



ROYAUME DU MAROC
UNIVERSITE SIDI MOHAMMED BEN ABDELLAH
FACULTE DE MEDECINE ET DE PHARMACIE
FES



Année 2016

Thèse N° 179/16

PROFIL ÉPIDÉMIOLOGIQUE DES ENTÉROBACTÉRIES PRODUCTRICES DE BLSE UROPATHOGÈNES au sein de l'hôpital militaire Moulay Ismail de Meknès durant l'année 2015

THESE

PRESENTEE ET SOUTENUE PUBLIQUEMENT LE 19/09/2016

PAR

Mr. AHMED AMEZIANE

Né le 04 Mai 1990 à Meknès

POUR L'OBTENTION DU DOCTORAT EN MEDECINE

MOTS-CLES :

Infection urinaire - ECBU - Entérobactéries - BLSE - Résistance aux antibiotiques

JURY

M. LOUZI LHOUSSAIN.....	PRESIDENT ET RAPPORTEUR
Professeur de Microbiologie - Virologie	
M. EL KARTOUTI ABDESLAM.....	} JUGES
Professeur agrégé de pharmacie clinique	
M. HACHIMI MOULAY AHMED.....	
Professeur agrégé d'Anesthésie réanimation	
M. ALAMI MOHAMMED.....	} MEMBRES ASSOCIES
Professeur agrégé d'Urologie	
M. DOBLALI TAOUFIK.....	
Professeur agrégé de Microbiologie - Virologie	
M. SBITI MOHAMMED.....	
Professeur assistant de Microbiologie - Virologie	
M. EL HAMADI KHALID.....	
Professeur assistant d'Immunologie	

Liste des tableaux :

Tableau I. Répartition de la fréquence des entérobactéries (EB) isolées des infections urinaires.

Tableau II. Répartition des EBLSE selon le service d'isolement.

Tableau III. Répartition des entérobactéries BLSE selon le genre bactérien.

Tableau IV. Fréquence des EBLSE au sein de leurs espèces.

Tableau V. Facteurs contribuant à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques.

Tableau VI. Profil de résistance aux bêtalactamines conféré par les BLSE.

Tableau VII. Facteur de risques indépendants d'infection communautaire a entérobactérie BLSE :

Tableau VIII. Comparaison des prévalences d'isolement des EBLSE avec d'autres études

Tableau IX. Comparaison de l'âge prédominant des patients porteurs d'EBLSE avec d'autres études :

Tableau X. Comparaison du sexe prédominant des patients porteurs d'EBLSE avec d'autres études

Tableau XI. Comparaison des prévalences d'isolement des EBLSE entre milieu hospitalier et communautaire avec d'autres études.

Tableau XII. comparaison des espèces BLSE prédominante et espèce la plus productrice de BLSE avec d'autres études

Tableau XIII. Répartition des EBLSE nosocomiales.

Tableau XIV. Comparaison du pourcentage de résistance des EBLSE a la ciprofloxacine avec d'autres études.

Tableau XV. Comparaison du pourcentage de résistance des EBLSE aux aminosides avec d'autres études.

Tableau XVI. Comparaison du pourcentage de résistance des EBLSE a la fosfomycine avec d'autres études.

Tableau XIX. Comparaison du pourcentage de résistance des EBLSE aux carbapénèmes avec d'autres études.

Liste des figures :

Figure 1. Identification d'*Enterobacter cloacae* par Api 20E

Figure 2. ECBU positif a *Escherichia coli* sur BCP-L

Figure 3. ECBU donnant colonies muqueuses de *Klebsiella pneumoniae* sur BCP-L

Figure 4. Milieu chromogène avec colonies de bacteries à identifier

Figure 5. Test de synergie positif entre AMC et CRO chez souche de *Klebsiella pneumoniae*

Figure 6. Test de synergie positif entre AMC et CRO chez une souche d'*Eshirechia Coli*

Figure 7. Test de synergie positif entre AMC et CRO chez une souche d'*Enterobacter cloacae*

Figure 8. *Klebsiella pneumoniae* BLSE avec test de Hodge positif.

Figure 9. Test de Hodge positif.

Figure 10. Fréquence d'isolement des EBLSE au sein des entérobactéries isolées.

Figure 11. Répartition des patients porteurs E-BLSE uropathogènes selon le sexe.

Figure 12. Répartition des patients porteurs E-BLSE uropathogènes selon les tranches d'âge.

Figure 13. Répartition des patients porteurs d'EBLSE en fonction de leur provenance.

Figure 14. Etude de la Résistance/Sensibilité des E-BLSE aux différentes bêtalactamines testés.

Figure 15. Profil de résistance associée des EBLSE uropathogènes.

Figure 16. Mécanisme d'imperméabilité chez les BGN : altération des porines.

Figure 17. Schéma explicatif du mécanisme d'efflux actif.

Figure 18. Schéma représentatif du mécanisme d'inactivation enzymatique de l'antibiotique.

Figure 19. Réaction d'inactivation d'une bêtalactamines par l'action d'une betalactamase.

Figure 20. Classes moléculaires et fonctionnelles des principales bêtalactamases

Figure 21. Test de double synergie.

Figure 22. *Klebsiella pneumoniae* de sensibilité diminuée aux C3G.

Figure 23. Etest® classique.

Figure 24. Bandelettes Etest® BLSE.

Figure 25. Méthode des disques combinés.

Figure 26. Structure du noyau betalactamase.

Figure 27. Structures générales des principales classes de bêtalactamines.

Figure 28. Schéma représentant la paroi cellulaire des bactéries à Gram négatif.

Figure 29. Représentation schématique de la structure du peptidoglycane d'une bactérie à Gram négatif.

Figure 30. Prévalence des d'entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi dans le monde.

Figure 31. Prévalence des souches invasives d'*Escherichia coli* résistants aux C3G en 2002 et 2011.

Figure 32. Prévalence des souches invasives de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux C3G en 2005 et 2011.

Figure 33. BLSE de type CTX-M dans le monde en 2001-2002.

Figure 34. BLSE de type CTX-M dans le monde en 2005.

Figure 35. BLSE de type CTX-M dans le monde en 2006.

Figure 36. BLSE de type CTX-M 15 dans le monde (Afrique incluse) en 2012.

Liste des abréviations :

°C	: Degré Celsius ou centigrade
ADN	: Acide désoxyribonucléique
AMC	: Amoxicilline + acide clavulanique
AmpC	: gène de céphalosporinase
AN	: Amikacine
BCP	: Bromocrésol pourpre (gélose BCP Lactose)
BGN	: Bacille à Gram négatif
BGP	: Bacille à Gram positif
BLSE	: Bêta-lactamase à spectre étendu (ou élargi)
BMR	: Bactéries multirésistantes
C1G	: Céphalosporine de 1 ^{ère} génération
C2G	: Céphalosporine de 2 ^{ème} génération
C3G	: Céphalosporine de 3 ^{ème} génération
C4G	: Céphalosporines de 4 ^{ème} génération
CASFM	: Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie
CAZ	: Ceftazidime
CIP	: Ciprofloxacine
CLED	: Cysteine Lactose Electrolyte Déficient (gélose équivalente au BCP-L)
CLIN	: Comité de la lutte contre les infections nosocomiales
CMI	: Concentration minimale inhibitrice
CTX	: Céfotaxime
CTX-M	: Céfotaximase-Munich
EARS-Net	: Réseau de Surveillance Européen de la Résistance Antimicrobienne
EBLSE	: Entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu

ECBU	: Examen cytobactériologique des urines
ECDC	: centre européen de prévention et de contrôle des maladies
EDTA	: acide éthylène diamine tétra acétique
EFPIA	: Fédération européenne des associations et industries pharmaceutiques
ERV	: Entérocoque résistant à la vancomycine
EUCAST	: Comité Européen des Antibiogrammes (Tests de sensibilité aux antibiotiques)
FOX	: céfoxitine (Cephamicine)
GN	: Gentamicine
HMMIM	: Hôpital Militaire Moulay Ismail de Meknès
IDSA	: Société américaine de maladies infectieuses
IMP	: Imipénémase
InVS	: Institut de veille sanitaire
IPM	: Imipénème
KF	: Céfalotine
KPC	: Klebsiella pneumoniae Carbapenemase
MALDI-	: Désorption-ionisation laser assistée par matrice
TOF	Temps de vol
MBL	: Métallo-bêtalactamases
NDM	: New-Delhi metallo- β -lactamase
OMS	: Organisation mondiale de la santé
ONPG	: Ortho-Nitro-Phényl Galactopyranoside
OXA	: Oxalocillinase
pb	: paires de bases

PCR	: Reaction de polymérisation en chaine
PDP	: Prélèvement bronchique distal protégé
PIP	: Piperacilline
PLP	: Protéines liant les pénicillines
SARM	: <i>Staphylococcus aureus</i> résistant à la meticilline
SASM	: <i>Staphylococcus aureus</i> sensible à la meticilline
SHV	: Sulfhydryl Variable
SXT	: Triméthoprine sulfaméthoxazole
TDA	: Tryptophane désaminase
TEM	: Tenomoria
TIC	: Ticarcilline
TIM	: Ticarcilline + acide clavulanique
TZP	: Pipéracilline-Tazobactam
UFC	: unité formant colonie
VIM	: Verona integron-encoded
VP	: Voges-Proskauer

SOMMAIRE

INTRODUCTION :	12
MATERIEL, PATIENTS ET METHODES :	15
I. MATERIEL :.....	16
1. Les Prélèvements.....	16
2. Les Registres.....	16
II. PATIENT :.....	17
1. Type d'étude.....	17
2. Lieu et période d'étude.....	17
III.METHODE :	18
1. Phase pré-analytique.....	18
2. Phase analytique	18
3. Phase post analytique.....	25
RESULTATS :	26
I. REPARTITION GLOBALE DES ENTEROBACTERIES ISOLEES SELON LES ESPECES BACTERIENNES	27
II. FREQUENCE D'ISOLEMENT DES EBLSE AU SEIN DES ENTEROBACTERIES ISOLEES..	28
III.REPARTITION DES PATIENTS PORTEURS D'EBLSE SELON LE SEXE	29
IV.REPARTITION DES EBLSE SELON L'AGE DES PATIENTS	31
V. REPARTITION DES EBLSE SELON LES SERVICES.	32
VI. REPARTITION GLOBALE DES EBLSE SELON LES ESPECES BACTERIENNES.....	33
VII. FREQUENCE DES EBLSE AU SEIN DE LEURS ESPECES BACTERIENNES	34
VIII. PROFIL DE CO-RESISTANCES GLOBALES CHEZ LES EBLSE AUX ANTIBIOTIQUES	35
DISCUSSION :	36
I. GENERALITES	37
1. Résistances bactériennes aux antibiotiques :	37
1.1 Aspects généraux :.....	37

1.1.1 Définition :.....	37
1.1.2 Support génétique de la résistance bactérienne :	38
a. Résistances naturelles	38
b. Résistances acquises	38
c. structures d'ADN assurant la transmission de la résistance	39
1.1.3 Facteurs responsables de l'augmentation de la résistance	41
1.1.4 Résistances aux antibiotiques chez les bactéries gram négatifs	40
1.2 Bêtalactamases :	48
1.2.1 Définition.....	48
1.2.2 Classification.....	49
1.2.3 Bêtalactamase a spectre élargi ou étendu (BLSE).....	51
a. Définition :	51
b. Différents types de BLSE :	51
1.3 Méthodes de détection des BLSE :	55
1.3.1 Méthodes basées sur la culture :.....	55
1.3.2 Méthodes non basées sur la culture :	59
a. Amplification d'acides nucléiques (PCR et variantes) et hybridation (dot ou puces).....	59
b. Spectrométrie de masse (MALDI-TOF)	60
2. Entérobactéries productrice de bêtalactamases à spectre élargi (E-BLSE) :....	62
2.1 Entérobactéries :	62
2.1.1 Définition et caractéristiques généraux :	62
2.1.2 Classification :.....	63
2.1.3 Caractères morphologiques	63
2.1.4 Caractéristiques culturaux :.....	63
2.1.5 Caractéristiques biochimiques :	63

2.1.6 Caractéristiques antigéniques :.....	64
2.2 Résistances aux bêtalactamines chez les entérobactéries	66
2.3 Epidémiologie	75
2.3.1 Les premiers BLSE de type TEM et SHV	75
2.3.2 Premiers isolement des CTX-M.....	75
2.3.3 Prévalence des BLSE.....	77
2.3.4 Changement épidémiologique des BLSE.....	81
2.3.5 Colonisation et portage fécal par les EBLSE	86
2.4 Modes et Facteur de diffusion.....	87
2.5 Entérobactéries BLSE et infection urinaire :.....	89
2.5.1 Épidémiologie :	89
2.5.2 Facteur de risque :.....	89
II. DISCUSSION DES RESULTATS :	91
1. Avant-propos	91
2. Fréquence globale d'isolement des EBLSE	92
3. L'âge des patients :	94
4. Le Sexe	95
5. Les Services d'origine des patients porteurs d'EBLSE	96
6. Espèces et souches EBLSE isolées.....	98
7. L'antibiorésistance	101
III. LIMITES ET PERSPECTIVES :	107
CONCLUSION	108
RESUMES.....	111
BIBLIOGRAPHIE	117

INTRODUCTION

Au cours de ces deux dernières décennies et suite à l'utilisation intensive des antibiotiques, nous assistons à une sélection de souches multirésistantes aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire [1].

La résistance des entérobactéries aux céphalosporines de troisième génération (C3G) est fortement renforcée par l'acquisition des gènes codant les bêtalactamases à spectre élargi (BLSE). Ces enzymes (TEM, SHV, CTX-M et dérivés) confèrent aux entérobactéries la résistance à l'ensemble des bêtalactamines à l'exception des céphamycines et des carbapénèmes en plus d'une résistance associée à d'autres familles d'antibiotiques [2].

Alors que les entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi (EBLSE) étaient observées essentiellement en milieu hospitalier, la diffusion de ces germes multirésistants en milieu communautaire est de plus en plus inquiétante [3,4].

La transmission, principalement plasmidique, des gènes codants pour les BLSE est responsable de leur dissémination rapide et ainsi de l'augmentation de la prévalence des bactéries productrices de BLSE partout dans le monde [5].

Bien que la maîtrise de la diffusion de ces bactéries multirésistantes constitue une priorité, peu de données actualisées permettent de définir l'ampleur de ce phénomène au niveau de notre région. Dans ce cadre, les objectifs de ce travail sont de :

- Ø Déterminer la prévalence d'isolement des entérobactéries productrices de BLSE uropathogènes dans notre laboratoire, considéré le plus grand de la province de Meknès et desservant un bassin comportant Fez, Taza, Oujda, Nador, Al Hoceima, Er-Rachidia, Khénifra, Midelt, Guercif, Bouarfa .
- Ø préciser leurs profils de résistance aux bêtalactamines et les résistances associées aux antibiotiques.

- Ø et enfin, formuler des conseils ayant pour but le renforcement de la maîtrise de la diffusion des entérobactéries aussi bien au niveau hospitalier que communautaire.

MATERIEL, PATIENTS ET METHODES

I. MATERIEL

A. LES PRELEVEMENTS :

Les prélèvements urinaires proviennent de patients hospitalisés (urologie, réanimation, chirurgie viscérale, ...) ou accueillis dans le cadre des urgences ou consultants adressés pour bilan d'infection urinaire par les structures rattachées à l'hôpital.

B. LES REGISTRES :

Il s'agit de base de données Access permettant l'édition des résultats de la bactériologie, avec en plus des options de requêtes statistiques avec transfert des données des différents tableaux d'intérêt sur Excel.

Les données des registres du service de bactériologie sont collectées via le système Access 2010 par transfert sur Excel 2010 pour en tirer tous les renseignements : services d'origine, sexe des patients, germe isolé, profil de résistance aux antibiotiques, ... pour une analyse statistique.

II. PATIENTS :

Tous les patients des deux sexes et de tous âges, ayant fait l'objet d'une demande d'ECBU, qu'ils soient hospitalisés ou vus à titre externe dans le cadre de suivi en ambulatoire ou dans le cadre d'infection urinaire communautaire ; et accueillis au laboratoire de biologie médicale de l'HMMI sont inclus. Les doublons (même patient, même entérobactérie BLSE, même antibiogramme) étant systématiquement éliminés.

A- Type d'étude :

Il s'agit d'une étude descriptive, rétrospective, mono-centrique à visée épidémiologique. Les données analysées ont été collectées du système Access du laboratoire de bactériologie sur Excel 2010 et Le calcul des pourcentages a été effectué par logiciel statistique SPSS 21.0.

B- Lieu et période de l'étude :

Il s'agit d'une étude rétrospective sur l'année 2015 (du 1^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2015) concernant toutes les souches d'E-BLSE isolées à partir des prélèvements urinaires, a visée diagnostique, adressés au laboratoire de microbiologie de l'hôpital Moulay Ismail de Meknès.

III. METHODES / EXAMEN CYTOBACTERIOLOGIQUE DES URINES :

1- Phase pré analytique :

La méthode de prise en charge de l'ECBU dans notre formation est du type classique : recueil de l'urine du matin à mi-jet dans un flacon stérile spécial, recueil par clampage désinfection de la sonde à demeure, collecteur pour bébé et exceptionnellement la ponction sus-pubienne. Ces techniques de prélèvement étant standardisées, les étapes les plus critiques qui déterminent la réussite de l'examen sont : la phase analytique et l'interprétation. L'idéal est donc un ECBU avant toute antibiothérapie, le matin ; et traité dans les deux heures qui suivent le recueil. Aucune urine n'a été conservée à +4°C et aucun prélèvement n'a reçu d'acide borique comme conservateur bactériostatique.

2- Phase analytique :

a-Examen macroscopique :

Dès réception du prélèvement, la conformité flacon-demande d'ECBU est contrôlée et l'aspect macroscopique noté. Dans le cas d'infection urinaire, les urines sont plus ou moins troubles.

b- Examen microscopique :

L'examen microscopique en cellule FastRead® permet de noter les éléments éventuellement présents : leucocytes et les hématies (en $x*10^9/mL$), les cellules épithéliales, les cylindres, les cristaux, la flore bactérienne ou les levures. D'autres éléments peuvent être observés : spermatozoïdes, *Trichomonas*, œufs de *Schistosoma haematobium*, ...) et doivent être signalés.

La confection d'un frottis coloré au Gram n'est entreprise que pour les malades des urgences et de la réanimation et chaque fois que le médecin prescripteur en fait la demande.

c-Isolement et identification des germes :

Les milieux de cultures utilisés sont la gélose BCP lactosée (systématique) avec en option, la gélose au sang en cas d'observation de cocci en chaînettes ; et le Sabouraud+chloramphénicol en cas de présence de levures.

L'interprétation utilisée est classique (critères défini par Kass) et tient compte de paramètres d'infection urinaire : leucocyturie $> 10^4/\text{mL}$; bactériurie en unité formant colonie (UFC) par mL $> 10^4/\text{mL}$ sachant que *Escherichia coli* et *Staphylococcus saprophyticus* étant considérés comme uropathogènes spécifiques, leur seuil est abaissé à $10^3\text{UFC}/\text{mL}$.

L'identification des bactéries isolées est basée sur l'utilisation de milieu chromogène type Uriselect® de BioRad, les systèmes Api 20 (E, NE, Staph, Strep) de BioMérieux™ et les identifications immunologiques par latex agglutination (*Staph aureus*, Streptocoque B, ...).



Figure 1. Identification d'*Enterobacter cloacae* par Api 20 E



Figure 2. ECBU positif à *Escherichia coli* sur BCP-L



Figure 3. ECBU donnant des colonies muqueuses à *Klebsiella pneumoniae* sur BCP-L



Figure 4. Milieu chromogène avec colonies de bacteries à identifier

d- Etude de la sensibilité :

L'antibiogramme pour Entérobactéries est pratiqué sur gélose Mueller-Hinton en utilisant la méthode de diffusion à partir de disques chargés selon **les recommandations 2014/2015 du CA-SFM / EUCAST**[6].

La détection des BLSE est effectuée par méthode de synergie entre l'acide clavulanique du disque du co-amoxiclave (AMC) et la céftriaxone (CRO) ou bien à la céfotaxime (CTX).

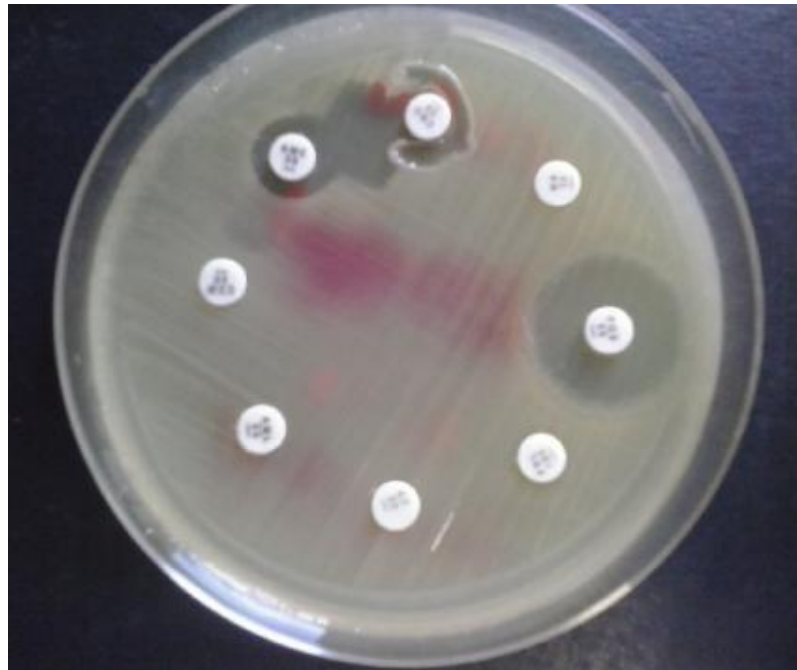


Figure 5. Test de synergie positif entre AMC et CRO chez souche de *Klebsiella pneumoniae* : Apparition de l’aspect en « bouchon de champagne » entre les 2 disques d’antibiotiques. Noter l’activité de FOX

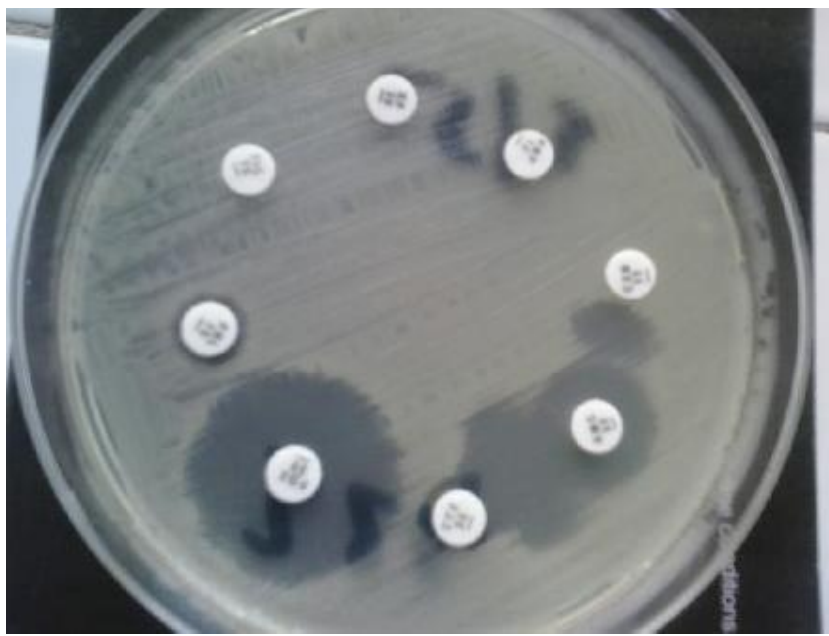


Figure 6. Test de synergie positif entre AMC et CRO chez une souche *d’Eshirechia Coli* :

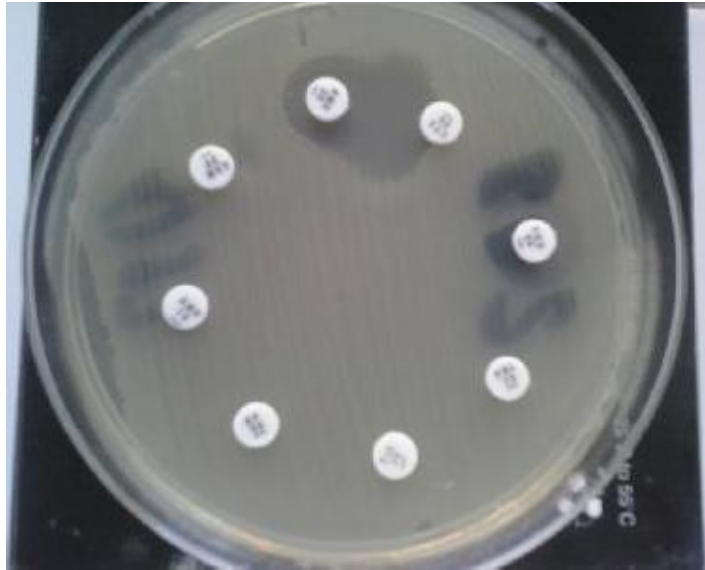


Figure 7. Test de synergie positif entre AMC et CRO chez une souche d'*Enterobacter cloacae*. Noter FOX-R par action de céphalosporinase AmpC

Toute entérobactérie catégorisée BLSE positive est confirmée avec d'autres disques : ceftazidime (CAZ), aztréonam (ATM), céfépime (FEP) ... ; et testée vis-à-vis des carbapénèmes. En cas de résistance à l'ertapénème (ETP), un test de Hodge effectué. A l'aide d'un disque d'imipénème (IPM).

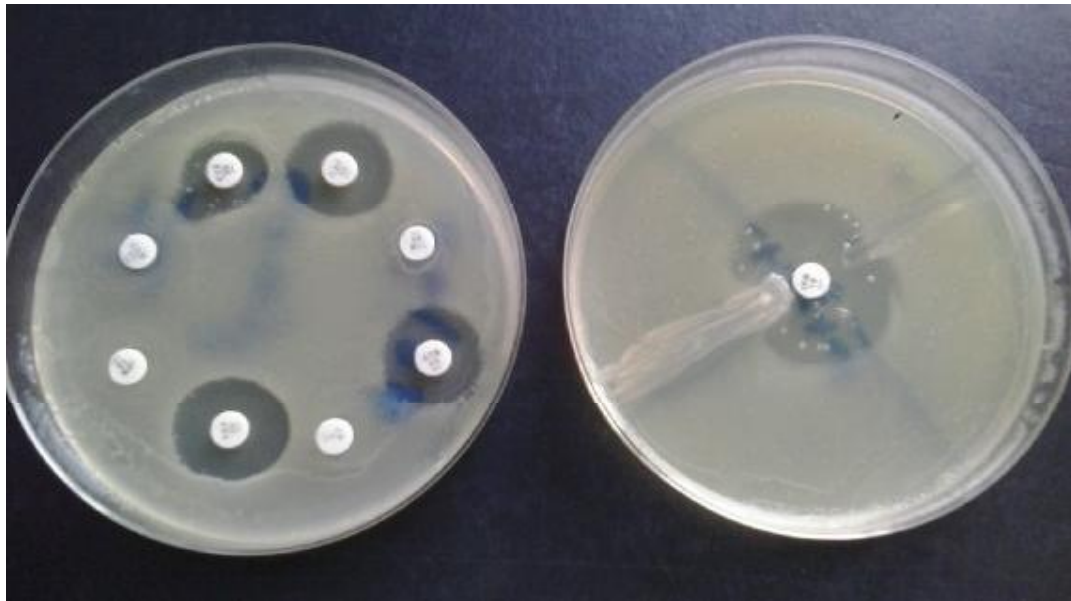


Figure 8. *Klebsiella pneumoniae* BLSE avec test de Hodge positif

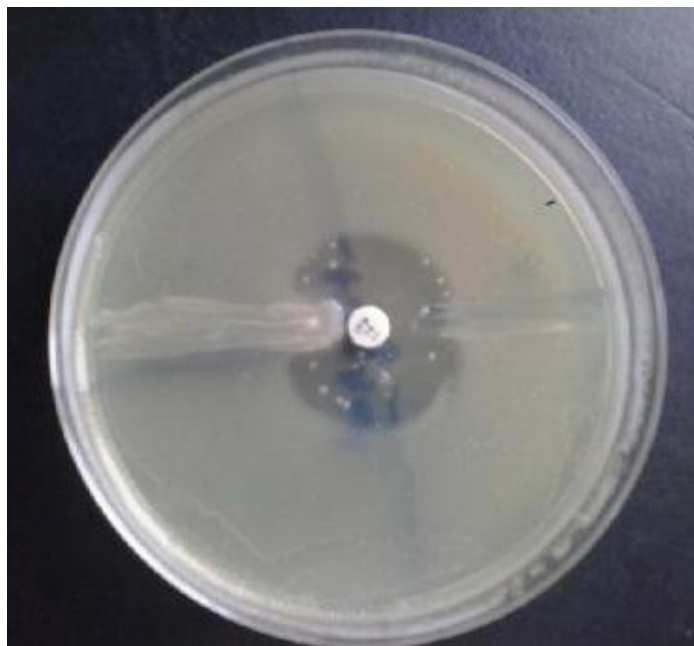


Figure 9. Test de Hodge positif

Les bactéries particulières : Mycobactéries, Anaérobies strictes, Chlamydia et Mycoplasmes urogénitaux sont exclus de l'étude en raison de leurs contextes particuliers et de la nécessité de méthodes spécifiques. Aucun automate de microbiologie n'a été utilisé. De même, aucune méthode spectrale (MALDI-TOF) ou nucléique (PCR ou hybridation) n'a été utilisée.

3- Phase post analytique :

Le biologiste valide les données des ECBUs étape par étape et émet son verdict pour faire un antibiogramme et une identification ou bien pour conclure à l'absence de critères d'infection ou à la nécessité de refaire l'ECBU ; et ce, en fonction de la nature des bactéries isolées, la pureté de la culture et l'aspect quantitatif de la pousse selon *les recommandations du Rémic 2011* [7]

RESULTATS

I. REPARTITION GLOBALE DES ENTEROBACTERIES ISOLEES SELON LES ESPECES BACTERIENNES

Durant l'année 2015, au niveau du laboratoire de bactériologie de l'HMMIM, il a été réalisé un total de 6500 ECBU dont 976 qui répondent aux critères classiques d'infection urinaire, soit 15 % de positivité.

Ces prélèvements étaient issus essentiellement de patients consultant à titre externe (82% n=800), sans néanmoins aucun renseignement sur leur éventuelle hospitalisation antérieure.

L'analyse des isolats montre que l'espèce *Escherichia coli* a dominé l'étiologie des infections urinaires avec un taux de 51 % de l'ensemble des bactéries isolées et 74 % des 668 entérobactéries recensées ; aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu ambulatoire réalisant respectivement 63 % et 76 % (tableau I). Ces entérobactéries ont constitué en totalité, 70 % des isolats d'urines positives.

Tableau I. Répartition de la fréquence des entérobactéries (EB) isolées des ECBU

Souches	Patients hospitalisés	Fréquence	Patients suivis en ambulatoire	Fréquence	nombre total	fréquence
<i>Escherichia coli</i>	73	63%	420	76%	493	74%
<i>Klebsiella. spp</i>	24	20.6%	26	4.7%	112	16.7%
<i>Enterobacter. Spp</i>	13	11.2%	88	16%	39	6.1%
<i>Proteus. spp</i>	3	2.6%	13	2.3	16	2.4%
<i>Autres entérobactéries</i>	3	2.6%	5	1%	8	1.2%
Total	116	100%	552	100%	668	100%

II. FREQUENCE D'ISOLEMENT DES EBLSE AU SEIN DES ENTEROBACTERIES ISOLEES

La production de BLSE est observée dans 92 cas parmi les 668 souches d'entérobactéries soit une prévalence de 13.77 % voir (figure 7). Les E-BLSE hospitalière ont représenté 68.47 % de l'ensemble des E-BLSE isolées.

