



**HAL**  
open science

# Emergence des entérobactéries *Escherichia coli* productrices des carbapénèmases NDM-5 et OXA-181 à la Réunion

Thibaut Vedani

► **To cite this version:**

Thibaut Vedani. Emergence des entérobactéries *Escherichia coli* productrices des carbapénèmases NDM-5 et OXA-181 à la Réunion. Sciences du Vivant [q-bio]. 2022. dumas-03662050

**HAL Id: dumas-03662050**

**<https://dumas.ccsd.cnrs.fr/dumas-03662050>**

Submitted on 9 May 2022

**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.

**UNIVERSITÉ DE LA RÉUNION**  
**U.F.R SANTÉ**

Année : 2022

N° 2022LARE024M

**THÈSE POUR LE DIPLÔME D'ÉTAT**  
**DE DOCTEUR EN MÉDECINE**

**Émergence des entérobactéries *Escherichia coli***  
**productrices des carbapénèmases NDM-5 et OXA-181**  
**à La Réunion**

Présentée et soutenue publiquement le 20 avril 2022 à 18h à La Réunion

**Par Thibaut VEDANI**

Né le 27 mars 1991 à Reims

**JURY**

**Président :**

**Monsieur le Docteur Laurent DORTET (PU-PH)**

**Assesseurs :**

**Monsieur le Docteur Olivier BELMONTE (PH)**

**Monsieur le Docteur Thomas GARRIGOS (AHU)**

**Directeur de Thèse :**

**Monsieur le Docteur Guillaume MILTGEN (MCU-PH)**

# TABLE DES MATIÈRES

<b>LISTE DES ABRÉVIATIONS</b> .....	3
<b>LISTE DES FIGURES</b> .....	5
<b>LISTE DES TABLEAUX</b> .....	6
<b>INTRODUCTION</b> .....	7
<b>1. ÉTAT DE L'ART</b> .....	9
<b>1.1. Généralités sur <i>Escherichia coli</i> et les résistances aux bêta-lactamines</b> .....	9
1.1.1. <i>Escherichia coli</i> .....	9
1.1.2. Résistances aux bêta-lactamines .....	9
1.1.3. Des pénicillinases aux carbapénèmases .....	10
<b>1.2. Carbapénèmases</b> .....	11
1.2.1. Mécanismes de résistance aux carbapénèmes .....	11
1.2.2. Classification des carbapénèmases.....	11
<b>1.3. Épidémiologie des carbapénèmases</b> .....	14
1.3.1. KPC .....	14
1.3.2. NDM.....	15
1.3.3. OXA-48-like.....	16
1.3.4. Sud-Ouest de l'océan Indien .....	18
<b>1.4. Dépistage et identification des carbapénèmases</b> .....	19
1.4.1. Algorithme de dépistage du CA-SFM 2021.....	19
1.4.2. Méthodes de détection phénotypiques .....	20
1.4.2.1. Test de Hodge modifié.....	20
1.4.2.2. Tests colorimétriques biochimiques .....	21
1.4.2.3. MALDI-TOF.....	22
1.4.2.4. CIM (Carbapenem Inactivation Method).....	22
1.4.2.5. Tests immuno-chromatographiques.....	22
1.4.2.6. Tests d'inhibition et de synergie .....	23
1.4.2.7. Milieux chromogéniques de dépistage.....	24
1.4.3. Méthode de détection moléculaire .....	25
1.4.3.1. PCR.....	25
<b>2. TRAVAIL PERSONNEL</b> .....	26
<b>2.1. Objectifs</b> .....	26

<b>2.2. Matériels et méthodes</b> .....	26
2.2.1. Système de santé de l’océan Indien.....	26
2.2.2. Recueil des données .....	26
2.2.3. <i>E. coli</i> NDM-5 et OXA-181 .....	27
2.2.3.1. PCR de confirmation.....	27
2.2.3.2. Analyse phénotypique.....	28
2.2.3.3. Analyse génotypique.....	30
<b>2.3. Résultats</b> .....	31
2.3.1. Bilan épidémiologique des EPC à La Réunion de 2010 à 2020.....	31
2.3.2. <i>E. coli</i> NDM-5 et OXA-181 à La Réunion .....	35
2.3.3. PCR de confirmation.....	39
2.3.4. Analyse des résistances phénotypiques.....	41
2.3.5. Analyse génotypique .....	47
2.3.5.1. Typage MLST.....	47
2.3.5.2. Analyse phylogénétique.....	48
<b>2.4. Discussion</b> .....	50
<b>CONCLUSION</b> .....	55
<b>RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES</b> .....	57
<b>ANNEXES</b> .....	68

## LISTE DES ABRÉVIATIONS

AmpC : Ampicillin class C beta-lactamase  
ARLIN : Antenne Régionale de Lutte contre les Infections Nosocomiales  
BLSE : Bêta-Lactamase à Spectre Élargi  
BMR : Bactérie Multi-Résistante  
C2G : Céphalosporine de 2<sup>ème</sup> Génération  
C3G : Céphalosporine de 3<sup>ème</sup> Génération  
CA-SFM : Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie  
CHFG : Centre Hospitalier Félix Guyon  
CHM : Centre Hospitalier de Mayotte  
CHOR : Centre Hospitalier Ouest Réunion  
CHU : Centre Hospitalier Universitaire  
CIM : Carbapenem Inactivation Method  
CLSI : Clinical and Laboratory Standards Institute  
CMI : Concentration Minimale Inhibitrice  
CNR : Centre National de Référence  
CPIAS : Centre d'appui pour la Prévention des Infections Associées aux Soins  
CTX-M : Cefotaximase-Munich  
DES : Diplôme d'Etudes Spécialisées  
DROM : Département et Région français d'Outre-Mer  
ECEH : *Escherichia coli* entérohémorragique  
ECEI : *Escherichia coli* entéroinvasive  
ECEP : *Escherichia coli* entéropathogène  
ECET : *Escherichia coli* entérotoxigène  
EDTA : Acide Ethylène-Diamine-Tétra-acétique  
EHPAD : Etablissement d'Hébergement pour Personnes Agées Dépendantes  
EPC : Entérobactérie Productrice de Carbapénèmase  
EUCAST : European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing  
EVASAN : Évacuation sanitaire  
ExPEC : *Escherichia coli* pathogène extra-intestinale  
GES : Guyana Extended-Spectrum  
GHER : Groupe Hospitalier Est Réunion  
GHSR : Groupe Hospitalier Sud Réunion  
HCSP : Haut Conseil de Santé Publique

IAS : Infection Associée aux Soins  
IMI : Imipénèmase  
IMP : Imipenem resistant Pseudomonas  
KPC : *Klebsiella pneumoniae* Carbapénèmase  
MALDI-TOF : Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight  
MBL : Métallo-Bêta-Lactamase  
MDRO : Multidrug-Resistant Organism  
MLST : MultiLocus Sequencing Typing  
NCBI : National Center for Biotechnology Information  
NDM : New-Delhi Métallo-bêta-lactamase  
NMC : Non-Métallo Carbapénèmase  
OXA : Oxacillinase  
Pb : Paire de base  
PCR : Polymerase Chain Reaction  
PLP : Protéine de Liaison aux Pénicillines  
SHV : SulHydryl Variable  
SNP : Single Nucleotide Polymorphism  
SME : *Serratia marcescens* Enzyme  
ST : *Sequence Type*  
T- : Témoin négatif  
TEM : TEMoneira  
UFC : Unité Formant Colonie  
VIM : Verona Integron encoded Metallo-beta-lactamase  
WGS : Whole Genome Sequencing

## LISTE DES FIGURES

Figure 1 : Répartition géographique des enzymes KPC dans le monde .....	14
Figure 2 : Principaux réservoirs des enzymes NDM dans le monde .....	15
Figure 3 : Répartition géographique des enzymes OXA-48 dans le monde .....	16
Figure 4 : Répartition géographique des enzymes OXA-181 dans le monde .....	17
Figure 5 : Algorithme phénotypique de dépistage d'EPC du CA-SFM (2021).....	20
Figure 6 : Test de Hodge modifié.....	21
Figure 7 : Exemple de lecture d'un chromatogramme à l'aide du logiciel Bioedit® .....	28
Figure 8 : Incidence des EPC à La Réunion de janvier 2010 à décembre 2020 .....	31
Figure 9 : Distribution des établissements de santé en fonction du lieu de prélèvement.....	31
Figure 10 : Répartition des patients porteurs d'EPC en fonction de l'origine géographique ..	32
Figure 11 : Répartition des EPC en fonction de l'espèce bactérienne .....	32
Figure 12 : Incidence de <i>E. coli</i> et <i>K. pneumoniae</i> à La Réunion de 2010 à 2020 .....	33
Figure 13 : Répartition des EPC en fonction du mécanisme de résistance .....	33
Figure 14 : Répartition des EPC par espèces selon le mécanisme de résistance .....	34
Figure 15 : Répartition des EPC de type NDM-5 et OXA-181 en fonction de l'espèce .....	35
Figure 16 : Évolution de la répartition des sous-types NDM chez <i>E. coli</i> .....	35
Figure 17 : Origine géographique des patients porteurs de <i>E. coli</i> produisant NDM-5.....	36
Figure 18 : Évolution des cas de <i>E. coli</i> NDM-5 d'origine externe détectés à La Réunion entre 2015 et 2020 en fonction de l'origine géographique des patients.....	36
Figure 19 : Évolution de la répartition des sous-types OXA-48-like chez <i>E. coli</i> .....	37
Figure 20 : Origine géographique des patients porteurs de <i>E. coli</i> produisant OXA-181 .....	37
Figure 21 : Évolution des cas de <i>E. coli</i> OXA-181 d'origine externe détectés à La Réunion entre 2015 et 2020 en fonction de l'origine géographique des patients.....	38
Figure 22 : Résultat de la PCR de séquençage NDM et OXA-48-like .....	39
Figure 23 : Évaluation de la sensibilité aux carbapénèmes.....	42
Figure 24 : Évaluation de la sensibilité aux bêta-lactamines .....	43
Figure 25 : Évaluation de la sensibilité aux différentes classes d'antibiotiques .....	44
Figure 26 : Évaluation de la sensibilité à l'aztréonam-inhibiteur chez <i>E. coli</i> NDM-5.....	46
Figure 27 : Répartition des <i>E. coli</i> NDM-5 et OXA-181 en fonction du <i>sequence type</i> .....	47
Figure 28 : Arbre phylogénétique des 25 <i>E. coli</i> OXA-181 de La Réunion et Mayotte.....	48
Figure 29 : Arbre phylogénétique des 67 <i>E. coli</i> OXA-181 de La Réunion et Mayotte.....	49

## LISTE DES TABLEAUX

Tableau 1 : Profils de résistance en fonction des carbapénèmases +/- BLSE associées.....	13
Tableau 2 : Biothèque de <i>E. coli</i> utilisée pour la PCR de séquençage (confirmation) .....	28
Tableau 3 : Antibiotiques et concentrations critiques du CA-SFM/EUCAST (2021).....	29
Tableau 4 : Résultat de la PCR de séquençage des <i>E. coli</i> NDM et OXA-48-like .....	39
Tableau 5 : Biothèque <i>E. coli</i> NDM-5 et OXA-181 utilisée pour l'analyse phénotypique .....	40
Tableau 6 : Répartition <i>E. coli</i> NDM-5 et OXA-181 en fonction de leur sensibilité.....	41
Tableau 7 : CMI et catégorisation clinique des <i>E. coli</i> NDM-5 à l'aztréonam + inhibiteur ....	45

## INTRODUCTION

Les entérobactéries constituent une large famille de bactéries qui colonisent généralement le tube digestif de l'Homme et des animaux, sans pour autant provoquer nécessairement une infection. Toutefois, dans certains cas, elles peuvent acquérir certains facteurs de virulence et conduire à des infections communautaires ou associées aux soins (IAS), pour lesquelles l'usage d'antibiotiques est de mise.

Les bêta-lactamines sont les antibiotiques de choix pour ce type d'infections, ciblant largement ces entérobactéries. Cependant, l'utilisation importante et inappropriée de ces antimicrobiens a entraîné l'apparition de nombreuses résistances à ces molécules, touchant parfois concomitamment plusieurs autres classes thérapeutiques. En effet, les entérobactéries disposent de caractéristiques génétiques, biochimiques et structurelles variables leur permettant de développer des mécanismes de résistances intrinsèques (mutations) ou acquises *via* des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons) ou transférables (intégrons).

Depuis les premières bêta-lactamases (TEM-1/2, SHV-1) décrites dans les années 1960 chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, nous avons pu assister à la diffusion chez les entérobactéries de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE). Ces dernières sont capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines de troisième génération ainsi que l'aztréonam. De plus, à l'image de CTX-M-15 qui s'est aujourd'hui diffusée mondialement, les gènes codant pour ces enzymes sont situés sur des plasmides portant d'autres gènes de résistance, aboutissant à cette multirésistance à plusieurs classes d'antibiotiques. Les entérobactéries BLSE ont été catégorisées par le Haut Conseil de Santé Publique (HCSP) comme des bactéries multirésistantes (BMR) ou en tant que multidrug-resistant organism (MDRO) au niveau international (non sensibilité à au moins un agent antimicrobien au sein de trois classes d'antibiotiques ou plus) (1, 2). Pour faire face à ces bactéries multirésistantes, de nouvelles molécules ont vu le jour à partir des années 1980 comme les carbapénèmes (3).

Les carbapénèmes font partie des bêta-lactamines les plus récentes ayant un spectre large et une grande stabilité vis-à-vis de la quasi-totalité des bêta-lactamases. Ces molécules sont réservées pour traiter les infections nosocomiales sévères causées par les bactéries multirésistantes (4). Cependant, leur consommation de plus en plus importante a provoqué l'émergence mondiale d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) devenant au cours de ces deux dernières décennies un problème majeur de santé publique, dans la mesure où la résistance aux carbapénèmes peut être à l'origine d'impasse thérapeutique, mais aussi en raison de leur fort potentiel épidémique (5).

Les îles de La Réunion et de Mayotte sont des Départements et Régions français d'Outre-Mer (DROM) situés dans le Sud-Ouest de l'océan Indien. Ces DROM présentent des épidémiologies spécifiques en termes de résistance bactérienne de par leur situation géographique et leur lien avec les pays voisins (Maurice, Seychelles, Inde à l'Est ; Madagascar, Comores, Afrique australe à l'Ouest). De plus, le Centre Hospitalier Universitaire (CHU) de La Réunion est le seul pôle médical de référence de cette zone permettant une prise en charge optimale des patients notamment pour les soins spécialisés en oncologie, réanimation ou chirurgie cardiaque. La forte augmentation des évacuations sanitaires ainsi que la proximité géoculturelle favorisant les échanges entre les populations ont joué un rôle majeur dans la diffusion de ces souches hautement résistantes (6).

À La Réunion et Mayotte, il existe chaque année une augmentation de l'incidence des EPC avec une prédominance depuis 2018 de l'espèce *E. coli* et des bêta-lactamases de type NDM-5 et OXA-181 chez cette espèce. Ces souches de *E. coli* résistantes aux carbapénèmes doivent être considérées comme une véritable menace car cette espèce est à l'interface entre le milieu hospitalier et communautaire et peut donc préférentiellement participer à la dissémination de ces EPC vers le secteur de ville et les EHPAD. Il est donc impératif de mieux comprendre les modes de colonisation de ces patients afin d'optimiser les dépistages et la prise en charge de ces derniers et ainsi limiter au mieux ces risques de dissémination. De plus, la caractérisation phéno-génotypique des entérobactéries résistantes aux carbapénèmes est primordiale pour (i) aider au suivi épidémiologique, (ii) assurer une prise en charge thérapeutique optimale en cas d'infections et (iii) prédire l'origine des souches (7-10).

Le premier objectif de ce travail était d'établir un bilan épidémiologique des EPC, et plus particulièrement de l'espèce *E. coli* à La Réunion sur une large période de 11 années allant de janvier 2010 à décembre 2020.

Le second objectif visait à analyser les résistances phénotypiques ainsi que les relations phylogénétiques des *E. coli* NDM-5 et OXA-181 à La Réunion et Mayotte, en évaluant la sensibilité aux antibiotiques ainsi que leur proximité génétique par une analyse de typage basée sur le WGS. Le but étant d'identifier s'il existe des clones épidémiques se diffusant dans la zone du Sud-Ouest de l'océan Indien.

# 1. ÉTAT DE L'ART

## 1.1. Généralités sur *Escherichia coli* et les résistances aux bêta-lactamines

### 1.1.1. *Escherichia coli*

*Escherichia coli*, également appelée plus communément colibacille est une espèce bactérienne du genre *Escherichia* appartenant à la famille des *Enterobacterales*. *E. coli* est une bactérie à Gram négatif, le plus souvent mobile, disposant d'un métabolisme aéro-anaérobie facultatif et se cultivant facilement sur des milieux non exigeants. C'est une bactérie commensale du tube digestif qui représente la 1<sup>ère</sup> espèce bactérienne de la flore intestinale aérobie de l'Homme et des animaux ( $10^9$  UFC/g selles).

Cependant, il existe des isolats pathogènes plus virulents que l'on peut classer en fonction du mode de transmission et du type de pathologie occasionnée. On distingue les *E. coli* responsables d'infections digestives (ECEP, ECET, ECEH, ECEI, etc.) de celles à l'origine d'infections extra-digestives. Ces dernières sont des infections causées par des souches *E. coli* pathogènes extra-intestinales (ExPEC) susceptibles de provoquer diverses infections (cystite, pyélonéphrite, péritonite, pneumopathie, bactériémie, méningite néonatale, etc.) tant dans le milieu communautaire que dans le milieu hospitalier (11).

### 1.1.2. Résistances aux bêta-lactamines

Les bêta-lactamines sont une grande famille d'antibiotiques largement utilisées. Cette classe d'antibiotiques agit en se fixant aux protéines de liaison des pénicillines (PLP) insérées dans la membrane cytoplasmique bactérienne bloquant ainsi la synthèse du peptidoglycane, un composant essentiel de leur paroi. L'utilisation massive de ces antimicrobiens a exercé une pression de sélection sur les bactéries de la flore intestinale, générant ainsi des résistances.

En effet, les entérobactéries disposent de caractéristiques intrinsèques (génétiques, biochimiques et structurelles) variables, leur permettant de s'adapter à leurs environnements et développer facilement et rapidement des mécanismes de résistances (12). Chez les bactéries, les résistances vis-à-vis des bêta-lactamines reposent sur quatre principaux mécanismes : diminution de la perméabilité membranaire, système d'efflux, modification de la cible et production d'enzymes inactivatrices, appelées « bêta-lactamases ».

Ces résistances peuvent être naturelles ou acquises :

- La résistance « naturelle » est caractéristique d'une espèce bactérienne. Elle est donc présente dans toutes les souches d'une même espèce. Les gènes codants pour ce type de résistance sont situés au niveau du chromosome et transmis systématiquement d'une souche à une autre lors de la réplication (transmission verticale).
- La résistance « acquise » résulte, quant à elle, de l'acquisition chez une bactérie « fille » d'une nouvelle résistance non présente chez la bactérie « mère ». Elle peut être liée soit à des mutations chromosomiques et dans ce cas, la résistance sera transmise au sein de souches bactériennes d'une même espèce (transmission verticale). Soit, et ce dans la majorité des cas, par l'acquisition de gènes de résistances situés sur des éléments génétiques mobiles (plasmides, transposons) transmissibles horizontalement entre bactéries d'une même espèce, mais aussi entre bactéries d'espèces différentes. La transmission sera dans ce cas à la fois horizontale et verticale (13).

### 1.1.3. Des pénicillinases aux carbapénèmases

À l'état sauvage, *E. coli* produit une céphalosporinase constitutive de très bas niveau (gène *bla<sub>AmpC</sub>*) et est naturellement sensible aux principales bêta-lactamines (pénicillines A, carboxy-pénicillines, uréido-pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes et monobactames).

C'est en 1963 que fut décrite la première pénicillinase chez *E. coli*, appelée TEM-1, entraînant une résistance à l'amoxicilline. Devant l'émergence de ces enzymes (TEM-1/2, SHV-1), de nouvelles molécules ont été développées à partir des années 1970 avec notamment les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (C3G). Cependant, la surutilisation de ces dernières a provoqué l'apparition d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE) dont la majorité étaient des dérivés d'enzymes TEM et SHV jusqu'au début des années 2000. Ces enzymes, considérées comme les « anciennes » BLSE provenaient de mutations ponctuelles qui ont entraîné une extension de leur spectre d'hydrolyse et notamment aux C3G.

Par la suite, de nouvelles BLSE à médiation plasmidique ont vu le jour, telles que les CTX-M qui se sont diffusées rapidement à travers le monde. De plus, ces BLSE CTX-M ont été retrouvées principalement chez *E. coli* aussi bien dans le milieu hospitalier que dans le milieu communautaire où elles sont responsables en particulier d'infections urinaires (14).

## 1.2. Carbapénèmes

### 1.2.1. Mécanismes de résistance aux carbapénèmes

Les carbapénèmes font partie des bêta-lactamines les plus récemment développées. Ils possèdent un très large spectre antibactérien ainsi qu'une grande stabilité vis-à-vis de la plupart des bêta-lactamases. Ces molécules, parmi lesquelles on retrouve l'imipénème, le méropénème, le doripénème et l'ertapénème ont été développées à partir des années 1980. Cette classe d'antibiotiques est utilisée exclusivement dans le milieu hospitalier pour traiter notamment les infections nosocomiales sévères causées par des bactéries multirésistantes. Chez les entérobactéries, il existe deux principaux mécanismes de résistance :

- Le premier mécanisme est lié à une surexpression de bêta-lactamases de type céphalosporinase ou BLSE associée à une diminution de la perméabilité membranaire (par déficit quantitatif ou qualitatif des porines). Ce mécanisme est retrouvé principalement chez les entérobactéries possédant une céphalosporinase naturelle telle que *Enterobacter* spp., *Serratia* spp., *Morganella morganii*, mais aussi chez les entérobactéries ayant acquis une céphalosporinase plasmidique ou une BLSE (*E. coli*, *K. pneumoniae*...) (15, 16).
- Le second mécanisme repose sur l'acquisition de bêta-lactamases appelées « carbapénèmases ». Ces enzymes ont une forte activité hydrolytique et sont capables d'inactiver les carbapénèmes ainsi que la majorité des bêta-lactamines. Chez les entérobactéries, les gènes codant pour les carbapénèmases sont généralement associés à d'autres gènes de résistances responsable de multirésistance vis-à-vis d'autres classes d'antibiotiques (fluoroquinolones, aminoglycosides, sulfaméthoxazole-triméthoprime). Ces gènes sont situés le plus souvent sur des plasmides et sont facilement transférables d'une souche à une autre (transmission horizontale) (17).

### 1.2.2. Classification des carbapénèmases

Les bêta-lactamases peuvent être regroupées en fonction de leur propriété moléculaire ou fonctionnelle. La classification moléculaire de Ambler divise les enzymes en quatre grandes classes selon l'homologie des séquences d'acides aminés du site enzymatique (18).

Les classes A, C et D regroupent des bêta-lactamases dont le site actif contient une sérine tandis que les métallo-bêta-lactamases de classe B nécessitent du zinc pour pouvoir fonctionner. À noter que les carbapénèmases appartiennent aux classes A, B ou D. En effet, les enzymes de classe C sont représentées notamment par les céphalosporinases de type AmpC.

#### Carbapénèmases de classe A

De manière générale, les carbapénèmases de classe A hydrolysent les carbapénèmes ainsi que les autres bêta-lactamines (pénicillines, céphalosporines, aztréonam) à l'exception de l'acide clavulanique et le tazobactam pour lesquelles l'activité carbapénémase est inhibée partiellement ou totalement *in vitro*. Parmi cette classe, on distingue plusieurs familles : SME (*Serratia marcescens* Enzyme), NMC (Non-Métallo Carbapénèmase), IMI (Imipénèmase), KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapénèmase) et GES (Guyana Extended-Spectrum).

#### Carbapénèmases de classe B

Les Métallo-Bêta-Lactamases (MBLs) ou enzymes de classe B sont caractérisées par leur spectre d'action très large. En effet, elles peuvent hydrolyser toutes les bêta-lactamines excepté l'aztréonam. Contrairement à la classe A, ces enzymes ne sont pas inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam (19). Les premières carbapénèmases de classe B étaient des enzymes acquises généralement de manière chromosomique, retrouvées chez des bactéries pathogènes opportunistes telles que *Bacillus cereus*, *Aeromonas* spp. et *Stenotrophomonas maltophilia*. Les années 1990 sont marquées par l'émergence et la diffusion d'enzymes à support plasmidique isolées le plus souvent chez les entérobactéries. Ces nouvelles MBLs sont représentées notamment par les enzymes IMP (Imipenem resistant Pseudomonas), VIM (Verona Integron encoded Metallo-beta-lactamase) et NDM (New-Delhi Métallo-bêta-lactamase).

Les carbapénèmases de type NDM font parties des MBLs les plus importantes sur le plan clinique avec notamment NDM-1 qui est retrouvé à ce jour largement à travers le monde. Concernant le variant NDM-5, il présente deux substitutions d'acides aminés par rapport à NDM-1 aux positions 88 (Val→Leu) et 154 (Met→Leu) qui semblent être responsables d'une activité hydrolytique augmentée vis-à-vis des carbapénèmes et des C3G (20, 21).

## Carbapénèmases de classe D

Les bêta-lactamases de classe D ou OXA (Oxacillinase) sont des enzymes incluant de nombreux sous-types dont seulement certains possèdent un mécanisme hydrolytique vis-à-vis des carbapénèmes. La plupart des oxacillinases ayant acquis la capacité à hydrolyser les carbapénèmes n'ont pas d'activité sur les C3G et sont inhibées par l'acide clavulanique.

De plus, la majorité des carbapénèmases OXA ont été découvertes chez *Acinetobacter baumannii* à l'exception des OXA-48 et leurs variants (OXA-48-like), isolées essentiellement chez les entérobactéries. Les enzymes OXA-48 ont une forte activité hydrolytique envers les pénicillines, une activité carbapénémase affaiblie et une très faible activité envers les C3G, en particulier pour la ceftazidime. Le variant OXA-181 diffère de ce dernier par quatre substitutions d'acides aminés aux positions 104 (Thr→Ala), 110 (Asn→Asp), 168 (Glu→Gln) et 171 (Ser→Ala) et possède un profil hydrolytique très similaire à OXA-48 (22, 23).

Les entérobactéries exprimant les carbapénèmases des différentes classes moléculaires présentent rarement un profil de résistance phénotypique attribuable à la seule expression de la carbapénémase. En effet, il existe le plus souvent une production d'autres bêta-lactamases associées telles que les BLSE entraînant un profil de résistance plus large vis-à-vis des différentes classes d'antibiotiques (24).

