE repose sur une double stratégie : (i) prévention de la diffusion à partir des patients porteurs, et (ii) réduction de la prescription des antibiotiques.

Néanmoins, bien que le portage digestif et les infections à E-BLSE soient largement reconnus comme un problème de santé publique, il existe peu de recommandations fondées sur des preuves en ce qui concerne les mesures de contrôle des E-BLSE que sont le dépistage, les précautions de contact, le bon et le moindre usage des antibiotiques ou la décolonisation chez les patients à haut risque.

3.5.1. Lutte contre la transmission croisée

La lutte contre la transmission croisée reste un des piliers de la maîtrise des E-BLSE à l'hôpital et en réanimation, par le biais de mesures adéquates détaillées ci-dessous.

3.5.1.1. Précautions standard (PS)

Selon les recommandations françaises actuelles du Haut Conseil de la Santé Publique (HCSP), les PS doivent s'appliquer toujours pour tous les patients quel que soit le statut infectieux. Elles représentent la base indispensable des mesures de prévention de la transmission croisée des micro-organismes.

Les PS ont pour objectif de minimiser le risque de transmission croisée par l'hygiène des mains avant et après contact avec le patient et son environnement et par la mise en place de barrières physiques limitant l'exposition aux liquides biologiques et aux muqueuses comme le port des gants. L'observance des PS permet de limiter le risque de transmission croisée entre patients mais également de minimiser le risque de colonisation multi-site du patient chez un même patient.

Les points suivants reprennent les éléments constitutifs des PS :

- L'hygiène des mains, essentiellement par friction avec des produits hydro-alcooliques (PHA), est une des mesures majeures.
- Le port de gants est limité à l'exposition aux liquides biologiques, aux muqueuses et en cas de peau lésée chez le professionnel de santé. Les gants doivent être retirés dès la fin du soin car ils peuvent être source de contamination des surfaces. La recommandation est « une paire de gants

pour un soin » et chaque retrait de gants est accompagné d'un geste d'hygiène des mains.

- Les tabliers de protection sont également des composantes des PS.
- La bonne gestion des excréta manipulés par les soignants, ainsi qu'un bio-nettoyage efficace sont également des éléments-clés pour limiter les risques de contamination.

3.5.1.2. Précautions complémentaires « contact » (PCC)

En cas de dépistage positif, l'indication médicale des PCC pour un patient porteur de E-BLSE ajoute aux PS la prise en charge dans une chambre individuelle et l'identification sur la porte de la chambre et dans le dossier médical du patient de ce portage. Une mauvaise observance des PS met en défaut leur efficacité. A contrario, un haut niveau d'observance minimise le risque de transmission croisée. La nature des PCC a ainsi été récemment revue. La modification essentielle pour les E-BLSE est de ne plus recommander le port de gants pour les contacts avec l'environnement et la peau saine, alors que le placement en chambre individuelle, l'identification rapide et la signalisation du portage, le port de tablier pour tous les contacts directs avec le patient et l'utilisation de petit matériel dédié avec soins regroupés et personnalisés au patient ont été conservés.

Quelques études ont analysé l'impact des PCC sur les taux de transmission croisée de E-BLSE. Une étude suisse a montré que des PS seules bien appliquées étaient suffisantes en situation non-épidémique, même en réanimation [142]. D'autre part, il semblerait que la contamination de l'environnement hospitalier soit plus fréquente en cas de portage digestif ou d'infection à *K. pneumoniae* BLSE par rapport à *E. coli* [21]. Une étude de cohorte américaine s'intéressant au portage digestif E-BLSE et à la transmission croisée chez les patients de réanimation a mis en évidence, par génotypage des souches par électrophorèse sur gel en champ pulsé (PFGE) que la transmission croisée était une cause importante d'acquisition de portage digestif chez l'espèce *K. pneumoniae* mais pas chez *E. coli* [143], [144]. Dans une étude française récente, un seul cas attribuable à une transmission croisée (toutes espèces confondues) a été retrouvé et il s'agissait d'une souche *K. pneumoniae* [130].

Ces résultats suggèrent soit que les mesures d'hygiène de type PCC sont efficaces, soit que la transmission de patient à patient ne joue pas un rôle majeur pour l'acquisition de E-BLSE en contexte non-épidémique, tout du moins chez *E. coli* qui

est l'espèce prédominante en portage digestif. En conséquence, la nécessité de maintenir des PCC dans ce contexte pourrait être remise en cause, au profit de simples PS comme dans l'étude de Tschudin-Sutter et al.. De plus, compte-tenu des différences entre *E. coli* BLSE et *K. pneumoniae* BLSE, de futures lignes directrices concernant les PCC pourraient distinguer ces deux bactéries. Néanmoins, en cas d'épidémie dans un service, le maintien de PCC semble nécessaire comme l'a montré une étude italienne [145]. Les résultats de cette étude ont aussi souligné que le strict respect des protocoles d'hygiène des mains, avec usage de PHA, était l'intervention la plus efficace dans la lutte contre la transmission croisée, ce qui avait déjà été montré dans une étude antérieure [146].

Enfin, un isolement contact prolongé pourrait avoir des effets négatifs concernant la qualité des soins prodigués au patient et son bien-être. La plupart des études rapportent une diminution de la fréquence des contacts avec le personnel de santé, une diminution des scores d'estime de soi et une augmentation des scores pour l'anxiété et la dépression chez les patients avec PCC [147].

3.5.1.3. Dépistage du portage digestif E-BLSE

Selon les recommandations françaises actuelles, l'utilité d'un dépistage systématique des E-BLSE dans le tube digestif est limitée à des services à risque de BMR tels que la réanimation, en fonction de l'épidémiologie microbienne du secteur ou au cours d'une épidémie, ou encore dans un contexte de retour de voyage à l'étranger en zone endémique. Il n'existe pas de consensus concernant le seuil d'incidence de colonisation ou d'infection justifiant la mise en œuvre d'un dépistage au sein d'un service. Aucun schéma de dépistage n'est consensuel et les coûts engendrés par les dépistages répétés sont importants.

Le dépistage a 3 objectifs : (i) d'une part il permet la mise en place de PCC pour lutter contre la transmission croisée, (ii) d'autre part il permet une surveillance épidémiologique, (iii) enfin, le dernier objectif serait lié à sa valeur pronostique d'une infection à E-BLSE, mais comme abordé dans le paragraphe 3.4.2., ce dernier point n'est pas tranché dans la littérature. L'intérêt serait de permettre l'optimisation d'une antibiothérapie probabiliste et l'amélioration des taux de survie chez les patients de réanimation, en réduisant le délai de mise en place d'une antibiothérapie adaptée. En effet, une association significative a été retrouvée entre augmentation de la

mortalité et retard dans l'administration d'antibiotiques au cours des six premières heures après identification d'un sepsis sévère ou d'un choc septique [148]. Toutefois, dans une étude multi-centrique française menée dans plusieurs services de réanimation, si les infections à E-BLSE ont été retrouvées comme un facteur de risque indépendant de mortalité, ce n'était pas le cas pour le portage digestif seul (sans infection associée). Dans cette étude, les infections à E-BLSE étaient plutôt rares chez les porteurs. Néanmoins, le portage seul augmentait l'exposition aux carbapénèmes et allongeait la durée de séjour [149]. En l'absence de recommandations bien établies, il n'est pas surprenant de constater que les carbapénèmes sont « facilement » prescrites en réanimation en cas d'infection chez un patient colonisé à E-BLSE.

3.5.1.4. Traitement d'une colonisation digestive à E-BLSE

La décolonisation comme moyen de réduire la transmission croisée et les infections à E-BLSE pourrait constituer une approche intéressante. Actuellement, la décolonisation systématique n'est pas recommandée chez les patients porteurs de E-BLSE.

Plusieurs études ont tenté d'évaluer l'efficacité d'une décolonisation de l'intestin avec des antibiotiques peu absorbables par voie orale tels que la colistine, la rifamycine, la polymyxine, la néomycine et l'érythromycine chez des patients porteurs sains de E-BLSE [150]–[152]. Les résultats n'ont pas montré une réduction des taux de portage satisfaisante après traitement. Ces études étaient limitées par la taille réduite de leurs effectifs ainsi que par des schémas différents de décolonisation, ce qui rend difficile l'interprétation des résultats et ne permet pas de conclure quant à l'utilité de la décolonisation antibiotique chez les patients porteurs de E-BLSE.

De façon récente, la transplantation fécale est devenue une méthode de traitement efficace pour les infections à *Clostridium difficile* [153]. Cette "remise à zéro" de la flore digestive pourrait présenter un intérêt dans l'éradication du portage de BMR telles que les E-BLSE [154], [155]. Des études de recherche clinique sont nécessaires pour évaluer l'efficacité de cette stratégie de décolonisation sur le portage digestif E-BLSE.

3.5.2. Lutte contre la pression de sélection des antibiotiques

Dans le but de réduire la pression de sélection des antibiothérapies qui favorise l'émergence et la diffusion des E-BLSE, il apparaît indispensable de réduire les quantités d'antibiotiques utilisés chez l'homme. A l'échelle de la communauté, un moindre usage des antibiotiques est possible et a déjà été montré dans le cadre de la prise en charge des infections respiratoires en ville en France, suite à la campagne de l'assurance maladie « les antibiotiques c'est pas automatique ». Mais l'émergence et la diffusion des E-BLSE ont démontré que cette mesure n'était pas suffisante et il apparaît aujourd'hui nécessaire d'étendre ce concept à toutes les situations où les antibiotiques sont utilisés. Depuis 2015, dans le cadre du plan antibiotique, une nouvelle campagne de lutte contre l'antibio-résistance à l'hôpital a été lancée : « les antibiotiques juste ce qu'il faut » dans le but de préserver l'efficacité des antibiotiques et de limiter l'émergence des BMR.

La charte des médecins de cette nouvelle campagne est détaillée ci-dessous :

- Ne prescrire les antibiotiques que dans les situations où ils ont fait preuve de leur efficacité.
- Suivre les recommandations nationales et/ou locales en termes de : choix de la molécule, utilisation de posologies adaptées, respect des durées de traitement.
- Faire appel à l'équipe d'infectiologie ou au référent antibiotique devant toute situation pouvant poser un problème d'optimisation d'un traitement antibiotique.
- Prendre en compte les conseils donnés par l'équipe d'infectiologie ou le référent antibiotique de l'hôpital.
- Organiser l'évaluation systématique des prescriptions antibiotiques.
- Faciliter l'organisation du service pour permettre aux médecins, en formation et en plein exercice, de participer aux formations antibiotiques organisées dans l'établissement.
- Transmettre lors d'un transfert ou d'une sortie toutes les informations nécessaires à une poursuite optimale de l'antibiothérapie.

Néanmoins, dans la littérature il existe des résultats contradictoires concernant l'impact de la restriction antibiotique sur l'incidence des E-BLSE en réanimation [156], [157]. Dans ces deux études, une restriction d'utilisation des C3G n'avait pas

d'impact sur l'acquisition de E-BLSE dans le service. L'utilisation de la pipéracilline-tazobactam en remplacement des C3G, générant une pression de sélection différente mais réelle, pourrait en être l'explication selon les auteurs.

3.5.3. Traitement des infections à E-BLSE : quelles alternatives aux carbapénèmes en réanimation ?

Les carbapénèmes ont longtemps été considérés comme le traitement de référence (probabiliste ou documenté) des infections sévères à E-BLSE [8]. Comme nous l'avons abordé plus haut, *in vitro*, les carbapénèmes ne sont pas hydrolysés par les BLSE et restent donc actifs dans la quasi-totalité des cas [133], [158]. Néanmoins, leur utilisation accrue en thérapeutique a contribué à l'émergence de souches résistantes aux carbapénèmes, ce qui constitue aujourd'hui un des plus grand enjeux de santé au niveau international [3]. Limiter l'utilisation de ces molécules est une solution théoriquement intéressante, mais cela pourrait augmenter le risque d'un traitement inapproprié chez des patients avec des infections sévères, ce qui n'est pas acceptable chez des patients graves de réanimation. Les alternatives aux carbapénèmes dans les infections sévères à E-BLSE retrouvées dans la littérature appartiennent le plus souvent à la famille des β -lactamines et les autres familles d'antibiotiques ne seront pas abordées ici.

Les associations BL-IBL tels que la pipéracilline-tazobactam ont été recommandées comme une alternative aux carbapénèmes pour le traitement des infections à E-BLSE en cas de sensibilité *in vitro* documentée [9]. Cependant, certains doutes persistent concernant l'utilisation de la pipéracilline-tazobactam en pratique clinique. En effet, les données de la littérature sont partagées concernant cet antibiotique. Tout d'abord, les BL-IBL ne possèdent pas une efficacité *in vitro* similaire aux carbapénèmes. Dans une étude française récente portant sur des *E. coli* BLSE d'origine urinaire, seules 80 % des souches étaient sensibles à la pipéracilline-tazobactam [159]. De plus, il semble exister une différence de sensibilité à la pipéracilline-tazobactam entre les espèces bactériennes. En effet, une étude japonaise retrouvait une sensibilité de 86,3 % pour des souches appartenant à l'espèce *E. coli* mais de seulement 50 % pour des souches appartenant à l'espèce *K. pneumoniae*. [160]. En outre, les modèles Pk/Pd confortent l'utilisation de la pipéracilline-tazobactam à fortes doses chez l'espèce *E. coli*, mais sont moins encourageants pour *K. pneumoniae* avec des CMI plus élevées [161].

D'autre part, les BL-IBL pourraient voir leur efficacité diminuée en présence d'une charge bactérienne élevée au site d'infection, connue sous le nom d'effet inoculum, qui a été observé pour la pipéracilline-tazobactam [162].

Enfin, l'augmentation de la résistance aux BL-IBL chez les E-BLSE pourrait être liée à l'association de mécanismes de résistance comme l'expression d'autres enzymes telles que les céphalosporinases AmpC codées par des plasmides, ce qui pourrait compromettre l'utilisation de la pipéracilline-tazobactam.

Plusieurs études de cohorte et une méta-analyse ont suggéré que la pipéracilline-tazobactam était un antibiotique sûr et efficace contre les E-BLSE [163], [164] mais les études prospectives sont rares [165]. Deux études observationnelles bien conçues s'intéressant à l'antibiothérapie dans les bactériémies à E-BLSE ont abouti à des conclusions opposées. La première a montré que la pipéracilline-tazobactam était équivalente aux carbapénèmes pour le traitement des *E. coli* BLSE [163] alors que la seconde a rapporté que le traitement empirique avec pipéracilline-tazobactam contre carbapénèmes était associé à un risque accru de mortalité dans des bactériémies causées par des E-BLSE de différentes espèces [166]. Ces résultats contradictoires sont probablement en lien avec l'espèce bactérienne responsable de l'infection (bactériémies à *E. coli* uniquement dans l'étude espagnole contre *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca* et *P. mirabilis* dans l'étude américaine), aux différentes posologies de pipéracilline-tazobactam utilisées (plus élevées dans l'étude de Rodriguez-Bano et al.) et aux portes d'entrée infectieuses (infections urinaires majoritairement dans l'étude espagnole contre différentes portes d'entrée dans l'étude de Tamma et al.). L'impact de la porte d'entrée a d'ailleurs été souligné dans l'étude espagnole, avec une mortalité moindre quelle que soit la CMI pour la pipéracilline-tazobactam si le point d'appel est urinaire. De plus, dans cette étude, l'impact de CMI basses (≤ 2 mg/L) sur la diminution de la mortalité a également été mis en évidence pour la pipéracilline-tazobactam, sans considération de la porte d'entrée [167]. Néanmoins, dans cette étude, seulement 10 % des patients étaient admis en réanimation (contre environ 30 % dans l'étude américaine) et il est donc difficile de conclure concernant l'utilisation de la pipéracilline-tazobactam dans cette catégorie de population.

Une étude randomisée contrôlée est actuellement en cours pour évaluer l'intérêt des BL-IBL dans le traitement des bactériémies à E-BLSE (étude « MERINO »).

Au vu des connaissances actuelles, la pipéracilline-tazobactam peut être considérée comme une alternative raisonnable aux carbapénèmes en documenté dans le cadre des infections urinaires à *E. coli* BLSE associées ou non à une bactériémie, et en cas d'infection non grave pour les autres foyers infectieux tant que la CMI reste basse (≤ 2 mg/L). Toutefois, il n'apparaît pas licite de les utiliser en traitement probabiliste dans une infection grave chez un patient possédant des facteurs de risque d'infection à E-BLSE. Les carbapénèmes restent donc l'antibiotique de choix en probabiliste chez les patients qui ont des facteurs de risque, pour le traitement des infections autres que urinaires à E-BLSE, particulièrement en cas de foyer non drainable (type pneumopathie).

Une étude récente a montré qu'une désescalade thérapeutique des carbapénèmes était possible et sûre [168]. Néanmoins, seulement 6 % des patients de cette étude provenaient de réanimation. De plus, une étude française a montré que même une brève exposition (1 à 3 jours) à l'imipénème chez les patients de réanimation était un facteur de risque majeur de colonisation à bacilles à Gram négatif résistant à l'imipénème [169]. Ce résultat suggère qu'une stratégie de désescalade dans les délais habituels (48 à 72 h) pourrait ne pas être aussi efficace qu'attendu sur la pression de sélection compte-tenu de sa rapidité de mise en œuvre sous imipénème. Des moyens de détection très rapides des E-BLSE au laboratoire de bactériologie (par biologie moléculaire) pourraient permettre une optimisation rapide de l'antibiothérapie [170].

Enfin, l'arrivée de nouvelles associations céphalosporine-IBL telles que le ceftazidime-avibactam (Avycaz®) et le ceftolozane-tazobactam (Zerbaxa®) dont l'indication a été retenue par la FDA dans les infections urinaires et les infections intra-abdominales graves [171] pourrait permettre d'élargir le choix thérapeutique. Néanmoins, des études complémentaires sont nécessaires en réanimation et nul doute qu'il faudra utiliser ces antibiotiques avec une grande vigilance car des résistances ont déjà été rapportées [172]. D'autre part, selon une étude récente [173], la céfoxitine pourrait également être considérée comme une alternative aux carbapénèmes pour certaines infections à E-BLSE, de préférence celles qui sont liées à *E. coli*, mais d'autres études sont nécessaires.

MATERIELS ET METHODES

Matériels et méthodes.

4. Patients, prélèvements et souches

Nous avons mené une étude observationnelle, rétrospective et monocentrique, sur une période de six mois, entre le 1^{er} janvier 2015 et le 30 juin 2015. Notre étude s'est intéressée au portage digestif de E-BLSE en situation non-épidémique chez les patients du service de réanimation médicale du GH Pellegrin au CHU de Bordeaux. Le service est composé de 39 lits et divisé en trois secteurs dont deux de réanimation pure (aile 1 et aile 2) de respectivement 13 et 14 lits et un de post-réanimation (aile 3) de 12 lits. Dans notre étude, les trois secteurs ont été considérés comme un tout et un transfert d'une aile à une autre (en général vers l'aile 3) était considéré comme un seul et même séjour.

Les souches E-BLSE ont été isolées à partir des dépistages effectués de façon systématique, par écouvillonnage rectal, chez tous les patients admis dans le service de réanimation durant la période de l'étude. Après un premier dépistage à l'admission, des dépistages réguliers ont été répétés, en général de façon hebdomadaire, durant la totalité du séjour du patient. Un patient dont le dépistage rectal revenait positif était considéré porteur de E-BLSE durant la totalité de son séjour, mais continuait à participer aux dépistages. Aucune « redondance » entraînant l'annulation de la demande n'a été appliquée au laboratoire de bactériologie concernant les dépistages multiples et tous les prélèvements reçus ont été techniqués.

Dans notre étude, nous avons considéré comme « redondantes » les souches de même espèce bactérienne retrouvées en portage digestif chez un même patient sur deux ou plusieurs dépistages consécutifs durant la même hospitalisation. Dans ce cas, une seule souche E-BLSE a été prise en compte, en général la première détectée, et les souches isolées à partir des autres dépistages positifs ont été exclues. En revanche, pour les patients connus porteurs de E-BLSE lors d'une hospitalisation précédente dans le service de réanimation médicale, nous avons conservé la souche du dépistage positif réalisé lors de la nouvelle admission, même si l'espèce bactérienne était identique à celle du dépistage antérieur. De plus, si un

même dépistage était positif avec deux E-BLSE différentes, chacune des souches disponibles a été analysée.

La détection d'une souche de portage E-BLSE d'importation a été définie comme un premier dépistage positif dans un délai de 48 heures après l'admission dans le service. A contrario, l'acquisition d'une souche de portage E-BLSE au cours du séjour a été définie comme un premier dépistage positif dans un délai strictement supérieur à 48 heures après l'admission. Dans ce cas, un premier dépistage négatif à moins de 48 heures de l'admission était souhaitable mais n'a pas été retenue comme un critère obligatoire. Le « délai BMR » a été défini comme le nombre de jours entre l'admission dans le service et le premier dépistage positif.

5. Méthode diagnostique pour le dépistage du portage digestif de E-BLSE

5.1. Mise en culture sur milieu chromID EBSL®

Les prélèvements rectaux effectués dans le service de réanimation ont été acheminés à température ambiante vers le laboratoire de bactériologie du GH Pellegrin. L'écouvillon rectal a été déchargé sur un milieu de culture de type chromID ESBL® (bioMérieux® référence 43481), qui a ensuite été ensemencé manuellement en cadran à l'aide d'un ensemenceur (Figure 11). La gélose chromID ESBL® est un milieu chromogène sélectif commercial contenant un mélange d'antibiotiques, dont le cefpodoxime (C3G), et de substrats non colorés. Ces substrats sont assimilés par les bactéries et ils donnent une substance colorée (métabolite) si la bactérie produit certaines enzymes caractéristiques d'espèce ou de genre. Après incubation de la gélose dans une étuve à 37°C pendant 16 à 24 h dans des conditions aérobies, cela conduit à la production de colonies bactériennes colorées, visibles à l'œil nu. Ce milieu permet d'obtenir simultanément une orientation d'espèce et de résistance, et il est ainsi utilisé pour dépister les E-BLSE.

Toutes les colonies colorées ayant poussé sur le milieu ont été suspectées de produire une BLSE. La lecture des cultures s'est effectuée comme suit, selon les recommandations du fabricant : une coloration spontanée rose à bordeaux (souches productrices de β -glucuronidase) évoquait une souche de l'espèce *E. coli*, une

coloration spontanée vert/bleu à brun-vert (souches exprimant une β -glucosidase) orientait vers une souche du genre *Klebsiella*, *Enterobacter*, *Serratia*, *Citrobacter* et une coloration spontanée brune à marron (souches exprimant une désaminase) évoquait une souche du genre *Proteus*, *Providencia* et *Morganella*.

Un test à l'oxydase a permis d'éliminer les souches du genre *Pseudomonas* (oxydase positive) qui prennent une coloration brune sur ce milieu. Les souches d'*A. baumannii* ont également pu être détectées sur ce milieu, sous la forme de colonies muqueuses blanches ou crème et oxydase négative.

Toutes les colonies colorées ayant poussé sur le milieu chromID ESBL® (à l'exception des colonies dont la recherche de l'oxydase était positive) ont été identifiées par spectrométrie de masse MALDI-TOF.

5.2. Identification bactérienne par spectrométrie de masse MALDI-TOF

L'identification de l'espèce bactérienne des colonies obtenues sur le milieu de culture chromID ESBL® a été réalisée par spectrométrie de masse MALDI-TOF, à l'aide d'un appareil MALDI Biotyper de type Microflex® de marque BRUCKER®. Cet appareil est utilisé en routine au laboratoire de bactériologie du GH Pellegrin, et permet une identification précise, rapide, et fiable des bactéries. Il s'agit d'un spectromètre de masse utilisant une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI = Matrix Assisted Laser Desorption/Ionisation) et d'un analyseur de temps de vol (TOF = Time Of Flight). C'est une technique qui permet de séparer des biomolécules de grande taille de façon douce, sans les dégrader.

Chaque échantillon analysé correspondait à une fraction de colonie bactérienne, prélevée directement à partir d'une culture de 18 à 24h et déposée au sein d'un disque de 3 mm de diamètre sur une plaque en métal inerte. La matrice ionisante a ensuite été ajoutée à l'échantillon, et le mélange matrice-échantillon cristallisé (après un temps de séchage) a formé un dépôt solide appelé cible (Figure 12). Ensuite, la plaque a été introduite dans l'appareil et la cible a été bombardée par le laser (Figure 13). L'énergie du laser a produit deux phénomènes : (i) la matrice s'est vaporisée entraînant la désorption des particules ionisables du mélange matrice-échantillon, et (ii) un transfert de protons s'est fait entre les molécules de la matrice et celles de l'échantillon qui se sont ionisées. Les ions produits ont été accélérés

dans un champ électrique et envoyés dans un tube de vol où un vide poussé a été maintenu ; ils ont ensuite été détectés et le temps de vol mis pour atteindre le détecteur a été mesuré. Le temps de vol d'une particule est proportionnel à sa masse et à sa charge. Le signal recueilli a été amplifié et envoyé à un ordinateur. Les résultats ont été présentés sous forme de spectre où chaque pic correspondait à un type de molécule. Les fichiers des spectres ont été lus par le logiciel FlexAnalysis® associé à l'appareil, et un algorithme statistique a permis de comparer le spectre obtenu à ceux définis dans une base de données. Ceci a permis l'identification du micro-organisme analysé, selon un score de confiance estimant la fiabilité de l'identification à l'échelle du genre et de l'espèce bactérienne. Après identification de l'espèce bactérienne par spectrométrie de masse MALDI-TOF, les souches appartenant à la famille des entérobactéries ont fait l'objet d'une recherche complémentaire afin de détecter une activité BLSE.

5.3. Détection de l'activité BLSE par le test MAST® AMPC & ESBL DETECTION DISCS

Pour chaque colonie colorée oxydase négative ayant poussé sur le milieu de culture chromID ESBL® et ayant été identifiée comme une entérobactérie par spectrométrie de masse MALDI-TOF, une recherche complémentaire de la production de BLSE a été réalisée à l'aide du test MAST® AMPC & ESBL DETECTION DISCS D68C. Ce test est indiqué pour la détection de la production d'enzymes de type céphalosporinase AmpC et/ou BLSE. Il est composé de 4 disques : disque A = Cefpodoxime 10 µg, disque B = Cefpodoxime 10 µg + acide clavulanique, disque C = Cefpodoxime 10 µg + cloxacilline, disque D = Cefpodoxime 10 µg + acide clavulanique et cloxacilline.

Pour chaque souche suspecte, une suspension bactérienne a été préparée dans une solution saline physiologique à partir d'une culture pure de 18 à 24h. Cette suspension a été répartie uniformément à la surface d'une gélose de type Mueller Hinton (MH). Les 4 disques ont alors été placés sur la géloseensemencée, en assurant un espace suffisant entre chaque disque pour obtenir des zones d'inhibition bien définies. Après incubation à 37°C pendant 18 à 24 h dans des conditions aérobies, les diamètres des zones d'inhibition ont été comparés selon les critères

définis dans la figure 14, permettant de détecter la production d'une BLSE et/ou l'hyperproduction d'une céphalosporinase plasmidique ou chromosomique.

5.4. Validation et communication orale du résultat

Toutes les entérobactéries issues des dépistages rectaux, confirmées par le test MAST® AMPC & ESBL DETECTION DISCS D68C comme produisant une BLSE, ont fait l'objet d'une communication orale au clinicien au moment de la validation biologique du résultat. Cela permettait de mettre en place le plus rapidement possible les mesures d'isolement contact auprès du patient porteur.

Ensuite, les souches E-BLSE ont été conservées dans des tubes de milieu de conservation : MH avec 10 % de glycérol et stockées à -20°C dans un congélateur du laboratoire de bactériologie du GH Pellegrin, puis à -80°C dans un congélateur du laboratoire de l'université pour les souches E-BLSE analysées.

6. Identification moléculaire des gènes codant pour les BLSE

6.1. Extraction d'ADN génomique par technique dite « SET »

L'extraction d'ADN génomique à partir des cultures bactériennes a été réalisée par une technique « maison » dite « SET ».

Les souches E-BLSE de portage disponibles ont été ré-isolées sur gélose MH et incubées pendant 18 à 24h à 37°C en atmosphère aérobie.

Les bactéries ainsi obtenues ont été mises en suspension dans 500 µL de tampon « SET » (NaCl à 75 mM ; EDTA à 25 mM ; Tris pH=7,5 à 20 mM) auquel ont été ajoutés 50 µL de sodium dodecyl sulfate (SDS) à 10 % et 5 µL de lysozyme à 20 mg/mL.

Après une heure au bain marie à 37°C, 220 µL de NaCl à 5 M ont été ajoutés pour arrêter la réaction de lyse.

Par la suite, 700 µL de chloroforme isoamylalcool ont été ajoutés et vortexés afin de séparer les protéines des acides nucléiques. Une centrifugation de 10 minutes à 10 000 g a permis de répartir les protéines entre les deux phases. La phase aqueuse supérieure contenant l'ADN en solution a été isolée et transférée dans un tube eppendorf propre. Sept cent microlitres d'isopropanol froid y ont été ajoutés et le

mélange a été placé au moins une heure au congélateur à - 20°C dans le but de précipiter l'ADN (apparition d'une pelote blanche).

Après une centrifugation de 10 minutes à 10 000 g, l'isopropanol a été retiré et le culot a été lavé avec 800 µL d'éthanol à 70°.

Après une dernière centrifugation de 5 minutes à 10 000 g, le surnageant a été retiré et le culot a été laissé à température ambiante jusqu'à évaporation totale de l'éthanol. Enfin le culot a été repris dans 50 µL d'eau distillée stérile.

Pour chaque extrait, la concentration en ADN, ainsi que le taux de contamination par divers constituants, ont été calculés, à partir de la mesure de l'absorbance effectuée sur 2 µL d'échantillon, à l'aide du spectrophotomètre NanoDrop® 2000 de marque Thermo Scientific®. La concentration en ADN double brin a été calculée sur la base de l'absorbance à 260 nm, et du coefficient d'extinction défini pour l'ADN double brin soit 50 ng/µL. En fonction des concentrations en ADN obtenues, chaque échantillon a ensuite été dilué avec de l'eau distillée stérile, afin d'obtenir une concentration finale en ADN homogène pour tous les échantillons avoisinant 50 ng pour 10 µL d'échantillon ; 10 µL étant le volume d'extrait d'ADN utilisé pour chaque réaction de PCR (cf. plus bas).

Le taux de contamination des extraits d'ADN a été calculé par deux rapports d'absorbance. Le rapport de l'absorbance à 260 et 280 nm (260/280) est utilisé pour évaluer la pureté de l'ADN. Un rapport aux alentours de 1,8 est généralement accepté comme un ADN « pur ». Si le rapport est nettement plus faible, il peut indiquer la présence de protéines ou d'autres contaminants qui absorbent à 280 nm. Le rapport de l'absorbance à 260 et 230 nm (260/230) est utilisé en complément. Les valeurs de ce rapport sont souvent plus élevées que celles du rapport 260/280 et sont généralement attendues dans la gamme de 2,0 - 2,2. Si le rapport est plus faible, cela peut indiquer la présence de contaminants qui absorbent à 230 nm (EDTA, polysaccharide, polyphénol).

6.2. Réaction d'amplification par PCR

La réaction de polymérisation en chaîne, ou PCR, est une technique qui permet d'amplifier *in vitro* de façon exponentielle une région d'ADN délimitée par deux amorces spécifiques, dans le but d'en obtenir une quantité suffisante pour pouvoir l'analyser ultérieurement. La PCR multiplex permet d'amplifier plus d'un amplicon à la fois par utilisation de plusieurs couples d'amorces au cours d'une même réaction.

La réaction d'amplification par PCR utilisée dans cette étude était une technique « maison ». Deux PCR multiplex en point final ont été réalisées pour chaque souche : (i) la première (PCR multiplex TSO) utilisant des amorces universelles pour la détection des gènes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV} et *bla*_{OXA-1-like} et entraînant la production d'amplicons de 800, 713 et 562 paires de bases (pb) respectivement ; (ii) l'autre (PCR multiplex CTX-M) utilisant des amorces universelles pour la détection des gènes *bla*_{CTX-M} groupe 1, *bla*_{CTX-M} groupe 2 et *bla*_{CTX-M} groupe 9 et entraînant la production d'amplicons de 688, 404 et 561 pb respectivement.

Enfin, une troisième PCR en point final dite « 16S » a été réalisée en parallèle comme témoin d'extraction. Elle a, en effet, permis de détecter de l'ADN bactérien à l'aide d'amorces ciblant un gène très conservé, le gène codant pour l'ARN ribosomal 16S.

6.2.1. Amorces

Les amorces utilisées pour la détection des gènes codant pour les différents types d'enzymes étaient les suivantes :

Tableau 8. Liste des amorces utilisées.