En hospitalier, la prévalence d'isolement des EBLSE était de 54.78 % contre 5.25 % en ambulatoire (voir tableau II).

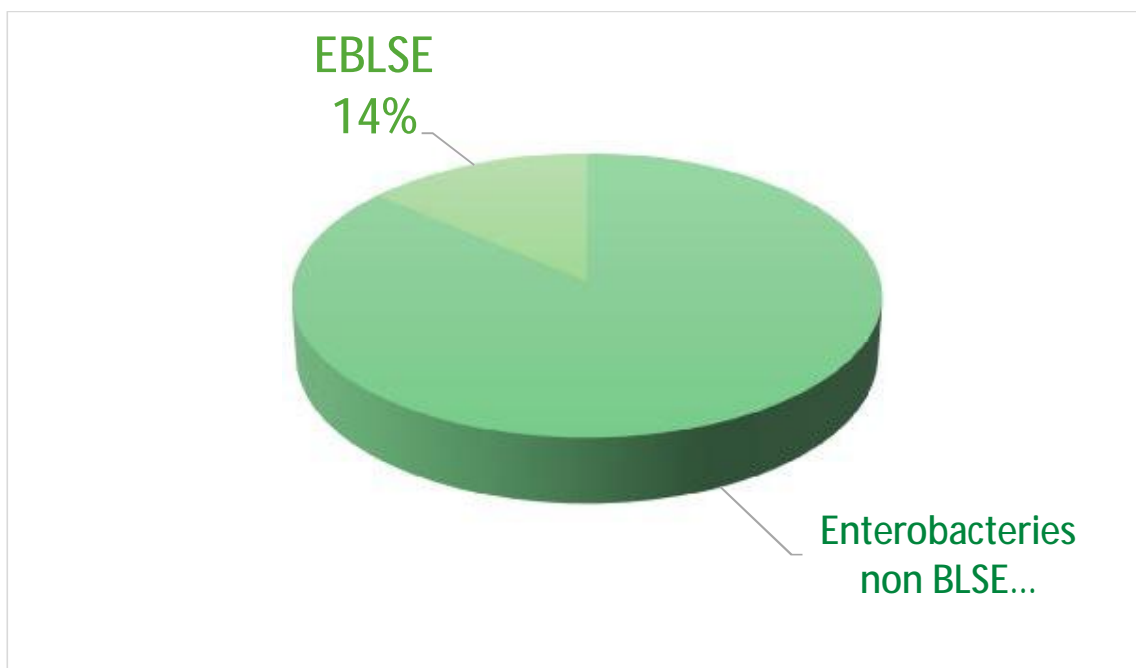


Figure 10. Fréquence d'isolement des EBLSE au sein des entérobactéries isolées

Tableau II. Répartition des EBLSE selon le service d'isolement :

Souches	Entérobactéries	E-BLSE	pourcentage
Hospitalier	115	63	54.78 %
Externe	552	29	5.25 %
Total	668	92	13.77 %

III. REPARTITION DES PORTEURS D'EBLSE SELON LE SEXE ET L'AGE

La répartition selon le sexe montre une prédominance féminine avec sexe Ratio homme/femme de 1.96 (Figure 4) ; donc pratiquement 2 contre 1.

L'étude des tranches d'âge montre une nette prédominance des E-BLSE isolées des urines chez les plus de 55 ans (retraités des Forces Armées Royales) qui représentent 71% des cas. (Voir Figure 5) Il n'a pas été possible de déterminer avec précision l'âge des patients car non fourni lors des demandes d'ECBU. Les tranches d'âge ont été déduites selon qu'il s'agit d'enfant de mutualistes FAR, de militaire d'active ou de retraités.

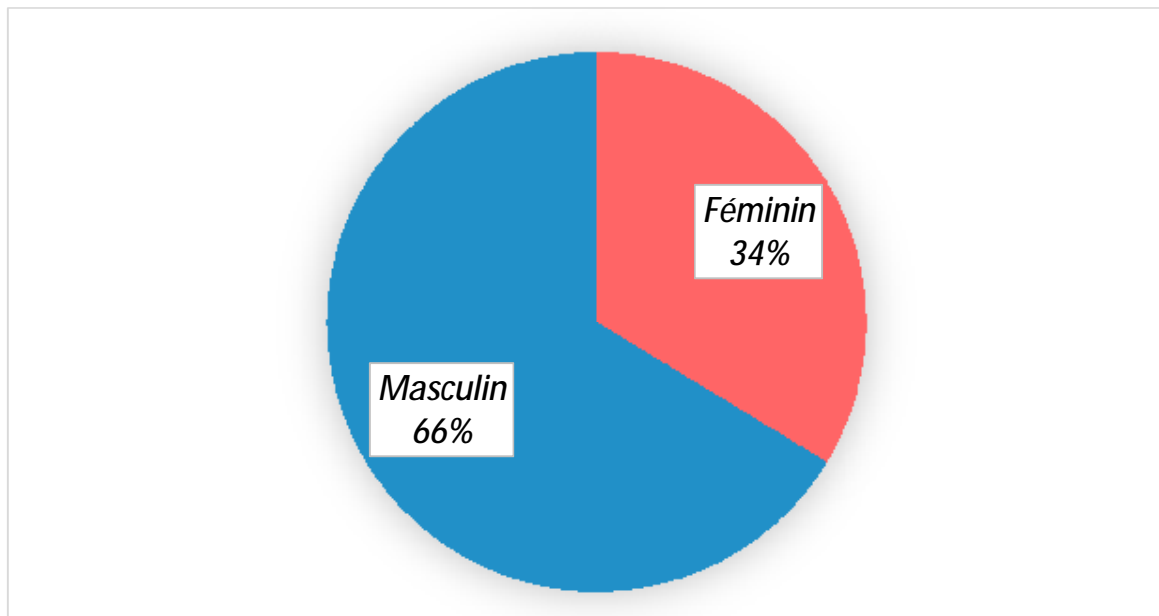


Figure 11. Répartition des patients porteurs EBLSE selon le sexe.

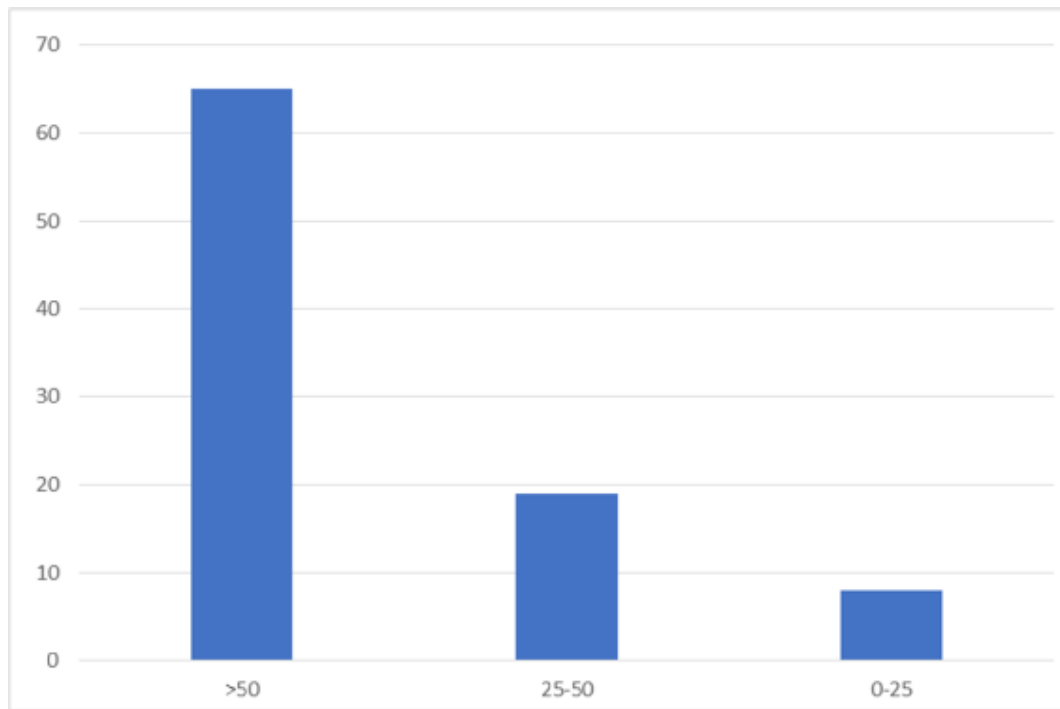


Figure 12. Répartition des patients porteurs EBLSE uropathogènes selon les tranches d'âge

IV. REPARTITION DES EBLSE SELON LES SERVICES.

Une revue des services hospitaliers chez qui une infection urinaire a EBLSE était notée montre que ces derniers émanaient d'avantage des services d'urologie de chirurgie viscérale et de réanimation constituant respectivement 79.36% ,7.93 % et 4.76 % (Figure 6) ; donc plus de 90 % ensemble .

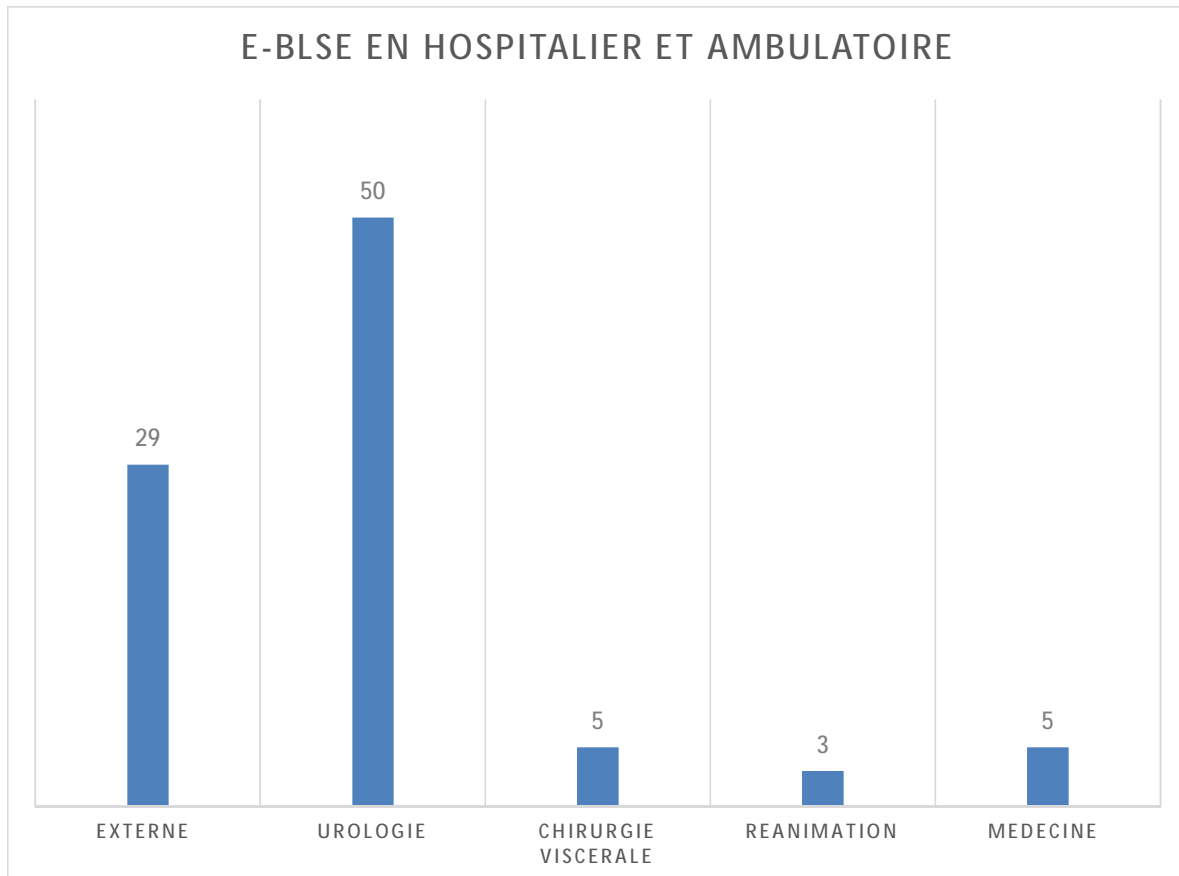


Figure 13. Répartition des patients porteurs d'EBLSE en fonction de leur provenance

V. REPARTITION GLOBALE DES EBLSE SELON LES ESPECES

La répartition des EBLSE montre une prédominance des *E. coli* réalisant environ 61 % (n=56) des cas (tableau III) ; suivi de *Klebsiella oxytoca* 17.4% (n=16) puis *K.pneumoniae* 14.1% (N=13) et finalement *Enterobacter cloacae* 7.6% (N=7).

Tableau III. Répartition selon le genre bactérien des entérobactéries BLSE

Souches	Nombre de Souches	Pourcentage
<i>E. coli</i>	56	60.90%
<i>Klebsiella oxytoca</i>	16	17.40%
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	13	14.10%
<i>Enterobacter cloacae</i>	7	7.60%
<i>Total</i>	92	100

VI. CAPACITE DE PRODUCTION DE BLSE PAR ESPECE

La fréquence d'isolement des BLSE au sein de chaque espèce d'entérobactérie montre une capacité de production de BLSE plus importante chez *Klebsiella pneumoniae* avec 28.26% (13/46), suivie de *Klebsiella oxytoca* avec 24.24 % (16/66), d' *Enterobacter cloacae* avec 20 % (7/35) et d'*Escherichia coli* avec 11.36 % (56/493), par contre aucune souche de *Proteus spp*, *Providencia spp* ou de *Citrobacter* productrice de BLSE n'a été isolée (Tableau IV).

Tableau IV. Fréquence des EBLSE au sein de leurs espèces bactériennes

Espèce d'entérobactéries	Entérobactérie	E-BLSE	fréquence d'isolement
<i>Escherichia coli</i>	493	56	11.36%
<i>K. pneumoniae</i>	46	13	28.26%
<i>K. oxytoca</i>	66	16	24.24%
<i>Enterobacter cloacae</i>	35	7	20%
<i>Proteus. spp</i>	16	0	0%
<i>Autres Entérobactéries</i>	8	0	0%
<i>Total</i>	668	92	13.77%

VII. PROFIL DE RESISTANCE DES EBLSE AUX BETALACTAMINES :

Concernant la résistance aux antibiotiques chez les EBLSE (figure 7), l'analyse des cas a montré une résistance considérable à la combinaison sulfaméthoxazole / triméthoprime ou cotrimoxazole (85%) et à la ciprofloxacine (91.3%). La résistance à la gentamicine chez les E-BLSE a atteint (62%). Ces souches ont également montré une résistance de l'ordre de 5.4 % vis-à-vis de l'imipénème et de la fosfomycine. Par ailleurs, Ces souches BLSE gardaient une bonne sensibilité à l'Amikacine (1.1% de résistance).ce qui en fait l'aminoside de choix en cas de nécessité d'association d'antibiotiques pour le traitement.

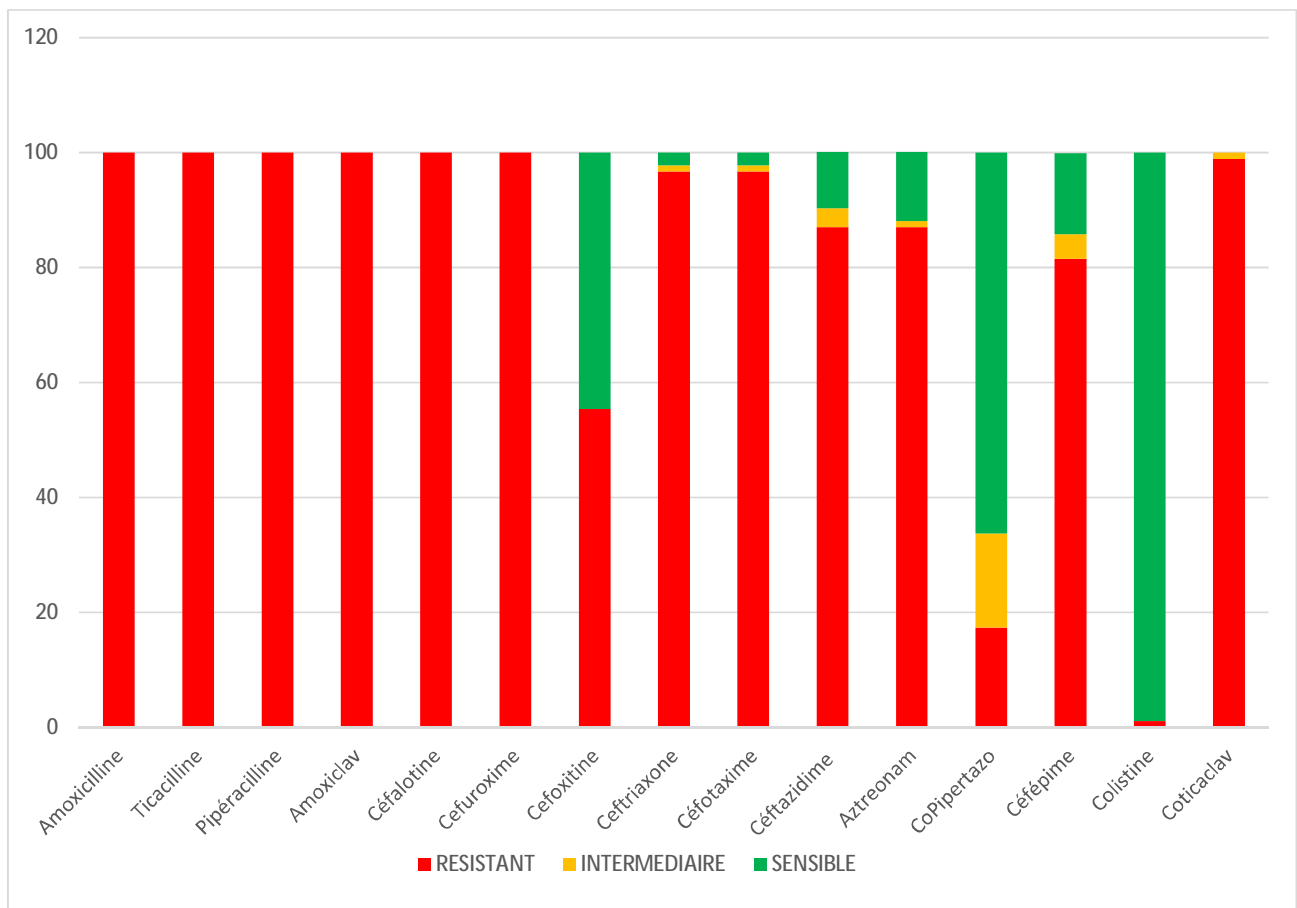


Figure 14. Etude de la Résistance/Sensibilité des EBLSE aux bêtalactamines testés.

VIII. PROFIL DE RESISTANCE DES EBLSE AUX AUTRES

ANTIBIOTIQUES TESTE :

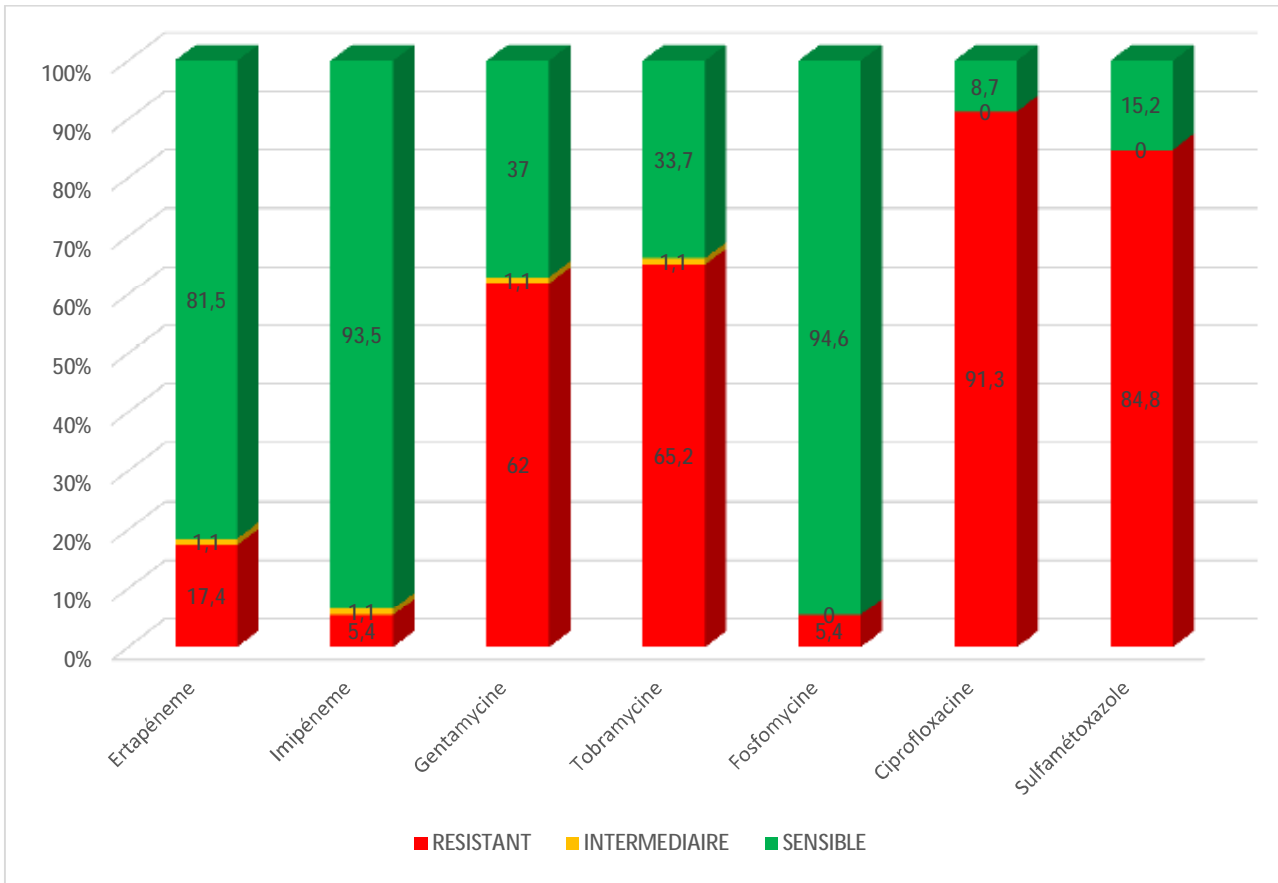


Figure 15. Profil de résistance associée des EBLSE aux autres antibiotiques.

DISCUSSION

Rappels et généralités :

1. Résistances bactériennes aux antibiotiques :

1.1 Aspects généraux :

1.1.1 Définition :

La résistance aux antibiotiques se définit par la capacité d'une bactérie à se développer en présence d'un agent antimicrobien, dont l'action sensé la tuer ou empêcher ou ralentir sa croissance (8).

L'OMS (9) définit la résistance aux antimicrobiens par : « la résistance d'un micro-organisme à un médicament antimicrobien auquel il était jusque-là sensible. Les micro-organismes (bactérie, virus et certains parasites) peuvent résister à l'attaque des antimicrobiens tels que les antibiotiques, les antiviraux et les antipaludéens de sorte que les traitements classiques deviennent inefficaces et que les infections persistent et peuvent se propager. La résistance aux antimicrobiens est la conséquence de l'utilisation et surtout de la mauvaise utilisation des antimicrobiens et apparait lorsqu'un micro-organisme mute ou acquiert un gène de résistance ».[9]

Il existe un grand nombre de définitions pour l'expression « résistance bactérienne aux antibiotiques», qui sont basées sur différents critères (génétiques, biochimiques, microbiologiques et cliniques).

Les définitions les plus fréquemment employées se fondent sur les critères microbiologiques (résistance *in vitro*) matérialisée par des CMI élevées et sur les critères cliniques (résistance *in vivo*) représentée par l'échec thérapeutique.

1.1.2 Support génétique de la résistance :

a. Résistance naturelle :

Il existe un ou plusieurs mécanismes de résistance innés, donc propres à l'espèce. Il permet de définir le spectre clinique initial d'un antibiotique et le phénotype dit : sauvage. Certaines bactéries possèdent des mécanismes de résistance naturels (10,11). Ceux-ci sont codés dans le génome bactérien, et sont retrouvés de façon constante au sein des espèces bactériennes concernées. Par exemple, les entérobactéries sont naturellement résistantes aux macrolides, et les bactéries anaérobies résistantes aux aminosides.

b. Résistance acquise :

Elle est constatée lors de l'acquisition d'un mécanisme de résistance par une souche d'une espèce habituellement sensible résultant d'une modification du capital génétique permettant à une bactérie de tolérer une concentration d'antibiotique plus élevée que celle qui inhibe les souches sensibles de la même espèce. Les mécanismes de résistance aux antibiotiques évoqués par l'OMS sont, eux, des mécanismes de résistance acquis. On peut en distinguer deux types :

Les résistances chromosomiques acquises (10) sont la conséquence de mutations au sein du génome d'une bactérie. Ces mutations spontanées sont une cause mineure de résistance aux antibiotiques (moins de 20%). Elles se transmettent verticalement au sein du clone bactérien concerné. Leur aspect revêt un caractère de modification de la cible des antibiotiques

Les résistances extra-chromosomiques (11) ont pour support des éléments génétiques mobiles : plasmides, transposons ou intégrons. Elles représentent plus de 80% des résistances acquises aux antibiotiques. Elles se transmettent horizontalement d'une bactérie à l'autre, y compris entre espèces différentes.

c. Structures d'ADN qui assurent la transmission de la résistance aux antibiotiques :

Ø Plasmides

Les plasmides sont des molécules d'ADN extra chromosomiques capables de réplication autonome ; et pouvant conférer une résistance aux principales classes d'antibiotiques (12). Une même bactérie peut porter un ou plusieurs plasmides selon leur compatibilité mutuelle et chacun d'eux peut contenir un ou plusieurs gènes de résistance (13). Les plasmides peuvent également se transmettre à une souche sensible principalement par conjugaison mais aussi par transformation ou transduction à l'aide de bactériophages. Les plasmides, en fonction de leur efficacité de conjugaison, vont permettre le transfert horizontal de ces composantes à d'autres bactéries qui peuvent être de différentes espèces, genres et familles (14). Les plasmides peuvent acquérir d'autres gènes de résistance par l'intermédiaire d'éléments transposables et d'intégrons par exemple. Noter que les plasmides transmettent aussi des caractères métaboliques gènes d'enzymes dont celles dégradant les antibiotiques comme les BLSE.

La survenue de flambée épidémique de bactéries à gram négatif multirésistante est largement attribuée à ce type de transmission.

Ø Éléments génétiques transposables

Les éléments transposables sont des séquences d'ADN ayant la capacité de se déplacer et de s'insérer à différents endroits dans un chromosome ou un plasmide par un processus de transposition anarchique. Il existe différentes types d'éléments transposables dont :

- Les séquences d'insertion (SI ou IS en anglais) sont de courtes séquences génétiques de 800 à 2000 pb qui codent uniquement pour la transposition.

-Les transposons codent également pour les déterminants de la transposition ainsi que pour d'autres fonctions, notamment celle de conférer la résistance aux antibiotiques (15).

Ø Intégrons

L'ampleur de la diffusion de la résistance est attribuable en majeure partie par le déplacement des gènes de résistance par le biais d'intégrons (16). Ceux-ci étant des éléments génétiques mobiles avec une structure spécifique composée de deux segments conservés encadrant une région centrale appelée « cassette » (16 ; 17). La transposition des intégrons n'est pas anarchique et a lieu au niveau de sites spécifiques, celle-ci peut recevoir, à différents moments des gènes variés dont ceux de la résistance aux antibiotiques qui vont s'insérer toujours au même endroit « site d'insertion » ce qui provoque l'allongement de l'intégrons dans un sens.

Les intégrons peuvent être associés à des (SI), des transposons ou des plasmides pouvant leur conférer une mobilité (16). Les plasmides sont des vecteurs importants pour leur transmission entre les bactéries dans l'environnement hospitalier (18).

Ø Événements complexes :

En outre, certaines résistances résultent de l'association d'une mutation et d'un transfert horizontal de gène, comme par exemple les événements conduisant à l'élargissement du spectre des bêtalactamases ou qui leur confèrent une résistance aux inhibiteurs de bêtalactamases. (12).

1.1.3 mécanismes de résistance aux antibiotiques :

La résistance bactérienne aux antibiotiques peut résulter de plusieurs mécanismes biochimiques (10,11) :

Ø Mécanismes interférant avec le transport de l'antibiotique

◦ *Diminution de la perméabilité :*

Les porines de la membrane externe des bactéries à Gram négatif empêchent l'entrée de l'antibiotique dans la cellule, soit par diminution de leur nombre ou par modification de leur structure [11]. Des mutations au niveau des gènes qui codent pour les porines pourraient conduire à leur perte ou à la réduction de leur taille ou encore à une diminution de leur expression et se traduit par l'acquisition de bas niveaux de résistance vis-à-vis de nombreux antibiotiques. La diminution de la perméabilité est un mécanisme de résistance cliniquement très important chez les bactéries Gram négatives et plus précisément chez *P. aeruginosa* et les *Entérobactéries*, étant donné le large spectre d'antibiotiques qu'elle concerne.

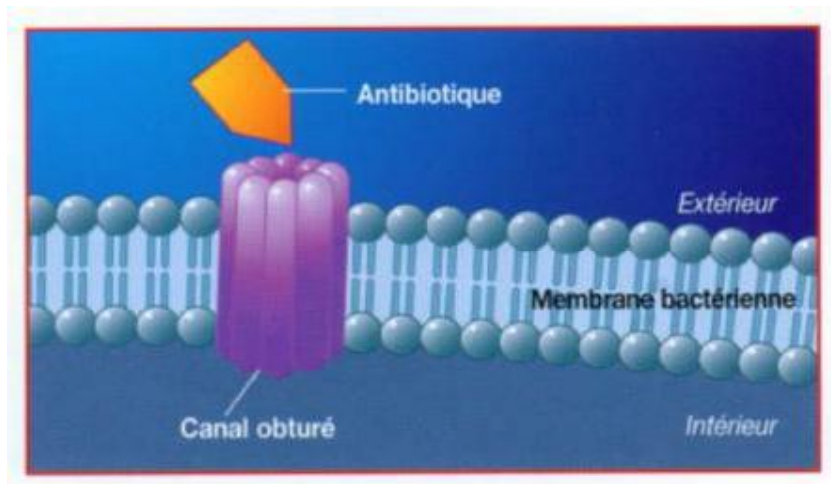


Figure 16. Mécanisme d'imperméabilité chez les BGN : altération des porines [19]

◦ *Efflux actif :*

Ce mécanisme de résistance est médié par des protéines transmembranaires connues sous le terme de pompes à efflux ou transporteurs actifs, qui expulsent

l'antibiotique hors de la cellule bactérienne. Par mutations affectant les systèmes d'efflux constitutifs conduisant à une surexpression de ces systèmes

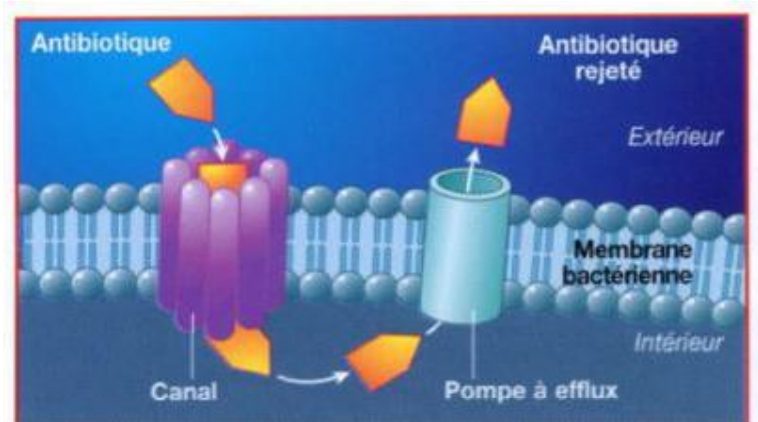


Figure 17. Schéma explicatif mécanisme d'efflux [19]

Ø **Inactivation enzymatique :**

Elle représente le principal mécanisme de résistance bactérienne aux antibiotiques. Une enzyme neutralise l'antibiotique en le modifiant ou en l'hydrolysant. Les bêta-lactamases par exemple sont des enzymes capables de cliver le cycle beta-lactame et ainsi de réduire les bêta-lactamines en produits inactifs. (Ex. les pénicillinases les céphalosporinases les bêta-lactamase à spectre étendu et les carbapénèmes)

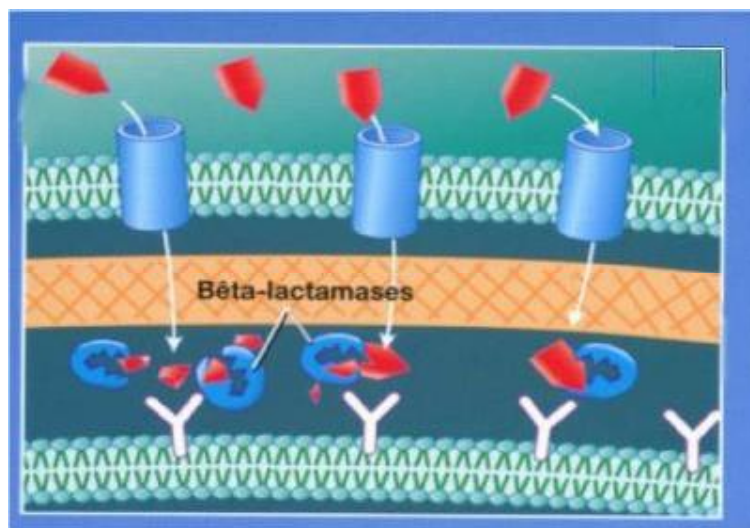


Figure 18. Schéma représentatif du mécanisme d'inactivation enzymatique de bêta-lactamines [19]

La modification enzymatique d'un antibiotique par ajout d'un radical au niveau du site actif le rend incapable de se lier à sa cible même intacte.(aminosides , phénicolés ...)