**Tableau 1 : Profils de résistance phénotypiques chez les entérobactéries en fonction de l'expression des principales carbapénèmases +/- BLSE associées (24)**

	AMX	AMC	TZP	CTX	CAZ	IMP	ETP	MER	ATM
KPC	R	S/I	R	R	R	S/I/R	I/R	S/I/R	R
KPC + BLSE	R	I/R	R	R	R	I/R	I/R	I/R	R
IMP/VIM/NDM	R	R	I/R	R	I/R	S/I/R	I/R	S/I/R	S
IMP/VIM/NDM + BLSE	R	R	I/R	R	R	I/R	R	S/I/R	R
OXA-48/ OXA-181	R	R	S/I/R	S/I	S	S/I	S/I	S/I	S
OXA-48/OXA-181 + BLSE	R	R	I/R	R	R	I/R	I/R	I/R	R

*R* : résistant ; *I* : intermédiaire ; *S* : sensible

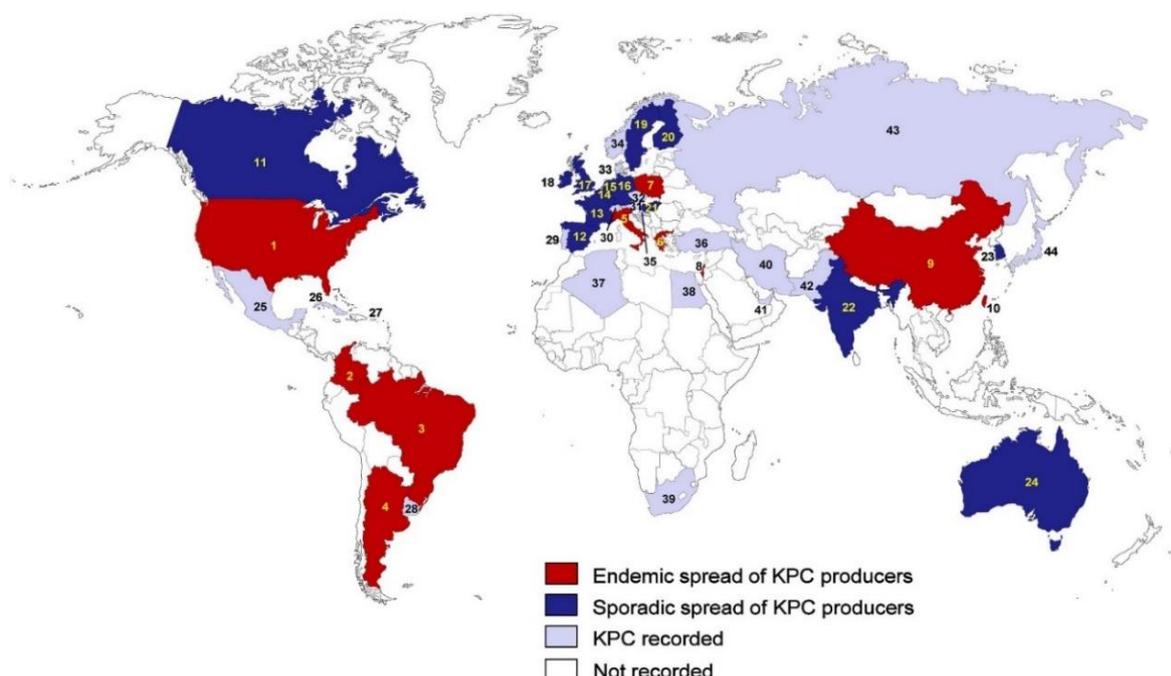
AMX : amoxicilline ; AMC : amoxicilline-acide clavulanique ; TZP : pipéracilline-tazobactam ; CTX : cefotaxime ; CAZ : ceftazidime ; IMP : imipénème ; ETP : ertapénème ; MER : méropénème ; ATM : aztréonam

### 1.3. Épidémiologie des carbapénèmases

Au niveau mondial, les carbapénèmases les plus représentées sont les enzymes KPC, NDM et OXA-48-like.

#### 1.3.1. KPC

Les souches exprimant KPC sont les plus fréquentes et les plus menaçantes au sein de la classe A de la classification de Ambler. En effet, les gènes codant pour les enzymes KPC sont localisés sur des plasmides transférables et sont retrouvés le plus souvent chez *K. pneumoniae*, espèce connue pour sa capacité à acquérir et transmettre de nombreux gènes de résistance. C'est en 1996, aux États-Unis, qu'a été décrite la première carbapénèmase de type KPC dans une souche de *K. pneumoniae*. Par la suite, les enzymes KPC ont été signalées à travers l'Amérique du Nord puis en Amérique du Sud, en Europe et en Chine. Certaines régions comme la Colombie, le Brésil, l'Argentine, l'Italie, la Grèce ou la Pologne sont devenues des foyers endémiques (25).



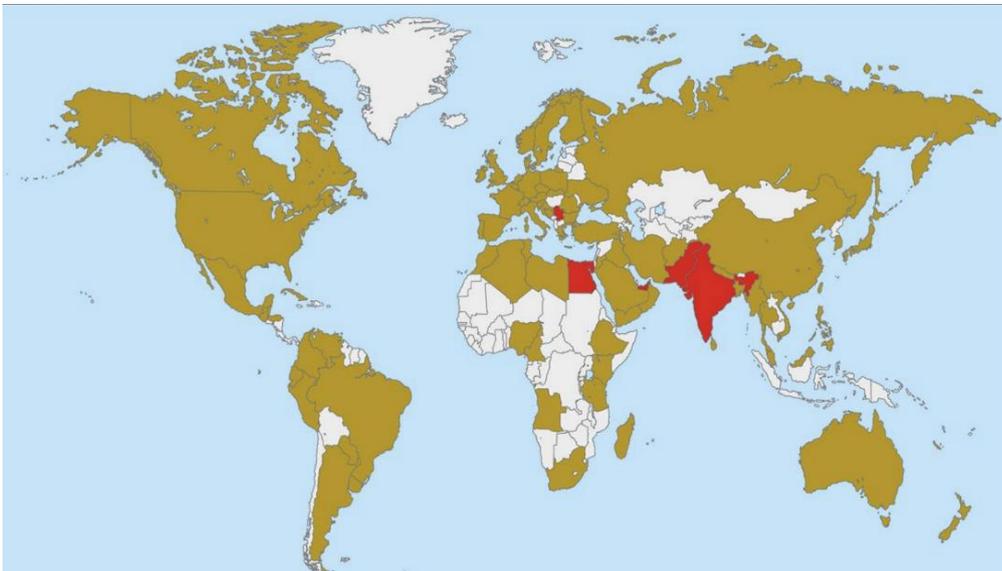
(1) États-Unis ; (2) Colombie ; (3) Brésil ; (4) Argentine ; (5) Italie ; (6) Grèce ; (7) Pologne ; (8) Israël ; (9) Chine ; (10) Taïwan ; (11) Canada ; (12) Espagne ; (13) France ; (14) Belgique ; (15) Pays-Bas ; (16) Allemagne ; (17) Royaume-Uni ; (18) Irlande ; (19) Suède ; (20) Finlande ; (21) Hongrie ; (22) Inde ; (23) Corée du Sud ; (24) Australie ; (25) Mexique ; (26) Cuba ; (27) Porto Rico ; (28) Uruguay ; (29) Portugal ; (30) Suisse ; (31) Autriche ; (32) République tchèque ; (33) Danemark ; (34) Norvège ; (35) Croatie ; (36) Turquie ; (37) Algérie ; (38) Égypte ; (39) Afrique du Sud ; (40) Iran ; (41) Emirats Arabes Unis ; (42) Pakistan ; (43) Russie ; (44) Japon.

**Figure 1 : Répartition géographique des enzymes KPC dans le monde (25)**

### 1.3.2. NDM

La première carbapénèmase de type NDM a été détectée en Suède en 2008 chez un patient indien ayant été hospitalisé à New Delhi. Cette nouvelle métallo-bêta-lactamase désignée NDM-1 provenait d'un isolat urinaire de *K. pneumoniae* (26). Dès lors, des épidémies ont été rapportées au Royaume-Uni, en Inde et au Pakistan (27). Un lien a rapidement été établi entre les entérobactéries produisant NDM-1 et le sous-continent Indien (28).

En 2020, 28 variants (NDM-1 à NDM-28) ont été mis en évidence (29). NDM-1 est le variant le plus répandu dans le monde suivi de NDM-5 avec une prévalence qui varie selon les régions (30). Par ailleurs, plusieurs rapports considèrent le sous-continent Indien, le Moyen-Orient et les Balkans comme les principaux réservoirs producteurs de NDM (28, 30-33).



**Figure 2 : Principaux réservoirs des enzymes NDM dans le monde (28)**

Le variant NDM-5 a été identifié pour la première fois au Royaume-Uni en 2011 à partir d'une souche *E. coli* provenant d'un prélèvement de dépistage. Le patient porteur de l'EPC venait d'un hôpital de Goa, dans le Sud-ouest de l'Inde, où il avait été hospitalisé pour une encéphalite herpétique avant d'être transféré au Royaume-Uni (21).

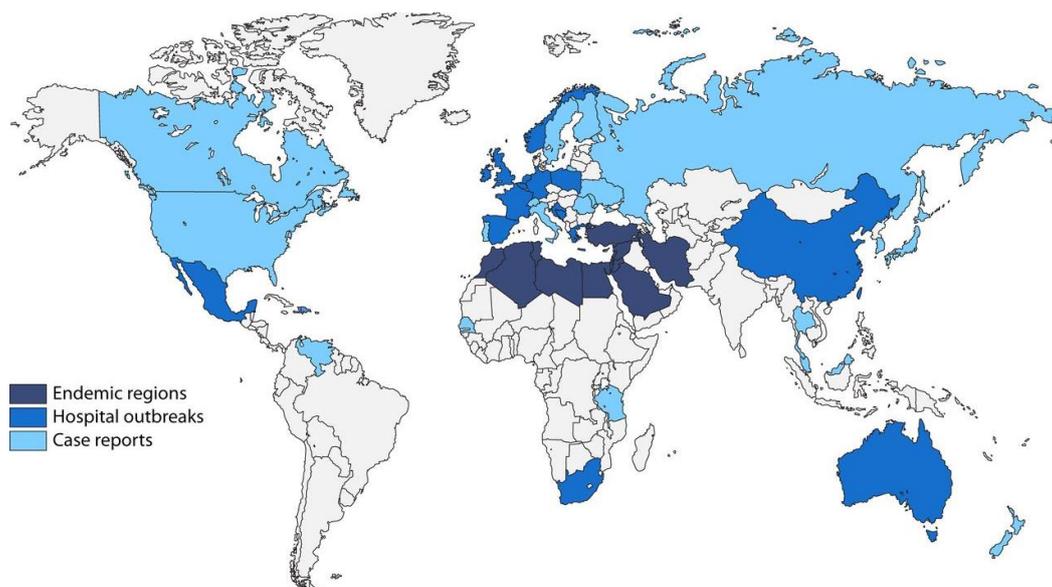
Les isolats produisant NDM-5 ont d'abord été retrouvés sur le continent asiatique, en particulier en Chine (34-36) mais également en Inde (37-39) et au Népal (40). En Europe, les premiers cas autochtones ont été rapportés à partir de 2014 en Espagne (41), en Pologne (42), au Danemark (43) et aux Pays-Bas (44). L'émergence de NDM-5 dans les autres régions du monde a été signalée notamment aux États-Unis, en Egypte, en Algérie, en Afrique du Sud et en Australie (31).

Contrairement à NDM-1 répandu parmi plusieurs espèces d'entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif (*Acinetobacter* spp. et *Pseudomonas*), NDM-5 a été principalement isolé chez *E. coli* et *K. pneumoniae* (30) et plus rarement chez *Proteus mirabilis* (36, 45), *Salmonella enterica* subsp. *enterica* (sérotipe Typhimurium) (46, 47), *Citrobacter freundii* (48), *Klebsiella michiganensis* (49), *Enterobacter hormaechei* (50), *M. morgani* (51), *Klebsiella aerogenes* (52, 53). À noter, qu'une importante épidémie nosocomiale à *K. aerogenes* NDM-5 a été rapportée en 2021 au sein d'un service néonatal en Chine (53).

Parmi les lignées clonales, les Séquences Types (STs) les plus fréquemment retrouvées chez l'espèce *E. coli* produisant NDM sont ST-101, ST-167, ST-131, ST-405, ST-410 et ST-648 (31). Par ailleurs, *E. coli* ST-167 est reconnu pour être un clone à haut risque associé préférentiellement au type de carbapénèmase NDM-5 et signalé à ce jour dans toutes les régions du monde (54, 55).

### 1.3.3. OXA-48-like

La première carbapénèmase OXA-48 a été détectée en 2001 en Turquie à partir d'une souche de *K. pneumoniae* provenant d'un prélèvement urinaire (56). Les entérobactéries produisant OXA-48 ont rapidement été retrouvées à travers le monde et sont devenues endémiques dans certaines régions notamment en Afrique du Nord et en Asie occidentale. De plus, de nombreuses épidémies nosocomiales ont été signalées principalement en Europe, en Chine, en Afrique du Sud, au Mexique et en Australie (22).



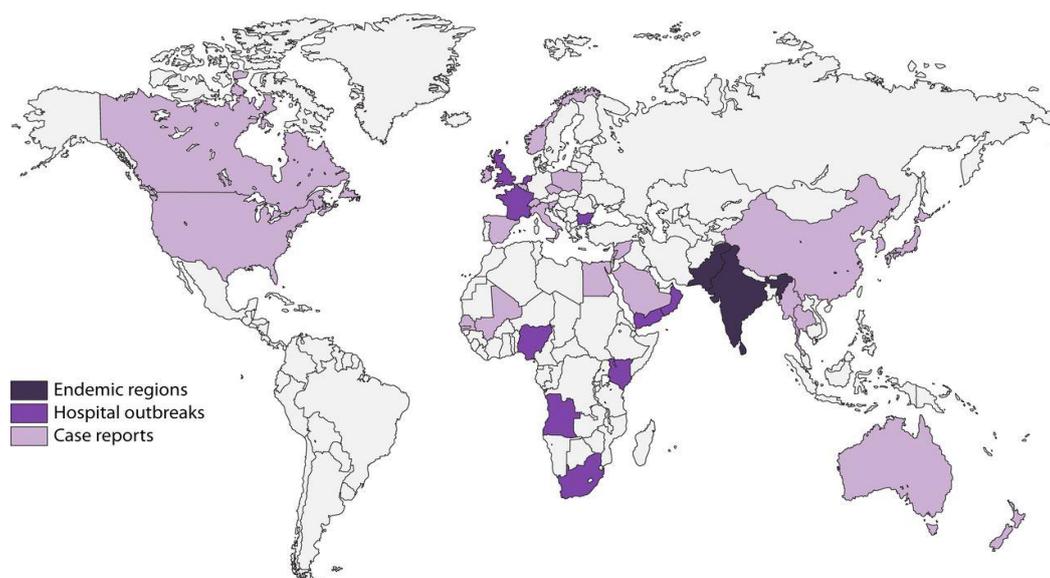
**Figure 3 : Répartition géographique des enzymes OXA-48 dans le monde (22)**

En 2018, 11 variants de type OXA-48 ont été identifiés (57). OXA-48 est l'enzyme la plus répandue au sein de ce groupe suivie des variants OXA-181, OXA-232, OXA-204, OXA-162 et OXA-244 (58).

OXA-181 a été décrit pour la première fois en Inde dans le cadre d'un programme de surveillance mis en place dans plusieurs hôpitaux du pays entre 2006 et 2007. Dans ce rapport, 9 isolats de *K. pneumoniae* et 1 isolat de *Enterobacter cloacae* portaient le gène *bla*<sub>OXA-181</sub> (59). En 2011, quatre autres pays (France, Pays-Bas, Oman, Nouvelle-Zélande) ont signalé la présence d'enzymes de type OXA-181 dans des isolats cliniques chez des patients revenant tous du sous-continent Indien. Trois de ces patients avaient été hospitalisés en Inde et un patient en Thaïlande (23, 60-62).

Contrairement aux carbapénèmases OXA du groupe phylogénétique I (OXA-23, OXA-24/40, OXA-58, OXA-51) répandues parmi *Acinetobacter* spp., OXA-48 et ses variants (groupe II) sont retrouvés quasi exclusivement chez les entérobactéries, principalement *K. pneumoniae* et *E. coli* (63) et plus rarement chez *E. cloacae* (59), *C. freundii* (60), *M. morgani* (64), *P. mirabilis* (45). À noter que le gène *bla*<sub>OXA-181</sub> a été signalé pour la première fois en 2016 dans un isolat de *Pseudomonas aeruginosa* chez un patient britannique ayant été hospitalisé plusieurs mois en Inde avant d'être transféré au Royaume-Uni (65).

Le sous-continent Indien est considéré aujourd'hui comme le principal réservoir producteur de l'enzyme OXA-181 (66, 67). La répartition géographique d'OXA-181 selon la prévalence est représentée dans la **Figure 4**.



**Figure 4 : Répartition géographique des enzymes OXA-181 dans le monde (22)**

On constate une large diffusion en Europe, au Moyen-Orient et en Afrique où certains pays comme l'Angola, l'Afrique du Sud et les Émirats arabes unis ont signalé d'importantes épidémies nosocomiales (22). Les enzymes OXA-181 restent à ce jour très peu observées en Chine et en Amérique du Sud (68, 69) même si une sous-estimation de la prévalence est possible. En effet, la détection des enzymes de type OXA-48 peut être rendue difficile par les méthodes conventionnelles en raison de leur activité hydrolytique faible vis-à-vis des carbapénèmes (64, 70).

#### 1.3.4. Sud-Ouest de l'océan Indien

Le Sud-Ouest de l'océan Indien est une région géographique regroupant des États insulaires tels que Madagascar, les Comores, les Seychelles, Maurice mais aussi des départements français d'Outre-Mer (îles de La Réunion et de Mayotte). Il existe actuellement peu de données sur l'épidémiologie des entérobactéries productrices de carbapénèmases dans cette zone à l'exception de La Réunion (8, 71).

La première EPC retrouvée dans cette région a été chez un patient hospitalisé à Maurice en 2009. L'isolat urinaire a été identifié comme une *K. pneumoniae* hébergeant le gène *bla<sub>NDM-1</sub>* (72). À Madagascar, le premier signalement d'EPC date de 2015 (73). L'isolat provenait d'un prélèvement de dépistage rectal chez une femme enceinte et a été identifié également comme une *K. pneumoniae* produisant NDM-1. Plus récemment, une épidémie de *E. cloacae* produisant une carbapénèmase de type IMI-1 a été décrite en 2018 à Mayotte. Les analyses ont révélé que la quasi-totalité des *E. cloacae* (16/18 souches) appartenait à la même lignée clonale ST-820, avec une origine épidémique probablement communautaire (74).

À La Réunion, les premières EPC ont été signalées à partir de 2011 avec une augmentation significative en 2015 (3 souches en 2014 vs. 21 souches en 2015). Parmi les EPC, *K. pneumoniae* était l'espèce bactérienne la plus souvent rencontrée suivi de *E. coli* et ce jusque 2018. Contrairement à la métropole, NDM était le type de carbapénèmase le plus fréquemment retrouvé devant OXA-48-like et IMI. De plus, environ deux tiers des patients porteurs d'EPC à La Réunion avaient un lien avec Mayotte ou un pays étranger (notamment les Comores, Maurice, Madagascar et l'Inde) pouvant s'expliquer par l'augmentation des évacuations sanitaires (125 en 2011 contre 300 en 2016) ainsi que par le développement touristique favorisant les mouvements de population entre les îles de la zone Sud-Ouest de l'océan Indien (6-8, 75, 76).

Parmi les carbapénèmes du groupe NDM à La Réunion, NDM-1 a été pendant trois années consécutives (de 2011 à 2014) le seul sous-type détecté. Les études épidémiologiques montrent une diversification des mécanismes de résistance en 2015 avec l'émergence notamment du variant NDM-5 retrouvé principalement chez *E. coli*. Parmi les carbapénèmes oxacillinasés, il existe le même constat avec une diversification et une émergence en particulier du variant OXA-181. Les premiers cas d'EPC hébergeant *bla*<sub>NDM-5</sub> et *bla*<sub>OXA-181</sub> ont été identifiés chez des patients originaires pour la plupart de Maurice/Inde ou de Madagascar avant d'être supplantés en 2017-2018 par des patients principalement originaires de Mayotte et des Comores (9).

## 1.4. Dépistage et identification des carbapénèmes

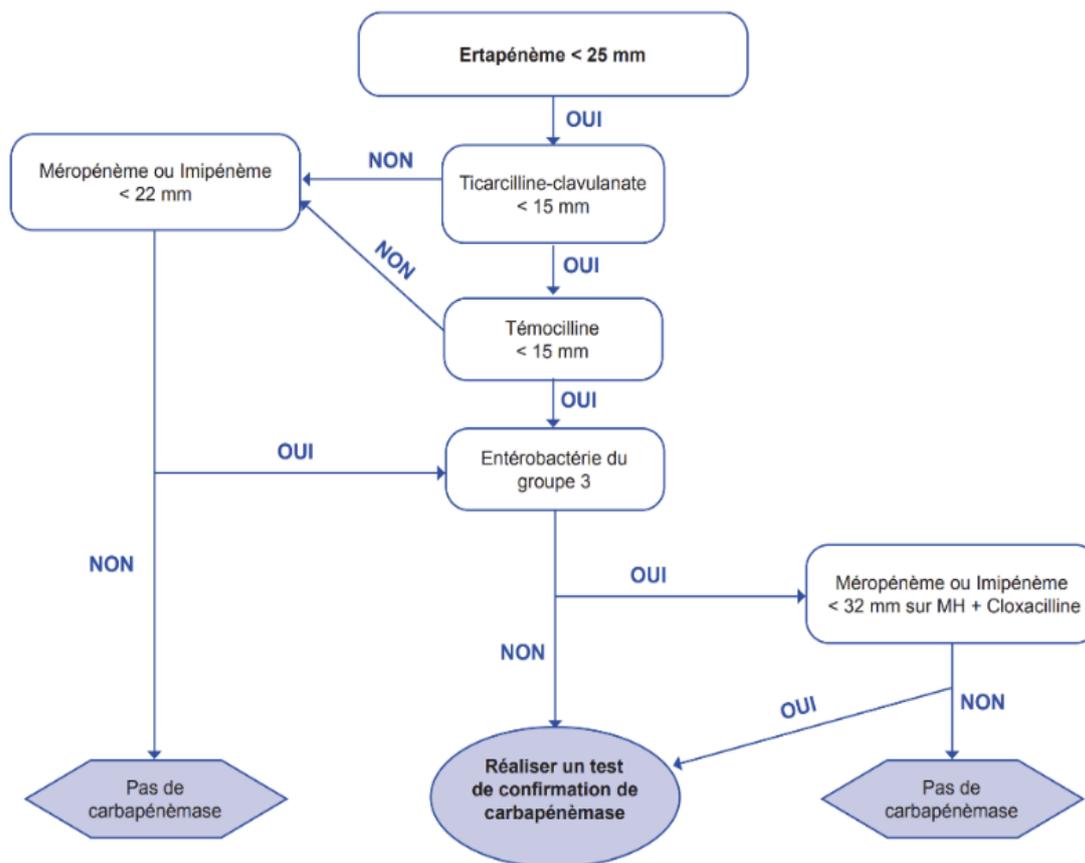
### 1.4.1. Algorithme de dépistage du CA-SFM 2021

Toute entérobactérie catégorisée « intermédiaire » (sensible à forte posologie) ou résistante à au moins un des carbapénèmes (ertapénème, imipénème, méropénème) doit être considérée comme une potentielle EPC.

Pour éviter la réalisation de tests complémentaires engendrant des coûts supplémentaires aux laboratoires de biologie médicale (77), le Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) en collaboration avec le CNR de la Résistance aux antibiotiques a proposé un algorithme de criblage permettant de repérer les entérobactéries suspectes de produire une carbapénémase. Cet algorithme phénotypique est basé sur des outils diagnostiques simples tels que l'antibiogramme par diffusion qui s'intègre facilement dans la routine des laboratoires de microbiologie (78).

Parmi les carbapénèmes, l'ertapénème est la molécule la plus adaptée, offrant la meilleure sensibilité pour détecter les EPC. Ainsi, toute entérobactérie possédant un diamètre d'inhibition strictement inférieur à 25mm à l'ertapénème par test de diffusion en gélose, est à considérer comme suspecte et doit être soumise à l'algorithme de dépistage. En fonction des résultats et du groupe auquel appartient l'entérobactérie, un test de confirmation de carbapénémase sera réalisé ou non (**Figure 5**).

À ce jour, de nombreux tests de dépistage basés sur des méthodes phénotypiques ou moléculaires sont disponibles (79).



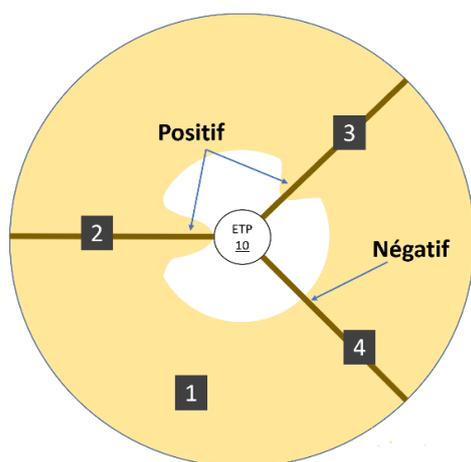
**Figure 5 : Algorithme phénotypique de dépistage d’EPC du CA-SFM 2021 (78)**

## 1.4.2. Méthodes de détection phénotypiques

### 1.4.2.1. Test de Hodge modifié

Le test de Hodge modifié est une méthode de dépistage connue des laboratoires car simple d’utilisation. Elle est basée sur l’inactivation d’un carbapénème par une souche produisant une carbapénémase (souche testée) permettant ainsi à une souche de référence sensible de pousser à proximité d’un disque contenant cet antibiotique. La croissance de la souche sensible le long de la strie d’inoculum de la souche testée (**Figure 6**) indique alors que cette dernière produit une carbapénémase (80, 81).

Cette méthode a démontré une très bonne sensibilité pour détecter les EPC de classe A (KPC) et de classe D (OXA-48). En revanche, la détection des entérobactéries de type NDM avec le test de Hodge modifié est peu sensible et de nombreux faux-positifs ont été signalés notamment chez les souches de *Enterobacter* spp. surexprimant leur céphalosporinase naturelle. C’est pourquoi, les centres experts (CNR, CA-SFM) ne recommandent plus l’utilisation de cette technique pour la détection des EPC (79, 82).



1. Souche de référence sensible à l'ertapénème
- 2, 3. Souches productrices de carbapénèmases
4. Souche productrice de BLSE

**Figure 6 : Test de Hodge modifié**

#### 1.4.2.2. Tests colorimétriques biochimiques

##### CARBA-NP TEST

Ce test de dépistage rapide est basé sur la mise en évidence de l'hydrolyse *in vitro* de l'imipénème par une carbapénémase produite par la souche testée. L'hydrolyse est alors révélée par une acidification du milieu et un changement de couleur indiquant la présence d'une carbapénémase (83).

Cette méthode peu coûteuse et rapide (< 2h) possède une bonne sensibilité (90 à 100% selon les études) ainsi qu'une excellente spécificité (100%) et ce, pour la plupart des carbapénèmases. Néanmoins, des difficultés de lecture de résultats ont été rapportées, notamment pour les souches productrices de carbapénémase ayant une activité hydrolytique plus faible comme les enzymes OXA-48 et ses variants (79, 84).

##### β-CARBA®

Cet autre test colorimétrique plus récent, utilise également un indicateur coloré pour mettre en évidence l'activité enzymatique. Cette technique est basée sur l'hydrolyse d'un substrat chromogénique (une bêta-lactamine chromogène) entraînant un changement de coloration en présence d'une carbapénémase.

À l'instar du Carba-NP test vu ci-dessus, le β-CARBA est simple, rapide (< 30 minutes) et peu coûteux. L'évaluation réalisée par le CNR a montré une bonne sensibilité (85,1%) et spécificité (92,7%) malgré des difficultés de lecture des résultats pour les carbapénèmases de faibles activités hydrolytiques (OXA-48-like, GES-5). À noter également, une mauvaise détection des carbapénèmases de type IMI (79, 85).

#### 1.4.2.3. MALDI-TOF

La technique par spectrométrie de masse de type MALDI-TOF (Matrix Assisted Laser Desorption Ionization - Time of Flight) vise à détecter une modification du spectre d'un carbapénème lorsque ce dernier est en présence d'une carbapénémase. La modification du spectre est représentée par la disparition du pic du carbapénème testé et l'apparition d'un pic correspondant au produit d'hydrolyse de ce carbapénème. À ce jour, plusieurs techniques utilisant la spectrométrie de masse existent mais une seule est commercialisée, le kit MBT STAR® Carba IVD de chez Bruker. L'évaluation des performances réalisée par le CNR de la résistance aux antibiotiques a montré une excellente sensibilité (100%) et une très bonne spécificité (98,2%) (86).

