

**THESE**  
**pour le**  
**DIPLOME D'ETAT**  
**DE DOCTEUR EN PHARMACIE**  
**par**  
**Guillaume BREMENT**

-----  
*Présentée et soutenue publiquement le 22 octobre 2009*

**Emergence des bêta-lactamases à spectre étendu (BLSE)  
en milieu communautaire :  
impact sur la prise en charge des patients**

Président : Mme Françoise BALLEREAU, Professeur de Santé  
Publique, Pharmacie Clinique et Epidémiologie  
Faculté de Pharmacie de Nantes

Membres du jury : Mme Nathalie CAROFF, Maître de conférences  
de Bactériologie

Faculté de Pharmacie de Nantes

M. Stéphane CORVEC, Praticien hospitalier, Maître  
de conférences de Bactériologie  
Faculté de Médecine de Nantes

M. Marc PAHUD, Pharmacien d'officine à Nante

# SOMMAIRE

<b>LISTE DES FIGURES .....</b>	<b>- 4 -</b>
<b>LISTE DES TABLEAUX .....</b>	<b>- 5 -</b>
<b>LISTES DES ABREVIATIONS.....</b>	<b>- 6 -</b>
<b>INTRODUCTION.....</b>	<b>- 7 -</b>
<b>PARTIE I : INTRODUCTION A LA RESISTANCE BACTERIENNE AUX <math>\beta</math>-LACTAMINES .....</b>	<b>- 10 -</b>
I) HISTORIQUE.....	- 11 -
II) MECANISME D'ACTION DES $\beta$ -LACTAMINES.....	- 11 -
1- <i>La paroi bactérienne</i> .....	- 11 -
a) La paroi des bactéries à Gram positif .....	- 12 -
b) La paroi des bactéries à Gram négatif .....	- 12 -
2- <i>La synthèse du peptidoglycane</i> .....	- 14 -
a) Structure générale.....	- 14 -
b) Synthèse .....	- 14 -
3- <i>Pharmacologie des <math>\beta</math>-lactames</i> .....	- 16 -
a) Analogie structurale des $\beta$ -lactamines avec le substrat des PLP.....	- 16 -
b) Inactivation définitive des PLP .....	- 16 -
III) MECANISMES DE RESISTANCE AUX $\beta$ -LACTAMINES .....	- 18 -
1- <i>Modification de la perméabilité membranaire</i> .....	- 18 -
a) Par modification des porines .....	- 18 -
b) Par mécanisme actif : les pompes à efflux.....	- 18 -
2- <i>Modification de la cible : les PLP</i> .....	- 19 -
3- <i>Résistance par mécanisme enzymatique : les <math>\beta</math>-lactamases</i> .....	- 19 -
a) Définition .....	- 19 -
b) Classification des $\beta$ -lactamases .....	- 19 -
c) Mécanisme d'action.....	- 20 -
<b>PARTIE II : LES <math>\beta</math>-LACTAMASES A SPECTRE ETENDU (BLSE) .....</b>	<b>- 22 -</b>
I) LES $\beta$ -LACTAMASES A SPECTRE ETENDU (BLSE).....	- 23 -
1- <i>Définitions</i> .....	- 23 -
2- <i>Les différents types de BLSE</i> .....	- 23 -
a) Les $\beta$ -lactamases TEM .....	- 23 -
b) Les $\beta$ -lactamases SHV .....	- 24 -
c) Les $\beta$ -lactamases CTX-M.....	- 24 -
3- <i>Classification et origine génétique des CTX-M</i> .....	- 25 -
a) Classification des CTX-M en dendroGramme.....	- 25 -
b) Support génétique des CTX-M.....	- 27 -
c) Origine des CTX-M.....	- 28 -
II) PROPRIETES ET RELATION STRUCTURE-ACTIVITE DES CTX-M .....	- 31 -
1- <i>Caractéristiques biochimiques</i> .....	- 31 -
2- <i>Relation structure-activité</i> .....	- 31 -
a) Structure générale des CTX-M.....	- 31 -
b) Mécanisme d'action général des CTX-M.....	- 33 -
c) Des différences de spectre d'action .....	- 36 -
d) Conséquence de la substitution Asp240→Gly.....	- 36 -
<b>PARTIE III : EPIDEMIOLOGIE DES BLSE : EMERGENCE ET DISSEMINATION MONDIALE . - 41 -</b>	
I) EMERGENCE ET EVOLUTION DES BLSE .....	- 42 -
1- <i>Années 80 : l'apparition d'un nouveau type d'enzyme</i> .....	- 42 -
a) La découverte des BLSE .....	- 42 -
b) <i>K. pneumoniae</i> : un hôte majoritaire .....	- 42 -
c) Des infections nosocomiales essentiellement .....	- 42 -
2- <i>Années 90 : émergence d'un nouveau type de BLSE, les CTX-M</i> .....	- 43 -
a) Découverte des premières CTX-M.....	- 43 -
b) Apparition de <i>E. coli</i> producteurs de BLSE.....	- 43 -
c) Les CTX-M : des BLSE communautaires .....	- 43 -

II) LA SITUATION EPIDEMIOLOGIQUE ACTUELLE .....	- 47 -
1- Dans le monde.....	- 47 -
2- En France.....	- 52 -
a) Dans les hôpitaux .....	- 52 -
b) En communautaire .....	- 52 -
3- A Nantes .....	- 54 -
III) LA DISSEMINATION DES CTX-M .....	- 56 -
1- Les animaux : réservoirs et vecteurs de dissémination des CTX-M.....	- 56 -
a) Généralités.....	- 56 -
b) Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire .....	- 58 -
c) Les CTX-M isolées chez les animaux .....	- 60 -
d) Facteurs favorisant la transmission de résistances bactériennes entre homme et animal.....	- 61 -
e) Transmission homme ↔ animal .....	- 63 -
2- Les hommes : porteurs sains et mobilité géographique .....	- 65 -
a) Le portage sain de bactéries productrices de CTX-M.....	- 65 -
b) Le rôle du voyage dans la contamination par des bactéries productrices de BLSE .....	- 66 -
<b>PARTIE IV : LA PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE DES INFECTIONS A BACTERIES</b>	
<b>PRODUCTRICES DE BLSE.....</b>	<b>- 67 -</b>
I) DETECTION DES BLSE AU LABORATOIRE .....	- 68 -
1- Les sites de prélèvements .....	- 68 -
2- Les méthodes de détection des BLSE.....	- 69 -
a) Les antibiotiques testés.....	- 69 -
b) Le test de double diffusion sur gélose .....	- 69 -
c) Les bandelettes E-Test .....	- 69 -
d) Les disques imprégnés .....	- 70 -
II- LES CORESISTANCES .....	- 73 -
1- Un support essentiel : le plasmide .....	- 73 -
2- Des taux élevés de corésistance .....	- 73 -
3- Le lien entre corésistance et BLSE .....	- 75 -
III) LES FACTEURS DE RISQUE D'INFECTION .....	- 76 -
1- Le sexe des patients .....	- 76 -
2- L'âge des patients .....	- 76 -
3- Les antécédents d'hospitalisation .....	- 76 -
4- Les antécédents médicaux .....	- 76 -
5- Les antécédents d'antibiothérapie .....	- 77 -
IV) LES TRAITEMENTS .....	- 78 -
1- La pathogénicité des souches productrices de CTX-M .....	- 78 -
2- Le traitement antibiotique des infections à germes producteurs de BLSE à l'hôpital.....	- 79 -
a) Les carbapénèmes : des molécules de choix.....	- 79 -
b) La tigécycline .....	- 82 -
3- Activités des autres antibiotiques .....	- 83 -
a) Les aminosides .....	- 83 -
b) L'association $\beta$ -lactamine / inhibiteur de $\beta$ -lactamase.....	- 83 -
c) Les céphalosporines de 3 <sup>ème</sup> génération (C3G).....	- 84 -
d) Les céphalosporines de 4 <sup>ème</sup> génération (C4G).....	- 85 -
4- La prise en charge des infections à BLSE en médecine communautaire.....	- 85 -
a) Les nitrofuranes .....	- 85 -
b) La fosfomycine.....	- 86 -
<b>CONCLUSION.....</b>	<b>- 88 -</b>
<b>REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES.....</b>	<b>- 89 -</b>

## Liste des figures

Figure 1 : Représentation schématique de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif.....	- 14 -
Figure 2 : Etapes de la synthèse du peptidoglycane.....	- 16 -
Figure 3 : Inactivation d'une PLP par une $\beta$ -lactamine.....	- 18 -
Figure 4 : Mécanisme d'action d'une $\beta$ -lactamase de type sérine-enzyme.....	- 22 -
Figure 5 : Dendrogramme de classification des CTX-M.....	- 27 -
Figure 6 : Structure générale des CTX-M.....	- 33 -
Figure 7 : Interactions moléculaires entre le céfotaxime et l'enzyme Toho-1.....	- 36 -
Figure 8 : Interactions moléculaires du céfotaxime avec les CTX-M.....	- 36 -
Figure 9 : Structures chimiques du céfotaxime et de la ceftazidime.....	- 39 -
Figure 10 : Double conformation du céfotaxime lors de sa liaison aux CTX-M.....	- 39 -
Figure 11 : Superposition des CTX-M-9, CTX-M-16, TEM-1 et Toho-1 lors de l'interaction avec le céfotaxime ou la ceftazidime.....	- 40 -
Figure 12 : Etapes de l'évolution épidémiologique des BLSE.....	- 46 -
Figure 13 : Prévalence (%) des BLSE isolées par espèces de bactéries à l'AP-HP entre 2001 et 2005 dans les services de longue durée.....	- 47 -
Figure 14 : Proportion des BLSE communautaires produites par <i>E. coli</i> dans la région de Calgary (Canada) de Mai 2004 à Avril 2006.....	- 47 -
Figure 15 : Situation épidémiologique mondiale des CTX-M.....	- 50 -
Figure 16 : <i>K. pneumoniae</i> résistantes aux C3G en 2007.....	- 52 -
Figure 17 : <i>E. coli</i> résistants aux C3G en 2007.....	- 52 -
Figure 18 : Évolution de 1996 à 2007 à l'AP-HP du taux d'attaque pour 100 admissions.....	- 54 -
Figure 19 : Isolats produisant des CTX-M entre 2001 et 2007 au CHU de Nice.....	- 54 -
Figure 20 : Evolution épidémiologique des bactéries productrices de BLSE isolées au CHU de Nantes entre 2005 et 2008.....	- 56 -
Figure 21 : Voies de dissémination des bactéries entre l'homme et l'animal.....	- 58 -
Figure 22 : Echange de résistances bactériennes entre l'homme et l'animal.....	- 63 -
Figure 23 : Mise en évidence d'une BLSE par la méthode de double diffusion sur gélose: on observe une synergie d'action de type « bouchon de champagne » entre la ceftazidime et l'acide clavulanique.....	- 72 -
Figure 24 : Mise en évidence d'une BLSE par bandelette E-Test®.....	- 72 -
Figure 25 : Mise en évidence d'une BLSE par la méthode des disques imprégnés : les diamètres d'inhibition de croissance sont plus importants en présence de l'inhibiteur de $\beta$ -lactamase.....	- 73 -

## Liste des tableaux

Tableau I :	Espèces de <i>Kluyvera</i> sécrétrices de $\beta$ -lactamases.....	- 30 -
Tableau II :	Epidémiologie des BLSE isolées au CHU de Nantes entre 2005 et 2008.....	- 56 -
Tableau III :	Antibiotiques bénéficiant d'une A.M.M. chez l'homme et l'animal.....	- 60 -
Tableau IV :	Taux de résistance des Entérobactéries productrices de BLSE : étude espagnole réalisée sur 285 entérobactéries entre 1989 et 2004.....	- 75 -
Tableau V :	Résultats de l'étude TEST.....	- 75 -
Tableau VI :	Phénotype de résistance des bactéries productrices et non-productrices de BLSE (étude TEST).....	- 76 -
Tableau VII :	Sensibilité aux céphalosporines à large spectre et aux carbapénèmes des <i>E. coli</i> et des <i>K. pneumoniae</i> suivant les régions du monde.....	- 82 -

## Listes des abréviations

ADN :	Acide DésoxyriboNucléique
APE :	Antimicrobial Promoting Enhancers
AP-HP :	Assistance Publique des Hôpitaux de Paris
BLSE :	Béta-Lactamase à Spectre Etendu
CAZ :	Cefatizidime
CTX :	Céfotaxime
C3G :	Céphalosporine de 3 <sup>ème</sup> génération
C4G :	Céphalosporine de 4 <sup>ème</sup> génération
EARSS :	European Antimicrobial Resistance Surveillance System
IBL :	Inhibiteur de $\beta$ -Lactamase
MYSTIC :	Meropenem Yearly Suceptibilty Test Information Collection
NAG :	<i>N</i> -Acétyl Glucosamine
NAM :	<i>N</i> -Acétyl Muramique
ONERBA :	Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques
PLP :	Protéine Liant les Pénicillines
SARM :	<i>Staphylococcus aureus</i> Résistant à la Méthicilline
TEST :	Tigecycline Evaluation and Surveillance Trials

# **INTRODUCTION**

Les antibiotiques c'est pas automatique ! Ce slogan de la campagne pour le bon usage des antibiotiques en France est la conséquence d'un phénomène inquiétant devenu un enjeu de santé publique : le développement important de bactéries multirésistantes.