Amorces	Séquences (5' -> 3')
MultiCTXMGp1-2-r	CGATATCGTTGGTGGTRCCAT
MultiCTXMGp1-for	TTAGGAARTGTGCCGCTGYA
MultiCTXMGp2-for	CGTTAACGGCACGATGAC
MultiCTXMGp9-for	TCAAGCCTGCCGATCTGGT
MultiCTXMGp9-rev	TGATTCTCGCCGCTGAAG
MultiTSO-O-for	GGCACCAGATTCAACTTCAAG
MultiTSO-O-rev	GACCCCAAGTTTCCTGTAAGTG
MultiTSO-S-for	AGCCGCTTGAGCAAATTAAC
MultiTSO-S-rev	ATCCCGCAGATAAATCACCAC
MultiTSO-T-for	CATTTCCGTGTCGCCCTTATTC
MultiTSO-T-rev	CGTTCATCCATAGTTGCCTGAC
8F	AGAGTTTGATCCTGGCTCAG
1492R	GGTTACCTTGTACGACTT

6.2.2. Préparation du mélange réactionnel (mix)

L'amplification par PCR a été réalisée en utilisant l'enzyme GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase (Promega®). Le mélange réactionnel a été réalisé en utilisant du tampon 5X Green GoTaq® Flexi Buffer (Promega®), du MgCl₂ à 25 mM, des désoxyribonucléotides triphosphates (dNTP) à 200 µM, des amorces spécifiques à 10 µM, de l'ADN à amplifier, et complété avec de l'eau milli-Q nuclease-free pour avoir un volume final de 50 µL. Les quantités pour chaque PCR sont précisées en Annexes.

Pour chaque réaction d'amplification par PCR, il a été utilisé un témoin négatif (de l'eau milli-Q nuclease-free) et des témoins positifs. Chaque témoin positif était constitué d'ADN extrait chez des bactéries précédemment identifiées comme porteuses des gènes *bla*_{TEM}, *bla*_{SHV}, *bla*_{OXA-1-like}, *bla*_{CTX-M} groupe 1, *bla*_{CTX-M} groupe 2 et *bla*_{CTX-M} groupe 9.

6.2.3. Conditions de PCR

La réaction d'amplification a été réalisée sur un thermocycleur MyIQ® ou MyCycler® de marque BIO-RAD® dans les conditions suivantes :

- 1) première dénaturation à 95°C pendant 4 min,
- 2) amplification génique : 30 cycles composés d'une étape de dénaturation à 95°C pendant 40 secondes, d'une étape d'hybridation à 60°C pendant 40 secondes et d'une étape d'élongation à 72°C pendant une minute,
- 3) enfin, une étape finale à 72°C pendant 7 min.

6.2.4. Migration des amplicons par électrophorèse sur gel d'agarose

L'électrophorèse a pour but de séparer, selon leur taille, les acides nucléiques chargés négativement, au travers d'un gel d'agarose, sous l'effet d'un champ électrique. Les produits de PCR ont été analysés par électrophorèse en gel d'agarose à 1 % (m/v). L'électrophorèse a été réalisée en tampon TAE 1X (solution pH 8,0 ; 40 mM de TrisHCl, 20 mM d'acide acétique, 1 mM d'EDTA), sous une tension d'environ 3V/cm (100V) à l'aide d'un appareil Mupid®-One de marque Eurogentec®. Un marqueur de poids moléculaire a été déposé dans les puits du gel situés de part et d'autre des produits de PCR, afin de pouvoir évaluer la taille des

amplicons lors de la révélation.

La migration a été suivie visuellement grâce au tampon de la polymérase (5X Green Go Taq® Flexi Buffer) qui contient un colorant bleu migrant à la même vitesse que des fragments d'ADN de 3-5 kb, et un colorant jaune migrant plus vite que les amorces (< 50 pb) dans un gel d'agarose à 1 %.

6.2.5. Révélation des produits d'amplification par le BET

Après la migration, le gel a été immergé pendant 5 à 10 minutes dans un bain de Bromure d'Ethidium (BET), qui est un agent intercalant de l'ADN visualisé sous ultraviolets. Après immersion, le gel a été placé dans l'appareil Gel Doc® de marque BIO-RAD® qui permet l'exposition du gel aux ultraviolets, révélant ainsi les produits d'amplification sous forme de bandes d'ADN fluorescentes (Figure 15). La photographie, puis l'acquisition de l'image ont été réalisées à l'aide du logiciel Quantity One®.

7. Etude de la sensibilité aux antibiotiques

7.1. Antibiogramme en milieu gélosé par diffusion

L'antibiogramme est une méthode d'évaluation de l'activité des antibiotiques couramment utilisée. Au laboratoire de bactériologie du GH Pellegrin, l'antibiogramme n'est pas réalisé en routine pour les souches E-BLSE de portage digestif. Les souches E-BLSE de cette étude ont donc été ré-isolées sur gélose MH et incubées pendant 18 à 24h à 37°C en atmosphère aérobie. Les antibiogrammes ont été réalisés par la méthode de diffusion en milieu gélosé, conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie [174]. La sensibilité des souches E-BLSE a été étudiée au moyen de la grille standard du laboratoire de bactériologie du GH Pellegrin qui contient 28 disques antibiotiques répartis de la façon suivante :

- 1) 1^{ère} boîte MH « β -lactamines » 16 disques antibiotiques : ampicilline, amoxicilline + acide clavulanique, ticarcilline, ticarcilline + acide clavulanique, pipéracilline + tazobactam, céfalotine, céfixime, céfuroxime, céfoxitine,

ceftriaxone, ceftazidime, céfépime, aztréonam, méropénème, ertapénème et imipénème (Figure 16).

2) 2^e boîte MH « divers » 12 disques antibiotiques : gentamicine, tobramycine, amikacine, colistine, acide nalidixique, norfloxacine, ciprofloxacine, nitrofurantoïne, cotrimoxazole, doxycycline, tigécycline et fosfomycine.

De plus, les disques antibiotiques de mécillinam et témocilline, non contenus dans la grille standard du laboratoire, ont été testés en parallèle sur gélose MH, portant à 30 le nombre d'antibiotiques testés avec cette méthode.

Les boîtes ont été lues après 18 à 24 h d'incubation à 37°C en aérobiose. La culture devait être confluyente, uniformément répartie sur toute la surface de la gélose, de façon à obtenir des zones d'inhibition circulaires. L'image classiquement décrite en « bouchons de champagne » caractéristique du phénotype BLSE devait être observée sur la boîte des β -lactamines (Figure 16). Les diamètres des zones d'inhibition autour des disques antibiotiques ont ensuite été mesurés à l'aide du lecteur SirScan® et interprétés en « S », « I » ou « R » suivant les diamètres critiques définis pour les entérobactéries dans les recommandations 2013 du CA-SFM [174] utilisées au laboratoire de bactériologie du GH Pellegrin. L'interprétation pour le mécillinam était également basée sur les recommandations de 2013 tandis que pour la témocilline nous avons utilisé celles de 2014 (inchangées en 2016) car elles n'ont été introduites qu'à partir de cette édition pour cet antibiotique [175]. Enfin, il faut souligner, concernant la colistine, que les diamètres n'ont pas été rendus, car ils ont seulement pour but de vérifier la résistance naturelle de certaines espèces mais ne permettent pas de détecter de façon efficace les résistances acquises. Ceci impose de déterminer la CMI (par dilution en milieu liquide) en cas d'utilisation thérapeutique de cet antibiotique.

7.2. Détermination des CMI par méthode E-test

La CMI est la plus petite concentration d'antibiotique permettant d'inhiber *in vitro* la croissance visible d'une bactérie. La détermination de la CMI par bandelette antibiotique E-test est également une méthode de diffusion en milieu gélosé MH à 37°C. C'est une méthode de référence au laboratoire de bactériologie pour mesurer la sensibilité d'une souche bactérienne à un antibiotique donné. Le principe repose sur l'utilisation d'une bandelette au verso de laquelle des spots de concentration

croissante de l'antibiotique étudié ont été déposés. Quand la bandelette est déposée sur une gélose MH préalablement ensemencée avec la bactérie à tester, il se crée un gradient continu d'antibiotique croissant du bas vers le haut de la bandelette. Après incubation de 18 à 24h à 37°C, une zone d'inhibition en forme d'ellipse apparaît permettant la lecture de la CMI à l'intersection basse de la culture avec la bandelette (Figure 17).

Nous avons réalisé des CMI par méthode E-test sur les souches E-BLSE de portage disponibles pour les 5 antibiotiques suivants : pipéracilline-tazobactam (i2a®), ceftazidime, céfépime, témocilline et ceftolozane-tazobactam (bioMérieux® sauf pour 11 bandelettes ceftolozane-tazobactam de marque i2a®). Après 18 à 24 h d'incubation en aérobiose, les CMI ont été lues comme décrit plus haut et interprétées selon les concentrations critiques définies pour les entérobactéries dans l'édition 2016 du CA-SFM [176]. Ces dernières recommandations ont été choisies car elles intègrent pour la première fois des concentrations critiques pour le ceftolozane-tazobactam. A noter que les recommandations du CA-SFM concernant les concentrations critiques de l'association pipéracilline-tazobactam, du céfépime et de la ceftazidime n'ont pas été modifiées entre les éditions 2013 et 2016.

8. Etude des infections à E-BLSE chez les patients porteurs de E-BLSE

Dans le but d'établir si les patients porteurs d'une E-BLSE identifiée dans le service ont présenté une infection à E-BLSE durant leur séjour en réanimation, nous avons consulté les résultats bactériologiques des prélèvements biologiques réalisés à visée diagnostique chez ces patients durant la période de l'étude. Nous avons utilisé pour cela les fonctions de recherche du Système Informatique du Laboratoire (SIL) Synergy®. Au laboratoire de bactériologie, les souches E-BLSE isolées de prélèvements à visée diagnostique bénéficient en routine d'un antibiogramme ce qui a permis d'effectuer une comparaison du phénotype de résistance entre souche de portage et souche clinique chez un même patient. De plus, pour les souches cliniques disponibles, nous avons réalisé une identification moléculaire des gènes de résistance *bla* selon la méthode décrite plus haut pour les souches de portage, de façon à pouvoir comparer leur contenu enzymatique.

RESULTATS

Résultats

9. Etude de la prévalence du portage digestif de E-BLSE

9.1. Résultats des dépistages, patients porteurs et souches E-BLSE

9.1.1. Dépistages

Au sein du service de réanimation médicale du GH Pellegrin au CHU de Bordeaux, les patients ont bénéficié d'un dépistage rectal à l'admission, pour la recherche du portage digestif de E-BLSE. Des dépistages réguliers ont ensuite été répétés, en général de façon hebdomadaire, durant la totalité du séjour du patient. Le délai moyen observé de réalisation du premier dépistage était de un jour.

Un total de 1007 dépistages en provenance des trois secteurs de la réanimation médicale a été reçu au laboratoire de bactériologie entre le 1^{er} janvier et le 30 juin 2015. Chaque prélèvement a été mis en culture pour la recherche de E-BLSE selon la méthode décrite plus haut.

La cotation du dépistage rectal dans la Nomenclature des Actes de Biologie Médicale (NABM) est 60B soit 16,20 euros, ce qui représente un coût total de 16 313, 40 euros sur une période de six mois.

Parmi les 1007 dépistages réalisés, 77 (7,6 %) sont revenus positifs et 930 (92,4 %) étaient négatifs (Figure 18).

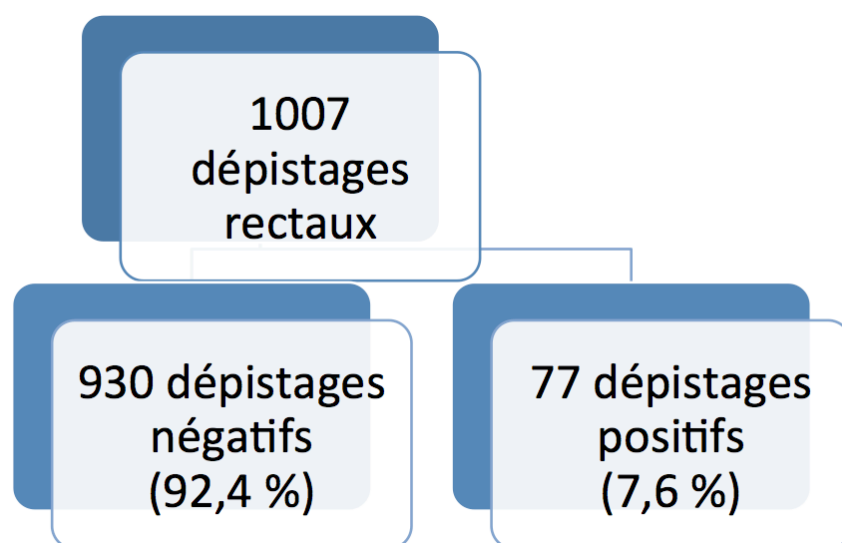


Figure 18. Nombre de dépistages et résultats.

9.1.2. Patients porteurs

Cela représentait un total de 608 patients dépistés pendant la durée de l'étude, avec un sex-ratio H/F égal à 1,4 et un âge moyen de 61 ans. Les dépistages étaient négatifs pour 551 patients (90,6 %). Au moins un dépistage rectal est revenu positif à E-BLSE pour 57 patients (9,4 %) (Figure 19). Au sein de ce groupe, le ratio H/F était 2,2 et l'âge moyen 62 ans. Le « délai BMR » moyen entre l'admission dans le service et le premier dépistage positif était de 3 jours avec un minimum de moins de 24 h et un maximum de 54 jours.

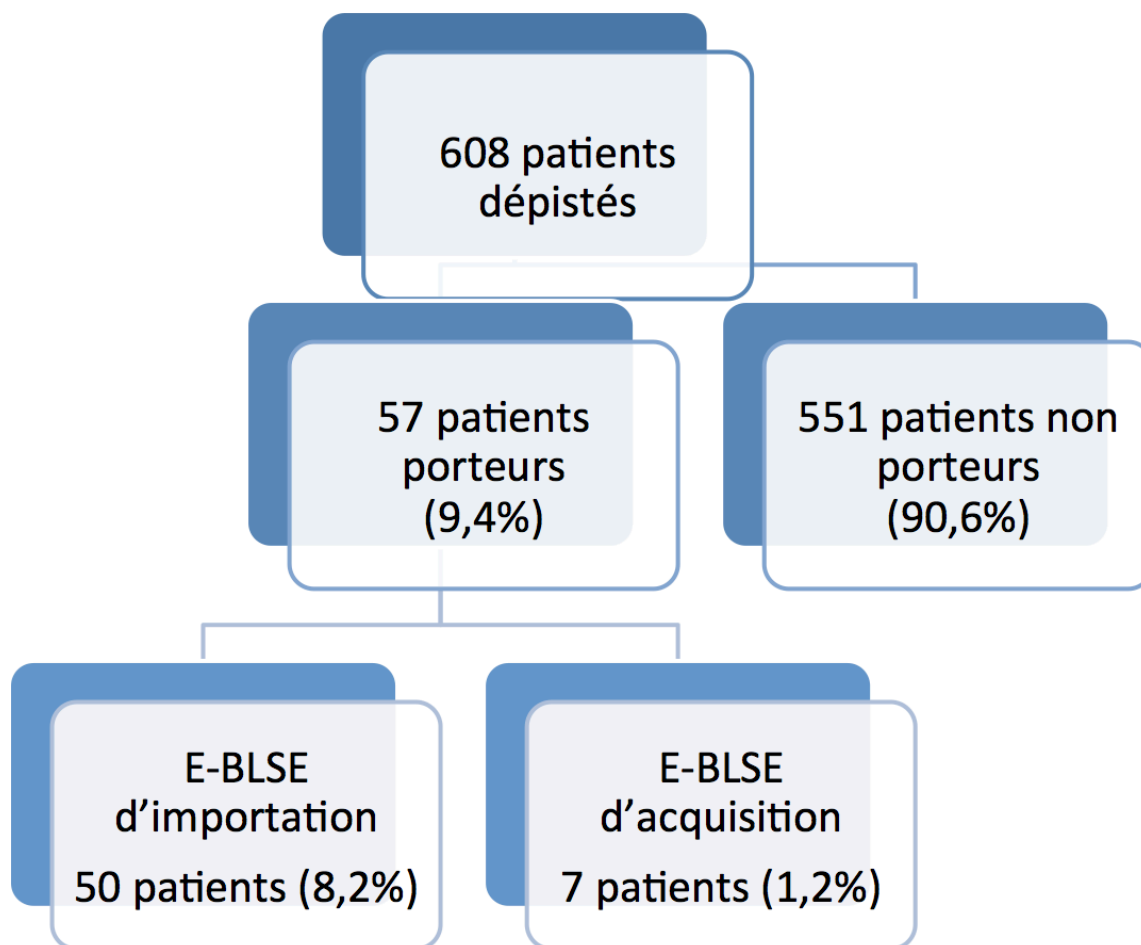


Figure 19. Dépistage des patients porteurs de E-BLSE et caractère importé ou acquis des souches.

Le portage digestif E-BLSE a été détecté sur le premier dépistage positif réalisé dans un délai de moins de 48 heures après l'admission dans le service pour 50 patients (8,2 %). Ils ont été catégorisés porteurs de « E-BLSE d'importation » et représentaient 87,7 % des patients colonisés. Seulement 7 patients (1,2 %) ont eu un dépistage positif avec un délai strictement supérieur à 48 h (Figure 19). Ils ont été catégorisés porteurs de « E-BLSE d'acquisition » et ne représentaient que 12,3 % des patients porteurs. Parmi ces 7 patients, aucun n'avait d'antécédent connu (au

CHU de Bordeaux) de colonisation et/ou d'infection à E-BLSE. De plus, un seul d'entre eux n'avait pas bénéficié d'un premier dépistage négatif dans les 48 premières heures de l'admission (Tableau 9).

9.1.3. Souches E-BLSE

Durant la période de l'étude, 80 souches E-BLSE ont été isolées à partir des 77 dépistages rectaux positifs.

En tenant compte des redondances comme décrit plus haut dans la partie Matériel et Méthodes, 17 souches ont été écartées. Cela représentait donc un total de 63 souches E-BLSE non redondantes détectées chez 57 patients (Figure 20).

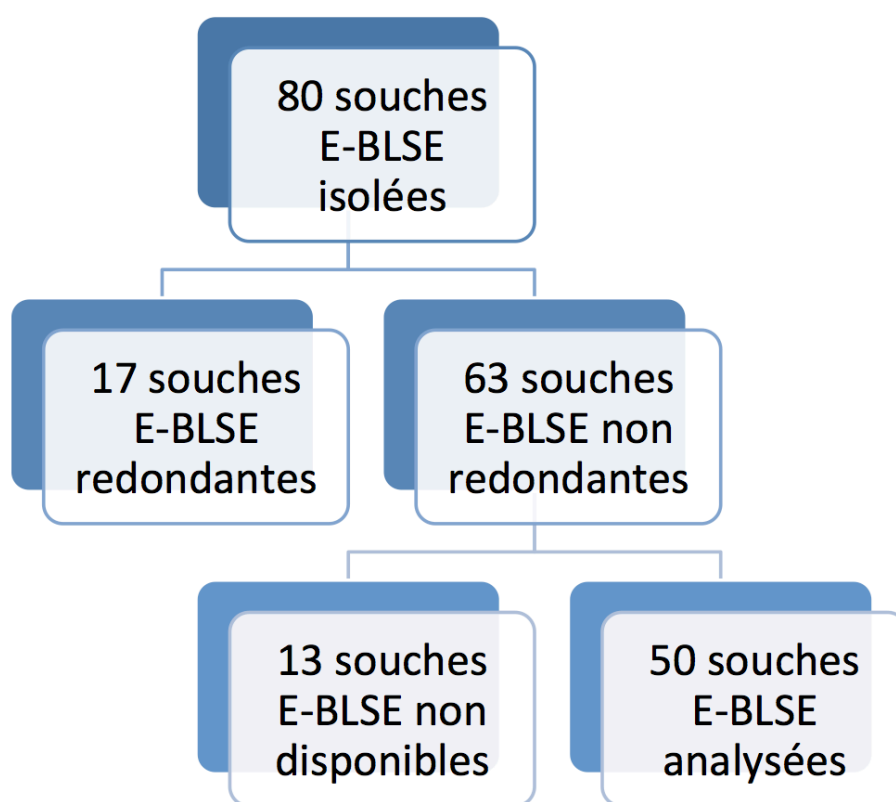


Figure 20. Résultats des dépistages en terme de souches E-BLSE de portage digestif.

Parmi les 63 souches E-BLSE non redondantes, 50 ont été analysées pour l'identification moléculaire des gènes de résistance, et ont fait l'objet d'une étude de leur sensibilité à plusieurs antibiotiques (Figure 20). Treize souches d'E-BLSE n'étaient pas disponibles dans le soucheur du laboratoire de bactériologie de l'hôpital Pellegrin. Les raisons en étaient les suivantes : (i) soit aucun numéro de souche n'était attribué (7 cas), (ii) soit le numéro de souche attribué était discordant avec l'identité et le numéro de dossier du patient (3 cas), (iii) soit la souche n'était pas

retrouvée dans le congélateur (2 cas), (iiii) enfin ce n'était pas la bonne bactérie qui avait été conservée (1 cas).

Parmi les 63 souches E-BLSE non redondantes, l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée était *E. coli*, suivie par *K. pneumoniae*. La répartition détaillée des espèces bactériennes, représentée dans la figure 21, est la suivante : 42 *E. coli* (66,5 %), 16 *K. pneumoniae* (25,5 %), 2 *C. koseri* (3,2 %), 1 *C. freundii* (1,6 %), 1 *E. kobei* (1,6 %), et 1 *S. fonticola* (1,6 %).

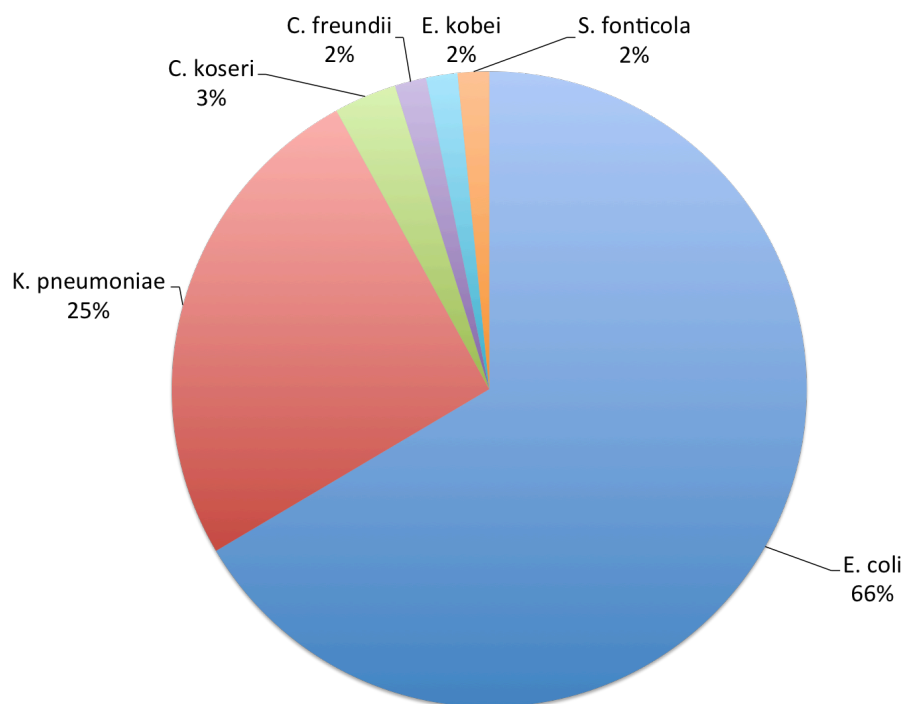


Figure 21. Distribution des espèces bactériennes parmi les 63 souches E-BLSE de portage digestif non redondantes.

La figure 22 montre, quant à elle, la répartition des espèces parmi les 50 souches E-BLSE analysées : 38 (76 %) appartenaient à l'espèce *E. coli*, 11 (22 %) à l'espèce *K. pneumoniae*, et 1 (2 %) à l'espèce *C. koseri*.

Parmi les 63 souches E-BLSE non redondantes :

- Pour un patient, deux E-BLSE d'espèce différente (*E. coli* et *K. pneumoniae*) ont été détectées sur un même dépistage.
- Pour un autre, deux E-BLSE d'espèce différente ont été détectées lors de deux dépistages espacés d'un mois au cours de la même hospitalisation. Il s'agissait d'un *C. freundii* puis d'une *K. pneumoniae* un mois plus tard.

- Pour une patiente, trois *E. coli* ont été détectés lors de trois dépistages différents réalisés lors de trois hospitalisations différentes.
- Enfin, pour deux patients, deux *E. coli* dont les colonies avaient un aspect macroscopique différent ont été isolés à partir du même dépistage.

9.2. Résultats de l'identification moléculaire des gènes de résistance *bla*

Sur les 50 souches E-BLSE de portage digestif analysées, 48 (96 %) étaient porteuses d'un gène codant pour une BLSE de type CTX-M, dont 31 (62 %) d'un gène *bla*_{CTX-M} groupe 1, 16 (32 %) d'un gène *bla*_{CTX-M} groupe 9, et 4 (8 %) d'un gène *bla*_{CTX-M} groupe 2.

D'autre part, 24 souches (48 %) étaient porteuses d'un gène *bla*_{TEM}, 17 (34 %) étaient porteuses d'un gène *bla*_{OXA-1-like} et 13 souches (26 %) étaient porteuses d'un gène *bla*_{SHV} codant pour une pénicillinase ou une BLSE (Figure 23).

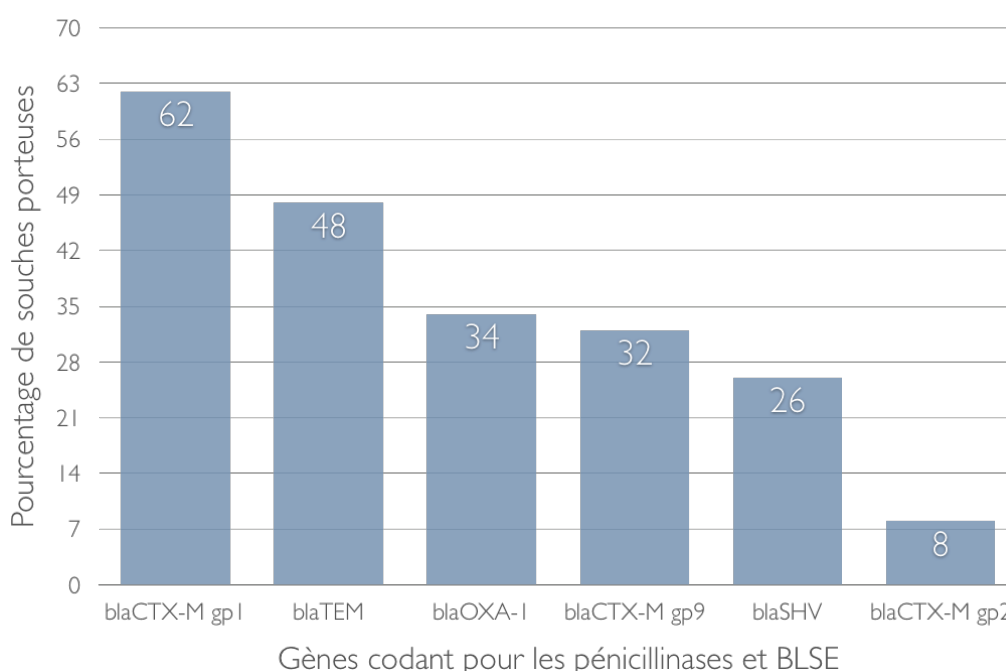


Figure 23. Prévalence des gènes de résistance *bla* parmi les 50 souches E-BLSE de portage digestif analysées.

La présence de plusieurs enzymes dans la même souche a été fréquemment retrouvée, pour 34 souches (68 %). Les diverses combinaisons de gènes de résistance *bla* et leur distribution parmi les 50 souches d'E-BLSE de portage digestif ont été représentées dans le tableau 10 et la figure 24.

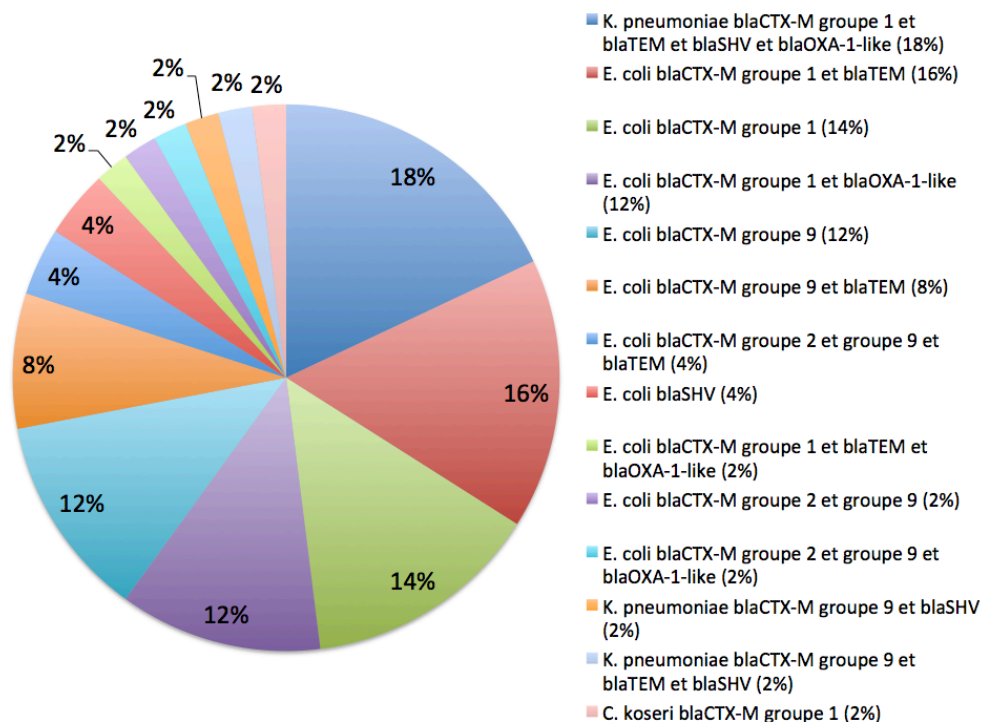


Figure 24. Distribution et combinaisons des gènes de résistance *bla* chez les 50 souches E-BLSE de portage digestif analysées.

Ces résultats montrent une plus grande hétérogénéité du contenu enzymatique chez l'espèce *E. coli* par rapport à l'espèce *K. pneumoniae*.

Il faut ici rappeler que les souches de *K. pneumoniae* possèdent naturellement une pénicillinase de type SHV (cf. plus haut), qui a été retrouvée dans notre étude pour chacune des souches appartenant à cette espèce.

D'autre part, parmi les 50 souches analysées, la présence d'un phénotype BLSE était lié de façon quasi-constante à une CTX-M (48 cas soit 96 %). Aucune souche n'était porteuse à la fois d'un gène codant pour une CTX-M du groupe 1 et du groupe 9 alors que des CTX-M du groupe 9 et du groupe 2 étaient associées dans 4 cas.

Pour seulement deux souches *E. coli*, le phénotype BLSE était lié uniquement à une enzyme de type SHV. A contrario, aucun profil BLSE n'était lié à une enzyme TEM seule.

Parmi les 50 souches E-BLSE analysées :

- Chez un patient, deux *E. coli* issus du même dépistage, dont les colonies avaient un aspect macroscopique différent, se sont révélés avoir le même contenu enzymatique (*bla*_{CTX-M} groupe 9). Il est fort probable qu'il s'agisse de la même souche bactérienne qui « dissociait » sur la gélose.

- Pour une patiente dépistée à trois reprises au cours de trois hospitalisations différentes au cours de l'étude, nous avons retrouvé trois *E. coli* dont deux avaient le même contenu enzymatique (*bla*CTX-M groupe 2 + groupe 9 + *bla*TEM) et le troisième était différent (*bla*CTX-M groupe 9 + *bla*TEM).
- Enfin, pour un troisième patient, deux *E. coli* avaient été isolés du même dépistage (aspect macroscopique des colonies différent) et après analyse moléculaire avaient des contenus enzymatiques différents (*bla*CTX-M groupe 1 pour l'un et *bla*SHV pour l'autre).

10. Etude de la sensibilité aux antibiotiques des souches E-BLSE

10.1. Résultats des antibiogrammes en milieu gélosé par diffusion

Les antibiogrammes ont été réalisés selon la méthode de diffusion en milieu gélosé MH à 37°C selon la grille standard du laboratoire de bactériologie du GH Pellegrin. Les diamètres des zones d'inhibition autour des disques antibiotiques ont été interprétés en « S », « I » ou « R » suivant les diamètres critiques définis pour les entérobactéries dans les recommandations 2013 du CA-SFM utilisées en routine au laboratoire. Les diamètres de témocilline ont été interprétés selon les recommandations 2014 car les diamètres critiques pour cet antibiotique n'ont été introduits qu'à partir de cette édition.

Les résultats complets des antibiogrammes sont représentés dans les tableaux 11 et 12 et sur la figure 25.