#### 1.4.2.4. CIM (Carbapenem Inactivation Method)

Le CIM test est une méthode de détection de carbapénémase simple basée sur l'inactivation *in vitro* d'un carbapénème, le méropénème. Pour cela, le disque de méropénème est mis en contact avec la souche suspectée de produire une carbapénémase et après incubation, le disque est déposé sur une gélose avec une souche *E. coli* de référence sensible. Si la souche de *E. coli* pousse à proximité du méropénème cela indique l'inactivation du disque et la présence d'une carbapénémase. À l'inverse, l'observation d'un diamètre d'inhibition autour du disque sera interprété négatif et signifiera une absence de carbapénémase (79). Cet outil simple, facile d'utilisation et peu coûteux a montré de bonnes performances. L'évaluation réalisée par le CNR de l'antibiorésistance a montré une sensibilité de 92,1% et une spécificité de 100%. En revanche, le CIM test n'est pas une méthode de détection rapide puisqu'elle nécessite un délai de plus de 24h pour l'obtention des résultats (87).

#### 1.4.2.5. Tests immuno-chromatographiques

Ces tests permettent de détecter une ou plusieurs carbapénémases à partir de colonies de culture bactérienne. La colonie testée est mise en suspension dans une solution tampon d'extraction puis déposée sur une cassette constituée d'une membrane de nitrocellulose sensibilisée à l'aide d'anticorps monoclonaux spécifiques. L'échantillon migre ainsi par capillarité et la présence de carbapénémases forme un complexe antigène-anticorps révélé par l'apparition d'une ligne de positivité (88, 89). Les tests immuno-chromatographiques sont d'utilisation simple, rapides (< 20 minutes) et présentent d'excellentes performances.

Plusieurs tests sont commercialisés à ce jour. Les kits OXA-48 K-Set et KPC K-Set de la société Coris Bioconcept sont des tests simplex développés pour la détection d'une seule famille de carbapénèmases, respectivement OXA-48 et KPC. Concernant les kits multiplex, il existe actuellement plusieurs tests immuno-chromatographiques sur le marché. RESIST-3 O.K.N® et RESIST-4 O.K.N.V® sont deux kits de chez Coris Bioconcept capables de détecter plusieurs types de carbapénèmases en simultanée, notamment OX-48, KPC et NDM. RESIST-4 O.K.N.V® est muni de deux bandelettes multiplexées lui offrant la possibilité de détecter également le type VIM. NG-Test CARBA-5 développé par le fabricant NG Biotech et RESIST-5 O.K.N.V.I® (Coris Bioconcept) sont les derniers tests multiplex commercialisés permettant la détection des 5 principaux types de carbapénèmases (OX-48, KPC, NDM, VIM et IMP).

Les études évaluant les performances des tests simplex (OXA-48 K-Set et KPC K-Set) et multiplex (RESIST-3 O.K.N® et NG-Test CARBA 5) ont décrit une sensibilité et une spécificité de 100% pour chacun de ces kits pour les enzymes visées. Ces tests doivent évidemment être utilisés de façon adaptée à l'épidémiologie locale et en association si nécessaire à d'autres techniques de dépistages (79, 90).

#### 1.4.2.6. Tests d'inhibition et de synergie

Ces tests reposent sur l'utilisation de différentes molécules pouvant inhiber les carbapénèmases selon leur classe. L'acide boronique peut être utilisé comme inhibiteur pour la détection des carbapénèmases de type KPC (classe A) tandis que l'EDTA et l'acide dipicolinique peuvent être utilisés vis-à-vis des métallo-bêta-lactamases (classe B).

À noter que l'acide boronique peut inhiber également les céphalosporinases de type AmpC pouvant être responsables de faux positifs, notamment chez les *Enterobacter* spp. surexprimant leur céphalosporinase naturelle. Pour pallier à ce problème, l'utilisation de la cloxacilline peut être utilisée. En effet, la cloxacilline est un inhibiteur des céphalosporinases (AmpC) permettant de lever l'action hydrolytique de ces dernières et retrouver la sensibilité aux carbapénèmes.

Pour la détection des carbapénèmases OXA-48 (classe D), la témocilline est la molécule utilisée dans certains kits. La majorité des EPC OXA-48 étant résistantes à la témocilline, elles confèrent une très bonne valeur prédictive négative vis-à-vis de ces souches (79, 91).

#### 1.4.2.7. Milieux chromogéniques de dépistage

Ces milieux de culture sont notamment utilisés comme méthode de dépistage pour les patients colonisés par des EPC. Ils ont l'avantage d'être facilement utilisables en routine pour les laboratoires de microbiologie. Il existe actuellement de nombreuses géloses spécifiques permettant de détecter, à partir de prélèvements de selles (ou écouvillons rectaux), les bactéries résistantes aux carbapénèmes. La méthode est basée sur l'ajout de carbapénème et d'un substrat chromogène facilitant la détection de colonies suspectes mais aussi l'identification rapide de l'espèce bactérienne. Des recommandations ont été émises par le CNR concernant différents milieux sélectifs développés et commercialisés pour la détection des EPC :

- CHROMagar™ KPC (CHROMagar) est un milieu contenant de fortes concentrations de méropénème. Il n'est pas recommandé par le CNR. En effet, il a été relaté une détection médiocre vis-à-vis des carbapénèmases ayant une faible activité hydrolytique telles que les souches OXA-48.
- ChromID® CARBA SMART (bioMérieux) et Brilliance® CRE (Oxoid) sont des milieux sélectifs offrant de bonnes performances. Le CNR préconise tout de même de la nécessité de compléter par un ensemencement supplémentaire du prélèvement avec une étape préalable d'enrichissement (bouillon cœur-cerveille ou Trypticase soja + ertapénème à 0,5 µg/mL) afin d'augmenter la sensibilité de détection notamment envers les EPC OXA-48.
- ChromID® OXA-48 (bioMérieux) est recommandé seulement pour le dépistage des souches OXA-48. À noter une mauvaise sensibilité vis-à-vis du variant OXA-244.
- ChromID® Carba SMART (bioMérieux) est une gélose divisée en 2 compartiments associant ChromID® Carba d'un côté et ChromID® OXA-48 de l'autre.
- Le milieu SUPERCARBA medium a été développé par le CNR. Il possède une excellente sensibilité et une détection pour les principaux types de carbapénèmases, y compris OXA-48. Sa composition associe un carbapénème (ertapénème), sulfate de zinc et cloxacilline permettant entre autres d'inhiber les bactéries surexprimant leur céphalosporinase. Le milieu a été utilisé par la société CHROMagar pour développer une nouvelle gélose chromogénique en y ajoutant des chromogènes. À ce jour, mSuperCARBA™ (CHROMagar) n'a pas été évalué par le CNR mais une publication de 2018 rapporte une sensibilité et une spécificité de 100% concernant la détection des souches productrices de carbapénèmases de type KPC, MBL et OXA-48 (92).

### 1.4.3. Méthode de détection moléculaire

#### 1.4.3.1. PCR

Ces tests de diagnostic moléculaire présentent d'excellentes performances pour la détection des gènes codant pour les carbapénèmases. Plusieurs kits sont présents sur le marché dont certains peuvent être utilisés directement sur des prélèvements cliniques. Parmi les kits, il existe notamment le Xpert® Carba-R (Cepheid) et Amplidiag® CarbaR+VRE (Mobidiag) qui ont pu être évalués par le CNR et offrent une très bonne sensibilité et spécificité (79).

Bien que la majorité de ces PCR multiplex ciblent les quatre principaux gènes (KPC, NDM, VIM et OXA-48-like) représentant plus de 95% des carbapénèmases produites par les entérobactéries, il est nécessaire d'utiliser en association d'autres techniques pour permettre de détecter les carbapénèmases retrouvées de façon plus rares (93).

À noter que la PCR est une méthode de détection plus coûteuse et exige un personnel formé et qualifié pour sa réalisation.

## **2. TRAVAIL PERSONNEL**

### **2.1. Objectifs**

Le premier objectif était de réaliser un bilan épidémiologique des EPC, et plus particulièrement de l'espèce *E. coli* à La Réunion de janvier 2010 à décembre 2020.

Le second objectif visait à analyser les résistances phénotypiques et les relations phylogénétiques des souches *E. coli* NDM-5 et OXA-181 à La Réunion et Mayotte. Pour cela, plusieurs étapes ont été fixées (i) déterminer la sensibilité aux antibiotiques d'intérêts et évaluer l'efficacité *in vitro* de l'association aztréonam + inhibiteur de bêta-lactamase (ii) réaliser un typage basé sur le WGS des souches sélectionnées afin de mettre en évidence des potentiels clones épidémiques diffusant dans la zone Sud-Ouest de l'océan Indien.

### **2.2. Matériels et méthodes**

#### **2.2.1. Système de santé de l'océan Indien**

La Réunion et Mayotte sont des départements et régions français d'outre-mer (DROM) localisés dans le Sud-Ouest de l'océan Indien. Le département de La Réunion compte environ 860 000 habitants et possède un Centre Hospitalier Universitaire (CHU) qui regroupe le Centre Hospitalier Félix Guyon (CHFG) au site Nord et le Groupe Hospitalier Sud Réunion (GHSR) au site Sud. Il existe également deux centres hospitaliers départementaux avec le Centre Hospitalier Ouest Réunion (CHOR) à Saint Paul et le Groupe Hospitalier Est Réunion (GHER) à Saint Benoit. Concernant Mayotte, on recense 260 000 habitants pour un seul centre hospitalier, le Centre Hospitalier de Mayotte (CHM). Au total, l'ensemble représente 2 350 lits pour La Réunion et 470 lits pour Mayotte.

#### **2.2.2. Recueil des données**

Pour établir le bilan épidémiologique des EPC à La Réunion du 1<sup>er</sup> janvier 2010 au 31 décembre 2020, l'ensemble des cas d'EPC issus du système de surveillance (ARLIN puis CPIAS), recoupés avec le système informatique du laboratoire de Microbiologie du CHU de La Réunion, ont été inclus. Un cas d'EPC correspondait à un patient colonisé ou infecté dont la souche d'EPC a été identifiée bactériologiquement et ce, de manière non redondante.

Les entérobactéries productrices de carbapénèmases provenaient de prélèvements rectaux de dépistages ou de prélèvements cliniques des différents centres hospitaliers de l'île (CHU Félix Guyon, Groupe Hospitalier Sud Réunion, Centre Hospitalier Ouest Réunion, Groupe Hospitalier Est Réunion) ainsi que de certains laboratoires privés (Cerballiance, Réunilab, Bioaustral). L'identification du genre et de l'espèce ont été obtenues par méthode biochimique (API® 20E, BioMerieux) ou par spectrométrie de masse (MALDI-TOF, Bruker Daltonics). La détection de carbapénèmases a été effectuée à l'aide de la PCR (Xpert® Carba-R, Cepheid) ou à l'aide du kit NG test CARBA-5® (NG Biotech).

Au final, 271 souches ont pu être incluses dans l'étude. Toutes les souches produisant une carbapénémase ont été confirmées par le CNR de la résistance aux antibiotiques de l'hôpital Bicêtre ( $n = 240$ ) à l'exception de 31 souches n'ayant pas pu être envoyées ( $n = 23$ ) ou conservées ( $n = 8$ ). La description des 271 EPC incluses dans l'étude est disponible en **annexe 1** de cette thèse.

Pour l'analyse épidémiologique, plusieurs types de données ont été recueillis. Les informations clinico-biologiques ont été extraites à partir du logiciel INLOG® du laboratoire et du logiciel CROSSWAY® correspondant aux dossiers cliniques informatisés des patients. Les données biologiques incluaient notamment l'espèce bactérienne, le type et le sous-type de carbapénémase. Concernant les données cliniques, nous avons retenu entre autres, le statut d'infection ou colonisation, le site anatomique de détection, l'origine géographique du patient ainsi que la notion de voyage ou lien avec l'étranger (y compris Mayotte) dans les six mois précédents l'admission.

### **2.2.3. *E. coli* NDM-5 et OXA-181**

Pour l'étude phéno-génotypique des *E. coli* NDM-5 et OXA-181, différentes étapes ont été fixées et plusieurs collections de souches ont été sélectionnées en fonction de l'analyse réalisée. Les souches contenant plusieurs carbapénèmases ont été exclues de cette analyse.

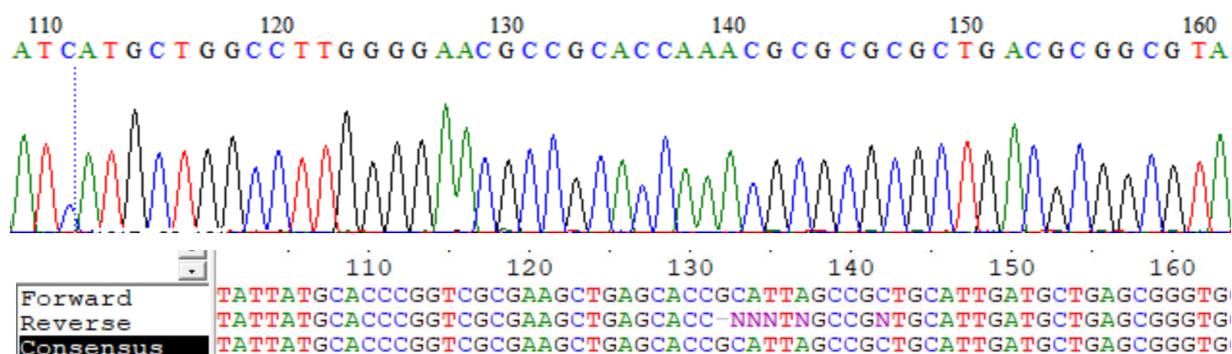
#### **2.2.3.1. PCR de confirmation**

Parmi les 23 souches non envoyées et typées par le CNR, 14 étaient des isolats de *E. coli*. Une PCR de séquençage « maison » (élaborée, validée et mise en place au laboratoire du CHU Felix Guyon en 2018) (7) a été réalisée sur ces 14 souches de *E. coli* afin d'identifier leur sous-type. La biothèque utilisée pour la PCR est représentée dans le **Tableau 2**.

**Tableau 2 : Biothèque des souches *E. coli* productrices de carbapénèmases pour la PCR de séquençage (confirmation)**

N°	Type	N°	Type	N°	Type	N°	Type
1	NDM	5	NDM	9	NDM	13	OXA-48-like
2	NDM	6	NDM	10	NDM	14	OXA-48-like
3	NDM	7	NDM	11	NDM		
4	NDM	8	NDM	12	NDM		

Les produits de PCR obtenus ont été envoyés au laboratoire Genoscreen pour être séquencés par méthode Sanger. Chaque séquence a ensuite été analysée à l'aide du logiciel Bioedit® (**Figure 7**) puis comparée aux séquences de références de la base de données du NCBI (BLAST). Une fois le sous-type déterminé et après confirmation du CNR, nous avons pu sélectionner toutes nos souches *E. coli* d'intérêts produisant NDM-5 ou OXA-181.



**Figure 7 : Exemple de lecture d'un chromatogramme à l'aide du logiciel Bioedit® et de l'obtention d'une séquence consensus**

#### 2.2.3.2. Analyse phénotypique

Les tests de sensibilité aux antibiotiques ont été effectués par une méthode de microdilution en bouillon sur plaque (Sensititre® FRAM1GN, Thermofisher). Le panel d'une plaque comportait les 16 molécules suivantes : ertapénème, imipénème, méropénème, pipéracilline-tazobactam, témocilline, céfoxitine, ceftazidime, ceftolozane-tazobactam, ceftazidime-avibactam, aztréonam, ciprofloxacine, triméthoprime-sulfaméthoxazole, amikacine, gentamicine, colistine et tigécycline. Pour évaluer la sensibilité vis-à-vis de la fosfomycine, la méthode des bandelettes E-test® (BioMérieux) sur milieu gélosé a été utilisée. Chaque test était réalisé à partir d'une culture fraîche (< 24h) ayant été repiquée sur un milieu chromogène (chromID CPS, BioMérieux) avec un disque d'ertapénème (Bio-Rad) de 10µg. En partant de la culture, une suspension bactérienne standardisée à 0,5 McFarland était réalisée.

Pour la méthode de microdilution en bouillon, un volume de 10 µL de la suspension était transféré dans un bouillon Mueller Hinton cation-adjusted avant d'être introduit dans l'automate (Sensititre AIM®, Thermofisher) pour l'inoculation de 50 µL par puit d'une plaque. Après incubation (18 à 24 heures à 35 +/- 2°C) une lecture manuelle des plaques a été effectuée à l'aide du système de visualisation MIC numérique Sensititre VIZION.

Pour la méthode E-test®, nous avons disposé une bandelette de fosfomycine sur une gélose Mueller Hinton inoculée par 0,5 McFarland de la suspension de chaque souche. La concentration minimale inhibitrice (CMI) a été interprétée par une double lecture après 18 à 24 heures d'incubation à 35 +/- 2°C.

Les résultats des CMI ont été interprétés conformément aux recommandations de 2021 du CA-SFM et de l'EUCAST. Les antibiotiques ainsi que les valeurs critiques des CMI définies par le CA-SFM sont décrits dans le **Tableau 3**.

**Tableau 3 : Antibiotiques et concentrations critiques du CA-SFM/EUCAST (2021)**

Antibiotique	Concentrations critiques (mg/L)		Antibiotique	Concentrations critiques (mg/L)	
	S ≤	R >		S ≤	R >
ertapénème	0,5	0,5	aztréonam	1	4
imipénème	2	4	ciprofloxacine	0,25	0,5
méropénème	2	8	triméthoprimé-sulfaméthoxazole	2	4
pipéracilline-tazobactam	8	8	amikacine	8	8
témocilline	0,001	8	gentamicine	2	2
céfoxitine	8	16	colistine	2	2
ceftazidime	1	4	tigécycline	0,5	0,5
ceftolozane-tazobactam	2	2	fosfomycine	32	32
ceftazidime-avibactam	8	8			

Après l'analyse des résistances phénotypiques, nous avons évalué l'efficacité *in vitro* de l'aztréonam associé à l'amoxicilline-acide clavulanique et à la ceftazidime-avibactam pour les souches *E. coli* NDM-5 catégorisées résistantes à l'aztréonam. En effet, les monobactames sont les seules bêta-lactamines à être non affectées à l'hydrolyse des métallo-bêta-lactamases. Cependant, la coproduction de bêta-lactamases (notamment BLSE) est fréquente chez les EPC et est responsable de résistance vis-à-vis de l'aztréonam (94). L'utilisation d'inhibiteurs de bêta-lactamases actifs sur les BLSE combinés à l'aztréonam peut être une bonne option pour restaurer l'efficacité de ce dernier (95).

Pour la détermination de la sensibilité aztréonam/inhibiteur de bêta-lactamase, la méthode de superposition des bandelettes Etest® a été utilisée comme décrit par l'équipe française Emeraud *et al.* ayant validé la technique en 2019 (96).

Les bandelettes Etest® d'amoxicilline-acide clavulanique et de ceftazidime-avibactam étaient déposées sur une gélose Mueller Hinton inoculée par une suspension à 0,5 McFarland de chaque souche pendant 10 minutes. Une fois le temps écoulé, les bandelettes ont été retirées et une bandelette Etest® d'aztréonam a été appliquée exactement à la même position que ces dernières. La double lecture des CMI a été effectuée après 16 heures d'incubation à 37°C et interprétée selon les recommandations du CLSI de 2018. Les isolats testés étaient considérés comme sensibles vis-à-vis de l'aztréonam/inhibiteur lorsque la CMI était  $\leq 4$  mg/L. (96, 97).

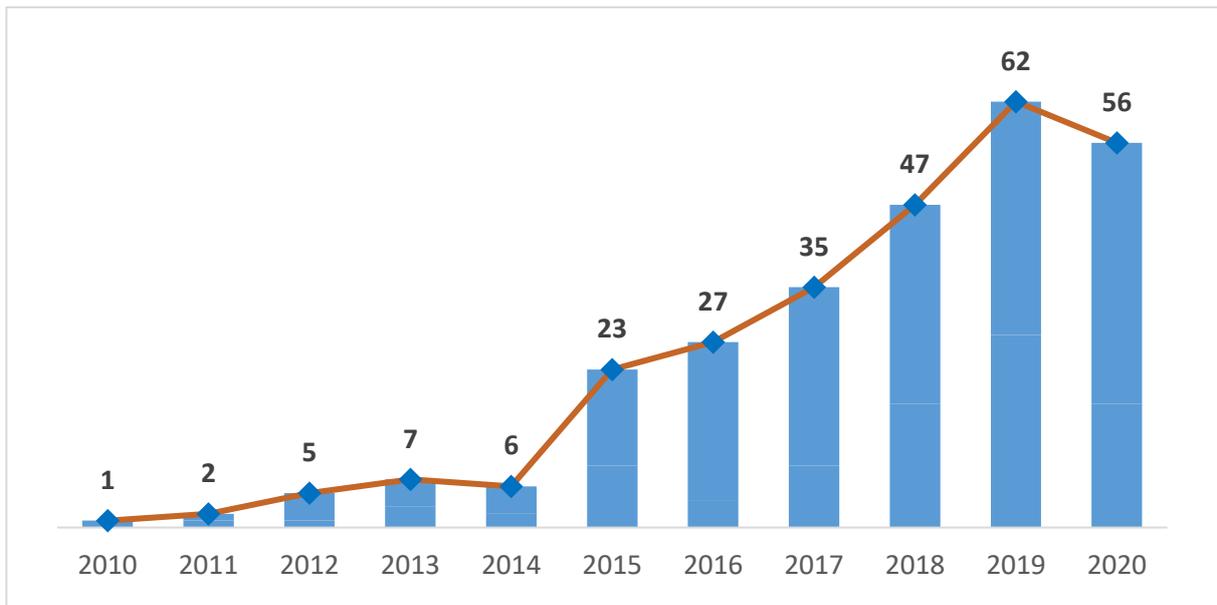
#### 2.2.3.3. Analyse génotypique

En collaboration avec le CNR de Bicêtre, l'ensemble des souches de *E. coli* NDM-5 et OXA-181 identifiées de notre collection (incluant les souches de La Réunion et de Mayotte) ont été soumises à un typage de MLST. Ce typage bactérien nous a permis de connaître la *sequence type* (ST) et les groupes clonaux auxquels appartenait chacune de ces souches. Une analyse phylogénétique approfondie basée sur le polymorphisme mononucléotidique ou SNP (Single Nucleotide Polymorphism) du génome bactérien a également été effectuée afin d'évaluer les relations clonales et d'identifier les différents clades (groupes monophylétiques) au sein d'un même ST. Les souches de *E. coli* appartenant au même clade (ou cluster) étaient dites « clonales » et suggéreraient une transmission croisée de patient à patient de la même souche ou une source de contamination commune. Le seuil établi pour définir les souches comme « clonales » était de  $< 20$  SNPs. Une variation de 20 à 100 SNPs était considérée comme une « zone grise » dont l'interprétation devait être corrélée aux données cliniques et épidémiologiques.

## 2.3. Résultats

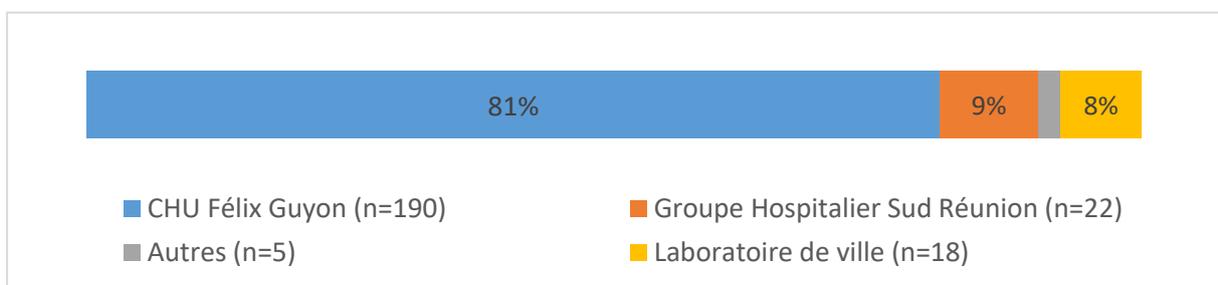
### 2.3.1. Bilan épidémiologique des EPC à La Réunion de 2010 à 2020

Du 1<sup>er</sup> janvier 2010 au 31 décembre 2020, 271 souches d'entérobactéries productrices de carbapénèmases ont été isolées chez 235 patients. L'évolution de l'incidence des EPC à La Réunion est représentée dans la **Figure 8**. On observe une forte augmentation à partir de 2015 jusque 2019 suivie d'une très légère diminution en 2020.



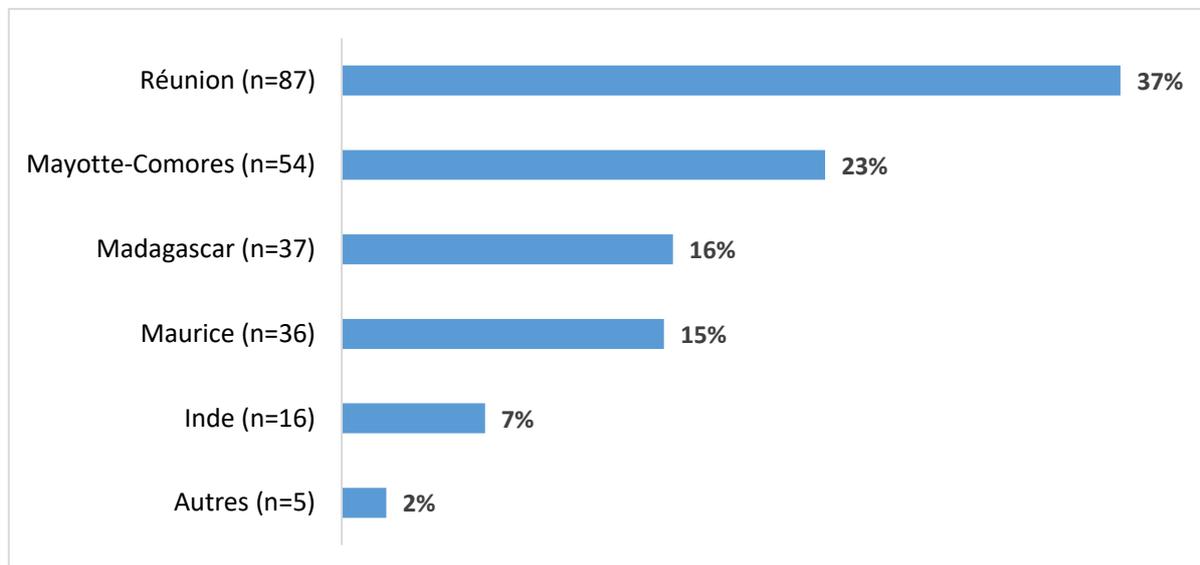
**Figure 8 : Incidence des EPC à La Réunion de janvier 2010 à décembre 2020**

La répartition géographique des établissements en fonction du lieu de prélèvement est résumée dans la **Figure 9**. Il est à noter que 84% des patients étaient colonisés ( $n = 198$ ) et 16% des patients étaient infectés ( $n = 37$ ).