Le phénomène n'est pas nouveau puisque c'est en 1940 que la première pénicillinase, une enzyme capable d'inhiber l'action de la pénicilline, a été découverte. Depuis, les bactéries n'ont eu de cesse de s'adapter aux nouveaux antibiotiques et il en résulte l'émergence de nouvelles bactéries dites multirésistantes. Parmi elles, les Staphylocoques dorés résistants à la méthicilline (SARM) sont les plus fréquemment retrouvés en milieu hospitalier.

Mais restreindre le problème de la résistance bactérienne aux infections nosocomiales serait imprudent. En effet, les bactéries multirésistantes sont également retrouvées en médecine dite communautaire, c'est-à-dire en ville. L'isolement de Pneumocoques résistants à la pénicilline et à l'érythromycine responsables d'otites moyennes aiguës chez l'enfant est bien connu et illustre ce phénomène.

Depuis les années 2000, un nouveau type de résistance communautaire du à de nouvelles enzymes dénommées CTX-M émerge et se dissémine de façon préoccupante.

Découvertes pour la première fois en Europe en 1989, les CTX-M appartiennent à la famille des  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE). Les BLSE sont connues depuis les années 1980. Il s'agit d'enzymes capables d'hydrolyser les céphalosporines à large spectre ainsi que les monobactames mais qui sont inactives sur les céphamycines et les carbapénèmes et sensibles à l'action des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases tels que l'acide clavulanique. A l'origine, la plupart des BLSE dérivait de  $\beta$ -lactamases de type TEM et SHV et étaient rencontrées uniquement en milieu hospitalier.

Les bactéries productrices de CTX-M sont diverses mais c'est *Escherichia coli* qui est le plus fréquemment isolé. Responsables le plus souvent d'infections urinaires en médecine de ville, les *E. coli* producteurs de CTX-M sont souvent multirésistants, notamment aux fluoroquinolones, et le problème de la prise en charge se pose lorsque l'arsenal antibiotique disponible en ville n'est plus suffisant. En effet, le support plasmidique des gènes de résistance de type *bla*<sub>CTX-M</sub> permet non seulement la dissémination rapide mais également le transfert de multiples gènes de résistance.

Les objectifs de cette étude sont multiples. Il s'agit tout d'abord de mettre en évidence la diversité des CTX-M et la conséquence des modifications de leur structure sur leur spectre

d'action. Dans un deuxième temps, il s'agira de comprendre par quels mécanismes ces enzymes ont pu émerger si rapidement et par quels vecteurs elles ont pu se disséminer sur l'ensemble de la planète. Enfin, les conséquences cliniques de l'émergence des CTX-M seront étudiées.

**PARTIE I : INTRODUCTION A LA RESISTANCE  
BACTERIENNE AUX  $\beta$ -LACTAMINES**

## **I) Historique**

La résistance bactérienne aux pénicillines par production de  $\beta$ -lactamases remonte au début des années 1940, c'est-à-dire peu après les premières utilisations en médecine humaine des pénicillines.

En effet, dès 1944 la première souche de *Staphylococcus aureus* productrice d'une pénicillinase est décrite.

En 1955, les premières céphalosporinases naturelles, hydrolysant alors des céphalosporines de 1<sup>ère</sup> génération, sont mises en évidence chez diverses espèces de bacilles à Gram négatif.

Durant les décennies suivantes ces phénomènes de résistance vont se développer très rapidement et de nouveaux types de  $\beta$ -lactamases vont faire leur apparition. Leurs spectres d'action, c'est-à-dire la diversité d'antibiotiques qu'elles sont capables d'inactiver, s'élargissent alors considérablement jusqu'à aboutir à la formation de  $\beta$ -lactamases dites à spectre étendu.

## **II) Mécanisme d'action des $\beta$ -lactamines**

Les antibiotiques appartenant à la classe des  $\beta$ -lactamines exercent une action bactéricide en inhibant la synthèse du peptidoglycane qui est un élément majeur de la paroi bactérienne [1,2].

Ce blocage s'effectue par inhibition d'enzymes spécifiques localisées sur la partie externe de la membrane cytoplasmique des bactéries. Les  $\beta$ -lactamines doivent donc pénétrer à l'intérieur de la bactérie pour exercer leur action.

### **1- La paroi bactérienne**

Il s'agit d'une enveloppe rigide qui recouvre la membrane cytoplasmique et assure donc l'intégrité de la cellule bactérienne. Son rôle est de protéger la bactérie vis-à-vis du milieu extérieur et d'assurer les échanges nécessaires à sa survie.

Le peptidoglycane est dans tous les cas un constituant majeur mais la structure en elle-même diffère selon qu'il s'agit d'une bactérie à Gram positif ou à Gram négatif [1,3].

Cette différence de structure est à l'origine des différences de perméabilité aux  $\beta$ -lactamines.

### **a) La paroi des bactéries à Gram positif**

Les bactéries à Gram positif n'ont qu'une seule membrane : la membrane plasmique (ou cytoplasmique). Au dessus de celle-ci, on trouve la paroi bactérienne, assez épaisse, essentiellement constituée du peptidoglycane (figure 1) [3]. Celui-ci est organisé en une structure très stratifiée qui possède une porosité assez importante.

Cette porosité membranaire confère une perméabilité aux agents extérieurs assez importante et beaucoup de substances protéiques ou moléculaires telles que les antibiotiques peuvent pénétrer assez facilement [1,3].

### **b) La paroi des bactéries à Gram négatif**

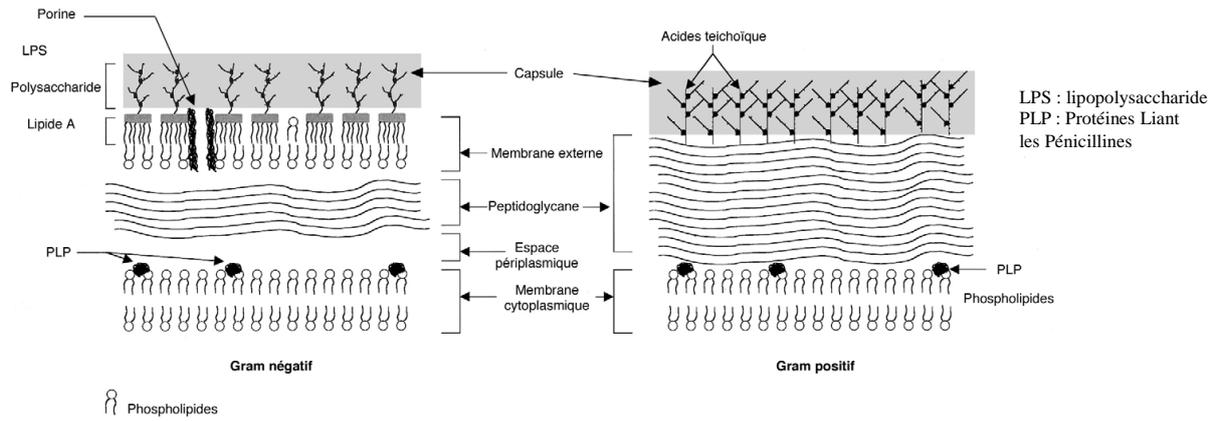
La différence majeure avec les Gram positif est la présence d'une membrane externe recouvrant le peptidoglycane. Celle-ci est constituée de phospholipides et assure une barrière de perméabilité vis-à-vis des agents extérieurs et limite notamment la pénétration des  $\beta$ -lactamines [3].

En effet, si on regarde de plus près la conformation de la membrane externe on constate qu'elle est organisée en un double feuillet de phospholipides hydrophobes (figure 1).

Les  $\beta$ -lactamines étant des molécules essentiellement hydrophiles leur pénétration par simple diffusion est donc très limitée [1,3].

C'est en fait par le biais de canaux protéiques appelés porines qu'elles vont pouvoir pénétrer dans la cellule bactérienne et rejoindre la membrane plasmique pour exercer leur action.

Ces porines sont enchâssées dans la membrane externe et jouent un rôle de filtre en ne laissant passer que des molécules de taille limitée. Leur rôle est de permettre la diffusion des éléments nutritifs nécessaires à la survie de la bactérie [1,3].



**Figure 2: Représentation schématique de la paroi des bactéries à Gram négatif et à Gram positif [1]**

## **2- La synthèse du peptidoglycane**

### **a) Structure générale**

Le peptidoglycane est constitué de chaînes de polysaccharides alternant des groupements d'acide *N*-acétyl muramique (NAM) et des groupements de *N*-acétyl glucosamine (NAG). Ces différents groupements polysidiques sont reliés entre eux par des chaînes de tétrapeptides et confèrent alors sa structure au peptidoglycane [1,3].

### **b) Synthèse**

Lors de la synthèse du peptidoglycane, deux enzymes essentielles vont intervenir (figure 2) :

- une transglycosylase : elle permet la création des chaînes polysaccharidiques
- une transpeptidase : elle permet de lier les différentes chaînes polysaccharidiques entre elles

Une dernière enzyme intervient dans la régulation de la synthèse du peptidoglycane : une carboxypeptidase. Celle-ci permet de limiter cette synthèse et donc *in fine* de réguler l'épaisseur de la couche de peptidoglycane [1,3].

Les transpeptidases et carboxypeptidases sont insérées dans la membrane cytoplasmique et constituent les cibles d'action des  $\beta$ -lactamines.

Elles sont le plus souvent nommées PLP, c'est-à-dire Protéines Liant les Pénicillines.

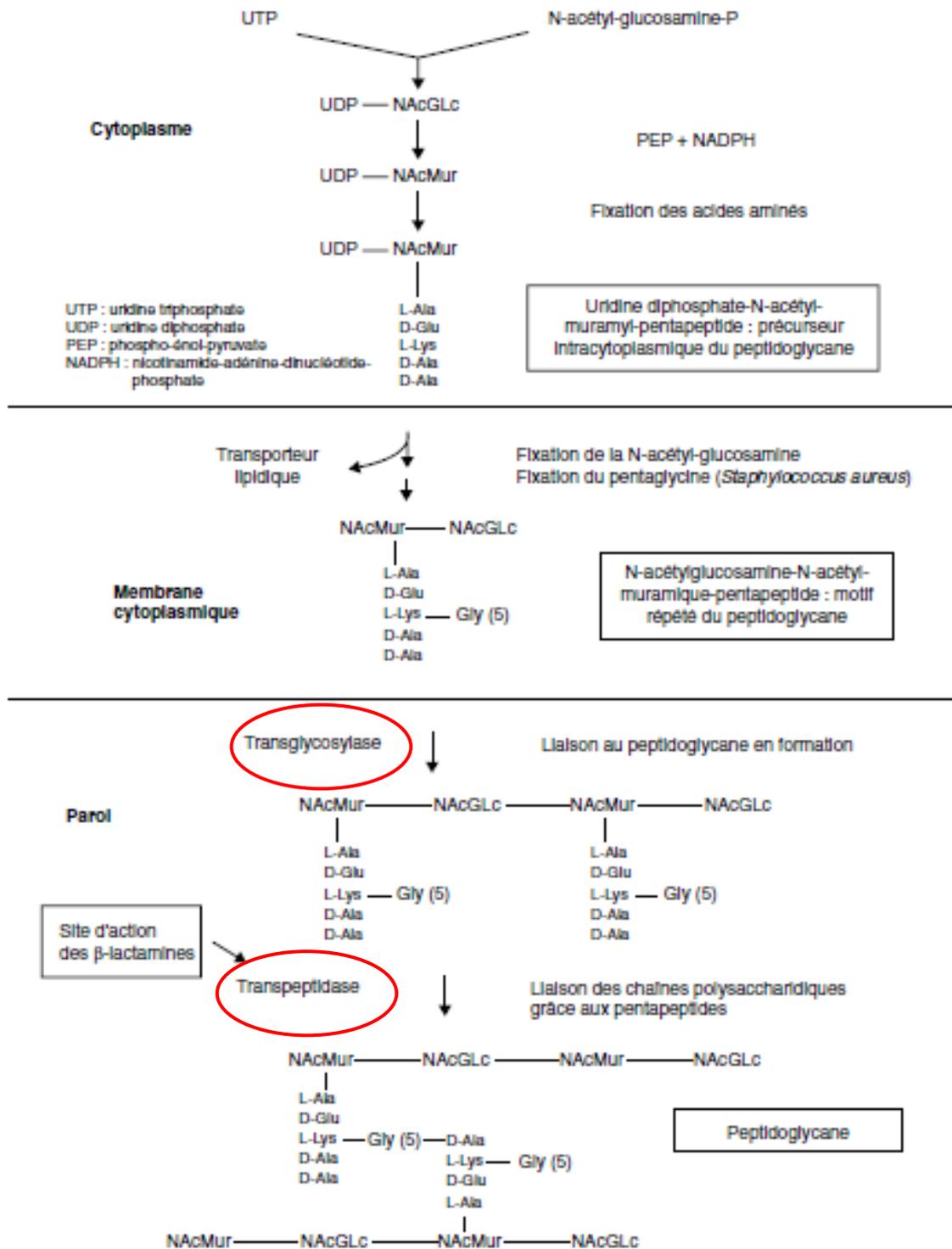


Figure 2 : Etapes de la synthèse du peptidoglycane [1]

### **3- Pharmacologie des $\beta$ -lactames**

#### **a) Analogie structurale des $\beta$ -lactamines avec le substrat des PLP**

Les substrats de la transpeptidase sont les chaînes polysaccharidiques du peptidoglycane en formation. Celles-ci viennent se lier par l'intermédiaire d'un dipeptide D-Ala-D-Ala situé à leur extrémité.