Toutes les souches étudiées présentaient un phénotype BLSE sur l'antibiogramme en milieu gélosé. Elles étaient toutes résistantes à l'ampicilline, à la ticarcilline, à la céfalotine et sensibles à l'imipénème. Une souche *E. coli* était résistante à l'ertapénème mais sensible à l'imipénème et au méropénème. Les tests complémentaires ont permis d'éliminer la présence d'une céphaloporinase hyperproduite et d'une carbapénémase, faisant suspecter une imperméabilité membranaire associée à la BLSE qui était une CTX-M du groupe 1.

En outre, sur l'antibiogramme, une récupération avec les IBL était observée avec certaines fois un retour à la sensibilité. Aucun phénotype TRI, d'enzyme résistante aux IBL, n'a été mis en évidence.

Les C3G et C4G étaient peu actives dans notre étude avec, respectivement 28, 26 et 0 % de sensibilité pour la ceftazidime, le céfépime et la ceftriaxone. L'image de synergie en « bouchon de champagne » entre ces molécules et les IBL a été observée pour chaque souche. Pour les souches E-BLSE sensibles aux C3G et C4G sur antibiogramme en milieu gélosé, le CA-SFM 2013 recommande de ne plus interpréter « R » les résultats « S » mais de réaliser des CMI. En effet, pour des raisons thérapeutiques et dans un but d'uniformisation avec l'EUCAST, les concentrations critiques retenues pour les C3G et C4G ont été fortement diminuées (≤ 1 mg/L) de sorte que la très grande majorité des E-BLSE est d'emblée catégorisée « I » ou « R ». Cette modification a permis d'autoriser le traitement d'infections à E-BLSE par les C3G et C4G, maintenant classées comme totalement actives après détermination de la CMI. Les résultats des CMI pour le céfépime et la ceftazidime sont présentés plus bas.

Parmi les autres alternatives aux carbapénèmes, la céfoxitine, l'association pipéracilline-tazobactam et la témocilline étaient actives respectivement chez 94, 88 et 88 % des souches E-BLSE de portage étudiées.

Parmi les aminosides qui peuvent être associés en bi-antibiothérapie à une β -lactamine, l'amikacine a été retrouvée comme étant celle le plus souvent active *in vitro*, avec un taux de sensibilité des souches de 98 %, contre 66 et 62 % pour la gentamicine et la tobramycine.

Quatre-vingt-dix pourcents des souches testées étaient sensibles à la tigécycline.

Les antibiotiques recommandés dans le traitement des cystites aiguës simples [177] dont la fosfomycine, la nitrofurantoïne et le mécillinam ont été retrouvés efficaces chez respectivement 94, 82 et 18 % des souches E-BLSE de notre étude ; interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines [174]. Le cotrimoxazole n'était efficace que dans 30 % des cas ; cet antibiotique n'est plus indiqué dans le traitement des cystites simples en raison d'un taux de résistance trop élevé et de son impact sur la flore digestive [177].

Enfin, parmi les fluoroquinolones, pour lesquelles la résistance est croisée entre les différentes molécules, la ciprofloxacine a été retrouvée comme étant celle le plus souvent active, avec cependant seulement 44 % des souches étudiées qui étaient sensibles. La norfloxacine qui répond pour toutes les fluoroquinolones en cas de sensibilité [174] n'était active que dans 34 % des cas.

10.2. Résultats des CMI par méthode E-test

La mesure de la CMI par méthode E-test a été réalisée sur les souches E-BLSE de portage disponibles, pour étudier la sensibilité aux 5 antibiotiques suivants : piperacilline-tazobactam, ceftazidime, céfépime, témocilline et la nouvelle association ceftolozane-tazobactam. Tous appartenaient à la classe des β -lactamines et étaient susceptibles de présenter un intérêt comme alternatives aux carbapénèmes dans les infections sévères à E-BLSE en réanimation. De plus, la réalisation de CMI pour les C3G et C4G était conforme aux recommandations du CA-SFM pour les souches E-BLSE retrouvées sensibles par la méthode des diamètres.

Les CMI ont été interprétées selon les concentrations critiques définies pour les entérobactéries par le CA-SFM 2016. Ces règles d'interprétation sont actuellement les plus récentes et ont été choisies car elles sont les seules à proposer des concentrations critiques pour l'association ceftolozane-tazobactam.

Concernant la piperacilline-tazobactam, les CMI par méthode E-test n'ont été réalisées que pour 20 souches sur les 50 étudiées au total, en raison d'une rupture de stock fournisseur de bandelettes antibiotiques.

Les résultats sont présentés dans la figure 26 qui montre la distribution des valeurs de CMI pour les souches E-BLSE de portage digestif.

La sensibilité aux deux associations BL-IBL était très bonne. Concernant la piperacilline-tazobactam, elle était active sur 100 % des souches avec une majorité de CMI basses (≤ 2 mg/L). Ce taux est à modérer par le fait que seules 20 souches ont été testées et qu'elles appartenaient toutes à l'espèce *E. coli*. Dix-neuf de ces 20 *E. coli* (95 %) étaient également retrouvés sensibles en méthode des diamètres. D'autre part, l'étude des diamètres met en évidence pour la piperacilline-tazobactam une sensibilité des souches *K. pneumoniae* dans 8 cas sur 11 (73 %) contre 35 cas sur 38 (92 %) pour *E. coli*. Il est donc vraisemblable que le taux de sensibilité pour la piperacilline-tazobactam soit plus faible en CMI quand les souches de *K. pneumoniae* auront été testées.

Concernant le ceftolozane-tazobactam, 90 % des souches testées étaient sensibles. Les souches *E. coli* étaient sensibles dans 100 % des cas et présentaient des CMI basses alors que 5 souches appartenant à l'espèce *K. pneumoniae* étaient résistantes avec des CMI n'excédant cependant jamais 3 mg/L ; seules 55 % des souches *K. pneumoniae* étaient donc sensibles au ceftolozane-tazobactam.

Les résultats obtenus par les deux méthodes concernant la pipéracilline-tazobactam, la témocilline, le céfépime et la ceftazidime ont été comparés sur la base des recommandations du CA-SFM 2013 (2014 pour la témocilline comme détaillé plus haut) et sont présentés dans le tableau 13.

Tableau 13. Comparaison des résultats de sensibilité entre diamètres et CMI.

Antibiotiques	Sensibilité des souches par diamètres (CA-SFM 2013) n (%)			Sensibilité des souches par CMI bandelette (CA-SFM 2013) n (%)		
	S	I	R	S	I	R
Pipéracilline-tazobactam (comparé uniquement sur 20 souches <i>E. coli</i>)	95% (19/20)	5% (1/20)	0%	100% (20/20)	0%	0%
Céfépime	26%	18%	56%	4%	22%	74%
Ceftazidime	28%	14%	58%	28%	36%	36%
Témocilline (CA-SFM 2014)	88%	NA	12%	80%	NA	20%

Pour la témocilline, 80 % des souches testées étaient sensibles après détermination de la CMI. Cette valeur était plus faible mais proche du résultat obtenu par la mesure des diamètres (88 %).

Concernant la ceftazidime et le céfépime, respectivement 28 et 4 % des souches ont été trouvées sensibles après détermination de la CMI. Onze souches étaient sensibles au céfépime sur l'antibiogramme alors qu'elles étaient intermédiaires ou résistantes en CMI. D'autre part, même si le pourcentage global de sensibilité était le même pour la ceftazidime entre les deux techniques (28 %), la concordance était mauvaise entre les souches (Tableau 14).

Le tableau 14 compare les résultats de sensibilité entre les deux méthodes en fonction du type de souche E-BLSE étudiée (espèce bactérienne et gènes *bla* détectés). Aucune souche n'était porteuse de façon concomitante d'une CTX-M du groupe 1 et du groupe 9 et les souches porteuses d'une CTX-M du groupe 9 étaient plus sensibles à la ceftazidime (10 cas sur 16 soit 62 %) que celles contenant une CTX-M du groupe 1 (4 souches sensibles sur 32 soit 12 %).

11. Etude des infections à E-BLSE chez les patients porteurs de E-BLSE au cours de leur séjour en réanimation

Durant la période de l'étude, 12 souches E-BLSE ont été isolées à partir de 11 prélèvements cliniques réalisés à visée diagnostique chez 9 patients de réanimation (Tableau 15).

L'indice de gravité simplifié (IGS II) est un score qui prend en compte le nombre de défaillances d'organe du patient dans les 48 heures suivant son admission en réanimation. L'IGS II moyen des patients était de 59 (deux indices non disponibles). Les diagnostics étaient variés : pyélonéphrite, abcès abdominal, pneumopathie, bactériémie, sepsis sévère. Cinq patients sont décédés au cours de leur hospitalisation.

Le « délai BMR » moyen était de 11 jours, avec un minimum de moins de 24 heures et un maximum de 84 jours.

L'origine des prélèvements était la suivante : 6 urines, 2 sécrétions trachéales, 2 expectorations, et 1 hémoculture sur cathéter.

Au total, les espèces bactériennes retrouvées étaient principalement *E. coli* (6), *K. pneumoniae* (4), *C. freundii* (1) et *E. asburiae* (1).

Parmi les 12 souches E-BLSE isolées des prélèvements cliniques :

- Chez un même patient, 2 prélèvements urinaires répétés à moins de deux jours d'intervalle ont permis de mettre en évidence 2 isolats de *K. pneumoniae* ayant exactement le même profil de résistance aux antibiotiques. Ces isolats ont donc été considérés comme redondants.
- Pour un autre patient, deux prélèvements réalisés le même jour sont revenus positifs. Il s'agissait d'un prélèvement urinaire et d'une expectoration tous les deux positifs à *E. coli* BLSE.
- Enfin, pour une patiente, un même prélèvement de sécrétions trachéales a permis d'isoler deux E-BLSE d'espèce différente (*E. coli* et *E. asburiae*).

Parmi les 9 patients ayant eu des prélèvements cliniques positifs, seuls 2 n'ont pas été trouvés porteurs digestifs durant leur séjour en réanimation : (i) pour l'un les dépistages réalisés sont restés négatifs tout au long du séjour ; (ii) pour l'autre le

dépistage n'a pas été réalisé. A contrario, les 7 autres patients avaient été dépistés porteurs de E-BLSE durant l'étude et ont eu, par la suite, un prélèvement clinique positif à E-BLSE, ce qui représente 12,3 % des 57 patients colonisés. De plus, parmi ces 7 patients, un seul était porteur de E-BLSE acquises. Il s'agissait de deux souches de portage d'espèce différente (*C. freundii* et *K. pneumoniae*) détectées sur deux dépistages à un mois d'intervalle au cours du séjour. Ce patient avait présenté une PAVM à *K. pneumoniae* BLSE compliquant une grippe sévère.

Les 6 autres patients étaient colonisés par des E-BLSE d'importation détectées dès l'admission.

La comparaison, lorsqu'elle était possible chez un même patient, des souches de portage digestif avec les souches cliniques, a montré que l'espèce bactérienne, le contenu enzymatique (en rapport avec les gènes *bla* détectés en PCR) et le profil de sensibilité aux antibiotiques étaient identiques dans tous les cas sauf pour un patient pour lequel le contenu enzymatique était différent. Chez ce patient, les gènes retrouvés en PCR pour la souche *K. pneumoniae* de portage étaient *bla*_{CTX-M} groupe 1 + *bla*_{TEM} + *bla*_{SHV} + *bla*_{OXA-1-like} alors que les gènes retrouvés pour la souche *K. pneumoniae* isolée à partir d'une expectoration étaient *bla*_{CTX-M} groupe 1 + *bla*_{TEM} + *bla*_{SHV}. Néanmoins, leur profil de résistance aux antibiotiques était similaire.

DISCUSSION ET PERSPECTIVES

Discussion et perspectives

Commentaires sur la méthodologie et les matériels :

La première faiblesse de cette étude est qu'il s'agit d'une étude monocentrique : les dépistages ont été réalisés exclusivement chez les patients de la réanimation du GH Pellegrin au CHU de Bordeaux et les résultats ne peuvent pas être généralisés à d'autres services de réanimation qui possèdent une politique différente de surveillance et de contrôle du portage E-BLSE.

Sur le plan méthodologique, même si la définition d'une acquisition nosocomiale n'est pas consensuelle, nous avons choisi un dépistage positif avec un délai supérieur à 48 heures après l'admission en réanimation, ce qui est retrouvé le plus souvent dans la littérature pour séparer une importation d'une acquisition dans le service [130]. Concernant le rythme des dépistages, les patients de réanimation ayant déjà eu un dépistage positif ont bénéficié de nouveaux prélèvements rectaux durant leur hospitalisation. Ce dépistage hebdomadaire se justifie notamment par l'écologie locale du service de réanimation. En effet, en raison du risque d'épidémie, une recherche d'*A. baumannii* résistant à l'imipénème est réalisée de façon concomitante au dépistage E-BLSE, par réalisation d'un antibiogramme pour chaque souche détectée appartenant à cette espèce. Dans certaines études, le dépistage du portage E-BLSE est parfois réalisé uniquement à l'admission, parfois dans un premier temps à l'admission puis deux fois par semaine. Ces stratégies de dépistage sont non consensuelles. La répétition des dépistages et notamment des dépistages positifs redondants représente un coût ainsi qu'une charge de travail soignant et technique non négligeable, d'autant qu'un patient détecté positif est considéré porteur durant la totalité de son hospitalisation. Dans notre étude, nous avons considéré « redondantes » les souches de même espèce bactérienne retrouvées en portage digestif chez un même patient sur deux ou plusieurs dépistages consécutifs durant la même hospitalisation. On peut néanmoins se demander s'il n'aurait pas fallu étudier toutes les souches d'acquisition (même celles catégorisées redondantes) comme cela a été fait dans une étude récente [130]. En effet, dans cette étude, toutes les souches détectées ont été comparées par rep-PCR et pour 3

patients (sur 25) dépistés porteurs dès l'admission, une souche différente a été détectée sur des dépistages ultérieurs au cours du séjour.

D'autre part, la recherche d'un portage digestif reposait sur un écouvillonnage rectal réalisé chez le patient. Cet examen ne possède pas une sensibilité parfaite notamment en raison de la possibilité d'un écouvillon pas assez chargé en matière fécale, ce qui a pu entraîner des erreurs de classification des patients. De plus, dans notre étude rétrospective, nous avons été confrontés à des problèmes matériels reflétant la réalité de la pratique quotidienne. Nous avons dû faire face à la non conservation de 13 souches d'intérêt sur 63 (20 %) dans le congélateur du laboratoire de bactériologie. Ce pourcentage aurait été encore plus important si nous avions choisi d'analyser également les souches redondantes car celles-ci étaient nombreuses à ne pas avoir été conservées. Une étude prospective aurait probablement permis d'éviter autant de perte.

Enfin, nous avons été confrontés à une rupture de stock fournisseur de bandelettes antibiotiques E-test pour les CMI pipéracilline-tazobactam, ce qui au-delà de notre étude constitue un vrai problème en pratique quotidienne.

Commentaires sur les résultats obtenus :

Dans la première partie de notre étude nous avons établi la prévalence du portage digestif E-BLSE en situation non-épidémique chez les patients de réanimation médicale au GH Pellegrin du CHU de Bordeaux. Cette étude s'inscrit dans les recommandations du HCSP qui dans un rapport de 2010 préconisait une surveillance épidémiologique des E-BLSE par le biais des systèmes de surveillance en place (BMR-Raisin, EARSS France, Onerba) mais également par le biais d'études spécifiques dans le but de préciser la fréquence du portage E-BLSE dans différents types de population.

En dépit d'une forte variabilité de la prévalence du portage digestif des E-BLSE par rapport à la zone géographique et au type de population étudiée, une augmentation globale des taux est observée dans le monde entier [132]. Dans notre étude, sur les 608 patients de réanimation dépistés, 9,4 % étaient colonisés par une E-BLSE. Ce résultat est inférieur à ce qui est retrouvé dans deux études parisiennes de prévalence en réanimation dont les taux sont de 15 % [129], et 13 % [130]. Toutefois,

notre taux est supérieur à celui des « porteurs de E-BLSE ciblées » observé dans le rapport REA-Raisin 2013 qui est de 6,1 %. Le caractère intermédiaire de notre taux de prévalence paraît cohérent. En effet, même si la définition du REA-Raisin inclut les souches issues de prélèvements cliniques, elle ne prend en considération que les patients hospitalisés plus de 48 heures en réanimation alors que dans notre étude, tous les patients dépistés dans le service ont été inclus sans durée de séjour minimum. De plus, le multicensitisme du REA-Raisin lisse les variabilités inter-région et inter-centre alors que notre étude en CHU était monocentrique. A contrario, les taux de portage plus élevés dans les deux études parisiennes peuvent s'expliquer par le fait que la prévalence des E-BLSE est classiquement plus importante en région Île-de-France, probablement en raison de la densité de population et des nombreux flux d'individus inhérents aux gares et aéroports internationaux, le retour de voyage en zone d'endémie constituant un important facteur de risque de colonisation E-BLSE [132]. D'autre part, aucune mesure d'isolement complémentaire n'était mise en place dans l'étude de Razazi et al. concernant le portage digestif E-BLSE, ce qui contraste avec l'application au sein du service de réanimation du GH Pellegrin des mesures de PCC recommandées par le HCSP.

Très peu d'études ont comparé directement les taux de colonisation à E-BLSE entre les patients de service à haut risque comme la réanimation et les individus en bonne santé [178] et d'autres études comparatives sont nécessaires. Néanmoins, jusqu'à récemment, les études concernant le portage chez les patients à haut risque montraient des taux plus élevés que celles s'intéressant aux individus en bonne santé ; mais il semblerait que l'écart tende à se resserrer... Dans une étude française conduite en 2011, 6 % d'individus sains étaient porteurs de *E. coli* BLSE [128]. De plus, dans une méta-analyse récente, la prévalence du portage digestif E-BLSE était de 14 % au niveau international global et de 4 % pour l'Europe au sein d'une population d'individus en bonne santé, et les taux de colonisation augmenteraient avec un taux annuel d'environ 5 % [132]. D'autre part, dans cette méta-analyse, une hospitalisation récente n'a pas été retrouvée comme un facteur de risque de colonisation à E-BLSE, ce qui était inattendu. Les auteurs ont conclu que cela était probablement lié à la forte croissance de la prévalence dans la communauté et qu'en raison de flux perpétuels entre communauté et hôpitaux, la frontière devenait floue. Cela suggère que la communauté est devenue un réservoir important pour les E-BLSE [42].

Dans notre étude, nous avons également évalué le taux de patients porteurs de E-BLSE d'importation et de E-BLSE d'acquisition durant le séjour en réanimation. Le portage digestif de E-BLSE a été détecté à l'admission dans le service (dans les 48 premières heures) pour 8,2 % des patients soit 87,7 % des patients colonisés. Seuls 7 patients (1,2 %) ont eu un premier dépistage positif avec un délai supérieur à 48 heures. Ils ne représentaient que 12,3 % des patients porteurs. Parmi eux, un seul patient n'avait pas eu de premier dépistage négatif, il n'est donc pas possible d'affirmer qu'il s'agissait d'une vraie acquisition dans le service mais nous l'avons considérée comme telle. Nos résultats suggèrent que les E-BLSE dépistées au sein de la réanimation du GH Pellegrin sont très majoritairement importées (environ 88 % des patients colonisés) et non acquises dans le service. Le taux d'acquisition retrouvé dans notre étude est globalement inférieur aux données de la littérature. Le rapport REA-Raisin 2013, qui utilise également comme critère un délai supérieur à 48 heures pour le classement en « acquisition », indique que 2,4 % des patients de réanimation étaient des « porteurs » (incluant portage seul, colonisation et infection) de souches E-BLSE acquises dans le service. Différentes études ont montré que les taux de portage digestif d'E-BLSE étaient similaires entre des souches importées de la communauté et des souches d'acquisition nosocomiale allant respectivement de 4,1 à 15 % et de 1,3 à 20,5 % [133], [139], [158], [179], [180]. La difficulté d'interprétation des résultats de ces études réside dans la variété des définitions du caractère communautaire ou nosocomial des cas qui n'est pas consensuelle. Les définitions utilisées reposaient soit sur la seule information d'un délai inférieur à 48 heures entre la survenue du cas et l'hospitalisation (comme dans notre étude) soit sur l'absence d'antécédent d'hospitalisation durant des périodes très variables selon les auteurs : de plusieurs semaines, mois ou années. Nos résultats sont donc à nuancer car nous n'avons pas étudié les antécédents d'hospitalisation des patients colonisés. Néanmoins, le rapport REA-Raisin 2013 indique qu'en 2013 la majorité (52 %) des patients de réanimation venait du domicile alors que 48 % avaient un « passé hospitalier ». Il est donc probable que de nombreux patients de notre étude n'étaient pas communautaires car le service de réanimation du GH Pellegrin accueille fréquemment des patients en provenance d'autres services ou structures hospitalières dans lesquels aucun dépistage n'est pratiqué au début du séjour. Dans ces conditions, il n'apparaît pas licite d'affirmer le caractère communautaire de nos souches d'importation, mais nos résultats montrent qu'il y a eu très peu de souches acquises donc potentiellement imputables à une transmission croisée, au sein du service.

Une étude récente [130] dont la méthodologie est proche de la nôtre a montré un taux d'importation de 8 % comparable à nos résultats et un taux d'acquisition de 6,5 %, plus élevé que dans notre étude. Une explication possible est que nous n'avons pas incorporé les 17 souches catégorisées « redondantes » détectées plus de 48 heures après l'admission. Néanmoins dans cette étude, au moyen d'une approche multimodale utilisant une technique de typage par PCR (rep-PCR) et en tenant compte de la compatibilité géographique et temporelle, les auteurs ont démontré qu'un seul cas pouvait être attribué à une véritable transmission croisée parmi les 19 acquisitions observées pendant le séjour en réanimation, rappelant dans leur conclusion que « acquisition » ne signifie pas « transmission croisée » [130]. L'explication vient probablement de la densité de colonisation dans le tube digestif des patients qui est souvent trop faible pour être dépistée à l'admission, mais qui se révèle sous la pression de sélection dès la mise en route d'un traitement antibiotique. Ainsi le portage digestif de E-BLSE est probablement le plus souvent acquis dans la communauté mais demeure de « révélation intra-hospitalière ». Il serait intéressant d'effectuer une comparaison similaire des souches E-BLSE d'acquisition de notre étude par une même approche multi-modale en réalisant un génotypage des souches (par PFGE ou par rep-PCR comme dans cette étude).

Les données d'autres études suggèrent que la transmission de patient à patient ne jouerait pas un rôle majeur, même en réanimation, pour l'acquisition de E-BLSE en situation non-épidémique, tout du moins pour *E. coli* [142], [143]. Il a d'ailleurs été montré que de simples PS pouvaient être suffisantes au sein d'une réanimation [142]. Dans notre étude, compte-tenu du faible taux de souches acquises dans le service de réanimation du GH Pellegrin, le maintien du dépistage du portage E-BLSE et des mesures PCC pour les patients porteurs paraît cohérent. Néanmoins, un schéma en un seul dépistage à l'admission voire deux dépistages consécutifs (pour augmenter la sensibilité) pourrait s'avérer suffisant et permettrait de réaliser des économies.

Concernant les espèces bactériennes retrouvées en portage digestif chez nos patients, l'espèce *E. coli* BLSE arrivait loin en tête. Dans notre étude, 66,5 % des souches E-BLSE de portage digestif isolées appartenaient à l'espèce *E. coli*, suivie par l'espèce *K. pneumoniae* (25,5 %). Nos résultats sont en accord avec la littérature. En effet, *E. coli* est majoritairement retrouvée en portage digestif chez les patients de réanimation dans 62 % [129] et 52 % des cas [130] mais également chez les individus sains avec une multiplication par 10 du taux de portage digestif de

E. coli BLSE en 5 ans (0,6 % en 2006 et 6 % en 2011) retrouvée dans une étude parisienne [128]. La répartition des espèces au sein des E-BLSE a profondément évolué en France à partir des années 2000. La place de l'espèce *E. coli* a considérablement augmenté, celle de *K. pneumoniae* est restée stable tandis que le genre *Enterobacter* a nettement reculé, ce que nous retrouvons parmi nos souches avec seulement une souche *E. kobei* isolée. D'autre part, si on compare les délais BMR des souches de portage acquises avec l'espèce bactérienne responsable, on observe des délais plus courts pour l'espèce *E. coli* par rapport à *K. pneumoniae* (de 3 à 6 jours contre 14 à 82 jours), ce qui élève la suspicion de transmission croisée pour cette espèce, ce qui a déjà été rapporté dans la littérature [143], [144]. En outre, une étude a montré que la contamination de l'environnement hospitalier était plus fréquente en cas de portage digestif ou d'infection à *K. pneumoniae* BLSE par rapport à *E. coli* [21] augmentant le risque de transmission croisée avec cette espèce.

Dans notre étude, l'identification moléculaire des gènes de résistance *bla* des souches E-BLSE a mis en évidence pour 34 souches (68 %) la présence de plusieurs gènes de résistance dans la même souche. Les gènes *bla*_{CTX-M} était associés à *bla*_{TEM} et *bla*_{OXA-1-like}, ce qui est en accord avec de précédentes études [126], [181]. Nos résultats confirment par ailleurs une prédominance majeure des BLSE de type CTX-M. En effet, 96 % des souches E-BLSE analysées étaient porteuses d'un gène *bla*_{CTX-M} et 62 % d'un gène *bla*_{CTX-M} du groupe 1. Nos résultats sont en accord avec les données de la littérature, même s'ils semblent accorder encore plus d'importance à la proportion des CTX-M par rapport à d'autres études, qui montrent 79 % de CTX-M et plus particulièrement du groupe 1 (environ 76 % des CTX-M) [130]. Il s'agit probablement de CTX-M-15 (groupe 1) et CTX-M-14 (groupe 9), qui sont les CTX-M principalement retrouvés en Europe, en particulier CTX-M-15, notamment en raison d'une large diffusion de clones bactériens tel que le clone pandémique *E. coli* ST131 produisant cette BLSE [123].

Ces résultats correspondent également à la distribution des BLSE en portage dans la communauté chez des individus sains [128], [129]. Dans la méta-analyse de Karanika et al., au niveau international, 69 % des souches E-BLSE étaient porteuses de BLSE de type CTX-M, 21 % TEM et 10 % SHV [132]. Cette évolution radicale et très rapide de l'épidémiologie des BLSE n'est pas complètement expliquée mais serait liée en partie à la prépondérance de *E. coli* au sein de la flore digestive et au

support génétique mobile des CTX-M qui permet une diffusion facile de la résistance d'une souche à une autre.

Chez une patiente dépistée à trois reprises au cours de trois hospitalisations différentes au cours de l'étude, nous avons retrouvé trois *E. coli* dont deux avaient le même contenu enzymatique (*bla*_{CTX-M} groupe 2 + groupe 9 + *bla*_{TEM}) et le troisième était différent (*bla*_{CTX-M} groupe 9 + *bla*_{TEM}). Cela pourrait s'expliquer par la perte du plasmide codant pour CTX-M du groupe 2, montrant la mobilité du support des gènes de résistance.

Pour un autre patient, deux *E. coli* avaient été isolés du même dépistage (aspect macroscopique différent des colonies) et après analyse moléculaire avaient des contenus enzymatiques différents (*bla*_{CTX-M} groupe 1 pour l'un et *bla*_{SHV} pour l'autre). Un génotypage par PFGE permettrait de préciser s'il s'agissait de la même souche bactérienne ayant acquis des gènes différents, ou ce qui paraît plus probable, de deux souches différentes.

Dans la deuxième partie de l'étude, nous avons étudié la sensibilité à plusieurs antibiotiques des souches E-BLSE issues de portage digestif. Jusqu'à aujourd'hui, les seuls résultats disponibles concernant les options de traitement pour les infections à E-BLSE proviennent d'études observationnelles et d'étude de sensibilité *in vitro* aux antibiotiques. Des essais randomisés comparant les carbapénèmes à d'autres antibiotiques sont en cours mais aucune donnée n'est à ce jour disponible. Concernant les données de sensibilité *in vitro*, nous sommes parfois confrontés à un problème d'interprétation des résultats compte-tenu de la variabilité des concentrations critiques recommandées. En effet, toutes les sociétés savantes (CLSI aux USA et EUCAST/CA-SFM en Europe et en France) ne proposent pas les mêmes seuils critiques. Il existe également des différences entre les différentes versions, ce qui demande la plus grande vigilance avant d'établir des conclusions.

Dans notre étude, la sensibilité des souches E-BLSE étudiées était de 100 % pour l'imipénème ce qui est en accord avec les données de la littérature. Des taux similaires de sensibilité ont été rapportés pour des souches de portage E-BLSE isolées chez des patients de réanimation au Liban [133] ainsi qu'en Espagne chez des patients neutropéniques ayant un cancer [158]. Ces données de sensibilité confortent le choix des carbapénèmes comme traitement des infections sévères à E-BLSE en réanimation car ils demeurent la référence en terme d'efficacité *in vitro*.

Néanmoins, dans le but de limiter l'émergence de la résistance aux carbapénèmes, nous avons étudié les taux de sensibilité des souches de notre étude vis-à-vis d'autres antibiotiques.

Les associations BL-IBL avec 88 % des souches sensibles pour la pipéracilline-tazobactam (méthode des diamètres) et 90 % pour le ceftolozane-tazobactam (CMI par méthode E-test) représentent des alternatives intéressantes. Pour la pipéracilline-tazobactam, les valeurs des CMI mesurées pour l'espèce *E. coli* étaient basses (majoritairement ≤ 2 mg/L) ce qui est un argument supplémentaire car une étude a montré l'impact de CMI basses (≤ 2 mg/L) pour cet antibiotique sur la diminution de la mortalité [167], notamment en raison de l'effet inoculum affectant la pipéracilline-tazobactam au site d'infection. Les données de la littérature sont cependant partagées concernant cette association. Dans une étude japonaise, le taux global de sensibilité à la pipéracilline-tazobactam de souches E-BLSE d'origine urinaire était proche de celui retrouvé dans notre étude (85,5 %). Cependant il existait une différence nette entre les espèces bactériennes avec 86,3 % de sensibilité pour les souches *E. coli* mais seulement 50 % pour *K. pneumoniae* [160]. Nos résultats semblent concordants avec 92 % des souches *E. coli* testées qui étaient sensibles à la pipéracilline-tazobactam contre 73 % des souches *K. pneumoniae* en méthode des diamètres.

Concernant le ceftolozane-tazobactam, nos résultats présentent une certaine ressemblance avec ceux de la pipéracilline-tazobactam. En effet, 90 % des souches testées étaient sensibles. Néanmoins, une différence de sensibilité entre *E. coli* et *K. pneumoniae* est apparue. Les souches *E. coli* étaient sensibles au ceftolozane-tazobactam dans 100 % des cas et présentaient des CMI basses alors que les souches *K. pneumoniae* étaient sensibles dans seulement 55 % des cas.

Cette nouvelle molécule a démontré sa non-infériorité par rapport au méropénème en association avec le métronidazole dans le traitement des infections abdominales compliquées causées par des BMR, dont des E-BLSE [171]. Dans cette étude, le taux global de sensibilité des entérobactéries pour le ceftolozane-tazobactam était de 97,4 %. Néanmoins, au vu de nos résultats, des précautions s'imposent concernant son utilisation dans des infections causées par des espèces autres que *E. coli*.

D'autre part, dans notre étude, les C3G et C4G étaient peu actives avec 28, 4 et 0 % de sensibilité pour la ceftazidime, le céfépime et la ceftriaxone (CMI par méthode E-test). Ce résultat était attendu compte-tenu du fait que 96 % des souches E-BLSE

étudiées étaient porteuses de CTX-M qui sont des céfotaximases possédant une activité hydrolytique supérieure pour la ceftriaxone. D'autres études ont montré des taux comparables [160]. De plus, pour les C3G et C4G, la concordance entre les méthodes des diamètres ou des CMI était mauvaise entre les souches. Ceci souligne l'importance de réaliser les CMI pour les C3G et C4G, conformément aux recommandations du CA-SFM. D'autant que là encore, pour le céfépime, une étude a montré l'impact de CMI basses (≤ 1 mg/L) sur la diminution de la mortalité [182].

Concernant la témocilline, 80 % des souches testées étaient sensibles après détermination de la CMI. Une étude française a retrouvé un taux de sensibilité inférieur avec seulement 61 % des souches *E. coli* d'origine urinaire qui étaient sensibles pour une utilisation à visée « systémique », c'est-à-dire en utilisant la même valeur critique de CMI que dans notre étude, soit 8 mg/L. Cette étude utilisait les recommandations de la British Society for Antimicrobial Chemotherapy (BSAC) qui préconise une deuxième concentration critique plus élevée de 32 mg/L à visée « urinaire » et ainsi 99 % des souches étudiées étaient sensibles [159]. Ces résultats semblent ne pas indiquer cette molécule comme une alternative dans les infections graves chez les patients de réanimation, mais plutôt en cas d'infections urinaires. Des études sur l'efficacité clinique de cette molécule sont nécessaires.