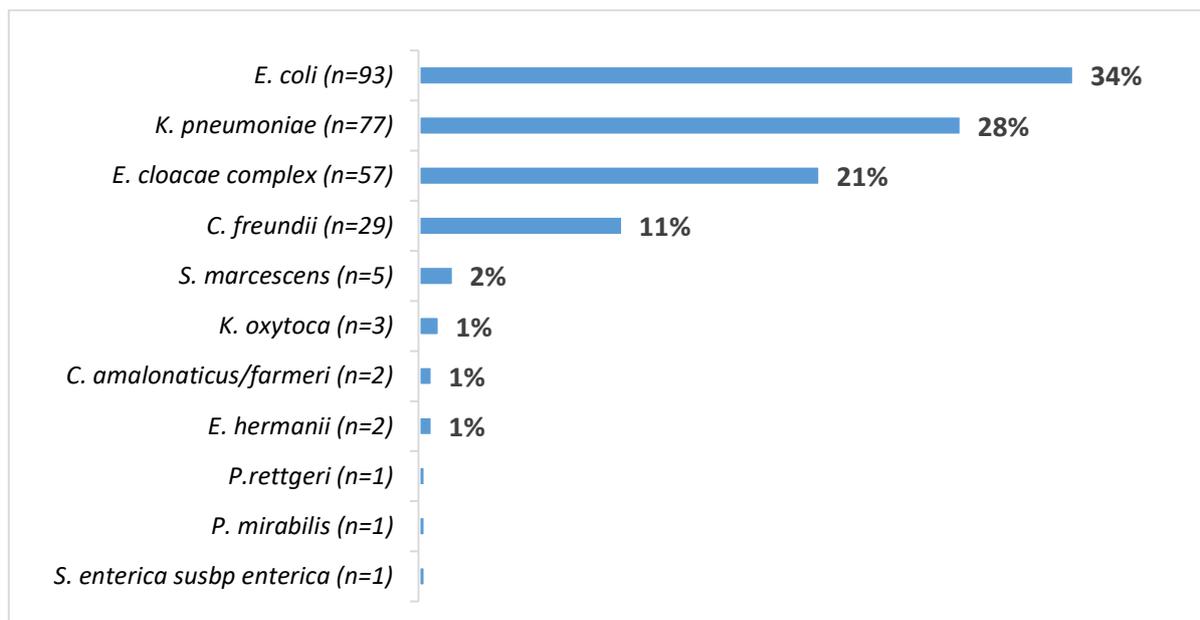
**Figure 9 : Distribution géographique des établissements de santé en fonction du lieu de prélèvement**

La notion de séjour à l'étranger concernait 63% de patients porteurs d'EPC ( $n = 148$ ). Cinquante-quatre patients (23%) avaient un lien avec l'archipel des Comores (incluant Mayotte), 16% avec Madagascar, 15% avec l'île Maurice et 7% revenaient d'Inde. Le reste des patients provenait des Seychelles ( $n = 3$ ), d'Egypte ( $n = 1$ ) et d'Espagne ( $n = 1$ ) (**Figure 10**).



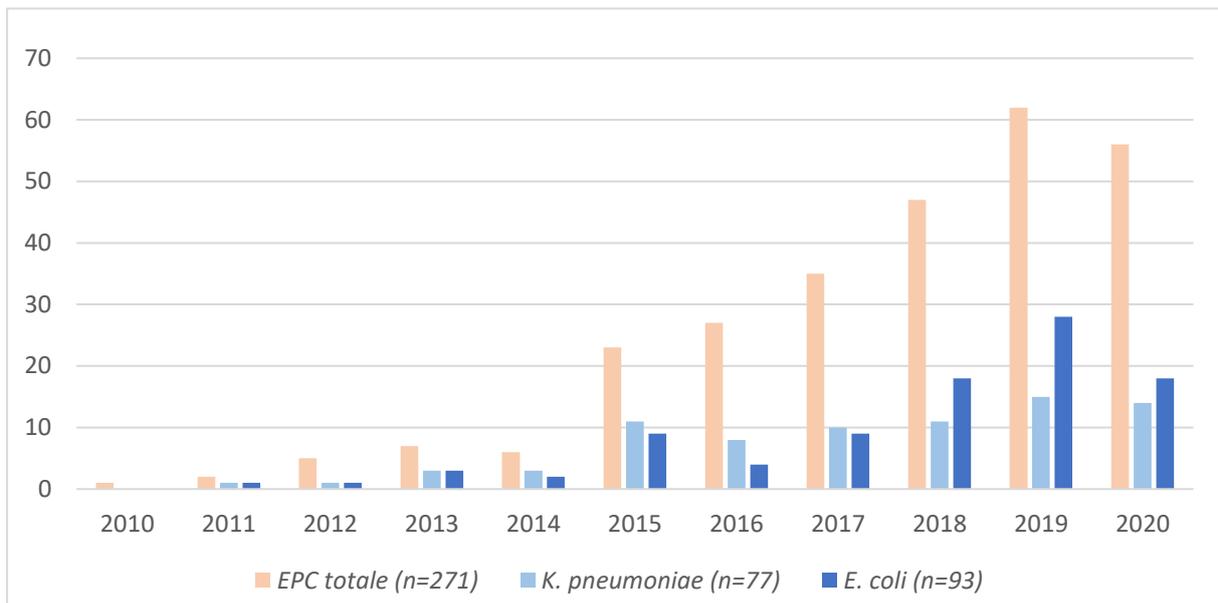
**Figure 10 : Répartition des patients porteurs d'EPC en fonction de l'origine géographique**

À La Réunion, parmi les entérobactéries productrices de carbapénèmases, *E. coli* était l'espèce bactérienne la plus fréquemment isolée (34%) suivie de *K. pneumoniae* (28%), *Enterobacter cloacae complex* (21%) et *Citrobacter freundii* (11%) (**Figure 11**).



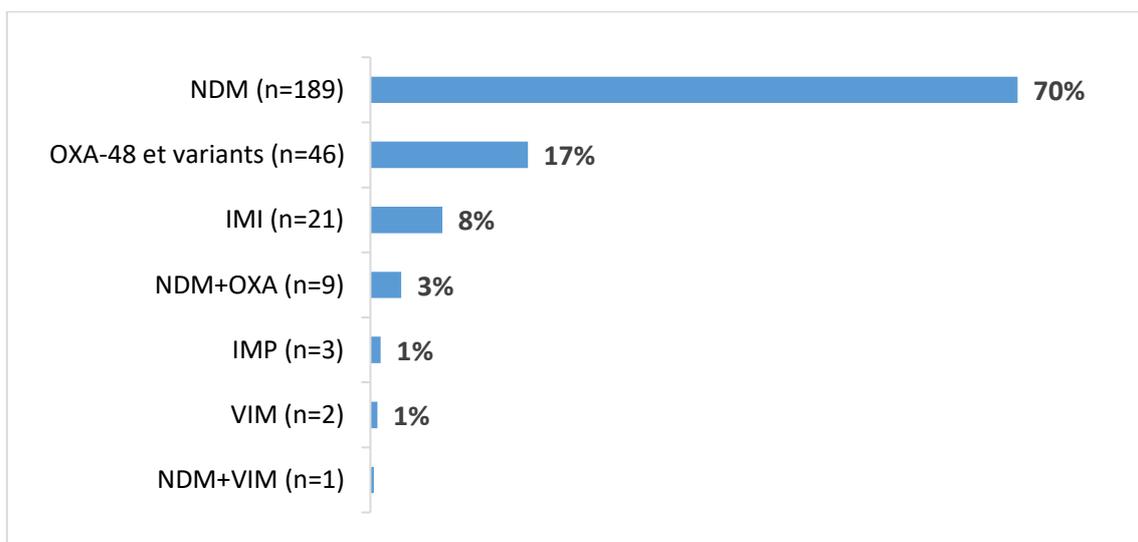
**Figure 11 : Répartition des EPC à La Réunion en fonction de l'espèce bactérienne**

Toutefois, on observe que *K. pneumoniae* était l'espèce bactérienne la plus souvent détectée à La Réunion jusqu'en 2017. À partir de 2018 et ce jusqu'à décembre 2020, *E. coli* est devenue l'espèce d'EPC prédominante (**Figure 12**).



**Figure 12 : Incidence de *E. coli* et *K. pneumoniae* produisant des carbapénèmes à La Réunion de 2010 à 2020**

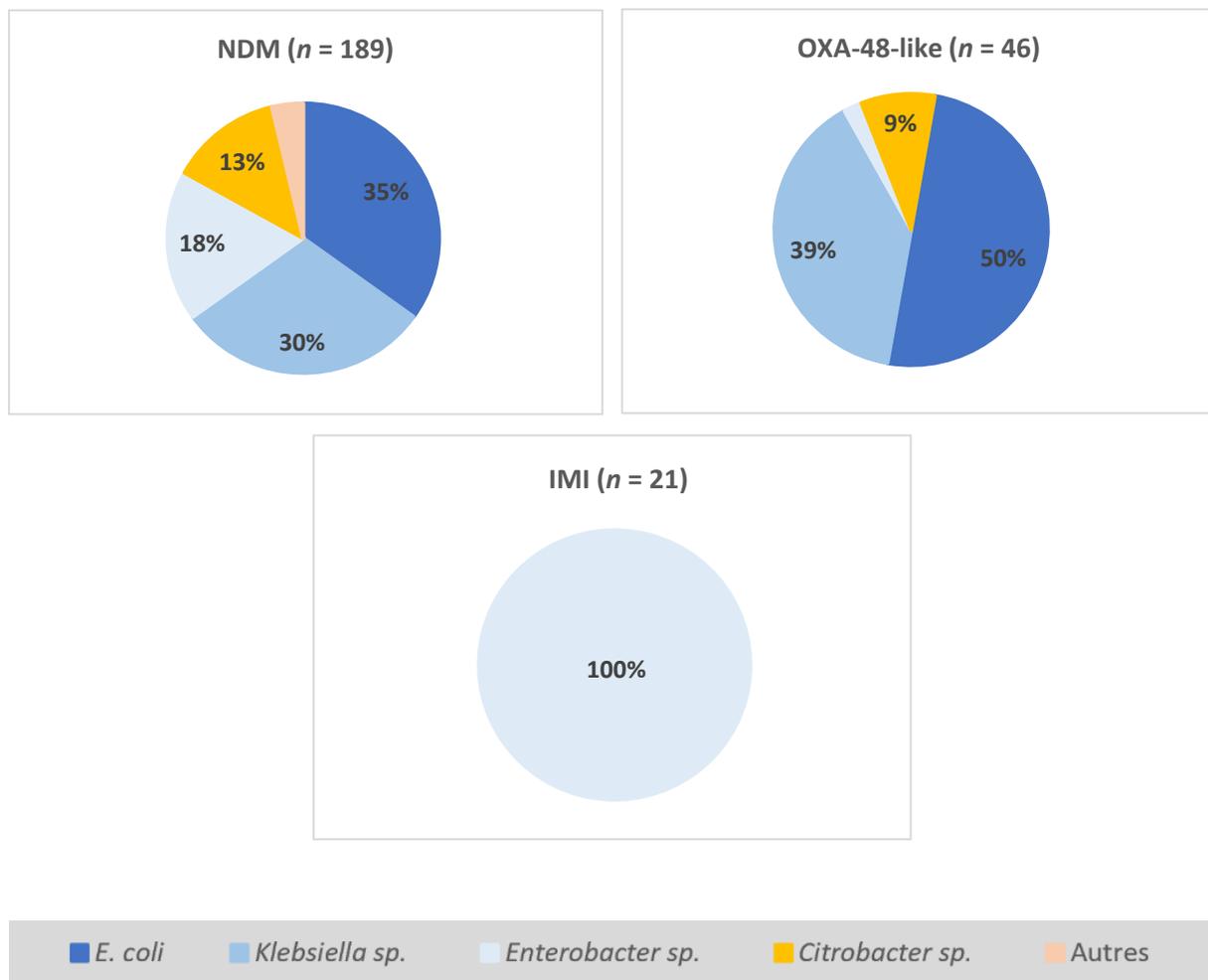
Concernant les mécanismes de résistances aux carbapénèmes, l'enzyme de type NDM était la plus fréquemment retrouvée (70%). La seconde enzyme la plus répandue était OXA-48 et ses variants (17%) suivi du type IMI (8%). D'autres enzymes ont été retrouvées de façon plus isolée et sont décrites dans la **Figure 13**.



**Figure 13 : Répartition des EPC à La Réunion en fonction du mécanisme de résistance**

La répartition des espèces au sein des trois principaux types de carbapénèmases à La Réunion est décrite dans la **Figure 14**.

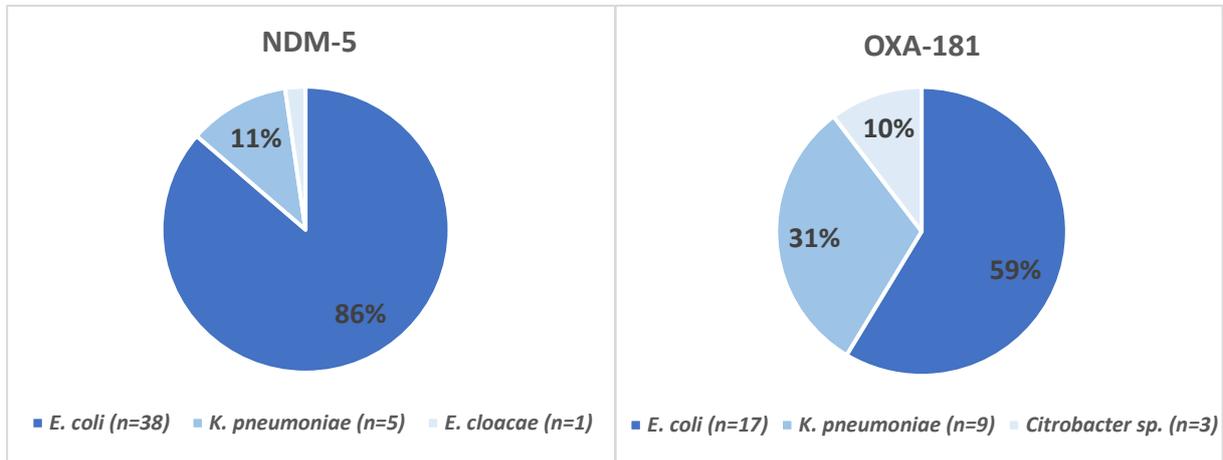
La majorité des souches de type NDM et OXA-48-like était retrouvée principalement chez *E. coli* suivi de *K. pneumoniae*. Pour le type IMI, la totalité des souches EPC (100%) était du complexe *Enterobacter cloacae*.



**Figure 14 : Répartition des EPC par espèces selon le mécanisme de résistance (NDM, OXA-48-like et IMI) à La Réunion de 2010 à 2020**

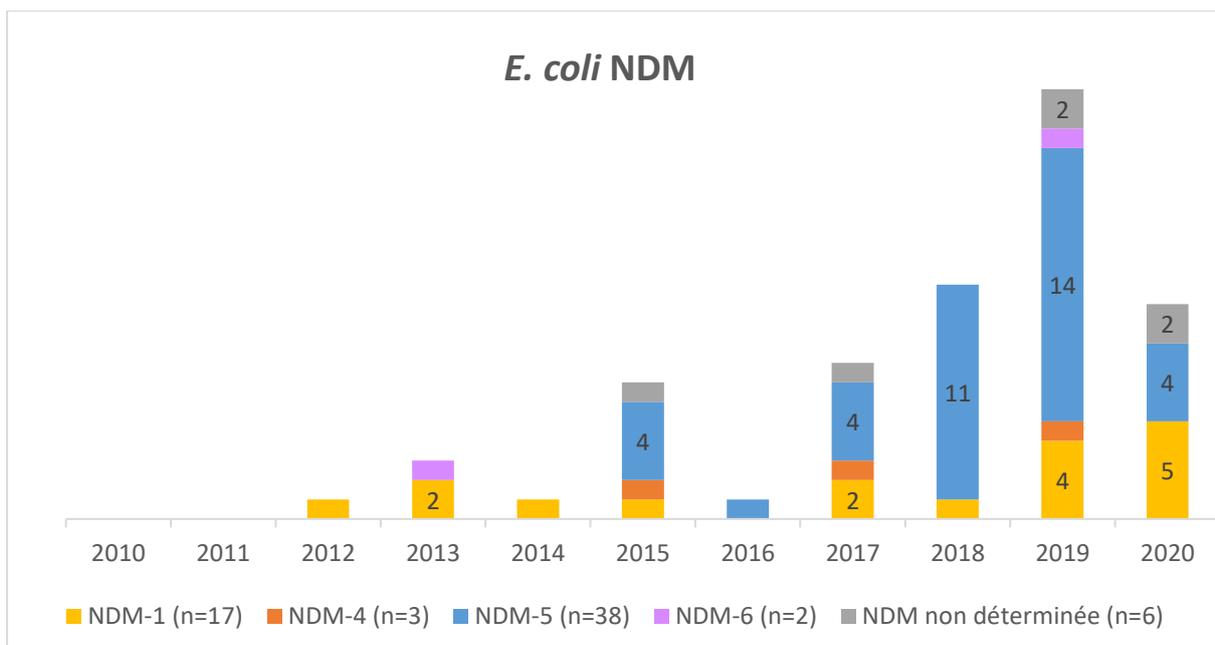
### 2.3.2. *E. coli* NDM-5 et OXA-181 à La Réunion

La répartition des EPC hébergeant les gènes *bla*<sub>NDM-5</sub> et *bla*<sub>OXA-181</sub> en fonction de l'espèce est résumée dans la **Figure 15**. Nous observons que la majorité des isolats NDM-5 et OXA-181 appartenait à l'espèce *E. coli* représentant respectivement 86% et 59% au sein de chaque sous-type.



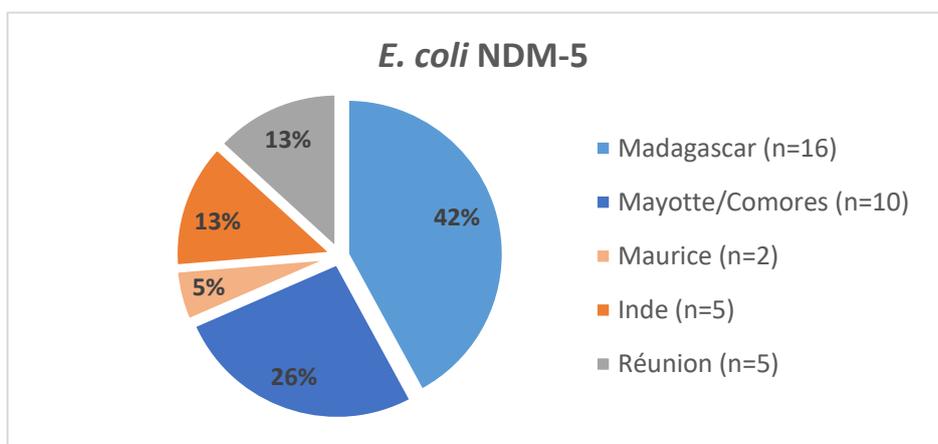
**Figure 15 : Répartition des EPC de type NDM-5 et OXA-181 en fonction de l'espèce**

L'évolution de la répartition des sous-types NDM chez *E. coli* est décrite dans la **Figure 16**. On constate que NDM-5 a été détecté pour la première fois en 2015 ; il devient le sous-type prédominant durant cinq années consécutives (2015-2019).



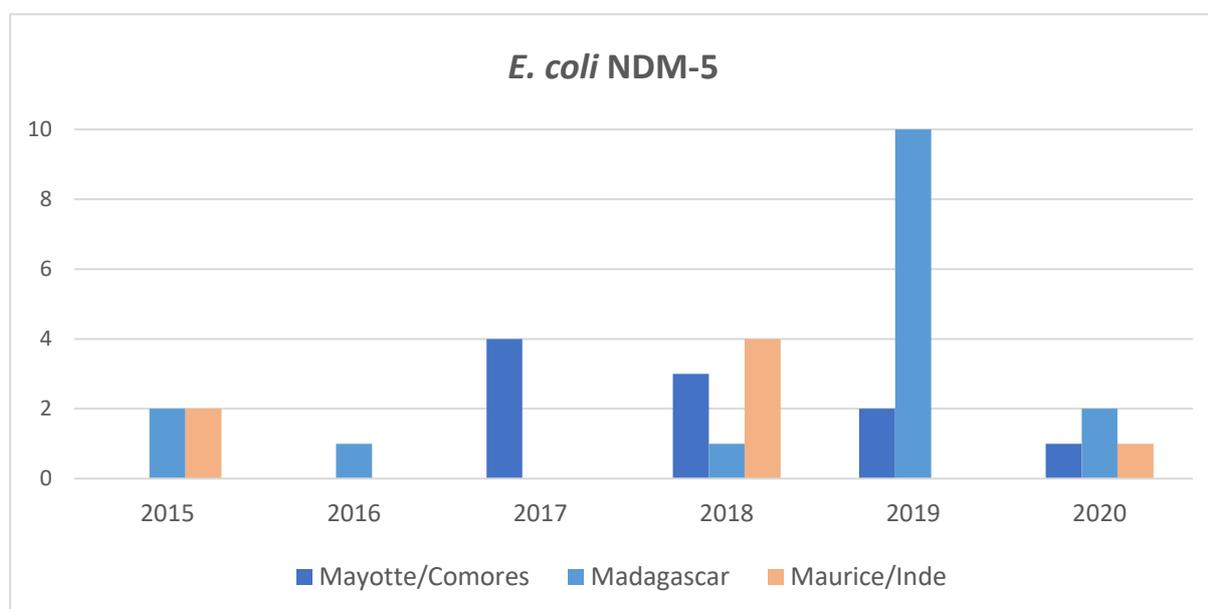
**Figure 16 : Évolution de la répartition des sous-types NDM chez *E. coli* à La Réunion**

Bien que la proportion de patients porteurs de *E. coli* NDM-5 issue de l'étranger était de 87% ( $n = 33/38$ ), on note que la majorité revenait de Madagascar (42% soit  $n = 16/38$ ) et de l'archipel des Comores (incluant Mayotte) (26% soit  $n = 10/38$ ) (**Figure 17**).



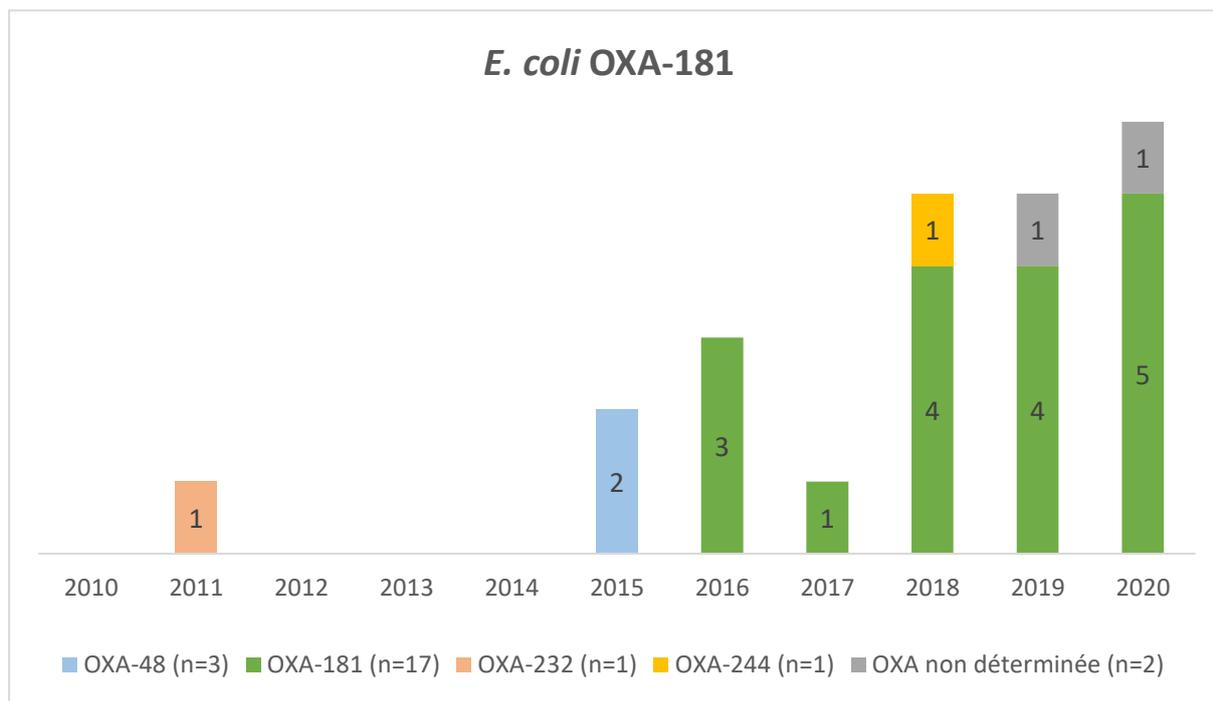
**Figure 17 : Origine géographique des patients porteurs de *E. coli* produisant NDM-5**

L'évolution des cas de *E. coli* NDM-5 d'origine externe détectés à La Réunion entre 2015 et 2020 selon l'origine géographique est décrite dans la **Figure 18**. Si le nombre de cas originaires des régions Est (Maurice et l'Inde) et des régions Ouest (notamment Madagascar) étaient similaires en 2015, on constate rapidement et plus particulièrement en 2019 que les cas originaires de l'Ouest ont considérablement supplanté ceux originaires de l'Est.



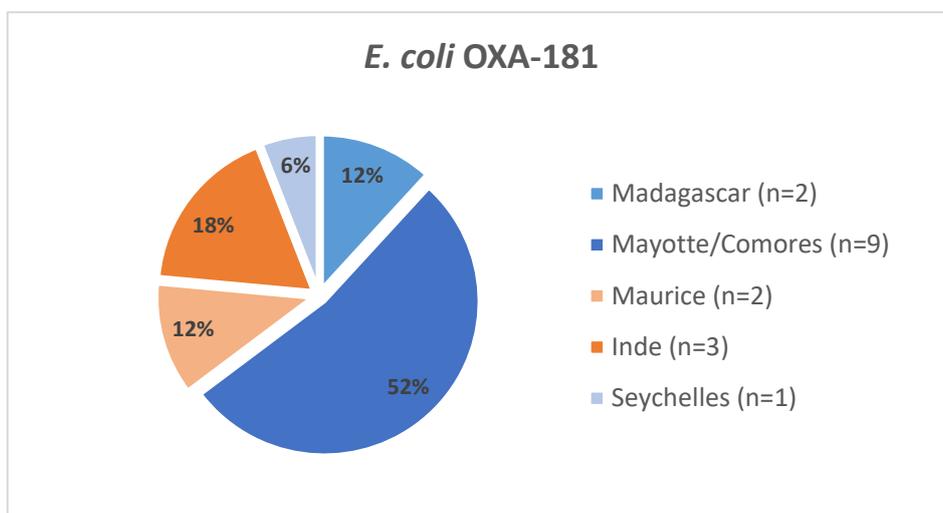
**Figure 18 : Évolution des cas de *E. coli* NDM-5 d'origine externe détectés à La Réunion entre 2015 et 2020 en fonction de l'origine géographique des patients**

Pour les oxacillinases chez *E. coli*, on note que, à partir de 2016, OXA-181 devient le sous-type majoritaire avec une légère augmentation au cours des dernières années (**Figure 19**).