La liaison des  $\beta$ -lactamines aux PLP s'expliquerait par une analogie structurale entre ce dipeptide et le cycle  $\beta$ -lactame [1,2,4].

#### **b) Inactivation définitive des PLP**

Les  $\beta$ -lactamines sont reconnues par le site actif des PLP qui contient généralement une sérine.

L'antibiotique se fixe dans un premier temps de manière non-covalente à la transpeptidase (formation du complexe de Michaelis). Il se produit alors une réaction via le groupement hydroxyle libre de la PLP qui aboutit à l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactame et à la formation d'un complexe covalent (figure 3).

Cette fixation est irréversible et entraîne donc l'inactivation définitive de la PLP et par conséquent l'inhibition de la synthèse du peptidoglycane [1,4].

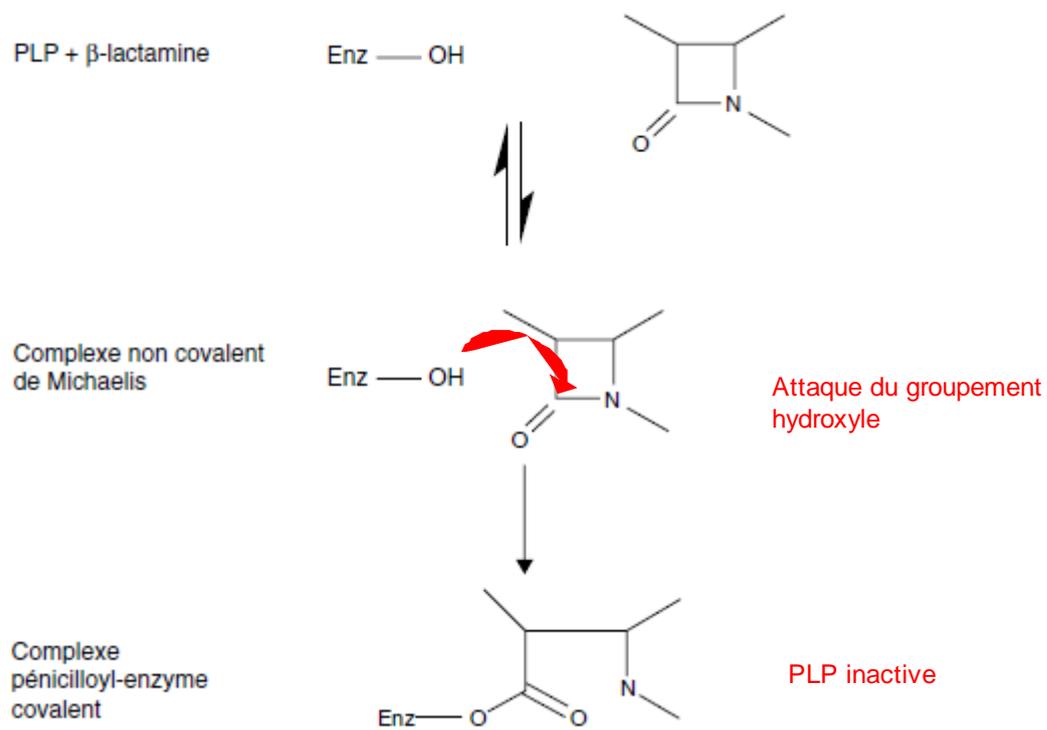


Figure 3 : Inactivation d'une PLP par une  $\beta$ -lactamine [1]

### **III) Mécanismes de résistance aux $\beta$ -lactamines**

Il existe trois principaux mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines [1,4]:

- la diminution de la perméabilité membranaire
- la modification des cibles d'action de l'antibiotique
- la résistance par mécanismes enzymatiques

#### **1- Modification de la perméabilité membranaire**

##### **a) Par modification des porines**

C'est un mécanisme de résistance que l'on retrouve uniquement chez les bactéries à Gram négatif. Il est la conséquence d'une mutation génétique qui affecte les porines soit par des modifications structurales soit par une diminution importante de leur nombre.

Ainsi, les  $\beta$ -lactamines ne peuvent plus pénétrer ou bien en quantité insuffisante dans la bactérie et leur action se trouve alors bloquée [1].

Chez les bactéries à Gram positif, la pénétration ne se fait que par simple diffusion membranaire, ce type de résistance n'est donc pas rencontrée. Néanmoins une modification du taux de lipides membranaires peut tout de même limiter la pénétration des  $\beta$ -lactamines mais sans pour autant entraîner une inactivité complète [1].

##### **b) Par mécanisme actif : les pompes à efflux**

Ce type de résistance peut se retrouver chez toutes les bactéries.

Par mutation, la bactérie surexprime des systèmes d'efflux agissant comme des pompes et qui permettent de rejeter les molécules antibiotiques dans le milieu extérieur : dans ce cas, il y a donc bien eu pénétration de l'antibiotique au sein de la bactérie mais il n'y aura pas de liaison aux PLP [1].

## **2- Modification de la cible : les PLP**

Au sein d'une bactérie il existe différents types de PLP. Les  $\beta$ -lactamines n'ont pas pour cible toutes ces PLP mais seulement certaines pour lesquelles leur affinité est très importante.

La bactérie possède donc deux moyens pour bloquer l'action antibiotique :

- par mutation génétique, il peut y avoir modification de la structure des PLP cibles entraînant alors une baisse de l'affinité des  $\beta$ -lactamines et donc une diminution de l'action antibiotique.
- la bactérie peut également réorganiser son fonctionnement en substituant l'action des PLP de grande affinité par d'autres PLP pour lesquelles les  $\beta$ -lactamines n'ont qu'un faible pouvoir de liaison : dans ce cas il y aura bien fixation de l'antibiotique aux PLP mais les conséquences sur la synthèse de la paroi bactérienne seront minimales.

## **3- Résistance par mécanisme enzymatique : les $\beta$ -lactamases**

### **a) Définition**

Les  $\beta$ -lactamases sont des enzymes produites en grande quantité par la bactérie dans le but d'inactiver l'action des  $\beta$ -lactamines.

Ces enzymes peuvent être constitutives de l'espèce, acquises à partir d'autres bactéries ou bien induites par diverses pressions de sélection et notamment l'exposition fréquente aux antibiotiques.

### **b) Classification des $\beta$ -lactamases**

De nombreuses classifications existent mais deux sont plus particulièrement utilisées [1,4] :

- La classification de Ambler : elle repose sur la structure même de l'enzyme et la séquence en acides aminés de son site actif. Elle distingue 4 classes nommées de A

à D. Les classes A, C et D sont des sérine-enzymes tandis que la classe B regroupe les métalloenzymes dont le site actif est une cystéine.

- La classification de Bush, Jacoby et Medeiros : c'est une classification fonctionnelle qui repose sur la nature des substrats et le spectre d'inhibition de l'enzyme.

### **c) Mécanisme d'action**

Deux types de mécanismes peuvent être distingués selon qu'il s'agit d'une sérine-enzyme ou bien d'une métalloenzyme.

Nous ne détaillerons ici que le mécanisme des BLSE c'est-à-dire celui des sérine-enzymes.

Les  $\beta$ -lactamases exercent leur action dans l'espace périplasmique de la cellule bactérienne en inactivant l'antibiotique par ouverture de son cycle  $\beta$ -lactame.

Le mécanisme est du même type que lors de la fixation de l'antibiotique aux PLP. En effet, dans un premier temps il y a formation d'une complexe non covalent de Michaelis, puis attaque d'une groupement hydroxyle entraînant l'ouverture du cycle  $\beta$ -lactame et donc l'inactivation de l'antibiotique.

Seule la dernière phase est distincte puisque par simple hydrolyse la  $\beta$ -lactamase est régénérée et peut donc de nouveau exercer son action alors que l'antibiotique reste définitivement inactif (figure 4) [4].

Ce mécanisme est rendu possible par une constante d'affinité des  $\beta$ -lactamases vis-à-vis de leur substrat beaucoup plus importante que celle des  $\beta$ -lactamines vis-à-vis des PLP mais également par une vitesse de réaction supérieure [1,4].

Ainsi, par une sécrétion importante de  $\beta$ -lactamases dans l'espace périplasmique (c'est-à-dire avant que l'antibiotique n'ait pu atteindre les PLP) l'action bactéricide de l'antibiotique est complètement bloquée par la bactérie.

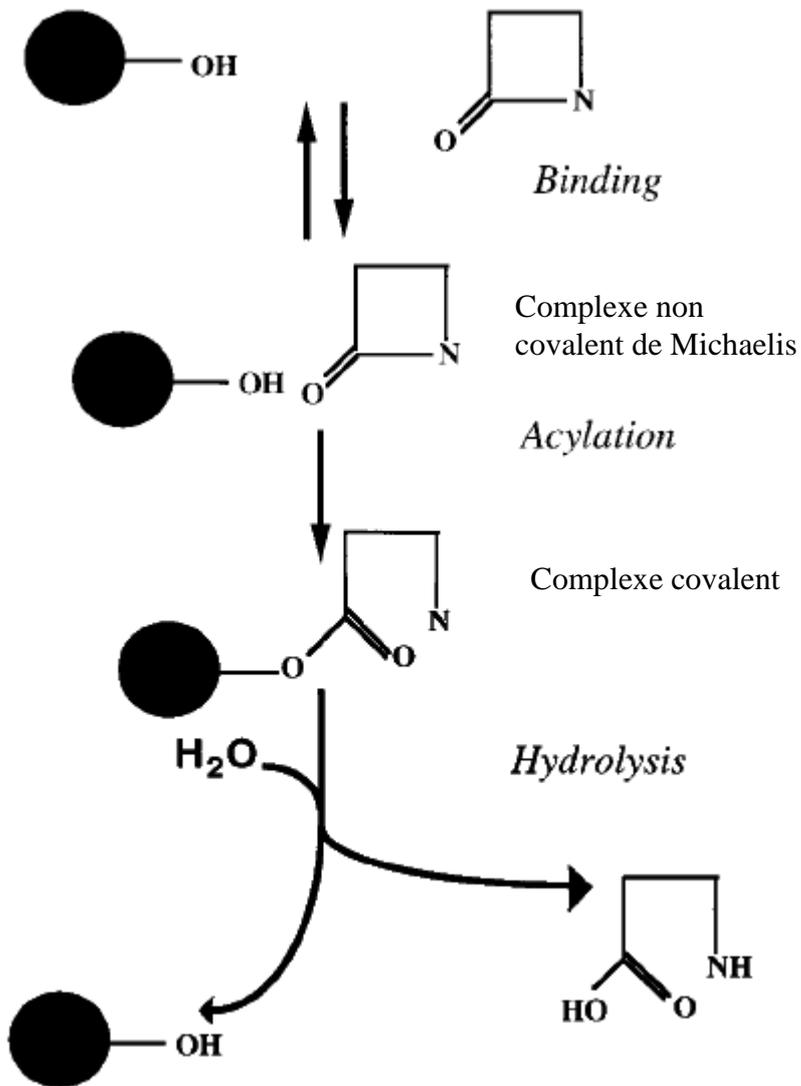


Figure 4 : Mécanisme d'action d'une  $\beta$ -lactamase de type sérine -enzyme [1]

**PARTIE II : LES  $\beta$ -LACTAMASES A SPECTRE  
ETENDU (BLSE)**

# **I) Les $\beta$ -Lactamases à Spectre Etendu (BLSE)**

## **1- Définitions**

Les BLSE sont des  $\beta$ -lactamases appartenant à la classe des sérine-enzymes capables d'hydrolyser l'ensemble des pénicillines, les céphalosporines de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> génération ainsi que l'aztréonam et sensibles à l'action des inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases tels que l'acide clavulanique.