Ø Modification de la cible de l'antibiotique :

Toute modification, substitution et/ou hyperproduction de la cible d'antibiotique entraînent une diminution de son affinité pour l'antibiotique ou une « inondation » noyant l'action de l'antibiotique. Exemple : les PLP ou protéines liant les pénicillines ; cible des pénicillines. Ce mécanisme concerne plus souvent les Cocci Gram (+) que bactéries les Gram (-).

1.1.4 Facteurs responsables de l'augmentation de la résistance aux antibiotiques

Un ensemble de facteurs environnementaux contribue également à l'émergence et la propagation de la résistance. Ceux-ci sont résumés dans le (Tableau V.)

Tableau V. Facteurs contribuant à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques.

[20,21]

Facteurs contribuant à l'augmentation de la résistance aux antibiotiques
1. Pression sélective exercée par l'utilisation d'antibiotiques
2. Surutilisation ou utilisation inappropriée des antibiotiques
3. Utilisation massive des antibiotiques en milieu hospitalier
4. Dissémination internationale de clones épidémiques résistants
5. Utilisation des antibiotiques dans l'industrie agroalimentaire

Les bactéries se caractérisent par une capacité d'adaptation à leur environnement, notamment par leur reproduction rapide, la fréquence de mutation génétique aléatoire et leur capacité à échanger du matériel génétique entre elles.

Ø Pression sélective exercée par l'utilisation d'antibiotiques [20,21]

L'utilisation d'antibiotiques exerce une pression de sélection sur les populations bactériennes en favorisant la survie des bactéries présentant une ou des mutations conférant une résistance aux antibiotiques ou ayant acquis un ou des gènes de résistance à ces antibiotiques par l'entremise d'éléments génétiques mobiles. Les bactéries continuent ainsi à se reproduire, en transmettant à leur descendance leurs gènes de résistance, produisant rapidement une génération de bactéries majoritairement résistantes (22). Des bactéries dites compétentes sont aussi capables d'intégrer de l'ADN exogène présent dans le milieu extérieur et ainsi acquérir potentiellement des gènes de résistance aux antibiotiques provenant d'autres espèces bactériennes aboutissant au phénomène de transformation. Elles peuvent ensuite transmettre à leur descendance leurs gènes de résistance lors de la réplication produisant ainsi une population de bactéries résistantes à l'agent antibactérien qui va alors les sélectionner.

Ø Surutilisation ou utilisation inappropriée des antibiotiques : [20,21]

La surutilisation ou l'utilisation inappropriée des antibiotiques constitue le second important dans l'augmentation de la résistance. Dans les pays développés, il est démontré les pratiques médicales inappropriées sont souvent favorisées par l'incertitude du diagnostic, le manque d'opportunité pour le suivi des patients, le manque de connaissances sur les traitements optimaux ou suite à la demande du patient (21) et la prescription d'antibiothérapies par les cliniciens sans connaissance de l'agent causal réel de l'infection. En effet, environ 25% des prescriptions d'antibiotiques sont données dans le traitement d'infections d'origine virale (23). Dans le cas des pays en voie de développement, ces problèmes surviennent généralement en raison d'absence de réglementation et de consensus et par

commercialisation d'agents antimicrobiens sous dosés ou disponibles sans prescription médicale avec en plus une mauvaise observance (21).

Certains comportements des patients jouent également un rôle dans l'émergence de la résistance, notamment :

- l'automédication ou les pharmaciens d'officine ont un grand rôle à jouer.
- le non-respect des traitements recommandés : omission de prise des médicaments, interruption prématurée des traitements lorsque l'état de santé s'améliore ou dans le cas où les patients ne peuvent se permettre un traitement complet. C'est un véritable défi.

Dans certains pays, les problèmes de non-conformité et d'automédication sont amplifiés en raison du non-respect des procédés industriels et du sous dosage des antimicrobiens ou l'utilisation de produits périmés ou altérés par une mauvaise conservation (21).

Ø Utilisation massive des antibiotiques en milieu hospitalier : [20,21]

Diverses pratiques courantes dans les hôpitaux contribuent aussi au problème de résistance aux antibiotiques. Les hôpitaux sont, en effet, des milieux particulièrement fertiles pour la propagation des microbes résistants. On y retrouve

- Un nombre important de patients.
- un système immunitaire affaibli chez certains patients (« grands malades »)
- un contact entre patients et personnel de soins.
- traitement par thérapie antimicrobienne intensive et prolongée.

La transmission des micro-organismes résistants aux antimicrobiens chez les patients peut être aéroportée, à partir d'une source ponctuelle, tel du matériel contaminé, ou par contact direct ou indirect avec un environnement contaminé ou les mains contaminées du personnel (24). Mais le plus souvent, il s'agit de germes portés par le malade lui-même.

Ø Dissémination internationale de clones épidémiques résistants [20,21]

Certaines clones transfèrent plus facilement leurs éléments génétiques mobiles et portent aussi souvent des facteurs de virulence qui facilite leur diffusion épidémique et contribue à l'augmentation de la résistance à grande échelle (25).

La fréquence de voyages internationaux, le commerce et même le tourisme médical ont contribué à la dissémination de la résistance aux antimicrobiens en permettant aux microbes résistants de se répandre dans le monde avec facilité (26). Plusieurs pays sont endémiques pour certains micro-organismes résistants et sont une source centrale.

Ø Utilisation des antibiotiques dans l'industrie agroalimentaire [20,21]

Finalement, en dehors d'un usage médical, l'utilisation de divers agents antimicrobiens chez les animaux, que ce soit pour usage thérapeutique ou comme facteur favorisant la croissance, peut conduire au développement de micro-organismes résistants aux agents antimicrobiens qui sont ensuite transmis à l'homme, le plus souvent par le biais des produits alimentaires (27).

1.1.5 Résistance aux β -lactamines chez les bactéries à Gram négatif

L'ensemble des facteurs précédemment présentés a induit une expansion du phénomène de résistance aux antibiotiques conduisant à un problème répandu de bactéries multirésistantes (BMR) qui est d'autant plus menaçant, étant donné le nombre très limité de nouveaux agents antimicrobiens qui sont en développement (28). En Effet, depuis l'année 2000, un tarissement de la recherche en antibiotiques a été observé.

La résistance aux bactéries à Gram négatif a pris de l'importance les dernières années. En effet, l'Infectious Diseases Society of America (IDSA) a récemment relevé six bactéries regroupées sous le nom « ESKAPE » dont *Enterococcus faecium*,

Staphylococcus aureus, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* et les espèces d'*Enterobacter* qui sont responsables des deux-tiers des infections acquises en milieu hospitalier et dont les deux-tiers sont des bactéries à Gram négatif (28). En matière de BMR, objet de surveillance et des rapports au niveau de l'établissement de soins dans les pays développés, les EBLSE sont la menace la plus importante par leur fréquence. De ce fait, l'OMS identifie ce phénomène comme une menace de santé publique majeure (29). Le taux de mortalité associé à une infection bactérienne par une souche à Gram négatif résistante aux β -lactamines est de 2 à 4 fois plus élevé que celui associé à une infection causée par une souche sensible (30).

La résistance aux bêtalactamines chez les BGN peut être causée par plusieurs mécanismes cités précédemment, est majoritairement causée par un mécanisme d'inactivation enzymatique, soit par l'hydrolyse du noyau betalactamase par l'action d'une betalactamase (31). (Figure 19)

Au cours des 70 dernières années, l'utilisation des bêtalactamines, incluant les nouvelles β -lactamines comme les C3G et les carbapénèmes, ayant un spectre d'action de plus en plus large envers les BGN, a sélectionné des enzymes de type betalactamases, chacune plus puissante que la précédente.

1.2 Bêtalactamases :

1.2.1 Définition :

C'est le principal mécanisme de la résistance aux bêtalactamines chez les entérobactéries. Les bêtalactamases sont des Enzymes produites par les micro-organismes capables d'ouvrir le cycle beta-lactame des antibiotiques de classe bêtalactamines en créant un intermédiaire acyl-enzyme instable, menant au final à la perte d'un groupement carboxyle (*figure 19*).

Cette action est irréversible, ce qui entraîne donc la perte complète de l'activité antibactérienne de l'antibiotique, Les β -lactamases sont sécrétées dans l'espace péri-plasmique chez les BGN. Cette localisation particulière permet aux enzymes d'agir directement sur les bêtalactamines, avant que celles-ci n'aient le temps de rencontrer leurs cibles, les PLPs, situées dans la membrane cytoplasmique. Les bêtalactamases ont une vitesse d'hydrolyse très efficace, soit de 1000 cycles β -lactame par seconde, comparativement aux PLPs ayant une capacité d'hydrolyse d'un cycle β -lactame par heure (32, 33,34).

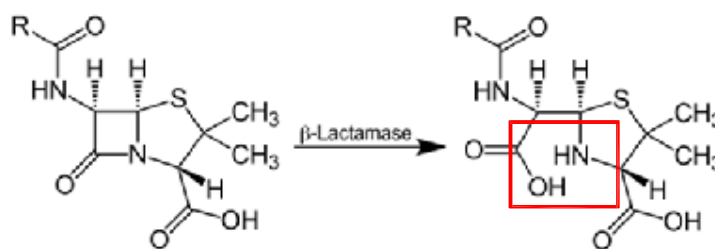


Figure 19. Réaction d'inactivation d'une β -lactamine par l'action d'une β -lactamase.[32,33,34] L'ouverture du cycle à quatre membres rompt la fonction amide imitant la chaîne peptidique (D-alanine-D-alanine) formant les liaisons dans le peptidoglycane.

1.2.2 Classifications des bêtalactamases :

Les bêtalactamases sont communément divisées selon deux schémas La classification moléculaire *d'Ambler* et celle fonctionnelle de *Bush-Jacobi-Medeiros*, La première classification des bêtalactamases se base sur la structure primaire des enzymes (35) alors que la seconde repose sur Leurs caractéristiques fonctionnelles (31).

Table 1. Brief classification scheme for β -lactamases.

Ambler class	Bush group	Representative examples	Gene location	Substrate preference	Inhibited by
A	2a,2b	TEM-1/2 SHV variants	Plasmid Plasmid/chromosome	Penicillin	Clavulanate, sulbactam
	2be	ESBLs (TEM-3-TEM-100, CTX-M) SHV-3-SHV-54	Plasmid Transposon Plasmid/chromosome	Ampicillin, 2nd and 3rd generation cephalosporins	Clavulanate, tazobactam
	2br	TEM (IRTs) SHV IRTs	Plasmid Plasmid/chromosome	Ampicillin, cephalosporins	Tazobactam
	2c	Carbenicillin hydrolyzing		Carbenicillin	
	2e	Cephalosporinases		Cephalosporins	Clavulanate, tazobactam
	2f	NMC-A, IMI, SME-1 to SME-3	Chromosome	Ampicillin, aztreonam, carbapenems	Clavulanate, tazobactam
	2f	KPC-1 to KPC-3, GES-1 to GES-2	Plasmid, Plasmid-integron	Ampicillin, cephalosporins, aztreonam, carbapenems	Clavulanate, tazobactam
B	3a,3b,3c	Zinc metallo β -lactamases IMP-1 to IMP-14, VIM-1 to VIM-3	Some chromosome, often plasmid and integron	Cephalosporins plus carbapenems, penicillins	EDTA
C	1	AmpC-type CMY, MOX, FOX, ACT-1, DHA-2	Originally only chromosome, now plasmids	Cephalosporins, cephamycins, penicillins	Cloxacillin
D	2d	OxAs, PSEs OXA-23-27, 40, 48	Chromosome, plasmids some on integrons	Oxacillin, penicillin, carbenicillin, cephaloridine plus carbapenems	Clavulanate
	4	Miscellaneous AVS-1			

EDTA: Ethylenediaminetetraacetic acid.

Figure 20. Tableau des classes moléculaires et fonctionnelles des principales bêtalactamases [31]

Ø classification d'Ambler :

La classification moléculaire d'Ambler a été proposée en 1980 est basée sur des critères phylogénétiques. Elle classe les bêtalactamases en 4 groupes A, B, C et D,

Les bêtalactamases de Classe A, C et D comportent une Sérine active responsable de l'ouverture du cycle β -lactame. Schématiquement, les β -lactamases

de classe A sont sensibles à l'action de l'acide clavulanique, du sulbactam et le tazobactam. On y trouve la majorité des β -lactamases retrouvées chez *E. coli* (TEM, SHV, ...), des β -lactamases à spectre élargi (BLSE) comme Les CTX-M, et des carbapénèmases comme KPC (*Klebsiella pneumoniae* Carbapénèmase).

À l'opposé, les bêtalactamases de classe B ont besoin d'un ou deux atomes de zinc ionisé bivalent (Zn^{2+}) pour hydrolyser leur substrat et sont ainsi couramment appelées « Métalloenzymes » ou métallo- β -lactamases (MBLs). Les bêtalactamases de classe B sont principalement des carbapénèmases comme IMP et VIM, elles sont inhibées par l'EDTA (éthylène diamine tétra acétate) chélateur de cations bivalents.

Les bêtalactamases de classe C sont les céphalosporinases de type AmpC, Inhibées par la cloxacilline et insensible à l'acide clavulanique.

Enfin les bêtalactamases de Classe D (β -lactamases OXA) sont des oxacillines, qui constituent une famille extrêmement composite en termes de spectre d'hydrolyse. Cette classe est plus impliquée dans la résistance au carbapénèmes est endémique au Maroc.

Ø classification Bush-Jacobi-Medeiros :

La classification de Bush et al. proposé en 1995 est plus ramifiée [31] notamment par la présence de sous-classes pour les betalactamases de classe A, les classes fonctionnelles particulières a une enzyme offre l'information utile au clinicien pour la prescription d'une antibiothérapie efficace selon leur profil de substrat et d'inhibiteurs.

1.2.3 Les Bêtalactamases à Spectre étendu : BLSE

a. Définition :

Les infections causées par des bactéries productrices de BLSE sont associées à un taux d'échec thérapeutique et de mortalité élevés.

Il n'y a pas de consensus sur la définition précise des BLSE.

Classiquement, les BLSE sont des enzymes à large spectre d'action appartenant à la classe A (À l'exception des BLSE de type OXA classe D) de la classification d'Ambler capables d'hydrolyser les pénicillines, toutes les générations de céphalosporines ainsi que les monobactames et sont inhibés par l'acide clavulanique par contre les BLSE n'ont aucune action sur les carbapénèmes et les céphamycines (bêtalactamines différant des céphalosporines par la présence d'un groupement 7 α -methoxy). Une co-résistance avec les aminosides, les tétracyclines et les fluoroquinolones est fréquente. Les bactéries possédant des BLSE sont dites multirésistantes (36).

Le *Tableau VI* ci-dessous présente le profil de résistance aux β -lactamines conféré par les principales BLSE.

b. Différents types de BLSE :

Ø BLSE de type TEM et SHV :

Tableau VI. Profil de résistance aux β -lactamines conféré par les BLSE :

Enzymes	Classe d'Ambler	Pénicillines	Monobactames	C1G et C2G	C3G et C4G	Inhibiteurs de b-lactamases	Carbapénèmes
TEM /SHV CTX-M	A	R	R	R	R	S	S

Ø Les BLSE de type TEM (Temoneira)

L'enzyme parentale TEM-1 est la première betalactamase plasmidique décrite chez les bactéries à Gram négatif en 1965 [39]. Elle était produite par une souche d'*E. coli* isolée chez une patiente nommée Temoneira en Grèce, d'où le nom. Les substitutions d'acides aminés qui ont eu lieu au niveau de l'enzyme TEM sont localisées à des positions limitées. Les substitutions d'acides aminés aux positions 104, 164, 238 ou 240 produisent un phénotype BLSE, mais les BLSE de type TEM avec un plus large spectre possèdent plus d'une substitution [40]. Beaucoup d'enzymes de type TEM induisent une résistance plus importante à la ceftazidime et à l'aztréonam qu'au céfotaxime, mais ceux qui possèdent une substitution d'une sérine à la position 238 induisent aussi une résistance au céfotaxime. Actuellement, plus de 200 enzymes de type TEM ont été décrites en se basant sur les différentes combinaisons de changement d'acides aminés. Aux États-Unis, les variants à spectre étendu de type TEM les plus courants sont TEM-10, TEM-12 et TEM-26 (). Il est important de noter que tous les mutants des enzymes TEM-1 et TEM-2 ne sont pas des BLSE, comme les enzymes TEM résistantes aux inhibiteurs (TRI) ou encore les enzymes CMT (*Complex mutant TEM*) qui sont à la fois TRI et BLSE. Les gènes *bla*TEM-1 et *bla*TEM-2 sont portés par le transposon Tn3 comme la majorité des BLSE de type TEM. Les gènes *bla*TEM n'ont jamais été identifiés à l'intérieur d'une structure en intégron [41].

Ø Les BLSE de type SHV (Sulphydryl Variable)

Les BLSE de type SHV dérivent toutes de SHV-1 qui est une betalactamase codée par le gène *bla*SHV chromosomique naturellement présent chez les souches appartenant au phylogroupe Kp1 de l'espèce *K. pneumoniae* [42, 43]. SHV-1 est responsable aussi de près de 20% de la résistance plasmidique à l'ampicilline chez cette espèce [40].

La majorité des BLSE de type SHV est caractérisée par la substitution d'acides aminés Gly238Ser et Glu240Lys. Le résidu sérine à la position 238 est indispensable pour l'hydrolyse efficace du céfotaxime et le résidu lysine en 240 est crucial pour l'hydrolyse efficace de la ceftazidime [44]. Plus de 160 variants SHV BLSE ont été décrits SHV-12, SHV-2 et SHV-5 sont parmi les BLSE de type SHV les plus communes. La majorité des BLSE de type SHV a été détectée chez *K. pneumoniae*. Cependant, ces enzymes se sont disséminées vers d'autres entérobactéries et des épidémies à *Pseudomonas aeruginosa* et à *Acintobacter spp.* producteurs de BLSE de type SHV ont été décrites [45, 46]. Une copie unique de la séquence d'insertion IS26 a été identifiée en amont du gène *blaSHV*-like chez des souches d'entérobactéries et de *P. aeruginosa*. En effet, comme l'ont suggéré Ford et Avison (2004), il est fort probable qu'IS26 soit l'élément clé dans l'acquisition des gènes *blaSHV* avec une mobilisation qui a eu lieu suite à deux événements génétiques séparés [47]. Comme pour les gènes *blaTEM*, les gènes *blaSHV* n'ont jamais été décrits à l'intérieur de structures en intégron [40].

Ø Les BLSE de type CTX-M (Céfotaximase-Munich)

La première BLSE de type CTX-M (FEC-1) a été décrite chez une souche d'*E. coli* au Japon en 1986 [48]. Depuis, plus de 110 variants CTX-M ont été décrits et ont été classés en 6 groupes phylogénétiques : le groupe CTX-M-1 avec M-1, 3, 10, 11, 12, 15, 22, 23, 28, 29 et 30 ; le groupe CTX-M-2 avec M-4, 5, 6, 7, 20, et Toho-1 ; le groupe CTX-M- 8 avec CTX-M-8, CTX-M-40 et CTX-M-63 ; le groupe CTX-M-9, avec M-13, 14, 16, 17, 18, 19, 21, 27, le groupe CTX-M-25 avec CTX-M-26 et enfin le groupe CTX-M- 45 . Ces nouvelles BLSE ne sont pas étroitement liées aux bêtalactamases de type TEM ou SHV puisqu'elles ne présentent que 40 % d'homologie avec ces BLSE classiques [39].

Les analyses génétiques ont montré que les gènes progéniteurs appartiennent au genre *Kluyvera*, entérobactéries d'isolement très rare en bactériologie médicale [49, 50]. Ainsi le phylum CTX-M-2 dérive de la betalactamase naturelle de *Kluyvera ascorbata* alors que les phylums, CTX-M-8 et CTX-M-9, viennent de *Kluyvera georgiana*. Le groupe CTX-M conférait à l'origine, chez les entérobactéries, un plus haut niveau de résistance au céfotaxime (ou ceftriaxone), céfépime et l'aztréonam qu'à la ceftazidime, d'où la dénomination CTX-M. Certaines d'entre elles ont évolué plus récemment par mutation (ponctuelle ou non) générant également un haut niveau de résistance à la ceftazidime telles que les enzymes CTX-M-15, CTX-M-16, CTX-M-19, CTX-M-23 et CTX-M-32. Les BLSE de type CTX-M sont inhibées plus par le tazobactam que par l'acide clavulanique. Les acides aminés clés impliqués dans la spécificité au substrat pour l'hydrolyse chez les BLSE de type CTX-M ont été identifiés : Asn104, Asn132, Ser237 et Asp240 [51]. Contrairement à ce qui a été observé chez les enzymes de type TEM et SHV (élargissement du site actif), la structure cristallographique de CTX-M-14, CTX-M-27, CTX-M-9 et CTX-M-16 a montré que les substitutions d'acides aminés induisaient des interactions spécifiques pouvant être responsables d'une meilleure activité vis-à-vis de la ceftazidime et du céfotaxime plutôt qu'une expansion du site actif [52]. Il faut noter qu'aucun gène *bla*CTX-M n'a été décrit sous forme de cassette dans un intégron [40].

1.3 Méthodes de détection des BLSE :

1.3.1. Méthodes basées sur la culture :

Différents tests phénotypiques spécifiques ont été mis au point pour détecter la production de BLSE. Chacun d'entre eux est basé sur l'utilisation d'une céphalosporine de 3e génération, habituellement la céfotaxime ou la ceftazidime, de même qu'un inhibiteur de β -lactamase, généralement l'acide clavulanique.

Ø Test de double synergie :

Le test de double synergie est la première méthode décrite pour déterminer la production d'une BLSE chez les entérobactéries (53,54). Le test est considéré comme positif lorsqu'il y a une augmentation nette de la zone d'inhibition d'une C3G (ex. : ceftazidime) en direction du disque contenant de l'acide clavulanique (Figure 21). Les valeurs de sensibilité et spécificité associées à cette méthode sont respectivement de 94.1% et 81.4% (55).

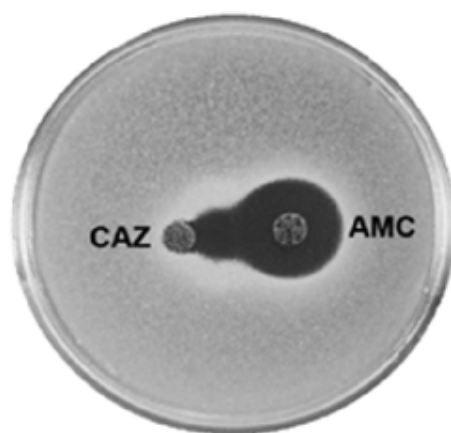


Figure 21. Test de double synergie.

Le disque contenant de la ceftazidime (CAZ) et celui contenant de l'acide clavulanique (AMC) sont placés à une distance de 30 mm maximum l'un de l'autre. La zone d'inhibition autour du disque de ceftazidime est augmentée en direction du disque d'acide clavulanique, ce qui indique une synergie entre la ceftazidime et l'acide clavulanique.



Figure 22. *Klebsiella pneumoniae* de sensibilité diminuée aux C3G avec image de synergie avec TIM Première synergie. CAZ : ceftazidime ; CRO : ceftriaxone ; TIM : association de ticarcilline et d'acide clavulanique.

Ø Bandelettes E-test® BLSE :

Les bandelettes Etest® BLSE contiennent un gradient de C3G à une extrémité de la bande et un gradient d'une C3G combinée avec l'acide clavulanique à l'autre extrémité. Le test est positif lorsque la valeur de la CMI de l'antibiotique testé est réduite de plus de trois dilutions en présence de l'acide clavulanique (56). L'interprétation des résultats des bandelettes d'E-test® BLSE est délicate et nécessite une expertise particulière. Les valeurs de sensibilité et spécificité associées à cette méthode sont respectivement de 94.1% et 84.7% (55).



Figure 23. E-Test classique :

CT=céfotaxime



Figure 24. Bandelettes Etest® BLSE.

À gauche : BLSE, au centre : non BLSE, à droite : BLSE douteux

Le système E-test® se réfère à une bande calibrée par un gradient d'antibiotiques dont la concentration de 15 dilutions est préétablie afin de déterminer la CMI en $\mu\text{g/mL}$ d'une souche testée en milieu gélosé. Le gradient couvre une gamme de concentrations allant de 0,016 à 256 $\mu\text{g/mL}$ ou 0,002 à 32 $\mu\text{g/mL}$ selon l'antibiotique. La zone d'inhibition délimitera la valeur de la CMI. C'est la meilleure méthode, mais elle est couteuse.

Ø Méthode des disques combinés :

Le principe de la méthode des disques combinés consiste à mesurer la zone d'inhibition autour d'un disque d'une C3G et le diamètre d'un disque de la même C3G additionnée d'acide clavulanique. Une différence de plus de 5 mm entre les deux zones d'inhibition démontre la production d'une BLSE (57) (Figure 25). Cette méthode est recommandée par le CLSI en raison de sa simplicité d'exécution et d'interprétation des résultats de même qu'une meilleure performance de sensibilité (92.9%) et de

spécificité (96.6%) par rapport aux autres tests phénotypiques (55). Cette technique est utilisée dans les automates mais en micro dilution en milieu liquide.

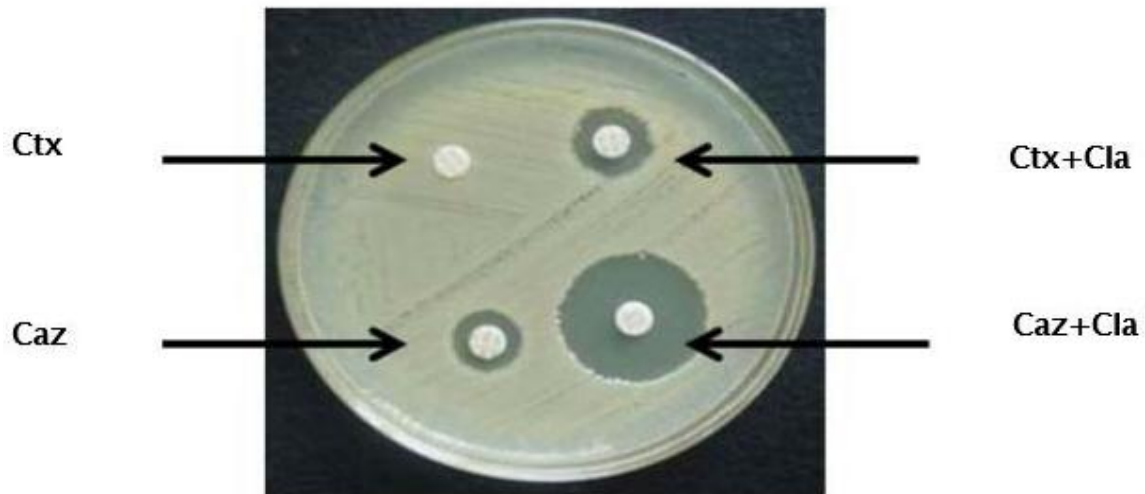


Figure 25. Méthode des disques combinés.

Céfotaxime (CTX) / CTX + Acide clavulanique (CLA), Ceftazidime (CAZ) / CAZ + Acide clavulanique (CLA). Une augmentation de > 5 mm du diamètre d'inhibition entre les disques avec et sans CLA montre une production de BLSE.

Ø Méthodes automatisées :

L'essai BLSE VITEK (bioMérieux) ou microscan walkaway (Dade Behring, Siemens, Beckman-coulter) ou BD phoenix (Becton-Dickinson) est basé sur l'évaluation simultanée de l'activité antibactérienne de plusieurs C3G mesurée seules et en présence d'acide clavulanique. Le dispositif de lecture mesure la turbidité à intervalles réguliers. La proportion de la baisse de croissance dans les puits contenant une C3G seule est comparée avec ceux où la C3G est en présence d'un inhibiteur de β -lactamase. L'interprétation est réalisée par le système informatisé intégré. Les valeurs de sensibilité et spécificité associées à cette méthode sont respectivement de 85.9% et 78.0% (55). La confirmation par méthode de synergie est toujours recommandée.

1.3.2 Les méthodes non basée sur la culture :

a. Méthodes génotypiques

Il existe plusieurs méthodes génotypiques dont les tests d'amplification d'acides nucléiques (TAAN) la réaction de polymérisation en chaîne (PCR) et l'hybridation sur biopuces à ADN. La technique PCR est la plus utilisée dans les essais diagnostiques .ces techniques ne détectent que celles visées par les kits et les gènes déjà connus.

Ø Réaction de polymérisation en chaîne (PCR)

La réaction de polymérisation en chaîne (PCR) permet d'amplifier de façon exponentielle une séquence spécifique d'acides nucléiques. Le mélange réactionnel doit être composé d'une ADN polymérase (*Taq* polymérase) = ADN Pol de *Thermophilus aquaticus*) d'amorces spécifiques à la séquence à amplifier et de mélange de dNTP (desoxy nucléotidyl triphosphate) et d'un tampon ionique spécial afin de produire un brin d'ADN complémentaire agissant à titre de matrice pour le cycle suivant. Chaque cycle comprend trois étapes qui se succèdent dans un thermocycleur : la dénaturation, l'hybridation et l'élongation. La dénaturation de l'ADN repose sur une augmentation de la chaleur à 95 °C afin de séparer les deux brins d'ADN. L'ADN passe sous forme de simple brin et chacun des brins peut alors servir de matrice pour les prochains cycles PCR. La température est ensuite abaissée (50-65°C) pour l'hybridation des amorces (58). L'élongation se déroule généralement à 72°C (59). Les cycles sont généralement répétés de 25 à 45 fois l'un après l'autre dans un thermocycleur automatique. La PCR permet de produire une grande quantité d'amplicons équivalant à des millions de copies du fragment d'ADN ciblé. Ainsi, la détection d'une séquence d'acides nucléiques qui étaient au préalable en faible quantité, peut être réalisée à la fin de la PCR pour électrophorèse d'ADN, Ou bien par méthodes PCR en temps réel.