Dans notre étude, les résultats concernant la céfoxitine étaient excellents avec 94 % des souches qui étaient sensibles. La littérature concernant cet antibiotique est assez pauvre. Une étude française récente a évalué l'efficacité clinique de la céfoxitine sur des souches E-BLSE majoritairement d'origine urinaire appartenant aux espèces *E. coli* et *K. pneumoniae*. Elle rapportait un échec microbiologique dans 18 % des cas mais concluait que la céfoxitine pouvait être considérée comme une alternative aux carbapénèmes pour certaines infections à E-BLSE, de préférence celles liées à *E. coli*. Il s'agissait d'une étude avec de faibles effectifs et d'autres études comparatives sont nécessaires pour établir l'efficacité de cet antibiotique.

L'amikacine était retrouvée avec une sensibilité globale de 98 % similaire aux 100 % de sensibilité observée chez Asakura et al, ce qui suggère que cet antibiotique est l'allié de choix en bi-thérapie pour le traitement des infections sévères à E-BLSE chez les patients de réanimation.

Dans notre étude, la tigécycline a également prouvé une excellente activité *in vitro* contre les E-BLSE avec 90 % des souches sensibles à cette molécule, ce qui est en accord avec les données de la littérature [159], [183]. Cette molécule pourrait

constituer une bonne alternative aux carbapénèmes dans le traitement d'infections intra-abdominales ou de prostatites à E-BLSE documentées. Néanmoins, cet antibiotique ne serait a priori pas utilisable dans les infections urinaires et les bactériémies [184].

Les antibiotiques recommandés dans le traitement des cystites aiguës simples [177] dont la fosfomycine, la nitrofurantoïne et le mécillinaam ont été retrouvés efficaces chez respectivement 94, 82 et 18 % des souches E-BLSE de notre étude. Si les résultats des deux premières molécules sont en accord avec la littérature [159], [185], le taux de sensibilité pour le mécillinaam est contradictoire avec des taux de 91 et 90 % retrouvés dans ces études chez des souches *E. coli* BLSE. Cet écart majeur peut s'expliquer de plusieurs manières. D'abord, nos souches n'étaient pas limitées à l'espèce *E. coli* avec 11 souches *K. pneumoniae*. De plus, pour cet antibiotique, il pourrait exister d'importantes différences liées à la méthode utilisée (entre diamètres et CMI). Enfin, le diamètre critique utilisé dans notre étude pour le mécillinaam était ≥ 18 mm (CA-SFM 2013) et a été modifié dans l'édition 2014 en ≥ 15 mm, ce qui relativise nos résultats car 15 souches supplémentaires seraient ainsi classées sensibles portant le total à 52 % des souches testées.

Enfin, de nombreuses souches testées étaient résistantes aux fluoroquinolones avec des taux de sensibilité de 34 et 44 % pour la norfloxacine et la ciprofloxacine, ce qui est compatible avec des données récentes [159]

Nos résultats de sensibilité aux antibiotiques et de contenu enzymatique montrent qu'il est difficile de prédire le type de BLSE en fonction du phénotype de résistance observé, en raison du fait que plusieurs enzymes sont fréquemment retrouvées dans la même souche. Néanmoins, aucune souche n'était porteuse à la fois d'une CTX-M du groupe 1 et du groupe 9 et il semblerait que ces dernières soient plus sensibles à la ceftazidime (10 cas sur 16 soit 62 %) que celles du groupe 1 (4 souches sensibles sur 32 soit 12 %), ce qui est également retrouvé dans une étude récente pour plusieurs β -lactamines [185].

Enfin, dans notre étude, 9 patients au total avaient des prélèvements cliniques positifs à E-BLSE. Parmi ces 9 patients, 7 (77,8 %) avaient un dépistage rectal positif à E-BLSE durant leur hospitalisation en réanimation, antérieur ou concomitant à l'infection. Aucun patient n'a été détecté porteur a posteriori. Une telle présentation

des résultats pourrait inciter à la prescription systématique de carbapénèmes chez les patients colonisés en cas d'infection. Mais l'approche opposée met en évidence que parmi les 57 patients colonisés à E-BLSE de notre étude, seulement 7 (12,3 %) ont eu un prélèvement à visée diagnostique positif à E-BLSE. Cette dernière approche suggère que le risque pour les patients porteurs de E-BLSE de faire une infection à E-BLSE n'est probablement pas si élevé, même en réanimation médicale. Les données de la littérature sont partagées. Certaines ont mis en évidence le rôle de la colonisation digestive à E-BLSE dans le développement d'une bactériémie chez des patients atteints d'hémopathies malignes [138] alors qu'une étude similaire chez le même type de patients n'identifiait pas de corrélation entre portage digestif E-BLSE et bactériémie [139]. En réanimation, l'étude de Razazi et al. a rapporté un faible taux d'infections à E-BLSE alors que le taux de colonisation était plutôt élevé, de l'ordre de 15 %. Le portage digestif E-BLSE pourrait donc être un facteur de risque d'infection à E-BLSE, mais sa VPP paraît faible. Dans une étude de cohorte française s'intéressant aux PAVM à E-BLSE, le portage digestif E-BLSE avait une VPP égale à 41,4 % pouvant conduire à une surestimation du risque qu'une E-BLSE soit en cause dans une PAVM chez les patients colonisés. Cependant, la valeur prédictive négative (VPN) était de 99,4 % suggérant qu'un dépistage négatif pouvait exclure de façon fiable la responsabilité d'une E-BLSE dans une PAVM chez les patients non porteurs [140]. D'autres études sont nécessaires pour trancher. Rappelons ici que le dépistage systématique des E-BLSE en réanimation médicale est réalisé avant tout pour prévenir le risque de transmission croisée, et à visée épidémiologique.

Dans notre étude, la comparaison, lorsqu'elle était possible, des souches de portage digestif avec les souches cliniques pour un même patient, a montré que dans la quasi-totalité des cas, l'espèce bactérienne, le contenu enzymatique (en rapport avec les gènes *bla* détectés en PCR) et le profil de résistance aux antibiotiques étaient identiques, ce qui suggère que les patients se sont infectés avec leur souche E-BLSE de portage. Une PFGE permettrait d'étayer cette hypothèse.

Dans ce contexte, la réalisation en routine d'un antibiogramme sur les souches E-BLSE de portage digestif comme cela est pratiqué dans certains centres pourrait être une idée séduisante car cela permettrait, en cas d'infection chez un patient porteur, de choisir plus sereinement une alternative aux carbapénèmes en traitement probabiliste. Selon nous, il faut tout de même rester très prudent avec cette attitude car elle pourrait conforter le clinicien qu'il faut traiter avec un carbapénème (car c'est

le plus actif sur l'antibiogramme), ce qui est un écueil à éviter compte-tenu de l'émergence des EPC. Une vaste étude multicentrique en réanimation a d'ailleurs montré que le portage digestif seul (sans infection) était associé à une augmentation de l'exposition aux carbapénèmes [149]. En revanche, dans cette étude, il n'exerçait aucun impact indépendant sur l'augmentation de la mortalité.

CONCLUSION

Conclusion

Selon l’OMS, nous serions peut-être à l’aube d’une ère post-antibiotique [3].

La résistance bactérienne aux antibiotiques constitue en effet un problème majeur de santé publique et il apparaît urgent de préserver nos dernières armes thérapeutiques.

La prévalence du portage digestif E-BLSE dans la population générale est en constante augmentation [132]. En réanimation, la prévalence du portage digestif E-BLSE retrouvée dans notre étude monocentrique en situation non-épidémique était de 9,4 %. Il semblerait que nous assistions à un « rapprochement » des taux de colonisation entre un service à haut risque et la communauté. Même si nous ne pouvons pas affirmer que toutes nos souches d’importation (87,7 % des patients colonisés) étaient d’origine communautaires, la frontière entre hôpital et communauté devient de plus en plus floue. Dans notre étude, le taux d’acquisition du portage E-BLSE au sein du service était faible (12,3 % des patients colonisés), ce qui semble limiter la part d’une transmission croisée, même si un génotypage des souches est nécessaire pour l’affirmer. Bien que les avis divergent [142], [186], nous pensons que l’application des PCC chez les patients dépistés porteurs n’est pas étrangère à ce faible taux d’acquisition dans le service. Rappelons cependant que l’hygiène des mains simple (à base de PHA) a été rapportée comme l’élément essentiel dans la prévention du risque de transmission croisée [146]. D’autre part, des différences entre espèces bactériennes ont été retrouvées dans la littérature et le risque de transmission croisée serait plus élevé avec *K. pneumoniae* [143], [144]. Toutefois, la majorité des E-BLSE de portage digestif isolées dans notre étude appartenait à l’espèce *E. coli* (66,5 %) et 96% des souches analysées étaient porteuses d’un gène *bla*_{CTX-M} dont 62 % *bla*_{CTX-M} du groupe 1 (probablement *bla*_{CTX-M-15} [122]). Le phénotype BLSE n’était pas lié à une CTX-M pour seulement deux souches *E. coli* porteuses d’un gène *bla*_{SHV}. Ces résultats dans le service de réanimation du GH Pellegrin mettent en évidence une prépondérance des BLSE de type CTX-M et notamment d’*E. coli* CTX-M en portage digestif, semblable à la communauté, ce qui est en accord avec la littérature [130], [142].

Concernant la sensibilité aux antibiotiques des souches E-BLSE de portage testées, les carbapénèmes étaient très actifs avec 100 % de souches sensibles à l’imipénème, ce qui est retrouvé dans d’autres études [133], [159]. Selon les données de la littérature, et dans l’attente des résultats d’essais comparatifs randomisés, les

carbapénèmes demeurent la référence en antibiothérapie probabiliste chez le patient de réanimation présentant des facteurs de risque d'infection à E-BLSE [166]. Aucune étude n'a démontré que l'utilisation d'alternatives telles que les BL-IBL était sûre en traitement probabiliste en réanimation. Cependant, il est aussi reconnu que les carbapénèmes favorisent l'émergence des EPC [9], exposant à terme au risque d'impasse thérapeutique. Les alternatives ont donc un rôle majeur à jouer hors réanimation, et les taux de sensibilité de 94, 88 et 82 % des souches testées pour la fosfomycine, la témocilline et les nitrofuranes mettent en évidence l'intérêt qu'il faut porter à ces molécules notamment dans le traitement des infections urinaires à E-BLSE. D'autres antibiotiques ont également été retrouvés actifs sur de nombreuses souches de notre étude, avec 98 et 90 % de sensibilité pour l'amikacine et la tigécycline. En cas d'infection sévère à E-BLSE, l'utilisation en documenté des associations BL-IBL comme la pipéracilline-tazobactam et le ceftolozane-tazobactam qui étaient actives dans respectivement 88 et 90 % des cas paraît intéressante, sous réserve de CMI basses. Toutefois, une différence semble exister entre espèces, avec une diminution du taux de souches sensibles à ces associations chez l'espèce *K. pneumoniae*. Dans notre étude, 73 et 55 % des souches de cette espèce étaient sensibles respectivement à la pipéracilline-tazobactam et au ceftolozane-tazobactam. Des résultats comparables ont été rapportés au Japon pour la pipéracilline-tazobactam [160]. En outre, le délai d'obtention des CMI au laboratoire pour ces antibiotiques est susceptible d'entraîner un retard dans la désescalade des carbapénèmes alors que la pression de sélection semble intervenir dès les premiers jours [169].

Enfin, pendant la durée de l'étude, 12,3% des patients colonisés ont eu un prélèvement clinique positif à E-BLSE. Ce résultat suggère que même si le portage digestif E-BLSE semble bien être un facteur de risque d'infection à E-BLSE chez les patients à haut risque [138], sa VPP paraît faible et pourrait entraîner une surprescription de carbapénèmes chez les patients colonisés comme cela a été rapporté dans une récente étude multicentrique [149].

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

Références bibliographiques.

- [1] F. Denis, M.-C. Ploy, C. Martin, E. Bingen, et R. Quentin, *Bactériologie médicale, Techniques usuelles*, 2ème édition. Paris: Elsevier Masson, 2011.
- [2] R. Bonnet, « Chapitre 16 - β -lactamines et entérobactéries », in *Antibiogramme*, 3ème édition., Paris: Editions Eska, 2012, p. 165-188.
- [3] World Health Organization, « Antimicrobial resistance: global report on surveillance », 2014.
- [4] A.-P. Magiorakos, A. Srinivasan, R. B. Carey, Y. Carmeli, M. E. Falagas, C. G. Giske, S. Harbarth, J. F. Hindler, G. Kahlmeter, B. Olsson-Liljequist, D. L. Paterson, L. B. Rice, J. Stelling, M. J. Struelens, A. Vatopoulos, J. T. Weber, et D. L. Monnet, « Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 18, n° 3, p. 268-281, mars 2012.
- [5] BMR-Raisin, « Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France », 2013.
- [6] M. M. D'Andrea, F. Arena, L. Pallecchi, et G. M. Rossolini, « CTX-M-type β -lactamases: A successful story of antibiotic resistance », *Int. J. Med. Microbiol.*, vol. 303, n° 6-7, p. 305-317, août 2013.
- [7] REA-Raisin, « Surveillance des infections nosocomiales en réanimation adulte », 2013.
- [8] D. L. Paterson, « Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBLs) », *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 6, n° 9, p. 460-463, sept. 2000.
- [9] M. McLaughlin, M. R. Advincula, M. Malczynski, C. Qi, M. Bolon, et M. H. Scheetz, « Correlations of Antibiotic Use and Carbapenem Resistance in Enterobacteriaceae », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 57, n° 10, p. 5131-5133, oct. 2013.
- [10] P. Viale, M. Giannella, M. Bartoletti, S. Tedeschi, et R. Lewis, « Considerations About Antimicrobial Stewardship in Settings with Epidemic Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing or Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae », *Infect. Dis. Ther.*, vol. 4, n° Suppl 1, p. 65-83, sept. 2015.
- [11] P. Nordmann, L. Dortet, et L. Poirel, « Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae: here is the storm! », *Trends Mol. Med.*, vol. 18, n° 5, p. 263-272, mai 2012.
- [12] P. R. Murray, E. J. Baron, M. A. Pfaller, F. C. Tenover, et R. H. Tenover, *Manual of Clinical Microbiology*, Sixth edition. Washington, D.C.: ASM Press, 1995.
- [13] D. L. Paterson, « Resistance in Gram-Negative Bacteria: Enterobacteriaceae », *Am. J. Med.*, vol. 119, n° 6, Supplement 1, p. S20-S28, juin 2006.
- [14] O. Tenaillon, D. Skurnik, B. Picard, et E. Denamur, « The population genetics of commensal Escherichia coli », *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 8, n° 3, p. 207-217, mars 2010.
- [15] T. Berthe, M. Ratajczak, O. Clermont, E. Denamur, et F. Petit, « Evidence for coexistence of distinct Escherichia coli populations in various aquatic environments and their survival in estuary water », *Appl. Environ. Microbiol.*, vol. 79, n° 15, p. 4684-4693, août 2013.
- [16] M. Touchon, C. Hoede, O. Tenaillon, V. Barbe, S. Baeriswyl, P. Bidet, E. Bingen, S. Bonacorsi, C. Bouchier, O. Bouvet, A. Calteau, H. Chiapello, O. Clermont, S. Cruveiller, A. Danchin, M. Diard, C. Dossat, M. E. Karoui, E. Frapy, L. Garry, J. M. Ghigo, A. M. Gilles, J. Johnson, C. Le Bouguéneq, M.

- Lescat, S. Mangenot, V. Martinez-Jéhanne, I. Matic, X. Nassif, S. Oztas, M. A. Petit, C. Pichon, Z. Rouy, C. S. Ruf, D. Schneider, J. Turret, B. Vacherie, D. Vallenet, C. Médigue, E. P. C. Rocha, et E. Denamur, « Organised genome dynamics in the Escherichia coli species results in highly diverse adaptive paths », *PLoS Genet.*, vol. 5, n° 1, p. e1000344, janv. 2009.
- [17] O. Clermont, J. K. Christenson, E. Denamur, et D. M. Gordon, « The Clermont Escherichia coli phylo-typing method revisited: improvement of specificity and detection of new phylo-groups », *Environ. Microbiol. Rep.*, vol. 5, n° 1, p. 58-65, févr. 2013.
- [18] T. A. Russo et J. R. Johnson, « Medical and economic impact of extraintestinal infections due to Escherichia coli: focus on an increasingly important endemic problem », *Microbes Infect. Inst. Pasteur*, vol. 5, n° 5, p. 449-456, avr. 2003.
- [19] Réseau d'Alerte, d'Investigation et de Surveillance des Infections Nosocomiales, « Enquête nationale de prévalence des infections nosocomiales et des traitements anti-infectieux en établissements de santé français », 2012.
- [20] J. Jagnow et S. Clegg, « Klebsiella pneumoniae MrkD-mediated biofilm formation on extracellular matrix- and collagen-coated surfaces », *Microbiol. Read. Engl.*, vol. 149, n° Pt 9, p. 2397-2405, sept. 2003.
- [21] H. Guet-Revillet, A. Le Monnier, N. Breton, P. Descamps, H. Lecuyer, I. Alaabouche, C. Bureau, X. Nassif, et J.-R. Zahar, « Environmental contamination with extended-spectrum β -lactamases: is there any difference between Escherichia coli and Klebsiella spp? », *Am. J. Infect. Control*, vol. 40, n° 9, p. 845-848, nov. 2012.
- [22] J. A. Roberts, S. K. Paul, M. Akova, M. Bassetti, J. J. De Waele, G. Dimopoulos, K.-M. Kaukonen, D. Koulenti, C. Martin, P. Montravers, J. Rello, A. Rhodes, T. Starr, S. C. Wallis, J. Lipman, et DALI Study, « DALI: defining antibiotic levels in intensive care unit patients: are current β -lactam antibiotic doses sufficient for critically ill patients? », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 58, n° 8, p. 1072-1083, avr. 2014.
- [23] M. Gniadkowski, « Evolution of extended-spectrum beta-lactamases by mutation », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 14 Suppl 1, p. 11-32, janv. 2008.
- [24] H. Knothe, P. Shah, V. Krcmery, M. Antal, et S. Mitsuhashi, « Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae and Serratia marcescens », *Infection*, vol. 11, n° 6, p. 315-317, déc. 1983.
- [25] H. S. Sader, R. K. Flamm, J. M. Streit, D. J. Farrell, et R. N. Jones, « Ceftaroline activity against bacterial pathogens frequently isolated in U.S. medical centers: results from five years of the AWARE surveillance program », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 59, n° 4, p. 2458-2461, avr. 2015.
- [26] R. P. Ambler, A. F. Coulson, J. M. Frère, J. M. Ghuyssen, B. Joris, M. Forsman, R. C. Levesque, G. Tiraby, et S. G. Waley, « A standard numbering scheme for the class A beta-lactamases », *Biochem. J.*, vol. 276 (Pt 1), p. 269-270, mai 1991.
- [27] K. Bush et G. A. Jacoby, « Updated functional classification of beta-lactamases », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 54, n° 3, p. 969-976, mars 2010.
- [28] K. Bush, G. A. Jacoby, et A. A. Medeiros, « A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 39, n° 6, p. 1211-1233, juin 1995.
- [29] L. Poirel, T. Naas, et P. Nordmann, « Diversity, epidemiology, and genetics of class D beta-lactamases », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 54, n° 1, p. 24-38, janv. 2010.

- [30] A. M. Queenan et K. Bush, « Carbapenemases: the versatile beta-lactamases », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 20, n° 3, p. 440-458, table of contents, juill. 2007.
- [31] D. L. Paterson et R. A. Bonomo, « Extended-spectrum beta-lactamases: a clinical update », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 18, n° 4, p. 657-686, oct. 2005.
- [32] R. Bonnet, « Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, n° 1, p. 1-14, janv. 2004.
- [33] N. Datta et P. Kontomichalou, « Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in Enterobacteriaceae », *Nature*, vol. 208, n° 5007, p. 239-241, oct. 1965.
- [34] A. A. Medeiros, « Beta-lactamases », *Br. Med. Bull.*, vol. 40, n° 1, p. 18-27, janv. 1984.
- [35] P. A. Bradford, « Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 14, n° 4, p. 933-951, oct. 2001.
- [36] D. M. Livermore, « beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 8, n° 4, p. 557-584, oct. 1995.
- [37] L. S. Tzouveleakis et R. A. Bonomo, « SHV-type beta-lactamases », *Curr. Pharm. Des.*, vol. 5, n° 11, p. 847-864, nov. 1999.
- [38] T. Naas et P. Nordmann, « OXA-type beta-lactamases », *Curr. Pharm. Des.*, vol. 5, n° 11, p. 865-879, nov. 1999.
- [39] M. A. Toleman, K. Rolston, R. N. Jones, et T. R. Walsh, « Molecular and biochemical characterization of OXA-45, an extended-spectrum class 2d' beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 47, n° 9, p. 2859-2863, sept. 2003.
- [40] W.-H. Zhao et Z.-Q. Hu, « Epidemiology and genetics of CTX-M extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative bacteria », *Crit. Rev. Microbiol.*, vol. 39, n° 1, p. 79-101, févr. 2013.
- [41] R. Cantón, J. M. González-Alba, et J. C. Galán, « CTX-M Enzymes: Origin and Diffusion », *Front. Microbiol.*, vol. 3, p. 110, 2012.
- [42] P.-L. Woerther, C. Burdet, E. Chachaty, et A. Andremont, « Trends in human fecal carriage of extended-spectrum β -lactamases in the community: toward the globalization of CTX-M », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 26, n° 4, p. 744-758, oct. 2013.
- [43] Y. Matsumoto, F. Ikeda, T. Kamimura, Y. Yokota, et Y. Mine, « Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 32, n° 8, p. 1243-1246, août 1988.
- [44] A. Bauernfeind, H. Grimm, et S. Schweighart, « A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli* », *Infection*, vol. 18, n° 5, p. 294-298, oct. 1990.
- [45] A. Bauernfeind, J. M. Casellas, M. Goldberg, M. Holley, R. Jungwirth, P. Mangold, T. Röhnisch, S. Schweighart, et R. Wilhelm, « A new plasmidic cefotaximase from patients infected with *Salmonella typhimurium* », *Infection*, vol. 20, n° 3, p. 158-163, juin 1992.
- [46] H. Bernard, C. Tancrede, V. Livrelli, A. Morand, M. Barthelemy, et R. Labia, « A novel plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase not derived from TEM- or SHV-type enzymes », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 29, n° 5, p. 590-592, mai 1992.
- [47] Y. Ishii, A. Ohno, H. Taguchi, S. Imajo, M. Ishiguro, et H. Matsuzawa, « Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime-hydrolyzing class A beta-

- lactamase isolated from *Escherichia coli* », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 39, n° 10, p. 2269-2275, oct. 1995.
- [48] A. Bauernfeind, I. Stemplinger, R. Jungwirth, S. Ernst, et J. M. Casellas, « Sequences of beta-lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other beta-lactamases », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 40, n° 2, p. 509-513, févr. 1996.
- [49] M. Gniadkowski, I. Schneider, A. Pałucha, R. Jungwirth, B. Mikiiewicz, et A. Bauernfeind, « Cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae isolates from a hospital in Warsaw, Poland: identification of a new CTX-M-3 cefotaxime-hydrolyzing beta-lactamase that is closely related to the CTX-M-1/MEN-1 enzyme », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 42, n° 4, p. 827-832, avr. 1998.
- [50] J. C. Sarria, A. M. Vidal, et R. C. Kimbrough, « Infections caused by *Kluyvera* species in humans », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 33, n° 7, p. E69-74, oct. 2001.
- [51] M.-I. Morosini, A. Valverde, M. García-Castillo, P. Nordmann, et R. Cantón, « Persistent isolation of *Salmonella* Concord harbouring CTX-M-15, SHV-12 and QnrA1 in an asymptomatic adopted Ethiopian child in Spain also colonized with CTX-M-14- and QnrB-producing Enterobacteriaceae », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 65, n° 7, p. 1545-1546, juill. 2010.
- [52] A. Carattoli, « Resistance plasmid families in Enterobacteriaceae », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 53, n° 6, p. 2227-2238, juin 2009.
- [53] A. Carattoli, « Plasmids in Gram negatives: molecular typing of resistance plasmids », *Int. J. Med. Microbiol. IJMM*, vol. 301, n° 8, p. 654-658, déc. 2011.
- [54] T. M. Coque, A. Novais, A. Carattoli, L. Poirel, J. Pitout, L. Peixe, F. Baquero, R. Cantón, et P. Nordmann, « Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum beta-lactamase CTX-M-15 », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 14, n° 2, p. 195-200, févr. 2008.
- [55] M. A. Toleman, P. M. Bennett, et T. R. Walsh, « ISCR elements: novel gene-capturing systems of the 21st century? », *Microbiol. Mol. Biol. Rev. MMBR*, vol. 70, n° 2, p. 296-316, juin 2006.
- [56] M.-F. Lartigue, L. Poirel, D. Aubert, et P. Nordmann, « In vitro analysis of ISEcp1B-mediated mobilization of naturally occurring beta-lactamase gene blaCTX-M of *Kluyvera ascorbata* », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 50, n° 4, p. 1282-1286, avr. 2006.
- [57] K. L. Hopkins, A. Deheer-Graham, E. J. Threlfall, M. J. Batchelor, et E. Liebana, « Novel plasmid-mediated CTX-M-8 subgroup extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-40) isolated in the UK », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 27, n° 6, p. 572-575, juin 2006.
- [58] L. Ma, L. K. Siu, et P.-L. Lu, « Effect of spacer sequences between bla(CTX-M) and ISEcp1 on bla(CTX-M) expression », *J. Med. Microbiol.*, vol. 60, n° Pt 12, p. 1787-1792, déc. 2011.
- [59] L. Poirel, R. A. Bonnin, et P. Nordmann, « Genetic support and diversity of acquired extended-spectrum β -lactamases in Gram-negative rods », *Infect. Genet. Evol. J. Mol. Epidemiol. Evol. Genet. Infect. Dis.*, vol. 12, n° 5, p. 883-893, juill. 2012.
- [60] S. R. Partridge, J. A. Ellem, S. G. Tetu, Z. Zong, I. T. Paulsen, et J. R. Iredell, « Complete sequence of pJIE143, a pir-type plasmid carrying ISEcp1-blaCTX-M-15 from an *Escherichia coli* ST131 isolate », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 55, n° 12, p. 5933-5935, déc. 2011.
- [61] R. Nakano, A. Nakano, M. Abe, M. Inoue, et R. Okamoto, « Regional outbreak of CTX-M-2 β -lactamase-producing *Proteus mirabilis* in Japan », *J. Med. Microbiol.*, vol. 61, n° Pt 12, p. 1727-1735, déc. 2012.

- [62] A. Baraniak, J. Fiett, A. Sulikowska, W. Hryniewicz, et M. Gniadkowski, « Countrywide spread of CTX-M-3 extended-spectrum beta-lactamase-producing microorganisms of the family Enterobacteriaceae in Poland », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 46, n° 1, p. 151-159, janv. 2002.
- [63] L. He, S. R. Partridge, X. Yang, J. Hou, Y. Deng, Q. Yao, Z. Zeng, Z. Chen, et J.-H. Liu, « Complete nucleotide sequence of pHN7A8, an F33:A:B- type epidemic plasmid carrying blaCTX-M-65, fosA3 and rmtB from China », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 68, n° 1, p. 46-50, janv. 2013.
- [64] A. Valverde, R. Cantón, M. P. Garcillán-Barcia, A. Novais, J. C. Galán, A. Alvarado, F. de la Cruz, F. Baquero, et T. M. Coque, « Spread of bla(CTX-M-14) is driven mainly by IncK plasmids disseminated among Escherichia coli phylogroups A, B1, and D in Spain », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 53, n° 12, p. 5204-5212, déc. 2009.
- [65] J. L. Cottell, M. A. Webber, N. G. Coldham, D. L. Taylor, A. M. Cerdeño-Tárraga, H. Hauser, N. R. Thomson, M. J. Woodward, et L. J. V. Piddock, « Complete sequence and molecular epidemiology of IncK epidemic plasmid encoding blaCTX-M-14 », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 4, p. 645-652, avr. 2011.
- [66] M. O. Stokes, J. L. Cottell, L. J. V. Piddock, G. Wu, M. Wootton, D. J. Mevius, L. P. Randall, C. J. Teale, M. D. Fielder, et N. G. Coldham, « Detection and characterization of pCT-like plasmid vectors for blaCTX-M-14 in Escherichia coli isolates from humans, turkeys and cattle in England and Wales », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 67, n° 7, p. 1639-1644, juill. 2012.
- [67] N. Woodford, J. F. Turton, et D. M. Livermore, « Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance », *FEMS Microbiol. Rev.*, vol. 35, n° 5, p. 736-755, sept. 2011.
- [68] B. A. Rogers, H. E. Sidjabat, et D. L. Paterson, « Escherichia coli O25b-ST131: a pandemic, multiresistant, community-associated strain », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 66, n° 1, p. 1-14, janv. 2011.
- [69] U. Naseer et A. Sundsfjord, « The CTX-M conundrum: dissemination of plasmids and Escherichia coli clones », *Microb. Drug Resist. Larchmt. N*, vol. 17, n° 1, p. 83-97, mars 2011.
- [70] J. Oteo, K. Diestra, C. Juan, V. Bautista, A. Novais, M. Pérez-Vázquez, B. Moyá, E. Miró, T. M. Coque, A. Oliver, R. Cantón, F. Navarro, J. Campos, et Spanish Network in Infectious Pathology Project (REIPI), « Extended-spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli in Spain belong to a large variety of multilocus sequence typing types, including ST10 complex/A, ST23 complex/A and ST131/B2 », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 34, n° 2, p. 173-176, août 2009.
- [71] I. N. Okeke, F. Wallace-Gadsden, H. R. Simons, N. Matthews, A. S. Labar, J. Hwang, et J. Wain, « Multi-locus sequence typing of enteroaggregative Escherichia coli isolates from Nigerian children uncovers multiple lineages », *PloS One*, vol. 5, n° 11, p. e14093, 2010.
- [72] N. Fam, V. Leflon-Guibout, S. Fouad, L. Aboul-Fadl, E. Marcon, D. Desouky, I. El-Defrawy, A. Abou-Aitta, J. Klena, et M.-H. Nicolas-Chanoine, « CTX-M-15-producing Escherichia coli clinical isolates in Cairo (Egypt), including isolates of clonal complex ST10 and clones ST131, ST73, and ST405 in both community and hospital settings », *Microb. Drug Resist. Larchmt. N*, vol. 17, n° 1, p. 67-73, mars 2011.
- [73] A. Bartoloni, L. Pallecchi, E. Riccobono, A. Mantella, D. Magnelli, T. Di Maggio, A. L. Villagran, Y. Lara, C. Saavedra, M. Strohmeyer, F. Bartalesi, C. Trigo, et G. M. Rossolini, « Relentless increase of resistance to fluoroquinolones and expanded-spectrum cephalosporins in Escherichia coli: 20 years of

- surveillance in resource-limited settings from Latin America », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 19, n° 4, p. 356-361, avr. 2013.
- [74] R. Izdebski, A. Baraniak, J. Fiett, A. Adler, M. Kazma, J. Salomon, C. Lawrence, A. Rossini, A. Salvia, J. Vidal Samsó, J. Fierro, M. Paul, Y. Lerman, S. Malhotra-Kumar, C. Lammens, H. Goossens, W. Hryniewicz, C. Brun-Buisson, Y. Carmeli, M. Gniadkowski, et MOSAR WP2 and WP5 Study Groups, « Clonal structure, extended-spectrum β -lactamases, and acquired AmpC-type cephalosporinases of *Escherichia coli* populations colonizing patients in rehabilitation centers in four countries », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 57, n° 1, p. 309-316, janv. 2013.
- [75] I. Damjanova, A. Tóth, J. Pászti, G. Hajbel-Vékony, M. Jakab, J. Berta, H. Milch, et M. Füzi, « Expansion and countrywide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clones in Hungary in 2005--the new "MRSA's"? », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 62, n° 5, p. 978-985, nov. 2008.
- [76] J. Oteo, O. Cuevas, I. López-Rodríguez, A. Banderas-Flórido, A. Vindel, M. Pérez-Vázquez, V. Bautista, M. Arroyo, J. García-Caballero, P. Marín-Casanova, R. González-Sanz, V. Fuentes-Gómez, S. Oña-Compán, S. García-Cobos, et J. Campos, « Emergence of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* of multilocus sequence types 1, 11, 14, 17, 20, 35 and 36 as pathogens and colonizers in newborns and adults », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 64, n° 3, p. 524-528, sept. 2009.
- [77] M. Y. Lee, K. S. Ko, C.-I. Kang, D. R. Chung, K. R. Peck, et J.-H. Song, « High prevalence of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Asian countries: diverse clones and clonal dissemination », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 38, n° 2, p. 160-163, août 2011.
- [78] G. Celenza, C. Pellegrini, M. Caccamo, B. Segatore, G. Amicosante, et M. Perilli, « Spread of bla(CTX-M-type) and bla(PER-2) beta-lactamase genes in clinical isolates from Bolivian hospitals », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 57, n° 5, p. 975-978, mai 2006.
- [79] M. Polotto, T. Casella, M. G. de Lucca Oliveira, F. G. Rúbio, M. L. Nogueira, M. T. de Almeida, et M. C. Nogueira, « Detection of *P. aeruginosa* harboring bla CTX-M-2, bla GES-1 and bla GES-5, bla IMP-1 and bla SPM-1 causing infections in Brazilian tertiary-care hospital », *BMC Infect. Dis.*, vol. 12, p. 176, 2012.
- [80] N. Nagano, Y. Nagano, C. Cordevant, N. Shibata, et Y. Arakawa, « Nosocomial transmission of CTX-M-2 beta-lactamase-producing *Acinetobacter baumannii* in a neurosurgery ward », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 42, n° 9, p. 3978-3984, sept. 2004.
- [81] A. Potron, L. S. Muñoz-Price, P. Nordmann, T. Cleary, et L. Poirel, « Genetic features of CTX-M-15-producing *Acinetobacter baumannii* from Haiti », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 55, n° 12, p. 5946-5948, déc. 2011.
- [82] A. Petroni, A. Corso, R. Melano, M. L. Cacace, A. M. Bru, A. Rossi, et M. Galas, « Plasmidic extended-spectrum beta-lactamases in *Vibrio cholerae* O1 El Tor isolates in Argentina », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 46, n° 5, p. 1462-1468, mai 2002.
- [83] J. L. Gómez-Garcés, D. Saéz, M. Almagro, S. Fernández-Romero, F. Merino, J. Campos, et J. Oteo, « Osteomyelitis associated to CTX-M-15-producing *Aeromonas hydrophila*: first description in the literature », *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 70, n° 3, p. 420-422, juill. 2011.