## **2- Les différents types de BLSE**

Nous présenterons ici les trois principaux types de BLSE qui sont de loin les plus fréquents : les BLSE de type TEM, SHV et CTX-M.

### **a) Les $\beta$ -lactamases TEM**

La première  $\beta$ -lactamase de type TEM a été isolée en 1965 en Grèce à partir d'une souche de *E. coli* chez un patient du nom de Temoneira d'où l'appellation TEM.

Cette première  $\beta$ -lactamase dénommée TEM-1 était active sur l'ampicilline, les carbenicillines, l'oxacilline ainsi que sur la céphalotine qui est une céphalosporine de 1<sup>ère</sup> génération. Son activité sur les céphalosporines à spectre étendu était nulle [5]. Peu après, une nouvelle enzyme dénommée TEM-2 a été décrite. Son profil de résistance était similaire à TEM-1.

C'est en 1984 que la première BLSE de type TEM a été identifiée. Elle était sécrétée par une souche de *Klebsiella pneumoniae* isolée dans un hôpital français et hydrolysait le céfotaxime, une céphalosporine de 3<sup>ème</sup> génération. Dans un premier temps elle fut donc nommée CTX-1 mais l'analyse de sa séquence en acides aminés a montré son appartenance au groupe TEM : en effet, elle ne diffère de TEM-2 que par 2 substitutions d'acides aminés. Elle a alors été renommée TEM-3 [5].

Par diverses autres mutations, les enzymes de type TEM ont continué à croître et à se diversifier et on en compte aujourd'hui plus d'une centaine [5].

### **b) Les $\beta$ -lactamases SHV**

Découvertes en 1974, les enzymes de types SHV vont suivre le même type d'évolution que les TEM.

En effet, SHV-1 qui fut la première enzyme découverte avait un spectre d'activité limité et n'appartenait pas à la famille des BLSE.

C'est en 1983 qu'une *Klebsiella ozaenae* productrice d'une  $\beta$ -lactamase de type SHV hydrolysant le céfotaxime a été isolée en Allemagne. Dénommée SHV-2 elle ne différait de SHV-1 que par la substitution d'un acide aminé en position 238.

La famille des SHV s'est ensuite développée par le biais de mutations diverses et compte aujourd'hui plus de 50 enzymes différentes.

### **c) Les $\beta$ -lactamases CTX-M**

Découvertes pour la première fois en 1989 en France et en Allemagne ce nouveau type de  $\beta$ -lactamase avait pour particularité d'être les premières BLSE non-TEM et non-SHV (pas d'identité des séquences génétiques).

Elles tirent leur nom d'une activité hydrolytique importante sur le céfotaxime.

Il ne s'agissait au début que de la découverte d'une nouvelle famille de BLSE mais diverses caractéristiques en font un sujet d'étude particulièrement d'actualité :

- une expansion très rapide et une diffusion à toute la planète
- des spectres d'activité de plus en plus larges
- elles sont devenues les BLSE les plus fréquentes
- les CTX-M sont majoritairement présentes en médecine communautaire

La suite de cet exposé sera donc consacrée à l'étude détaillée des CTX-M : structure, épidémiologie, modes de transmission et conséquences cliniques.

### **3- Classification et origine génétique des CTX-M**

#### **a) Classification des CTX-M en dendroGramme**

A ce jour plus d'une cinquantaine d'enzymes de type CTX-M ont été identifiées.

Une classification selon leurs séquences en acides aminés est établie sous la forme d'un dendroGramme (figure 5) [5]. On peut alors identifier cinq groupes majeurs auxquels on donne le nom du premier membre découvert : CTX-M-1 ; CTX-M-9 ; CTX-M-8 ; CTX-M-25 et CTX-M-2.

Les règles régissant ce dendrogramme sont les suivantes :

- les membres d'un même groupe ont plus de 94% d'homologie entre eux
- deux membres de groupes différents ont moins de 90% d'homologie

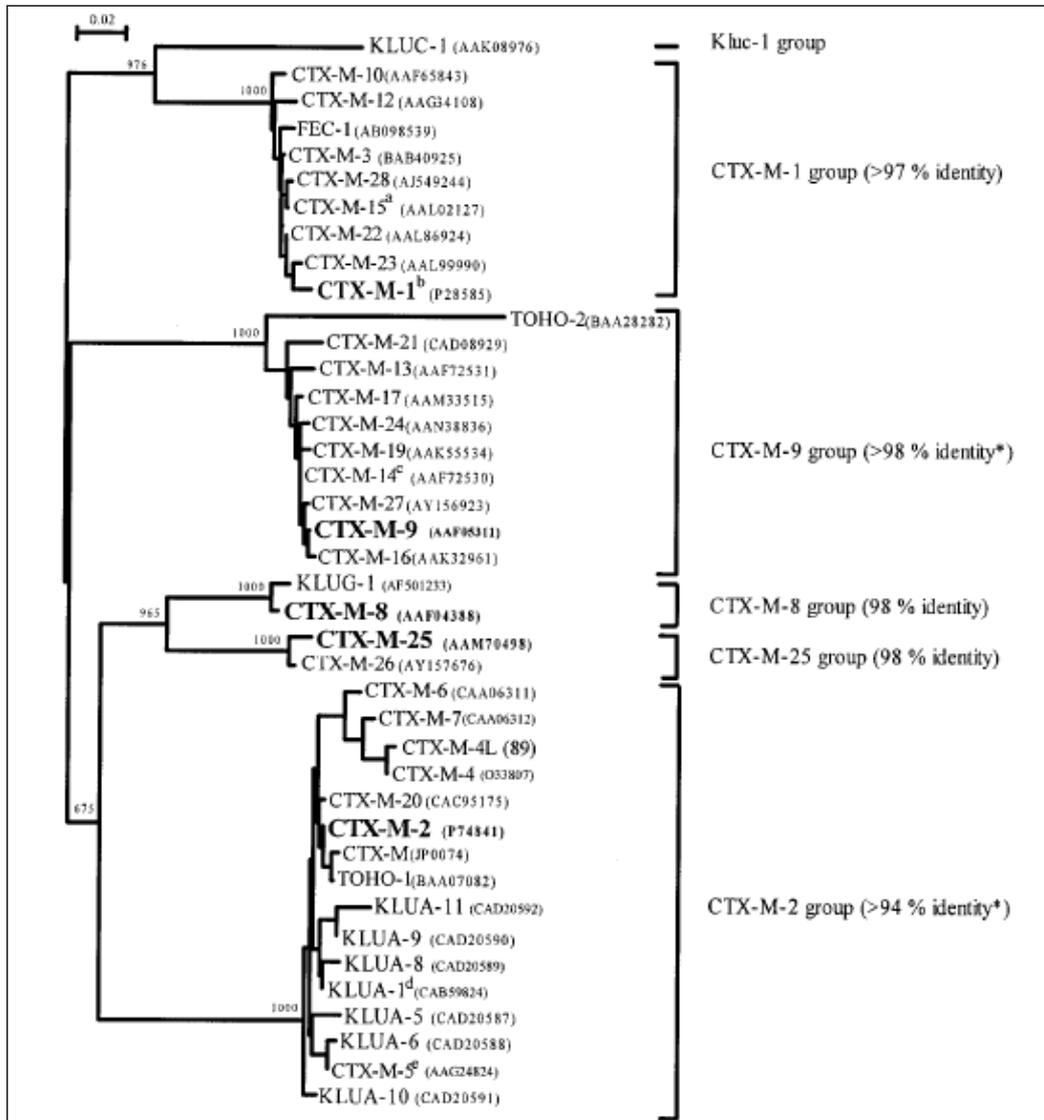


Figure 5 : DendroGramme de classification des CTX-M [5]

## **b) Support génétique des CTX-M**

### *1) Gènes de résistance*

La sécrétion de CTX-M par une bactérie est liée à la présence de gènes spécifiques codant pour ce type d'enzyme et nommés *bla*<sub>CTX-M</sub> [5].

Il existe différents types de gène de type *bla*<sub>CTX-M</sub> codant chacun pour un type d'enzyme.

Ainsi, plus de 50 CTX-M différentes ont été identifiées à ce jour ayant chacune une séquence en acides aminés différente, des caractéristiques biochimiques et biophysiques propres et pouvant avoir des spectres d'action différents.

Ces gènes de résistance peuvent avoir deux localisations [5]:

- ils peuvent être situés sur des plasmides, ils sont alors indépendants du génome bactérien
- ils peuvent être chromosomiques, c'est-à-dire qu'ils sont alors intégrés au matériel génétique de la bactérie

Néanmoins, il est beaucoup plus fréquent de retrouver les *bla*<sub>CTX-M</sub> sur des éléments plasmidiques ce qui peut expliquer leur dissémination d'une bactérie à l'autre.

### *2) Un support permettant la transmission de la résistance : plasmides et séquences d'insertion*

L'épidémiologie des CTX-M montre que ces enzymes sont aujourd'hui retrouvées sur toute la planète et qu'elles se disséminent très rapidement [5].

Il se pose alors la question de savoir comment ces gènes de résistance peuvent passer si rapidement d'une bactérie à l'autre car la pression de sélection exercée par l'usage fréquent des antibiotiques ne suffit pas à elle seule à expliquer la vitesse de diffusion des CTX-M.

#### **→ Rôle des plasmides :**

La particularité d'un plasmide est d'être indépendant du génome de la bactérie. En effet, il peut se répliquer seul à l'intérieur de la bactérie et sa petite taille rend sa transmission aux autres bactéries plus facile.

Ainsi lors d'une phase de conjugaison entre deux bactéries, il peut y avoir échange de matériel génétique et la transmission des gènes de résistance devient possible.

La présence des *bla*<sub>CTX-M</sub> sur des supports plasmidiques permet donc une transmission horizontale du caractère de résistance en plus de la transmission verticale (lorsque la bactérie se multiplie naturellement).

#### → Rôle de la séquence d'insertion *ISEcp1* :

Les séquences d'insertion sont des petits fragments d'ADN qui contiennent des gènes permettant leur transposition, c'est-à-dire le déplacement de la séquence à un autre endroit du génome. Mais ces séquences permettent également le transfert des séquences entre un plasmide et le génome bactérien.

En effet, si ces séquences d'insertion ne contiennent généralement que les gènes permettant leur transposition, elles peuvent également être associées à un ou plusieurs gènes de résistance : c'est le cas pour la séquence d'insertion *ISEcp1* qui est très fréquemment retrouvée à proximité des gènes *bla*<sub>CTX-M</sub> [6,7].

La séquence *ISEcp1* est un élément essentiel dans la dissémination des gènes de résistance *bla*<sub>CTX-M</sub>. En effet, il ne s'agit plus alors de transférer la totalité du plasmide sur lequel elle se trouve mais uniquement la séquence elle-même qui contient le gène.

Associée à sa très grande mobilité, *ISEcp1* est probablement l'une des clés de l'expansion rapide des bactéries productrices de CTX-M [7].

### **c) Origine des CTX-M**

#### 1) *Kluyvera* : progéniteurs de certaines CTX-M

Les bactéries du genre *Kluyvera* sont des entérobactéries peu rencontrées en pratique médicale humaine mais qui ont pour caractéristique de sécréter naturellement des  $\beta$ -lactamases de large spectre.

L'étude des séquences de certaines de ces enzymes montre qu'il existe une forte homologie avec celles des CTX-M.

Les 3 espèces de *Kluyvera* concernées sont présentées dans le tableau I.