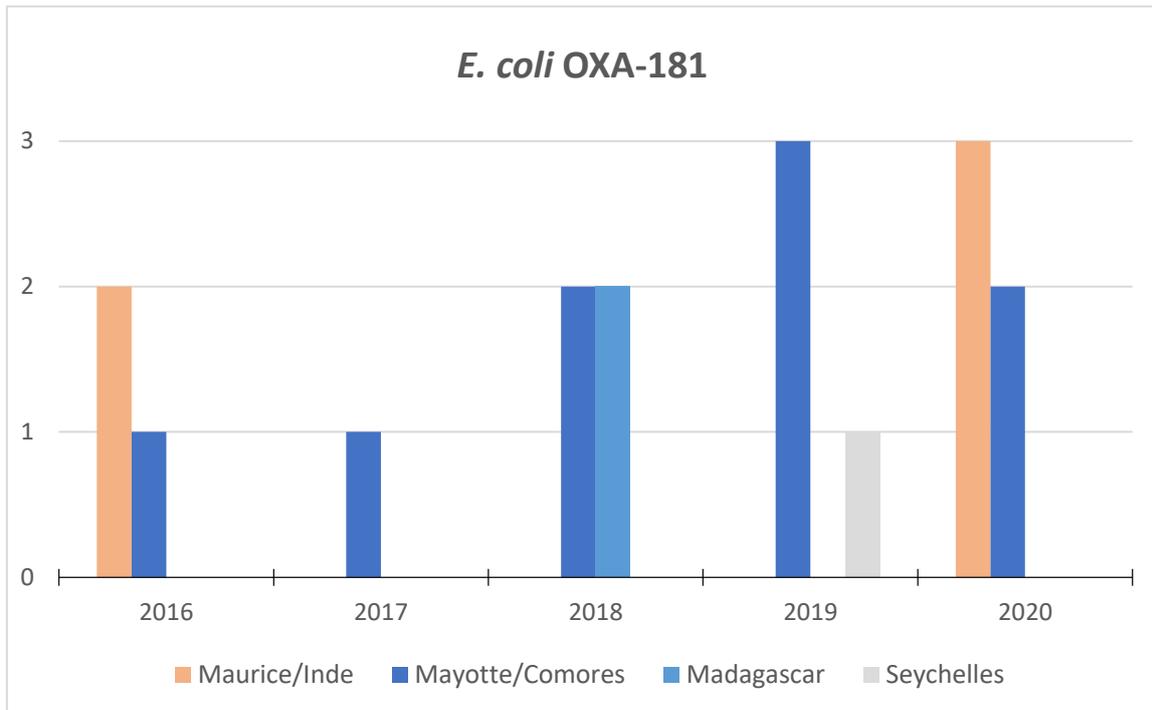
**Figure 19 : Évolution de la répartition des sous-types OXA-48-like chez *E. coli* à la Réunion**

Pour *E. coli* OXA-181, 100% ( $n = 17/17$ ) des patients qui étaient colonisés ou infectés avaient une notion de séjour en dehors de l'île de La Réunion (**Figure 20**). On observe que la majorité des patients porteurs de *E. coli* OXA-181 provenait principalement des Comores et de Mayotte (52%).



**Figure 20 : Origine géographique des patients porteurs de *E. coli* produisant OXA-181**

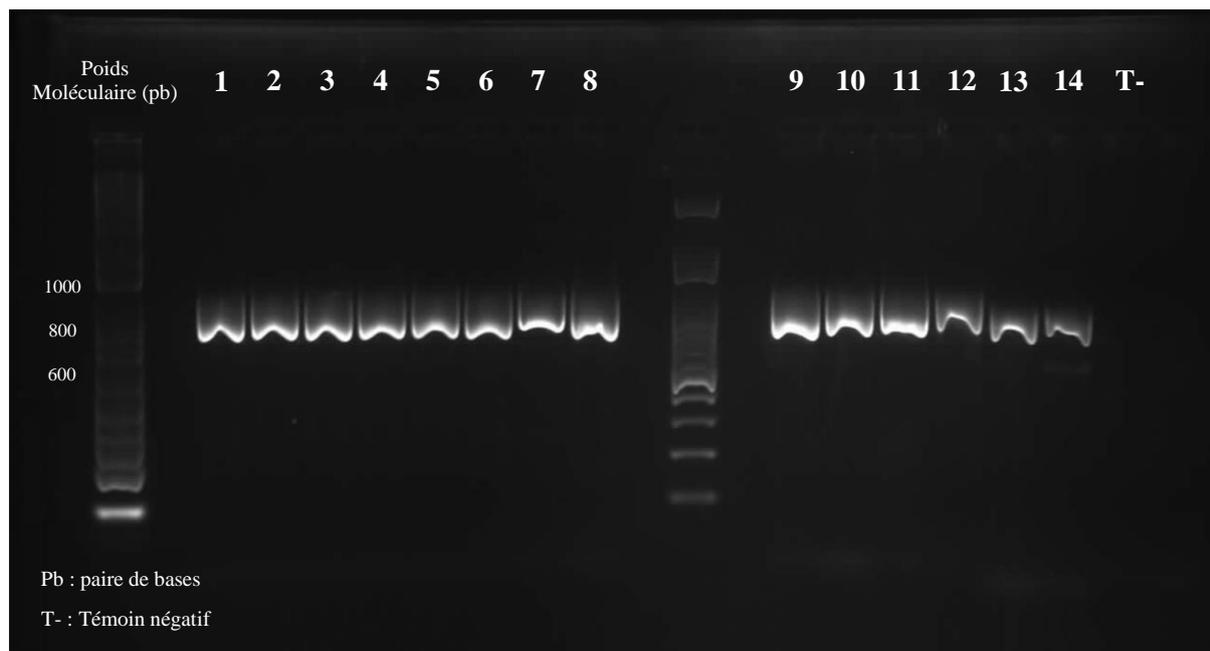
Concernant l'évolution des cas de *E. coli* OXA-181, on note que les cas provenaient davantage des régions Est (Maurice et Inde) en 2016. La tendance s'est inversée de 2017 à 2019 avec des cas issus exclusivement de l'Ouest, principalement de Mayotte et des Comores. Toutefois, en 2020 nous constatons à nouveau des cas de *E. coli* OXA-181 originaires de Maurice et de l'Inde. La description de cette évolution est représentée dans la **Figure 21**.



**Figure 21 : Évolution des cas de *E. coli* OXA-181 d'origine externe détectés à La Réunion entre 2015 et 2020 en fonction de l'origine géographique des patients**

### 2.3.3. PCR de confirmation (Séquençage)

Une PCR a été réalisée sur les 14 souches de *E. coli* non envoyées au CNR mais biothéquées au laboratoire afin d'identifier les sous-types de carbapénèmases et compléter notre collection d'*E. coli* NDM-5 et OXA-181 pour la suite de l'étude. Pour cela, après extraction et amplification, une étape de révélation sur gel d'agarose a été effectuée permettant de vérifier le résultat de notre PCR et contrôler la pureté de nos produits d'amplifications (présence d'une seule bande) (**Figure 22**).



**Figure 22 : Résultat de la PCR de séquençage NDM et OXA-48-like**

Une fois le contrôle effectué sur gel d'agarose, les produits de PCR (amplicons) ont été envoyés au laboratoire Genoscreen pour être séquencés. Les résultats des analyses sont disponibles dans le **Tableau 4**. Parmi les 14 souches analysées, 11 ont ainsi pu être incluses dans notre collection de *E. coli* NDM-5 et OXA-181.

**Tableau 4 : Résultats des séquençages *E. coli* NDM et OXA-48-like**

Numéro	Séquençage	Numéro	Séquençage	Numéro	Séquençage
1	NDM-5	6	NDM-5	11	NDM-1
2	NDM-5	7	NDM-5	12	NDM-1
3	NDM-5	8	NDM-5	13	OXA-181
4	NDM-5	9	NDM-5	14	OXA-181
5	NDM-5	10	NDM-1		

Notre collection de souches issues de la Réunion comportait au final 38 *E. coli* NDM-5 et 17 *E. coli* OXA-181. À cette collection est venue s'ajouter une collection de souches issues de Mayotte comportant 29 souches de *E. coli* NDM-5 et 8 souches de *E. coli* OXA-181 toutes caractérisées par le CNR de Bicêtre. La biothèque finale, comportant ainsi 92 souches (67 souches *E. coli* NDM-5 et 25 souches *E. coli* OXA-181) et est détaillée dans le **Tableau 5**.

**Tableau 5 : Biothèque *E. coli* NDM-5 et OXA-181 utilisée pour l'évaluation des résistances phénotypiques**

N°	Type	Origine	N°	Type	Origine	N°	Type	Origine
1	NDM-5	Réunion	32	NDM-5	Réunion	63	NDM-5	Réunion
2	NDM-5	Réunion	33	NDM-5	Réunion	64	NDM-5	Mayotte
3	NDM-5	Réunion	34	NDM-5	Réunion	65	NDM-5	Mayotte
4	NDM-5	Mayotte	35	NDM-5	Réunion	66	NDM-5	Mayotte
5	NDM-5	Réunion	36	NDM-5	Réunion	67	NDM-5	Réunion
6	NDM-5	Mayotte	37	NDM-5	Réunion	68	OXA-181	Réunion
7	NDM-5	Mayotte	38	NDM-5	Réunion	69	OXA-181	Mayotte
8	NDM-5	Mayotte	39	NDM-5	Réunion	70	OXA-181	Mayotte
9	NDM-5	Réunion	40	NDM-5	Réunion	71	OXA-181	Réunion
10	NDM-5	Mayotte	41	NDM-5	Mayotte	72	OXA-181	Réunion
11	NDM-5	Mayotte	42	NDM-5	Réunion	73	OXA-181	Réunion
12	NDM-5	Réunion	43	NDM-5	Réunion	74	OXA-181	Réunion
13	NDM-5	Réunion	44	NDM-5	Mayotte	75	OXA-181	Réunion
14	NDM-5	Réunion	45	NDM-5	Mayotte	76	OXA-181	Réunion
15	NDM-5	Réunion	46	NDM-5	Mayotte	77	OXA-181	Mayotte
16	NDM-5	Mayotte	47	NDM-5	Réunion	78	OXA-181	Mayotte
17	NDM-5	Mayotte	48	NDM-5	Mayotte	79	OXA-181	Réunion
18	NDM-5	Mayotte	49	NDM-5	Mayotte	80	OXA-181	Mayotte
19	NDM-5	Réunion	50	NDM-5	Mayotte	81	OXA-181	Réunion
20	NDM-5	Mayotte	51	NDM-5	Mayotte	82	OXA-181	Réunion
21	NDM-5	Mayotte	52	NDM-5	Mayotte	83	OXA-181	Réunion
22	NDM-5	Mayotte	53	NDM-5	Réunion	84	OXA-181	Réunion
23	NDM-5	Réunion	54	NDM-5	Réunion	85	OXA-181	Mayotte
24	NDM-5	Mayotte	55	NDM-5	Réunion	86	OXA-181	Mayotte
25	NDM-5	Réunion	56	NDM-5	Réunion	87	OXA-181	Réunion
26	NDM-5	Mayotte	57	NDM-5	Réunion	88	OXA-181	Réunion
27	NDM-5	Mayotte	58	NDM-5	Réunion	89	OXA-181	Réunion
28	NDM-5	Mayotte	59	NDM-5	Réunion	90	OXA-181	Réunion
29	NDM-5	Mayotte	60	NDM-5	Réunion	91	OXA-181	Mayotte
30	NDM-5	Réunion	61	NDM-5	Réunion	92	OXA-181	Réunion
31	NDM-5	Réunion	62	NDM-5	Réunion			

### 2.3.4. Analyse des résistances phénotypiques

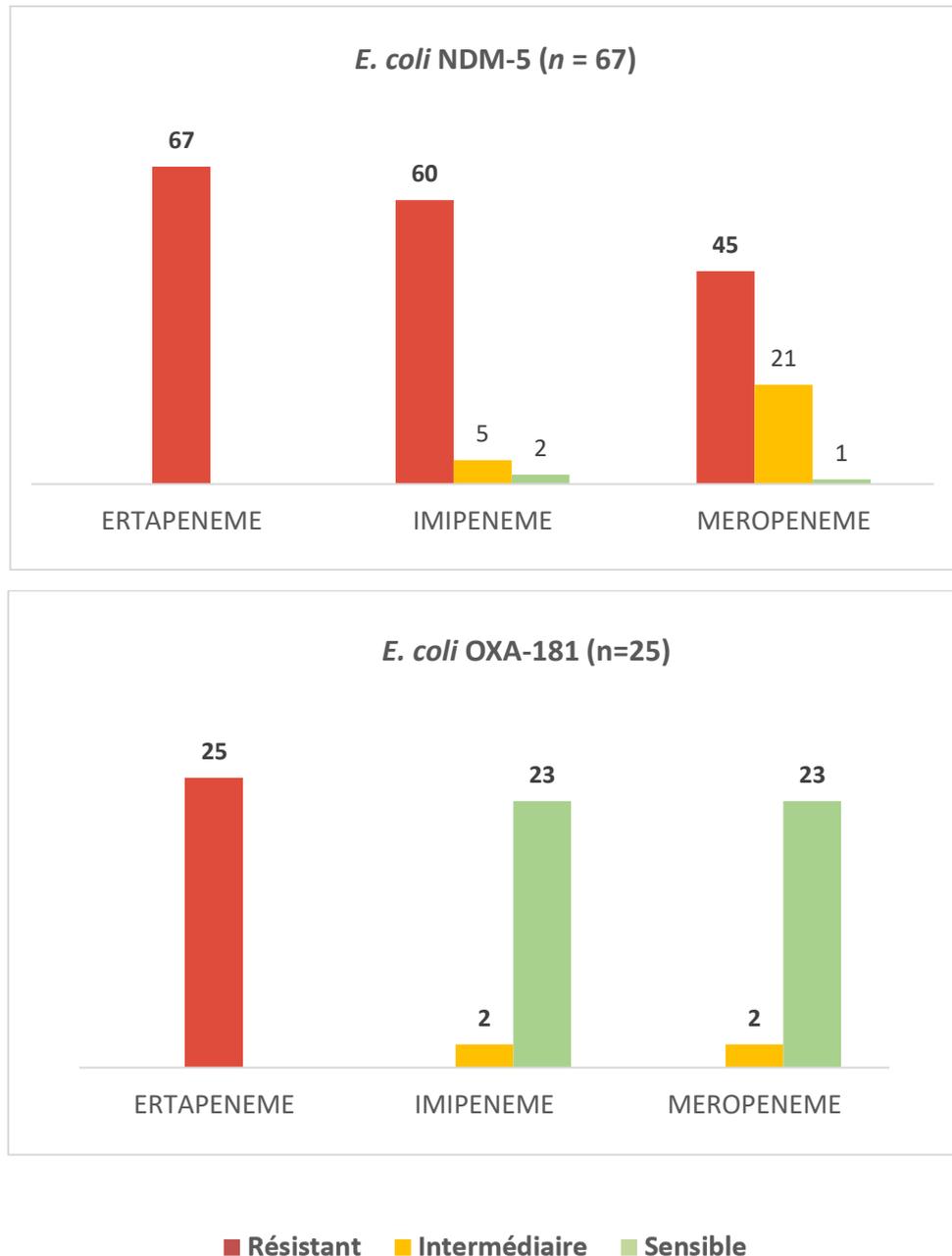
L'évaluation et la répartition des souches de *E. coli* NDM-5 et OXA-181 vis-à-vis des différents antibiotiques sont résumées dans le **Tableau 6**.

**Tableau 6 : Évaluation et répartition des *E. coli* NDM-5 et OXA-181 en fonction de leur sensibilité aux différents antibiotiques**

Antibiotiques	<i>E. coli</i> NDM-5	<i>E. coli</i> OXA-181	% sensibilité (S) NDM-5 / OXA -181
	(n = 67)	(n = 25)	
	R / I / S	R / I / S	
ertapénème	67 / 0 / 0	25 / 0 / 0	<b>0% / 0%</b>
imipénème	60 / 5 / 2	0 / 2 / 23	<b>3% / 92%</b>
méropénème	45 / 21 / 1	0 / 2 / 23	<b>1% / 92%</b>
pipéracilline-tazobactam	67 / 0 / 0	25 / 0 / 0	<b>0% / 0%</b>
témocilline	67 / 0 / 0	25 / 0 / 0	<b>0% / 0%</b>
céfoxitine	67 / 0 / 0	15 / 3 / 7	<b>0% / 28%</b>
ceftazidime	67 / 0 / 0	16 / 3 / 6	<b>0% / 24%</b>
ceftolozane-tazobactam	67 / 0 / 0	16 / 0 / 9	<b>0% / 36%</b>
ceftazidime-avibactam	67 / 0 / 0	0 / 0 / 25	<b>0% / 100%</b>
aztréonam	57 / 3 / 7	18 / 1 / 6	<b>10% / 24%</b>
ciprofloxacine	54 / 2 / 11	19 / 5 / 1	<b>16% / 4%</b>
triméthoprim-sulfaméthoxazole	61 / 0 / 6	18 / 0 / 7	<b>9% / 28%</b>
amikacine	10 / 0 / 57	0 / 0 / 25	<b>85% / 100%</b>
gentamicine	25 / 0 / 42	10 / 0 / 15	<b>63% / 60%</b>
fosfomycine	3 / 0 / 64	0 / 0 / 25	<b>94% / 100%</b>
colistine	0 / 0 / 67	0 / 0 / 25	<b>100% / 100%</b>
tigécycline	0 / 0 / 67	0 / 0 / 25	<b>100% / 100%</b>

R : résistant ; I : intermédiaire ; S : sensible

La détermination de la sensibilité aux carbapénèmes selon le sous-type est représentée dans la **Figure 23**. Nous voyons que 100% des souches NDM-5 ( $n = 67/67$ ) et OXA-181 ( $n = 25/25$ ) sont résistantes à l'ertapénème. Pour l'imipénème et le méropénème, il existe des différences de sensibilités selon le sous-type ; respectivement 97% ( $n = 65/67$ ) et 99% ( $n = 66/67$ ) des souches NDM-5 étaient non sensibles à ces antibiotiques. Pour les souches OXA-181, respectivement 8% ( $n = 2/25$ ) et 8% ( $n = 2/25$ ) étaient catégorisées non sensibles à l'imipénème et au méropénème.



**Figure 23 : Évaluation de la sensibilité des *E. coli* NDM-5 et OXA-181 aux carbapénèmes**

L'évaluation de la sensibilité aux différentes bêta-lactamines est mise en avant **Figure 24**. Concernant les *E. coli* NDM-5, nous voyons une résistance quasi totale à la plupart des molécules, excepté pour l'aztréonam où 10% ( $n = 7/67$ ) des souches étaient sensibles.

Pour OXA-181, les sensibilités variaient davantage avec 28% ( $n = 7/25$ ) des souches sensibles à la céfoxitine (C2G), 24% ( $n = 6/25$ ) au ceftazidime (C3G) et à l'aztréonam, 36% ( $n = 9/25$ ) au ceftolozane-tazobactam et 100% ( $n = 25/25$ ) au ceftazidime-avibactam. On note donc une meilleure efficacité des molécules associant une C3G avec un inhibiteur de bêta-lactamase pour ce sous-type et en particulier l'association ceftazidime-avibactam.



P/T : pipéracilline-tazobactam ; TEM : témocilline ; FX : céfoxitine ; CAZ : ceftazidime ; C/T : ceftolozane-avibactam ; CZA : ceftazidime-avibactam ; ATM : aztréonam

■ Résistant ■ Intermédiaire ■ Sensible

**Figure 24 : Évaluation de la sensibilité des *E. coli* NDM-5 et OXA-181 aux bêta-lactamines**

La **Figure 25** présente quant à elle, la répartition des souches *E. coli* NDM-5 et OXA-181 selon la sensibilité aux autres classes d'antibiotiques.

Pour OXA-181, 100% des souches ( $n = 25/25$ ) étaient catégorisées sensibles à la fosfomycine, tigécycline et à la colistine.

Pour NDM-5, 100% des souches ( $n = 67/67$ ) étaient sensibles à la tigécycline et la colistine ; 96% ( $n=64/67$ ) étaient sensibles à la fosfomycine.

Vis-à-vis des aminosides, on observe une efficacité supérieure de l'amikacine avec 85% des NDM-5 ( $n = 57/67$ ) et 100% des OXA-181 ( $n = 25/25$ ) sensibles contre, respectivement 63% ( $n = 42/67$ ) et 60% ( $n = 15/25$ ) à la gentamicine.



CIP : ciprofloxacine ; STX : triméthoprime-sulfaméthoxazole ; AK : amikacine ; GEN : gentamicine ; FM : fosfomycine ; CN : colistine ; TG : tigécycline

■ Résistant ■ Intermédiaire ■ Sensible

**Figure 25 : Évaluation de la sensibilité des *E. coli* NDM-5 et OXA-181 aux différentes classes d'antibiotiques**

Nous avons ensuite évalué l'efficacité *in vitro* de l'aztréonam associé respectivement à l'amoxicilline-acide clavulanique et au ceftazidime-avibactam pour les 57 souches *E. coli* NDM-5 catégorisées « R » (résistantes) à l'aztréonam. Les résultats vis-à-vis des souches NDM-5 sont résumés dans le **Tableau 7**.

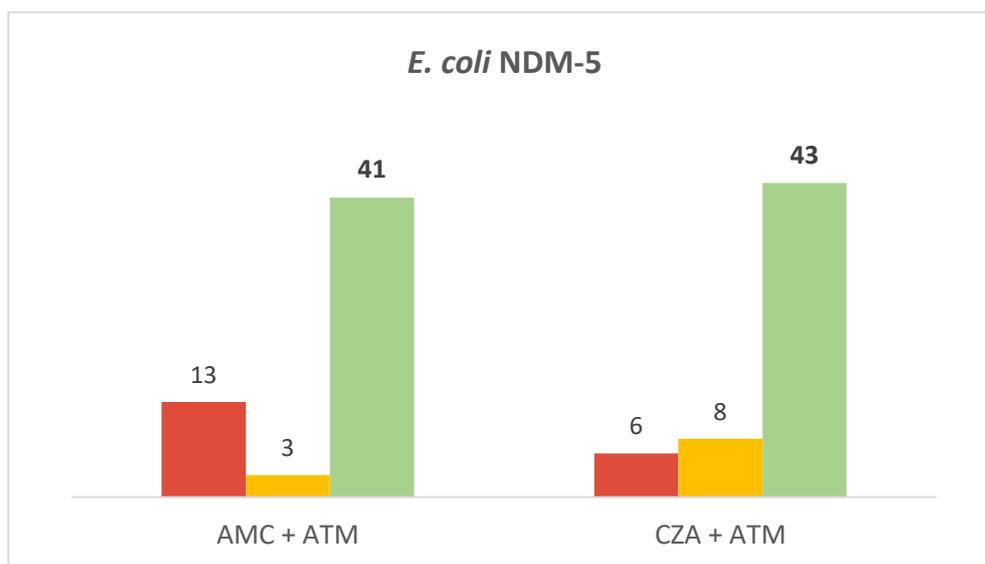
**Tableau 7 : CMI et catégorisation clinique des isolats *E. coli* NDM-5 vis-à-vis de l'aztréonam + inhibiteur selon le CLSI**

Numéro de souche	CMI (mg/L)		Numéro de souche	CMI (mg/L)	
	AMC + ATM	CZA + ATM		AMC + ATM	CZA + ATM
1	48	8	30	32	16
2	2	3	31	0,38	0,094
3	0,75	0,5	32	48	16
4	4	0,38	33	4	0,125
5	3	2	34	12	0,38
6	4	3	35	12	0,38
7	0,38	0,125	36	0,25	0,094
8	0,25	0,064	37	1	0,094
9	3	3	38	0,25	0,064
10	2	1,5	39	0,25	0,064
11	2	2	40	1,5	0,75
12	0,25	0,047	41	0,25	0,064
13	1,5	1	42	0,38	0,125
14	32	8	43	0,38	0,125
15	3	3	44	0,25	0,047
16	12	8	45	0,25	0,064
17	32	8	46	0,25	0,064
18	1,5	1	47	24	16
19	1,5	1,5	48	24	12
20	24	6	49	4	3
21	48	8	50	3	3
22	1,5	0,5	51	2	1,5
23	1,5	0,75	52	1,5	1
24	4	3	53	32	16
25	128	16	54	2	1,5
26	2	1,5	55	2	1,5
27	1,5	1	56	24	16
28	1,5	0,75	57	2	1
29	32	8			

■ Résistant ■ Intermédiaire

AMC : amoxicilline-acide clavulanique ; CZA : ceftazidime-avibactam ; ATM : aztréonam

Selon le CLSI, la sensibilité de l'aztréonam a été restaurée pour 72% ( $n = 41/57$ ) et 75% ( $n = 43/57$ ) des souches NDM-5 lorsque ce dernier était combiné respectivement à l'amoxicilline-acide clavulanique et au ceftazidime-avibactam (**Figure 26**).



AMX : amoxicilline-acide clavulanique ; CZA : ceftazidime-avibactam ; ATM : aztréonam

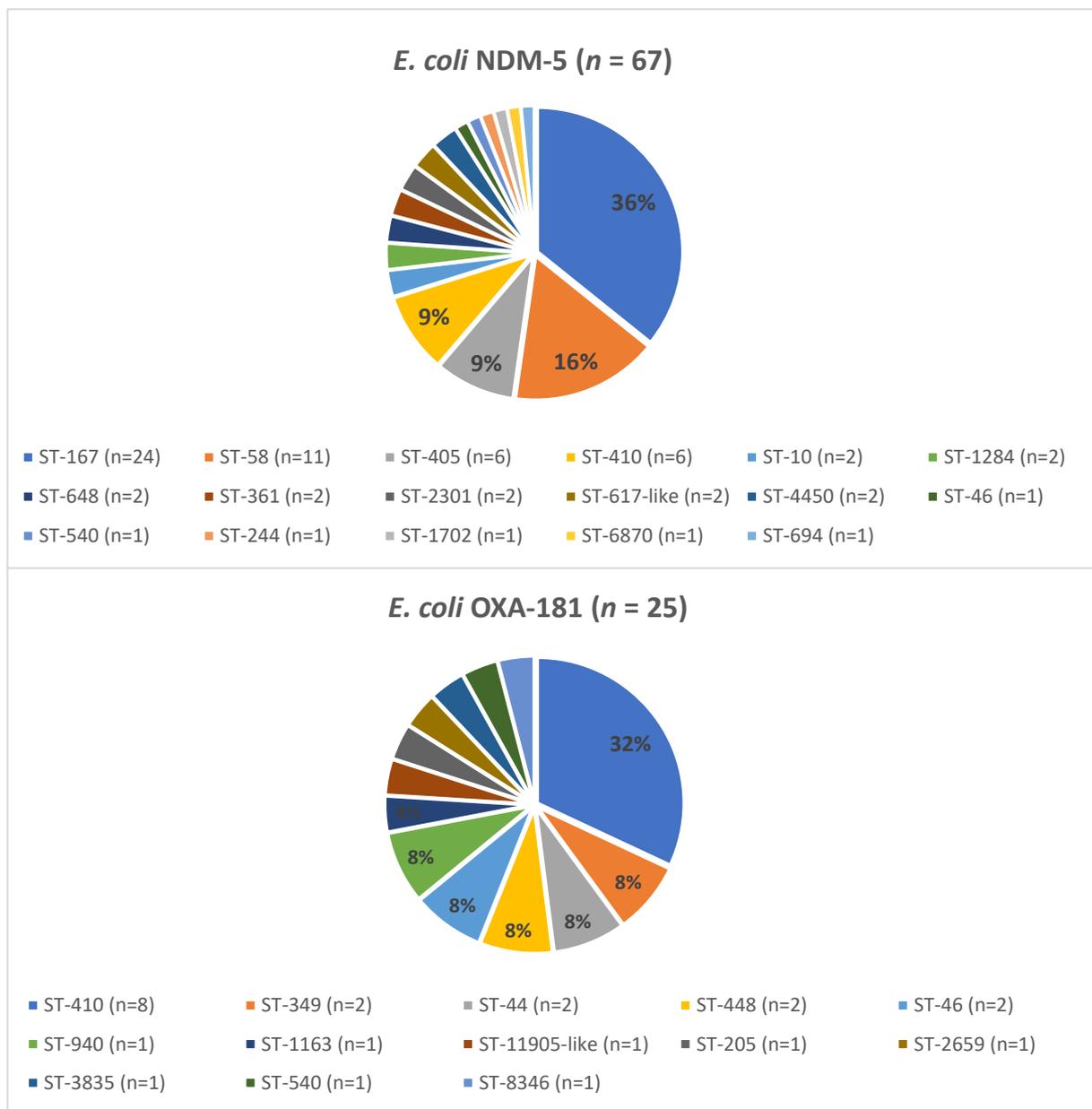
■ Résistant ■ Intermédiaire ■ Sensible

**Figure 26 : Évaluation de la sensibilité à l'aztréonam-inhibiteur chez *E. coli* NDM-5**

## 2.3.5. Analyse génotypique

### 2.3.5.1. Typage MLST

Nous avons identifié respectivement 17 et 13 STs différents pour les *E. coli* NDM-5 et OXA-181. La description de l'ensemble des souches et des STs est résumée en **annexe 2**. Parmi les souches NDM-5, le *sequence type* ST-167 était le plus répandu ( $n = 24/67$ ) suivi du ST-58 ( $n = 11/67$ ), ST-405 ( $n = 6/67$ ) et ST-410 ( $n = 6/67$ ). Pour les OXA-181, ST-410 était le type de séquence prédominant ( $n = 11/25$ ). Les autres ST ont été retrouvés de façon plus isolée et sont décrits dans la **Figure 27**.