- [84] N. al Naiemi, B. Duim, et A. Bart, « A CTX-M extended-spectrum beta-lactamase in *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia* », *J. Med. Microbiol.*, vol. 55, n° Pt 11, p. 1607-1608, nov. 2006.
- [85] C. C. Sanders, « In vitro activity of fourth generation cephalosporins against enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases », *J. Chemother. Florence Italy*, vol. 8 Suppl 2, p. 57-62, févr. 1996.
- [86] A. Raimondi, F. Sisto, et H. Nikaido, « Mutation in *Serratia marcescens* AmpC beta-lactamase producing high-level resistance to ceftazidime and ceftiofime », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 45, n° 8, p. 2331-2339, août 2001.
- [87] A. Bauernfeind, Y. Chong, et S. Schweighart, « Extended broad spectrum beta-lactamase in *Klebsiella pneumoniae* including resistance to cephamycins », *Infection*, vol. 17, n° 5, p. 316-321, oct. 1989.
- [88] G. A. Jacoby, « AmpC beta-lactamases », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 22, n° 1, p. 161-182, Table of Contents, janv. 2009.
- [89] L. Martínez-Martínez, « Extended-spectrum beta-lactamases and the permeability barrier », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 14 Suppl 1, p. 82-89, janv. 2008.
- [90] Y. J. Yang, P. J. Wu, et D. M. Livermore, « Biochemical characterization of a beta-lactamase that hydrolyzes penems and carbapenems from two *Serratia marcescens* isolates », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 34, n° 5, p. 755-758, mai 1990.
- [91] B. A. Rasmussen, K. Bush, D. Keeney, Y. Yang, R. Hare, C. O'Gara, et A. A. Medeiros, « Characterization of IMI-1 beta-lactamase, a class A carbapenem-hydrolyzing enzyme from *Enterobacter cloacae* », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 40, n° 9, p. 2080-2086, sept. 1996.
- [92] S. Bratu, D. Landman, R. Haag, R. Recco, A. Eramo, M. Alam, et J. Quale, « Rapid spread of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in New York City: a new threat to our antibiotic armamentarium », *Arch. Intern. Med.*, vol. 165, n° 12, p. 1430-1435, juin 2005.
- [93] T. Naas, P. Nordmann, G. Vedel, et C. Poyart, « Plasmid-mediated carbapenem-hydrolyzing beta-lactamase KPC in a *Klebsiella pneumoniae* isolate from France », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 49, n° 10, p. 4423-4424, oct. 2005.
- [94] R. Cantón, M. Akóva, Y. Carmeli, C. G. Giske, Y. Glupczynski, M. Gniadkowski, D. M. Livermore, V. Miriagou, T. Naas, G. M. Rossolini, Ø. Samuelsen, H. Seifert, N. Woodford, P. Nordmann, et European Network on Carbapenemases, « Rapid evolution and spread of carbapenemases among Enterobacteriaceae in Europe », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 18, n° 5, p. 413-431, mai 2012.
- [95] G. Cuzon, T. Naas, M.-C. Demachy, et P. Nordmann, « Nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* harbouring bla(KPC-3) in France subsequent to a patient transfer from Italy », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 39, n° 5, p. 448-449, mai 2012.
- [96] G. Cuzon, T. Naas, H. Truong, M. V. Villegas, K. T. Wisell, Y. Carmeli, A. C. Gales, S. N. Venezia, J. P. Quinn, et P. Nordmann, « Worldwide diversity of *Klebsiella pneumoniae* that produce beta-lactamase blaKPC-2 gene », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 16, n° 9, p. 1349-1356, sept. 2010.
- [97] G. Cuzon, T. Naas, et P. Nordmann, « Functional characterization of Tn4401, a Tn3-based transposon involved in blaKPC gene mobilization », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 55, n° 11, p. 5370-5373, nov. 2011.
- [98] W.-H. Zhao et Z.-Q. Hu, « IMP-type metallo- β -lactamases in Gram-negative bacilli: distribution, phylogeny, and association with integrons », *Crit. Rev. Microbiol.*, vol. 37, n° 3, p. 214-226, août 2011.

- [99] H. Ito, Y. Arakawa, S. Ohsuka, R. Wacharotayankun, N. Kato, et M. Ohta, « Plasmid-mediated dissemination of the metallo-beta-lactamase gene blaIMP among clinically isolated strains of *Serratia marcescens* », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 39, n° 4, p. 824-829, avr. 1995.
- [100] L. Lauretti, M. L. Riccio, A. Mazzariol, G. Cornaglia, G. Amicosante, R. Fontana, et G. M. Rossolini, « Cloning and characterization of blaVIM, a new integron-borne metallo-beta-lactamase gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 43, n° 7, p. 1584-1590, juill. 1999.
- [101] L. Poirel, T. Naas, D. Nicolas, L. Collet, S. Bellais, J. D. Cavallo, et P. Nordmann, « Characterization of VIM-2, a carbapenem-hydrolyzing metallo-beta-lactamase and its plasmid- and integron-borne gene from a *Pseudomonas aeruginosa* clinical isolate in France », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 44, n° 4, p. 891-897, avr. 2000.
- [102] W.-H. Zhao et Z.-Q. Hu, « Epidemiology and genetics of VIM-type metallo- β -lactamases in Gram-negative bacilli », *Future Microbiol.*, vol. 6, n° 3, p. 317-333, mars 2011.
- [103] D. Yong, M. A. Toleman, C. G. Giske, H. S. Cho, K. Sundman, K. Lee, et T. R. Walsh, « Characterization of a new metallo-beta-lactamase gene, bla(NDM-1), and a novel erythromycin esterase gene carried on a unique genetic structure in *Klebsiella pneumoniae* sequence type 14 from India », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 53, n° 12, p. 5046-5054, déc. 2009.
- [104] P. Nordmann, « Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: overview of a major public health challenge », *Médecine Mal. Infect.*, vol. 44, n° 2, p. 51-56, févr. 2014.
- [105] L. Poirel, C. Hombrouck-Alet, C. Freneaux, S. Bernabeu, et P. Nordmann, « Global spread of New Delhi metallo- β -lactamase 1 », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 10, n° 12, p. 832, déc. 2010.
- [106] K. K. Kumarasamy, M. A. Toleman, T. R. Walsh, J. Bagaria, F. Butt, R. Balakrishnan, U. Chaudhary, M. Doumith, C. G. Giske, S. Irfan, P. Krishnan, A. V. Kumar, S. Maharjan, S. Mushtaq, T. Noorie, D. L. Paterson, A. Pearson, C. Perry, R. Pike, B. Rao, U. Ray, J. B. Sarma, M. Sharma, E. Sheridan, M. A. Thirunarayan, J. Turton, S. Upadhyay, M. Warner, W. Welfare, D. M. Livermore, et N. Woodford, « Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK: a molecular, biological, and epidemiological study », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 10, n° 9, p. 597-602, sept. 2010.
- [107] B. Berçot, L. Poirel, L. Dortet, et P. Nordmann, « In vitro evaluation of antibiotic synergy for NDM-1-producing Enterobacteriaceae », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 66, n° 10, p. 2295-2297, oct. 2011.
- [108] L. Poirel, C. Héritier, V. Tolün, et P. Nordmann, « Emergence of oxacillinase-mediated resistance to imipenem in *Klebsiella pneumoniae* », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 48, n° 1, p. 15-22, janv. 2004.
- [109] A. Carrër, L. Poirel, H. Eraksoy, A. A. Cagatay, S. Badur, et P. Nordmann, « Spread of OXA-48-positive carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates in Istanbul, Turkey », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 52, n° 8, p. 2950-2954, août 2008.
- [110] P. Nordmann, T. Naas, et L. Poirel, « Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 10, p. 1791-1798, oct. 2011.
- [111] A. Potron, J. Kalpoe, L. Poirel, et P. Nordmann, « European dissemination of a single OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* clone », *Clin. Microbiol. Infect.*

- Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 17, n° 12, p. E24-26, déc. 2011.
- [112] J.-M. Pagès, C. E. James, et M. Winterhalter, « The porin and the permeating antibiotic: a selective diffusion barrier in Gram-negative bacteria », *Nat. Rev. Microbiol.*, vol. 6, n° 12, p. 893-903, déc. 2008.
- [113] L. S. Tzouveleki, E. Tzelepi, M. E. Kaufmann, et A. F. Mentis, « Consecutive mutations leading to the emergence in vivo of imipenem resistance in a clinical strain of *Enterobacter aerogenes* », *J. Med. Microbiol.*, vol. 40, n° 6, p. 403-407, juin 1994.
- [114] M. Doumith, M. J. Ellington, D. M. Livermore, et N. Woodford, « Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. clinical isolates from the UK », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 63, n° 4, p. 659-667, avr. 2009.
- [115] J. H. Chia, L. K. Siu, L. H. Su, H. S. Lin, A. J. Kuo, M. H. Lee, et T. L. Wu, « Emergence of carbapenem-resistant *Escherichia coli* in Taiwan: resistance due to combined CMY-2 production and porin deficiency », *J. Chemother. Florence Italy*, vol. 21, n° 6, p. 621-626, déc. 2009.
- [116] L. Armand-Lefèvre, V. Leflon-Guibout, J. Bredin, F. Barguelli, A. Amor, J. M. Pagès, et M.-H. Nicolas-Chanoine, « Imipenem resistance in *Salmonella enterica* serovar Wien related to porin loss and CMY-4 beta-lactamase production », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 47, n° 3, p. 1165-1168, mars 2003.
- [117] M.-F. Lartigue, L. Poirel, C. Poyart, H. Réglie-Poupet, et P. Nordmann, « Ertapenem resistance of *Escherichia coli* », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 13, n° 2, p. 315-317, févr. 2007.
- [118] A. García-Fernández, V. Miriagou, C. C. Papagiannitsis, A. Giordano, M. Venditti, C. Mancini, et A. Carattoli, « An ertapenem-resistant extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* clone carries a novel OmpK36 porin variant », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 54, n° 10, p. 4178-4184, oct. 2010.
- [119] A.-P. Magiorakos, A. Srinivasan, R. B. Carey, Y. Carmeli, M. E. Falagas, C. G. Giske, S. Harbarth, J. F. Hindler, G. Kahlmeter, B. Olsson-Liljequist, D. L. Paterson, L. B. Rice, J. Stelling, M. J. Struelens, A. Vatopoulos, J. T. Weber, et D. L. Monnet, « Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 18, n° 3, p. 268-281, mars 2012.
- [120] Haut Conseil de la Santé Publique, « Prévention de la transmission croisée des Bactéries Hautement Résistantes aux antibiotiques émergentes (BHRé) », Juillet 2013.
- [121] J. Rodríguez-Baño, L. López-Cerero, M. D. Navarro, P. Díaz de Alba, et A. Pascual, « Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: prevalence, risk factors and molecular epidemiology », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 62, n° 5, p. 1142-1149, nov. 2008.
- [122] A. Valverde, M.-C. Turrientes, F. Norman, E. San Martín, L. Moreno, J. A. Pérez-Molina, R. López-Vélez, et R. Cantón, « CTX-M-15-non-ST131 *Escherichia coli* isolates are mainly responsible of faecal carriage with ESBL-producing Enterobacteriaceae in travellers, immigrants and those visiting friends and relatives », *Clin. Microbiol. Infect.*, vol. 21, n° 3, p. 252.e1-252.e4, mars 2015.
- [123] M.-H. Nicolas-Chanoine, X. Bertrand, et J.-Y. Madec, « *Escherichia coli* ST131, an intriguing clonal group », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 27, n° 3, p. 543-574, juill. 2014.

- [124] A. Carattoli, « Animal reservoirs for extended spectrum beta-lactamase producers », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 14 Suppl 1, p. 117-123, janv. 2008.
- [125] C. Ewers, A. Bethe, T. Semmler, S. Guenther, et L. H. Wieler, « Extended-spectrum β -lactamase-producing and AmpC-producing *Escherichia coli* from livestock and companion animals, and their putative impact on public health: a global perspective », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 18, n° 7, p. 646-655, juill. 2012.
- [126] L. Drieux, F. Brossier, O. Duquesnoy, A. Aubry, J. Robert, W. Sougakoff, M. Lecso-Bornet, et V. Jarlier, « Increase in hospital-acquired bloodstream infections caused by extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in a large French teaching hospital », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.*, vol. 28, n° 5, p. 491-498, mai 2009.
- [127] A. Valverde, T. M. Coque, M. P. Sánchez-Moreno, A. Rollán, F. Baquero, et R. Cantón, « Dramatic increase in prevalence of fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae during nonoutbreak situations in Spain », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 42, n° 10, p. 4769-4775, oct. 2004.
- [128] M.-H. Nicolas-Chanoine, C. Gruson, S. Bialek-Davenet, X. Bertrand, F. Thomas-Jean, F. Bert, M. Moyat, E. Meiller, E. Marcon, N. Danchin, L. Noussair, R. Moreau, et V. Leflon-Guibout, « 10-Fold increase (2006-11) in the rate of healthy subjects with extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* faecal carriage in a Parisian check-up centre », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 68, n° 3, p. 562-568, mars 2013.
- [129] K. Razazi, L. P. G. Derde, M. Verachten, P. Legrand, P. Lesprit, et C. Brun-Buisson, « Clinical impact and risk factors for colonization with extended-spectrum β -lactamase-producing bacteria in the intensive care unit », *Intensive Care Med.*, vol. 38, n° 11, p. 1769-1778, nov. 2012.
- [130] M. Alves, A. Lemire, D. Decré, D. Margetis, N. Bigé, C. Pichereau, H. Ait-Oufella, J.-L. Baudel, G. Offenstadt, B. Guidet, F. Barbut, et E. Maury, « Extended-spectrum beta-lactamase - producing enterobacteriaceae in the intensive care unit: acquisition does not mean cross-transmission », *BMC Infect. Dis.*, vol. 16, n° 1, p. 147, 2016.
- [131] Y. J. Ko, H.-W. Moon, M. Hur, C.-M. Park, S. E. Cho, et Y.-M. Yun, « Fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Korean community and hospital settings », *Infection*, vol. 41, n° 1, p. 9-13, févr. 2013.
- [132] S. Karanika, T. Karantanos, M. Arvanitis, C. Grigoras, et E. Mylonakis, « Fecal Colonization With Extended-spectrum Beta-lactamase-Producing Enterobacteriaceae and Risk Factors Among Healthy Individuals: A Systematic Review and Metaanalysis », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 63, n° 3, p. 310-318, août 2016.
- [133] Z. Daoud, C. Moubareck, N. Hakime, et F. Doucet-Populaire, « Extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in Lebanese ICU patients: epidemiology and patterns of resistance », *J. Gen. Appl. Microbiol.*, vol. 52, n° 3, p. 169-178, juin 2006.
- [134] M. Ortega, F. Marco, A. Soriano, M. Almela, J. A. Martínez, A. Muñoz, et J. Mensa, « Analysis of 4758 *Escherichia coli* bacteraemia episodes: predictive factors for isolation of an antibiotic-resistant strain and their impact on the outcome », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 63, n° 3, p. 568-574, mars 2009.
- [135] J. Rodríguez-Baño, E. Picón, P. Gijón, J. R. Hernández, M. Ruíz, C. Peña, M. Almela, B. Almirante, F. Grill, J. Colomina, M. Giménez, A. Oliver, J. P. Horcajada, G. Navarro, A. Coloma, A. Pascual, et Spanish Network for Research in Infectious Diseases (REIPI), « Community-onset bacteremia due

- to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 50, n° 1, p. 40-48, janv. 2010.
- [136] P. Nasa, D. Juneja, O. Singh, R. Dang, et A. Singh, « An observational study on bloodstream extended-spectrum beta-lactamase infection in critical care unit: incidence, risk factors and its impact on outcome », *Eur. J. Intern. Med.*, vol. 23, n° 2, p. 192-195, mars 2012.
- [137] F. Bert, B. Larroque, C. Paugam-Burtz, F. Dondero, F. Durand, E. Marcon, J. Belghiti, R. Moreau, et M.-H. Nicolas-Chanoine, « Pretransplant fecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae and infection after liver transplant, France », *Emerg. Infect. Dis.*, vol. 18, n° 6, p. 908-916, juin 2012.
- [138] P. Cornejo-Juárez, J. A. Suárez-Cuenca, P. Volkow-Fernández, J. Silva-Sánchez, H. Barrios-Camacho, E. Nájera-León, C. Velázquez-Acosta, et D. Vilar-Compte, « Fecal ESBL *Escherichia coli* carriage as a risk factor for bacteremia in patients with hematological malignancies », *Support. Care Cancer Off. J. Multinat. Assoc. Support. Care Cancer*, vol. 24, n° 1, p. 253-259, janv. 2016.
- [139] M. Arnan, C. Gudiol, L. Calatayud, J. Liñares, M. Á. Dominguez, M. Batlle, J. M. Ribera, J. Carratalà, et F. Gudiol, « Risk factors for, and clinical relevance of, faecal extended-spectrum β -lactamase producing *Escherichia coli* (ESBL-EC) carriage in neutropenic patients with haematological malignancies », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.*, vol. 30, n° 3, p. 355-360, mars 2011.
- [140] R. Bruyère, C. Vigneron, J. Bador, S. Aho, A. Toitot, J.-P. Quenot, S. Prin, et P. E. Charles, « Significance of Prior Digestive Colonization With Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in Patients With Ventilator-Associated Pneumonia », *Crit. Care Med.*, vol. 44, n° 4, p. 699-706, avr. 2016.
- [141] J. Carlet, « The gut is the epicentre of antibiotic resistance », *Antimicrob. Resist. Infect. Control*, vol. 1, n° 1, p. 39, 2012.
- [142] S. Tschudin-Sutter, R. Frei, M. Dangel, A. Stranden, et A. F. Widmer, « Rate of Transmission of Extended-Spectrum Beta-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae Without Contact Isolation », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 55, n° 11, p. 1505-1511, déc. 2012.
- [143] A. D. Harris, M. Kotetishvili, S. Shurland, J. A. Johnson, J. G. Morris, L. L. Nemoy, et J. K. Johnson, « How important is patient-to-patient transmission in extended-spectrum beta-lactamase *Escherichia coli* acquisition », *Am. J. Infect. Control*, vol. 35, n° 2, p. 97-101, mars 2007.
- [144] A. D. Harris, E. N. Perencevich, J. K. Johnson, D. L. Paterson, J. G. Morris, S. M. Strauss, et J. A. Johnson, « Patient-to-patient transmission is important in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* acquisition », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 45, n° 10, p. 1347-1350, nov. 2007.
- [145] E. Prospero, P. Barbadoro, E. Esposto, E. Manso, E. Martini, S. Savini, F. Scaccia, L. Tantucci, P. Pelaia, et M. M. D'Errico, « Extended-spectrum beta-lactamases *Klebsiella pneumoniae*: multimodal infection control program in intensive care units », *J. Prev. Med. Hyg.*, vol. 51, n° 3, p. 110-115, sept. 2010.
- [146] D. Pittet, S. Hugonnet, S. Harbarth, P. Mourouga, V. Sauvan, S. Touveneau, et T. V. Perneger, « Effectiveness of a hospital-wide programme to improve compliance with hand hygiene. Infection Control Programme », *Lancet Lond. Engl.*, vol. 356, n° 9238, p. 1307-1312, oct. 2000.

- [147] C. Abad, A. Fearday, et N. Safdar, « Adverse effects of isolation in hospitalised patients: a systematic review », *J. Hosp. Infect.*, vol. 76, n° 2, p. 97-102, oct. 2010.
- [148] R. Ferrer, I. Martin-Loeches, G. Phillips, T. M. Osborn, S. Townsend, R. P. Dellinger, A. Artigas, C. Schorr, et M. M. Levy, « Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results from a guideline-based performance improvement program », *Crit. Care Med.*, vol. 42, n° 8, p. 1749-1755, août 2014.
- [149] F. Barbier, C. Pommier, W. Essaïed, M. Garrouste-Orgeas, C. Schwebel, S. Ruckly, A.-S. Dumenil, V. Lemiale, B. Mourvillier, C. Clec'h, M. Darmon, V. Laurent, G. Marcotte, J.-C. Lucet, B. Souweine, J.-R. Zahar, J.-F. Timsit, et OUTCOMEREA Study Group, « Colonization and infection with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in ICU patients: what impact on outcomes and carbapenem exposure? », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 71, n° 4, p. 1088-1097, avr. 2016.
- [150] G. Troché, L.-M. Joly, M. Guibert, et J.-F. Zazzo, « Detection and treatment of antibiotic-resistant bacterial carriage in a surgical intensive care unit: a 6-year prospective survey », *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 26, n° 2, p. 161-165, févr. 2005.
- [151] B. Huttner, T. Haustein, I. Uçkay, G. Renzi, A. Stewardson, D. Schaerrer, A. Agostinho, A. Andremont, J. Schrenzel, D. Pittet, et S. Harbarth, « Decolonization of intestinal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae with oral colistin and neomycin: a randomized, double-blind, placebo-controlled trial », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 68, n° 10, p. 2375-2382, oct. 2013.
- [152] S. Rieg, M. F. Küpper, K. de With, A. Serr, J. A. Bohnert, et W. V. Kern, « Intestinal decolonization of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases (ESBL): a retrospective observational study in patients at risk for infection and a brief review of the literature », *BMC Infect. Dis.*, vol. 15, p. 475, 2015.
- [153] N. Bagdasarian, K. Rao, et P. N. Malani, « Diagnosis and treatment of *Clostridium difficile* in adults: a systematic review », *JAMA*, vol. 313, n° 4, p. 398-408, janv. 2015.
- [154] R. Singh, E. van Nood, M. Nieuwdorp, B. van Dam, I. J. M. ten Berge, S. E. Geerlings, et F. J. Bemelman, « Donor feces infusion for eradication of Extended Spectrum beta-Lactamase producing *Escherichia coli* in a patient with end stage renal disease », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 20, n° 11, p. O977-978, nov. 2014.
- [155] N. F. Crum-Cianflone, E. Sullivan, et G. Ballon-Landa, « Fecal microbiota transplantation and successful resolution of multidrug-resistant-organism colonization », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 53, n° 6, p. 1986-1989, juin 2015.
- [156] E. Meyer, M. Lapatschek, A. Bechtold, G. Schwarzkopf, P. Gastmeier, et F. Schwab, « Impact of restriction of third generation cephalosporins on the burden of third generation cephalosporin resistant *K. pneumoniae* and *E. coli* in an ICU », *Intensive Care Med.*, vol. 35, n° 5, p. 862-870, mai 2009.
- [157] A. Boyer, V. Couallier, B. Clouzeau, A. Lasheras, F. M'zali, M. Kann, A.-M. Rogues, et D. Gruson, « Control of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae nosocomial acquisition in an intensive care unit: A time series regression analysis », *Am. J. Infect. Control*, vol. 43, n° 12, p. 1296-1301, déc. 2015.
- [158] L. Calatayud, M. Arnan, J. Liñares, M. A. Dominguez, C. Gudiol, J. Carratalà, M. Batlle, J. M. Ribera, et F. Gudiol, « Prospective study of fecal colonization by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in

- neutropenic patients with cancer », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 52, n° 11, p. 4187-4190, nov. 2008.
- [159] D. Fournier, C. Chirouze, J. Leroy, P. Cholley, D. Talon, P. Plésiat, et X. Bertrand, « Alternatives to carbapenems in ESBL-producing *Escherichia coli* infections », *Médecine Mal. Infect.*, vol. 43, n° 2, p. 62-66, févr. 2013.
- [160] T. Asakura, M. Ikeda, A. Nakamura, et S. Kodera, « Efficacy of empirical therapy with non-carbapenems for urinary tract infections with extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae », *Int. J. Infect. Dis. IJID Off. Publ. Int. Soc. Infect. Dis.*, vol. 29, p. 91-95, déc. 2014.
- [161] P. G. Ambrose, S. M. Bhavnani, et R. N. Jones, « Pharmacokinetics-pharmacodynamics of cefepime and piperacillin-tazobactam against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases: report from the ARREST program », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 47, n° 5, p. 1643-1646, mai 2003.
- [162] L. López-Cerero, E. Picón, C. Morillo, J. R. Hernández, F. Docobo, J. Pachón, J. Rodríguez-Baño, et A. Pascual, « Comparative assessment of inoculum effects on the antimicrobial activity of amoxicillin-clavulanate and piperacillin-tazobactam with extended-spectrum beta-lactamase-producing and extended-spectrum beta-lactamase-non-producing *Escherichia coli* isolates », *Clin. Microbiol. Infect. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 16, n° 2, p. 132-136, févr. 2010.
- [163] J. Rodríguez-Baño, M. D. Navarro, P. Retamar, E. Picón, Á. Pascual, et the E.-S. B.-L. E. de I. en P. I. de E. de I. H. Group, « β -Lactam/ β -Lactam Inhibitor Combinations for the Treatment of Bacteremia Due to Extended-Spectrum β -Lactamase-Producing *Escherichia coli*: A Post Hoc Analysis of Prospective Cohorts », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 54, n° 2, p. 167-174, janv. 2012.
- [164] K. Z. Vardakas, G. S. Tansarli, P. I. Rafailidis, et M. E. Falagas, « Carbapenems versus alternative antibiotics for the treatment of bacteraemia due to Enterobacteriaceae producing extended-spectrum β -lactamases: a systematic review and meta-analysis », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 67, n° 12, p. 2793-2803, déc. 2012.
- [165] P. N. A. Harris, P. A. Tambyah, et D. L. Paterson, « β -lactam and β -lactamase inhibitor combinations in the treatment of extended-spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae: time for a reappraisal in the era of few antibiotic options? », *Lancet Infect. Dis.*, vol. 15, n° 4, p. 475-485, avr. 2015.
- [166] P. D. Tamma, J. H. Han, C. Rock, A. D. Harris, E. Lautenbach, A. J. Hsu, E. Avdic, S. E. Cosgrove, et for the Antibacterial Resistance Leadership Group, « Carbapenem Therapy Is Associated With Improved Survival Compared With Piperacillin-Tazobactam for Patients With Extended-Spectrum β -Lactamase Bacteremia », *Clin. Infect. Dis.*, janv. 2015.
- [167] P. Retamar, L. López-Cerero, M. A. Muniain, Á. Pascual, J. Rodríguez-Baño, et the E.-R. Group, « Impact of the MIC of Piperacillin-Tazobactam on the Outcome of Patients with Bacteremia Due to Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 57, n° 7, p. 3402-3404, juill. 2013.
- [168] K. Y. Lew, T. M. Ng, M. Tan, S. H. Tan, E. L. Lew, L. M. Ling, B. Ang, D. Lye, et C. B. Teng, « Safety and clinical outcomes of carbapenem de-escalation as part of an antimicrobial stewardship programme in an ESBL-endemic setting », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 70, n° 4, p. 1219-1225, avr. 2015.
- [169] L. Armand-Lefèvre, C. Angebault, F. Barbier, E. Hamelet, G. Defrance, E. Ruppé, R. Bronchard, R. Lepeule, J.-C. Lucet, A. El Mniai, M. Wolff, P. Montravers, P. Plésiat, et A. Andremont, « Emergence of imipenem-resistant

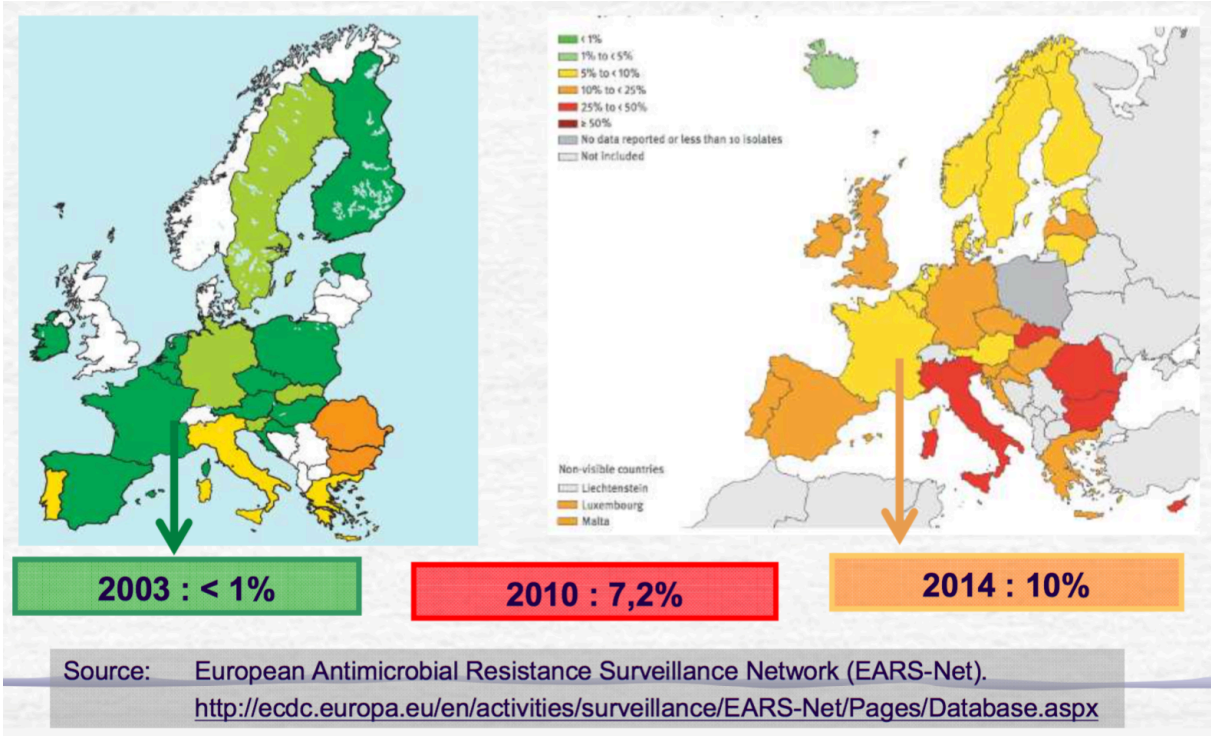
- gram-negative bacilli in intestinal flora of intensive care patients », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 57, n° 3, p. 1488-1495, mars 2013.
- [170] K. A. Bauer, K. K. Perez, G. N. Forrest, et D. A. Goff, « Review of rapid diagnostic tests used by antimicrobial stewardship programs », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 59 Suppl 3, p. S134-145, oct. 2014.
- [171] J. Solomkin, E. Hershberger, B. Miller, M. Popejoy, I. Friedland, J. Steenbergen, M. Yoon, S. Collins, G. Yuan, P. S. Barie, et C. Eckmann, « Ceftolozane/Tazobactam Plus Metronidazole for Complicated Intra-abdominal Infections in an Era of Multidrug Resistance: Results From a Randomized, Double-Blind, Phase 3 Trial (ASPECT-clAI) », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 60, n° 10, p. 1462-1471, mai 2015.
- [172] R. M. Humphries, S. Yang, P. Hemarajata, K. W. Ward, J. A. Hindler, S. A. Miller, et A. Gregson, « First Report of Ceftazidime-Avibactam Resistance in a KPC-3-Expressing *Klebsiella pneumoniae* Isolate », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 59, n° 10, p. 6605-6607, oct. 2015.
- [173] S. Kernéis, S. Valade, G. Geri, F. Compain, M. Lavollay, H. Rostane, E. Carbonnelle, et J.-L. Mainardi, « Cefoxitin as a carbapenem-sparing antibiotic for infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* », *Infect. Dis. Lond. Engl.*, vol. 47, n° 11, p. 789-795, 2015.
- [174] CA-SFM, « Recommandations 2013 ». .
- [175] CA-SFM, « Recommandations 2014 V.2.0 ». .
- [176] CA-SFM, « Recommandations 2016 V.1.0 ». .
- [177] SPILF, « Diagnostic et antibiothérapie des infections urinaires bactériennes communautaires de l'adulte. », 2014.
- [178] A. A. Kader, A. Kumar, et K. A. Kamath, « Fecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in patients and asymptomatic healthy individuals », *Infect. Control Hosp. Epidemiol.*, vol. 28, n° 9, p. 1114-1116, sept. 2007.
- [179] G. Christiaens, Y. Ciccarella, P. Damas, M.-P. Hayette, P. Melin, M. Nys, et P. De Mol, « Prospective survey of digestive tract colonization with enterobacteriaceae that produce extended-spectrum beta-lactamases in intensive care units », *J. Hosp. Infect.*, vol. 62, n° 3, p. 386-388, mars 2006.
- [180] A. C. M. Thiébaud, G. Arlet, A. Andremont, E. Papy, J.-P. Sollet, C. Bernède-Bauduin, D. Guillemot, B. Schlemmer, et ColoRea Study Group, « Variability of intestinal colonization with third-generation cephalosporin-resistant Enterobacteriaceae and antibiotic use in intensive care units », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 67, n° 6, p. 1525-1536, juin 2012.
- [181] E. Machado, T. M. Coque, R. Cantón, F. Baquero, J. C. Sousa, L. Peixe, et Portuguese Resistance Study Group, « Dissemination in Portugal of CTX-M-15-, OXA-1-, and TEM-1-producing Enterobacteriaceae strains containing the *aac(6')-Ib-cr* gene, which encodes an aminoglycoside- and fluoroquinolone-modifying enzyme », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 50, n° 9, p. 3220-3221, sept. 2006.
- [182] N.-Y. Lee, C.-C. Lee, W.-H. Huang, K.-C. Tsui, P.-R. Hsueh, et W.-C. Ko, « Cefepime therapy for monomicrobial bacteremia caused by cefepime-susceptible extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: MIC matters », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 56, n° 4, p. 488-495, févr. 2013.
- [183] T. Kelesidis, D. E. Karageorgopoulos, I. Kelesidis, et M. E. Falagas, « Tigecycline for the treatment of multidrug-resistant Enterobacteriaceae: a systematic review of the evidence from microbiological and clinical studies », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 62, n° 5, p. 895-904, nov. 2008.