**Tableau VIII : Espèces de *Kluyvera* sécrétrices de  $\beta$ -lactamases**

Espèces	$\beta$ -lactamases sécrétées	Gènes de résistance
<i>Kluyvera ascorbata</i>	KLUA	<i>bla</i> <sub>KLUA</sub>
<i>Kluyvera georgiana</i>	KLUG	<i>bla</i> <sub>KLUG</sub>
<i>Kluyvera cryocrescens</i>	KLUC	<i>bla</i> <sub>KLUC</sub>

L'analyse du dendrogramme de classification des CTX-M comporte également les  $\beta$ -lactamases sécrétées par les différentes espèces de *Kluyvera* suivant les mêmes règles de classification par identité de séquences (figure 5).

Il semble donc que les groupes CTX-M-2 et CTX-M-8 aient pour progéniteurs les enzymes chromosomiques de *Kluyvera ascorbata* et *Kluyvera georgiana* respectivement.

Ainsi les études des séquences des KLUA et des CTX-M appartenant au groupe des CTX-M-2 a montré une homologie supérieure à 95% [1,8].

Il en est de même pour KLUG et CTX-M-8 qui présentent plus de 94% d'homologie.

Dans une autre étude plus récente, il semblerait également que le groupe des CTX-M-1 ait pour progéniteur une enzyme chromosomique de *Kluyvera ascorbata* [9].

## 2) *ISEcp1* comme outil de dissémination

Si l'identité des séquences entre certains gènes *bla*<sub>CTX-M</sub> et ceux des bactéries *Kluyvera* ne fait aucun doute, il reste à savoir par quel moyen la transmission de l'information génétique a pu se faire.

Plusieurs études supposent que la séquence d'insertion *ISEcp1* a pu jouer un rôle en rendant plus mobiles les gènes de résistance.

En effet, on retrouve cette séquence à proximité du gène *bla*<sub>KLUA</sub> de *Kluyvera ascorbata* qui est le progéniteur supposé des CTX-M appartenant au groupe des CTX-M-2 [8,9].

Une autre hypothèse peut expliquer le transfert des gènes de type  $bla_{CTX-M}$  à partir des bactéries de type *Kluyvera* : des bactériophages via un mécanisme de transduction peuvent transmettre une information génétique [6].

## **II) Propriétés et relation structure-activité des CTX-M**

### **1- Caractéristiques biochimiques**

Les CTX-M sont des molécules qui contiennent 291 acides aminés leur conférant un poids moléculaire d'environ 28 kDa.

Leur point isoélectrique est compris entre 7,4 et 9 [5].

### **2- Relation structure-activité**

#### **a) Structure générale des CTX-M**

La structure moléculaire générale des CTX-M a été déterminée par cristallographie à rayons X. Les CTX-M sont constituées de deux domaines distincts : un domaine  $\alpha$  et un domaine  $\alpha/\beta$  (figure 6). A l'interface de ces deux domaines se trouve le site actif de l'enzyme [11,12].

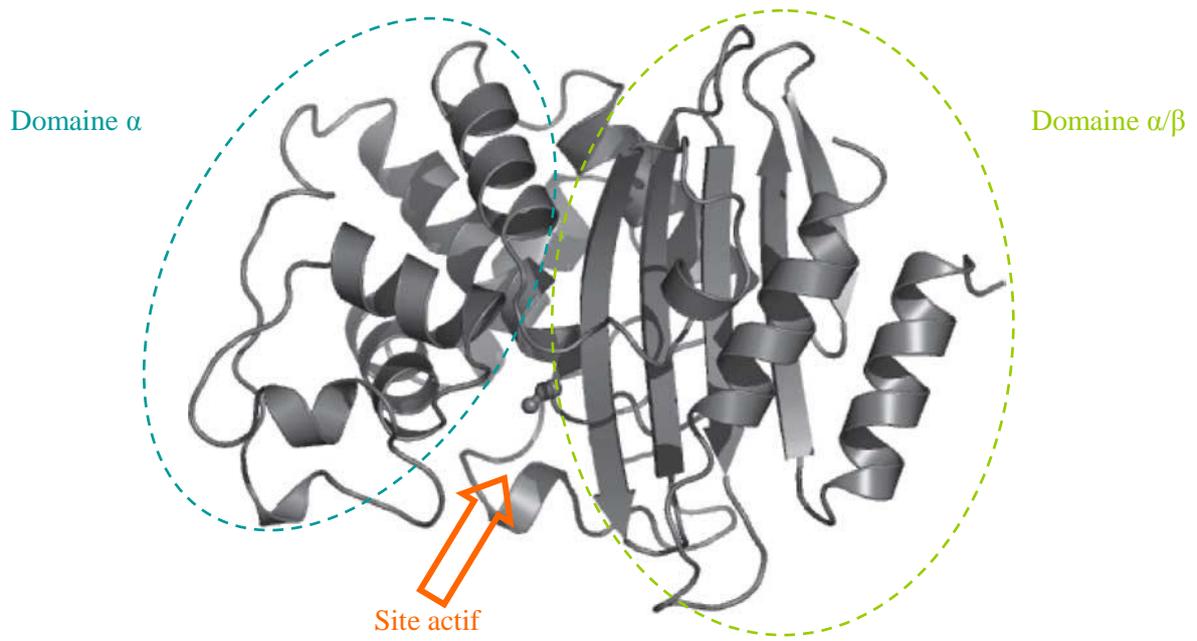
On peut également remarquer la présence de la boucle formée par les résidus 161 à 169 qui est dénommée boucle oméga ( $\Omega$ ) et dont la proximité avec le site actif en fait un élément essentiel dans les interactions avec les  $\beta$ -lactames.

On retrouve également les éléments communs à toutes les  $\beta$ -lactamases de classe A (classification de Ambler) [12,13]:

- Ser 70 à Lys73
- Ser130 à Asn132
- Lys234 à Gly236

Le résidu sérine situé en position 70 et commun à toutes les  $\beta$ -lactamases joue un rôle essentiel : c'est lui qui est impliqué dans la réaction directe avec le cycle  $\beta$ -lactame.

Pour exercer leur action hydrolytique, les CTX-M mettent également en jeu une molécule d'eau qui intervient comme catalyseur de la réaction et le résidu Glu166 situé dans la boucle oméga qui joue le rôle d'activateur de la réaction [11,12,14,15].



**Figure 6 : Structure générale des CTX-M [11]**

## **b) Mécanisme d'action général des CTX-M**

Comme toutes les  $\beta$ -lactamases de classe A, les CTX-M agissent via une sérine qui permet la fixation à l'antibiotique. Il s'en suit alors une suite de réactions d'acylation et de désacylation de l'enzyme qui conduit à l'inactivation de l'antibiotique et la régénération de l'enzyme.

En étudiant plus précisément la phase d'acylation, il est possible de déterminer les différentes interactions qui permettent la fixation du substrat sur l'enzyme. On peut ainsi expliquer par quels moyens les CTX-M ont pu étendre leur action vers les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération en faisant évoluer leur structure par rapport aux SHV et TEM.

Diverses études ont été faites à partir de l'enzyme Toho-1 et ont mis en évidence les éléments suivants comme étant caractéristiques des CTX-M (figures 7 et 8) :

→ Le résidu arginine en position 276 :

Les  $\beta$ -lactamases non-BLSE ont toujours un résidu arginine en position 244 qui joue un rôle essentiel de catalyseur dans l'inhibition de l'antibiotique [5,13].

Chez les CTX-M, ce résidu est absent (souvent remplacé par une thréonine) mais on suppose que son rôle est pris en charge par l'arginine276. Celle-ci par sa conformation spatiale permettrait alors d'étendre l'action de l'enzyme aux céphalosporines en modifiant les interactions avec les molécules d'eau environnantes et donc finalement en rendant le site actif plus accessible. Pour confirmer cette hypothèse, les activités enzymatiques de BLSE dont l'arginine276 a été substituée ont été calculées : elles ont montré une baisse d'activité sur les céphalosporines [5,13].

→ Les résidus asparagine 104 et sérine 237 :

Ces deux acides aminés sont situés de part et d'autre du site actif des CTX-M et sont différents de ceux retrouvés chez les SHV et TEM (Glu104 et Ala 237).

Ils sont à l'origine d'interactions spécifiques avec le céfotaxime [5]:

- l'asparagine interagit avec le groupement carboxylate

- la sérine interagit avec le groupement carbonyle de la chaîne acylamide du céfotaxime

La sérine permet également d'orienter de façon optimale l'enzyme et de faciliter ainsi la réactions d'acylation [5,15]. Elle serait également à l'origine de l'activité plus faible des CTX-M sur les pénicillines. En effet, en mettant en jeu des interactions de type Van der Waals avec le groupement méthyl du cycle thiazolidine des pénicillines, la réaction d'acylation est freinée.

Des tests d'activité enzymatiques avec des enzymes mutées sur lesquelles la sérine a été substituée ont mis en évidence une activité plus faible sur les céphalosporines confirmant le rôle essentiel de cet acide aminé.

→ Les résidus asparagine 132 et acide aspartique 240 :

Ces deux acides aminés sont à l'origine d'interactions spécifiques avec le céfotaxime. En effet, ils permettent la formation de liaison hydrogène avec le groupement amide du céfotaxime [5,13,15].

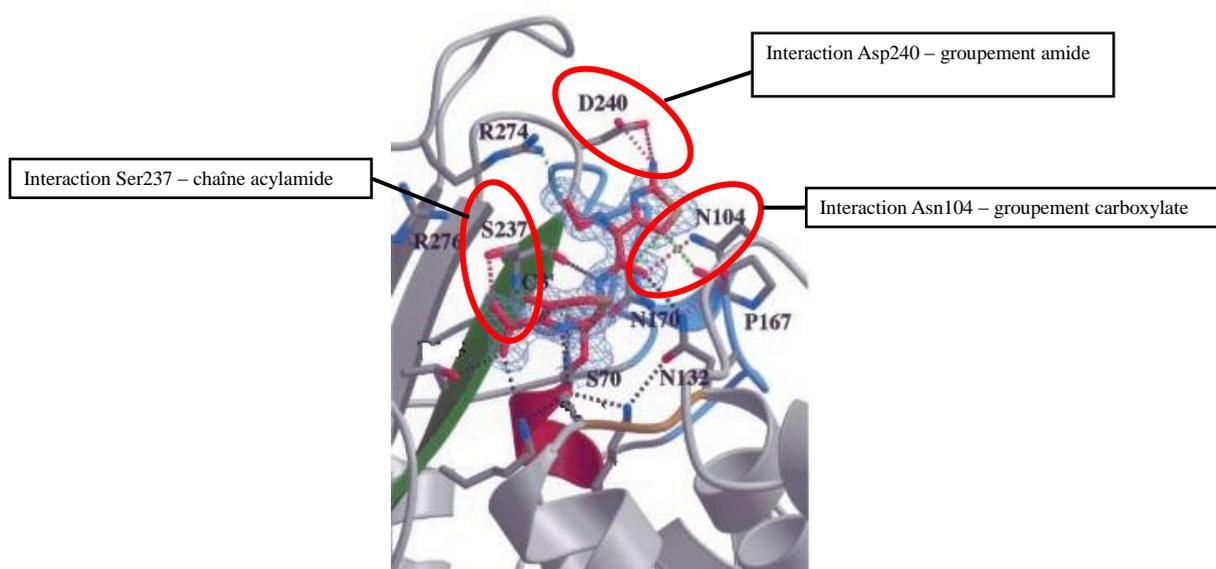


Figure 7: Interactions moléculaires entre le céfotaxime et l'enzyme Toho-1 [15]

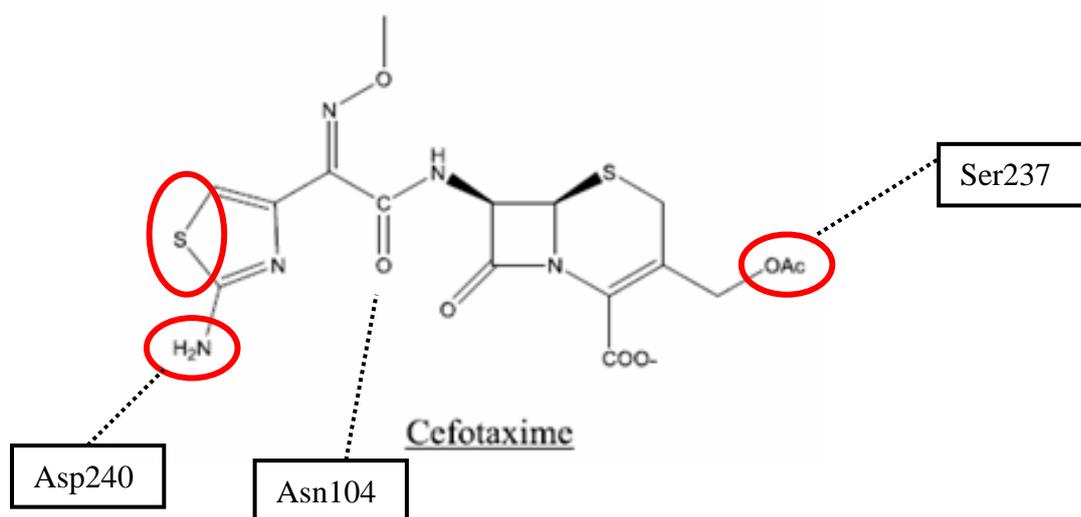


Figure 8 : Interactions moléculaires du céfotaxime avec les CTX-M [11]

### **c) Des différences de spectre d'action**

Les CTX-M sont des  $\beta$ -lactamases dites à large spectre car elles ont une action non seulement vis-à-vis des pénicillines mais également sur les céphalosporines de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> génération [5,10,11,12].