La PCR en temps réel utilise le principe de base de la PCR classique. Toutefois, le thermocycleur contient un détecteur qui mesure directement la quantité d'amplicons produits durant les cycles d'amplification grâce à des marqueurs fluorescents qui émettent une quantité de fluorescence proportionnelle au nombre de molécules d'ADN présentes, en utilisant, par exemple, une sonde fluorescente de type TaqMan® qui s'hybride sur son ADN cible (60). Ou des produits intercalants fluorescents appelés cybrgreen.

Ø PCR multiplex en temps réel

La PCR multiplex est une technique PCR permettant l'amplification et la détection de différentes cibles d'ADN dans une seule et même réaction. La sélection des paires d'amorces permettant d'amplifier les différentes cibles de même que les sondes de détection doivent être dessinées en vue de minimiser les interactions possibles entre elles qui pourraient affecter l'efficacité de la réaction. En effet, il est essentiel d'optimiser chacun des paramètres dans le but de conserver les 4 paramètres cruciaux pour le développement de tests diagnostiques soit la rapidité, la sensibilité, la spécificité et l'ubiquité (61).

b. Méthode spectrophotométrique

Ø La spectrophotométrie de masse MALDI-TOF :

Le spectromètre de masse MALDI-TOF est un spectromètre utilisant une source d'ionisation laser assistée par une matrice (MALDI = Matrix-Assisted Laser Désorption/Ionisation) et un analyseur à temps de vol (TOF = Time-Of-Flight). La séparation des molécules par cette technique est plus douce qu'avec les autres méthodes. Elle permet d'ioniser des molécules de grande taille, peu volatiles et sensibles à la chaleur sans les dégrader. La méthode MALDI-TOF s'applique aux biomolécules plus fragiles comme les peptides, les protéines, les glycoprotéines et les oligonucléotides.

L'échantillon est mélangé à la matrice et placé sur une lame. Le dépôt (ou spot) formé est appelé cible. Une source laser est dirigée sur la cible afin d'ioniser les molécules de l'échantillon. Les ions sont ensuite détectés en mesurant le temps que mettent les différentes particules à atteindre le détecteur. La vitesse de chaque particule dépend du rapport masse/charge. Les molécules plus grandes mettront plus de temps à atteindre le détecteur, tandis que les molécules plus petites arriveront plus vite. Une fois l'ion arrivé au détecteur, le signal est amplifié et envoyé à un ordinateur qui traite les données et donne les résultats sous forme de spectre.

2. Entérobactéries productrices de BLSE :

Les EBLSE font partie des BMR comportant : SRAM, EPC, VRE, PARC, PARS, ABRI et bien d'autres. En raison de leur fréquence élevée, de leur potentiel pathogène, de leur caractère commensal qui expose au risque de diffusion, de leur caractère clonal ou du caractère aisément transférable des gènes de résistance impliqués, les deux bactéries considérées par les autorités de santé nationales et internationales comme des BMR (62-849) sont :

- les SARM : *Staphylococcus aureus* résistant à la méticilline.
- les entérobactéries productrices de bêta-lactamase à spectre étendu ou (élargi) (EBLSE). Au Maroc sont les plus fréquentes

2.1 Entérobactéries :

2.1.1 Définition et caractéristique communes :

Les entérobactéries forment une importante famille de bacilles à Gram négatif. Elles ont en commun leur localisation préférentielle au niveau du tube digestif de l'homme et des animaux d'où leur appellation «entérobactérie ». On les trouve aussi dans la cavité buccale, au niveau des voies aériennes supérieures et sur les organes génitaux. Ils peuvent persister en dehors d'organismes vivants, On les rencontre ainsi dans le sol, l'eau et dans certaines denrées alimentaires [90, 91,92].

La famille des entérobactéries se définit par les caractères suivants [90] [91] :

- bacilles à Gram négatif (2 à 4 microns de long sur 0,4 à 0,6 microns de large),
- mobiles avec ciliature péritriche ou immobiles,
- poussant sur milieux de culture ordinaires,
- aérobies - anaérobies facultatifs,
- fermentant le glucose avec ou sans production de gaz,
- réduisant les nitrates en nitrites,
- oxydase négatif.

2.1.2 Classification :

La famille des entérobactéries comprend actuellement une centaine d'espèces [92]. Les entérobactéries d'intérêt médical appartiennent à 12 genres : *Citrobacter*, *Enterobacter*, *Escherichia*, *Hafnia*, *Klebsiella*, *Morganella*, *Proteus*, *Providencia*, *Salmonella*, *Serratia*, *Shigella*, et *Yersinia* [91].

2.1.3 Caractères morphologiques :

Les espèces pathogènes pour l'homme possèdent des facteurs d'adhésion : fimbriae ou pili nécessaires à la colonisation, avec en plus des facteurs de virulence : toxines en particulier [91,93].

2.1.4 Caractères culturels :

Les entérobactéries se développent rapidement *in vitro* sur des milieux ordinaires, en aéro-anaérobiose. La température optimale de croissance est de 37 °C mais la culture est possible entre 20 et 40 °C. Leurs exigences nutritionnelles sont, en général, réduites et la plupart se multiplient en milieu synthétique avec une source de carbone simple comme le glucose. Sur milieux gélosés, les colonies d'entérobactéries sont habituellement lisses, brillantes, de structure homogène (type « smooth » ou S). Cet aspect peut évoluer après cultures successives pour donner des colonies à surface sèche rugueuse (type « rough » ou R). Les *Klebsiellae* forment des colonies souvent très muqueuses, larges et luisantes. Les *Proteus* ont tendance à envahir la gélose au sang et à y former un tapis uniforme. En milieu liquide, les entérobactéries occasionnent un trouble uniforme du bouillon [90, 91,93].

2.1.5 Caractères biochimiques :

L'identification du genre et espèce bactérienne repose d'abord sur l'étude des caractères biochimiques [93,94]. Des galeries biochimiques permettent de déterminer avec précision le genre et l'espèce, se basant sur :

- Ø L'étude du métabolisme glucidique (dégradation des sucres : glucose, lactose, galactose,...)
- Ø L'étude du métabolisme peptidique par la dégradation des acides aminés, recherche d'uréase et de tryptophane désaminase (TDA),
- Ø L'utilisation du citrate comme seule source de carbone,
- Ø La production d'acétoïne, d'H₂S,
- Ø L'hydrolyse de la gélatine.
- Ø Etc,

2.1.6 Caractères antigéniques :

Les entérobactéries possèdent différents antigènes [91,92] :

- **Antigène de Kunin ou Enterobacterial Common Antigen (ECA)** : C'est un antigène qui n'existe que chez les entérobactéries et, de ce fait, a un intérêt taxonomique.

- **Les antigènes O ou somatiques** : très toxiques, ils correspondent aux polysides fixés sur les lipopolysaccharides (LPS) d'endotoxine. Ils sont thermostables et résistent à l'alcool. Les bactéries portant des antigènes O sont agglutinées par les anticorps correspondants.

- **L'antigène R** correspond au polysaccharide du core central. La disparition de l'antigène O rend les souches "rough" autoagglutinables dans l'eau physiologique, plus sensibles aux substances bactéricides du sérum, facilement phagocytées et moins pathogènes.

- **Les antigènes H ou flagellaires** : Ils n'existent que chez les souches mobiles. Constitués de protéines spécifiques dénommées flagelline, ils sont thermolabiles et inactivés par l'alcool. On peut les mettre en évidence par agglutination sur lame avec des sérums spécifiques.

- **Les antigènes K, capsulaires, de nature polysaccharidique.** Ils masquent l'agglutination par les anticorps anti O qui peut être restituée après chauffage de la souche à 100°C car ils sont détruits par ébullition. Ce sont des antigènes de surface. Ces antigènes K sont appelés « Vi » chez salmonella.

2.2 Résistances aux bêtalactamines chez les entérobactéries

2.2.1 Définition des Bêtalactamines :

Les β -lactamines, représentent la famille d'antibiotiques la plus utilisée en Antibioprophylaxie et en antibiothérapie. L'importance de leur utilisation résulte de leur large spectre d'action, leur faible toxicité, leur efficacité thérapeutique ainsi que le faible coût de certaines molécules (95).

Les β -lactamines regroupent les pénicillines, les monobactames, les inhibiteurs de β -lactamases, les céphalosporines (1ère à 4ème génération) et les carbapénèmes. Elles se caractérisent par la présence d'un élément structural commun, soit le noyau β -lactame, nécessaire à l'activité

Antibactérienne de l'antibiotique (Figure 26). (96)

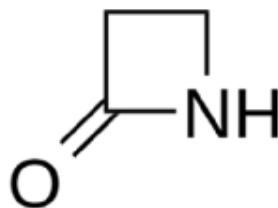


Figure 26. Structure du noyau β -lactame. (96)

Ce succès, accompagné d'une utilisation souvent excessive, a provoqué l'émergence et la diffusion de résistances au sein des principales espèces bactériennes d'intérêt médical pour tous les produits de la famille des bêtalactamines [97].

La classification des β -lactamines est basée sur la structure de la chaîne latérale additionnelle ajoutée au noyau β -lactame, induisant essentiellement des différences dans la biodisponibilité de l'antibiotique ainsi qu'une extension du spectre d'activité à l'égard des bactéries à Gram négatif (98). La (Figure. 27) présente la structure générale des 5 classes de β -lactamines.

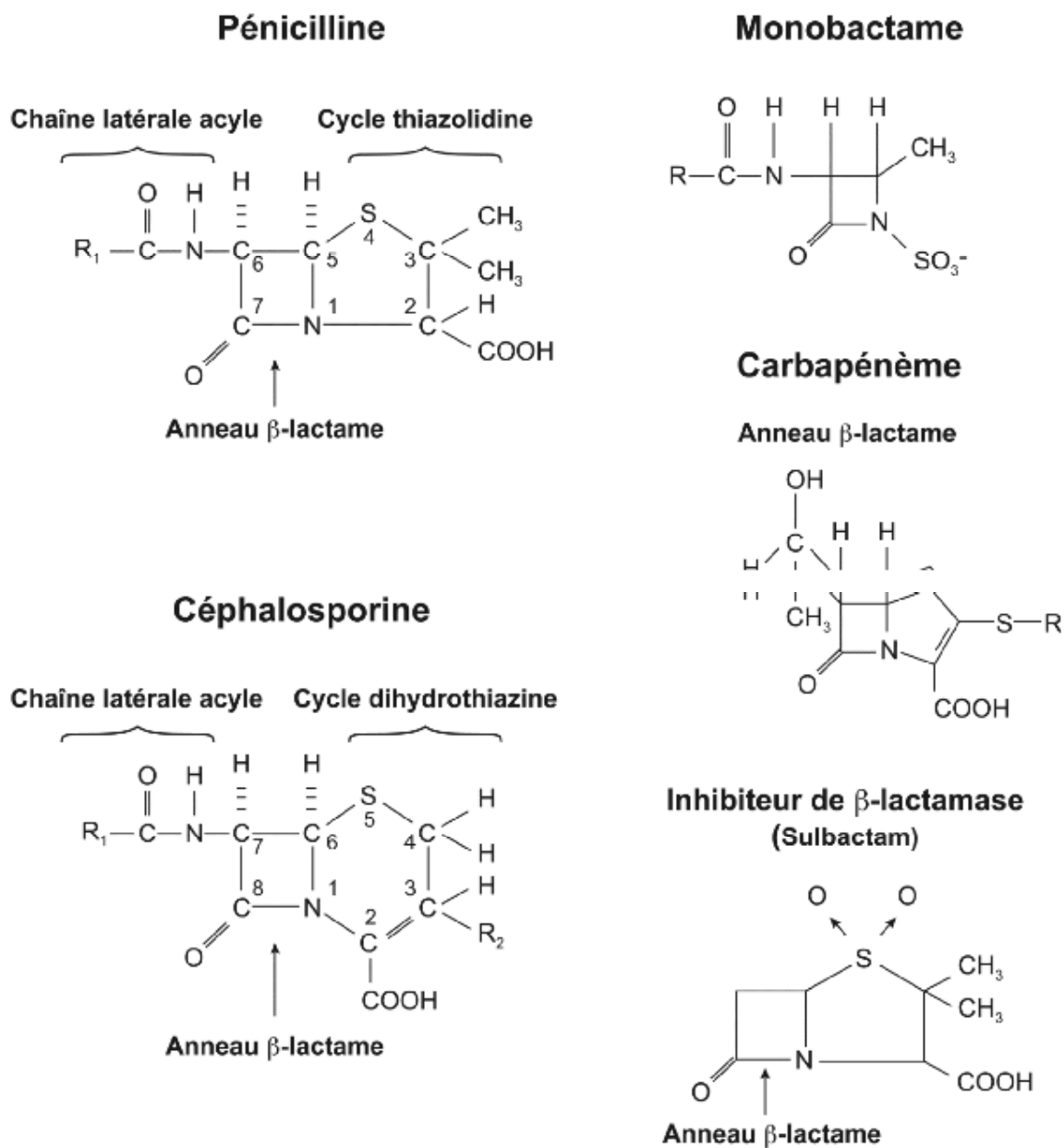


Figure 27. Structures générales des principales classes de β -lactamines. (99)

2.2.2 Mode d'action des bêtalactamines

Cette action aboutit à l'inhibition de la synthèse de la paroi bactérienne. La composante majeure de cette structure conservée chez la quasi-totalité des cellules bactériennes est le peptidoglycane, élément essentiel pour la stabilisation des membranes bactérienne contre les pressions osmotiques internes élevées. Son intégrité, essentielle à la survie bactérienne, doit donc être maintenue au cours de la croissance et de la division bactérienne. En effet, l'endommagement du peptidoglycane conduit à la lyse cellulaire de la bactérie Par la pression oncotique endogène, d'où l'action bactéricide des betalactamines

Chez les BGN, la paroi cellulaire est plus fine que celle des bactéries à Gram positif et présente une structure plus complexe (Figure 28.).

✓ Constitution de la paroi bactérienne des BGN :

Les BGN possèdent une enveloppe cellulaire constituée d'une membrane cytoplasmique, d'un périplasme et d'une membrane externe. Le peptidoglycane, d'une épaisseur d'environ 5 nm, se situe dans l'espace péri plasmique et constitue l'interface entre le milieu extracellulaire et le cytoplasme bactérien. Les BGN possèdent une couche plus fine de peptidoglycane entourée d'une membrane externe sur laquelle sont fixés des lipopolysaccharides.

Le peptidoglycane est localisé dans l'espace péri plasmique, entre les membranes cytoplasmique et externe. Des porines assurant le passage de petites molécules hydrophiles sont présentes dans la membrane externe. (figure 27)

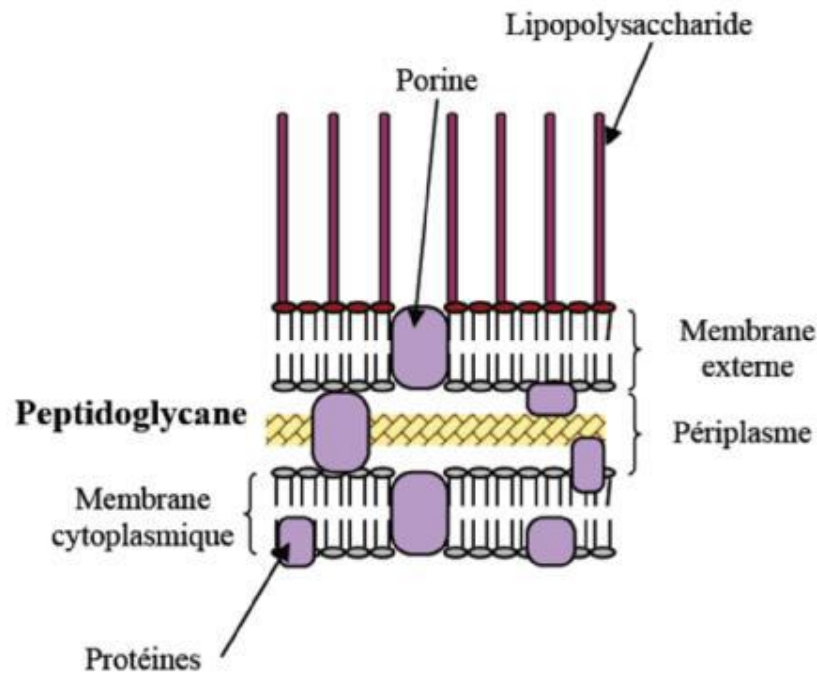


Figure 28. Schéma représentant la paroi cellulaire des bactéries à Gram négatif.

Le peptidoglycane est un polymère composé d'une alternance d'unités d'acide N-acétyl-muramique (NAM) et de N-acétyl-glucosamine (NAG) assurée par l'activité. Ces composés sont reliés entre eux par de courtes chaînes peptidiques constituées, entre autres, d'un dipeptide D-alanine-D-alanine. L'assemblage final de ces unités, processus appelé transpeptidation, est catalysé par les (PLPs) des enzymes appelées protéines liant la pénicilline (PLPs), qui sont impliquées dans la biosynthèse de la paroi bactérienne (Figure 28).

Les PLPs grâce à leur activité DDtranspeptidase permettent la formation des liens peptidiques croisés entre les chaînes de polysaccharides formant le peptidoglycane. Cette catalyse se déroule en deux étapes et débute par l'acylation de l'enzyme à un premier peptide. Lors de la seconde étape, un deuxième peptide est lié au premier par condensation peptidique, libérant ainsi l'enzyme.

Les antibiotiques composant la famille des β -lactamines inhibent cette étape finale de la synthèse de la paroi bactérienne à cause de leur homologie structurale avec le substrat des PLPs, soit le D-alanine-D-alanine. Ainsi, le peptidoglycane formé est non fonctionnel et il en résulte la mort bactérienne par lyse osmotique.

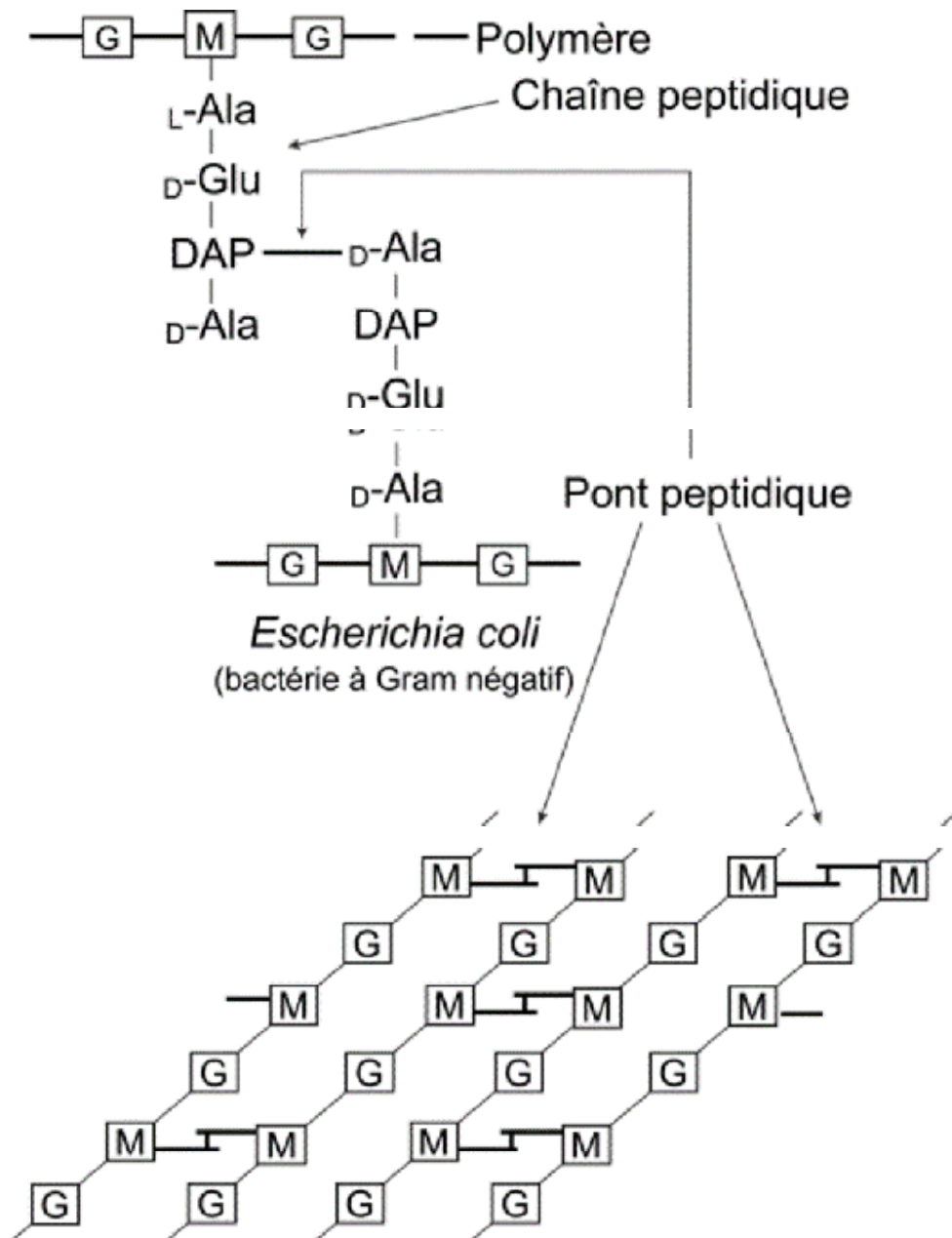


Figure 29. Représentation schématique de la structure du peptidoglycane d'une bactérie à Gram négatif (Brock et al., 1994).

2.2.3 Mécanisme de résistance aux bêtalactamines chez les entérobactéries :

a. Résistance naturelle ou phénotype « sauvage »:

Les entérobactéries ont une résistance naturelle à certaines familles d'antibiotiques comme les pénicillines G et M, les macrolides et apparentés (lincosamides, synergistines) et les glycopeptides. De nombreuses classes d'antibiotiques restent cependant actives comme la plupart des bêtalactamines, les aminoglycosides, les quinolones et les sulfamides. Classiquement, on classe les entérobactéries en groupes en fonction de leur sensibilité naturelle aux bêtalactamines [100].

Groupe 0 : Phénotype « sensible » d'espèces dépourvues de gènes de bêtalactamases :

Salmonella spp. et *Proteus mirabilis* sont dépourvus de bêtalactamases à l'état « sauvage » et sont naturellement sensibles aux amino-pénicillines, carboxypénicillines, uréido-pénicillines, à l'aztréonam, aux céphalosporines et aux carbapénèmes [101].

Groupe 1 : Phénotype « sensible » d'espèces prouvant naturellement une céphalosporinase de classe C :

Une bêtalactamase de classe C constitutive à bas niveau est présente chez les souches sauvages d'*Escherichia coli* et *Shigella spp.* Et ne confère de résistance qu'aux bêtalactamines qui pénètrent faiblement dans l'espace péri-plasmique (benzylpénicilline, cefsulodine) [102].

Groupe 2 : Phénotype « pénicillinase de bas niveau »

Ce phénotype, observé chez *Klebsiella (K.pneumoniae, K.oxytoca)*, *Citrobacter koseri (C.diversus)*, *Citrobacter amalonaticus* et *Escherichia hermannii*, se caractérise par la résistance à bas niveau de ces espèces à l'amoxicilline et à la ticarcilline, par la sensibilité à la céfalotine, au céfotaxime et aux autres bêtalactamines [101].

Groupe 3 : Phénotype « céphalosporinase de bas niveau »

Des espèces comme *Enterobacter cloacae*, *Enterobacter aerogenes*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *Serratia marcescens*, *Hafnia alvei*, *Providencia stuartii* et *Providencia rettgeri* possèdent une céphalosporinase inductible, leur conférant une résistance aux amino-pénicillines, aux céphalosporines de 1^{ère} génération et à l'action de l'acide clavulanique. Ce caractère inductible est détecté dans l'antibiogramme en milieu gélosé par un antagonisme ("écrasement" du diamètre d'inhibition) entre une bêtalactamine inductrice (Imipénème, céfoxitine) et une céphalosporine de 3^{ème} génération. Ce type d'expression est le fait d'un mécanisme complexe faisant intervenir plusieurs gènes régulateurs (*ampR*, *ampD*, et *ampG*) [109].

Groupe 4 : Phénotype complexe :

Il est observé chez *Yersinia enterocolitica* et *Serratia fonticola* Elles sont résistantes aux amino-pénicillines, uréido-pénicillines, carboxypénicillines et aux céphalosporines de 1^{ère} génération par l'action associée d'une pénicillinase et d'une céphalosporinase naturelle produite à bas niveau [102].

Groupe 5 : Phénotype « céfuroximase »

Proteus vulgaris et *Proteus penneri* possèdent une bêtalactamase particulière parfois dénommée "céfuroximase" qui rend ces espèces résistantes aux pénicillines du groupe A et aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération (à l'exception des céphamycines comme la céfoxitine) mais dont l'activité enzymatique est inhibée par l'action d'acide clavulanique [103].

Groupe 6 : Phénotype « bêtalactamase à spectre étendu chromosomique »

Les entérobactéries d'isolement très rare tel que *Kluyvera* montrant un phénotype de résistance inhabituel "pénicillinase de bas niveau". Ce phénotype est nettement à distinguer de celui "pénicillinase de bas niveau" du groupe 2[102]. Il s'agit d'une BLSE naturelle exprimée à bas niveau [103].

Après clonage du gène correspondant (KLUA-1) dans une souche réceptrice d'*Escherichia coli*, il a été identifié, par la suite, comme un des progéniteurs de BLSE plasmidiques de type CTX-M [102].

b. Résistance acquise ou phénotypes « résistants » :

Toutes les entérobactéries, quel que soit leur groupe, sont capables d'intégrer des gènes de résistance codant pour une bêtalactamase [100].

Phénotype « pénicillinase de haut niveau » ou « pénicillinase acquise »

Les pénicillinases des bacilles à Gram négatif sont nombreuses (TEM-1, TEM-2, SHV-1...) et non inductibles. Environ 75% de bêtalactamases isolées des entérobactéries sont des TEM-1. Ces enzymes sont codées par des plasmides et donc facilement transférables. Elles confèrent aux bactéries, qui les produisent à haut niveau, une résistance aux amino-pénicillines, carboxypénicillines, uréido-pénicillines, amidinopénicillines, C1G et de C2G. Cependant elles conservent leur sensibilité aux C3G, céphamycines, monobactames et carbapénèmes. Elles sont inhibées plus ou moins par les inhibiteurs enzymatiques [104].

Phénotype « pénicillinase résistante aux inhibiteurs »

Plus récemment, des bêtalactamases dérivées de pénicillinases plasmidiques entraînant une résistance aux inhibiteurs de bêtalactamases ont été décrites. Elles sont produites par *Escherichia coli*, *Proteus* et *Klebsiella*. Elles confèrent une résistance à l'amoxicilline et à la ticarcilline, seules ou en association avec l'acide clavulanique et un bas niveau de résistance aux C1G. Pour la pipéracilline, le niveau de résistance est plus faible [104].sur antibiogramme.

Phénotype « bêtalactamase à spectre étendu » : Phénotype « Hyper OXY »

Chez *Klebsiella oxytoca*, des mutations ponctuelles dans la région du promoteur de transcription des enzymes chromosomiques K1 (type OXY-1 ou OXY-2), conduisent à l'augmentation du niveau d'expression et se traduisent *in vivo* par

une résistance de haut niveau aux pénicillines, aux céphalosporines de 1^{ère} et 2^{ème} génération, ainsi qu'à l'aztréonam. Dans ce cas, une synergie peut être détectée entre les C3G ou l'aztréonam, et le clavulanate [105].

Phénotype « céphalosporinase de haut niveau »

Le phénotype de résistance céphalosporinase de haut niveau traduit la résistance à l'ensemble des bêtalactamines sauf les carbapénèmes. Pourtant, les C4G, céphalosporines à large spectre (céfépime, cefpirome) peuvent rester actives. Ce phénotype est retrouvé principalement chez les bactéries possédant naturellement une céphalosporinase AmpC (*Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, *Escherichia coli*, *Morganella morganii* et autres entérobactéries du même groupe) [106,107].

Depuis 1990, des céphalosporinases codées par des gènes plasmidiques AmpC ont été décrites. Parmi celles-ci, il y a MIR-1, BIL-1 et CMY-2 [108].

Cette résistance a été retrouvée chez *Klebsiella pneumoniae* mais également chez d'autres entérobactéries. Ces enzymes à médiation plasmidique dérivent des céphalosporinases chromosomiques de *Enterobacter* (ACT-1 et MIR-1), *Citrobacter* (CMY), *Morganella* (DHA), *Hafnia* (ACC-1) et d'autres entérobactéries (MOX, FOX. . .) [109].

2.3 Epidémiologie des BLSE :

2.3.1 Les premières BLSE isolées :

La (SHV-2) : La première betalactamase plasmidique hydrolysant les C3G fut isolée en République Fédérale d'Allemagne en 1983 au sein d'une *Klebsiella ozaenae* [110]. Cette betalactamase était dérivée de la betalactamase à spectre étroit SHV-1, par une simple mutation [111] responsable de l'élargissement du spectre d'hydrolyse de cette enzyme. Elle fut ainsi nommée SHV-2.

La (TEM-3) : Un an plus tard, en France, une autre betalactamase plasmidique hydrolysant le céfotaxime fut isolée de *Klebsiella pneumoniae* [112]. Cette fois l'enzyme en question était dérivée de la betalactamase à spectre étroit TEM-1. Cette enzyme fut initialement nommée CTX-1, puis finalement renommée TEM-3.

Ces BLSE étaient donc étroitement dérivées des bêtalactamases à spectre étroit et conservaient ainsi la propriété d'être inhibées par les inhibiteurs de betalactamase comme l'acide clavulanique, le tazobactam et le sulbactam. De par leur caractéristique de dériver de bêtalactamases à spectre étroit (TEM et SHV), ces enzymes ont été désignées comme des bêtalactamases à spectre élargi (BLSE) par Philippon et al. [113]. Ainsi jusqu'en 1989, les BLSE isolées étaient dérivées de TEM et SHV suite à des mutations ponctuelles, et les principales observations ont été effectuées en France et en Allemagne. C'est d'ailleurs en France qu'a été proposé le test de détection des BLSE par un test de synergie entre l'acide clavulanique et les C3G [114].

2.3.2 Premiers isolements des CTX-M

a. Les Années 1980 :

En 1986, fut isolée au Japon une nouvelle betalactamase à spectre large non-TEM non-SHV, dénommée FEC-1 pour « Fecal E. coli » [115], chez une souche de *E.*

coli issue de la flore fécale d'un chien de laboratoire utilisé pour des mesures de pharmacocinétique de bêtalactamines.

En 1989, en Allemagne, Bauernfeind et al. Caractérisèrent chez une souche *d'E. coli* résistante au céfotaxime une betalactamase non-TEM non-SHV, qu'ils nommèrent CTX-M-1 (CTX-M pour « cefotaximase Munich ») en raison de son activité préférentielle marquée sur le céfotaxime par comparaison à la ceftazidime [116]. Enfin en 1989, en France, on isola chez un patient italien une souche *d'E. Coli* présentant le même profil de résistance qu'une betalactamase non-TEM non-SHV, nommée cette fois MEN-1 (initiales du patient) [117].

b. Les Années 1990 :

Le premier séquençage des gènes encodant ces enzymes en 1992 montra que blaMEN-1 ne comportait que 39 % d'homologie avec blaTEM et blaSHV [118]. En 1995, Ishii et al. Caractérisèrent une nouvelle betalactamase non-TEM non-SHV chez une souche *d'E. coli* résistante au céfotaxime, dont la séquence nucléotidique montrera 83 % d'homologie avec blaMEN-1. Cette enzyme fut appelée TOHO-1, en référence à son lieu d'isolement [119].