- [184] M. E. Falagas, D. E. Karageorgopoulos, et G. Dimopoulos, « Clinical significance of the pharmacokinetic and pharmacodynamic characteristics of tigecycline », *Curr. Drug Metab.*, vol. 10, n° 1, p. 13-21, janv. 2009.
- [185] M. Tärnberg, A. Ostholm-Balkhed, H.-J. Monstein, A. Hällgren, H. Hanberger, et L. E. Nilsson, « In vitro activity of beta-lactam antibiotics against CTX-M-producing *Escherichia coli* », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.*, vol. 30, n° 8, p. 981-987, août 2011.
- [186] L. O. Conterno, J. Shymanski, K. Ramotar, B. Toye, R. Zvonar, et V. Roth, « Impact and cost of infection control measures to reduce nosocomial transmission of extended-spectrum β -lactamase-producing organisms in a non-outbreak setting », *J. Hosp. Infect.*, vol. 65, n° 4, p. 354-360, avr. 2007.

ANNEXES

Annexes

Annexe 1 : Evolution de la résistance aux C3G en Europe de 2003 à 2014.



Annexe 2 : PCR multiplex « TSO »

La PCR multiplex « TSO » a été effectuée sur un volume final de 50 µL avec :

0,25 µL GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase

10 µL 5X Green Go Taq® Flexi Buffer

4 µL MgCl₂

1 µL dNTP

2 µL amorce MultiTSO-T-for

2 µL amorce MultiTSO-T-rev

2 µL amorce MultiTSO-S-for

2 µL amorce MultiTSO-S-rev

2 µL amorce MultiTSO-O-for

2 µL amorce MultiTSO-O-rev

12,75 µL eau milli-Q

10 µL d'extrait d'ADN dilué à une concentration d'environ 5 ng / µL d'échantillon.

Annexe 3 : PCR multiplex « CTX-M »

La PCR multiplex « CTX-M » a été effectuée sur un volume final de 50 µL.

Pour un tube de 50 µL final :

0,25 µL GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase

10 µL 5X Green Go Taq® Flexi Buffer

4 µL MgCl₂

1 µL dNTP

2 µL amorce MultiCTX-M-Gp1-for

2 µL amorce MultiCTX-M-Gp1-2-rev

1 µL amorce MultiCTX-M-Gp2-for

2 µL amorce MultiCTX-M-Gp9-for

2 µL amorce MultiCTX-M-Gp9-rev

2 µL amorce MultiTSO-O-rev

15,75 µL eau milli-Q

Puis 10 µL d'extrait d'ADN dilué à une concentration d'environ 5 µg / µL d'échantillon.

Annexe 4 : PCR « 16S »

La PCR « 16S » a été effectuée sur un volume final de 50 µL.

Pour un tube de 50 µL final :

0,25 µL GoTaq® G2 Flexi DNA Polymerase

10 µL 5X Green Go Taq® Flexi Buffer

4 µL MgCl₂

1 µL dNTP

2,5 µL amorce 8F

2,5 µL amorce 1489R

19,75 µL eau milli-Q

Puis 10 µL d'extrait d'ADN dilué à une concentration d'environ 5 µg / µL d'échantillon.

Annexe 5: Recommandations du CA-SFM 2013, chapitre *Enterobacteriaceae*.

4.1. *Enterobacteriaceae*

4.1.1. Antibiotiques à tester (Tableau VI)

Liste standard	<i>Enterobacteriaceae</i>	Liste complémentaire
Amoxicilline ou ampicilline		Ticarcilline
Amoxicilline/ac. clavulanique ou ampicilline/sulbactam		Ticarcilline/ac. clavulanique Pipéracilline
Pipéracilline/tazobactam		Céfamandole Céfuroxime Latamoxef Ceftazidime Céfépime ou ceftiorome
Méïcillinam		Aztréonam
Céfalotine		Kanamycine Tobramycine Nétilmicine
Céfoxitine		
Ceftriaxone ou céfotaxime		
Céfixime		Chloramphénicol
Impipénème ou doripénème ou méropénème		Tétracycline Minocycline Tigécycline
Ertapénème		Péfloxacin ou ofloxacin
Gentamicine Amikacine		Sulfamides Triméthoprime Colistine Azithromycine
Acide nalidixique Norfloxacine Ciprofloxacine		
Cotrimoxazole		
Nitrofuranes		
Fosfomycine		

4.1.2. Concentrations, diamètres critiques et règles de lecture interprétative (Tableau VII)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)			Remarques
		S	R	S	R	R	
Ampicilline	10 µg	≤ 4	> 8	≥ 19	< 16		Interprétation valable pour bacampicilline, pivampicilline. Cf. règle (1) Cf. règle (1)
Amoxicilline	25 µg	≤ 4	> 8	≥ 21	< 16		
Ampicilline/sulbactam	10/10 µg	≤ 4/8	> 8/8	≥ 19	< 16		Cf. règle (3). Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1) et (2).
Amoxicilline/ac. clavulanique	20/10 µg	≤ 4/2	> 8/2	≥ 21	< 16		
Ticarcilline	75 µg	≤ 8	16	≥ 24	< 22		
Ticarcilline/ac. clavulanique	75/10 µg	≤ 8/2	> 16/2	≥ 24	< 22		
Pipéracilline	75 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 16		Interprétation valable pour un traitement intraveineux. Cf. règles (1) et (2).
Pipéracilline/tazobactam	75/10 µg	≤ 8/4	> 16/4	≥ 21	< 17		
Méïcillinam	10 µg	≤ 8	> 8	≥ 18	< 18		Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines. Voir note en annexe 1 : lettre d'information (p.56)
Imipénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 24	< 17		
Méropénème	10 µg	≤ 2	> 8	≥ 22	< 15		
Ertapénème	10 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 28	< 26		
Doripénème	10 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 19		Déterminer la CMI en cas de résistance par diffusion à l'ertapénème avec sensibilité à l'imipénème. Cf. règle (3).
Aztréonam	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 27	< 21		

Règles de lecture interprétative

(1). Interpréter I un résultat S aux carboxy- et/ou aux uréido-pénicillines chez *Proteus mirabilis* R aux amino-pénicillines.

(2). Interpréter I un résultat S aux uréido-pénicillines chez toute entérobactérie I ou R aux carboxy-pénicillines.

Tableau VII (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Céfalofofime	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 18	< 12	Interprétation valable pour les céphalosporines injectables de 1 ^{ère} génération (céfapirine, céfazoline). Interprétation également valable pour les céphèmes orales de 1 ^{ère} génération (céfadroxil, céfalexine, céfadrine, céfator, ceftazidime, loracarbef) mais uniquement pour les souches isolées des urines.
Céfuroxime	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 22	< 22	Non commercialisé en France Pour les céphalosporines de ce groupe cf. règle (3). Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Céfamandole	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15	
Céfoxitine	30 µg	≤ 8	> 32	≥ 22	< 15	
Latamoxef	30 µg	≤ 4	> 32	≥ 23	< 17	
Céfotaxime	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	
Ceftriaxone	30 µg	≤ 1	> 2	≥ 26	< 23	
Ceftazidime	30 µg	≤ 1	> 4	≥ 26	< 21	
Céfépime	30 µg	≤ 1	> 4	≥ 24	< 21	
Cefpirome	30 µg	≤ 1	> 8	≥ 24	< 17	
Ceftaroline	30 µg	≤ 0,5	> 0,5			
Céfexime	10 µg	≤ 1	> 2	≥ 25	< 22	

Règles de lecture interprétative (suite)

(3). Les concentrations critiques désormais retenues pour les céphalosporines de troisième génération permettent la catégorisation clinique des souches productrices de bêta-lactamases hydrolysant ces molécules comme, par exemple, les BLSE et dispensent donc d'interpréter les résultats pour des raisons thérapeutiques. Cependant, la détection des BLSE reste indispensable pour des objectifs autres que thérapeutiques (épidémiologie, mesure d'hygiène et d'isolement, par exemple). Voir note en annexe 2 (p.58)

La présence d'une BLSE peut être confirmée par des méthodes quantitatives ou qualitatives.

- Les méthodes quantitatives peuvent consister en :
 - * la mesure d'une augmentation de 5 mm du diamètre de la zone d'inhibition d'un disque de céfotaxime, ceftazidime et céfépime comparativement à la zone d'inhibition de ce(s) même(s) disque(s) utilisé(s) sans acide clavulanique.
 - * diminution d'au moins 3 dilutions de la CMI de ces céphalosporines mesurée en présence d'acide clavulanique.

=> Toute synergie significative témoigne de la présence d'une BLSE et permet de distinguer ces enzymes de certaines β-lactamases plasmidiques (OXA-1/30, SHV-1 hyperproduite).

- La méthode qualitative peut consister en l'utilisation de la méthode du « double disque » sur l'antibiogramme standard : disque de céfotaxime, ceftazidime et céfépime et un disque contenant de l'acide clavulanique (ex. amoxicilline + ac. clavulanique : AMC) distants de 30 mm des disques de céphalosporine. La présence d'une BLSE s'exprime par l'apparition d'une synergie en « bouchon de champagne ». Toutefois, si les souches productrices de BLSE ont aussi d'autres mécanismes de résistance aux β-lactamines comme l'hyperproduction de céphalosporinase, la détection de l'image de synergie peut être facilitée par le rapprochement des disques de céphalosporine, de celui du disque contenant de l'acide clavulanique ou en pratiquant un antibiogramme standard sur gélose Mueller-Hinton additionnée de 250 mg/L de cloxacilline (inhibiteur de céphalosporinase).

Chez *P. vulgaris* et *P. penneri*, la présence d'une synergie significative CIIIG/AMC peut résulter de l'hyperproduction de la β-lactamase naturelle chromosomique et beaucoup plus rarement d'une BLSE, surtout en absence de résistance acquise aux autres familles d'antibiotiques.

Chez certaines espèces intrinsèquement très sensibles aux β-lactamines (*P. mirabilis*, *P. vulgaris*, *P. penneri*, *P. stuartii* et *P. rettgeri*), les BLSE s'expriment à bas niveau. Leur détection est facilitée par la recherche d'une synergie significative entre les CSG et AMC avec des disques placés à une distance de 40-45 mm ou par mesure des CMI des céphalosporines en absence et en présence d'acide clavulanique

La présence d'une souche catégorisée I ou R à céfotaxime et/ou ceftriaxone et/ou ceftazidime et/ou aztréonam en l'absence de synergie entre ces molécules et l'acide clavulanique est évocatrice d'une souche hyperproductrice de céphalosporinase chromosomique (entérobactérie du groupe III et E: coli) ou d'une céphalosporinase plasmidique (toutes espèces d'entérobactéries).

La réalisation d'un antibiogramme standard sur gélose Mueller-Hinton additionnée de 250 mg/L de cloxacilline permet de vérifier que la résistance observée est bien liée à ce type de mécanisme (restauration de la sensibilité aux molécules précitées lorsqu'il n'y a pas d'autre mécanisme de résistance aux β-lactamines) et de détecter une éventuelle β-lactamase à spectre étendu (BLSE) associée qui serait masquée par l'hyperproduction de céphalosporinase.

Tableau VII (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Kanamycine	30 UI	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Interprétation valable pour néomycine, framycétine, paromomycine.
Tobramycine	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (4), (7) et (9).
Amikacine	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 17	< 15	Cf. règles (4) et (5).
Gentamicine	15 µg (10 UI)	≤ 2	> 4	≥ 18	< 16	Cf. règles (4), (6) et (9)
Nétilmicine	30 µg	≤ 2	> 4	≥ 21	< 19	Cf. règles (4), (8) et (9)

Règles de lecture interprétative (suite)

Abréviations : gentamicine (G), tobramycine (T), nétilmicine (Nt), amikacine (A).

(4). Se conformer aux diamètres critiques de chaque molécule pour l'interprétation si une diminution des diamètres d'inhibition (< 20 mm) est observée pour l'ensemble des aminosides ; elle évoque une perméabilité diminuée.

(5). Interpréter A' un résultat G^S et T^{IR} Nt^{IR} et A^{SI}, évoquant la production d'une AAC(6').

(6). Interpréter G' un résultat G^S si une diminution du diamètre d'inhibition (18 à 19 mm) de la seule gentamicine, évoquant la production d'une AAC (3)-I, est observée.

(7). Interpréter T' un résultat T^S si une diminution du diamètre d'inhibition (18 à 19 mm) de la tobramycine est observée avec un résultat G^{IR}. Ceci évoque la production d'une ANT (2'').

(8). Interpréter Nt' un résultat Nt^S si une diminution du diamètre d'inhibition (21 à 22 mm) de la nétilmicine est observée avec un résultat G^{IR} T^{IR}. Ceci évoque la production d'une AAC(3)-II ou d'une AAC(3)-IV.

(9). Chez *Providencia* spp., après vérification de l'identification, interpréter G' T' Nt' un résultat G^S T^S et Nt^S (résistance naturelle par production d'une AAC (2')-I).

IMPORTANT : Les phénotypes G^R T^S Nt^R A^S - G^S T^R Nt^R A^S - G^S T^S Nt^R A^R et G^S T^R Nt^S A^R demeurent improbables. Vérifier l'identification et l'antibiogramme, ainsi que l'interprétation.

Tableau VII (suite)

Antibiotiques	Charge du disque	Concentrations critiques (mg/L)		Diamètres critiques (mm)		Remarques
		S	R	S	R	
Chloramphénicol	30 µg	≤ 8	> 8	≥ 23	< 23	Interprétation valable pour thiamphénicol.
Tétracycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	Interprétation valable pour les autres tétracyclines, sauf la minocycline et la tigécycline. <i>En cas d'utilisation thérapeutique, il y a lieu de déterminer la CMI pour les diamètres de 19 et 20 mm.</i>
Minocycline	30 UI	≤ 4	> 8	≥ 19	< 17	
Tigécycline	15 µg	≤ 1	> 2	≥ 21	< 19	
Colistine	50 µg	≤ 2	> 2	≥ 15	< 15	Les diamètres ont pour but de vérifier la résistance naturelle de certaines espèces, mais ne permettent pas de détecter toutes les résistances acquises ce qui impose de déterminer la CMI en cas d'utilisation thérapeutique. Interprétation valable pour polymyxine B
Sulfamides	200 µg	≤ 64	> 256	≥ 17	< 12	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprime	5 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 16	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Triméthoprime/sulfaméthoxazole	1,25/23,75 µg	≤ 2/38	> 4/76	≥ 16	< 13	Interprétation valable pour les autres associations triméthoprime-sulfamide. La charge des disques de cotrimoxazole n'étant pas adaptée, les souches isolées d'infections urinaires et catégorisées sensibles aux sulfamides et/ou au triméthoprime doivent être catégorisées sensibles au cotrimoxazole. Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Nitrofuranes	300 µg	≤ 64	> 64	≥ 15	< 15	Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Acide oxolinique	10 µg	≤ 2	> 4	≥ 20	< 17	Il est justifié de fournir une réponse globale pour l'ensemble du groupe des quinolones classiques (parfois appelées de première génération) en n'étudiant qu'un seul représentant de ce groupe. Interprétation valable uniquement pour les souches isolées des urines.
Fluméquine	30 µg	≤ 4	> 8	≥ 25	< 21	
Acide nalidixique	30 µg	≤ 8	> 16	≥ 20	< 15	
Acide pipémidique	20 µg	≤ 8	> 16	≥ 19	< 14	
Acide piromidique	25 µg	≤ 16	> 32	≥ 20	< 16	
Ciprofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	La résistance aux fluoroquinolones est croisée entre les différentes molécules mais son niveau d'expression peut varier pour chaque molécule. Les souches d'entérobactéries sensibles à la norfloxacine (NOR) sont sensibles aux autres fluoroquinolones. Pour les souches I (ou R) à NOR, des différences d'activité intrinsèque impliquent un test et une réponse indépendante pour les autres molécules.
Enoxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	Les souches de <i>Salmonella</i> spp. résistantes à l'acide nalidixique doivent être catégorisées résistantes aux fluoroquinolones.
Lévofloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 20	< 17	
Loméfloxacine	5 µg	≤ 1	> 2	≥ 22	< 19	
Moxifloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 24	< 21	
Norfloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Ofloxacine	5 µg	≤ 0,5	> 1	≥ 25	< 22	
Péfloxacine	5 µg	≤ 1	> 4	≥ 22	< 16	
Fosfomycine	50 µg + 50 µg G6P	≤ 32	> 32	≥ 14	< 14	La résistance acquise à la fosfomycine est homogène. La présence de colonies dans la zone d'inhibition ne doit pas être prise en compte. Interprétation valable pour la fosfomycine-trométamol.
Azithromycine		≤ 16				Valable pour <i>Salmonella</i> sérotype Typhi et <i>Shigella</i> spp.

Annexe 6 : Recommandations du CA-SFM 2014 V.2.0, chapitre *Enterobacteriaceae*, page témocilline

Pénicillines	Concentrations critiques (mg/L) S ≤ R >	Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm) S ≥ R <	Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
<p>Alerter (sans modifier le résultat de l'antibiogramme) sur l'efficacité thérapeutique incertaine des associations amoxicilline-clavulanate, ticarcilline-clavulanate et pipéracilline-tazobactam dans le traitement des infections autres que les infections du tractus urinaire si au moins une des céphalosporines de 3^{ème} (céfotaxime, ceftriaxone, ceftazidime) ou de 4^{ème} génération (céfépime) n'est pas catégorisée sensible (EUCAST expert rules v. 2.0, règle 9.1 de grade B). Les <i>Enterobacteriaceae</i> productrices de BLSE sont souvent catégorisées «sensibles» à ces associations. A l'exception des infections du tractus urinaire et des urosepsis, l'utilisation de ces associations dans les infections causées par les isolats cliniques producteurs de BLSE reste controversée et doit faire l'objet de précaution. Aucune donnée n'a été rapportée dans ce domaine pour l'association ticarcilline-clavulanate.</p> <p>Catégoriser «intermédiaire» l'isolat clinique catégorisé «sensible» à la pipéracilline alors qu'il est catégorisé «résistant» ou «intermédiaire» à la ticarcilline (EUCAST expert rules v. 2.0, règle 9.3 de grade C). Les β-lactamases hydrolysant la ticarcilline hydrolysant également la pipéracilline, mais la résistance peut être moins évidente si l'expression de la β-lactamase est faible (principalement observée chez <i>Klebsiella</i> spp. et <i>E. coli</i>). Cette règle ne s'applique pas aux associations pénicillines-inhibiteurs de β-lactamases.</p> <p>Pour <i>Proteus mirabilis</i>, catégoriser «intermédiaire» un isolat clinique apparaissant «sensible» à la ticarcilline et/ou «sensible» à la pipéracilline alors qu'il est catégorisé «résistant» aux aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline) et sensible ou intermédiaire à l'amoxicilline-acide clavulanique.</p>				
Ampicilline	8 ¹	10	14 ^{A,B} 14 ^B	1/A. Les souches sauvages d'entérobactéries du groupe I (<i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> , <i>Salmonella</i> spp., <i>Shigella</i> spp.) sont sensibles à l'amoxicilline. B. Ignorer la pousse fine dans la zone d'inhibition.
Ampicilline-sulbactam	8 ^{1,2}	10-10	14 ^{A,B} 14 ^B	2. Pour évaluer la sensibilité, la concentration en sulbactam est fixée à 4 mg/L.
Amoxicilline	8	20	19	
Amoxicilline-clavulanate	8 ^{1,3}	20-10	19 ^{A,B}	3. Pour évaluer la sensibilité, la concentration du clavulanate est fixée à 2 mg/L.
Amoxicilline-acide clavulanique(cystites)	32 ^{1,3}	20-10	16 ^{A,B}	
Pipéracilline	8	30	20	
Pipéracilline-tazobactam	8 ⁴	30-6	20	4. Pour évaluer la sensibilité, la concentration du tazobactam est fixée à 4 mg/L.
Ticarcilline	8	75	23	
Ticarcilline-clavulanate	8 ³	75-10	23	
Mécillinam (cystites)	8	10	15 ^C	C. Ignorer les colonies situées dans la zone d'inhibition pour les isolats de l'espèce <i>E. coli</i> .
Témocilline	8	30	20	

Annexe 7 : Recommandations du CA-SFM 2016 V.1.0, chapitre *Enterobacteriaceae*, page ceftolozane-tazobactam

Céphalosporines	Concentrations critiques (mg/L)		Charge du disque (µg)	Diamètres critiques (mm)		Notes Chiffres arabes pour les commentaires portant sur les concentrations critiques (CMI) Lettres pour les commentaires portant sur les diamètres critiques d'inhibition
	S ≤	R >		S ≥	R <	
Céfaclor	-	-	-	-	-	
Céfadroxil (cystites)	16	16	30	12	12	
Céfalexine (cystites)	16	16	30	14	14	
Céfazoline	-	-	-	-	-	
Céfépime	1	4	30	24	21	
Céfixime (cystites)	1	1	5	17	17	
Céfixime-acide clavulanique ¹ (cystites)	1	1	5/10	17	17	1. Pour la mesure de la CMI, la concentration de l'acide clavulanique est de 2 mg/L.
Céfotaxime	1	2	5	20	17	
Céfoxitine	8	16	30	19	15	
Céfoxitine (dépistage) ²	NA	NA	30	19	19	2. Le seuil épidémiologique (ECOFF) de la céfoxitine (isolat sauvage ≤ 8 mg/L) a une haute sensibilité mais une faible spécificité pour la détection des <i>Enterobacteriaceae</i> produisant une céphalosporinase (AmpC), car l'activité de cet antibiotique est aussi affectée par les altérations de perméabilité.
Cefpodoxime (cystites)	1	1	10	21	21	
Ceftaroline	0,5	0,5	5	23	23	
Ceftobiprole	0,25	0,25	5	23	23	
Ceftolozane-tazobactam	1	1	30-10	23	23	Les concentrations critiques sont établies à partir du Ceftolozane. Pour évaluer la sensibilité, la concentration du tazobactam est fixée à 4 mg/L.
Ceftazidime	1	4	10	22	19	
Ceftibuten (cystites)	1	1	30	23	23	
Ceftriaxone	1	2	30	23	20	
Céfuroxime iv	8 ³	8	30	18	18	3. Les concentrations critiques sont en lien avec une posologie de 1,5 g 3 fois par jour pour les espèces <i>E. coli</i> , <i>P. mirabilis</i> et <i>Klebsiella</i> spp. seulement.
Céfuroxime oral (cystites)	8	8	30	18	18	

SERMENT D'HIPPOCRATE

« Au moment d'être admis à exercer la médecine, je promets et je jure d'être fidèle aux lois de l'honneur et de probité. Mon premier souci sera de rétablir, de préserver ou de promouvoir la santé dans tous ses éléments, physiques et mentaux, individuels et sociaux. Je respecterai toutes les personnes, leur autonomie et leur volonté, sans aucune discrimination selon leur état ou leurs convictions. J'interviendrai pour les protéger si elles sont affaiblies, vulnérables ou menacées dans leur intégrité ou leur dignité. Même sous la contrainte, je ne ferai pas usage de mes connaissances contre les lois de l'humanité. J'informerai les patients des décisions envisagées, de leurs raisons et de leurs conséquences. Je ne tromperai jamais leur confiance et n'exploiterai pas le pouvoir hérité des circonstances pour forcer les consciences. Je donnerai mes soins à l'indigent et à quiconque me les demandera. Je ne me laisserai pas influencer par la soif du gain ou la recherche de la gloire. Admis dans l'intimité des personnes, je tairai les secrets qui me seront confiés. Reçu à l'intérieur des maisons, je respecterai les secrets des foyers et ma conduite ne servira pas à corrompre les mœurs. Je ferai tout pour soulager les souffrances. Je ne prolongerai pas abusivement les agonies. Je ne provoquerai jamais la mort délibérément. Je préserverai l'indépendance nécessaire à l'accomplissement de ma mission. Je n'entreprendrai rien qui dépasse mes compétences. Je les entretiendrai et les perfectionnerai pour assurer au mieux les services qui me seront demandés. J'apporterai mon aide à mes confrères ainsi qu'à leur famille dans l'adversité. Que les hommes et mes confrères m'accordent leur estime si je suis fidèle à mes promesses ; que je sois déshonoré et méprisé si j'y manque ».

Version du Serment d'Hippocrate réactualisée et publiée dans le Bulletin de l'Ordre National des Médecins (Avril 1996, n°4)

Résumé : La résistance bactérienne aux antibiotiques constitue un problème majeur de santé publique. Les entérobactéries productrices de β -lactamase à spectre étendu (E-BLSE) résistantes aux C3G ont pris une place très importante à l'hôpital et dans la communauté en raison d'une dissémination majeure de BLSE de type CTX-M produites principalement par *E. coli* et fréquemment retrouvées en situation de portage digestif. Les carbapénèmes sont le traitement de référence des infections à E-BLSE mais favorisent l'émergence d'entérobactéries productrices de carbapénémase qui expose au risque d'impasse thérapeutique, d'où l'importance de trouver des alternatives. Nous avons étudié la prévalence du portage digestif E-BLSE chez les patients de réanimation du GH Pellegrin au CHU de Bordeaux, en situation non-épidémique, du 1er janvier au 30 juin 2015. Nous avons aussi étudié la sensibilité aux antibiotiques des E-BLSE dépistées et caractérisé leurs gènes de résistance *bla*. 608 patients ont été dépistés et 57 (9,4%) étaient colonisés. Parmi eux, 7 patients (1,2%) étaient porteurs de souches acquises dans le service. *E. coli* était l'espèce dominante (66,5%) et 96% des souches analysées étaient porteuses d'une CTX-M. 100% des souches étudiées étaient sensibles *in vitro* à l'imipénème contre 88 % pour la pipéracilline-tazobactam et 90% pour le ceftolozane-tazobactam. Pendant la durée de l'étude, 12,3% des patients porteurs ont eu un prélèvement clinique positif à E-BLSE. Nos résultats ont montré la prédominance du portage *E. coli* CTX-M en réanimation, semblable à la communauté et la bonne sensibilité de cette espèce pour certaines alternatives thérapeutiques en cas d'infection.

Mots Clés : BMR, BLSE, E-BLSE, entérobactéries, prévalence, portage, colonisation, réanimation, CTX-M, carbapénèmes, alternatives, acquisition, infection nosocomiale, pipéracilline-tazobactam, ceftolozane-tazobactam

Discipline : Médecine (Biologie médicale)

Directeur de thèse : Professeur Véronique Dubois, PU-PH

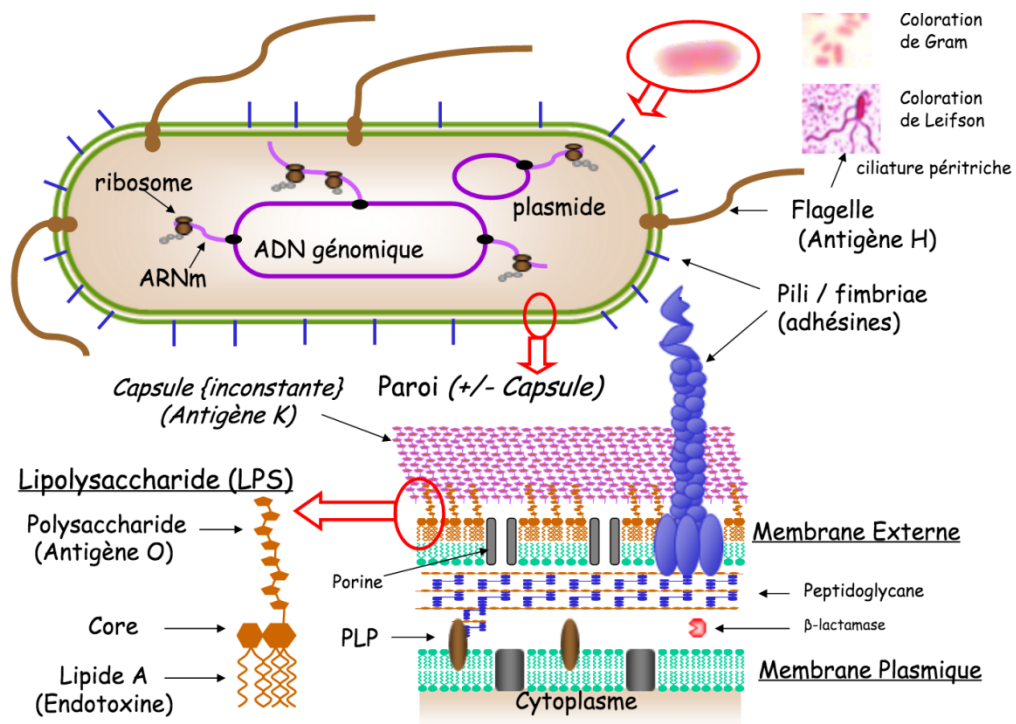


Figure 1. Structure cellulaire d'une entérobactérie.