Des différences de spectre d'action existent entre les différentes CTX-M. En effet, l'activité sur le céfotaxime est en général supérieure à celle sur la ceftazidime, d'où l'appellation de CTX-M.

Mais avec l'évolution des structures, certaines CTX-M montrent désormais une activité supérieure sur la ceftazidime [5,10,11,12].

C'est le cas par exemple pour les CTX-M-15, CTX-M-27 et CTX-M-16 qui dérivent respectivement des CTX-M-3, CTX-M-9 et CTX-M-14 [5,11,12].

Ainsi, on a pu mettre en évidence que des substitutions en positions 240 ou 167 des CTX-M peuvent expliquer les différences de spectre d'action et notamment une plus grande affinité pour la ceftazidime [5,11,12].

En position 240, il s'agit du remplacement d'un aspartate par une glycine ; en position 167 d'une sérine par une proline.

### **d) Conséquence de la substitution Asp240→Gly**

Cette substitution est probablement une des raisons majeures de la plus grande activité hydrolytique vis-à-vis de la ceftazidime de certaines CTX-M. En effet, elle est présente chez toutes les CTX-M ayant une activité sur la ceftazidime mais également chez d'autres enzymes appartenant à la classe A des  $\beta$ -lactamases telles que BES-1 et PER-1 qui sont actives sur la ceftazidime [5, 13].

Une des premières hypothèses expliquant ce phénomène a été de supposer que la présence d'une glycine permettait un élargissement du site actif et donc à la molécule de ceftazidime de s'y fixer.

En effet, si on compare les structures chimiques de la ceftazidime et du céfotaxime, elles ne diffèrent que par la présence d'une chaîne latérale plus importante pour la ceftazidime rendant la molécule plus encombrante (figure 9).

Mais différentes études ont permis de mesurer le site actif et ont toutes montré qu'il n'y avait

pas d'augmentation de sa taille [11,12].

En conclusion c'est par un changement des interactions moléculaires que la glycine permet d'augmenter l'activité des CTX-M sur la ceftazidime.

En position 240 l'acide aspartique (Asp240) permet la formation d'une liaison hydrogène avec le groupement amine du cycle aminothiazole du céfotaxime. Si on substitue en position 240 par une glycine, cette interaction disparaît [12].

Cette absence de liaison hydrogène permet au cycle aminothiazole de l'antibiotique d'adopter une double conformation moléculaire à l'origine d'une meilleure fixation à l'enzyme [11,12].

Dans la conformation 2 (figure 10), le cycle aminothiazole de l'antibiotique est dirigé vers le résidu proline situé en position 237. Cette interaction permet alors une insertion plus profonde de la ceftazidime dans le site actif de l'enzyme et donc une activité hydrolytique plus importante.

Pour illustrer ce phénomène, il suffit de superposer les structures des différentes enzymes en interaction avec la ceftazidime (figure 11) (les couleurs se rapportent aux atomes de carbone des différentes enzymes) :

- en orange, on peut observer l'insertion du céfotaxime dans le site actif de l'enzyme Toho-1 : l'interaction entre les deux molécules est étroite ce qui illustre l'activité céfotaximase de la majorité des CTX-M

- en bleu clair, on observe l'interaction entre la ceftazidime et l'enzyme TEM-1 : l'insertion dans le site actif est très faible, l'activité hydrolytique est quasiment nulle.

- en vert et cyan on peut observer les CTX-M 9 et 16 respectivement. On constate alors que la ceftazidime est inséré plus profondément dans le site actif de la CTX-M-16 qui comporte une glycine en 240 que dans la CTX-M-9 qui contient un acide aspartique. Il en découle une plus grande activité ceftazidimase des CTX-M-16.

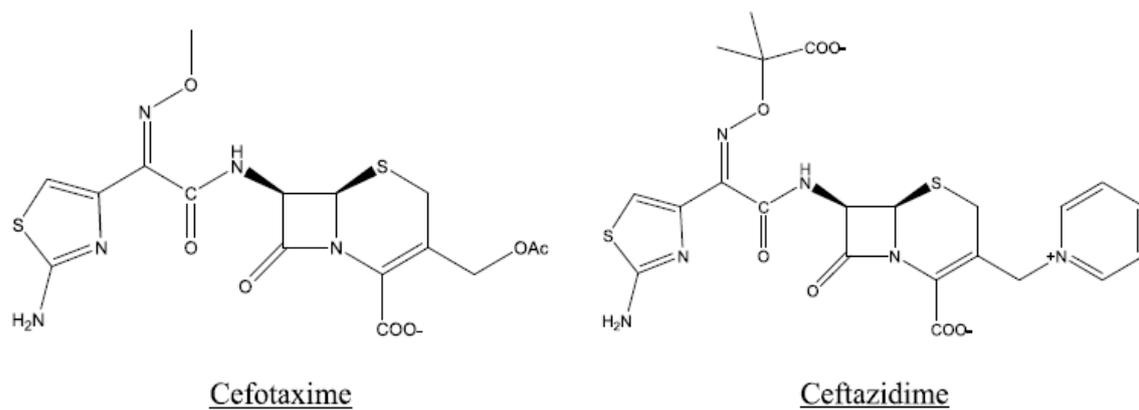


Figure 9 : Structures chimiques du céfotaxime et de la ceftazidime [11]

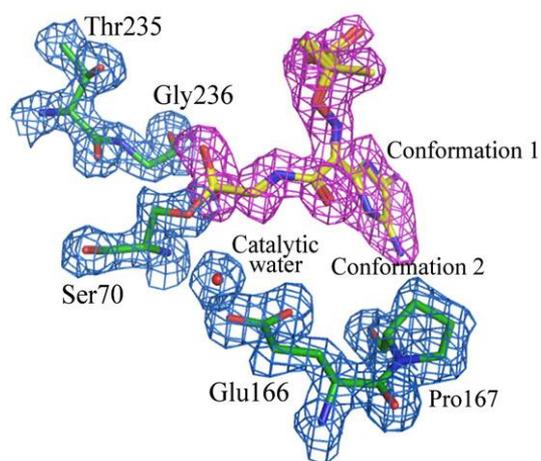


Figure 10 : Double conformation du céfotaxime lors de sa liaison aux CTX-M [12]

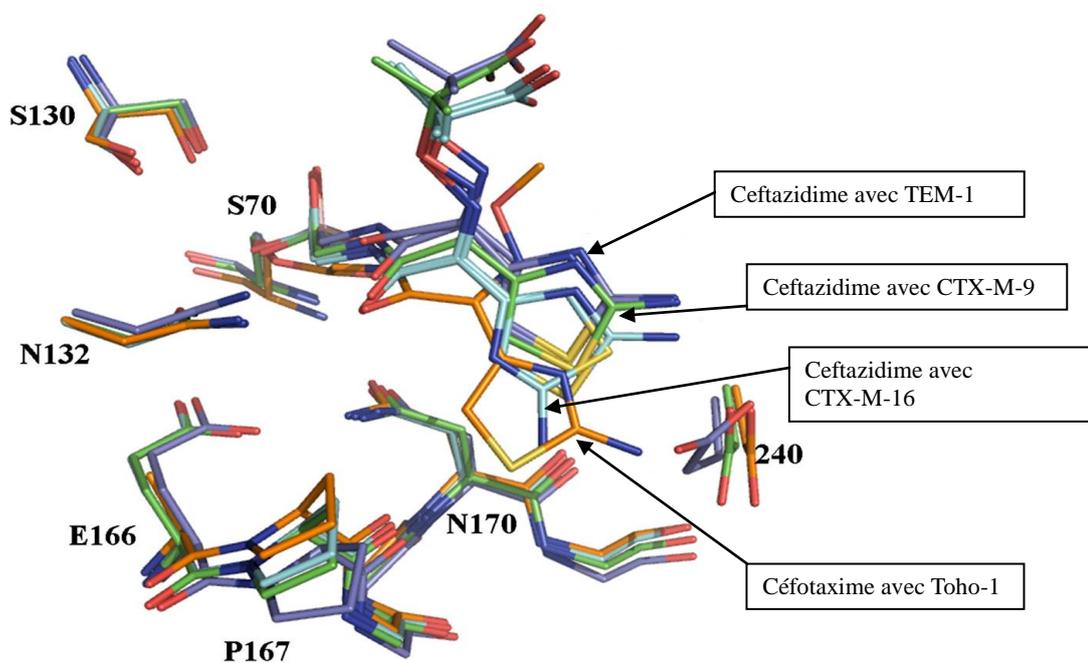


Figure 11 : Superposition des CTX-M-9, CTX-M-16, TEM-1 et Toho-1 lors de l'interaction avec le céfotaxime ou la ceftazidime [12]

Une deuxième hypothèse vient corroborer cette théorie. En effet, dans une autre étude les effets sur la mobilité du feuillet  $\beta_3$  et de la boucle  $\Omega$  apportés par la substitution par une glycine en 240 ont été étudiés.

Il est alors apparu que la flexibilité de ce feuillet est augmentée par la présence de la glycine en raison d'une baisse des interactions intramoléculaires de l'enzyme. Cette plus grande mobilité permet alors au site actif de s'élargir temporairement pour permettre la fixation de la ceftazidime [12, 16].

Il faut tout de même signaler que cette plus grande flexibilité est associée à une autre substitution en position 231, c'est-à-dire à l'autre extrémité du feuillet  $\beta_3$ , d'une Valine par une Alanine. Néanmoins cette dernière substitution si elle est isolée ne permet en aucun cas d'augmenter l'activité ceftazidimase contrairement à la substitution en position 240.

**PARTIE III : EPIDEMIOLOGIE DES BLSE :  
EMERGENCE ET DISSEMINATION MONDIALE**

## **I) Emergence et évolution des BLSE**

### **1- Années 80 : l'apparition d'un nouveau type d'enzyme**

#### **a) La découverte des BLSE**

La découverte des toutes premières bactéries productrices de BLSE remonte au début des années 80. C'est en Allemagne, en 1983, que la première *K. pneumoniae* productrice d'une BLSE est isolée [17,18]. Quelques années plus tard, en 1986, le phénomène prend de l'ampleur avec la description en France dans différentes unités de soins intensifs de 54 patients porteurs de bactéries productrices de BLSE [17]. Ce n'est alors que le début du phénomène puisque le nombre de cas détectés ne fera qu'augmenter durant les années suivantes.

#### **b) *K. pneumoniae* : un hôte majoritaire**

Après la découverte chez *K. pneumoniae*, diverses autres entérobactéries productrices de BLSE, telles que *E. coli*, *Proteus mirabilis* ou encore *Salmonella sp.* ont pu être isolées [17]. Néanmoins, à la fin des années 1980, c'est toujours *K. pneumoniae* qui est l'hôte majoritaire. Ainsi, certaines études réalisées au début des années 90 font état de 25% des *K. pneumoniae* nosocomiales acquises dans les hôpitaux français productrices de BLSE [17]. Les BLSE produites sont alors de type TEM et SHV

#### **c) Des infections nosocomiales essentiellement**

Les premières BLSE isolées ont toujours été retrouvées en milieu hospitalier et plus précisément dans des services spécialisés tels que les soins intensifs ou encore les services de réanimation médicale [17]. Aucune notion de dissémination communautaire n'est retrouvée lors de l'émergence des BLSE.

## **2- Années 90 : émergence d'un nouveau type de BLSE, les CTX-M**

### **a) Découverte des premières CTX-M**

En 1989, les premières BLSE non-SHV et non-TEM sont isolées en France et en Allemagne à partir de souches de *E. coli* : il s'agirait des premières CTX-M [5,20]. Selon d'autres sources, ce serait en 1992, en Amérique du sud, que la première CTX-M aurait été identifiée à partir d'une souche de *Salmonella* ser. Typhimurium [5,19].