Le séquençage en 1996 de blaCTX-M-1 montra que CTX-M-1 et MEN-1 étaient la même betalactamase, qui s'avérait donc être un variant de TOHO-1 (83 % d'homologie) [120]. Dans la même étude, le séquençage de blaCTX-M-2 (isolée dans une souche de *E. coli* d'Argentine en 1990) montra plus de 99 % d'homologie avec blaTOHO-1. Dès lors, TOHO-1 fut renommée CTX-M-2, puis plus tard CTX-M-44. FEC-1, la première CTX-M décrite, n'a pas été renommée.

La « famille » des CTX-M comptant actuellement plus d'une quarantaine d'enzymes. Les enzymes à l'origine des CTX-M sont des bêtalactamases présentes chez *Kluyvera spp.* Des bactéries non pathogènes qui n'appartiennent pas au microbiote humain. Leurs gènes, portés par le chromosome des *Kluyvera spp.*, ont été

transférés sur des plasmides et ensuite transmis à des entérobactéries pathogènes (121, 122,123). Les bactéries porteuses d'enzymes CTX-M sont le plus souvent multirésistantes : aminoglycosides, tétracyclines, sulfamides, trimethoprime, quinolones (121, 124,125). D'autres types de bêtalactamases à spectre étendu ont été découverts dans les années 1990 et 2000 : enzymes PER, VEB, GES, OXA... , Mais celles-ci restent minoritaires (121,122).

2.3.3 Prévalence des BLSE :

a. Dans le Monde :

Les taux de prévalence des BLSE sont très variables selon la localisation géographique (figure 30.), l'espèce bactérienne et l'origine des isolats [126 - 159].

Les prévalences rapportées dans la littérature concernaient surtout les deux espèces *E. coli* et *K. pneumoniae*.

Les prévalences les moins élevées (moins de 10 %) ont été notées en Europe du Nord, au Canada, aux États-Unis, au Japon, en Australie et en Nouvelle-Zélande [160, 161].

Par contre, les prévalences les plus élevées ont été rapportées particulièrement en Asie (*K. pneumoniae* : jusqu'à plus de 70 % en Jordanie et en Iran) [160] et en Amérique latine (*K. pneumoniae* : jusqu'à plus de 70 % au Mexique) [161] suivies de l'Europe du Sud et de l'Est (*K. pneumoniae* : jusqu'à plus de 35 %) (Tableau 3).

Des taux de prévalence élevés ont été aussi notés en Afrique particulièrement en Afrique du Nord et en Afrique Sud [162].

Cependant des prévalences très faibles ont été notées dans certains pays de l'Afrique subsaharienne qui ne représentent probablement pas la réelle incidence des BLSE dans cette région car la détection de cette résistance n'est probablement pas utilisée comme test de routine dans les laboratoires cliniques.

Différentes études (tous types et origines de prélèvements confondus) retrouvent en Asie des prévalences allant de 8,3% (Taiwan) à 72,1% (Iran), en Amérique du Sud des prévalences de 1,8% (Nicaragua) à 35,9% (Mexique), en Afrique des prévalences de 1,3% (Maroc) à 33,3% (Tanzanie), en Amérique du Nord des prévalences relativement faibles (aux alentours de 4% au Canada) (163) .

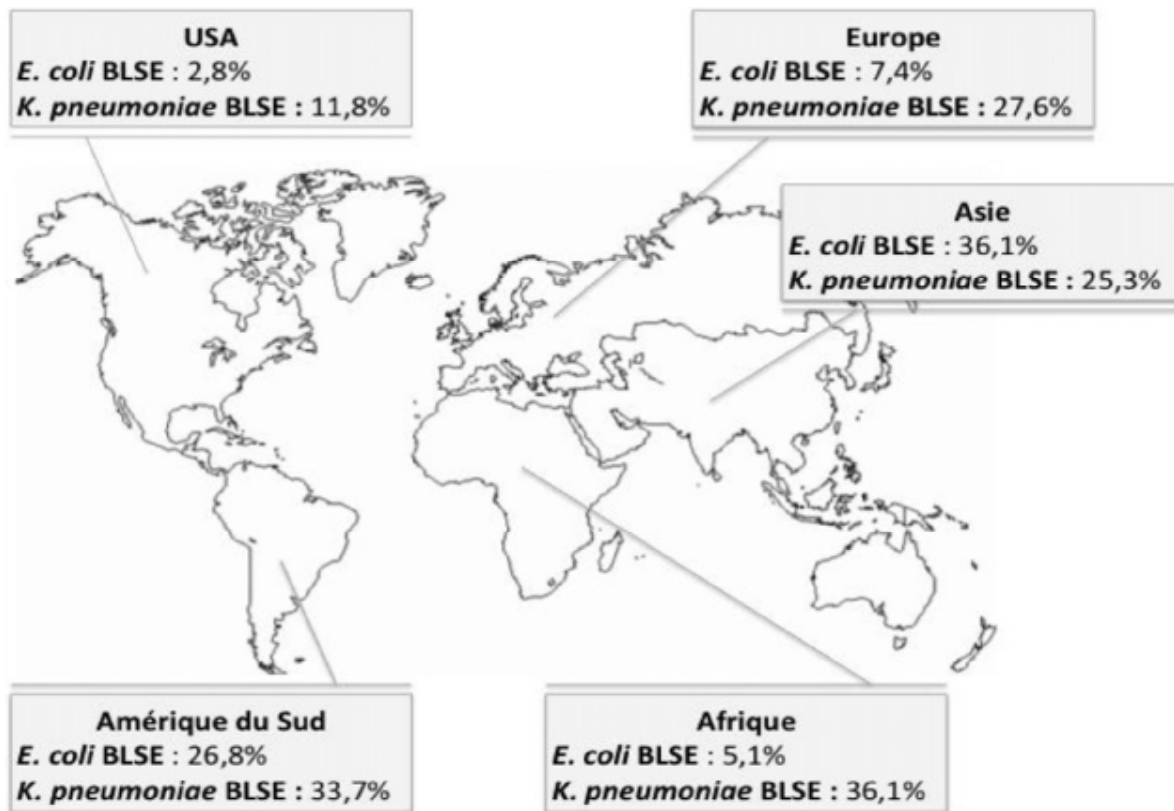


Figure 30. Prévalence des d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi dans le monde. Les données sont issues des différents réseaux de surveillance internationaux : le réseau SMART, MYSTIC, le réseau SENTRY et le réseau EARSS. [164]

b. En Europe :

La surveillance des entérobactéries BLSE en Europe est, comme celle des autres BMR, assurée par le réseau EARS-net (anciennement EARSS). Elle est basée sur l'analyse des prélèvements sanguins (hémocultures). La prévalence des *Escherichia coli* BLSE est surveillée depuis 2002 et celle des *Klebsiella pneumoniae* BLSE depuis 2005. Comme dans le reste du monde, le pourcentage des souches BLSE est croissant.

Ø *Escherichia coli*

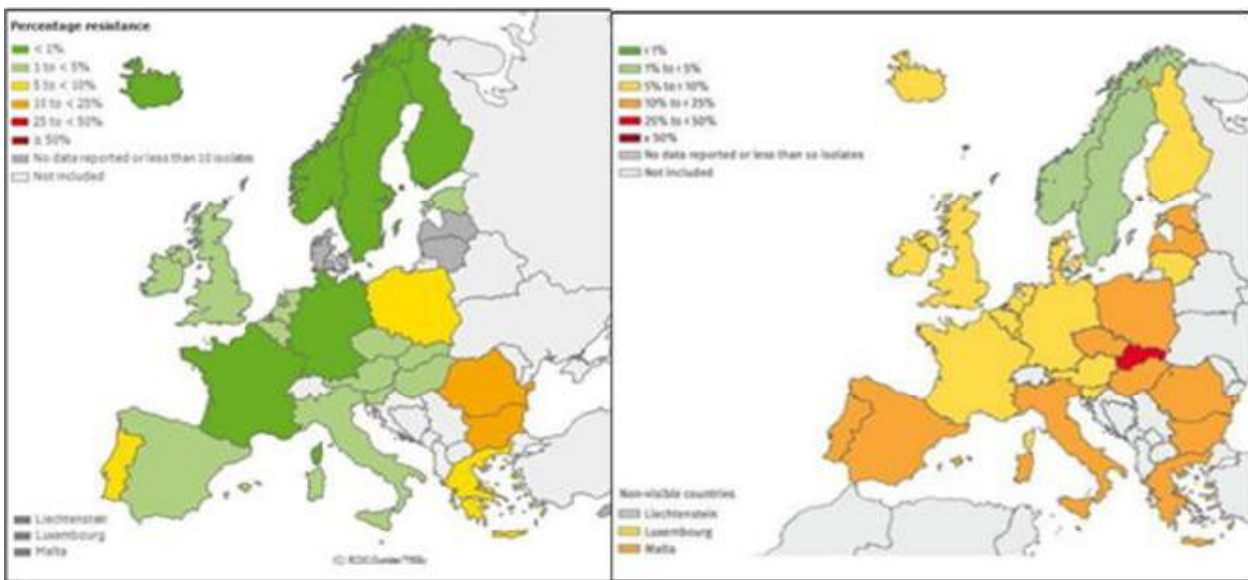


Figure 31. Prévalence des souches invasives d'*Escherichia coli* résistants aux C3G en 2002 (gauche) et 2011 (droite) (165,166)

En 2002, la prévalence des souches d'*Escherichia coli* résistantes aux C3G (BLSE essentiellement) allait de 0% (Suède, Islande) à 18% (Roumanie), avec seulement trois pays au-dessus de 6% (165).

En 2011, leur prévalence allait de 3% (Suède) à 36,2% (Chypre), avec quatre pays au-dessus de 6%. Dans la majorité des pays, les phénotypes de BLSE représentaient plus de 85% des souches résistantes aux C3G (166).

Ø *Klebsiella pneumoniae*

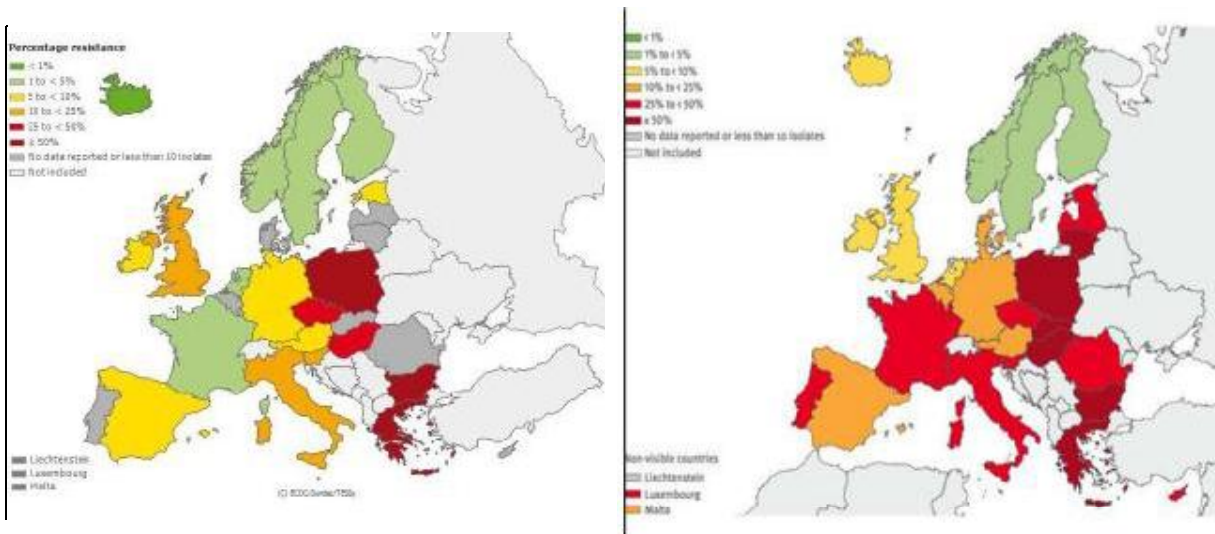


Figure 32. Prévalence des souches invasives de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux C3G en 2005 (gauche) et 2011 (droite) (166,167)

En 2005, la prévalence des souches de *Klebsiella pneumoniae* résistantes aux C3G allait de 0% (Islande) à 66% (Pologne) (167).

En 2011, leur prévalence allait de 2,3% (Suède) à 81% (Bulgarie), avec une proportion de BLSE de 65,2% à 100% (166).

c. En Afrique :

Alors que la propagation de BLSE entérobactéries productrices et les différents types de gènes BLSE ont été intensivement étudiés dans les pays industrialisés, les données sur les BLSE sont limitées en Afrique sub-saharienne. En effet, Pour le continent africain, il n'existe pas de données globales, même si des études régionales laissent présager d'une forte prévalence, (figure 30.) [164].

Cependant, certaines études ont été réalisées sur les EBLSE.

Une étude a été réalisée sur l'incidence d'infections liées à *Escherichia coli* producteur de BLSE au Centre Hospitalier Départemental du Zou et Collines au Bénin, L'incidence de tous les nouveaux cas de patients porteurs de EBLSE à CTX-M était de 3,5 %. Une étude réalisée en Algérie a montré une production de BLSE chez 65 souches, pour une incidence globale de 31,4 %.

Le Maroc n'est pas épargné par l'émergence et la diffusion des EBLSE. C'est un réel problème de santé publique.

Des études ont montré que la prévalence des EBLSE au Maroc varie selon les régions, au sein de cette même région, il existe une différence de prévalence selon les hôpitaux voire selon les services.

Une étude a montré que la prévalence globale de la production de BLSE est observée chez 9 % des isolats cliniques d'entérobactéries. Une seconde étude a révélé que le phénotype BLSE était exprimé par 3,6 % des bacilles à Gram négatif, avec prédominance de *Klebsiella pneumoniae* (62 % des isolats).

Selon une troisième étude, on a constaté que la résistance aux céphalosporines de troisième génération par production de BLSE associée à une résistance à la gentamicine a été observée chez 15 % des souches d'*E. Coli*.

2.3.4 Changement de l'épidémiologie des BLSE

Longtemps limitée au milieu hospitalier, l'épidémiologie des BLSE au sein des entérobactéries a été considérablement modifiée avec la dissémination massive des enzymes de type CTX-M. Ces nouvelles BLSE sont très différentes des BLSE classiques de type TEM et SHV qui diffusaient majoritairement au sein de clones hospitaliers de *K. pneumoniae* et d'*Enterobacter spp.*

Depuis l'année 2000, *E. coli* représente l'espèce majoritaire chez laquelle les CTX-M ont été détectées et semble être un vrai pathogène communautaire producteur

de BLSE et responsable principalement d'infections urinaires [168]. Ce phénomène s'est rapidement accéléré particulièrement ces dernières années, et les CTX-M constituent désormais la majorité des BLSE quelle que soit la région du monde, aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire, à tel point qu'on qualifie leur diffusion de pandémie [169].

CTX-M-14 et CTX-M-15 représentent les variants les plus décrits récemment. Il est intéressant de noter que certains variants semblent prédominer dans des régions géographiques localisées comme CTX-M-14 et CTX-M-9 en Espagne, CTX-M-14 en Chine et à Taiwan, CTX-M-14 et CTX-M-15 en Corée, CTX-M-2 en Amérique du Sud et au Japon [168]. Cependant, CTX-M-15 possède une impressionnante distribution mondiale avec une prédominance dans plusieurs pays [126-165, 170-180].

Une augmentation progressive de la prévalence de CTX-M-15 a été même observée dans les pays où d'autres variants prédominent (Chine et Taiwan) entraînant probablement un changement dans la prévalence des BLSE durant les années à venir [137, 181]. En effet, il y a quelques années CTX-M-14 était prédominante au Canada [182], l'étude de surveillance Canward 2007-2009 montre la prédominance de CTX-M-15 [156].

La diffusion internationale du variant CTX-M-15 semble être due à la dissémination d'un clone d'*E. Coli* uropathogènes hyper virulent et multiresistant aux antibiotiques nommé ST131, aussi bien en communauté qu'en milieu hospitalier [168].

En France, les BLSE n'étaient pas épargnées par ce changement épidémiologique. Durant les années 1990, les études de surveillance françaises ont montré la prédominance des clones d'*Enterobacter aérogènes* producteurs de TEM-24 ou TEM-3 et la dissémination de plusieurs clones de *K. pneumoniae* producteurs de SHV-4 [183]. La première enzyme de type CTX-M décrite en France (CTX-M-1), a

été isolée en 1989 [184]. Dix ans plus tard, CTX-M-3 a été détectée chez une souche d'*Enterobacter cloacae* isolée chez un patient en banlieue de Paris [185].

Malgré ces découvertes précoces, les bactéries productrices de CTX-M se sont montrées rares durant les années 1990, et leur isolement a progressivement augmenté durant les années 2000, d'abord au nord de la France où *E. coli* est devenue l'espèce majoritaire productrice de BLSE avec CTX-M-15 comme étant la principale BLSE produite (à partir de 2002-2003) [183]. D'autres variants CTX-M ont continué à être isolés (notamment CTX-M-3, CTX-M-10 et CTX-M-14) ainsi que d'autres types de BLSE principalement TEM-3 et TEM-24. Ce n'est qu'à partir de 2004 que les études de surveillance dans le centre et au sud de la France ont rapporté la détection des BLSE de type CTX-M [183]. Lavigne *et al.* ont même noté une augmentation de la prévalence des BLSE chez *E. coli* en 2004 (0,68 % versus 0,2 % 1998) au centre et au sud de la France qui était principalement due à l'apparition de l'enzyme CTX-M-15 [186]. Celle-ci est devenue rapidement la BLSE prédominante dans le centre et au sud de la France [187, 188] et ceci a été aussi confirmé à l'échelle nationale soit en milieu communautaire ou hospitalier [189, 190].

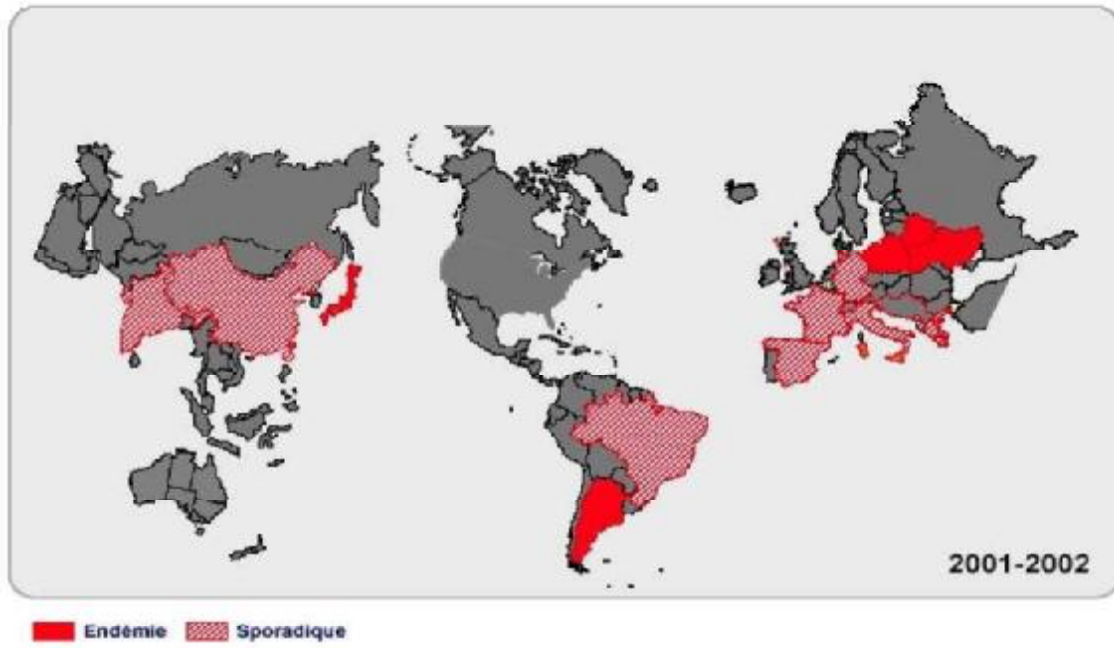


Figure 33. BLSE de type CTX-M dans le monde en 2001-2002 (191)

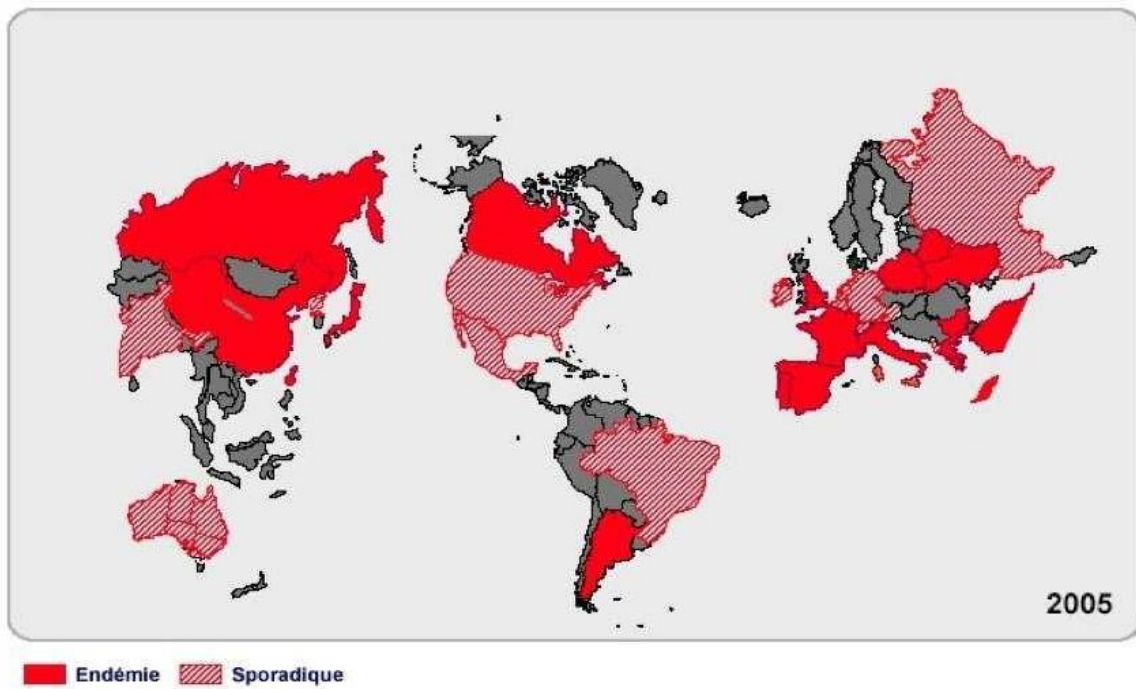


Figure 34. BLSE de type CTX-M dans le monde en 2005 (191)

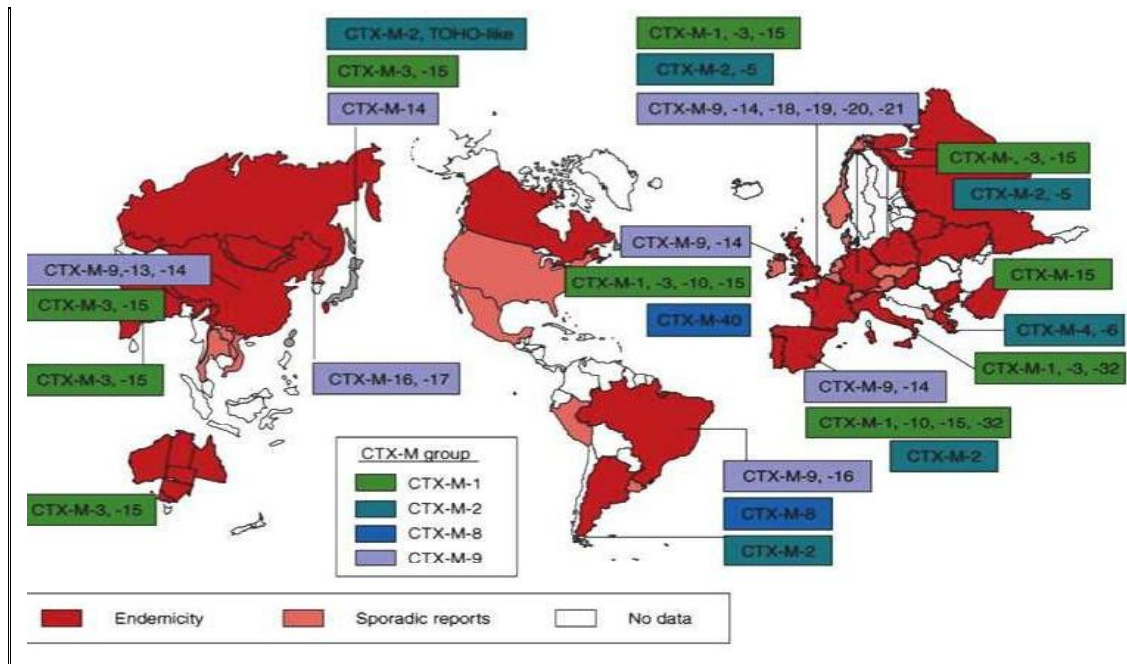


Figure 35. BLSE de type CTX-M dans le monde en 2006 (169)

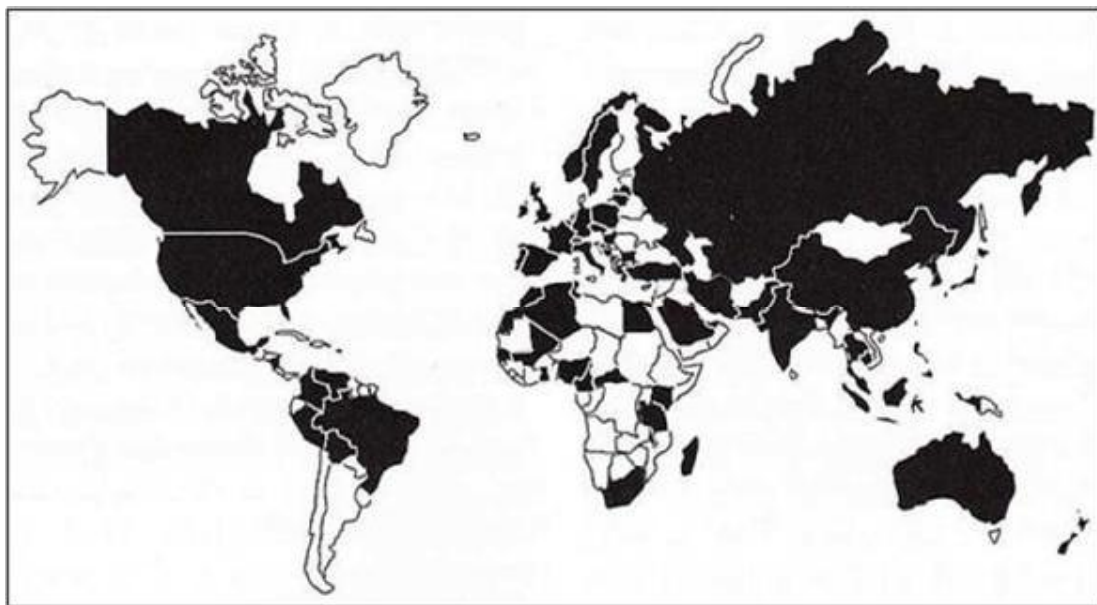


Figure 36. BLSE de type CTX-M 15 dans le monde (Afrique incluse) en 2012 (163)

Bien que leur répartition soit mondiale, la prévalence de bactéries productrices de BLSE varie grandement en fonction des différentes régions. En effet, une surveillance globale réalisée en 2004 dans 28 pays a montré une prévalence des BLSE allant de 2,8 à 27,6 % selon les différentes régions géographiques. Au Canada, les données épidémiologiques montrent aussi une augmentation significative de 2000 à 2009 où la prévalence des BLSE est passée de 0,1 à 1,1% pour *Klebsiella pneumoniae* et 0,3 à 14% pour *Escherichia coli* (193).

Cette forte prévalence de BLSE a eu pour effet d'accroître considérablement l'utilisation des carbapénèmes dans le traitement des infections résistantes aux C3G, se traduisant donc par une pression accrue sur cette classe d'antibiotique de dernière ligne (31).

2.3.5 Colonisation et portage fécal par les EBLSE :

Plusieurs études ont estimé le taux de portage fécal d'entérobactéries productrices de BLSE en communauté (réalisées sur des sujets consultant dans les services d'urgence ou des patients à l'admission à l'hôpital, des patients de ville ou des sujets sains) et ont constaté une nette augmentation de ce taux durant ces dernières années qui serait en rapport avec l'expansion des CTX-M. En effet, dans ces études, *E. coli* était l'espèce prédominante et les CTX-M étaient les BLSE majoritaires. Plusieurs études réalisés dans différents pays ont confirmé la prévalence élevée du portage fécal des E-BLSE chez la population [194- 195-196-197-198-199-200].

La flore digestive représente donc un réservoir important des gènes codant les CTX-M à partir duquel la transmission communautaire est interhumaine, dans les familles ou dans les collectivités mais intervient également entre l'Homme et son environnement (animaux de compagnie [201], alimentation. . .). Rodriguez-Bano *et al.* [202], en étudiant les patients présentant une infection urinaire à *E. coli* BLSE d'origine communautaire, ont montré que 67,9 % de ces patients étaient porteurs de

la bactérie au niveau intestinal et que 27,4 % des membres de la famille étaient également porteurs.

La capacité de dissémination des CTX-M, par le biais de des fèces, vers des sujets sains en communauté semble ne pas avoir de limite. En effet, d'après une étude récente réalisée dans un village sénégalais très isolé de toute urbanisation, 2 enfants parmi 20 (10%) non exposés aux antibiotiques étaient colonisés par un clone d'*E. coli* multiresistant et producteur de CTX-M-15 [175].

La prévalence croissante des BLSE en milieu communautaire pose un problème inédit qui est l'afflux de bactéries productrices de CTX-M de la communauté vers l'hôpital [203]. Éliminée via les fèces, les souches d'*E. coli* productrices de CTX-M réintègrent leur lieu résidentiel via l'alimentation (produits contaminés) ou par transmission croisée oro-fécale.

2.4 Modes et Facteur de diffusion :

2.4.1 Transmission interhumaine :

Il peut exister une transmission croisée de souches d'entérobactéries β BLSE, notamment au sein d'une même famille. En 2008, Valverde *et al.* ont retrouvé 17,6% de porteurs EBLSE chez des sujets sains vivant sous le même toit que des patients présentant une infection à EBLSE (et présentant eux-mêmes un portage fécal) ; les souches étaient identiques dans les 2/3 des cas (113). D'autres études ont démontré cette transmission intrafamiliale (114-115).

2.4.2 Voyage :

Dans une étude canadienne, Laupland a démontré que les voyages à l'étranger (Inde, Moyen-Orient, Afrique) étaient un facteur de risque important de présenter une infection urinaire à *E. coli* BLSE (73).

2.4.3 Animaux : (68-72)

De nombreuses études montrent la présence d'entérobactéries BLSE chez tous les types d'animaux (de rente, de compagnie, sauvages) ainsi que dans certains produits alimentaires d'origine animale (viandes, œufs et dérivés,...).

Les EBLSE sont trouvées aussi bien en portage chez l'animal sain (à l'abattoir, par exemple) que chez l'animal malade. Les premières entérobactéries BLSE animales ont été décrites une dizaine d'années après leur description chez l'homme et sont aujourd'hui largement rapportées en Europe et ailleurs (Sénégal, Etats-Unis, Japon,...).

Les EBLSE animales sont très majoritairement des groupes CTX-M, d'autres enzymes pouvant être décrites de façon sporadique (TEM-20, TEM-30, TEM-52,...). Parmi les facteurs d'acquisition possibles de BLSE par les bactéries animales, il faut citer l'usage vétérinaire de C3G. Quant au transfert de BLSE entre animal et homme (et réciproquement), par contact (animaux de compagnie ou contacts professionnels) ou par voie alimentaire, il n'est pas exclu mais reste très peu documenté. Les gènes codant les BLSE les plus prévalent ne sont pas les mêmes chez les animaux que chez l'homme. La principale hypothèse épidémiologique est plutôt celle d'une évolution parallèle de la prévalence des E. coli BLSE chez l'homme et l'animal.