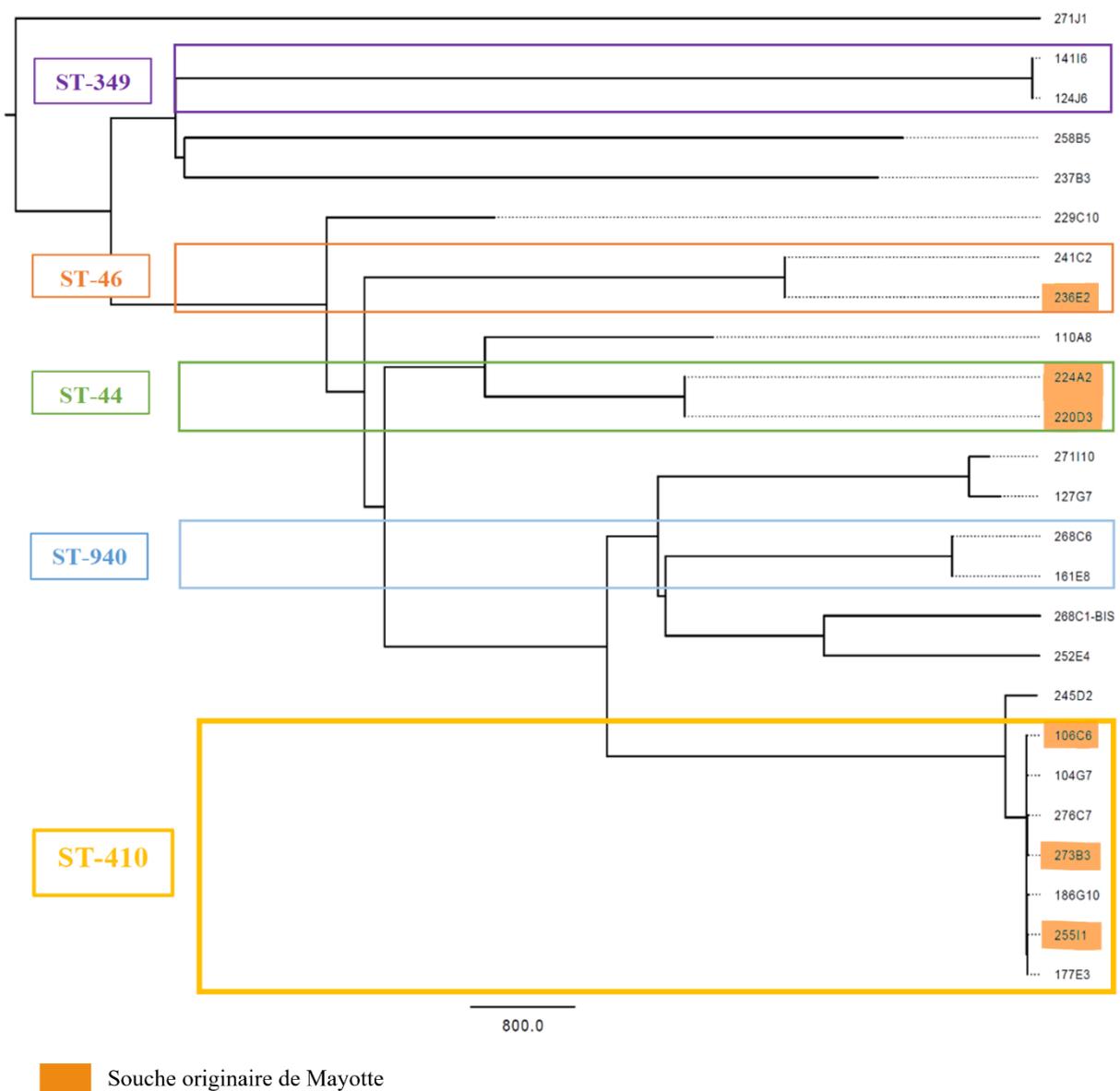


**Figure 27 : Répartition des *E. coli* NDM-5 et OXA-181 en fonction du *sequence type***

### 2.3.5.2. Analyse phylogénétique

Les relations phylogénétiques basées sur le polymorphisme mononucléotidique ou SNP (Single Nucleotide Polymorphism) des *E. coli* NDM-5 et OXA-181 sont représentées dans les dendrogrammes des **Figures 28 et 29**.

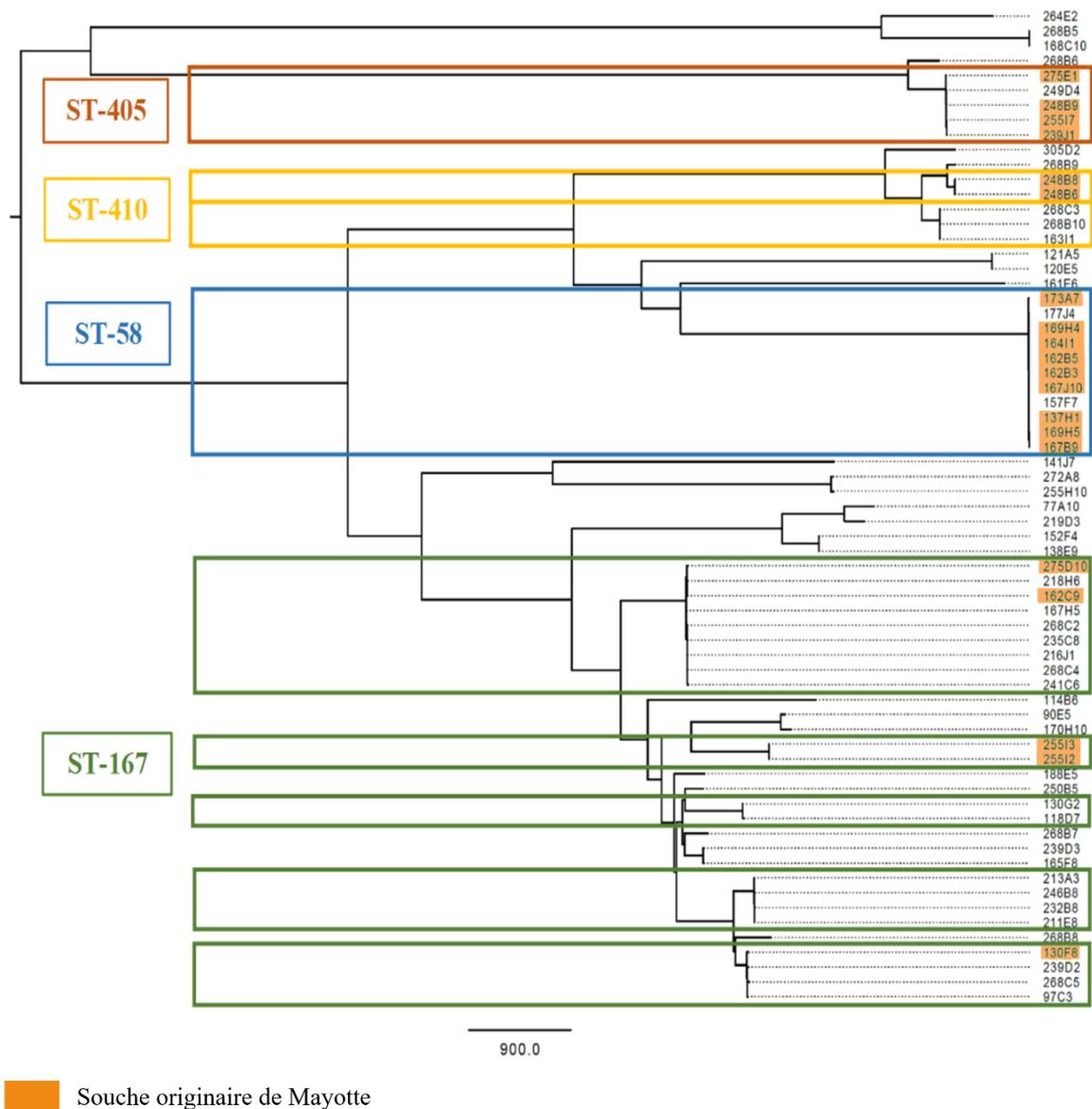
Concernant les souches *E. coli* OXA-181, nous avons identifié 5 clades au total. Le clade principal était au sein de la lignée ST-410 regroupant 7 souches (3 provenaient de Mayotte et 4 de La Réunion). Les autres clades comprenaient deux souches par groupe monophylétique et appartenaient au ST-44, ST-46, ST-349 et ST-940.



**Figure 28 : Arbre phylogénétique des 25 *E. coli* OXA-181 de La Réunion et Mayotte**

Parmi les *E. coli* NDM-5, nous avons identifié au total 14 clades. Le clade le plus important était celui au sein du ST-58 comprenant 11 souches (9 provenaient de Mayotte et 2 de La Réunion). ST-167 regroupait 5 groupes monophylétiques différents dont le plus grand clade comprenait 9 souches (2 de Mayotte et 7 de La Réunion). Pour le ST-405, un seul clade a été identifié et était formé de 5 souches (4 de Mayotte et 1 de La Réunion) tandis que le ST-410 comprenait 2 clades constitués respectivement de 2 souches mahoraises et 3 souches réunionnaises.

Les 5 autres clades correspondaient à des clades composés de deux souches appartenant au ST-361, ST-617-like, ST-648, ST-2301 et ST-4450 (par soucis de lisibilité, ces clades composés de 2 souches n'ont pas été individualisés sur la **Figure 29**, mais peuvent être visualisés en **annexe 3** correspondant à la matrice de SNPs).



**Figure 29 : Arbre phylogénétique des 67 *E. coli* OXA-181 de La Réunion et Mayotte**

## 2.4. Discussion

Depuis le premier signalement à La Réunion en 2011, le nombre de cas d'EPC n'a cessé d'augmenter. Cette croissance a connu un bond à partir de 2015 (6 souches en 2014 vs. 23 souches en 2015), pouvant être expliquée en partie par l'optimisation des stratégies de prévention mises en place (dispositifs de surveillance, prélèvements de dépistage) ainsi que par l'augmentation constante des évacuations sanitaires. Une légère baisse de l'incidence est néanmoins à noter en 2020, probablement liée à la crise de la COVID-19 ayant impactée les déplacements de populations ainsi que les EVASAN.

Concernant les données épidémiologiques à La Réunion, environ deux tiers (63%) des patients porteurs d'EPC étaient en lien avec l'étranger, principalement avec Mayotte, les Comores, Madagascar, Maurice et l'Inde. Le mécanisme de résistance le plus souvent retrouvé était de loin le type NDM (70%) suivi d'OXA-48-like (17%) et IMI (8%). Ces données sont bien corrélées aux études épidémiologiques locales de ces dernières années (6, 7, 98). En revanche, nous avons observé une différence sur l'espèce d'entérobactérie la plus souvent rencontrée. En effet, à partir de 2018, *E. coli* est devenue l'espèce prédominante parmi les EPC devant *K. pneumoniae*. Cela semble être lié à la diffusion récente des souches productrices des carbapénèmases NDM-5 et OXA-181, correspondant à des sous-types de carbapénèmases affiliées préférentiellement à l'espèce *E. coli*.

Pour les cas de *E. coli* NDM-5 et OXA-181, nous avons constaté un lien très important avec l'étranger. En effet, parmi les 38 patients porteurs de *E. coli* NDM-5, 33 (soit 87%) avaient une notion de séjour en dehors de l'île de La Réunion, notamment à Madagascar (42%) ainsi qu'à Mayotte et aux Comores (26%). Les mêmes observations ont été constatées pour les *E. coli* OXA-181 où les 17 patients (soit 100%) étaient en lien avec l'étranger ; dont la moitié avec Mayotte et les Comores (52%).

Les premiers cas d'importations de ces carbapénèmases NDM-5 et OXA-181 à La Réunion datent de 2015 et étaient originaires de Madagascar et d'Inde (*via* Maurice). Il est cependant intéressant de constater que ces premiers cas de *E. coli* NDM-5 et OXA-181 originaires des régions Est (Maurice et Inde) de 2015 et 2016 ont été très largement supplantés les années suivantes par ceux originaires des régions Ouest (Madagascar, Mayotte et Comores). Ces résultats épidémiologiques soulignent que ces régions Ouest sont fortement touchées par la diffusion de ces EPC et suggèrent également l'existence de foyers ou réservoirs dans cette zone du Sud-Ouest de l'océan Indien.

Pour l'analyse phénotypiques des 92 *E. coli* NDM-5 et OXA-181 provenant de La Réunion et de Mayotte, les niveaux de résistances étaient variables selon le sous-type étudié. Le profil de sensibilité des 67 isolats NDM-5 a montré une résistance quasi totale à toutes les bêta-lactamines testées à l'exception de l'aztréonam pour lequel 7 souches (10%) restaient sensibles. Ces résultats ont confirmé une activité hydrolytique puissante et connue des carbapénémases de type NDM-5 vis-à-vis des pénicillines (y compris les combinaisons bêta-lactamines/inhibiteur de bêta-lactamase), des céphalosporines et des carbapénèmes.

Pour l'aztréonam, bien que normalement plus stable vis-à-vis de l'hydrolyse des enzymes du groupe NDM, celui-ci a présenté une activité réduite pour la majorité des isolats NDM-5 (86% de souches résistantes et 4% intermédiaires), ce qui suggère une fréquente co-production de BLSE comme décrit par de nombreux auteurs (99-101). Une analyse plus exhaustive du génome serait toutefois intéressante afin d'identifier les gènes de résistances aux bêta-lactamines coexistant chez ces souches et ainsi affiner ces résultats.

Concernant le variant OXA-181, celui-ci possède généralement un profil hydrolytique similaire à OXA-48, à savoir une hydrolyse des pénicillines mais plus faible pour les carbapénèmes ainsi qu'une très faible activité envers les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération (23, 63, 66). Dans l'étude, nous avons constaté que les 25 isolats producteurs de l'enzyme OXA-181 (100%) étaient résistants à la pipéracilline-tazobactam, à la témocilline et à l'ertapénème mais possédaient une activité hydrolytique réduite vis-à-vis de l'imipénème et du méropénème avec respectivement 23 souches (soit 92%) sensibles par mesure des CMI. Comme attendu (de par les données de la littérature), nous avons observé également que 100% des isolats étaient sensibles à l'association ceftazidime-avibactam comparativement à la ceftazidime seule dont seulement un quart (24%) des souches étaient sensibles.

Cependant, l'ertapénème ainsi que la ceftazidime (qui est une C3G) sont normalement peu hydrolysées par les oxacillinases OXA-48 et OXA-181. Les taux de résistance élevés vis-à-vis de ces deux molécules semble suggérer un mécanisme cumulatif avec une coproduction de bêta-lactamases (24).

De plus, nous pouvons voir que l'ajout de l'avibactam (inhibiteur de bêta-lactamase) a inhibé de manière très efficace l'action hydrolytique des isolats OXA-181 confirmant que la ceftazidime-avibactam est une option thérapeutique pertinente contre les entérobactéries produisant OXA-181 détectées dans l'Océan Indien. Ces données confirment les connaissances de la littérature où la molécule ceftazidime-avibactam est décrite comme active sur les souches produisant des BLSE, céphalosporinase de type AmpC et certaines carbapénémases de classe A ou D (102, 103).

Concernant l'évaluation des résistances envers les autres molécules, nous avons observé que toutes les souches *E. coli* NDM-5 et OXA-181 étaient sensibles à la colistine et à la tigécycline. Par ailleurs, les isolats restaient relativement sensibles aux aminoglycosides, notamment à l'amikacine pour lequel 85% des NDM-5 et 100% des OXA-181 étaient catégorisées sensibles (63% et 60% respectivement pour la gentamycine).

Pour la fosfomycine, elles étaient également toutes sensibles à l'exception de 3 isolats NDM-5 provenant de Mayotte catégorisés résistants. Parmi ces derniers, une souche appartenait au groupe ST-694 tandis que les deux autres appartenait à ST-4450. L'analyse phylogénétique basée sur le polymorphisme mononucléotidique nous a confirmé par la suite que les deux souches de *E. coli* NDM-5 ST-4450 étaient clonales (< 20 SNP). Bien que la résistance à la fosfomycine soit rare et le plus souvent liée à une mutation chromosomique, plusieurs études ont signalé la coexistence de gènes de résistances à médiation plasmidiques notamment *fosA3* associée à des entérobactéries producteurs de BLSE, KPC et plus récemment chez *E. coli* hébergeant NDM-1 (104-106). Il serait ainsi intéressant de poursuivre l'analyse du résistome de ces 3 souches.

Nous avons également évalué dans cette étude l'efficacité *in vitro* de l'association aztréonam/amoxicilline-acide clavulanique et aztréonam/ceftazidime-avibactam vis-à-vis des souches NDM-5 catégorisées « R » (résistantes) à l'aztréonam seul. Selon le CLSI, la sensibilité à l'aztréonam a été restaurée de manière quasiment identique lorsque ce dernier était combiné à l'amoxicilline-acide clavulanique et à la ceftazidime-avibactam avec respectivement 72% ( $n = 41/57$ ) et 75% ( $n = 43/57$ ) des souches « S » (sensibles).

À noter que, selon les valeurs critiques du CA-SFM/EUCAST (2021), ces derniers taux (72% et 75%) correspondent à des souches « non résistantes », c'est à dire catégorisées « S » (sensibles) ou « I » (intermédiaires) ; avec respectivement 26% ( $n = 15/57$ ) et 47% ( $n = 27/57$ ) des souches « S » (sensibles) à l'association aztréonam/amoxicilline-acide clavulanique et aztréonam/ceftazidime-avibactam. Nos résultats sont cohérents avec ceux obtenus par l'équipe française Emeraud *et al.* ayant validé et testé *in vitro* les combinaisons aztréonam/inhibiteur vis-à-vis d'isolats producteurs de métallo-bêta-lactamases (96).

L'association aztréonam/avibactam est encore en cours d'essais cliniques pour le traitement des infections à bactéries à Gram négatif multirésistantes mais, semble déjà être une des options les plus intéressantes vis-à-vis des organismes producteurs de MBLs. Cependant, il existe peu de données sur les essais cliniques associant aztréonam-acide clavulanique bien que, l'efficacité *in vitro* semble être également intéressante et présente l'avantage d'être moins coûteux (96, 107).

Le typage MLST nous a montré qu'il existait une grande diversité des lignées clonales avec respectivement 17 et 13 groupes de STs différents pour les *E. coli* NDM-5 et OXA-181. Nous avons constaté des STs prédominants tels que ST-58, ST-167, ST-405 et ST-410 parmi lesquels certains sont connus pour être des clones épidémiques internationaux à haut risque (*E. coli* ST-410) ou destinés à le devenir (*E. coli* ST-167) (108). Ces résultats sont bien corrélés avec les principales lignées retrouvées à travers le monde chez *E. coli* NDM-5 et OXA-181 et soulignent des affiliations préférentielles entre certains STs et certaines EPC (109). Par ailleurs, plusieurs auteurs constatent ces dernières années, une évolution rapide du variant NDM-5 avec un changement de la prévalence dans certaines régions (Chine, Inde), où NDM-5 semble supplanter le sous-type NDM-1 notamment dans le milieu communautaire (110, 111).

L'analyse phylogénétique basée sur le polymorphisme mononucléotidique a montré la présence de nombreux clades au sein des différents STs.

Parmi les *E. coli* NDM-5, le clade le plus important a été identifié au sein du ST-58 regroupant 11 souches clonales avec une différence de 10 SNPs ou moins (Cf. matrice en **annexe 3**) dans leur *core genome*. Ces 11 souches étaient très étroitement liées et provenaient pour la majorité ( $n = 9/11$ ) du Centre Hospitalier de Mayotte (CHM). Les deux autres souches ont été isolées au Centre Hospitalier Felix Guyon (CHFG) de La Réunion chez des patients qui avaient un lien avec Mayotte dont un ayant bénéficié d'une EVASAN. Au vu de ces résultats et des dates d'hospitalisations des patients très rapprochées au sein du CHM (avril 2017 à juillet 2018), une épidémie nosocomiale peut être suspectée.

Concernant le ST-167, nous avons observé 5 clades dont la majorité des souches ( $n = 16/21$ ) ont été isolées à La Réunion et plus particulièrement au CHFG. À noter que sur ces 16 souches isolées au CHFG, 14 d'entre elles provenaient de patients ayant un lien avec Madagascar dont 5 étaient issus d'EVASAN. Dans le plus grand clade ( $n = 9$ ) de ST-167, les souches étaient étroitement liées avec une différence de 1 à 35 SNPs. Parmi ces dernières, 2 provenaient du CHM dont l'une est la première souche du cluster à avoir été détectée.

Au sein du ST-405, le clade était formé de 5 souches étroitement liées avec une différence de 12 SNPs ou moins dont 4 *E. coli* NDM-5 identifiées au CHM et une souche isolée au CHFG provenant d'un patient mahorais issu également d'une EVASAN.

Pour le ST-410, il existait 2 clades distincts. Le premier clade était constitué de 2 souches dont leur *core genome* ne différait que de 2 SNPs et identifiées chez des patients hospitalisés sur une même période (fév. 2018) au CHM, ce qui suggère une probable transmission croisée entre ces 2 patients.

L'autre clade de *E. coli* NDM-5 ST-410 comprenait 3 souches provenant de patients réunionnais sans notion de séjour à l'étranger et détectées dans différentes structures de l'île (Laboratoire Cerballiance, GHER, CHOR). Ce dernier point doit être pris avec attention, puisqu'il suggère une possible dissémination du groupe ST-410 sur l'île de La Réunion.

Pour les *E. coli* OXA-181, le clade comportant le plus grand nombre de souches appartenait au ST-410. Ce clade regroupait 7 souches étroitement liées avec une différence de 6 à 38 SNPs dont 3 étaient issues du CHM et 4 identifiées au CHFG de La Réunion. Les 4 souches réunionnaises provenaient respectivement de 3 patients originaires de l'archipel des Comores (dont 2 EVASAN) et un patient originaire de Maurice (EVASAN). La souche provenant de ce patient mauricien est la première à avoir été détectée parmi ce groupe ST-410.

Parmi les 8 autres clades composés seulement de 2 souches, aucun lien « spatio-temporel » n'a pu être établi pour suggérer une probable transmission croisée de patient à patient à l'exception de 2 clusters au sein du ST-4450 (NDM-5) et ST-46 (OXA-181) où les patients avaient été hospitalisés au CHM respectivement sur les mêmes périodes.

D'après ces résultats, nous pouvons donc constater que les souches « clonales » (appartenant au même clade) provenaient pour la majorité de patients en lien avec Mayotte et Madagascar. Ces régions semblent être la principale source d'importation des souches NDM-5 et OXA-181 à La Réunion, et ce malgré un nombre d'EVASAN équivalent à Maurice. Nous pouvons ainsi émettre l'hypothèse d'une forte dissémination de ces EPC dans ces 2 territoires (archipel des Comores dans sa globalité et Madagascar) avec une potentielle diffusion dans la population communautaire.

De plus, certaines souches clonalement reliées sont aujourd'hui retrouvées chez des patients réunionnais sans notion de voyage dans ces territoires. Ce constat est inquiétant et pose la question de la source d'exposition de ces patients sur le territoire réunionnais.

Il existe d'autre part de réelles associations entre les *sequence type* et l'origine géographique des patients porteurs de *E. coli* NDM-5 et OXA-181 (ST-58 et Mayotte ; ST-167 et Madagascar). Il serait intéressant d'effectuer une investigation plus poussée au niveau régional (Commission de l'Océan Indien) afin de mieux comprendre l'origine exacte de ces émergences et savoir si la dissémination de ces clones épidémiques est d'origine hospitalière ou communautaire dans ces îles voisines du Sud-Ouest de l'océan Indien.

## CONCLUSION

La diffusion des EPC à travers le monde est devenue durant ces deux dernières décennies un véritable problème de santé publique. À La Réunion, nous avons constaté une forte augmentation des EPC au cours de ces dix dernières années avec une prédominance depuis 2015-2016 des bêta-lactamases NDM-5 et OXA-181 chez l'espèce *E. coli*. L'analyse génotypique de ces dernières, nous a permis de mettre en évidence de nombreux clones épidémiques (clusters) dont les clades les plus importants appartenaient aux groupes clonaux ST-58, ST-167, ST-405 et ST-410. Les cas détectés étaient issus le plus souvent d'importations provenant des îles de Mayotte, des Comores et de Madagascar, qui semblent être des régions fortement touchées par l'émergence de ces EPC. De plus, certaines souches clonalement reliées sont aujourd'hui également retrouvées chez des patients réunionnais sans notion de séjour à l'étranger, un constat inquiétant qui suggère une possible dissémination sur l'île de La Réunion.

Il existe à ce jour peu d'options pour les traitements des infections causées par les EPC. Les approches thérapeutiques basées sur les antibiotiques tels que les bêta-lactamines et les aminoglycosides sont actuellement restreintes. Dans cette étude, nous avons observé une résistance quasi-totale à la plupart des bêta-lactamines pour les souches *E. coli* NDM-5, y compris pour l'aztréonam. Les sensibilités vis-à-vis de certaines molécules telles que la colistine ou de la tigécycline sont bonnes mais leur utilisation est de plus en plus limitée de par leur efficacité mitigée (notamment pulmonaire), leur toxicité et l'émergence de résistances. Il est donc important de développer et tester de nouveaux antibiotiques ou associations telles que les combinaisons de bêta-lactamines et inhibiteurs de bêta-lactamases potentiellement efficaces. Ici, nous avons pu évaluer l'efficacité *in vitro* de l'association aztréonam/inhibiteur de bêta-lactamase envers les souches NDM-5 avec une restauration de l'aztréonam très intéressante quand celui-ci était associé à l'acide clavulanique ou à l'avibactam. Au début de ce travail, les données cliniques et tests pour la nouvelle bêta-lactamine sidérophore qu'est le cefidérocol n'étant pas disponibles, celui-ci n'a pas été évalué dans notre étude.

Ce travail montre également que la caractérisation génotypique devient aujourd'hui une analyse primordiale pour un suivi épidémiologique efficace et une meilleure compréhension de l'origine et de la circulation de ces souches d'EPC. Un des futurs challenges du CHU de La Réunion sera de développer cette analyse en s'appuyant sur la plateforme de séquençage récemment créée au laboratoire de génétique ainsi que sur les collaborations avec le CNR de la Résistance aux antibiotiques.

La prochaine étape, qui fera l'objet d'un article de synthèse en tant que mémoire de DES, consistera à analyser plus précisément le support génétique (plasmidome) de ces 2 gènes de résistance *bla*<sub>NDM-5</sub> et *bla*<sub>OXA-181</sub> et leur caractère transférable en se basant sur une analyse présomptive basée sur le programme *mlplasmids* et sur un séquençage complémentaire de type « long reads » sur un sous-échantillonnage de souches.

En conclusion, nous pouvons dire que face à cette émergence des EPC et des impasses thérapeutiques qui se font de plus en plus ressentir, il est impératif d'optimiser les dispositifs de surveillance et de dépistage (en se focalisant sur les zones à risque) afin de contrôler au mieux la dissémination de ces souches à haut pouvoir épidémiogène et ainsi éviter d'aboutir dans les prochaines décennies à une ère post-antibiotique.