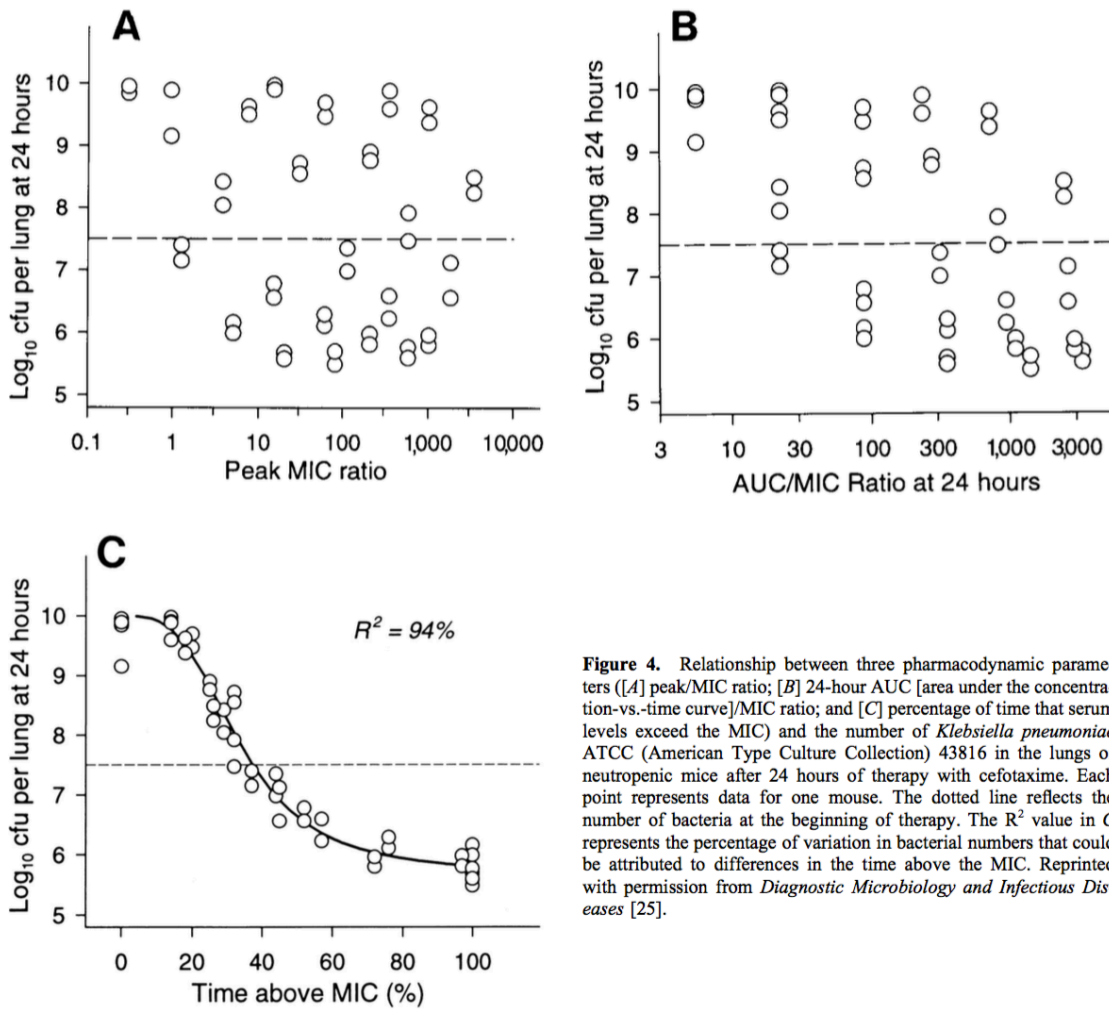


Figure 4. Relationship between three pharmacodynamic parameters ([A] peak/MIC ratio; [B] 24-hour AUC [area under the concentration-vs.-time curve]/MIC ratio; and [C] percentage of time that serum levels exceed the MIC) and the number of *Klebsiella pneumoniae* ATCC (American Type Culture Collection) 43816 in the lungs of neutropenic mice after 24 hours of therapy with cefotaxime. Each point represents data for one mouse. The dotted line reflects the number of bacteria at the beginning of therapy. The R^2 value in C represents the percentage of variation in bacterial numbers that could be attributed to differences in the time above the MIC. Reprinted with permission from *Diagnostic Microbiology and Infectious Diseases* [25].

Figure 2. Un exemple d'indices Pk/Pd : Cmax/CMI, AUC/CMI et T>CMI (W. Craig, 1998).

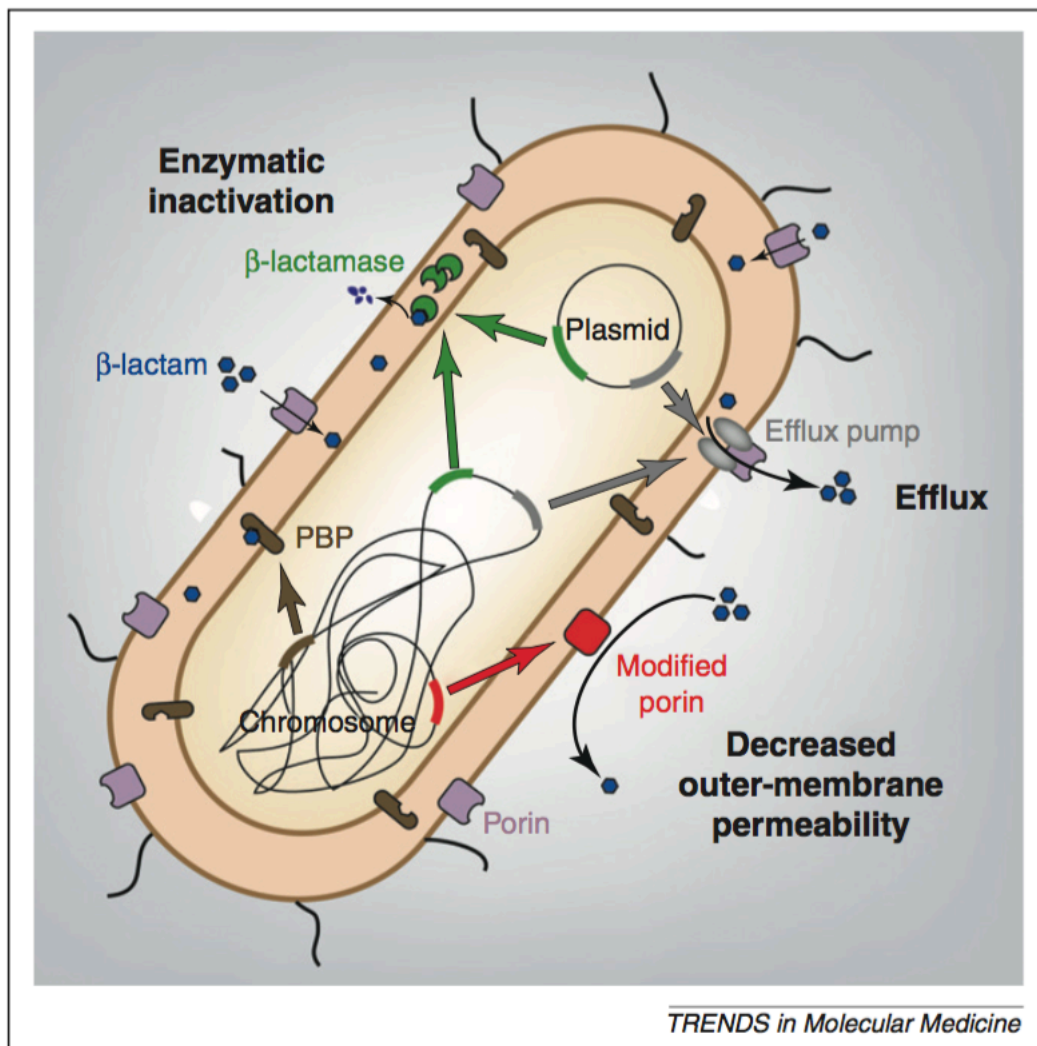


Figure 3. Principaux mécanismes de résistance aux β -lactamines chez les entérobactéries (Nordmann et al, 2012).

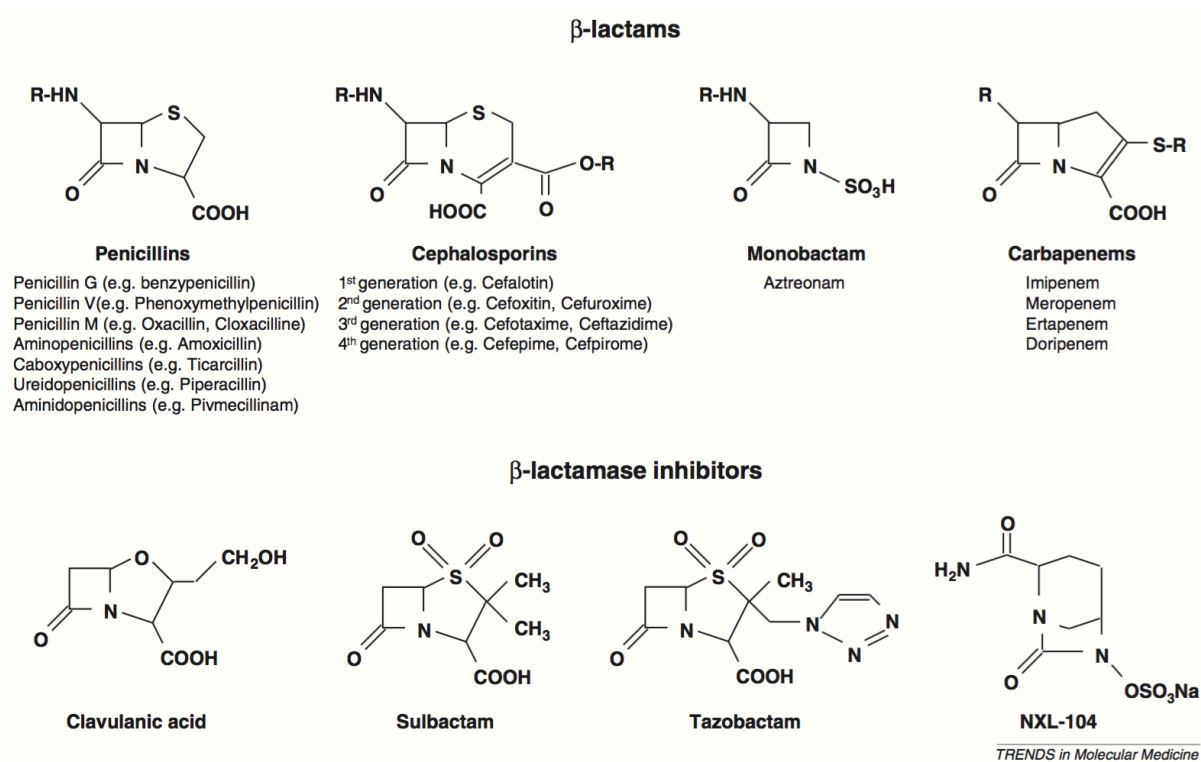


Figure 4. Structure chimique des principales β -lactamines et inhibiteurs de β -lactamase (Nordmann et al, 2012).

Tableau 1. Classification des β -lactamases (Bush et al, 2010).

Bush-Jacoby group (2009)	Bush-Jacoby-Medeiros group (1995)	Molecular class (subclass)	Distinctive substrate(s)	Inhibited by		Defining characteristic(s)	Representative enzyme(s)
				CA or TZB ^a	EDTA		
1	1	C	Cephalosporins	No	No	Greater hydrolysis of cephalosporins than benzylpenicillin; hydrolyzes cephamycins	<i>E. coli</i> AmpC, P99, ACT-1, CMY-2, FOX-1, MIR-1
1e	NI ^b	C	Cephalosporins	No	No	Increased hydrolysis of ceftazidime and often other oxymino- β -lactams	GC1, CMY-37
2a	2a	A	Penicillins	Yes	No	Greater hydrolysis of benzylpenicillin than cephalosporins	PC1
2b	2b	A	Penicillins, early cephalosporins	Yes	No	Similar hydrolysis of benzylpenicillin and cephalosporins	TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	2be	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams	Yes	No	Increased hydrolysis of oxymino- β -lactams (cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, cefepime, aztreonam)	TEM-3, SHV-2, CTX-M-15, PER-1, VEB-1
2br	2br	A	Penicillins	No	No	Resistance to clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam	TEM-30, SHV-10
2ber	NI	A	Extended-spectrum cephalosporins, monobactams	No	No	Increased hydrolysis of oxymino- β -lactams combined with resistance to clavulanic acid, sulbactam, and tazobactam	TEM-50
2c	2c	A	Carbenicillin	Yes	No	Increased hydrolysis of carbenicillin	PSE-1, CARB-3
2ce	NI	A	Carbenicillin, cefepime	Yes	No	Increased hydrolysis of carbenicillin, cefepime, and ceftiofime	RTG-4
2d	2d	D	Cloxacillin	Variable	No	Increased hydrolysis of cloxacillin or oxacillin	OXA-1, OXA-10
2de	NI	D	Extended-spectrum cephalosporins	Variable	No	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and oxymino- β -lactams	OXA-11, OXA-15
2df	NI	D	Carbapenems	Variable	No	Hydrolyzes cloxacillin or oxacillin and carbapenems	OXA-23, OXA-48
2e	2e	A	Extended-spectrum cephalosporins	Yes	No	Hydrolyzes cephalosporins. Inhibited by clavulanic acid but not aztreonam	CepA
2f	2f	A	Carbapenems	Variable	No	Increased hydrolysis of carbapenems, oxymino- β -lactams, cephamycins	KPC-2, IMI-1, SME-1
3a	3	B (B1)	Carbapenems	No	Yes	Broad-spectrum hydrolysis including carbapenems but not monobactams	IMP-1, VIM-1, CcrA, IND-1
		B (B3)					L1, CAU-1, GOB-1, FEZ-1
3b	3	B (B2)	Carbapenems	No	Yes	Preferential hydrolysis of carbapenems	CphA, Sfh-1
NI	4	Unknown					

^a CA, clavulanic acid; TZB, tazobactam.

^b NI, not included.

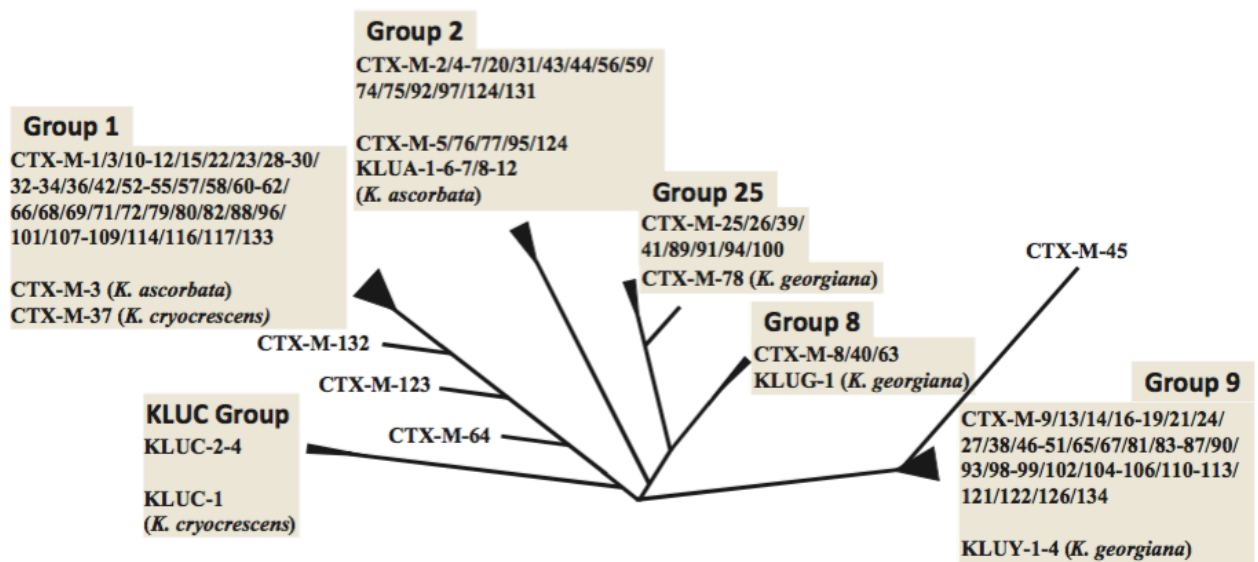


Figure 5. Relation des différents groupes CTX-M (D'Andrea et al, 2013).

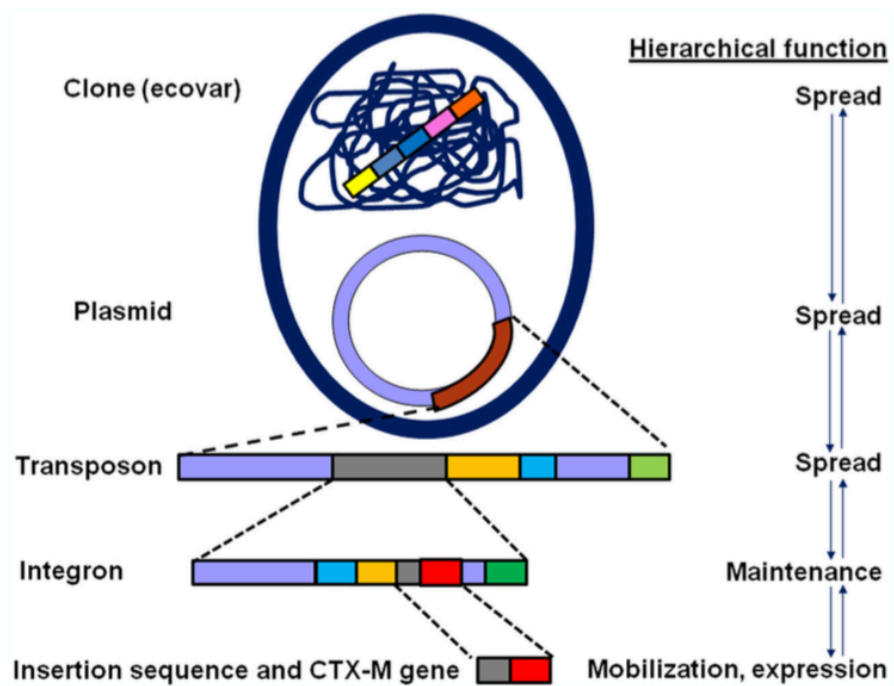


Figure 6. Complexité hiérarchique des gènes *bla*CTX-M au sein des structures génétiques et clones bactériens qui participent au maintien, à la mobilisation et à la propagation de ces gènes (Canton et al, 2012).

Tableau 2. Principales carbapénémases chez les entérobactéries (Nordmann et al, 2012).

Ambler class	Name of the enzyme	Plasmid/ chromosome	Hydrolysis spectrum						Inhibitor
			Penicillins	First generation cephalosporins	Second generation cephalosporins	Third generation cephalosporins	Aztreonam	Carbapenems	
A	SME-1 to -3	Chromosome	++	++	–	+	+	Clavulanate, tazobactam, sulbactam, NXL-104	
	NMC-A	Chromosome	++	++	–	+	++		
	IMI-2	Plasmid	++	++	–	+	++		
	GES-4, -5, -6	Plasmid	++	++	+	+	+		
	KPC-2 to -12	Plasmid	++	++	–	++	+	++	Clavulanate, tazobactam, boronic acid, sulbactam
B	IMP-1 to -33	Plasmid	++	++	++	++	–	++	EDTA
	VIM-1 to -33	Plasmid	++	++	++	++	–	++	
	NDM-1 to -6	Plasmid	++	++	++	++	–	+	
	KHM-1	Plasmid	++	++	++	++	–	++	
D	OXA-48	Plasmid	++	++	+/-	+/-	–	+	NaCl
	OXA-181	Plasmid	++	++	+/-	+/-	–	+	

The (+) or (++) annotations refer to the sole hydrolysis rate and do not take into account the level of carbapenem resistance observed in the corresponding bacterial host. Italicized inhibitors cannot be used in clinical practice. An annotation of (–) indicates, no detectable hydrolysis.

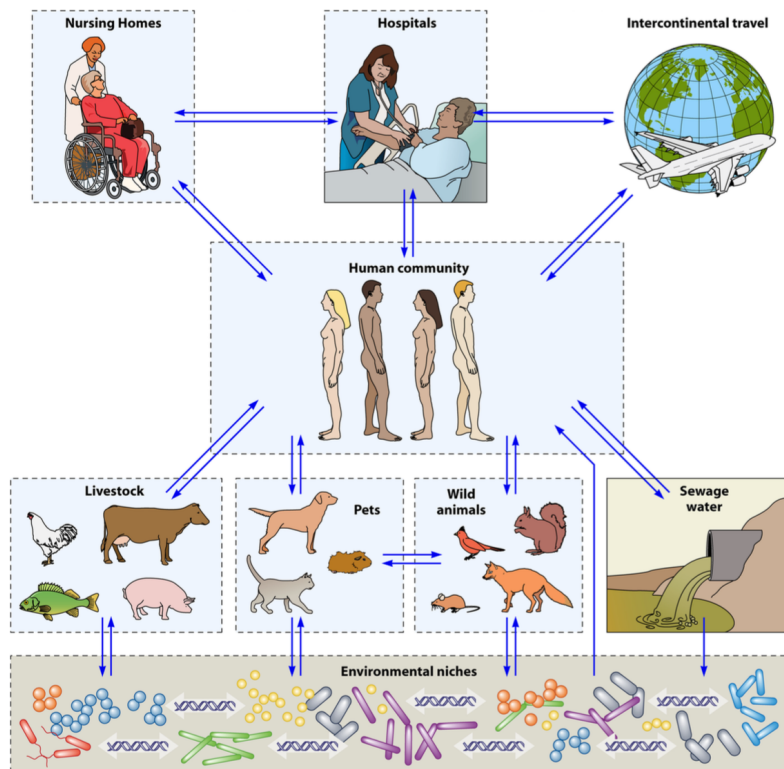


Figure 7. Représentation de la transmission croisée (Woerther et al, 2013).

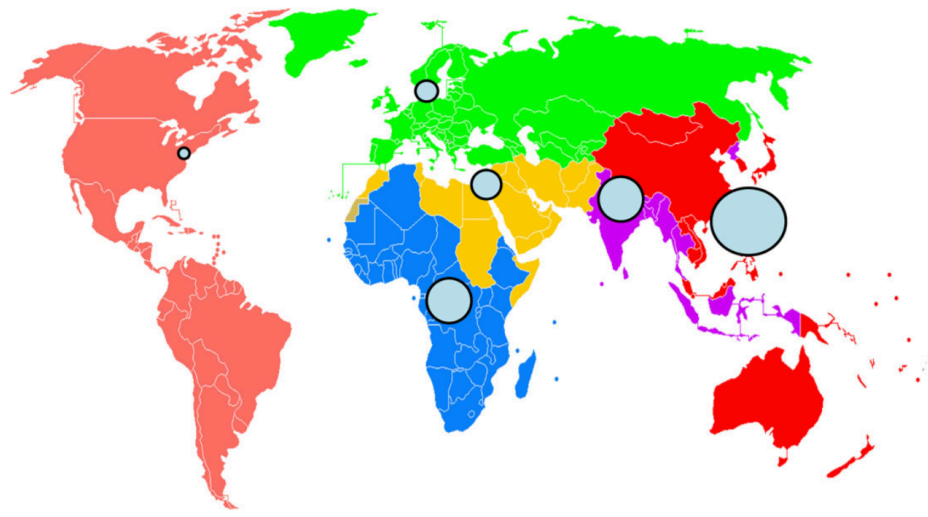


Figure 8. Prévalence du portage digestif E-BLSE au niveau mondial chez des individus en bonne santé (Karanika et al, 2016).

Tableau 3. Distribution mondiale des différents types de BLSE de classe A en portage digestif chez des individus en bonne santé (Karanika et al, 2016).

WHO region	CTX-M				TEM	SHV	Total isolates ^a
	CTX-M-1	CTX-M-2	CTX-M-8	CTX-M-9			
Europe [27, 28, 31-34, 36, 38, 40, 41, 43, 44, 49]	49%	12%	62%	6%	24%	14%	489
West Pacific [25, 42, 47]	29%	0%	89%	2%	6%	5%	434
South East Asia [35, 37, 48]	100%	0%	71%	0%	25%	4%	150 (15)*
Africa [30, 46, 50]	100%	0%	78%	0%	2%	19%	65
East Mediterranean [39, 51]	100%	0%	54%	0%	25%	21%	24
America [26, 86]	42%	29%	77%	0%	23%	0%	22
Total [25-28, 30-51, 85, 88]	57%	2%	69%	10%	21%	10%	1184 (1049)*

^a Numbers in last column represent the total of isolates based on which we estimated the enzyme distribution. We report in parentheses, the isolates based on which we estimated the CTX-M subgrouping, if the rest of the studies of this particular region reported only data for CTX-M, TEM and SHV without CTX-M subgroups (2 studies in South East Asia region).

Tableau 4. Évolution des taux d'incidence des E-BLSE au total pour 1000 JH de 2002 à 2013 (données globales) (BMR-Raisin 2013).

	Total											
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
CCLIN Nord	0,20	0,21	0,20	0,23	0,24	0,33	0,38	0,44	0,51	0,61	0,66	0,69
Hors AP-HP	0,19	0,20	0,17	0,19	0,20	0,27	0,32	0,39	0,45	0,54	0,58	0,61
AP-HP	0,21	0,24	0,26	0,33	0,32	0,47	0,52	0,54	0,66	0,81	0,93	0,96
CCLIN Est	0,05	0,07	0,06	0,07	0,09	0,13	0,22	0,26	0,40	0,43	0,49	0,48
CCLIN Ouest	0,04	0,03	0,04	0,05	0,07	0,10	0,12	0,17	0,23	0,27	0,32	0,33
CCLIN Sud-Est	0,21	0,18	0,23	0,19	0,20	0,23	0,29	0,34	0,38	0,48	0,55	0,60
CCLIN Sud-Ouest	0,18	0,18	Nd	0,18	0,17	0,21	0,31	0,33	0,38	0,45	0,52	0,54
TOTAL	0,13	0,14	0,15	0,16	0,17	0,22	0,27	0,32	0,39	0,46	0,53	0,55

Nd : non disponible.

Tableau 5. Répartition (%) des souches E-BLSE selon l'espèce d'entérobactérie (BMR-Raisin 2013).

Inter-région	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>E. cloacae</i>	<i>E. aerogenes</i>	<i>Citrobacter spp.</i>	<i>P. mirabilis</i>	Autres	Total
CCLIN Nord	54,9	26,4	12,2	1,6	1,8	0,7	2,4	100
Hors AP-HP	57,5	25,1	10,6	1,9	2,0	0,8	2,1	100
AP-HP	49,2	29,2	15,5	0,9	1,6	0,7	3,0	100
CCLIN Est	66,0	17,0	10,8	1,0	1,4	0,4	3,3	100
CCLIN Ouest	65,5	16,7	11,6	0,7	1,9	0,4	3,2	100
CCLIN Sud-Est	58,2	22,1	10,4	1,5	2,7	1,3	3,8	100
CCLIN Sud-Ouest	58,7	24,6	8,8	1,4	1,7	0,6	4,2	100
TOTAL	58,8	22,9	11,0	1,4	2,0	0,8	3,2	100

C. koseri et *C. freundii* regroupés dans *Citrobacter spp.* - *Serratia* et *K. oxytoca* regroupés dans Autres.

Tableau 6. Répartition (nombre et %) des souches E-BLSE par type de prélèvements (BMR-Raisin 2013).

Inter-région	Hémocultures		Sérees, pus profonds		Pr. Resp.prot.		Pr. Resp. non prot.		DIV		Urines		Total*	
	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%
CCLIN Nord	362	8,0	265	5,9	133	3,0	234	5,2	127	2,8	3 004	66,7	4 504	100,0
Hors AP-HP	216	7,1	183	6,0	64	2,1	174	5,7	82	2,7	2 083	68,2	3 053	100,0
AP-HP	146	10,1	82	5,7	69	4,8	60	4,1	45	3,1	921	63,5	1 451	100,0
CCLIN Est	130	8,9	87	6,0	34	2,3	63	4,3	18	1,2	997	68,5	1 455	100,0
CCLIN Ouest	104	8,0	66	5,1	13	1,0	36	2,8	15	1,2	987	76,1	1 297	100,0
CCLIN Sud-Est	243	7,5	158	4,9	86	2,7	141	4,4	34	1,1	2 313	71,5	3 236	100,0
CCLIN Sud-Ouest	150	8,6	97	5,6	49	2,8	69	4,0	37	2,1	1 177	67,6	1 742	100,0
TOTAL	989	8,1	673	5,5	315	2,6	543	4,4	231	1,9	8 478	69,3	12 234	100,0

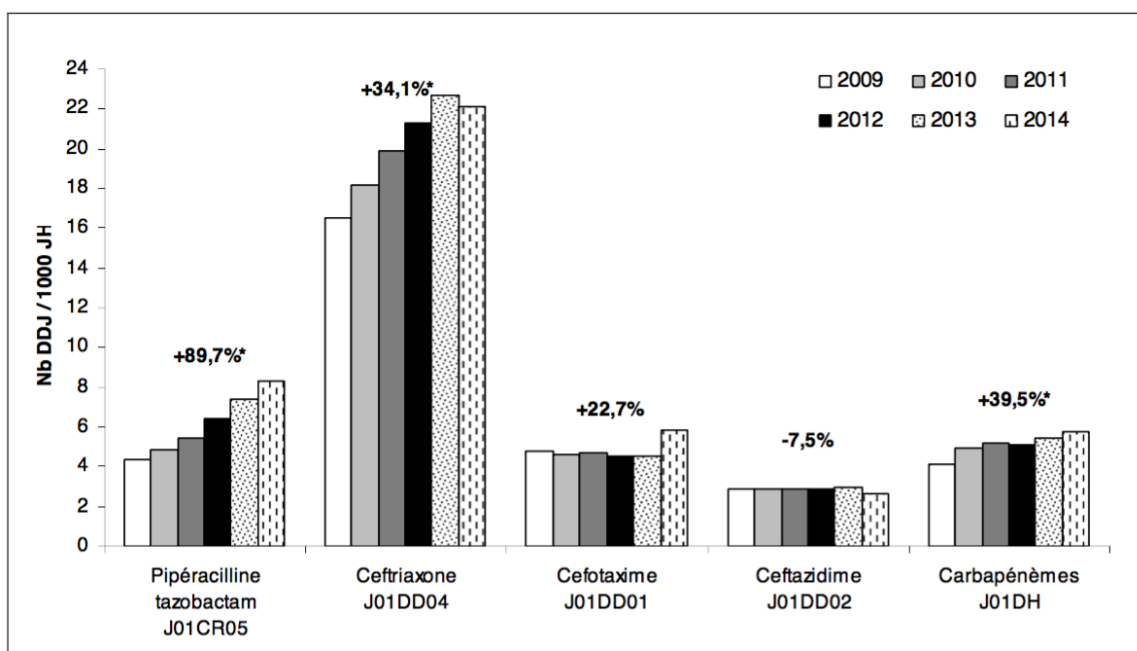
DIV : dispositif intravasculaire.

*le total contient aussi les prélèvements « autres »

Tableau 7. Évolution des taux d'incidence des E-BLSE en réanimation pour 1000 JH de 2002 à 2013 (données globales) (BMR-Raisin 2013).

	Réanimation											
	2002	2003	2004	2005	2006	2007	2008	2009	2010	2011	2012	2013
CCLIN Nord	0,92	0,72	0,83	0,92	0,97	1,24	1,42	1,69	1,67	2,15	2,41	2,53
Hors AP-HP	0,92	0,61	0,71	0,79	0,91	0,98	1,27	1,51	1,62	2,19	2,15	2,44
AP-HP	0,94	0,92	1,06	1,11	1,05	1,63	1,62	1,94	1,73	2,07	2,86	2,67
CCLIN Est	0,04	0,85	0,39	0,44	0,40	0,63	1,01	1,29	1,74	1,90	2,46	1,64
CCLIN Ouest	0,75	0,25	0,38	0,40	0,62	0,56	0,84	0,88	1,19	1,05	1,46	1,47
CCLIN Sud-Est	1,26	1,17	1,11	1,02	1,03	1,01	1,84	1,66	1,77	2,23	2,79	3,21
CCLIN Sud-Ouest	0,42	0,57	Nd	1,37	0,76	1,01	1,20	1,69	1,60	2,43	2,17	2,63
TOTAL	0,79	0,68	0,76	0,86	0,86	1,04	1,35	1,55	1,63	2,05	2,36	2,46

Nd : non disponible



* tendance d'évolution statistique significative (régression linéaire)

Figure 10. Evolution de la consommation de β -lactamines en nombre de doses définies journalières (DDJ)/1000 journées d'hospitalisation (JH) dans la cohorte de 621 établissements ayant participé de 2009 à 2014 (pourcentage d'évolution entre 2009 et 2014) (ATB-Raisin 2014).

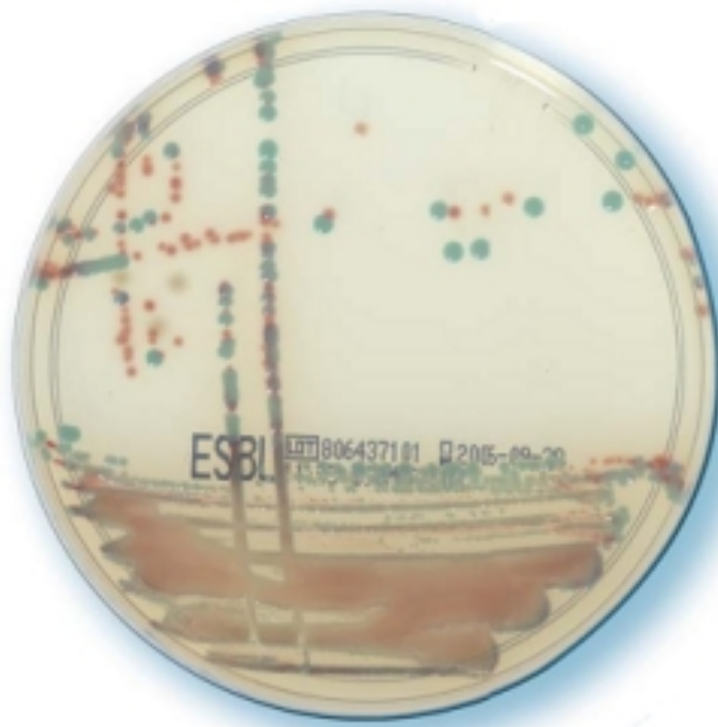


Figure 11. Milieu de culture chromogène et sélectif chromID ESBL® (Biomérieux®).