2.4.4 Environnement :

Plusieurs études ont montré la présence d'entérobactéries BLSE dans les effluents liquides d'hôpitaux (Brésil, Portugal), même en aval des stations d'épuration (74-77), les effluents de communautés urbaines (Espagne) et même dans l'eau du réseau de consommation (Népal). Ces faits suggèrent à la fois une conséquence de l'excrétion humaine de BLSE et le risque environnemental pour l'homme.

2.5 Entérobactéries BLSE et infection urinaire :

2.5.1 Epidémiologie :

Les EBLSE causent en majorité des infections de l'appareil urinaire, ou des bactériémies d'origine urinaire (90, 91, 98,127-130).

2.5.2 Facteur de risque :

Parmi les facteurs de risque d'infection communautaire a entérobactéries BLSE relevés dans diverses études internationales (96, 128,134-141),

Tableau VII Facteur de risques indépendants d'infection communautaire a entérobactérie BLSE :

Type d'étude	Azap et al.	Ben Ami et al.	Colodner et al.	Kang et al.	Kim et al.	Moor et al.	Rodriguez-Baño et al.	Siedelmann et al.	Yang et al.
Période	Cohorte 2007	Méta-analyse 1999-2006	Cas-témoin ? durée 2 ans	Cas-témoin 2010-2011	Cohorte 2010-2011	Cas-témoin 2003-2004	Cas-témoin 2004-2006	Cas-témoin 2005-2008	Cas-témoin 2006-2008
Pays	Turquie	Canada-Espagne-Israël-France-Turquie	Israël	Corée du Sud	Corée du Sud	Nouvelle-Zélande	Espagne	Etats-Unis	Taiwan
Nb patients (BLSE+ /nb total patients)	51 (464)	339 (963)	128 (311)	108 (216)	46 (526)	98 (269)	95 (473)	105 (210)	12 (69)
Origine des prélèvements	Urines	Divers	Urines	Divers	Urines	Divers	Hémocultures	Non précisé	Urines, hémocultures
Facteurs de risque									
Sexe		Masculin	Masculin				Féminin		Masculin
Age		Oui >65 ans	Oui >60 ans				Oui >65ans		
Via en institution		Oui		Oui		Oui	Oui	Oui	Oui
Hospitalisation		Oui <3mois	Oui <3 mois	Oui <3 mois			Oui <12 mois		
Infection associée aux soins				Oui <1mois			Oui <12mois (cont hôp. de jour, dialyae)		
Anti-biothérapie	Oui < 3mois	Oui <3mois	Oui <3 mois	Oui	Oui <12 mois		Oui <2mois	Oui <12 mois	
Santé urinaire					Oui <1 mois		Oui		
IU récurrente	Oui							Oui	
Autre pathologie urologique	Oui (pathologie prostatique)						Oui (pathologie obstructive urinaire)		
Autre comorbidité			Oui (diabète)		Oui (Charlson ≥1)	Oui (BPCO)	Oui (BPCO, cirrhose)		

Discussion des résultats :

1. Avant-propos :

Les bactéries multirésistantes (BMR) représentent un problème de santé publique à l'échelle mondiale, Depuis leur première mise en évidence en 1983, les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (EBLSE) ont largement diffusé dans le monde avec des fréquences d'isolement variables même d'un service à l'autre au sein de la même institution hospitalière.

Les EBLSE aujourd'hui sont des BMR majoritaires qui sont à l'origine d'infections potentiellement sévères et de prescriptions d'antibiotiques à large spectre, qui menacent l'activité future des molécules de dernière ligne. Leur implication dans les infections urinaires (IU) nosocomiales, mais également dans les IU communautaires, constitue un réel problème de santé publique [1]. Le profil épidémiologique des bactéries uropathogènes varie selon les régions. De ce fait, la connaissance de l'épidémiologie locale ainsi que son évolution reste indispensable pour le choix d'une antibiothérapie de première intention que l'on espère efficace.

C'est dans cette optique qu'a été réalisée notre travail mené à l'hôpital militaire Moulay Ismail de Meknès (HMMIM) comprenant l'ensemble des examens cytobactériologiques des urines (ECBU) réalisés durant l'année 2015 en étudiant le profil épidémiologique et le profil de sensibilité aux antibiotiques de toutes les souches non redondantes d'EBLSE uropathogènes.

2. Fréquence globale d'isolement des EBLSE :

Notre étude a objectivé une prévalence globale d'isolement des EBLSE de 13.77%. Ce taux est supérieur à celui enregistré par Lahlou et al. (9%) entre 2006 et 2008 sur le même sujet dans cet hôpital [225] témoignant d'une augmentation de la fréquence des EBLSE dans notre formation ou bien d'une plus grande efficacité du dépistage.

Ce taux reste néanmoins similaire à la fréquence retrouvée dans l'étude réalisée par Romli et al. En 2010 à Rabat [227] ; Et proche du taux de 13 % retrouvé dans l'étude El Bouamri M. C. et al. [226] conduite en 2012 à l'hôpital militaire Avicenne de Marrakech. En 2010, une étude réalisée dans un service d'urologie de l'hôpital Ibn Sina (Avicenne) de Rabat a montré un taux nettement plus élevée de 17.5% [228], Par ailleurs notre taux reste proche de celui rapporté en France en 2012 (13,6%) [229]. Il est cependant plus important que celui rapporté en Allemagne ou en Grande-Bretagne avec des taux respectifs 2,6%, 2% [162], mais demeure moins important que celui rapporté en Algérie (37,1%) et en Tunisie (30.8%) par Djahida et al. [230] en 2011 et Messai et al. [127,231] en 2010 respectivement.

Ces différences sont signalées dans la littérature. En effet, les souches EBLSE se répartissent de façon inégale dans le monde et leur prévalence parmi les entérobactéries isolées est très variable d'un pays à l'autre, d'un centre à l'autre et même d'un service à l'autre, comme rapporté précédemment. En Europe par exemple, dans la région du Sud (Espagne, Italie, ...) l'on enregistre des taux plus élevés que le Nord de l'Europe et le Centre. La Grèce, l'Italie, le Portugal et la Turquie ont un taux de prévalence dépassant 10 %, alors que le reste de l'Europe enregistre des taux inférieurs à 5 %. Les pays scandinaves enregistrant les taux de prévalence les plus bas [232]. De ce fait, la connaissance de l'épidémiologie locale ainsi que le suivi de son évolution reste indispensable pour un choix thérapeutique efficace et adapté à chaque région et chaque période.

Tableau VIII. Comparaison des prévalences d'isolement des EBLSE avec d'autres études

Auteurs	Pays /ville	Prélèvements	Prévalence globale d'isolement des EBLSE
Lahlou et al (2006 – 2008) (225)	Maroc (Meknès)	Urines	9 %
Romli et al (2010) (227)	Maroc (rabat)	Urines	13.7 %
El Bouamri M.C et al (2012) (226)	Maroc (Marrakech)	Urines	13 %
Jarlier V et al. (2012) (228)	France	Divers	13.6 %
Djahida et al (2011) (230)	Algérie (Tlemcen)	Divers	37.1%
Messai et al (2010) (231)	Tunisie	Urines	30.8 %
Notre série	Maroc (Meknès)	Urines	13.77 %

3. L'âge des patients :

Selon notre étude les patients âgés de plus de 55 ans ont constitué la tranche d'âge majoritaire représentant presque 75% de notre échantillon. Ceci rejoint de nombreuses études [233, 217 ,234] confirmant ainsi le fait que parmi les facteurs de risque d'ITU par une bactérie multirésistante (BMR) dont les EBLSE, figure un âge avancé, généralement supérieur à 65 ans.

Tableau IX. Comparaison de l'âge prédominant des patients porteurs d'EBLSE avec d'autres études :

Etude	Pays	Origine du prélèvement	Age prédominant
Ben ami et al. (1999-2005) (218)	Canada- Espagne - France-Turquie	Divers	> 65 ans
Colodner et al. (217)		Urines	> 60 ans
Rodriguez -bano et al. (2004-2005) (214)	Espagne	Sang	> 65 ans
Yang et al. (2006-2008) (223)	Taiwan	Urines Sang	> 65 ans
M. Fouquet et al. (2005-2009) (252)	France	Divers	> 70 ans
Audreau A et al. (2006)	Espagne	Urines	> 60 ans
Notre série	Maroc (Meknès)	Urines	> 55 ans

4. Le Sexe :

Dans notre étude, les infections urinaires à EBLSE sont plus fréquemment notées chez les hommes que chez les femmes, avec un sexe ratio de 1,96. Cette prédominance masculine reste controversée, alors que des études l'ont confirmées [234, 235, 236], D'autres ont rapporté une prédominance féminine [237-240]. Ces différences peuvent refléter les disparités régionales dans les pratiques de prescription d'antibiotiques liées au sexe (Exemple : traitement des cystites chez les femmes). Cela peut également être le résultat de biais méthodologiques, comme les critères d'inclusions (chirurgie prostatique, ...) [242]. Nous concernant, notre étude a été menée dans un hôpital militaire, structure qui reçoit surtout des patients de sexe masculin.

Tableau X. Comparaison du sexe prédominant des patients porteurs d'EBLSE avec d'autres études

Etude	Pays	Origine des prélèvements	Sexe prédominant
Ben ami et al. (1999-2006) (218)	Canada-Espagne-Turquie	Divers	Masculin
Colodner et al. (? 2ans) (217)	----	Urines	Masculin
Rodriguez-bano et al. (2004-2006) (214)	Espagne	Sang	Féminin
Yang et al. (2006-2008) (223)	Taiwan	Urines - Sang	Masculin
Ben Haj Khalifa et al (2009) (253)	Tunisie	Urines	Féminin
M. Fouquet et al (2005-2009) (252)	France	Urines - Sang - Pus	Masculin
N.S.M Hajjali et al (2016)(263)	Maurétanie	Urines	Féminin
Notre série	Maroc (Meknès)	Urines	Masculin

5. Les Services d'origine des patients porteurs d'EBLSE :

Selon les résultats de notre étude, les EBLSE étaient majoritairement du type nosocomial (68 %) ; ce qui rejoint les données de la littérature issue de différents pays [243] ; même si notre étude n'a pas, en toute rigueur, pris en compte les critères cliniques et le séjour hospitalier dans cette catégorisation. Une fréquence importante des EBLSE a été notée dans les services de chirurgie surtout l'urologie d'après notre étude (80 %), taux plus important que ceux rapportés en Algérie (40%) et encore plus que celui rapportés en France et au Maroc (Rabat) avec des taux respectifs de 20% et 23% [228,234]. Cette augmentation de fréquence peut être expliquée par la nature des échantillons de patients étudiés, par l'utilisation systématique ou non de l'antibioprophylaxie chirurgicale [244] et bien sûr, par la politique générale de lutte contre les infections nosocomiales dans les établissements des différents pays. Dans notre étude, on a noté une proportion de 5 % de patients hospitalisés en réanimation. Ce taux reste très bas par rapport à celui en Algérie (47,33%) en 2015 [228, 234,237], et toujours moins important que ceux rapportés à Rabat ou en France en 2012 avec des taux respectifs de et 31% [228,234]. Les patients hospitalisés dans les services de réanimation présentent en effet un risque plus important de contracter une EBLSE [234]. Cette prévalence accrue des résistances au niveau des services d'urologie et de réanimation confirme la notion de service à risque où plusieurs facteurs (non abordés dans cette étude) se réunissent pour accentuer ce constat [234-246] :

- Long séjour hospitalier
- Gestes et dispositifs invasifs (cathéters, sondes, intubation, ...)
- Antibiothérapie : l'exposition préalable aux C3G, fluoroquinolones, aminosides etc., association d'antibiotiques administrés et durée prolongée du traitement [248].

- Facteurs divers comme la malnutrition, l'hémodialyse, la nutrition parentérale exclusive, l'admission en réanimation ou une hospitalisation antérieure [249,250].

Par ailleurs, 31% des EBLSE ont été isolées chez des patients consultant à titre externe. L'émergence autonome de BLSE dans la communauté a été notée dans plusieurs études [96, 128,134–141]. De ce fait, l'augmentation des EBLSE est maintenant observée partout dans le monde non seulement dans les infections nosocomiales, mais aussi dans les infections communautaires [247].

Tableau XI. Comparaison des prévalences d'isolement des EBLSE entre milieu hospitalier et communautaire avec d'autres études.

<u>Etude</u>	<u>Pays</u>	<u>Origine des prélèvements</u>	<u>Hospitalier</u>	<u>Externe</u>
M. Fouquet et al. (2012) (252)	France	Divers (urines, sang, pus...)	87% n=24	13% n=3
N.S.M. Hailaji et al. (2016)(263)	Mauritanie	Urines	10.8% (8/74)	7.8% (26/332)
Romli et al. (2010) (227)	Maroc (rabat)	Urines	15.4% (73/473)	4.7% (4/85)
M.C.El Bouamri et al. (2008-2012) (226)	Maroc (Marrakech)	Urines	81%	19%
Lahlou et al. (2006-2008) (225)	Maroc (Meknès)	Urines	28 % (60/210)	1% (6/730)
Notre série	Maroc (Meknès)	Urines	54.78% (63/115)	5.25% (29/552)

6. Espèces et souches EBLSE isolées :

Dans notre étude, *Escherichia coli* est l'espèce prédominante au sein des EBLSE représentant 60.9%, suivie de *Klebsiella spp* représentant 31.5% (17.4% pour *Klebsiella oxytoca* contre 14.1% pour *Klebsiella pneumoniae*) puis vient *Enterobacter cloacae* avec une prévalence de 7.6%. De nombreuses études ont montré que *E. coli*, *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Enterobacter aerogenes* et *Proteus mirabilis* sont les espèces prédominantes [251,230]. D'après les résultats de notre étude, 90 % des EBLSE recensées étaient des souches de *K. pneumoniae* et d'*E. coli*. Cela concorde avec les résultats de plusieurs études qui ont mis en évidence que ces deux espèces étaient les plus fréquemment responsables de la production des BLSE [230,252]. Par ailleurs *K. pneumoniae* reste l'entérobactérie la plus pourvoyeuse de BLSE au sein de son genre avec une prévalence d'expression de 28.26% . Pour Ben Haj Khalifa et Khedher, *Klebsiella spp* produisait des BLSE dans 20,2% des cas [253]. Cependant, certains auteurs relatent un déclin de cette dominance en faveur d'*Enterobacter spp* ou d'*E. Coli* [188,236]. Parmi les 92 EBLSE 68,5% (n=63) été du type nosocomiale ou associées aux soins et se répartissent ainsi (Tableau XV) montrant qu'*Escherichia coli* reste l'entérobactérie productrice de BLSE prédominante en milieu hospitalier ces constats sont similaires à ceux rapportés par Lahlou et al. [225] et confirme l'idée qu' *E coli* a bien adopté le plasmide codant des BLSE.

Tableau XII. Comparaison des espèces BLSE prédominante et espèce la plus productrice de BLSE avec d'autres études

Etudes	Pays / Ville	Prélèvements	Espèce BLSE prédominante	Espèce la plus productrice de BLSE au sein de son espèce
Barguigua <i>et al.</i> (2011)	Maroc	Urines	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Romli <i>et al.</i> (227)	Rabat	Urines	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Lahlou <i>et al.</i> (225)	Meknès	Urines	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
El Bouamri M.C. <i>et al</i> (226)	Marrakech	Urines	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Messai <i>et al.</i> (2008) (127)	Algérie	Divers	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Elhani <i>et al.</i> (2010)	Tunisie	Divers	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. pneumoniae</i>
N.S.M hailaji <i>et al</i> (2016)(263)	Mauritanie	Urines	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
M. Fouquet <i>et al.</i> (2005-2009) (252)	France	Divers	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>
Notre série	Maroc (Meknès)	Urines	<i>E. coli</i>	<i>K. pneumoniae</i>

Tableau XIII. Répartition des E-BLSE nosocomiales (n=63).

Espèce d'entérobactéries	Nombre de souches	pourcentage
Escherichia coli	38	60%
K. pneumoniae	11	18%
K. oxytoca	10	17%
Enterobacter cloacae	4	6%
Total	63	100%

7. L'antibiorésistance :

Ø Corésistance globale des EBLSE :

En ce qui concerne l'étude de l'antibiorésistance des EBLSE uropathogènes nous avons objectivé des taux de corésistance élevés pour la ciprofloxacine (91.3%) la gentamycine (62%) la fosfomycine (5.4%) et l'imipénème (5.4%) ; Ces niveaux de résistance obtenus sont inquiétants et alarmants.

Cette situation est la conséquence de la pression de sélection due à la prescription démesurée et l'usage parfois abusif des antibiotiques à large spectre (bêtalactamines, fluoroquinolones.) aussi bien en milieu hospitalier qu'en milieu communautaire (délivrance officinale sans ordonnance, automédication, conseil d'ami, échantillon gratuit, ...), sans oublier l'impact de l'alimentation peu contrôlée et où de plus en plus d'antibiotiques sont utilisés en agriculture et dans l'élevage. Le déterminisme plasmidique prédominant de ces résistances acquises favorise, par ailleurs, leur dissémination [254]. Cette importante Co-résistance des E-BLSE limite fortement l'arsenal thérapeutique et accroît le risque d'impasse en matière de traitement [255,256].

Le travail de Lahlou Amine I et al. [225] a rapporté des taux de corésistance similaires aux nôtres ; et qui étaient de (80 %) vis-à-vis de la ciprofloxacine, (95%) contre la gentamicine, (60%) à l'Amikacine et (85 %) pour l'association sulfaméthoxazole+triméthoprime, sauf pour l'Amikacine qui dans notre étude et partout ailleurs, garde une forte activité même contre les entérobactéries productrices de carbapénèmases (EPC). Nos taux sont également similaires à ceux mis en évidence en 2012 par M.C. EL Bouamri et al [226].

Ø Fluoroquinolones :

Le taux élevé (91.3%) de Corésistance des E-BLSE à la ciprofloxacin a confirmé la forte résistance des E-BLSE aux quinolones [257]. Ceci peut être essentiellement expliqué :

D'abord par l'utilisation massive de la ciprofloxacin et norfloxacin pour traiter en 1^{er} intention les infections urinaires sans documentation préalable en raison de leurs larges spectres bactériens et de sa bonne diffusion dans les urines.

Et en second lieu la résistance acquise aux quinolones est classiquement due à des mutations chromosomiques par modifications ponctuelles des cibles, les topoisomérases de type II (ADN gyrase) et IV mais sa diffusion reste limitée, car restée Longtemps de support chromosomique. Cependant ,3 mécanismes de résistance plasmidique aux fluoroquinolones ont récemment émergé :

- le gène Quinolone résistance « Qnr » mondialement répandu, décrit en 1998, dans une souche nord-américaine de *K. pneumoniae* [258].
- les gènes codant respectivement pour une N-acétyltransférase, ACC-(6')-Ibcr (dont le spectre d'acétylation, habituellement limité aux aminosides est élargi à la ciprofloxacin et à la norfloxacin) .
- les gènes codant pour la pompe d'efflux QepA [259] .
- leur association à d'autres déterminants de résistance, essentiellement bêtalactamines et aminosides, favoriserait la cosélection de la résistance aux fluoroquinolones

Ces déterminants plasmidiques pourraient potentiellement favoriser l'évolution vers un plus haut niveau de résistance par la sélection de mutations dans les topoisomérases de type II [260-263].

Tableau XIV. Comparaison des pourcentages de résistances des EBLSE a la ciprofloxacine avec d'autres études.

Etude	Pays	Origine des prélèvements	Ciprofloxacine
A. Ben Haj Khalifa et al (2009) (253)	Tunisie	Urines	67.5%
M. Fouquet et al (2005-2009) (252)	France	Divers	74%
N.S.M hailaji et al (2016) (263)	Mauritanie	Urines	33.6%
Andreu A et al (2006)	Espagne	Urines	72.2%
Zohreh Aminzadeh et al (2007)	Iran	Urines	35%
M.C. EL Bouamri et al (2008-2012) (226)	Maroc (Marrakech)	Urines	82%
Romli et al (2010) (227)	Maroc (rabat)	Urines	76%
Lahlou et al (2006-2008)(225)	Maroc (Meknès)	Urines	80%
Notre série (2015)	Maroc (Meknès)	Urines	91.3%

Ø Aminositides :

Le pourcentage des EBLSE résistantes à la gentamicine (62%) était supérieur à ceux résistantes à l'Amikacine (1.1 %) qui est très bas en comparaison à d'autres études [234, 264,265] et reste l'aminoside le plus efficace contre les EBLSE, comme cela a été rapporté dans plusieurs études [190, 266, 267]. Arpin et al. avaient mentionné un taux moins important de résistance à la gentamicine (29%), mais un taux de résistance plus important à l'amikacine (51%) [267]. Ainsi, la sensibilité des EBLSE aux aminositides varie en fonction des études et donc des mécanismes impliqués [268].

Tableau XV. Comparaison du pourcentage de résistance des EBLSE aux aminositides avec d'autres études.

Etude	Pays	Origine des prélèvements	Gentamicine	Amikacine
A. Ben Haj Khalifa et al (2009) (253)	Tunisie	Urines	92.5%	10%
M. Fouquet et al (2005-2009) (252)	France	Divers	41%	Np
N.S.M hailaji et al (2016)(263)	Mauritanie	Urines	19.5%	Np
Andreu A et al (2006)	Espagne	Urines	Np	Np
Zohreh Aminzadeh et al (2007)	Iran	Urines	33.5%	10%
M.C.EL Bouamri et al (2008-2012) (226)	Maroc (Marrakech)	Urines	74%	51%
Romli et al (2010) (227)	Maroc (rabat)	Urines	86%	Np
Lahlou et al (2006-2008) (225)	Maroc (Meknès)	Urines	95%	60%
Notre série (2015)	Maroc(Meknès)	Urines	62%	1.1%

Ø Fosfomycine :

Dans notre étude, la fosfomycine a été active contre les E-BLSE à hauteur de 94.5%. Cette molécule garde une bonne activité malgré sa forte recommandation dans le traitement des cystites aiguës non compliquées en raison de sa faible prescription. Le problème au Maroc, c'est sa disponibilité fluctuante dans le marché et l'absence de forme injectable à usage hospitalier contre les infections nosocomiales à EBLSE.

Tableau. XVI Comparaison du pourcentage de résistance des EBLSE a la fosfomycine avec d'autres études.

Etude	Pays	Origine des prélèvements	Fosfomycine
A. Ben Haj Khalifa et al (2009) (253)	Tunisie	Urines	17.5%
M. Fouquet et al (2005-2009) (252)	France	Divers	Np
N.S.M hailaji et al (2016)	Mauritanie	Urines	21.2%
Andreu A et al (2006)	Espagne	Urines	1.9%
Zohreh Aminzadeh et al (2007)	Iran	Urines	50%
M.C. EL Bouamri et al (2008-2012) (226)	Maroc (Marrakech)	Urines	13%
Romli et al (2010) (227)	Maroc (rabat)	Urines	20%
Lahlou et al (2006-2008) (225)	Maroc (Meknès)	Urines	Np
Notre série (2015)	Maroc (Meknès)	Urines	5.4%

Ø Carbapénèmes :

Sur la base d'études rétrospectives et prospectives, les carbapénèmes possèdent une très bonne activité contre les E-BLSE [268]. La résistance aux carbapénèmes, et notamment à l'ertapénème dans le cadre d'Entérobactéries, contrairement à l'étude de Lahlou et al. [225], est de (5.4%) ce qui témoigne de l'émergence de souches associant BLSE et imperméabilité aux carbapénèmes ou bien coproduction de BLSE et de carbapénémases montrant ainsi un phénotype de « panrésistance » aux bêtalactamines. De ce fait, l'utilisation rationnelle des carbapénèmes s'impose car ils représentent l'outil thérapeutique de dernière ligne pour le traitement des infections par bacilles à Gram négatif producteurs de BLSE.

Tableau XVII. Comparaison des pourcentages de résistances des EBLSE aux carbapénèmes avec d'autres études.

Etude	Pays	Origine des prélèvements	Imipénème
A. Ben Haj Khalifa et al (2009) (253)	Tunisie	Urines	0%
M. Fouquet et al (2005-2009) (252)	France	Divers	0%
N.S.M hailaji et al (2016)	Mauritanie	Urines	0%
Andreu A et al (2006)	Espagne	Urines	0%
Zohreh Aminzadeh et al (2007)	Iran	Urines	0%
M.C. EL Bouamri et al (2008-2012) (226)	Maroc (Marrakech)	Urines	10%
Romli et al (2010) (227)	Maroc (rabat)	Urines	0%
Lahlou et al (2006-2008) (225)	Maroc (Meknès)	Urines	0%
Notre série (2015)	Maroc (Meknès)	Urines	5.4%

Limites et perspectives :

- ⊖ Etude rétrospective, d'où perte de beaucoup d'information (âge, durée d'hospitalisation, gestes invasifs subis, thérapeutiques administrées, évolution des patients, ...)
- ⊖ Etude microbiologique (problème vu uniquement du côté du laboratoire) alors que l'intégration des paramètres cliniques et démographiques est cruciale pour la prise de décision et l'élaboration de recommandations
- ⊖ Prise en charge bactériologique classique sans aucune confrontation avec l'outil moléculaire permettant la classification et le typage des BLSE, ainsi que l'identification des mécanismes associés (gènes de carbapénémases, gènes de résistance aux aminosides, aux fluoroquinolones, ...) ce qui aurait relevé la valeur scientifique et épidémiologique de ce travail.
- ⊖ Durée : un an est une durée valable mais étant donné le changement de l'épidémiologie au cours du temps, il est nécessaire de faire un suivi ininterrompu de la résistance bactérienne pour pouvoir prédire les tendances et guider véritablement l'antibiothérapie
- ⊖ Echantillon limité pour pouvoir faire des comparaisons de prévalences avec des études internationales, voire nationales, rapportant des chiffres importants, donc plus proches de la réalité
- ⊖ Outil statistique limité en raison de la pauvreté des paramètres étudiés ne permettant pratiquement pas de comparaison ni dégager des facteurs de risque
- ⊖ prévoir dans le futur, la réalisation de travaux prospectifs et d'y associer les paramètres cliniques et thérapeutiques d'une part ; et la biologie moléculaire et une bonne analyse statistique d'autre part

CONCLUSION

Nos résultats et, conformément aux données de la littérature, ont montré l'importante prévalence des EBLSE dans les infections urinaires, des niveaux élevés de résistance aux antibiotiques (bêtalactamines et autres familles) utiles pour le traitement de ces infections, aussi bien à l'hôpital qu'en médecine de ville ; et l'émergence de la résistance aux molécules d'ultime recours en thérapeutique antibactérienne dans notre région, à savoir, les carbapénèmes.

Ces phénomènes font de la multiresistance aux antibiotiques un problème réellement inquiétant et alarmant du fait des risques potentiels (impasse thérapeutique, morbi-mortalité augmentée, surcoûts économiques et installation de bactéries hautement résistantes dans les services hospitaliers).

Ainsi, de nouvelles approches de lutte contre les BMR et les EBLSE en particulier, associées à un renforcement des mesures d'hygiène et précautions déjà en place sont nécessaires :

- Au niveau des hôpitaux, cette lutte passe par des mesures simples, ciblées et précises, connues de tous les acteurs de santé telle que le lavage des mains, la désinfection et la stérilisation du matériel réutilisable, le recours au matériel usage unique, En second lieu, il est nécessaire de réduire la pression de sélection exercée par l'antibiothérapie grâce à l'usage codifié et rationnel des antibiotiques : baser le choix initial sur une bonne argumentation clinique, faire un prélèvement à visée bactériologique avant d'administrer les antibiotiques, respecter la durée de l'antibiothérapie, respecter les recommandations concernant l'antibioprophylaxie chirurgicale, impliquer les différents acteurs en antibiothérapie (laboratoire de microbiologie, pharmacie et services cliniques, ...) En dernier lieu, surveiller régulièrement la résistance au niveau de tous les établissements de soins afin d'actualiser et de

définir les stratégies thérapeutiques et prophylactiques adaptées à l'épidémiologie locale.

- En milieu communautaire la prise en charge des infections urinaires à EBLSE n'est pas encore maîtrisée. En effet, cette diffusion malencontreuse nous interpelle pour agir en amont afin de préserver l'activité des antibiotiques. Il faut améliorer la conformité des traitements d'infections urinaires communautaires aux Recommandations en soulignant l'importance l'abstention thérapeutique lors de bactériuries asymptomatiques, l'intérêt d'utiliser des molécules adaptées au site d'infection notamment lors de pyélonéphrites ou de prostatites), informer continuellement les médecins à propos des infections bactériennes des voies urinaires et de la résistance aux antibiotiques, en particulier les EBLSE vu les risques encourus ; et proposer des supports favorisant l'information des patients.

RESUMES

RESUME

Titre : Profil épidémiologique des Entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi uropathogènes au sein de l'hôpital militaire Moulay Ismail de Meknès durant l'année 2015

Introduction : Les infections urinaires à entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi (E-BLSE) constituent un risque infectieux, un enjeu thérapeutique de taille et peuvent même conduire dans certains cas à des impasses du fait de leur multiresistance aux antibiotiques. L'ampleur de ce problème dans notre région (Meknès, Maroc) est peu connue et mérite d'être rapporté pour une meilleure prise en charge des patients selon les données locales.

Objectifs : Préciser le profil épidémiologique des (E-BLSE) uropathogènes et décrire leur niveau actuel de résistance aux antibiotiques à l'Hôpital Militaire Moulay Ismail de Meknès (HMMIM).

Matériel et méthode : Il s'agit d'une étude rétrospective d'une durée d'un an (du 1^{er} janvier 2015 au 31 décembre 2015) concernant toutes les souches d'E-BLSE isolées de tous les ECBU traités au laboratoire de microbiologie de l'HMMIM. La culture a été faite selon les techniques usuelles, et l'antibiogramme a été réalisé par méthode de disque diffusion sous gélose Muller-Hinton selon les recommandations du Comité de l'antibiogramme de la Société française de microbiologie CA-SFM/EUCAST 2014/2015. L'analyse statistique a été effectuée à l'aide du logiciel SPSS Statistics 21.

Résultats : Cette étude a permis de noter une importante prévalence globale d'isolement des E-BLSE (13.77 %) sur un total de 668 ECBUs positif à entérobactéries, particulièrement chez les patients hospitalisés (68.47 %) dont la plus grande prévalence (79.36 %) a été enregistrée dans le service d'urologie. Parmi ces E-BLSE *Escherichia coli* constitue la majorité (61 %) (n=56) des isolats, cependant au sein de la même espèce *Klebsiella pneumoniae* est le plus producteur de BLSE (28.26% , 13/46)

devant *Klebsiella oxytoca* (24% ,16/24) et *Escherichia coli* (11.36% ,56/493). L'étude de l'antibiorésistance des E-BLSE durant 2015 a mis en évidence des co-résistances à la ciprofloxacine (91.3 %), au sulfaméthoxazole-triméthoprime (85 %), à la gentamycine (62 %). Nos résultats ont montré aussi que dans notre région, la résistance aux carbapénèmes (5.4 %) est émergente. Globalement nos résultats sont en accord avec les données des autres pays méditerranéens exception faite pour l'amikacine dont la résistance est très basse (1.1%) dans notre étude.

Conclusion : Cette étude a montré que notre épidémiologie en matière d'EBLSE uropathogènes est conforme aux données de la littérature, en l'occurrence, que la prévalence des E-BLSE en milieu hospitalier est importante et que sa diffusion en milieu communautaire est un fait préoccupant. Ces E-BLSE sont généralement résistantes aux autres familles d'antibiotiques (appartiennent aux bactéries multirésistantes ou BMR), notamment aux molécules utiles en urologie. Elles font l'objet de programmes locaux de surveillance dans notre pays, mais la lutte peine encore à se mettre en place faute de moyens techniques et humains ; et parfois par manque de volonté.

Mots clés : Infection urinaire, ECBU, Entérobactéries, BLSE, résistance aux antibiotiques.