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. Magiorakos A-P, Srinivasan A, Carey RB, et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria : an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18:268-81.
2. HCSP. Maîtrise de la diffusion des BMR importées en France par des patients rapatriés ou ayant des antécédents d'hospitalisation à l'étranger [Internet]. Rapport de l'HCSP. Paris : Haut Conseil de la Santé Publique; 2010 [cité 30 mars 2022].  
Disponible sur : <https://www.hcsp.fr/explore.cgi/avisrapportsdomaine?clefr=201>
3. Pitout JD, Laupland KB. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae : an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis.* 2008;8:159-66.
4. Antibiothérapie des infections à entérobactéries et à *Pseudomonas aeruginosa* chez l'adulte : place des carbapénèmes et de leurs alternatives [Internet]. Haute Autorité de Santé. [cité 4 avr 2022]. Disponible sur : [https://www.has-sante.fr/jcms/c\\_2968915/fr/](https://www.has-sante.fr/jcms/c_2968915/fr/)
5. Nordmann P, Dortet L, Poirel L. Carbapenem resistance in Enterobacteriaceae : here is the storm! *Trends Mol Med.* 2012;18:263-72.
6. Holman AM, Allyn J, Miltgen G, et al. Surveillance of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in the Indian Ocean Region between January 2010 and December 2015. *Médecine Mal Infect.* 2017;47:333-9.
7. Seraphin P. Epidémiologie et mise en place des techniques de dépistage et de confirmation par biologie moléculaire des entérobactéries productrices de carbapénémases au CHU de La Réunion [Thèse d'exercice]. [2009-....., France] : Université de Strasbourg; 2019.
8. Miltgen G, Cholley P, Martak D, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae circulating in the Reunion Island, a French territory in the Southwest Indian Ocean. *Antimicrob Resist Infect Control.* 19 2020;9:36.
9. Miltgen G. Émergence et dynamique de diffusion des entérobactéries résistantes aux antibiotiques dans les DOM du Sud-Ouest de l'Océan Indien dans une approche One Health [Internet] [These de doctorat]. La Réunion; 2021 [cité 22 mars 2022].  
Disponible sur : <https://www.theses.fr/2021LARE0009>
10. Park Y, Choi Q, Kwon GC, et al. Emergence and transmission of New Delhi metallo-beta-lactamase-5-producing *Escherichia coli* Sequence Type 361 in a Tertiary Hospital in South Korea. *J Clin Lab Anal.* 2020;34:e23041.

11. Sharma G, Sharma S, Sharma P, et al. *Escherichia coli* biofilm : development and therapeutic strategies. J Appl Microbiol. 2016;121:309-19.
12. Stokes HW, Gillings MR. Gene flow, mobile genetic elements and the recruitment of antibiotic resistance genes into Gram-negative pathogens. FEMS Microbiol Rev. 2011;35:790-819.
13. Poirel L, Madec J-Y, Lupo A, et al. Antimicrobial Resistance in *Escherichia coli*. Microbiol Spectr. 2018;6.
14. Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century : characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. Clin Microbiol Rev. 2001;14:933-51, table of contents.
15. Doumith M, Ellington MJ, Livermore DM, Woodford N. Molecular mechanisms disrupting porin expression in ertapenem-resistant *Klebsiella* and *Enterobacter* spp. clinical isolates from the UK. J Antimicrob Chemother. 2009;63:659-67.
16. Nordmann P, Poirel L. Epidemiology and Diagnostics of Carbapenem Resistance in Gram-negative Bacteria. Clin Infect Dis Off Publ Infect Dis Soc Am. 2019;69:S521-8.
17. Potter RF, D'Souza AW, Dantas G. The rapid spread of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae. Drug Resist Updat Rev Comment Antimicrob Anticancer Chemother. 2016;29:30-46.
18. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases : the Versatile  $\beta$ -Lactamases. Clin Microbiol Rev [Internet]. 2007 [cité 11 janv 2022];  
Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/CMR.00001-07>
19. Jeon JH, Lee JH, Lee JJ, et al. Structural Basis for Carbapenem-Hydrolyzing Mechanisms of Carbapenemases Conferring Antibiotic Resistance. Int J Mol Sci. 2015;16:9654-92.
20. Chakraborty T, Sadek M, Yao Y, et al. Cross-Border Emergence of *Escherichia coli* Producing the Carbapenemase NDM-5 in Switzerland and Germany. J Clin Microbiol. 59:e02238-20.
21. Hornsey M, Phee L, Wareham DW. A Novel Variant, NDM-5, of the New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase in a Multidrug-Resistant *Escherichia coli* ST648 Isolate Recovered from a Patient in the United Kingdom. Antimicrob Agents Chemother [Internet]. 2011 [cité 5 f vr 2022];  
Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.05108-11>

22. Pitout JDD, Peirano G, Kock MM, Strydom K-A, Matsumura Y. The Global Ascendency of OXA-48-Type Carbapenemases. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2019 [cité 15 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/CMR.00102-19>
23. Potron A, Nordmann P, Lafeuille E, et al. Characterization of OXA-181, a carbapenem-hydrolyzing class D beta-lactamase from *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. oct 2011;55:4896-9.
24. Nordmann P, Gniadkowski M, Giske CG, et al. Identification and screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Infect*. 2012;18:432-8.
25. Lee C-R, Lee JH, Park KS, et al. Global Dissemination of Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* : Epidemiology, Genetic Context, Treatment Options, and Detection Methods. *Front Microbiol* [Internet]. 2016 [cité 3 févr 2022];7. Disponible sur : <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.00895>
26. Yong D, Toleman MA, Giske CG, et al. Characterization of a New Metallo- $\beta$ -Lactamase Gene, blaNDM-1, and a Novel Erythromycin Esterase Gene Carried on a Unique Genetic Structure in *Klebsiella pneumoniae* Sequence Type 14 from India. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2009 [cité 4 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.00774-09>
27. Kumarasamy KK, Toleman MA, Walsh TR, et al. Emergence of a new antibiotic resistance mechanism in India, Pakistan, and the UK : a molecular, biological, and epidemiological study. *Lancet Infect Dis*. 2010;10:597-602.
28. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Worldwide Dissemination of the NDM-Type Carbapenemases in Gram-Negative Bacteria. *BioMed Res Int*. 2014;2014:e249856.
29. Farhat N, Khan AU. Evolving trends of New Delhi Metallo-beta-lactamase (NDM) variants : A threat to antimicrobial resistance. *Infect Genet Evol*. 2020;86:104588.
30. Wu W, Feng Y, Tang G, et al. NDM Metallo- $\beta$ -Lactamases and Their Bacterial Producers in Health Care Settings. *Clin Microbiol Rev* [Internet]. 2019 [cité 4 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/CMR.00115-18>
31. Dadashi M, Yaslianifard S, Hajikhani B, et al. Frequency distribution, genotypes and prevalent sequence types of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* among clinical isolates around the world : A review. *J Glob Antimicrob Resist*. 2019;19:284-93.

32. Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:821-30.
33. Wailan AM, Paterson DL. The spread and acquisition of NDM-1 : a multifactorial problem. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2014;12:91-115.
34. Yang P, Xie Y, Feng P, et al. blaNDM-5 Carried by an IncX3 Plasmid in *Escherichia coli* Sequence Type 167. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2014 [cité 6 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.03911-14>
35. Zhu Y-Q, Zhao J-Y, Xu C, et al. Identification of an NDM-5-producing *Escherichia coli* Sequence Type 167 in a Neonatal Patient in China. *Sci Rep.* 2016;6:29934.
36. Zhang F, Xie L, Wang X, et al. Further Spread of blaNDM-5 in Enterobacteriaceae via IncX3 Plasmids in Shanghai, China. *Front Microbiol* [Internet]. 2016 [cité 7 févr 2022];7. Disponible sur : <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2016.00424>
37. Krishnaraju M, Kamatchi C, Jha A, et al. Complete sequencing of an IncX3 plasmid carrying blaNDM-5 allele reveals an early stage in the dissemination of the blaNDM gene. *Indian J Med Microbiol.* 2015;33:30-8.
38. Ranjan A, Shaik S, Mondal A, et al. Molecular Epidemiology and Genome Dynamics of New Delhi Metallo- $\beta$ -Lactamase-Producing Extraintestinal Pathogenic *Escherichia coli* Strains from India. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2016 [cité 7 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.01345-16>
39. Rahman M, Shukla SK, Prasad KN, et al. Prevalence and molecular characterisation of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamases NDM-1, NDM-5, NDM-6 and NDM-7 in multidrug-resistant Enterobacteriaceae from India. *Int J Antimicrob Agents.* 2014;44:30-7.
40. Shrestha B, Tada T, Shimada K, et al. Emergence of Various NDM-Type-Metallo- $\beta$ -Lactamase-Producing *Escherichia coli* Clinical Isolates in Nepal. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2017 [cité 7 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.01425-17>
41. Pitart C, Solé M, Roca I, Román A, et al. Molecular Characterization of blaNDM-5 Carried on an IncFII Plasmid in an *Escherichia coli* Isolate from a Nontraveler Patient in Spain. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 13 oct 2014 [cité 6 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.04040-14>

42. Baraniak A, Izdebski R, Fiett J, et al. NDM-producing Enterobacteriaceae in Poland, 2012–14 : inter-regional outbreak of *Klebsiella pneumoniae* ST11 and sporadic cases. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:85-91.
43. Hammerum AM, Hansen F, Olesen B, et al. Investigation of a possible outbreak of NDM-5-producing ST16 *Klebsiella pneumoniae* among patients in Denmark with no history of recent travel using whole-genome sequencing. *J Glob Antimicrob Resist.* 2015;3:219-21.
44. Bathoorn E, Rossen JW, Lokate M, et al. Isolation of an NDM-5-producing ST16 *Klebsiella pneumoniae* from a Dutch patient without travel history abroad, August 2015. *Eurosurveillance.* 2015;20:30040.
45. Valentin T, Feierl G, Masoud-Landgraf L, et al. *Proteus mirabilis* harboring carbapenemase NDM-5 and ESBL VEB-6 detected in Austria. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2018;91:284-6.
46. Hu X, Xu X, Wang X, et al. Diversity of New Delhi metallo-beta-lactamase-producing bacteria in China. *Int J Infect Dis.* 2017;55:92-5.
47. Yang L, Hu X, Xu X, et al. *Salmonella enterica* serovar Typhimurium ST34 co-expressing blaNDM-5 and blaCTX-M-55 isolated in China. *Emerg Microbes Infect.* 2017;6:1-3.
48. Li X, Fu Y, Shen M, al. Dissemination of blaNDM-5 gene via an IncX3-type plasmid among non-clonal *Escherichia coli* in China. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2018;7:59.
49. Zheng B, Xu H, Yu X, et al. Identification and genomic characterization of a KPC-2-, NDM-1- and NDM-5-producing *Klebsiella michiganensis* isolate. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73:536-8.
50. Zhai Y, Lee S, Teng L, et al. Dissemination mechanisms of NDM genes in hospitalized patients. *JAC-Antimicrob Resist.* 2021;3:dlab032.
51. Guo X, Rao Y, Guo L, et al. Detection and Genomic Characterization of a *Morganella morganii* Isolate From China That Produces NDM-5. *Front Microbiol* [Internet]. 2019 [cité 10 févr 2022];10. Disponible sur : <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fmicb.2019.01156>
52. Ahmad N, Ali SM, Khan AU. Detection of New Delhi Metallo-β-Lactamase Variants NDM-4, NDM-5, and NDM-7 in *Enterobacter aerogenes* Isolated from a Neonatal Intensive Care Unit of a North India Hospital : A First Report. *Microb Drug Resist.* 2018;24:161-5.
53. Pan F, Xu Q, Zhang H. Emergence of NDM-5 Producing Carbapenem-Resistant *Klebsiella aerogenes* in a Pediatric Hospital in Shanghai, China. *Front Public Health.* 2021;9:621527.

54. Bibbolino G, Di Lella FM, Oliva A, et al. Molecular epidemiology of NDM-5-producing *Escherichia coli* high-risk clones identified in two Italian hospitals in 2017-2019. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2021;100:115399.
55. Alba P, Taddei R, Cordaro G, et al. Carbapenemase IncF-borne blaNDM-5 gene in the *E. coli* ST167 high-risk clone from canine clinical infection, Italy. *Vet Microbiol*. 2021;256:109045.
56. Poirel L, Héritier C, Tolün V, et al. Emergence of Oxacillinase-Mediated Resistance to Imipenem in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2004;48:15-22.
57. Mairi A, Pantel A, Sotto A, et al. OXA-48-like carbapenemases producing Enterobacteriaceae in different niches. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2018;37:587-604.
58. Castanheira M, Doyle TB, Collingsworth TD, et al. Increasing frequency of OXA-48-producing Enterobacteriales worldwide and activity of ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam and comparators against these isolates. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76:3125-34.
59. Castanheira M, Deshpande LM, Mathai D, et al. Early Dissemination of NDM-1- and OXA-181-Producing Enterobacteriaceae in Indian Hospitals : Report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2006-2007. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2010 [cité 16 févr 2022];  
Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.01497-10>
60. Poirel L, Ros A, Carricajo A, et al. Extremely Drug-Resistant *Citrobacter freundii* Isolate Producing NDM-1 and Other Carbapenemases Identified in a Patient Returning from India. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2010 [cité 16 févr 2022];  
Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.01305-10>
61. Kalpoe JS, Al Naiemi N, Poirel L, Nordmann P 2011. Detection of an Ambler class D OXA-48-type  $\beta$ -lactamase in a *Klebsiella pneumoniae* strain in The Netherlands. *J Med Microbiol*. 60:677-8.
62. Williamson DA, Heffernan H, Sidjabat H, et al. Intercontinental transfer of OXA-181-producing *Klebsiella pneumoniae* into New Zealand. *J Antimicrob Chemother*. 2011;66:2888-90.
63. Evans BA, Amyes SG. OXA  $\beta$ -Lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2014;27:241-63.

64. McGann P, Snesrud E, Ong AC, et al. War Wound Treatment Complications Due to Transfer of an IncN Plasmid Harboring blaOXA-181 from *Morganella morganii* to CTX-M-27-Producing Sequence Type 131 *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother*. 59:3556-62.
65. Meunier D, Doumith M, Findlay J, et al. Carbapenem resistance mediated by blaOXA-181 in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71:2056-7.
66. Poirel L, Potron A, Nordmann P. OXA-48-like carbapenemases : the phantom menace. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67:1597-606.
67. Rojas LJ, Hujer AM, Rudin SD, et al. NDM-5 and OXA-181 Beta-Lactamases, a Significant Threat Continues To Spread in the Americas. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2017 [cité 16 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.00454-17>
68. Qin S, Cheng J, Wang P, et al. Early emergence of OXA-181-producing *Escherichia coli* ST410 in China. *J Glob Antimicrob Resist*. 2018;15:215-8.
69. Tufic-Garutti S dos S, Ramalho JVAR, Longo LG de A, al. Acquisition of antimicrobial resistance determinants in Enterobacterales by international travelers from a large urban setting in Brazil. *Travel Med Infect Dis*. 2021;41:102028.
70. Gauthier L, Dortet L, Cotellon G, et al. Diversity of Carbapenemase-Producing *Escherichia coli* Isolates in France in 2012-2013. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2018 [cité 16 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.00266-18>
71. Gay N, Belmonte O, Collard J-M, et al. Review of Antibiotic Resistance in the Indian Ocean Commission : A Human and Animal Health Issue. *Front Public Health* [Internet]. 2017 [cité 17 févr 2022];5. Disponible sur : <https://www.frontiersin.org/article/10.3389/fpubh.2017.00162>
72. Poirel L, Lascols C, Bernabeu S, et al. NDM-1-Producing *Klebsiella pneumoniae* in Mauritius. *Antimicrob Agents Chemother* [Internet]. 2011 [cité 17 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/AAC.05639-11>
73. Chereau F, Herindrainy P, Garin B, et al. Colonization of Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase- and NDM-1-Producing Enterobacteriaceae among Pregnant Women in the Community in a Low-Income Country : a Potential Reservoir for Transmission of Multiresistant Enterobacteriaceae to Neonates. *Antimicrob Agents Chemother*. 59:3652-5.

74. Miltgen G, Bonnin RA, Avril C, et al. Outbreak of IMI-1 carbapenemase-producing colistin-resistant *Enterobacter cloacae* on the French island of Mayotte (Indian Ocean). *Int J Antimicrob Agents*. 2018;52:416-20.
75. SPF. Caractéristiques et évolution des souches d'entérobactéries productrices de carbapénémases (EPC) isolées en France, 2012-2020 [Internet]. [cité 5 mars 2022]. Disponible sur : <https://www.santepubliquefrance.fr/import/caracteristiques-et-evolution-des-souches-d-enterobacteries-productrices-de-carbapenemases-epc-isolees-en-france-2012-2020>
76. Cabanes F, Lemant J, Picot S, et al. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* and *Salmonella* Metallo-Beta-Lactamase (NDM-1) Producers on Reunion Island. *J Clin Microbiol*. 2012;50:3812-3812.
77. Dortet L, Cuzon G, Plésiat P, et al. Prospective evaluation of an algorithm for the phenotypic screening of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother*. 2016;71:135-40.
78. CASFM / EUCAST AVRIL 2021 V1.0 [Internet]. Société Française de Microbiologie. 2021 [cité 18 févr 2022]. Disponible sur : <https://www.sfm-microbiologie.org/2021/04/23/casfm-avril-2021-v1-0/>
79. CNR Résistance aux antibiotiques - Expertise des souches [Internet]. [cité 20 févr 2022]. Disponible sur : <https://www.cnr-resistance-antibiotiques.fr/expertise-des-souches-1.html>
80. Pasteran F, Gonzalez LJ, Albornoz E, et al. Triton Hodge Test : Improved Protocol for Modified Hodge Test for Enhanced Detection of NDM and Other Carbapenemase Producers. *J Clin Microbiol*. 2016;54:640-9.
81. Tamma PD, Simner PJ. Phenotypic Detection of Carbapenemase-Producing Organisms from Clinical Isolates. *J Clin Microbiol*. 56:e01140-18.
82. Girlich D, Poirel L, Nordmann P. Value of the Modified Hodge Test for Detection of Emerging Carbapenemases in Enterobacteriaceae. *J Clin Microbiol* [Internet]. 2012 [cité 21 févr 2022]; Disponible sur : <https://journals.asm.org/doi/abs/10.1128/JCM.05247-11>
83. Nordmann P, Poirel L, Dortet L. Rapid Detection of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae - Volume 18, Number 9—September 2012 - Emerging Infectious Diseases journal - CDC. [cité 21 févr 2022]; Disponible sur : [https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/18/9/12-0355\\_article](https://wwwnc.cdc.gov/eid/article/18/9/12-0355_article)

84. Dortet L, Bréchar d L, Poirel L, et al. Rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae from blood cultures. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20:340-4.
85. Bernabeu S, Dortet L, Naas T. Evaluation of the  $\beta$ -CARBA<sup>TM</sup> test, a colorimetric test for the rapid detection of carbapenemase activity in Gram-negative bacilli. *J Antimicrob Chemother.* 2017;72:1646-58.
86. Dortet L, Tandé D, de Briel D, et al. MALDI-TOF for the rapid detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae : comparison of the commercialized MBT STAR<sup>®</sup>-Carba IVD Kit with two in-house MALDI-TOF techniques and the RAPIDEC<sup>®</sup> CARBA NP. *J Antimicrob Chemother.* 2018;73:2352-9.
87. Gauthier L, Bonnin RA, Dortet L, et al. Retrospective and prospective evaluation of the Carbapenem inactivation method for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *PLOS ONE.* 2017;12:e0170769.
88. OXA-48 K-SeT Diagnostic rapide - Carbapenemase OXA-48-like [Internet]. [cité 22 févr 2022]. Disponible sur: <https://www.corisbio.com/products/oxa-48/>
89. CARBAPÉNEMASES – NG Biotech [Internet]. [cité 22 févr 2022]. Disponible sur : <https://www.ngbiotech.com/carbapenemases/>
90. Dortet L, Jousset A, Sainte-Rose V, et al. Prospective evaluation of the OXA-48 K-SeT assay, an immunochromatographic test for the rapid detection of OXA-48-type carbapenemases. *J Antimicrob Chemother.* 2016;71:1834-40.
91. Huang T-D, Poirel L, Bogaerts P, Berhin C, Nordmann P, Glupczynski Y. Temocillin and piperacillin/tazobactam resistance by disc diffusion as antimicrobial surrogate markers for the detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in geographical areas with a high prevalence of OXA-48 producers. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69:445-50.
92. Garcia-Quintanilla M, Poirel L, Nordmann P. CHROMagar mSuperCARBA and RAPIDEC<sup>®</sup> Carba NP test for detection of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1 févr 2018;90:77-80.
93. Dortet L, Fusaro M, Naas T. Improvement of the Xpert Carba-R Kit for the Detection of Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Antimicrob Agents Chemother.* 2016;60:3832-7.
94. Bush K, Bradford PA. Epidemiology of  $\beta$ -Lactamase-Producing Pathogens. *Clin Microbiol Rev.* 33:e00047-19.

95. Alm RA, Johnstone MR, Lahiri SD. Characterization of *Escherichia coli* NDM isolates with decreased susceptibility to aztreonam/avibactam : role of a novel insertion in PBP3. *J Antimicrob Chemother.* 2015;70:1420-8.
96. Emeraud C, Escaut L, Boucly A, et al. Aztreonam plus Clavulanate, Tazobactam, or Avibactam for Treatment of Infections Caused by Metallo- $\beta$ -Lactamase-Producing Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2019;63.
97. M100Ed32 | Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing, 32nd Edition [Internet]. Clinical & Laboratory Standards Institute. [cité 2 mars 2022].  
Disponible sur : <https://clsi.org/standards/products/microbiology/documents/m100/>
98. Miltgen G, Cholley P, Martak D, et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae circulating in the Reunion Island, a French territory in the Southwest Indian Ocean. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2020;9:36.
99. Rodríguez-Baño J, Gutiérrez-Gutiérrez B, Machuca I, et al. Treatment of Infections Caused by Extended-Spectrum-Beta-Lactamase-, AmpC-, and Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae. *Clin Microbiol Rev.* 31:e00079-17.
100. Tzouvelekis LS, Markogiannakis A, Psychogiou M, et al. Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* and Other Enterobacteriaceae : an Evolving Crisis of Global Dimensions. *Clin Microbiol Rev.* 2012;25:682-707.
101. Gajamer VR, Bhattacharjee A, Paul D, et al. *Escherichia coli* encoding blaNDM-5 associated with community-acquired urinary tract infections with unusual MIC creep-like phenomenon against imipenem. *J Glob Antimicrob Resist.* 2018;14:228-32.
102. Yahav D, Giske CG, Grāmatniece A, Abodakpi H, Tam VH, Leibovici L. New  $\beta$ -Lactam- $\beta$ -Lactamase Inhibitor Combinations. *Clin Microbiol Rev.* 34:e00115-20.
103. van Duin D, Bonomo RA. Ceftazidime/Avibactam and Ceftolozane/Tazobactam : Second-generation  $\beta$ -Lactam/ $\beta$ -Lactamase Inhibitor Combinations. *Clin Infect Dis.* 2016;63:234-41.
104. Qin S, Fu Y, Zhang Q, et al. High Incidence and Endemic Spread of NDM-1-Positive Enterobacteriaceae in Henan Province, China. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58:4275-82.

105. Tian X, Fang R, Wu Q, et al. Emergence of a multidrug-resistant ST 27 *Escherichia coli* co-harboring blaNDM-1, mcr-1, and fosA3 from a patient in China. *J Antibiot (Tokyo)*. 2020;73:636-41.
106. Silver LL. Fosfomycin : Mechanism and Resistance. *Cold Spring Harb Perspect Med*. 2017;7:a025262.
107. Sader HS, Carvalhaes CG, Arends SJR, et al. Aztreonam/avibactam activity against clinical isolates of Enterobacterales collected in Europe, Asia and Latin America in 2019. *J Antimicrob Chemother*. 2021;76:659-66.
108. Bleichenbacher S, Stevens MJA, Zurfluh K, et al. Environmental dissemination of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in rivers in Switzerland. *Environ Pollut*. 2020;265:115081.
109. Safavi M, Bostanshirin N, Hajikhani B, et al. Global genotype distribution of human clinical isolates of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*; A systematic review. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;23:420-9.
110. Paul D, Babenko D, Toleman MA. Human carriage of cefotaxime-resistant *Escherichia coli* in North-East India : an analysis of STs and associated resistance mechanisms. *J Antimicrob Chemother*. 1 janv 2020;75:72-6.
111. Shen Z, Hu Y, Sun Q, et al. Emerging Carriage of NDM-5 and MCR-1 in *Escherichia coli* From Healthy People in Multiple Regions in China : A Cross Sectional Observational Study. *EClinicalMedicine*. 2018;6:11-20.