Si l'on ne sait pas avec certitude où et quand les CTX-M furent identifiées la première fois, leur émergence au début des années 1990 et leur dissémination rapide est un phénomène certain et documenté [17,18,19,20].

### **b) Apparition de *E. coli* producteurs de BLSE**

Diverses bactéries productrices de CTX-M ont pu être isolées parmi lesquelles *Salmonella* sp., *Proteus mirabilis*, *Enterobacter aerogenes* et *K. pneumoniae*.

Toutefois, la grande majorité des bactéries productrices de CTX-M sont des *E. coli*. Ainsi, une étude menée dans un hôpital thaïlandais entre décembre 2004 et mai 2005 a montré que sur 356 CTX-M identifiées, *E. coli* est la bactérie productrice dans 64% des cas [19].

Une étude menée en France par l'Assistance Publique des Hôpitaux de Paris (AP-HP) a montré qu'en 2001 *E. coli* représentait moins de 45% des bactéries productrices de BLSE isolées alors qu'en 2005 il en représente plus de 80% et qu'il s'agit alors de CTX-M dans 90% des cas (figure 13) [21].

Il n'en reste pas moins que des *K. pneumoniae* productrices de CTX-M sont fréquemment isolées et que leur nombre est également en constante évolution. Mais la plus grande ubiquité des *E. coli*, notamment en médecine communautaire, est à l'origine d'un isolement plus fréquent.

### **c) Les CTX-M : des BLSE communautaires**

Une des grandes caractéristiques des CTX-M est leur prépondérance en médecine communautaire. En effet, si la plupart des bactéries multirésistantes sont généralement

retrouvées en milieu hospitalier, ce n'est pas le cas des CTX-M qui disséminent majoritairement chez des patients de ville. Une étude canadienne menée entre mai 2004 et avril 2006 a montré que 72% des bactéries productrices de CTX-M isolées étaient d'origine communautaire (figure 14) [22]. Néanmoins, ces CTX-M se retrouvent en milieu hospitalier probablement par le biais d'admission de patients venant de la ville qui sont porteurs de bactéries productrices de CTX-M.

C'est ainsi que diverses infections nosocomiales et notamment des infections urinaires par des bactéries productrices de CTX-M peuvent se déclarer à l'hôpital mais leur origine n'est probablement pas hospitalière.

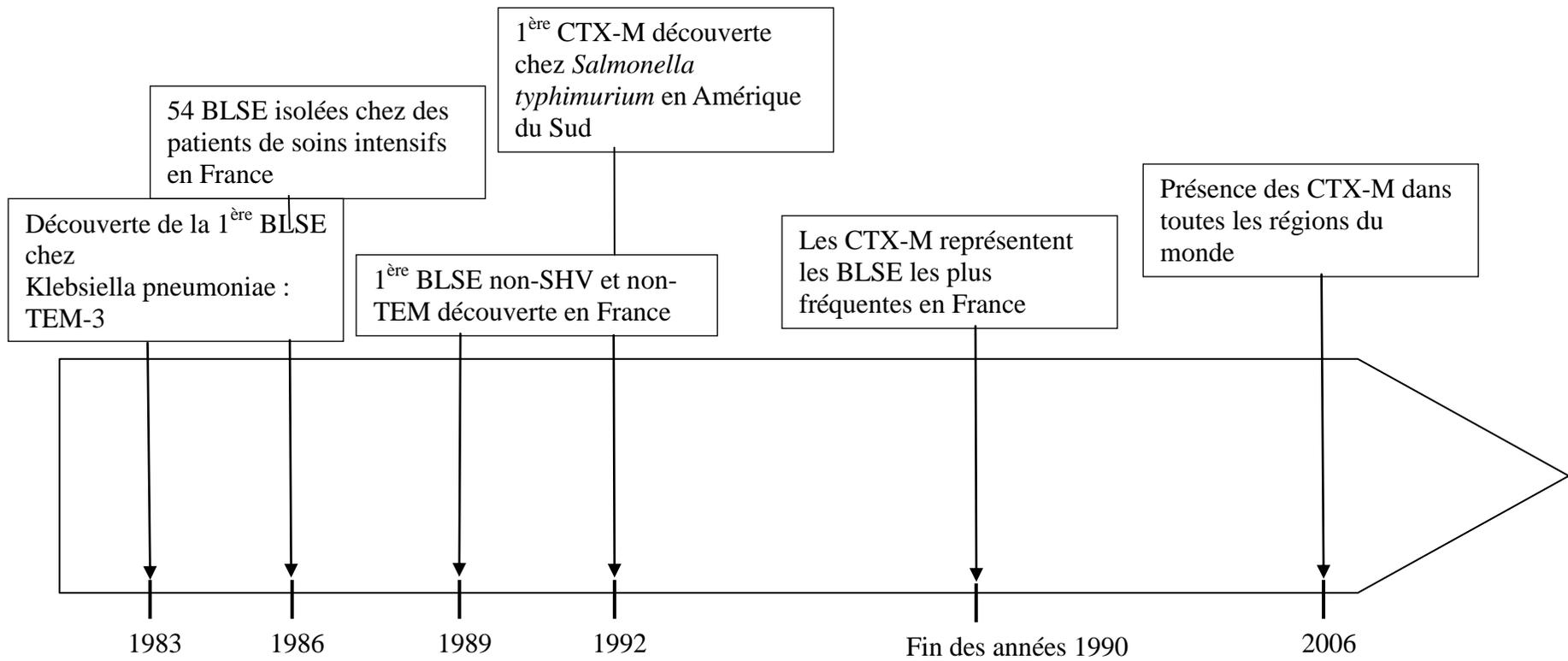


Figure 12 : Etapes de l'évolution épidémiologique des BLSE

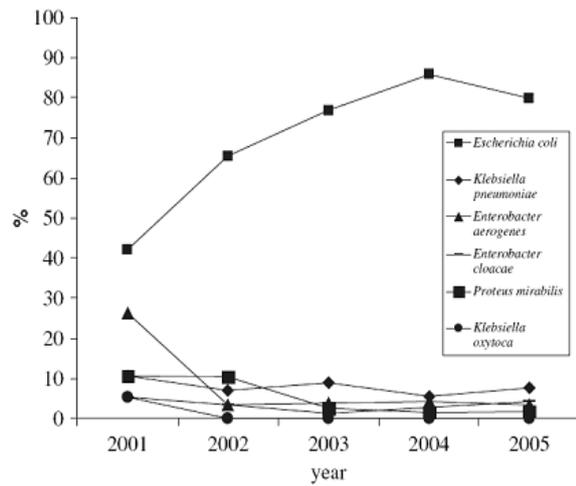


Figure 13 : Prévalence (%) des BLSE isolées par espèces de bactéries à l'AP-HP entre 2001 et 2005 dans les services de longue durée [21]

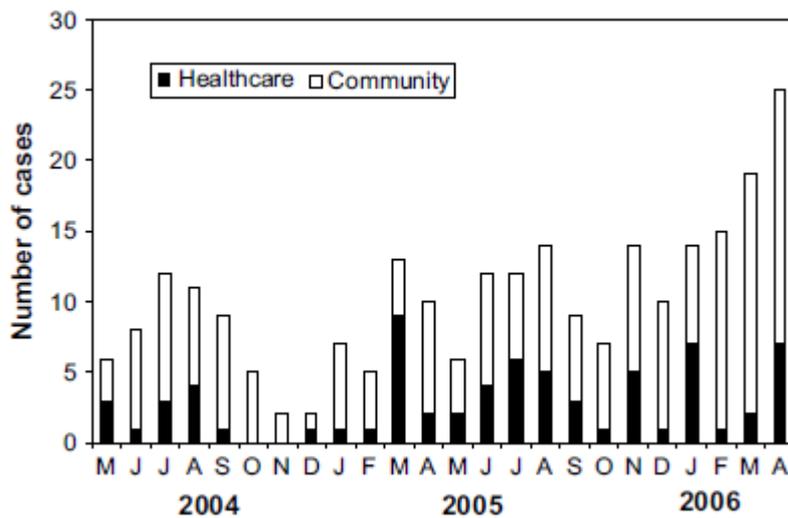


Figure 14 : Proportion des BLSE communautaires produites par *E. coli* dans la région de Calgary (Canada) de Mai 2004 à Avril 2006 [22]

## **II) La situation épidémiologique actuelle**

### **1- Dans le monde**

Si les premiers cas détectés au milieu des années 80 semblaient confinés à l'Europe de l'ouest et principalement à la France, la situation est actuellement toute autre. En effet, on considère que les BLSE sont maintenant présentes partout dans le monde (figure 15) [17,18,19].

#### *Amérique du Nord*

Elle serait encore peu touchée par l'émergence des CTX-M [20,21] même si plusieurs cas ont été détectés au Canada et aux Etats-Unis [17,18,20]. Aux Etats-Unis les SHV et TEM restent les BLSE majoritaires [23]

#### *Amérique du Sud*

Les premières découvertes de BLSE remontent à 1988. Il s'agissait alors de  $\beta$ -lactamases SHV-2 et SHV-5 chez des bactéries isolées au Chili et en Argentine [17]. En 1989, la première CTX-M de type 2 a été isolée pour la première fois en Argentine. Puis différents variants ont été à leur tour identifiés notamment au Brésil, en Bolivie et au Pérou [20]. Désormais les CTX-M se sont disséminées dans l'ensemble de l'Amérique du sud et représentent les BLSE majoritaires de ce continent.

#### *Afrique*

Des BLSE de type SHV, TEM et CTX-M ont été isolées dans différents pays d'Afrique depuis la fin des années 90. Le manque de réseau de surveillance ne permet pas d'avoir des données fiables pour l'ensemble des pays mais il semble que les BLSE soient fréquentes en Afrique. Une étude menée dans des hôpitaux d'Afrique du Sud a rapportée que plus de 30% des *K. pneumoniae* étaient productrices de BLSE. Par ailleurs un nouveau type de CTX-M a été isolé au Kenya [17].

## Asie

Les premiers cas remontent à 1988 avec l'identification de SHV produites par des souches de *K. pneumoniae* en Chine [17]. Les BLSE se sont ensuite propagées dans tout l'est asiatique et elles sont désormais présentes dans quasiment toutes les régions. Les CTX-M sont très fréquentes en Asie et sont devenues le type majoritairement isolé [17,20].

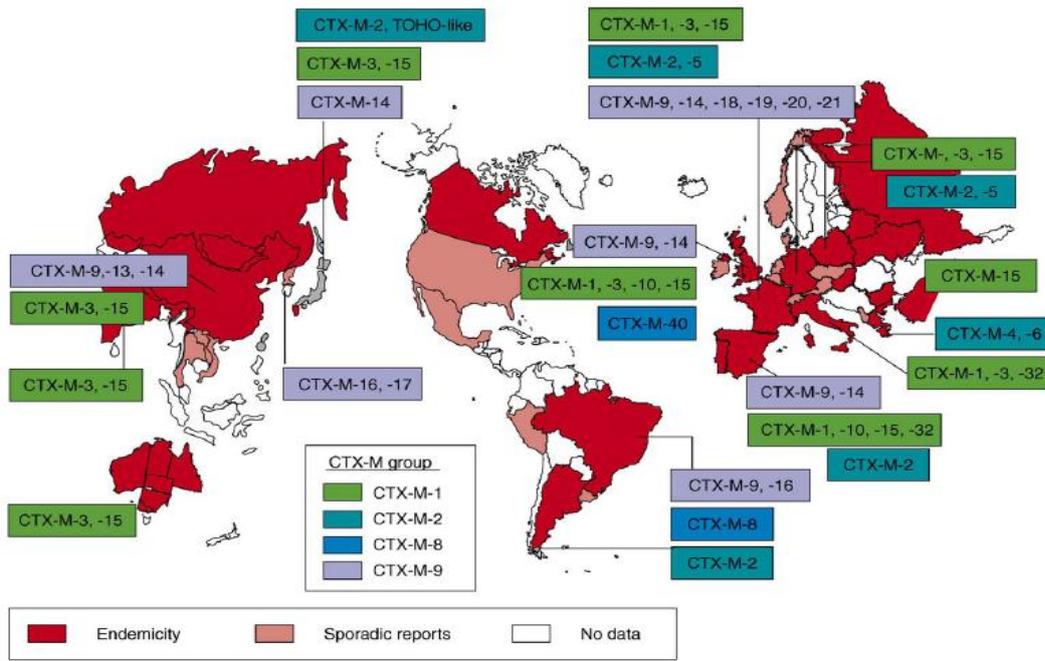


Figure 15 : Situation épidémiologique mondiale des CTX-M [40]

### En Europe

C'est le berceau de la découverte des BLSE au milieu des années 80. Ces enzymes se sont ensuite propagées très rapidement dans tout le continent. A l'heure actuelle, il existe de grandes disparités entre les différents pays. En effet, selon les derniers rapports de l'EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System), il existe une disparité nord / sud et est / ouest. Les BLSE sont moins fréquentes dans le nord que dans le sud et l'est de l'Europe est plus touché que l'ouest (figure 16 ,17).