ABSTRACT:

Title: Epidemiological profile of Extended Spectrum Betalactamase-producing *Enterobacteriaceae* involved in urinary tract infections in 2015 at Moulay Ismail military hospital of Meknes (MIMHM), Morocco.

Introduction: urinary tract infections (UTIs) due to Extended Spectrum Beta-Lactamase Enterobacteriaceae (ESBLE) constitute a serious public health concern worldwide since involved bacteria are multi-resistant to antimicrobial drugs. Indeed, they create a high therapeutic challenge situation that can lead to death because of lack of active antibiotics.

The extent of this problem in our region (Meknes, Morocco) is not very well known and it deserves to report local data for a better management of the patients.

Goals: the objectives of the study are to specify the epidemiological profile of ESBLE and to describe their actual level of resistance to antibiotics in order to provide for clinicians useful data for more efficient empirical antimicrobial therapy in UTIs.

Materials and Methods: it is a one-year-period retrospective study (over 2015) concerning whole strains of ESBLE isolated from urine in the Laboratory of Microbiology of MIMHM.

The bacterial culture was performed using the usual technics, and, the antibiotic sensitivity testing was made by disc-diffusion method on Mueller-Hinton agar plate according to the recommendations of French and European Committees (CA-SFM/EUCAST 2014/2015).

The software SPSS statistics 21 was the used tool for eventual statistical analysis.

Results: from a total of 6500 urine cultures which 668 entérobactéries recensées were isolated, this study has allowed us to note a significant global prevalence of ESBLE (13.77%) among all Enterobacteriaceae group (n=668), particularly among inpatients

(n=63 or 68.47%) of whom the highest prevalence (79.36%) was recorded in the urology department (n=50).

Escherichia coli constitutes 61% (n=56) of the isolated ESBLE, while *Klebsiella pneumoniae* seems to be the most producer of ESBL (28.26% 46/13) versus *Klebsiella oxytoca* (24.24% 66/16) and *E.coli* (11.36% 493/56).

The antibiotic resistance profile of ESBLE highlighted associated resistances to antibiotics other than beta lactams that are frequently used in therapeutic: ciprofloxacin (91.3%), cotrimoxazole (85%) and gentamycin (62%).

These results shown also that the resistance to carbapenems (5.4%) is emerging. In general, our results are in accordance to data provided from Mediterranean countries except when Amikacine is considered. Indeed, resistance to this molecule was very low (1.1%) in our study.

Conclusion : The study shown that: i) the microbiological epidemiology of UTIs dues to ESBLE are more often isolated from patients of Urology and Intensive Care Unit; and, increasingly in outpatients; ii) the prevalence of ESBLE in our hospital is growing and spreads to community, and finally iii) resistance to carbapenems is emerging; seeming a troubling matter.

These ESBLE are generally multi-drug-resistant to molecules widely used in urology (injectable 3rd generation cephalosporins, fluoroquinolones, aminoglycosides, cotrimoxazole).

This situation reflects the subject matter of local surveillance programs in our country: lack of hygiene and lack in information and awareness. The main reason is the lack of human and technical resources; but sometimes, it reflects the absence of commitment.

Key words: UTIs, ESBL, Enterobacteriaceae, Resistance to Antibiotics

BIBLIOGRAPHIE

- 1- **Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L.** Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56:52—9.
- 2- **Bradford PA.** Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14(4):933—51.
- 3- **Arpin C, Dubois V, Coulange L, Andre C, Fischer I, Noury P, et al.** Extended-spectrum betalactamase-producing Enterobacteriaceae in community and private health care centers. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47(11):3506—14.
- 4- **Woodford N, Ward ME, Kaufmann ME, Turton J, Fagan EJ, James D, et al.** Community and hospital spread of *Escherichia coli* producing CTX-M extended-spectrum betalactamases in the UK. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54(4):735—43.
- 5- **Sarkis P, Nassar D, Rehban R, Kamel G, Nemer E, Ayoub N, et al.** Résistance aux quinolones dans les infections urinaires : prévalence, évolution et alternatives thérapeutiques d'après une étude de 1468 souches bactériennes. *Prog Urol* 2008 ; 18(11) :705.
- 6- **Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie.** Recommandations 2015 [Internet]. 2015 [cited 2015 2]. Available from: http://www.sfm-microbiologie.org/UserFiles/files/casfm/CASFM_EUCAST_V1_2015.pdf
- 7- **Recommandations du Rémic Edition 2011**[Internet] : Available from : http://www.sfm-microbiologie.org/page/page/showpage/page_id/101.html
- 8- **Philippon A. Cours de bactériologie générale.** Campus de microbiologie médicale. Available From : <http://www.microbe-edu.org/index.html>

- 9- **Résistance aux antimicrobiens.** Organisation mondiale de la Santé ; 2012.
Available from:<http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs194/fr/index.html>
- 10- **Decoster A, Lemahieu J-C, Dehecq E, Duhamel M.** Cours de bactériologie. Cours de Microbiologie de la faculté libre de médecine de Lille. 2008. Available from :
<http://anne.decoester.free.fr/bindex.html>
- 11- **Philippon A.** Cours de bactériologie générale. Campus de microbiologie médicale. Available From : <http://www.microbe-edu.org/index.html>
- 12- **Carattoli A.** 2009. Resistance Plasmid Families in *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother*; 53: 2227-2238.
- 13- **Harbottle, H, S. Thakur, S. Zhao D. White G.** 2006. Genetics of antimicrobial resistance. *Anim Biotechnol*; 17(2): 111-124.
- 14- **Thomas C.M. and Nielsen K.M.** 2005. Mechanisms of, and barriers to, horizontal gene Transfer between bacteria. *Nature Review Microbiology*; 3: 711-721.
- 15- **El Salabi A., Walsh T.R., Chouchani C.** 2013. Extended spectrum β -lactamases, Carbapenemases and mobile genetic elements responsible for antibiotics resistance in Gram-negative bacteria. *Crit Rev Microbiol.*; 39: 113-122.
- 16- **Domingues S., da Silva G.J., and Nielsen K.M.** 2012. Integrons: vehicles and pathways for horizontal dissemination in bacteria. *Mob Genet Elements*; 2(5): 211-223.
- 17- **Recchia G.D., Hall R.M.** 1997. Origins of the mobile gene cassettes found in integrons. *Trends Microbiol*; 5(10): 389-394.
- 18- **Espedido B., Iredell J., Thomas L.** 2005. Wide dissemination of a Carbapenemase Plasmid among Gram-negative bacteria: Implications of the variable phenotype. *J. Clin. Microbiol.*; 43 (9): 4918-4919.
http://michel.deleuil.free.fr/phenomene_de_resistance_2.html

- 19- **Les bactéries résistantes aux antibiotiques, Centre d'Analyse Stratégique,** Novembre 2012 Available from : http://michel.deleuil.free.fr/phenomene_de_resistance_2.html.
- 20- **Carle S. 2009.** La résistance aux antibiotiques : un enjeu de santé publique important ! *Pharmactuel*; 42: 7-21
- 21- **Knobler S.L., Lemon S.M., Najafi M., and Burroughs T. 2003.** The resistance phenomenon in microbes and infectious disease vectors. *The national academies press*. 336 pages.
- 22- **Hamilton-Miller, J. M. 2004.** Antibiotic resistance from two perspectives: man and Microbe. *Int J Antimicrob Agents*; 23: 209-212.
- 23- **Leekha S. Irish C.L., Schneider S.K., Fernholz E.C., Espy M.J., Cunningham S.A., Patel R., Juhn Y.J., Pritt B., Smith T.F., Sampathkumar P. 2013.** Viral detection using a multiplex polymerase chain reaction-based assay in outpatients with upper respiratory infection. *Diagn Microbiol Infect Dis*; 75: 169-173.
- 24- **Larson E. 2007.** Community factors in the development of antibiotic resistance. *Annu. Rev. Public Health*; 28: 435-447. 22. Kim MS, Jun LJ, Shin SB, Park MA, Jung SH, Kim K, Moon KH, Jeong HD. Mutations in the gyrB, parC, and parE genes of quinolone-resistant isolates and mutants of *Edwardsiella tarda*. *J Microbiol Biotechnol*. 2010 Dec; 20.
- 25- **Johnson J.R., Menard M., Johnston B., Kuskowski M.A., Nichol K., Zhanel G.G. 2009.** Epidemic clonal groups of *Escherichia coli* as a cause of antimicrobial-resistant urinary tract infections in Canada, 2002 to 2004. *Antimicrob. Agents Chemother*; 53: 2733-2739.
- 26- **Hill T.L. 2011.** The spread of antibiotic-resistant bacteria through medical tourism and

- Transmission prevention under the international health regulations. *Chi J Int Law*; 12: 273-308.
- 27- Vidaver A. K. 2002. Uses of antimicrobials in plant agriculture. *Clin Infect Dis*; 34: 107-110.
- 28- Boucher H.W., Talbot G.H., Bradley J.S. Edwards J.E., Gilbert D., Rice L.B., Scheld M., Spellberg B., Bartlett J. 2009. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from: The Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*; 48: 1-12.
- 29- World Health Organization (WHO)-Antimicrobial resistance. 2009-2010. Retrived From <http://www.who.int/drugresistance/en/>.
- 30- ReAct-Action on antibiotic resistance (ReAct), Retrived 2013-10-01, From www.reactgroup.org
- 31- Bush K., Jacoby J.A. 2010. Updated functional classification of β -lactamases. *Antimicrob.Agents. Chemother* ; 54: 969-976.
- 32- Ghuysen J. M. 1990. Membrane topology, structure, and functions of the penicillin - interactive proteins. *Biotechnol Appl Biochem*; 12: 468-472.
- 33- Massova I., and Mobashery S. 1998. Kinship and diversification of bacterial penicillinbinding proteins and beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*; 42:1-17.
- 34- Suvorov, M., S. B. Vakulenko, and S. Mobashery. 2007. Cytoplasmic-membrane anchoring of a class a beta-lactamase and its capacity in manifesting antibiotic resistance. *Antimicrob Agents Chemother.*; 51: 2937-2942.
- 35- Ambler R.P. 1980. The structure of β -lactamases. *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci*; 289: 321-331.
- 36- Paterson D.L., Bonomo R.A. 2005. Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update.*CMR*; 18: 657-686.

- 37- **Livermore D. M.** 2012. Current epidemiology and growing resistance of gram-negative pathogens. *Korean J Intern Med*; 27:128–142.
- 38- **Grall N., Andremont A., Armand-Lefèvre L.** 2011. Résistance aux carbapénèmes : vers une nouvelle impasse?. *Journal des Antinfectieux*, doi:10.1016/j.antinf.2011.03.005
- 39- **Knothe H., Shah P., Krcmery V., Antal M and Mitsuhashi S.** 1983. Transferable resistance to cefotaxime, ceftiofex, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection*; 11: 315–317.
- 40- **Datta N, Kontomichalou P.** Penicillinase synthesis controlled by infectious R factors in *Enterobacteriaceae*. *Nature* 1965; 208: 239–41.
- 41- **Bradford PA.** Extended-spectrum betalactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001; 14: 933–51.
- 42- **Poirel L, Naas T, Nordmann P.** Genetic support of extended-spectrum bêtalactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 75–81.
- 43- **Brisse S, Verhoef J.** Phylogenetic diversity of *Klebsiella pneumoniae* and *Klebsiella oxytoca* clinical isolates revealed by randomly amplified polymorphic DNA, *gyrA* and *parC* genes sequencing and automated ribotyping. *Int J Syst Evol Microbiol* 2001; 51: 915–24.
- 44- **Haeggman S, Löfdahl S, Paauw A, Verhoef J, Brisse S.** Diversity and evolution of the class A chromosomal beta-lactamase gene in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 2400–8.
- 45- **Huletsky A, Knox JR, Levesque RC.** Role of Ser-238 and Lys-240 in the hydrolysis of third-generation cephalosporins by SHV-type bêtalactamases probed by site-directed mutagenesis and three-dimensional modeling. *J Biol Chem* 1993 ; 268 : 3690–7.

- 46- Poirel L, Lebessi E, Castro M, Fèvre C, Foustoukou M, Nordmann P. Nosocomial outbreak of extended-spectrum beta-lactamase SHV-5-producing isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in Athens, Greece. *Antimicrob Agents Chemother* 2004 ; 48 : 2277-9.
- 47- Naiemi NA, Duim B, Savelkoul PH, Spanjaard L, De Jonge E, Bart A, et al. Widespread transfer of resistance genes between bacterial species in an intensive care unit: implications for hospital epidemiology. *J Clin Microbiol* 2005; 43: 4862-4.
- 48- Ford PJ, Avison MB. Evolutionary mapping of the SHV betalactamase and evidence for two separate IS26-dependent blaSHV mobilization events from the *Klebsiella pneumoniae* chromosome. *J Antimicrob Chemother* 2004 ; 54 : 69-75.
- 49- Matsumoto Y, Ikeda F, Kamimura T, Yokota Y, Mine Y. Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1988; 32: 1243-6.
- 50- Bonnet R. Growing group of extended-spectrum betalactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004; 48: 1-14.
- 51- Olson AB, Silverman M, Boyd DA, Mcgeer A, Willey BM, Pong-Porter V, et al. Identification of a progenitor of the CTX-M-9 group of extended-spectrum beta-lactamases from *Kluyvera georgiana* isolated in Guyana. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49: 2112-5.
- 52- Perez F, Endimiani A, Hujer KM, Bonomo RA. The continuing challenge of ESBLs. *Curr Opin Pharmacol* 2007; 7: 459-69.
- 53- Prescott, L. M., Klein D. A., and Harley J. P. 2010. Microbiologic 3e éd., De Boeck Université, Bruxelles, 1088 pages.

- 54- **Jarlier V., Nicolas M.H., Fournier G., Philippon A.** 1988. Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in Enterobacteriaceae: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis*; 10: 867-878
- 55- **Wiegand I., Geiss H.K., Mack D., Sturenburg E., Seifert H.** 2007. Detection of Extended-spectrum beta-lactamases among Enterobacteriaceae by use of semi-automated Microbiology systems and manual detection procedures. *J Clin Microbiol*; 45: 1167-1174.
- 56- **Cormican M.G., Marshall S.A., Jones R.N.** 1996. Detection of extended-spectrum betalactamase (ESBL)-producing strains by the Etest ESBL screen. *J Clin Microbiol*; 34: 1880-1884.
- 57- **Carter M.W., Oakton K.J., Warner M., Livermore D.M.** 2000. Detection of extended spectrum beta-lactamases in Klebsiellae with the Oxoid combination disk method. *J Clin Microbiol*; 38: 4228-4232.
- 58- **Kämpke, T., Kieninger M., Mecklenburg M.** 2001. Efficient primer design algorithms. *Bioinformatics*; 17(3), 214-225.
- 59- **De Mello, A. J.** 2003 DNA amplification moves on, *Nature*; 422: 28-29.
- 60- **Bustin S.A., Beaulieu J.F., Huggett J., Jaggi R., Kibenge F.S., Olsvik P.A., Penning L.C. Toegel S.** 2010. MIQE précis: Practical implementation of minimum standard guidelines for fluorescence-based quantitative real-time PCR experiments. *BMC Mol Biol.*; 21: 11-74.
- 61- **Boissinot M., Bergeron M.G.** Toward rapid real-time molecular diagnostic to guide smart use of antimicrobials. *Curr Opin Microbiol*; 5(5): 478-482.
- 62- **InVS Institut de Veille Sanitaire.** 2009. Available from : <http://www.invs.sante.fr/surveillance/resistance/glossaire.htm>

- 63- **Institut national de veille sanitaire (INVS)**. Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France. Réseau BMR-Raisin – Résultats 2006.
- 64- **Michel-Briand Y**. Une histoire de la résistance aux antibiotiques : A propos de six bactéries. Paris : Le Harmattan ; 2009. 364 p.
- 65- **Decoster A, Lemahieu J-C, Dehecq E, Duhamel M**. Cours de microbiologie de la faculté libre de médecine de Lille. 2008. Available from : <http://anne-decoester.free.fr/bindex.html>
- 66- **European Antimicrobial Resistance Surveillance Network**, European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe: annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), 2010. Stockholm: ECDC; 2011. p. 196. Available from: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111_SUR_AMR_data.pdf
- 67- **European Centre for Disease Prevention and Control**. The bacterial challenge, time to react: a call to narrow the gap between multidrug-resistant bacteria in the EU and the development of new antibacterial agents. Stockholm: European Centre for Disease Prevention and Control; 2009 Sep p.
- 68- **Jarlier V, Arnaud I, Blanchard H**. Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé en France Réseau BMR-Raisin – Résultats 2011. Institut de veille sanitaire ; 2013 Mar. 75 p.
- 69- **European Antimicrobial Resistance Surveillance Network**, European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe : annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), 2010 [Internet]. Stockholm: ECDC; 2011. p. 196. Available from: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111_SUR_AMR_data.pdf

- 70- **Numéro thématique – Surveillance de la consommation et de la résistance aux antibiotiques.** Bull Epidemiologique Hebd. 2012 Nov 13 ;(42-43) :471–94.
- 71- **Programme de maîtrise de la diffusion des bactéries multirésistantes (BMR) :** fiches techniques. CCLIN Paris-Nord ; 1997.
- 72- **Comité technique national des infections nosocomiales,** Société française d'hygiène hospitalière. Recommandations d'isolement septique en établissement de soins. Ministère de l'Emploi et de la Solidarité - Secrétariat d'Etat à la Santé ; 1998 p. 51.
- 73- **Recommandations nationales Prévention de la transmission croisée :** précautions complémentaires contact Consensus formalisé d'experts. Hygiènes. 2009 Avril ; XXVII(2) :81–138.
- 74- **Recommandations nationales Prévention de la transmission croisée par voie respiratoire :** Air ou Gouttelettes Recommandations pour la pratique clinique (RPC). Hygiènes. 2013 Mar ; XXI(1) :53.
- 75- **Direction générale de la Santé.** Infections liées aux soins réalisées en dehors des établissements de santé - guide de prévention. Ministère de la Santé ET des Solidarités; 2006 Jan p. 128.
- 76- **Hygiène et prévention du risque infectieux en cabinet médical ou paramédical** - Synthèse des recommandations professionnelles. Haute Autorité de Santé ; 2007 Jun p. 4. Available from:www.has-sante.fr/
- 77- **Bad Bugs, no Drugs – As Antibiotic Discovery Stagnates ...** A Public Health Crisis Brews. Infectious Diseases Society of America; 2004 Juillet p. 37.
- 78- **Carlet J, Collignon P, Goldmann D, Goossens H, Gyssens IC, Harbarth S, et al.** Society's failure to protect a precious resource: antibiotics. The Lancet. 2011 Apr. 7; 378(9788) :369–71.

- 79- **Carlet J. Sauvons les antibiotiques.** Alliance Contre le développement des Bactéries Multi- Résistantes aux Antibiotiques (AC de BMR) ; 2011.
- 80- **Alliance contre le développement des bactéries multirésistantes (AC de BMR).** Sauvons nos antibiotiques - Pour pouvoir les utiliser demain, agissons aujourd'hui. Available from: <http://www.sauvonsnosantibiotiques.org/Accueil/p1.html>
- 81- **Innovative Medicines Initiative (IMI).** Uniting European researchers in the fight against antibiotic resistance, IMI launches €223.7 million programme for combatting antibiotic resistance. 2012.
- 82- **New Drugs for 4 Bad Bugs.** EFPIA - European Federation of Pharmaceutical Industries and Associations. Available from: <http://www.efpia.eu/documents/2/68/New-Drugs-for-4-Bad-Bugs>
- 83- **COMBACTE Combatting Bacterial Resistance in Europe.** Innovative Medicines Initiative. Available from: <http://www.imi.europa.eu/content/combacte>
- 84- **TRANSLOCATION Molecular basis of the bacterial cell wall permeability.** IMI - Innovative Medicines Initiative. Available from: <http://www.imi.europa.eu/content/translocation>
- 85- **Allegra Therapeutics.** New anti-infectives company, Allegra Therapeutics, created with €15 million series a financing. 2013. Available from: <http://www.allegra.com/Allegra/News.html>
- 86- **Alexandre Y, Le Blay G, Boisrame-Gastrin S, Le Gall F, Hery-Arnaud G, Gouriou S, et al.** Probiotics: A new way to fight bacterial pulmonary infections? *Medecine Mal Infect.* 2013 Jun;
- 87- **Reid G, Burton J, Devillard E.** The rationale for probiotics in female urogenital healthcare. *MedGenMed Medscape Gen Med.* 2004;6(1):49.

- 88- **Wright A, Hawkins CH, Anggard EE, Harper DR.** A controlled clinical trial of a therapeutic bacteriophage preparation in chronic otitis due to antibiotic-resistant *Pseudomonas aeruginosa*; a preliminary report of efficacy. *Clin Otolaryngology*. 2009 Aug; 34(4):349-57.
- 89- **Alemayehu D, Casey PG, McAuliffe O, Guinane CM, Martin JG, Shanahan F, et al.** Bacteriophages MR299-2 and NH-4 can eliminate *Pseudomonas aeruginosa* in the murine lung and on cystic fibrosis lung airway cells. *mBio*. 2012 Mar six; 3(2):e00029-12-e00029-12.
- 90- **Joly B, Reynaud A.** *Entérobactéries : systématique et méthodes de diagnostic*. Edition Te. 2007. 3-182 p.
- 91- **Morice V.** Chapitre 7 - Entérobactéries et autres bacilles à Gram négatif non exigeants [Internet]. 2003. Available from:
<http://www.chups.jussieu.fr/polys/bacterio/bacterio/POLY.Chp.7.html>
- 92- **Avril J-L, Dabernat H, Denis F, Monteil H.** *Bactériologie clinique*. 2000. 602 p.
- 93- **Decoster A.** Entérobactéries [Internet]. FLM. 2005. p. 1-16. Available from:
<http://anne.decoster.free.fr/btelechar/bpoly/enteroba05.pdf>
- 94- **Nauciel C.** *Bactériologie médicale*. 2001. 275 p
- 95- **Georgopapadakou N.H.** 1993. Penicillin-binding proteins and bacterial resistance β -lactams. *Antimicrob. Agents Chemother*. 37: 2045-2053.
- 96- **Kong K-F., Schneper L., and Mathee K.** 2010. Beta-lactam antibiotics: From antibiosis to resistance and bacteriology. *APMIS* ; 118(1) : 1-36.
- 97- **Cavallo J-D, Fabre R, Jehl F, Rapp C, Garrabé E.** *Bêtalactamines*. EMC - Mal Infect. 2004;1(3):129-202.
- 98- **Mascaretti O.A.** 2003. *Bacteria versus antibacterial agents; an integrated approach*. ASM press, 420 pages

- 99- **Wingard L.B., Brody T.M., Larner J., Schwartz A.** 1991. Human pharmacology: molecular to clinical, St.Louis, Mosby yearbook.
- 100- **Zogheib E, Dupont H.** Entérobactéries multirésistantes. Conférences d'actualisation. 2005 ; Elsevier S : 153-65.
- 101- **Bonnet R.** β -lactamines et entérobactéries. AntibioGramme 2e édition. 2006 ; Paris, Fra:Chapitre 15, p. 144-7.
- 102- **Philippon A.** Entérobactéries des bêtalactamines. EMC - Biol médicale. Elsevier ; 2008 ; 3(4):1-18.
- 103- **Denis F, Ploy M-C, Martin C, Bengin É, Quentin R.** Bactériologie médicale : Techniques usuelles. Elsevier Masson ; 2007. 573 p.
- 104- **Lavigne J-P.** Effets des antibiotiques et mécanismes de résistance [Internet]. MB7 : Bactériologie B6 -Antibiotiques et résistance. Faculté de Médecine Montpellier - Nîmes. 2010. Available from: http://www.med.univ-montp1.fr/enseignement/cycle_1/PCEM2/mod-base/MB7_Bio_Med/Ressources_locales/BACTERIO/B6-ATB_et_resistance2.pdf
- 105- **Sougakoff W, Trystram D.** Résistances aux β -lactamines. Service de Bactériologie-Hygiène du CHU Pitié-Salp. 2003.
- 106- **Gueudet T, Richter S, Szulc M, Jehl F.** Les nouvelles formes de résistance des bactéries aux antibiotiques : deux cas de Klebsiella pneumoniae produisant une céphalosporinase plasmidique. Médecine Mal Infect. 2010; 40(3):177-9.
- 107- **Papanicolaou GA, Medeiros AA, Jacoby GA.** Novel plasmid-mediated beta-lactamase (MIR-1) conferring resistance to oxyimino- and alpha-methoxy beta-lactams in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother. 1990;34(11):2200-9.
- 108- **Nordmann P.** Trends in beta-lactam resistance among Enterobacteriaceae. Clin Infect Dis. 1998; 27 Suppl 1:S100-6.

- 109- **Philippon A, Arlet G.** Beta-lactamases of Gram-negative bacteria: never-ending clockwork! *Ann Biol Clin (Paris)*. 2006; 64(1):37–51.
- 110- **Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S.** Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. *Infection* 1983; 11:315—7.
- 111- **Kliebe C, Nies BA, Meyer JF, Tolxdorff-Neutzling RM, Wiedemann B.** Evolution of plasmid-coded resistance to broad-spectrum cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1985; 28: 302—7.
- 112- **Sirost D, Sirost J, Labia R, Morand A, Courvalin P, Darfeuille- Michaud A, et al.** Transferable resistance to third-generation cephalosporins in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae*: identification of CTX-1, a novel beta-lactamase. *J Antimicrob Chemother* 1987; 20:323—34.
- 113- **Philippon A, Labia R, Jacoby G.** Extended-spectrum betalactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989; 33:1131—6.j
- 114- **Jarlier V, Nicolas MH, Fournier G, Philippon A.** Extended broad-spectrum beta-lactamases conferring transferable resistance to newer beta-lactam agents in *Enterobacteriaceae*: hospital prevalence and susceptibility patterns. *Rev Infect Dis* 1988; 10:867—78.
- 115- **Matsumoto Y, Ikeda F, Kamimura T, Yokota Y, Mine Y.** Novel plasmid-mediated beta-lactamase from *Escherichia coli* that inactivates oxyimino-cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1988;32:1243—6.
- 116- **Bauernfeind A, Grimm H, Schweighart S.** A new plasmidic cefotaximase in a clinical isolate of *Escherichia coli*. *Infection* 1990;18:294—8.
- 117- **Bernard H, Tancrede C, Livrelli V, Morand A, Barthelemy M, Labia R.** A novel plasmid-mediated extended-spectrum betalactamase not derived from TEM- or SHV-type enzymes. *J Antimicrob Chemother* 1992;29:590—2.

- 118- **Barthelemy M, Peduzzi J, Bernard H, Tancrede C, Labia R.** Close amino acid sequence relationship between the new plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase MEN- 1 and chromosomally encoded enzymes of *Klebsiella oxytoca*. *Biochim Biophys Acta* 1992;1122:15—22.
- 119- **Ishii Y, Ohno A, Taguchi H, Imajo S, Ishiguro M, Matsuzawa H.** Cloning and sequence of the gene encoding a cefotaxime- hydrolyzing class A beta-lactamase isolated from *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;39: 2269—75.
- 120- **Bauernfeind A, Stemplinger I, Jungwirth R, Ernst S, Casellas JM.** Sequences of beta-lactamase genes encoding CTX-M-1 (MEN-1) and CTX-M-2 and relationship of their amino acid sequences with those of other beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;40:509—13
- 121- **Paterson DL, Bonomo RA.** Extended-spectrum β -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev.* 2005;18(4):657–86.
- 122- **Cattoir V. Les nouvelles beta-lactamases a spectre etendu (BLSE).** Mises au Point en Anesthésie- Réanimation [Internet]. MAPAR editions; 2008. p. 203–9. Available from: [http://www.mapar.org/article/pdf/731/Les%20nouvelles%20b%C3%AAta-lactamases%20%C3%A0%20spectre%20%C3%A9tendu%20\(BLSE\).pdf](http://www.mapar.org/article/pdf/731/Les%20nouvelles%20b%C3%AAta-lactamases%20%C3%A0%20spectre%20%C3%A9tendu%20(BLSE).pdf)
- 123- **Bonnet R.** Growing group of extended-spectrum β -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother.* 2004 Jan;48(1):1–14.
- 124- **Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, et al.** CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother.* 2007;59(2):165–74.
- 125- **Pitout JD, Laupland KB.** Extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis.* 2008 Mar;8(3):159–66.

- 126- Barguigua A, El Otmani F, Talmi M, Bourjilat F, Haouzane F, Zerouali K, et al. Characterization of ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from community in Morocco. *J Med Microbiol* 2011 ; 60 : 1344-52.
- 127- Messai Y, Ibadene H, Benhassine T, Alouache S, Tazir M, Gautier V, et al. Prevalence and characterization of extended-spectrum betalactamases in *Klebsiella pneumoniae* in Algiers hospitals (Algeria). *Pathol Biol (Paris)* 2008 ; 56 : 319-25.
- 128- Elhani D, Bakir L, Aouni M, Passet V, Arlet G, Brisse S, et al. Molecular Epidemiology of extended-spectrum betalactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strains in a university hospital in Tunis, Tunisia, 1999-2005. *Clin Microbiol Infect* 2010 ; 16 : 157-64.
- 129- Duval V, Maiga I, Maiga A, Guillard T, Brasme L, Forte D, et al. High prevalence of CTX-M-type beta-lactamases among clinical isolates of *Enterobacteriaceae* in Bamako, Mali. *Antimicrob Agents Chemother* 2009 3: 4957-8.
- 130- Olowe OA, Grobbel M, Büchter B, Lübke-Becker A, Fruth A, Wieler LH. Detection of *bla*(CTX-M-15) extended-spectrum betalactamase genes in *Escherichia coli* from hospital patients in Nigeria. *Int J Antimicrob Agents* 2010; 35: 206-7
- 131- Gangoue-Pieboji J, Miriagou V, Vourli S, Tzelepi E, Ngassam P, Tzouveleki LS. Emergence of CTX-M-15-producing *Enterobacteriaceae* in Cameroon and characterization of a *bla* CTX-M-15-carrying element. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49 : 441-3.
- 132- Ndugulile F, Jureen R, Harthug S, Urassa W, Langeland N. Extended spectrum beta-lactamases among Gram-negative bacteria of nosocomial origin from an intensive care unit of a tertiary health facility in Tanzania. *BMC Infect Dis* 2005; 5: 86.

- 133- Gray KJ, Wilson LK, Phiri A, Corkill JE, French N, Hart CA. Identification and characterization of ceftriaxone resistance and extended spectrum beta-lactamases in Malawian bacteraemic *Enterobacteriaceae*. *J Antimicrob Chemother* 2006; 57: 661-5.
- 134- Peirano G, Van Greune CH, Pitout JD. Characteristics of infections caused by extended-spectrum betalactamase-producing *Escherichia coli* from community hospitals in South Africa. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 69: 449-53.
- 135- Severin JA, Mertaniasih NM, Kuntaman K, Lestari ES, Purwanta M, Lemmens-Den Toom N, et al. Molecular characterization of extended spectrum beta-lactamases in clinical *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Surabaya, Indonesia. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 465-9
- 136- Feizabadi MM, Mahamadi-Yeganeh S, Mirsalehian A, Mirafshar SM, Mahboobi M, Nili F, et al. Genetic characterization of ESBL producing strains of *Klebsiella pneumoniae* from Tehran hospitals. *J Infect Dev Ctries* 2010; 4: 609-15.
- 137- Hussain M, Hasan F, Shah AA, Hameed A, Jung M, Rayamajhi N, et al. Prevalence of class A and AmpC β -lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates from Pakistan Institute of Medical Science, Islamabad, Pakistan. *Jpn J Infect Dis* 2011 ; 64 : 249-52.
- 138- Shu JC, Chia JH, Kuo AJ, Su LH, Wu TL. A 7-year surveillance for ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* at a university hospital in Taiwan: the increase of CTX-M-15 in the ICU. *Epidemiol Infect* 2010 ; 138 : 253-63
- 139- Kanamori H, Navarro RB, Yano H, Sombrero LT, Capeding MR, Lupisan SP, et al. Molecular characteristics of extended-spectrum beta-lactamases in clinical isolates of *Enterobacteriaceae* from the Philippines. *Acta Trop* 2011 ; 120 : 1405.