## ANNEXES

### Annexe 1 : Biothèque des 271 EPC à La Réunion de 2010 à 2020

N°	Bactérie	Carbapénèmase	N°	Bactérie	Carbapénèmase
1	<i>E. aerogenes</i>	OXA-48	137	<i>C. freundii</i>	NDM-1
2	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	138	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
3	<i>E. coli</i>	OXA-232	139	<i>E. coli</i>	OXA-181
4	<i>S. enterica</i> subs <i>enterica</i>	NDM-1	140	<i>E. hormaechei</i>	NDM-1
5	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	141	<i>E. coli</i>	NDM-5
6	<i>E. coli</i>	NDM-1	142	<i>E. cloacae</i>	IMI-1
7	<i>C. freundii</i>	NDM-1	143	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
8	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	144	<i>E. coli</i>	OXA-181
9	<i>E. coli</i>	NDM-1	145	<i>E. coli</i>	NDM-5
10	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	146	<i>E. cloacae</i>	NDM *
11	<i>E. coli</i>	NDM-6	147	<i>K. oxytoca</i>	NDM *
12	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	148	<i>E. coli</i>	NDM-5
13	<i>E. coli</i>	NDM-1	149	<i>E. coli</i>	NDM-5
14	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	150	<i>E. coli</i>	NDM-5
15	<i>C. freundii</i>	NDM-1	151	<i>E. hermanii</i>	NDM *
16	<i>E. coli</i>	NDM-1	152	<i>E. coli</i>	NDM-5
17	<i>P. mirabilis</i>	NDM-1	153	<i>E. coli</i>	OXA-181
18	<i>E. coli</i>	NDM-1 + VIM-2	154	<i>E. coli</i>	NDM-5
19	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	155	<i>E. coli</i>	NDM-5
20	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	156	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
21	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	157	<i>E. coli</i>	NDM-1
22	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	158	<i>K. pneumoniae</i>	NDM *
23	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	159	<i>E. coli</i>	NDM-5
24	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	160	<i>E. cloacae</i>	NDM *
25	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	161	<i>E. coli</i>	NDM-4
26	<i>E. coli</i>	NDM-4	162	<i>C. freundii</i>	NDM-1
27	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	163	<i>E. coli</i>	NDM-1
28	<i>E. coli</i>	NDM-5	164	<i>E. coli</i>	NDM-5
29	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-5	165	<i>E. coli</i>	NDM-1
30	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	166	<i>E. coli</i>	NDM *
31	<i>E. coli</i>	NDM *	167	<i>E. cloacae</i>	IMI-1
32	<i>E. coli</i>	NDM-5	168	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-5
33	<i>E. coli</i>	OXA-48	169	<i>E. coli</i>	OXA-181
34	<i>E. coli</i>	NDM-1	170	<i>E. coli</i>	NDM-5
35	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	171	<i>E. cloacae</i>	IMI-1
36	<i>E. coli</i>	NDM-5	172	<i>E. cloacae</i>	IMI-1
37	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	173	<i>K. pneumoniae</i>	NDM *
38	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	174	<i>E. coli</i>	OXA-181 + NDM-1
39	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	175	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-232
40	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	176	<i>E. coli</i>	NDM-5
41	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	177	<i>C. freundii</i>	VIM-4
42	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	178	<i>E. cloacae</i>	IMI-1
43	<i>E. coli</i>	NDM-5	179	<i>C. freundii</i>	VIM-4
44	<i>E. coli</i>	OXA-48	180	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181
45	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	181	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181

N°	Bactérie	Carbapénèmase	N°	Bactérie	Carbapénèmase
46	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	182	<i>E. cloacae</i>	IMI-1
47	<i>C. freundii</i>	NDM-1	183	<i>E. coli</i>	NDM-5
48	<i>S. marcescens</i>	IMP-10	184	<i>E. coli</i>	NDM-5
49	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	185	<i>E. coli</i>	NDM-5
50	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	186	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181
51	<i>C. freundii</i>	NDM-1	187	<i>E. coli</i>	OXA-48 type *
52	<i>E. coli</i>	OXA-181	188	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48 type *
53	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	189	<i>C. freundii</i>	OXA-48 type *
54	<i>S. marcescens</i>	IMP-10	190	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181
55	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1 + OXA-181	191	<i>E. coli</i>	NDM-6
56	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	192	<i>E. coli</i>	NDM-1
57	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	193	<i>E. cloacae</i>	NDM-6
58	<i>E. asburiae</i>	IMI-13	194	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
59	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	195	<i>E. coli</i>	OXA-181
60	<i>C. freundii</i>	NDM-1	196	<i>E. coli</i>	NDM-5
61	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	197	<i>E. cloacae</i>	IMI-1
62	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	198	<i>S. marcescens</i>	NDM-1
63	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-7	199	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181
64	<i>C. freundii</i>	NDM-1	200	<i>E. coli</i>	NDM-5
65	<i>C. freundii</i>	NDM-1	201	<i>C. freundii</i>	NDM-1
66	<i>S. marcescens</i>	IMP-10 like	202	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
67	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	203	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
68	<i>E. coli</i>	NDM-5	204	<i>E. coli</i>	OXA-181
69	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	205	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48 type *
70	<i>E. coli</i>	OXA-181	206	<i>E. coli</i>	NDM-5
71	<i>E. coli</i>	OXA-181	207	<i>E. coli</i>	NDM-5
72	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181	208	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48 type *
73	<i>E. coli</i>	NDM-4	209	<i>E. coli</i>	OXA-181
74	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	210	<i>E. coli</i>	NDM-5
75	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1 + OXA-181	211	<i>E. coli</i>	NDM *
76	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	212	<i>E. cloacae</i>	NDM *
77	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	213	<i>C. freundii</i>	NDM-1
78	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	214	<i>E. hermanii</i>	NDM-1
79	<i>E. coli</i>	NDM-1	215	<i>S. marcescens</i>	NDM-1
80	<i>C. freundii</i>	NDM-1	216	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181
81	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	217	<i>E. coli</i>	OXA-181
82	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	218	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
83	<i>C. freundii</i>	NDM-6	219	<i>E. coli</i>	NDM-5
84	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	220	<i>E. coli</i>	NDM-1
85	<i>C. freundii</i>	NDM-1	221	<i>E. cloacae</i>	NDM *
86	<i>E. coli</i>	NDM-5	222	<i>E. coli</i>	OXA-181 + NDM-1
87	<i>E. coli</i>	OXA-181	223	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
88	<i>C. freundii</i>	NDM-1	224	<i>C. freundii</i>	NDM-1
89	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	225	<i>E. coli</i>	NDM-5
90	<i>E. coli</i>	NDM-5	226	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
91	<i>E. coli</i>	NDM-1	227	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-232
92	<i>P. rettgeri</i>	NDM-1	228	<i>E. cloacae</i>	NDM-5
93	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48 type *	229	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
94	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	230	<i>E. coli</i>	OXA-181

N°	Bactérie	Carbapénèmase	N°	Bactérie	Carbapénèmase
95	<i>E. cloacae</i>	NDM *	231	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48 type *
96	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	232	<i>E. cloacae</i>	NDM *
97	<i>E. coli</i>	NDM-5	233	<i>C. amalonaticus/farmeri</i>	OXA-181
98	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	234	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-232
99	<i>C. freundii</i>	NDM-1	235	<i>E. coli</i>	NDM-1
100	<i>C. freundii</i>	NDM-1	236	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
101	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	237	<i>K. pneumoniae</i>	NDM *
102	<i>C. freundii</i>	NDM-1	238	<i>E. coli</i>	NDM-1
103	<i>E. coli</i>	NDM *	239	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
104	<i>E. coli</i>	NDM-5	240	<i>C. freundii</i>	NDM*
105	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	241	<i>E. coli</i>	NDM-1
106	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-5	242	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
107	<i>E. coli</i>	NDM-5	243	<i>E. coli</i>	NDM *
108	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	244	<i>K. oxytoca</i>	NDM *
109	<i>C. freundii</i>	NDM-1	245	<i>E. coli</i>	NDM-5
110	<i>C. freundii</i>	NDM-1	246	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
111	<i>E. coli</i>	OXA-181	247	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
112	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181	248	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
113	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-181	249	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
114	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	250	<i>E. cloacae</i>	NDM *
115	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	251	<i>E. coli</i>	OXA-48 type *
116	<i>E. coli</i>	NDM-5	252	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
117	<i>E. cloacae</i>	IMI-1	253	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
118	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	254	<i>K. pneumoniae</i>	NDM + OXA *
119	<i>E. coli</i>	NDM-5	255	<i>C. freundii</i>	NDM-1
120	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-5	256	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
121	<i>C. freundii</i>	OXA-181	257	<i>C. amalonaticus/farmeri</i>	NDM *
122	<i>E. coli</i>	NDM-5	258	<i>C. freundii</i>	NDM-1
123	<i>E. coli</i>	OXA-181 + NDM-5	259	<i>E. coli</i>	NDM-5
124	<i>E. cloacae</i>	OXA-181 + NDM-5	260	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
125	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-5	261	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
126	<i>E. cloacae</i>	IMI-2	262	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1
127	<i>K. pneumoniae</i>	OXA-232 + NDM-1	263	<i>E. coli</i>	NDM-1
128	<i>E. coli</i>	NDM-1	264	<i>E. coli</i>	OXA-181
129	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-1	265	<i>E. coli</i>	OXA-181
130	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	266	<i>E. coli</i>	NDM *
131	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	267	<i>K. pneumoniae</i>	NDM-5 + OXA-181
132	<i>C. freundii</i>	OXA-181	268	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
133	<i>K. pneumoniae</i>	NDM *	269	<i>K. oxytoca</i>	NDM-1
134	<i>E. coli</i>	NDM-5	270	<i>E. cloacae</i>	NDM-1
135	<i>E. cloacae</i>	NDM-1	271	<i>E. coli</i>	OXA-181
136	<i>E. coli</i>	OXA-244			

\* Sous type non déterminé

**Annexe 2 : Origine géographique et *sequence type* des 92 souches *E. coli* NDM-5 et OXA-181 à La Réunion et Mayotte**

N°	Réf. CNR	Type	Origine	ST	N°	Réf. CNR	Type	Origine	ST
1	77 A10	NDM-5	Réunion	ST-1284	47	249 D4	NDM-5	Réunion	ST-405
2	90 E5	NDM-5	Réunion	ST-10	48	250 B5	NDM-5	Mayotte	ST-167
3	97 C3	NDM-5	Réunion	ST-167	49	255 H10	NDM-5	Mayotte	ST-361
4	114 B6	NDM-5	Mayotte	ST-694	50	255 I2	NDM-5	Mayotte	ST-167
5	118 D7	NDM-5	Réunion	ST-167	51	255 I3	NDM-5	Mayotte	ST-167
6	120 E5	NDM-5	Mayotte	ST-4450	52	255 I7	NDM-5	Mayotte	ST-405
7	121 A5	NDM-5	Mayotte	ST-4450	53	264 E2	NDM-5	Réunion	ST-6870
8	130 F8	NDM-5	Mayotte	ST-167	54	268 B5	NDM-5	Réunion	ST-648
9	130 G2	NDM-5	Réunion	ST-167	55	268 B6	NDM-5	Réunion	ST-405
10	137 H1	NDM-5	Mayotte	ST-58	56	268 B7	NDM-5	Réunion	ST-167
11	138 E9	NDM-5	Mayotte	ST-617-like	57	268 B8	NDM-5	Réunion	ST-1702
12	141 J7	NDM-5	Réunion	ST-540	58	268 B9	NDM-5	Réunion	ST-410
13	152 F4	NDM-5	Réunion	ST-617-like	59	268 B10	NDM-5	Réunion	ST-410
14	157 F7	NDM-5	Réunion	ST-58	60	268 C2	NDM-5	Réunion	ST-167
15	161 E6	NDM-5	Réunion	ST-244	61	268 C3	NDM-5	Réunion	ST-410
16	162 B3	NDM-5	Mayotte	ST-58	62	268 C4	NDM-5	Réunion	ST-167
17	162 B5	NDM-5	Mayotte	ST-58	63	268 C5	NDM-5	Réunion	ST-167
18	162 C9	NDM-5	Mayotte	ST-167	64	272 A8	NDM-5	Mayotte	ST-361
19	163 I1	NDM-5	Réunion	ST-410	65	275 E1	NDM-5	Mayotte	ST-405
20	164 I1	NDM-5	Mayotte	ST-58	66	275 D10	NDM-5	Mayotte	ST-167
21	165 F8	NDM-5	Mayotte	ST-2301	67	305D2	NDM-5	Réunion	ST-46
22	167 B9	NDM-5	Mayotte	ST-58	68	104 G7	OXA-181	Réunion	ST-410
23	167 H5	NDM-5	Réunion	ST-167	69	106 C6	OXA-181	Mayotte	ST-410
24	167 J10	NDM-5	Mayotte	ST-58	70	110 A8	OXA-181	Mayotte	ST-3835
25	168 C10	NDM-5	Réunion	ST-648	71	124 J6	OXA-181	Réunion	ST-349
26	169 H4	NDM-5	Mayotte	ST-58	72	127 G7	OXA-181	Réunion	ST-448
27	169 H5	NDM-5	Mayotte	ST-58	73	141 I6	OXA-181	Réunion	ST-349
28	170 H10	NDM-5	Mayotte	ST-10	74	161 E8	OXA-181	Réunion	ST-940
29	173 A7	NDM-5	Mayotte	ST-58	75	177 E3	OXA-181	Réunion	ST-410
30	177 J4	NDM-5	Réunion	ST-58	76	186 G10	OXA-181	Réunion	ST-410
31	188 E5	NDM-5	Réunion	ST-167	77	220 D3	OXA-181	Mayotte	ST-44
32	211 E8	NDM-5	Réunion	ST-167	78	224 A2	OXA-181	Mayotte	ST-44
33	213 A3	NDM-5	Réunion	ST-167	79	229 C10	OXA-181	Réunion	ST-540
34	216 J1	NDM-5	Réunion	ST-167	80	236 E2	OXA-181	Mayotte	ST-46
35	218 H6	NDM-5	Réunion	ST-167	81	237 B3	OXA-181	Réunion	ST-2659
36	219 D3	NDM-5	Réunion	ST-1284	82	241 C2	OXA-181	Réunion	ST-46
37	232 B8	NDM-5	Réunion	ST-167	83	245 D2	OXA-181	Réunion	ST-410

N°	Réf. CNR	Type	Origine	ST	N°	Réf. CNR	Type	Origine	ST
38	<b>235 C8</b>	NDM-5	Réunion	<b>ST-167</b>	84	<b>252 E4</b>	OXA-181	Réunion	<b>ST-8346</b>
39	<b>239 D2</b>	NDM-5	Réunion	<b>ST-167</b>	85	<b>255 I1</b>	OXA-181	Mayotte	<b>ST-410</b>
40	<b>239 D3</b>	NDM-5	Réunion	<b>ST-2301</b>	86	<b>258 B5</b>	OXA-181	Mayotte	ST-11905-like
41	<b>239 J1</b>	NDM-5	Mayotte	<b>ST-405</b>	87	<b>268 C1</b>	OXA-181	Réunion	<b>ST-205</b>
42	<b>241 C6</b>	NDM-5	Réunion	<b>ST-167</b>	88	<b>268 C6</b>	OXA-181	Réunion	<b>ST-940</b>
43	<b>246 B8</b>	NDM-5	Réunion	<b>ST-167</b>	89	<b>271I7</b>	OXA-181	Réunion	<b>ST-448</b>
44	<b>248 B8</b>	NDM-5	Mayotte	<b>ST-410</b>	90	<b>271J1</b>	OXA-181	Réunion	<b>ST-1163</b>
45	<b>248 B6</b>	NDM-5	Mayotte	<b>ST-410</b>	91	<b>273 B3</b>	OXA-181	Mayotte	<b>ST-410</b>
46	<b>248 B9</b>	NDM-5	Mayotte	<b>ST-405</b>	92	<b>276C7</b>	OXA-181	Réunion	<b>ST-410</b>

*Réf. : référence*

**Annexe 3 : Matrice des 67 souches *E. coli* NDM-5**

Réf. CNR	ST	264E2	268B5	168C10	268B6	275E1	249D4	248B9	255I7	239J1	305D2	268B9	248B8	248B6	268C3	268B10	163I1	121A5	120E5	161E6
264E2	ST-6870	0																		
268B5	ST-648	2286	0	1																
168C10	ST-648	2287	1	0																
268B6	ST-405	15578	15742	15743	0															
275E1	ST-405	15605	15673	15674	618	0	12	10	9	10										
249D4	ST-405	15605	15673	15674	612	12	0	2	5	6										
248B9	ST-405	15603	15671	15672	610	10	2	0	3	4										
255I7	ST-405	15604	15672	15673	611	9	5	3	0	1										
239J1	ST-405	15605	15673	15674	612	10	6	4	1	0										
305D2	ST-46	16845	17045	17046	16614	16751	16753	16755	16756	16757	0									
268B9	ST-410	16867	17182	17183	16569	16706	16708	16710	16711	16712	1118	0								
248B8	ST-410	16871	17158	17159	16597	16734	16736	16738	16739	16740	1086	142	0	2						
248B6	ST-410	16871	17158	17159	16597	16734	16736	16738	16739	16740	1084	140	2	0						
268C3	ST-410	16875	17042	17043	16634	16771	16773	16775	16776	16777	1239	473	449	447	0	3	3			
268B10	ST-410	16872	17039	17040	16631	16768	16770	16772	16773	16774	1236	470	446	444	3	0	0			
163I1	ST-410	16872	17039	17040	16631	16768	16770	16772	16773	16774	1236	470	446	444	3	0	0			
121A5	ST-4450	17069	17255	17256	16687	16869	16873	16873	16874	16875	6917	7149	7167	7165	7262	7259	7259	0	2	
120E5	ST-4450	17071	17257	17258	16689	16871	16875	16875	16876	16877	6919	7151	7169	7167	7264	7261	7261	2	0	
161E6	ST-224	16974	17211	17212	16600	16778	16782	16782	16783	16784	7234	7459	7465	7463	7525	7522	7522	6509	6511	0

Réf. : référence

Mayotte

Réunion

Réf. CNR	ST	173A7	177J4	169H4	164I1	162B5	162B3	167J10	157F7	137H1	169H5	167B9	141J7	272A8	255H10	77A10	219D3	152F4	138E9
173A7	ST-58	0	3	3	4	4	5	7	5	7	10	9							
177J4	ST-58	3	0	0	1	1	2	4	2	4	7	6							
169H4	ST-58	3	0	0	1	1	2	4	2	4	7	6							
164I1	ST-58	4	1	1	0	0	1	3	1	3	6	5							
162B5	ST-58	4	1	1	0	0	1	3	1	3	6	5							
162B3	ST-58	5	2	2	1	1	0	4	2	4	7	6							
167J10	ST-58	7	4	4	3	3	4	0	2	4	7	6							
157F7	ST-58	5	2	2	1	1	2	2	0	2	5	4							
137H1	ST-58	7	4	4	3	3	4	4	2	0	7	6							
169H5	ST-58	10	7	7	6	6	7	7	5	7	0	1							
167B9	ST-58	9	6	6	5	5	6	6	4	6	1	0							
141J7	ST-540	9602	9605	9605	9604	9604	9605	9605	9603	9605	9608	9607	0						
272A8	ST-361	9803	9804	9804	9803	9803	9804	9804	9802	9804	9807	9806	4960	0	44				
255H10	ST-361	9809	9810	9810	9809	9809	9810	9810	9808	9810	9813	9812	4966	44	0				
77A10	ST-1284	10659	10660	10660	10659	10659	10660	10660	10658	10660	10663	10662	8325	8294	8300	0			
219D3	ST-1284	10715	10716	10716	10715	10715	10716	10716	10714	10716	10719	10718	8381	8360	8366	439	0		
152F4	ST-617-like	10878	10879	10879	10878	10878	10879	10879	10877	10879	10882	10881	8007	8132	8138	1082	1110	0	0
138E9	ST-617-like	10878	10879	10879	10878	10878	10879	10879	10877	10879	10882	10881	8007	8132	8138	1082	1110	0	0

Réf. : référence

Mayotte

Réunion

Réf. CNR	ST	275D10	218H6	162C9	167H5	268C2	235C8	216J1	268C4	241C6	114B6	90E5	170H10	255I3	255I2	188E5	250B5	130G2	118D7	268B7	239D3	165F8	
275D10	ST-167	0	21	18	19	28	28	27	29	35													
218H6	ST-167	21	0	3	16	25	25	24	26	32													
162C9	ST-167	18	3	0	13	22	22	21	23	29													
167H5	ST-167	19	16	13	0	13	13	12	14	20													
268C2	ST-167	28	25	22	13	0	2	1	3	9													
235C8	ST-167	28	25	22	13	2	0	1	3	9													
216J1	ST-167	27	24	21	12	1	1	0	2	8													
268C4	ST-167	29	26	23	14	3	3	2	0	8													
241C6	ST-167	35	32	29	20	9	9	8	8	0													
114B6	ST-694	2535	2532	2529	2520	2529	2529	2528	2530	2536	0												
90E5	ST-10	2295	2292	2289	2280	2289	2289	2288	2290	2296	2958	0											
170H10	ST-10	2359	2356	2353	2344	2353	2353	2352	2354	2360	2946	128	0										
255I3	ST-167	1979	1976	1973	1964	1973	1973	1972	1974	1980	2258	1510	1572	0	0								
255I2	ST-167	1979	1976	1973	1964	1973	1973	1972	1974	1980	2258	1510	1572	0	0								
188E5	ST-167	1259	1256	1253	1244	1253	1253	1252	1254	1260	2003	1505	1569	1267	1267	0							
250B5	ST-167	1320	1317	1314	1305	1314	1314	1313	1315	1321	1993	1482	1544	1388	1388	639	0						
130G2	ST-167	1560	1557	1554	1545	1554	1554	1553	1555	1561	2215	1826	1888	1638	1638	808	669	0	17				
118D7	ST-167	1575	1572	1569	1560	1569	1569	1568	1570	1576	2230	1841	1903	1653	1653	823	684	17	0				
268B7	ST-167	1312	1309	1306	1297	1306	1306	1305	1307	1313	1894	1464	1528	1383	1383	529	405	777	792	0			
239D3	ST-2301	1285	1282	1279	1270	1279	1279	1278	1280	1286	1862	1338	1326	1393	1393	595	340	746	761	376	0	10	
165F8	ST-2301	1285	1282	1279	1270	1279	1279	1278	1280	1286	1862	1338	1326	1393	1393	595	340	746	761	376	10	0	

Réf. : référence



Mayotte



Réunion

Réf. CNR	ST	213A3	246B8	232B8	211E8	268B8	130F8	239D2	268C5	97C3
213A3	ST-167	0	8	9	3					
246B8	ST-167	8	0	11	5					
232B8	ST-167	9	11	0	6					
211E8	ST-167	3	5	6	0					
268B8	ST-1702	527	533	534	528	0				
130F8	ST-167	315	321	322	316	434	0	33	42	29
239D2	ST-167	312	318	319	313	431	33	0	29	16
268C5	ST-167	321	327	328	322	440	42	29	0	25
97C3	ST-167	308	314	315	309	427	29	16	25	0

Réf. : référence



Mayotte



Réunion

**Annexe 4 : Matrice des 25 souches *E. coli* OXA-181**

Réf. CNR	ST	271J1	141I6	124J6	258B5	237B3	229C10	241C2	236E2	110A8	224A2	220D3	271I10	127G7	268C6	161E8	268C1	252E4	245D2	106C6	104G7	276C7	273B3	186G10	255I1	177E3
271J1	ST-1163	0																								
141I6	ST-349	15485	0	3																						
124J6	ST-349	15486	3	0																						
258B5	ST-11905-like	15059	12226	12227	0																					
237B3	ST-2659	14900	12082	12083	10919	0																				
229C10	ST-540	11732	10013	10014	9033	8669	0																			
241C2	ST-46	14284	12623	12624	11727	11294	4495	0	4																	
236E2	ST-46	14283	12622	12623	11727	11294	4495	4	0																	
110A8	ST-3835	13008	11321	11322	10430	9889	3686	5474	5472	0																
224A2	ST-44	13521	11955	11956	11101	10741	4438	6301	6299	3311	0	0														
220D3	ST-44	13521	11955	11956	11101	10741	4438	6301	6299	3311	0	0														
271I10	ST-448	15625	14194	14195	13043	13018	6846	8551	8551	7582	6071	6071	0													
127G7	ST-448	15805	14311	14312	13163	13130	6945	8635	8635	7714	5992	5992	399	0												
268C6	ST-940	15193	13628	13629	12483	12327	6186	7866	7866	6826	6509	6509	4844	4852	0	7										
161E8	ST-940	15186	13621	13622	12476	12320	6179	7859	7859	6819	6502	6502	4839	4847	7	0										
268C1	ST-205	15627	14232	14233	13049	13026	6863	8606	8606	7745	7263	7263	5460	5510	5051	5046	0									
252E4	ST-8346	15562	14134	14135	12947	12981	6712	8529	8529	7424	7350	7350	5687	5724	5182	5177	3335	0								
245D2	ST-410	15720	14289	14290	13289	13110	6783	8341	8341	7820	7457	7457	6263	6347	5925	5920	6584	6543	0							
106C6	ST-410	15679	14213	14214	13196	13032	6716	8269	8269	7637	7260	7260	6192	6298	5948	5943	6627	6588	412	0	18	28	26	28	22	16
104G7	ST-410	15683	14217	14218	13200	13036	6720	8273	8273	7641	7264	7264	6196	6302	5952	5947	6631	6592	416	18	0	32	30	32	26	20
276C7	ST-410	15689	14223	14224	13206	13042	6726	8277	8277	7643	7268	7268	6202	6308	5958	5953	6639	6600	424	28	32	0	22	38	32	26
273B3	ST-410	15689	14223	14224	13206	13042	6726	8279	8279	7647	7270	7270	6202	6308	5958	5953	6637	6598	422	26	30	22	0	36	30	24
186G10	ST-410	15691	14225	14226	13208	13044	6728	8281	8281	7649	7272	7272	6204	6310	5960	5955	6639	6600	424	28	32	38	36	0	28	22
255I1	ST-410	15685	14219	14220	13202	13038	6722	8275	8275	7643	7266	7266	6198	6304	5954	5949	6633	6594	418	22	26	32	30	28	0	6
177E3	ST-410	15679	14213	14214	13196	13032	6716	8269	8269	7637	7260	7260	6192	6298	5948	5943	6627	6588	412	16	20	26	24	22	6	0

Réf. : référence

Mayotte

Réunion

**Emergence of NDM-5 and OXA-181 carbapenemase-producing Enterobacteriaceae  
*Escherichia coli* in La Reunion**

**Abstract**

**Background** : La Reunion and Mayotte Islands are two French overseas departments located in the Indian Ocean that display specific epidemiology in term of bacterial resistance. The number of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae rises each year, with a predominance since 2015-2016 of the NDM-5 and OXA-181 beta-lactamases from the *Escherichia coli* species.

**Method** : After having established the final epidemiologic assessment of the EPC in La Reunion from January 2010 to December 2020, we have selected all clinical isolates of NDM-5 and OXA-181-producing *E. coli* from La Reunion and Mayotte for the analysis of their phenotypical resistance and genetic proximity.

**Results** : In La Reunion, 33 (i.e. 87%) and 17 (i.e. 100%) of patients carrying NDM-5 and OXA-181-carbapenemase-producing bacteria went abroad mainly in Mayotte, Comoros and Madagascar. The phenotypic analysis of the NDM-5 strains showed an almost complete resistance against the beta-lactams, including the aztreonam. Furthermore, the susceptibility of aztreonam was restored for 72% ( $n = 41/57$ ) of the strains when combined with clavulanic acid and for 75% ( $n = 43/57$ ) of the strains when combined with avibactam. For the OXA-181, the susceptibility to beta-lactams was found to be more varying. Specifically, a very good efficacy was found when the latter is associated with ceftazidime-avibactam for which all the strains ( $n = 25/25$ ) were sensitive to. The genotypical analysis confirmed the existence of 19 epidemic clones among clonal group such as ST-58, ST-167, ST-405 and ST-410. These epidemic clones were found to have a genetic proximity with La Reunion and Mayotte strains, thus confirming that the Comoros Archipelago is a major reserve of EPC in La Reunion.

**Conclusion** : In La Reunion, the impact of the NDM-5 and OXA-181 *E. coli* strains coming mainly via importations from outside La Reunion has been rising. More particularly, some STs have been found to be preferentially associated to certain areas in the Southwest Indian Ocean and notably in the Comoros Archipelago and Madagascar. This emergence raises concern about the implantation of this kind of EPC in the hospitals and communities in La Reunion.

**Discipline** : Microbiology

**Keywords** : Carbapenemase-Producing Enterobacteriaceae; *Escherichia coli*; emergence; NDM-5; OXA-181; Reunion; Mayotte.

## Émergence des entérobactéries *Escherichia coli* productrices des carbapénèmases NDM-5 et OXA-181 à La Réunion

### Résumé

**Introduction :** Les îles de La Réunion et de Mayotte sont des DOM qui présentent des épidémiologies spécifiques en termes de résistance bactérienne. Il existe chaque année une augmentation des entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC) avec une prédominance depuis 2015-2016 des bêta-lactamases NDM-5 et OXA-181 chez l'espèce *Escherichia coli*.

**Méthode :** Après avoir établi le bilan épidémiologique des EPC à La Réunion de janvier 2010 à décembre 2020, nous avons sélectionné l'ensemble des souches *E. coli* NDM-5 et OXA-181 provenant de La Réunion et de Mayotte pour analyser d'une part, les résistances phénotypiques et d'autre part, leur proximité génétique.

**Résultats :** À La Réunion, 33 (soit 87%) et 17 (soit 100%) patients porteurs respectivement de *E. coli* NDM-5 et OXA-181 avaient un lien avec l'étranger, principalement avec Mayotte, les Comores et Madagascar. L'analyse phénotypique des souches NDM-5 a montré une résistance quasi-totale à toutes les bêta-lactamines, y compris l'aztréonam. Les sensibilités à l'aztréonam ont été restaurées pour 72% ( $n = 41/57$ ) et 75% ( $n = 43/57$ ) des souches lorsque ce dernier était combiné respectivement à l'acide clavulanique et à l'avibactam. Pour les OXA-181, les sensibilités aux bêta-lactamines étaient plus variables avec une très bonne efficacité de l'association ceftazidime-avibactam dont 100% ( $n = 25/25$ ) des souches étaient sensibles. L'analyse génotypique a confirmé l'existence de 19 clones épidémiques au sein de groupes clonaux tels que ST-58, ST-167, ST-405 et ST-410 avec une proximité génétique entre les souches réunionnaises et mahoraises, confirmant que l'archipel des Comores constitue un réservoir d'importation majeur de ce type d'EPC à La Réunion.

**Conclusion :** Il existe à La Réunion une augmentation de l'incidence des souches *E. coli* NDM-5 et OXA-181 issues pour la majorité d'importations et dont certains STs sont associés préférentiellement à certaines régions du Sud-Ouest de l'océan Indien notamment de l'archipel des Comores et de Madagascar. Cette émergence fait craindre l'implantation de ce type d'EPC dans le secteur hospitalier et communautaire à La Réunion.

**Discipline :** Microbiologie

**Mots-Clés :** Entérobactéries productrices de carbapénèmases; *Escherichia coli*; émergence; NDM-5; OXA-181; Réunion; Mayotte.