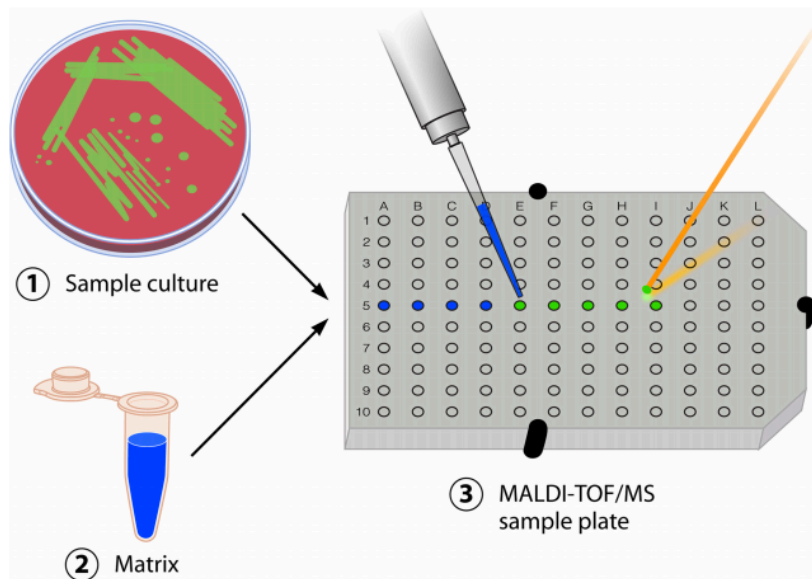


Figure 12. Méthode pour l'identification des bactéries par spectrométrie de masse MALDI-TOF à partir d'une culture bactérienne (Clark et al. 2013).

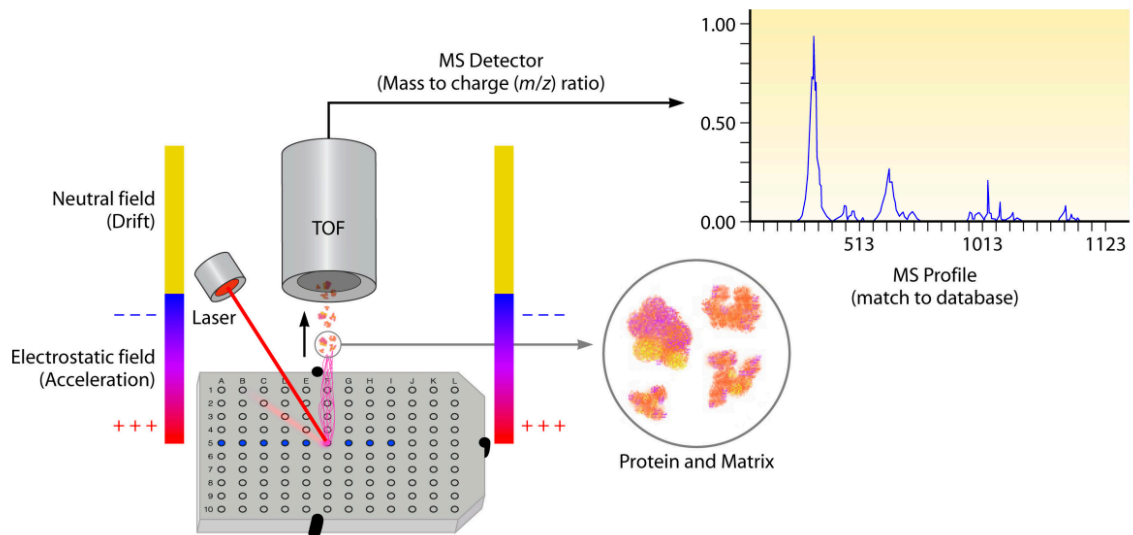


Figure 13. Schéma général du fonctionnement du spectromètre de masse MALDI-TOF (Clark et al. 2013).

D68C¹

AmpC & ESBL Detection Set

Confirmation of AmpC and/or ESBL production in Enterobacteriaceae

A CPD10

B CPD10 + ESBL inhibitor

C CPD10 + AmpC inhibitor

D CPD10 + ESBL inhibitor
+ AmpC Inhibitor

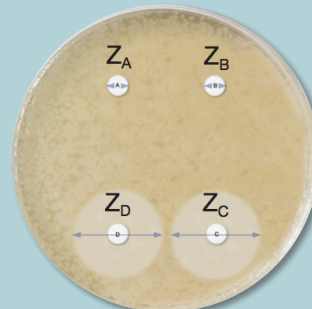
Calculator programme is
available to download from
www.mastgrp.com

ESBL Positive



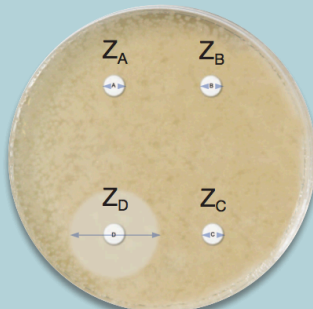
$Z_B - Z_A$ and $Z_D - Z_C \geq 5\text{mm}$
and the differences of each of
 Z_B and Z_D and Z_A and Z_C are $< 4\text{mm}$

AmpC Positive



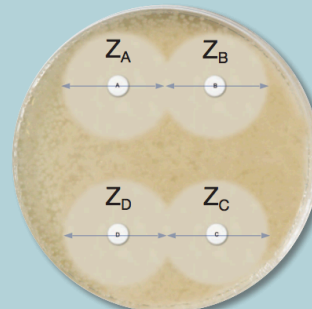
$Z_D - Z_B$ and $Z_C - Z_A \geq 5\text{mm}$
and the differences of each of
 Z_A and Z_B and $Z_C - Z_D$ are $< 4\text{mm}$

AmpC and ESBL Positive



$Z_D - Z_C \geq 5\text{mm}$ and the difference of
 Z_A and Z_B is $< 4\text{mm}$

AmpC and ESBL Negative



All zones differ by $\leq 2\text{mm}$

CPD – Cefpodoxime

Figure 14. Notice d'utilisation du test MAST® AMPC & ESBL DETECTION DISCS D68C.

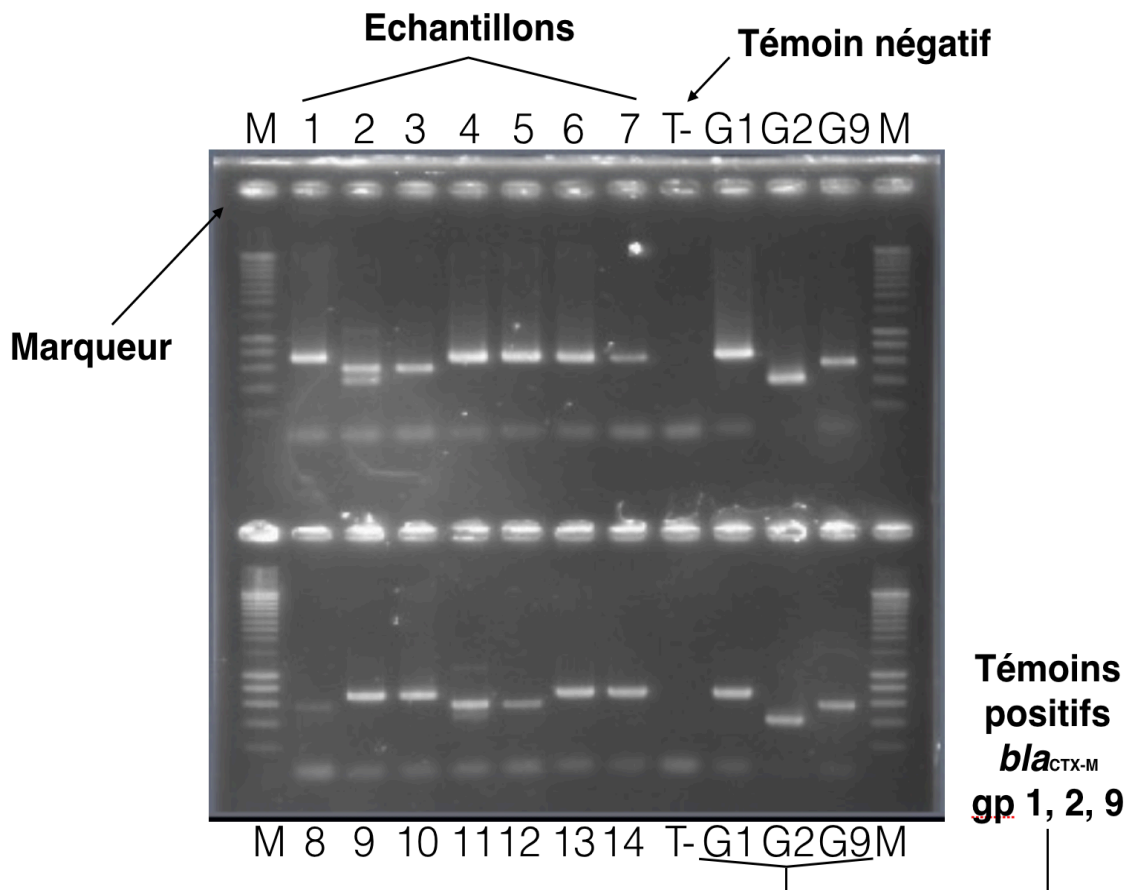


Figure 15. Révélation au BET sous UV des produits de PCR ayant migré sur gel sous forme de bandes d'ADN fluorescentes.

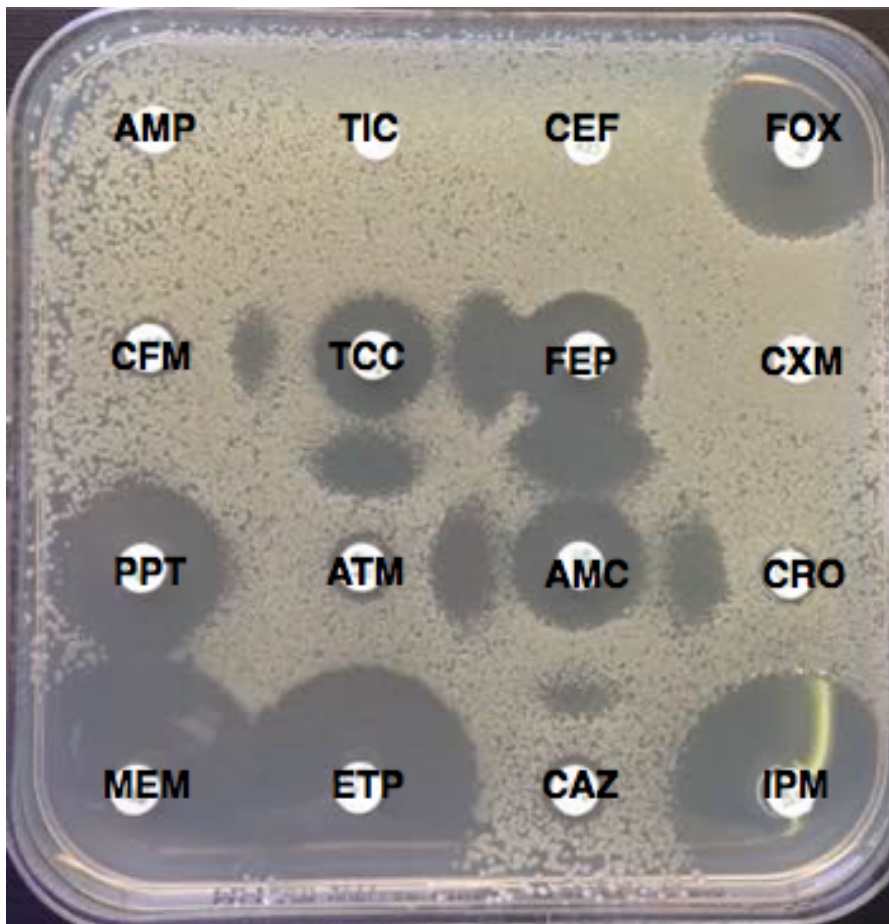


Figure 16. Grille d'antibiogramme standard du laboratoire de bactériologie pour les β -lactamines chez les entérobactéries et images en « bouchon de champagne » caractéristiques du phénotype BLSE.

AMP : ampicilline, TIC : ticarcilline, CEF : céfalotine, FOX : céfoxitine, CFM : céfixime, TCC : ticarcilline-acide clavulanique, FEP : céfépime, CXM : céfuroxime, PPT : pipéracilline-tazobactam, ATM : aztréonam, AMC : amoxicilline-acide clavulanique, CRO : ceftriaxone, MEM : méropénème, ETP : ertapénème, CAZ : ceftazidime, IMP : imipénème.

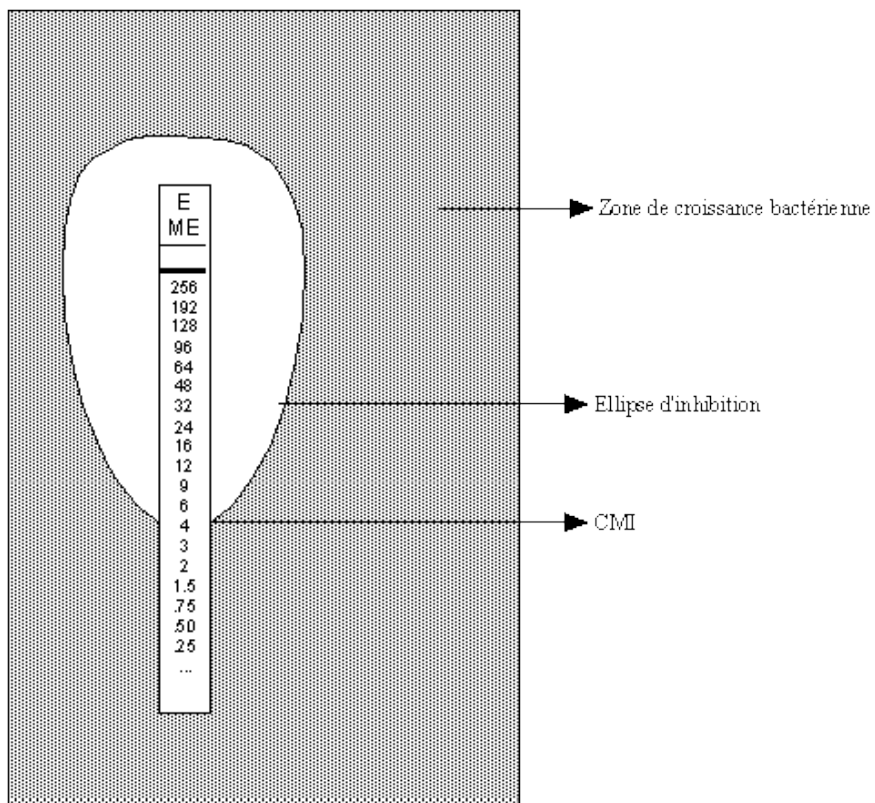


Figure 17. CMI par méthode E-test (principe de lecture).

Tableau 9. Patients porteurs de souches E-BLSE d'acquisition.

N° patient	ATCD portage ou infection E-BLSE au CHU	Espèce bactérienne	Contenu enzymatique (gènes <i>bla</i> identifiés)	Délai BMR (jours)	Nombre total de dépistages	Position du premier dépistage positif	Présence d'un dépistage négatif ≤ 48h de l'admission
1	Non	<i>E. coli</i>	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM}	3	2	2 ^e	Oui
2	Non	<i>E. coli</i>	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 9	4	6	2 ^e	Oui
3	Non	<i>E. coli</i>	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 2 + groupe 9 + <i>bla</i> _{OXA-1-like}	6	1	1 ^{er}	Non
4	Non	<i>K. pneumoniae</i>	NA	14	3	3 ^e	Oui
5	Non	<i>K. pneumoniae</i>	NA	30	7	3 ^e	Oui
6	Non	<i>C. koseri</i>	NA	51	6	6 ^e	Oui
7	Non	<i>C. freundii</i>	NA	54	11	7 ^e	Oui
		<i>K. pneumoniae</i>	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{OXA-1-like}	82		9 ^e	

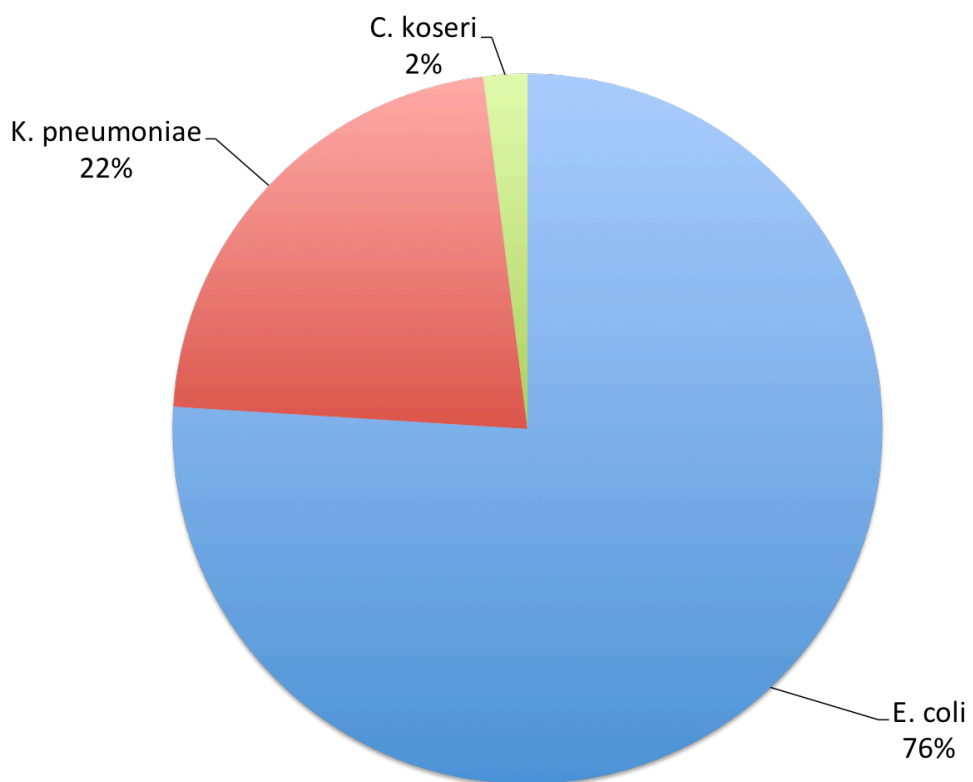


Figure 22. Distribution des espèces bactériennes parmi les 50 souches E-BLSE de portage digestif analysées.

Tableau 10. Combinaisons des différents gènes de résistance *bla* des 50 souches E-BLSE de portage digestif analysées.

Espèce bactérienne	Nombre de souches	Gène <i>bla</i> ou combinaison de gènes
<i>E. coli</i>	8	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM}
	7	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1
	6	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1 + <i>bla</i> _{OXA-1-like}
	6	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 9
	4	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 9 + <i>bla</i> _{TEM}
	2	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 2 + groupe 9 + <i>bla</i> _{TEM}
	2	<i>bla</i> _{SHV}
	1	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{OXA-1-like}
	1	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 2 + groupe 9
	1	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 2 + groupe 9 + <i>bla</i> _{OXA-1-like}
<i>K. pneumoniae</i>	9	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{OXA-1-like}
	1	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 9 + <i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV}
	1	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 9 + <i>bla</i> _{SHV}
<i>C. koseri</i>	1	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1

Tableau 11. Sensibilité aux β -lactamines des souches E-BLSE de portage digestif (par antibiogramme).

Antibiotiques : β -lactamines (CA-SFM 2013)	Sensibilité des souches par antibiogramme par diffusion en milieu gélosé, n (%)		
	S	I	R
Ampicilline	0 (0%)	0 (0%)	50 (100%)
Amoxicilline + acide clavulanique	21 (42 %)	20 (40%)	9 (18%)
Ticarcilline	0 (0%)	0 (0%)	50 (100%)
Ticarcilline + acide clavulanique	19 (38%)	3 (6%)	28 (56%)
Pipéracilline + tazobactam	44 (88%)	4 (8%)	2 (4%)
Méccillinam	9 (18%)	NA	41 (82%)
Témocilline (CA-SFM 2014)	44 (88%)	NA	6 (12%)
Céfalogtine	0 (0%)	0 (0%)	50 (100%)
Céfixime	6 (12%)	6 (12%)	38 (76%)
Céfuroxime	1 (2%)	NA	49 (98%)
Céfoxitine	47 (94%)	2 (4%)	1 (2%)
Ceftriaxone	0 (0%)	2 (4 %)	48 (96%)
Ceftazidime	14 (28%)	7 (14%)	29 (58%)
Céfépime	13 (26%)	9 (18%)	28 (56%)
Aztréonam	12 (24%)	3 (6%)	32 (64%)
Méropénème	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)
Ertapénème	49 (98%)	0 (0%)	1 (2%)
Impipénème	50 (100%)	0 (0%)	0 (0%)

Tableau 12. Sensibilité aux autres antibiotiques des souches E-BLSE de portage digestif (par antibiogramme).

Autres antibiotiques (CA-SFM 2013)	Sensibilité des souches par antibiogramme par diffusion en milieu gélosé, n (%)		
	S	I	R
Gentamicine	33 (66%)	0 (0%)	17 (34%)
Tobramycine	31 (62%)	0 (0%)	19 (38%)
Amikacine	49 (98%)	0 (0%)	1 (2%)
Acide nalidixique	18 (36%)	2 (4%)	30 (60%)
Norfloxacine	17 (34%)	2 (4%)	28 (56%)
Ciprofloxacine	22 (44%)	1 (2%)	27 (54%)
Nitrofurantoïne	41 (82%)	NA	9 (18%)
Cotrimoxazole	15 (30%)	0 (0%)	35 (70%)
Doxycycline	15 (30%)	1 (2%)	34 (68%)
Tigécycline	45 (90%)	3 (6%)	2 (4%)
Fosfomycine	47/50 (94%)	NA	3 (6%)

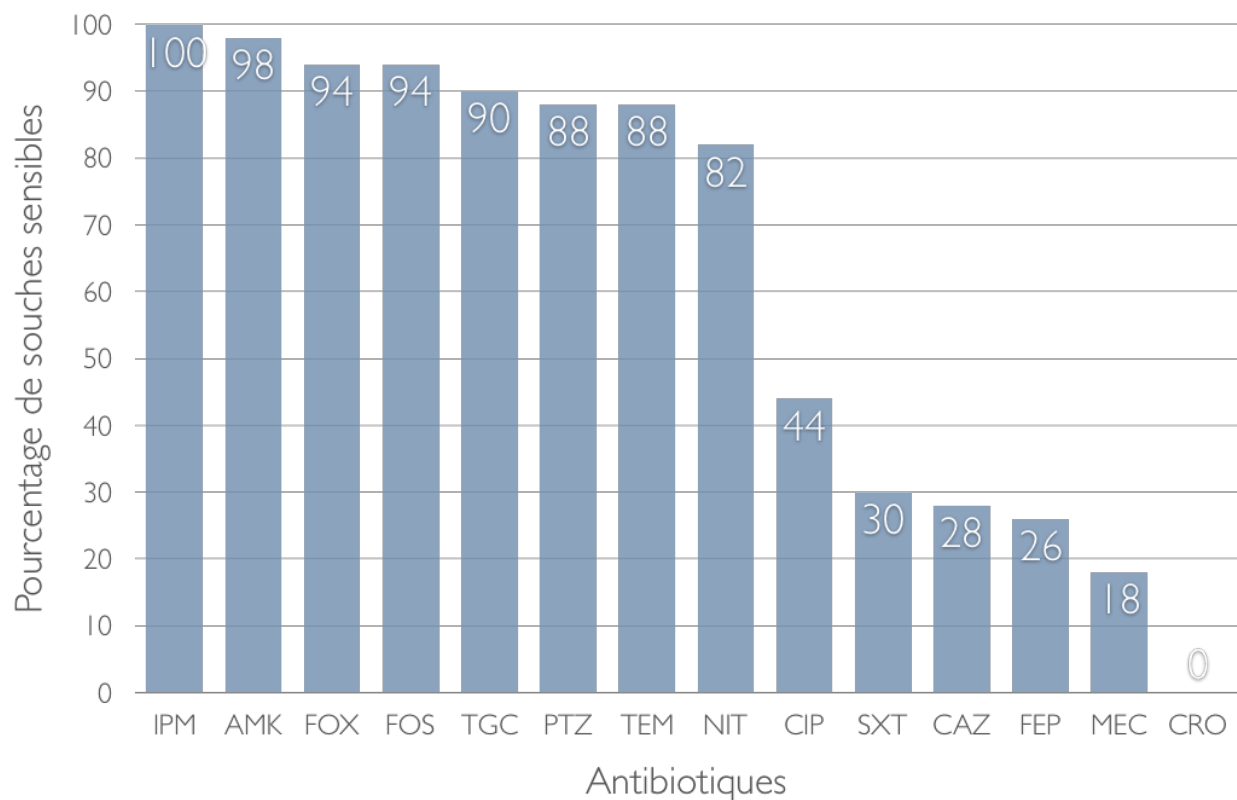


Figure 25. Sensibilité (%) par antibiogramme des souches E-BLSE de portage digestif.

IMP : imipénème, AMK : amikacine, FOX : céfoxitine, TGC : tigécycline, PTZ : pipéracilline-tazobactam, FOS : fosfomycine, NIT : nitrofurantoïne, TEM : témocilline, CIP : ciprofloxacine, CAZ : ceftazidime, SXT : triméthoprime-sulfaméthoxazole, FEP : céfépime, CRO : ceftriaxone, MEC : mécillinam

Tableau 14. Comparaison des résultats de sensibilité entre diamètres et CMI en fonction de l'espèce bactérienne et des gènes de résistance bla.

Espèce bactérienne	Gène bla ou combinaison de gènes	Nombre de souches	Sensibilité aux antibiotiques																				
			★ CA-SFM 2013		■ 2014		◆ 2016		★ 2014		◆ 2016		★ 2014		◆ 2016								
			PTZ CMI ★	PTZ Ø ★	TEM CMI ■	TEM Ø ■	FEP CMI ★	FEP Ø ★	CAZ CMI ★	CAZ Ø ★	CEF-TAZ CMI ◆	AMK Ø ★	PTZ CMI ★	PTZ Ø ★	TEM CMI ■	TEM Ø ■	FEP CMI ★	FEP Ø ★	CAZ CMI ★	CAZ Ø ★	CEF-TAZ CMI ◆	AMK Ø ★	
38 <i>E. coli</i>	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM}	8	3/3	7/8	7/8	7/8	0/8	3/8	0/8	1/8	8/8	8/8	3/3	7/8	7/8	7/8	0/8	3/8	0/8	1/8	8/8	8/8	8/8
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1	7	4/4	7/7	7/7	6/7	0/7	1/7	1/7	2/7	7/7	7/7	4/4	7/7	7/7	6/7	0/7	1/7	1/7	2/7	7/7	7/7	7/7
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1 + <i>bla</i> _{OXA-1-like}	6	3/3	4/6	4/6	4/6	0/6	0/6	0/6	1/6	0/6	6/6	6/6	3/3	4/6	4/6	0/6	0/6	0/6	0/6	6/6	6/6	6/6
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 9	6	3/3	6/6	6/6	6/6	1/6	4/6	3/6	4/6	6/6	6/6	6/6	3/3	6/6	6/6	1/6	4/6	3/6	4/6	6/6	6/6	6/6
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 9 + <i>bla</i> _{TEM}	4	3/3	4/4	3/4	3/4	0/4	0/4	4/4	3/4	4/4	4/4	3/3	4/4	3/4	3/4	0/4	0/4	4/4	3/4	4/4	4/4	4/4
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 2 + groupe 9 + <i>bla</i> _{TEM}	2	1/1	2/2	2/2	2/2	0/2	0/2	1/2	1/2	2/2	2/2	1/1	2/2	2/2	2/2	0/2	0/2	1/2	1/2	2/2	2/2	2/2
	<i>bla</i> _{SHV}	2	1/1	2/2	1/2	2/2	1/2	2/2	0/2	0/2	2/2	2/2	1/1	2/2	1/2	2/2	1/2	2/2	0/2	0/2	2/2	2/2	2/2
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{OXA-1-like}	1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1
11 <i>K. pneumoniae</i>	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 2 + groupe 9	1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 2 + <i>bla</i> _{CTX-M} groupe 9 + <i>bla</i> _{OXA-1-like}	1	NA	1/1	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1	NA	1/1	1/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1	1/1	1/1
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{OXA-1-like}	9	NA	6/9	7/9	9/9	0/9	1/9	2/9	0/9	5/9	9/9	NA	6/9	7/9	9/9	0/9	1/9	2/9	0/9	5/9	9/9	9/9
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 9 + <i>bla</i> _{SHV}	1	NA	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	NA	1/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	0/1
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 9 + <i>bla</i> _{SHV}	1	NA	1/1	0/1	1/1	0/1	0/1	1/1	1/1	0/1	1/1	NA	1/1	0/1	1/1	0/1	0/1	1/1	1/1	0/1	0/1	1/1
	<i>bla</i> _{CTX-M} groupe 1	1	NA	1/1	0/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	NA	1/1	0/1	1/1	0/1	0/1	0/1	0/1	1/1	1/1	1/1

Tableau 15. Résultats des prélèvements cliniques positifs à E-BLSE et relation avec le portage digestif.

N° patient	Score IGS II Décès	Diagnostic	ATCD portage ou infection E-BLSE	Type de prélèvement	Cytologie	Espèce bactérienne	Délai BMR (jours)	Présence d'un portage digestif E-BLSE	Même profil de résistance	Même contenu enzymatique
1	18 Non	Pyélonéphrite Coma	Oui	Urines (sur sonde)	10 ⁵ GB/mL	<i>E. coli</i>	0	Oui (<i>E. Coli</i> d'importation)	Oui	NA
2	57 Non	Abcès abdominal Sepsis sévère	Oui	Urines (sur sonde)	10 ⁵ GB/mL	<i>E. coli</i>	0	Oui (<i>E. coli</i> d'importation)	Oui (<i>bla</i> _{CTXM} groupe 1)	Oui (<i>bla</i> _{CTXM} groupe 1)
3	56 Oui	Pneumopathie insuffisance respiratoire aiguë	Non connu	Sécrétions trachéales	> 25 GB /champ	<i>E. coli</i>	0	Oui (<i>E. coli</i> d'importation)	Oui	NA
4	NA Oui	Insuffisance respiratoire aiguë Syndrome inflammatoire	Non connu	Sécrétions trachéales	> 25 GB /champ	<i>E. coli</i>	0	Oui (<i>E. coli</i> d'importation)	Oui (<i>bla</i> _{CTXM} groupe 9)	Oui (<i>bla</i> _{CTXM} groupe 9)
5	106 Oui	Bactériémie	Non connu	Hémoculture sur cathéter	NA	<i>K. pneumoniae</i>	0	Non réalisé	NA	NA
6	NA Oui	Pyélonéphrite Sepsis Insuffisance respiratoire aiguë	Oui	Urines (voie naturelle) Expectoration	10 ⁵ GB/mL > 25 GB /champ	<i>E. coli</i> <i>E. coli</i>	1 1	Oui (<i>E. Coli</i> d'importation)	Oui Oui	Oui (<i>bla</i> _{CTXM} groupe 1 + <i>bla</i> _{OXA-1-IIIa}) NA
7	50 Non	Infection urinaire Décompensation cirrhotique	Non connu	Urines (sur sonde)	10 ⁴ GB/mL	<i>C. freundii</i>	1	Non	NA	NA
8	77 Non	Paludisme Pneumopathie Escarre	Non connu Retour de l'étranger (Abidjan)	Expectoration	> 25 GB /champ	<i>K. pneumoniae</i>	20	Oui (<i>K. pneumoniae</i> + <i>E. coli</i> d'importation)	Oui (<i>K. pneumoniae</i>)	Non Portage (<i>bla</i> _{CTXM} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{OXA-1-IIIa}) Expectoration (<i>bla</i> _{CTXM} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV})
9	47 Oui	Grippe surinfectée Multiples PAVM Insuffisance respiratoire aiguë	Non connu	Urines (sur sonde) Urines (redondante)	10 ⁵ GB/mL	<i>K. pneumoniae</i> <i>K. pneumoniae</i> (redondante)	84	Oui (<i>C. freundii</i> + <i>K. pneumoniae</i> d'acquisition)	Oui (<i>K. pneumoniae</i>) Oui (redondante)	Oui (<i>bla</i> _{CTXM} groupe 1 + <i>bla</i> _{TEM} + <i>bla</i> _{SHV} + <i>bla</i> _{OXA-1-IIIa}) NA

Antibiotiques (CA-SFM 2016)	Proportion de souches de portage digestif E-BLSE avec les CMI indiquées (mg/L)													Valeurs critiques S/R (mg/L)						
	≤ 0,19	0,25	0,38	0,5	0,75	1	1,5	2	3	4	6	8	12	16	24	≥32	>256	%S	%R	
Pipéracilline-tazobactam (testé uniquement sur 20 souches <i>E. coli</i>)	1	2	5	4	4	4	0	2	0	1	1						8/16	100	0	
Ceftolozane-tazobactam	24	4	3	8	2	4	1	3	1								1/1	90	10	
Céfépime	1	0	0	0	0	1	1	1	4	5	2	6	2	3	3	10	11	1/4	4	74
Ceftazidime	1	1	1	2	4	6	5	5	4	4	2	5	3	2	3	3		1/4	28	36
Témocilline							2	2	5	10	12	9	7	1	0	2		8/8	80	20

Figure 26. Distribution des valeurs de CMI par méthode E-test pour les souches E-BLSE de portage digestif.