- 140- Ruppé E, Hem S, Lath S, Gautier V, Arieu F, Sarthou JL, et al. CTXM beta-lactamases in *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections, Cambodia. *Emerg Infect Dis* 2009; 15 : 741-8.
- 141- Vorobieva V, Naseer U, Bazhukova T, Semenova N, Haldorsen BC, Aasnaes B, et al. Urinary tract isolates of *Enterobacteriaceae* from hospitalized patients in the Arkhangelsk region, Russia : antimicrobial susceptibility and characterization of extended-spectrum beta-lactamases strains. *Scand J Infect Dis* 2010 ; 42 : 797-800.
- 142- Tawfik AF, Alswailem AM, Shibl AM, Al-Agamy MH. Prevalence and Genetic Characteristics of TEM, SHV, and CTX-M in Clinical *Klebsiella pneumoniae* Isolates from Saudi Arabia. *Microb Drug Resist* 2011 ; 17 : 383-8.
- 143- Rotimi VO, Jamal W, Pal T, Sovenned A, Albert MJ. Emergence of CTX-M-15 type extended-spectrum beta-lactamase-producing *Salmonella spp.* in Kuwait and the United Arab Emirates. *J Med Microbiol* 2008 ; 57 : 881-6.
- 144- Vidal-Navarro L, Pfeiffer C, Bouziges N, Sotto A, Lavigne JP. Faecal carriage of multidrug-resistant Gram-negative bacilli during a nonoutbreak situation in a French university hospital. *J Antimicrob Chemother* 2010 ; 65 : 2455-8.
- 145- Mshana SE, Imirzalioglu C, Hossain H, Hain T, Domann E, Chakraborty T. Conjugative IncFI plasmids carrying CTX-M-15 among *Escherichia coli* ESBL producing isolates at a University hospital in Germany. *BMC Infect Dis* 2009 ; 9 : 97.
- 146- Damjanova I, Tóth A, Pászti J, Hajbel-Vékony G, Jakab M, Berta J, et al. Expansion and countrywide dissemination of ST11, ST15 and ST147 ciprofloxacin-resistant CTX-M-15-type beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* epidemic clones in Hungary in 2005-the new 'MRSA's'? *J Antimicrob Chemother* 2008 ; 62 : 978-85.

- 147- Blanco J, Mora A, Mamani R, López C, Blanco M, Dahbi G, et al. National survey of *Escherichia coli* causing extraintestinal infections reveals the spread of drug-resistant clonal groups O25b:H4-B2-ST131, O15:H1-D-ST393 and CGA-D-ST69 with high virulence gene content in Spain. *J Antimicrob Chemother* 2011 ; 66 : 2011-21.
- 148- Markovska R, Schneider I, Keuleyan E, Sredkova M, Ivanova D, Markova B, et al. Continuous spread of *E. coli* producing extended spectrum beta-lactamases CTX-M-3 and CTX-M-15 in Bulgaria from 2002 to 2009: P1255. *Clin Microbiol Infect* 2010 ; 16 : S352.
- 149- Cekanová L, Kolár M, Chromá M, Sauer P, Sedlácková M, Koukalová D. Prevalence of ESBL-positive bacteria in the community in the Czech Republic. *Med Sci Monit* 2009 ; 15 : BR202-206.
- 150- Dedeic-Ljubovic A, Hukic M, Pfeifer Y, Witte W, Padilla E, López-Ramis I, Albertí S. Emergence of CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Bosnia and Herzegovina. *Clin Microbiol Infect* 2010 ; 16 : 152-6.
- 151- Vranic-Ladavac M, Bosnjak Z, Belder N, Barisic N, Kalenic S, Bedenic B. Clonal spread of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* in a Croatian hospital. *J Med Microbiol* 2010 ; 59 : 1069-78.
- 152- Cerquetti M, Giufrè M, García-Fernández A, Accogli M, Fortini D, Luzzi I, et al. Ciprofloxacin-resistant, CTX-M-15-producing *Escherichia coli* ST131 clone in extraintestinal infections in Italy. *Clin Microbiol Infect* 2010 ; 16 : 1555-8
- 153- Van der Bij AK, Peirano G, Goessens WH, Van der Vorm ER, Van Westreenen M, Pitout JD. Clinical and molecular characteristics of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* causing bacteraemia in the Rotterdam area, the Netherlands. *Antimicrob Agents Chemother* 2011 ; 55 : 3576-8

- 154- **Lytsy B, Sandegren L, Tano E, Torell E, Andersson DI, Melhus A.** The first major extended-spectrum beta-lactamase outbreak in Scandinavia was caused by clonal spread of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* producing CTX-M-15. *APMIS* 2008 ; 116 : 302-8.
- 155- **Rodriguez-Villalobos H, Bogaerts P, Berhin C, Bauraing C, Deplano A, Montesinos I, et al.** Trends in production of extended-spectrum bêtalactamases among *Enterobacteriaceae* of clinical interest : results of a nationwide survey in Belgian hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2011 ; 66 : 37-47.
- 156- **Simner PJ, Zhanel GG, Pitout J, Tailor F, McCracken M, Mulvey MR, et al.** Prevalence and characterization of extended-spectrum betalactamase- and AmpC β -lactamase-producing *Escherichia coli* : results of the CANWARD 2007-2009 study. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011 ; 69 : 326-34.
- 157- **Amaya E, Reyes D, Vilchez S, Paniagua M, Möllby R, Nord CE, et al.** Antibiotic resistance patterns of intestinal *Escherichiacoli* isolates from Nicaraguan children. *J Med Microbiol* 2011 ; 60 : 216-22.
- 158- **Garza-González E, Mendoza Ibarra SI, Llaca-Díaz JM, Gonzalez GM.** Molecular characterization and antimicrobial susceptibility of extended- spectrum {beta}-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* isolates at a tertiary-care centre in Monterrey, Mexico. *J Med Microbiol* 2011 ; 60 : 84- 90.
- 159- **Tollentino FM, Polotto M, Nogueira ML, Lincopan N, Neves P, Mamizuka EM, et al.** High prevalence of *bla*(CTX-M) extended spectrum beta-lactamase genes in *Klebsiella pneumoniae* isolates from a tertiary care hospital : first report of *bla*(SHV-12), *bla*(SHV-31), *bla*(SHV-38), and *bla*(CTX-M-15) in Brazil. *Microb Drug Resist* 2011 ; 17 :7-16

- 160- Elhani D, Bakir L, Aouni M. Changement de l'épidémiologie de *Klebsiella pneumoniae* productrice de β -lactamases à spectre élargi. *Ann Biol Clin (Paris)* 2011 ; 69 : 523-9.
- 161- Reinert RR, Low DE, Rossi F, Zhang X, Wattal C, Dowzicky MJ. Antimicrobial susceptibility among organisms from the Asia/Pacific Rim, Europe and Latin and North America collected as part of TEST and the in vitro activity of tigecycline. *J Antimicrob Chemother* 2007 ; 60 : 1018-29.
- 162- Bouchillon SK, Johnson BM, Hoban DJ, Johnson JL, Dowzicky MJ, Wu DH, et al. Determining incidence of extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae*, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 17 countries : the PEARLS study 2001-2002. *Int J Antimicrob Agents* 2004 ; 24 : 119-24.
- 163- Elhani D. Les beta-lactamases a spectre etendu : le defi s'accroît. *Ann Biol Clin (Paris)*. 2012;70(2):117-40.
- 164- Vodovar D, et al. Entérobactéries productrices de bêtalactamases à spectre élargi : épidémiologie, facteurs de risque et mesures de prévention. *Rev Med Interne* (2012), <http://dx.doi.org/10.1016/j.revmed.2012.10.365>
- 165- **European Antimicrobial Resistance Surveillance System**. European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Annual Report 2002 [Internet]. Netherlands: EARSS; 2003 p. 112. Available from: http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARSNet/Documents/2002_EARSS_Annual_Report.pdf
- 166- **European Antimicrobial Resistance Surveillance Network**, European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe : annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), 2011 [Internet]. Stockholm: ECDC; 2012 p.202. Available from:

http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111_SUR_AMR_data.pdf

- 167- **Européen Antimicrobial Resistance Surveillance System.** European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) Annual Report 2005 [Internet]. Netherlands : EARSS; 2006 p. 147. Available from: http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARSNet/Documents/2005_EARSS_Annual_Report.pdf
- 168- **Pitout JD.** Infections with extended-spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae*: changing epidemiology and drug treatment choices. *Drugs* 2010 ; 70 : 313-33.
- 169- **Canton R, Coque TM.** The CTX-M beta-lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006; 9 : 466-75.
- 170- **Randrianirina F, Vedy S, Rakotovo D, Ramarokoto CE, Ratsitohaina H, Carod JF, et al.** Role of contaminated aspiration tubes in nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-2 and CTX-M-15 extended-spectrum beta-lactamases. *J Hosp Infect* 2009 ; 72 : 23-9.
- 171- **Ruiz SJ, Montealegre MC, Ruiz-Garbajosa P, Correa A, Briceño DF, Martinez E, et al.** First Characterization of CTX-M-15-Producing *Escherichia coli* ST131 and ST405 Clones Causing Community-Onset Infections in South America. *J Clin Microbiol* 2011 ; 49 : 1993-6
- 172- **Pallecchi L, Bartoloni A, Fiorelli C, Mantella A, Di Maggio T, Gamboa H, et al.** Rapid dissemination and diversity of CTX-M extended spectrum beta-lactamase genes in commensal *Escherichia coli* isolates from healthy children from low-resource settings in Latin America. *Antimicrob Agents Chemother* 2007 ; 51 : 2720-5.

- 173- Lee MY, Ko KS, Kang CI, Chung DR, Peck KR, Song JH. High prevalence of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* isolates in Asian countries: diverse clones and clonal dissemination. *Int J Antimicrob Agents* 2011; 38 : 160-3.
- 174- Fam N, Leflon-Guibout V, Fouad S, Aboul-Fadl L, Marcon E, Desouky D, et al. CTX-M-15-producing *Escherichia coli* clinical isolates in Cairo (Egypt), including isolates of clonal complex ST10 and clones ST131, ST73, and ST405 in both community and hospital settings. *Microb Drug Resist* 2011 ; 17 : 67-73.
- 175- Ruppé E, Woerther PL, Diop A, Sene AM, Da Costa A, Arlet G, et al. Carriage of CTX-M-15-producing *Escherichia coli* isolates among children living in a remote village in Senegal. *Antimicrob Agents Chemother* 2009 ; 53 : 3135-7.
- 176- Dumpis U, Iversen A, Balode A, Saule M, Miklasevics E, Giske CG. Outbreak of CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* of sequence type 199 in a Latvian teaching hospital. *APMIS* 2010; 118: 713-6.
- 177- Galani I, Souli M, Chryssouli Z, Giamarellou H. Detection of CTX-M-5 and CTX-M-33, a novel variant of CTX-M-15, in clinical *Escherichia coli* isolates in Greece. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 29: 598-600.
- 178- Kariuki S, Revathi G, Corkill J, Kiiru J, Mwituria J, Mirza N, et al. *Escherichia coli* from community-acquired urinary tract infections resistant to fluoroquinolones and extended-spectrum beta-lactams. *J Infect Dev Ctries* 2007; 1: 257-62.
- 179- Naseer U, Haldorsen B, Tofteland S, Hegstad K, Scheutz F, Simonsen GS, et al. Molecular characterization of CTX-M-15-producing clinical isolates of *Escherichia coli* reveals the spread of multidrug-resistant ST131 (O25:H4) and ST964 (O102:H6) strains in Norway. *APMIS* 2009 ; 117 : 526-36.
- 180- Seputiene V, Linkevicius M, Bogdaite A, Povilonis J, Planciūniene R, Giedraitiene A, et al. Molecular characterization of extended-spectrum betalactamase-

- producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from hospitals in Lithuania. *J Med Microbiol* 2010; 59: 1263-5.
- 181- Liu W, Chen L, Li H, Duan H, Zhang Y, Liang X, et al. Novel CTX-M (beta) lactamase genotype distribution and spread into multiple species of *Enterobacteriaceae* in Changsha, Southern China. *J Antimicrob Chemother* 2009 ; 63 : 895-900.
- 182- Hawkey PM, Jones AM. The changing epidemiology of resistance. *J Antimicrob Chemother* 2009 ; 64 : i3-10
- 183- Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, et al. CTX-M : changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007 ; 59 : 165-74.
- 184- Bernard H, Tancrede C, Livrelli V, Morand A, Barthelemy M, Labia R. A novel plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamase not derived from TEM- or SHV-type enzymes. *J Antimicrob Chemother* 1992 ; 29 : 590-2.
- 185- Doucet-Populaire F, Ghnassia JC, Bonnet R, Sirot J. First isolation of CTX-M-3-producing *Enterobacter cloacae* in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2000 ; 44 : 3239-40.
- 186- Lavigne JP, Marchandin H, Delmas J, Moreau J, Bouziges N, Lecaillon E, et al. CTX-M beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in French hospitals: prevalence, molecular epidemiology, and risk factors. *J Clin Microbiol* 2007 ; 45 : 620-6.
- 187- Holstein A, Grillon A, Yzon L, Morange V, Baty G, Lartigue MF, et al. Prévalence des souches d'*Escherichia coli* et de *Klebsiella pneumoniae* productrices de betalactamases à spectre étendu de type CTX-M à l'hôpital Bretonneau (CHRU de Tours). *Pathol Biol (Paris)* 2010 ; 58 : 67-9.

- 188- Giraud-Morin C, Fosse T. Evolution récente et caractérisation des entérobactéries productrices de BLSE au CHU de Nice (2005-2007). *Pathol Biol (Paris)* 2008 ; 56 : 417-23.
- 189- Galas M, Decousser JW, Breton N, Godard T, Allouch PY, Pina P, *et al.* Nationwide study of the prevalence, characteristics, and molecular epidemiology of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in France. *Antimicrob Agents Chemother* 2008; 52: 786-9.
- 190- Arpin C, Quentin C, Grobost F, Cambau E, Robert J, Dubois V, *et al.* Nationwide survey of extended-spectrum {beta}-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* in the French community setting. *J Antimicrob Chemother* 2009; 63: 1205-14.
- 191- Cattoen C. **Bêtalactamases à spectre étendu. 2010.**
- 192- **European Antimicrobial Resistance Surveillance Network**, European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe : annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), 2011 [Internet]. Stockholm: ECDC; 2012 p.202. Available from: http://www.ecdc.europa.eu/en/publications/Publications/1111_SUR_AMR_data.pdf
- 193- Lynch J.P. 3rd, Clark N.M., Zhanel G.G. 2013. Evolution of antimicrobial resistance among *Enterobacteriaceae* (focus on extended spectrum β -lactamases and carbapenemases). *Expert Opinion on Pharmacotherapy*, 14: 199-210.
- 194- Miró E, Mirelis B, Navarro F, Rivera A, Mesa RJ, Roig MC, *et al.* Surveillance of extended-spectrum beta-lactamases from clinical samples and faecal carriers in Barcelona, Spain. *J Antimicrob Chemother* 2005; 56 : 1152-5. *Epidemiology. J Antimicrob Chemother* 2008; 62 : 1142-9.
- 195- Valverde A, Grill F, Coque TM, Pintado V, Baquero F, Cantón R, *et al.* High rate of intestinal colonization with extended-spectrum beta-lactamase-producing

- organisms in household contacts of infected community patients. *J Clin Microbiol* 2008 ; 46 : 2796-9.
- 196- Janvier F, Mérens A, Delaune D, Soler C, Cavallo JD. Portage digestif d'entérobactéries résistantes aux céphalosporines de troisième génération dans une population d'adultes jeunes asymptomatiques : évolution entre 1999-2009. *Pathol Biol (Paris)* 2011; 59 : 97-101.
- 197- Munday CJ, Whitehead GM, Todd NJ, Campbell M, Hawkey PM. Predominance and genetic diversity of community- and hospital-acquired CTX-M extended-spectrum beta-lactamases in York, UK. *J Antimicrob Chemother* 2004; 54 : 628-33.
- 198- Moubareck C, Daoud Z, Hakimé NI, Hamzé M, Mangeney N, Matta H, *et al.* Countrywide spread of community- and hospital-acquired extended-spectrum beta-lactamase (CTX-M-15)-producing *Enterobacteriaceae* in Lebanon. *J Clin Microbiol* 2005; 43 : 3309-13.
- 199- Kader AA, Kumar A, Kamath KA. Fecal carriage of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in patients and asymptomatic healthy individuals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28: 1114-6.
- 200- Hawkey PM. Prevalence and clonality of extended-spectrum bêtalactamases in Asia. *Clin Microbiol Infect* 2008; 14: 159-65.
- 201- Ewers C, Grobbel M, Stamm I, Kopp PA, Diehl I, Semmler T, *et al.* Emergence of human pandemic O25:H4-ST131 CTX-M-15 extendedspectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* among companion animals. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65: 651-60.

- 202- **Rodríguez-Baño J, López-Cerero L, Navarro MD, Díaz de Alba P, Pascual A.** Faecal carriage of extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* : prevalence, risk factors and molecular epidemiology. *J Antimicrob Chemother* 2008; 62: 1142-9.
- 203- **Ben-Ami R, Schwaber MJ, Navon-Venezia S, Schwartz D, Giladi M, Chmelnitsky I, et al.** Influx of extended-spectrum betalactamase- producing *Enterobacteriaceae* into the hospital. *Clin Infect Dis* 2006; 42 : 925-34.
- 204- **Tande D, Boisrame-Gastrin S, Munck MR, Hery-Arnaud G, Gouriou S, Jallot N, et al.** Intrafamilial transmission of extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Salmonella enterica* Babelsberg among the families of internationally adopted children. *J Antimicrob Chemother.* 2010 Mar 16; 65(5):859-65.89
- 205- **Lo W-U, Ho P-L, Chow K-H, Lai EL, Yeung F, Chiu SS.** Fecal carriage of CTXM type extended spectrum beta-lactamase-producing organisms by children and their household contacts. *J Infect.* 2010 avril; 60(4):286-92.
- 206- **Bush K, Jacoby GA, Medeiros AA.** A functional classification scheme for beta-lactamases and its correlation with molecular structure. *Antimicrob Agents Chemother.* 1995 Jun 1; 39(6):1211-33.
- 207- **Bush K.** The ABCD's of β -lactamase nomenclature. *J Infect Chemother.* 2013 Jul 5; 19(4):549-59.
- 208- **Kitzis MD, Billot-Klein D, Goldstein FW, Williamson R, Tran Van Nhieu G, Carlet J, et al.** Dissemination of the novel plasmid-mediated beta-lactamase CTX-1, which confers resistance to broad-spectrum cephalosporins, and its inhibition by beta-lactamase inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother.* 1988; 32(1):9-14.

- 209- **Pitout JDD, Hanson ND, Church DL, Laupland KB.** Population-Based Laboratory Surveillance for *Escherichia coli*-Producing Extended-Spectrum β -Lactamases: Importance of Community Isolates with blaCTX-M Genes. *Clin Infect Dis.* 2004 ; 38(12) :1736–41.
- 210- **Rodríguez-Baño J, Navarro MD, Romero L, Martínez-Martínez L, Muniain MA, Perea EJ, et al.** Epidemiology and clinical features of infections caused by extended-spectrum beta-lactamase producing *Escherichia coli* in non-hospitalized patients. *J Clin Microbiol.* 2004; 42(3):1089–94.
- 211- **Moor CT, Roberts SA, Simmons G, Briggs S, Morris AJ, Smith J, et al.** Extended-spectrum β -lactamase (ESBL)-producing enterobacteria: factors associated with infection in the community setting, Auckland, New Zealand. *Hosp Infect.* 2008 avril ; 68(4) :355–62.
- 212- **Rodriguez-Bano J, Navarro MD, Romero L, Muniain MA, de Cueto M, Rios MJ, et al.** Bacteremia due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. *Clin Infect Dis.* 2006; 43(11):1407–14.
- 213- **Rodriguez-Bano J, Alcalá JC, Cisneros JM, Grill F, Oliver A, Horcajada JP, et al.** Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med.* 2008; 168(17):1897.
- 214- **Rodriguez-Bano J, Picon E, Gijon P, Hernandez JR, Ruiz M, Pena C, et al.** Community-onset bacteremia due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis. *Clin Infect Dis.* 2010; 50(1):40–8.
- 215- **Hsieh C-J, Shen Y-H, Hwang K-P.** Clinical implications, risk factors and mortality following community on set bacteremia caused by extended-spectrum β -lactamase (ESBL) and non-ESBL producing *Escherichia coli*. *J Microbiol Immunol Infect.* 2010 juin;43(3):240–8.90

- 216- Lee J-C, Lee N-Y, Lee H-C, Huang W-H, Tsui K-C, Chang C-M, et al. Clinical characteristics of urosepsis caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* or *Klebsiella pneumonia* and their emergence in the community. *J Microbiol Immunol Infect*. 2012 avril ; 45(2) :127-33.
- 217- Colodner R, Rock W, Chazan B, Keller N, Guy N, Sakran W, et al. Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in non-hospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*. 2004; 23(3):163-7.
- 218- Ben-Ami R, Rodriguez-Bano J, Arslan H, Pitout JDD, Quentin C, Calbo ES, et al. A multinational survey of risk factors for infection with extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in non-hospitalized patients. *Clin Infect Dis*. 2009;49(5):682-90.
- 219- Azap o. K, Arslan H, Şerefhanoglu K, Colakoğlu ş., Erdoğan H, Timurkaynak F, et al. Risk factors for extended-spectrum β -lactamase positivity in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from community acquired urinary tract infections. *Clin Microbiol Infect*. 2010 Feb;16(2):147-51
- 220- Kang C-I, Wi YM, Lee MY, Ko KS, Chung DR, Peck KR, et al. Epidemiology and risk factors of community onset infections caused by extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* strains. *J Clin Microbiol*. 2011 Dec 7 ; 50(2):312-7.
- 221- Siedelman L, Kline S, Duval S. Risk factors for community- and health facility-acquired extendedspectrum β -lactamase-producing bacterial infections in patients at the University of Minnesota Medical Center, Fairview. *Am J Infect Control*. 2012 Nov;40(9):849-53.
- 222- Calbo E, Romani V, Xercavins M, Gomez L, Vidal CG, Quintana S, et al. Risk factors for community on set urinary tract infections due to *Escherichia coli*

- harbouring extended-spectrum β -lactamases. *J Antimicrob Chemother.* 2006 Apr;57(4):780-3.
- 223- **Yang Y-S, Ku C-H, Lin J-C, Shang S-T, Chiu C-H, Yeh K-M, et al.** Impact of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* on the outcome of community-onset bacteremic urinary tract infections. *J Microbiol Immunol Infect.* 2010 juin; 43(3):194-9.
- 224- **Kim B, Kim J, Seo M-R, Wie S-H, Cho YK, Lim S-K, et al.** Clinical characteristics of community acquired acute pyelonephritis caused by ESBL-producing pathogens in South Korea. *Infection.* 2013 Mar 16;
- 225- **Lahlou Amine, M. Chegri, H. L’Kassmi.** Épidémiologie et résistance aux antibiotiques des entérobactéries isolées d’infections urinaire à l’hôpital militaire Moulay-Ismaïl de Meknès. *Antibiotiques* (2009), n°11, pp. 90-96.
- 226- **M.C. El Bouamri, L. Aرسالane, Y. Kamoun, M. Berraha, S. Zouhair.** Evolution récente du profil épidémiologique des entérobactéries uropathogènes productrices de β -lactamases à spectre élargi à Marrakech, Maroc. *Progrès en urologie* (2014) 24, 451-455.
- 227- **A Romli, O Derfoufi, Chbouki Omar, Z Hajjam, M Zouhdi.** Les entérobactéries BLSE des infections urinaires : épidémiologie et résistance. *Maroc Médical*, tome 33 n°1, mars 2011, pp, 12-16.
- 228- **Jarlier V, Arnaud I,** BMR-Raisin groupe de travail. Surveillance des bactéries multirésistantes dans les établissements de santé français-données 2012-. *Saint-Maurice Inst Veill Sanit.* 2014 ;
- 229- **Ho PL, Tsang DN, Que TL, Ho M, Yuen KY.** Comparison of screening methods for detection of extended-spectrum beta-lactamases and their prevalence among *Escherichia coli* and *Klebsiella* species in Hong Kong. *APMIS.* 2000; 108(3):237-40.

- 230- **Djahida S, Drissi M.** Epidémiologie de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries au niveau du C.H.U de Sidi Bel Abbes. Université Abou Bekr Belkaid – Tlemcen- Algérie; 2011.
- 231- **Messai L, Achour W, Ben Hassen A.** [Epidemiological profile of enterobacteria isolated from neutropenic patients]. *Pathol Biol (Paris)*. 2007 ; 55(5):230–4.
- 232- **Nijssen S, Florijn A, Bonten MJ, Schmitz FJ, Verhoef J, Fluit AC.** b-lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European Enterobacteriaceae isolates. *Int J Antimicrob Agents* 2004 ; 24:585—91.
- 233- **Rodríguez-Baño J, Picón E, Gijón P, Hernández JR, Ruíz M, Peña C, et al.** Community-onset bacteremia due to extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli*: risk factors and prognosis. *Clin Infect Dis*. 2010;50(1):40–8.
- 234- **Foulal L, Zouhdi M.** Profil Épidémiologique Des Entérobactéries Sécrétrices De Bêta Lactamases À Spectre Élargi Diagnostiquées Au Sein Du Laboratoire De Microbiologie Du Chu De Rabat. Université Mohammed V- Souissi; 2013.
- 235- **Gupta V, Datta P.** Extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) in community isolates from North India: frequency and predisposing factors. *Int J Infect Dis*. 2007;11(1):88–9.
- 236- **Leotard S, Negrin N.** [Epidemiology of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamase in Grasse Hospital (2005–2008)]. *Pathol Biol (Paris)*. 2010;58(1):35–8.
- 237- **Lagha N, Abdelouahid DA, Hassaine H.** Etude de la résistance aux antibiotiques des entérobactéries productrices de β lactamases à spectre étendu (BLSE) isolées de l'hôpital de Laghouat. Université Abou Bekr Belkaïd Tlemcen ; 2015.
- 238- **Nedjai S, Barguigua A, Djahmi N, Jamali L, Zerouali K, Dekhil M, et al.** Prevalence and characterization of extended spectrum β -lactamases in *Klebsiella*-

- Enterobacter-Serratia group bacteria, in Algeria. *Médecine Mal Infect.* 2012 ; 42(1) :20-9.
- 239- **Rodríguez-Baño J, Alcalá JC, Cisneros JM, Grill F, Oliver A, Horcajada JP, et al.** Community infections caused by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *Arch Intern Med.* 2008 22 ; 168(17) :1897-902.
- 240- **Guðjónsdóttir HB.** Extended spectrum beta-lactamase (ESBL) genotypes in *Escherichia coli* from patients at the Landspítali University Hospital in Iceland from 2006-2012. 2014 ;
- 241- **Behar PRP, Teixeira PJZ, Fachel JMG, Kalil AC.** The effect of control group selection in the analysis of risk factors for extended spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infections. A prospective controlled study. *J Hosp Infect.* 2008 ; 68(2) :123-9.
- 242- **Garner JS, Jarvis WR, Emori TG, Horan TC, Hughes JM.** CDC definitions for nosocomial infections, 1988. *Am J Infect Control.* 1988 ; 16(3) :128-40.
- 243- **Infections urinaires nosocomiales de l'adulte, Texte long.** *Médecine Mal Infect.* 2003 ; 33:223-44.
- 244- **Lefort A, Nicolas-Chanoine M-H.** Les entérobactéries productrices de β -lactamases à spectre étendu (BLSE) et les céphalosporines de troisième génération en 2012. *J des Anti-infectieux.* 2012 ; 14(2) :51-7.
- 245- **Carlet J.** Risque infectieux en réanimation : gestion et prévention. Masson ; 2002.223 p.
- 246- **Ang JY, Ezike E, Asmar BI.** Antibacterial resistance. *Indian J Pediatr.* 2004 ; 71(3) :229-39.
- 247- **Pitout JDD, Laupland KB.** Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis.* 2008 ; 8(3) :159-66.

- 248- **Asensio A, Oliver A, Gonzalez-Diego P, Baquero F, Perez-Diaz JC, Ros P, et al.** Outbreak of a multiresistant *Klebsiella pneumoniae* strain in an intensive care unit: antibiotic use as risk factor for colonization and infection. *Clin Infect Dis* 2000; 30:55-60.
- 249- **Pena C, Pujol M, Ricart A, Ardunauy C, Ayats J, Linares J, et al.** Risk factors for faecal carriage of *Klebsiella pneumoniae* producing extended spectrum β -lactamase (ESBL-KP) in the intensive care unit. *J Hosp Infect* 1997, 35:9-16
- 250- **Lauchtenbach E, Patel JB, Bilker WB, Edelstein PH, Fishman NO.** Extended-spectrum β -lactamases-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis* 2001; 32: 1162-1171
- 251- **Jones RN, Pfaller MA.** Antimicrobial activity against strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp with resistance phenotypes consistent with an extended-spectrum β -lactamase in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2003; 9:708-12.
- 252- **Fouquet M, Morange V, Bruyère F.** Évolution sur cinq ans des infections à germes produisant une β -lactamase à spectre étendu. *Prog Urol* 2012 ; 22:17-21.
- 253- **Ben Haj Khalifa A, Khedher M.** Épidémiologie des souches de *Klebsiella* spp. uropathogènes productrices de β -lactamases à spectre élargi dans un hôpital universitaire Tunisien. *Pathol Biol* 2009, In Press, Corrected Proof, Available online 8 December 2010
- 254- **Paterson DL.** Resistance in Gram-negative bacteria: enterobacteriaceae. *Am J Med.* 2006 ; 119(6 Suppl 1):S20-8; discussion S62-70.
- 255- **Chevet K, Guyot K, Mellon G, Vidal B, Couzigou C, Misset B, et al.** [Phenotypic detection of carbapenemase associated with extended-spectrum β -lactamase in *Klebsiella pneumoniae*]. *Médecine Mal Infect.* 2012;42(1):33-5.

- 256- Pasteran FG, Otaegui L, Guerriero L, Radice G, Maggiora R, Rapoport M, et al. *Klebsiella pneumoniae* Carbapenemase-2, Buenos Aires, Argentina. *Emerg Infect Dis*. 2008;14(7):1178–80.
- 257- Nordmann P, Mammeri H. Résistance plasmidique aux quinolones. *Antibiotiques* 2007 ; 9:246—53.
- 258- Martinez-Martinez L, Pascual A, Jacoby GA. Quinolone resistance from a transferable plasmid. *Lancet* 1998;351: 797—9.
- 259- Mammeri H, Van De Loo M, Poirel L, Martinez-Martinez L, Nordmann P. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe. *Antimicrob Agents Chemother* 2005; 49:71—6.
- 260- Robicsek A, Jacoby GA, Hooper DC. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance. *Lancet Infect Dis* 2006; 6:629—40.
- 261- Park CH, Robicsek A, Jacoby GA, Sahm D, Hooper DC. Prevalence in the United States of *aac(6′)-Ib-cr* encoding a ciprofloxacin-modifying enzyme. *Antimicrob Agents Chemother* 2006; 50:3953—5.
- 262- Yamane K, Wachino J, Suzuki S, Kimura K, Shibata N, Kato H. New plasmid-mediated fluoroquinolone efflux pump, *QepA*, found in an *Escherichia coli* clinical isolate. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51:3354—60.
- 263- N.S.M. Hailaji a, M.L. Ould Salema,*,b, S.M. Ghabera,c Sensitivity to antibiotics uropathogens bacteria in Nouakchott Mauritania
<http://dx.doi.org/10.1016/j.purol.2016.04.004>