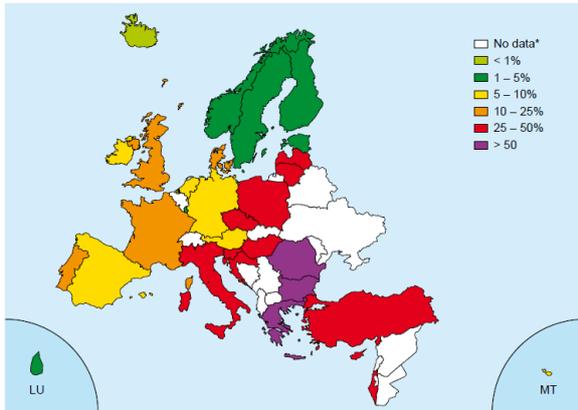


Figure 16 : *K. pneumoniae* résistantes aux C3G en 2007 [20]

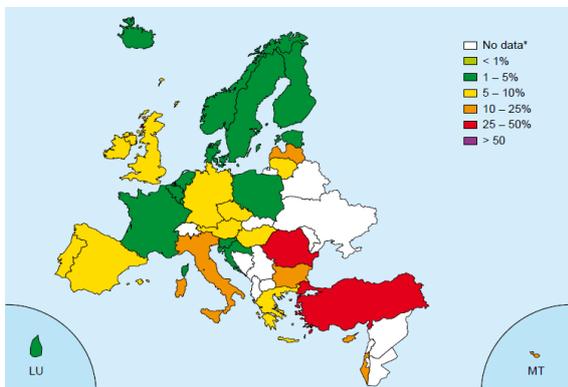


Figure 17 : *E. coli* résistants aux C3G en 2007 [20]

## **2- En France**

### **a) Dans les hôpitaux**

L'incidence des bactéries multirésistantes productrices de BLSE isolées dans les hôpitaux est en augmentation continue depuis plus de 10 ans. Ainsi, à l'AP-HP l'incidence des BLSE dans les hospitalisations de court séjour a été multipliée par 4 entre 1996 et 2005 (figure 18) [21].

On observe le même phénomène à Nice entre 2001 et 2007 avec une multiplication par plus de 20 du nombre de BLSE isolées (figure 19) [24].

En parallèle, on observe également que les CTX-M sont devenues les BLSE les plus fréquemment rencontrées quelle que soit la région étudiée [21,24,25].

### **b) En communautaire**

En France, dans une étude prospective de 2 mois menée par l'Observatoire National de l'Epidémiologie de la Résistance Bactérienne aux Antibiotiques (ONERBA) en 2006 on retrouve les résultats suivants :

- sur 72 BLSE isolées, 56% sont des CTX-M
- *E. coli* est l'hôte dans 67% des cas et produit des CTX-M dans 83% des cas

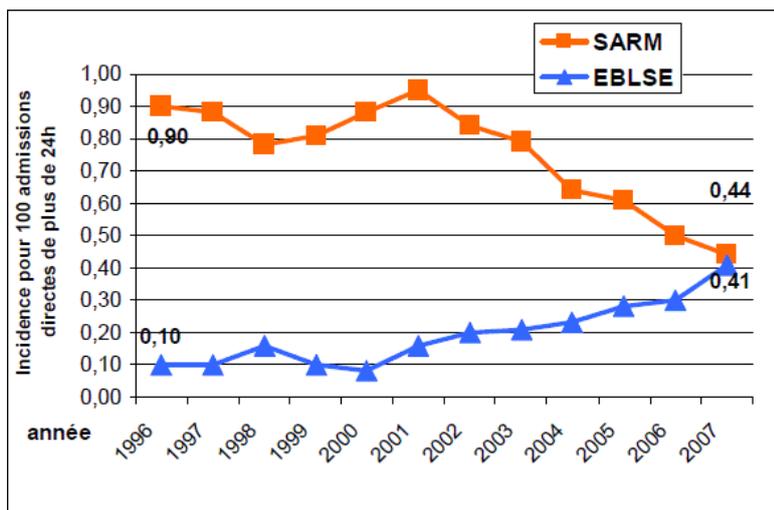


Figure 18 : Évolution de 1996 à 2007 à l'AP-HP du taux d'attaque pour 100 admissions [22]

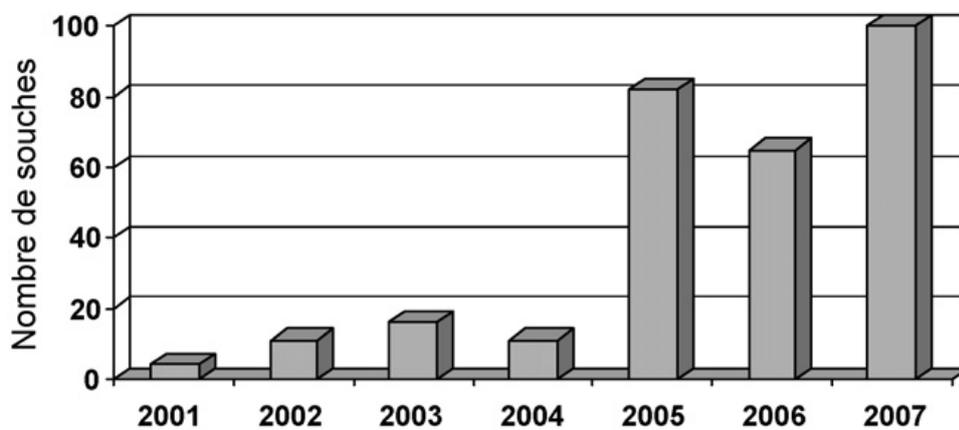


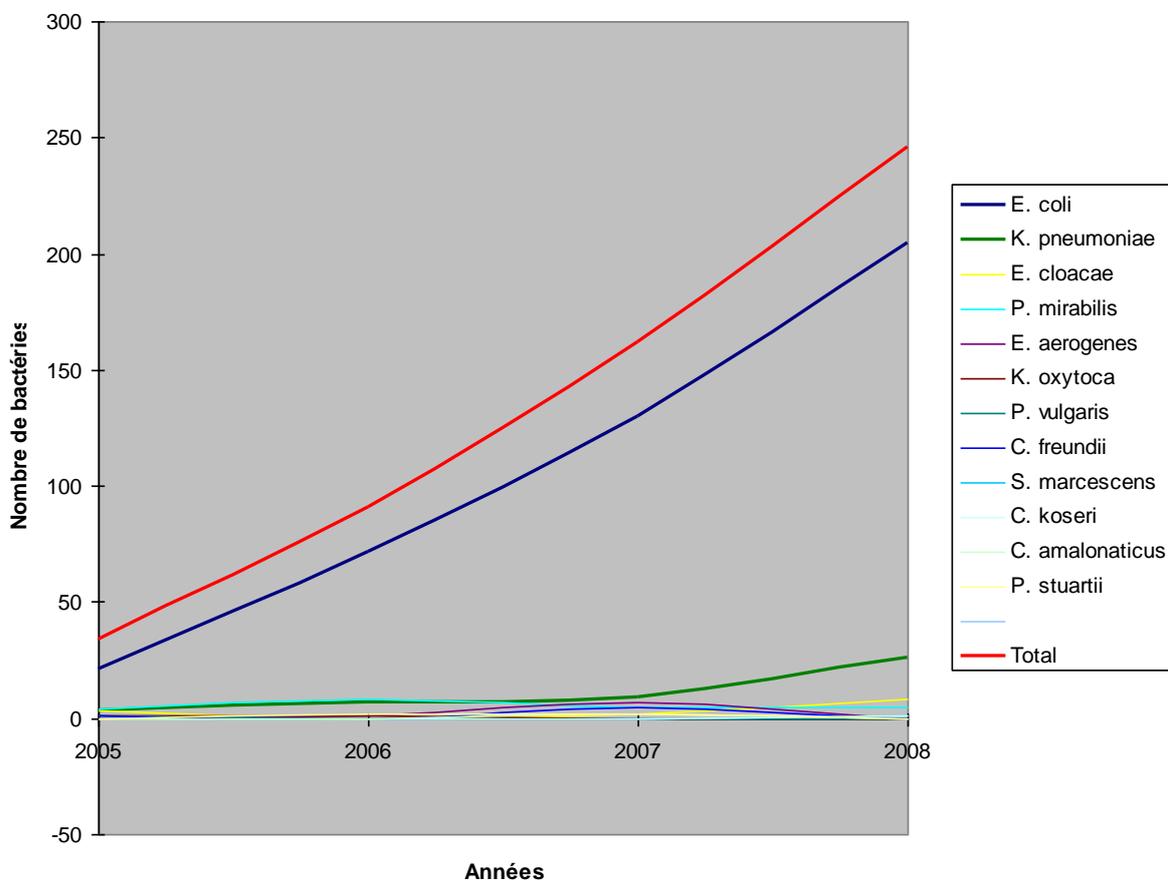
Figure 19 : Isolats produisant des CTX-M entre 2001 et 2007 au CHU de Nice [24]

### **3- A Nantes**

La situation épidémiologique au CHU de Nantes suit l'évolution globale de l'épidémiologie mondiale. En effet, l'identification de bactéries productrices de BLSE est en augmentation exponentielle depuis plusieurs années (tableau II, figure 20) ; leur nombre a été multiplié par plus de 7 en l'espace de quatre ans. En 2008, *E. coli* est la bactérie retrouvée dans 83% des cas loin devant *K. pneumoniae* (10% des cas). Cette augmentation, surtout observée dans les services de court séjour, est très probablement liée à l'augmentation des BLSE communautaires de type CTX-M. Par ailleurs, le support génétique des BLSE produites par 13 souches de *K. pneumoniae* a été récemment étudié : 8 d'entre elles produisaient une CTX-M.

**Tableau IX : Epidémiologie des BLSE isolées au CHU de Nantes entre 2005 et 2008**

	<b>2005</b>	<b>2006</b>	<b>2007</b>	<b>2008</b>
<i>E. coli</i>	21 (19 patients)	72 (50 patients)	130 (83 patients)	205 (142 patients)
<i>K. pneumoniae</i>	3 (2 patients)	7 (3 patients)	9 (8 patients)	26 (14 patients)
<i>E. cloacae</i>	3	0	2	8 (7 patients)
<i>P. mirabilis</i>	4	8 (6 patients)	5 (4 patients)	5
<i>E. aerogenes</i>	0	1	7 (3 patients)	0
<i>K. oxytoca</i>	1	1	0	0
<i>P. vulgaris</i>	1	0	0	0
<i>C. freundii</i>	1	0	5 (4 patients)	0
<i>S. marcescens</i>	0	0	0	1
<i>C. koseri</i>	0	0	0	1
<i>C. amalonaticus</i>	0	0	2 (1 patient)	0
<i>P. stuartii</i>	0	2	2	0
Total	34	91	162	246
Total patient	31	63	107	165



**Figure 20 : Evolution épidémiologique des bactéries productrices de BLSE isolées au CHU de Nantes entre 2005 et 2008**

### **III) La dissémination des CTX-M**

Comme le montre l'épidémiologie des CTX-M, ces enzymes se sont disséminées sur l'ensemble de la planète et sont devenues en une quinzaine d'années les plus fréquentes des BLSE. Par quels moyens et par quels vecteurs ces enzymes ont-elles pu se disséminer aussi rapidement ? La mobilité de leur support génétique est un début d'explication mais encore faut-il que des bactéries porteuses de ces éléments soient en contact avec d'autres bactéries et que leur déplacement soit assuré par des vecteurs de dissémination. La pression de sélection due à l'usage massif des antibiotiques et la sélection de souches résistantes qui peuvent alors se disséminer est également un élément important. Plusieurs autres hypothèses peuvent également être évoquées : la mobilité des hommes entre les différents continents, favorisée par le développement des voyages professionnels ou liés aux loisirs, ou encore le rôle des animaux comme vecteurs avec une distinction entre les animaux d'élevage et les animaux domestiques

#### **1- Les animaux : réservoirs et vecteurs de dissémination des CTX-M**

##### **a) Généralités**

Diverses voies de contamination peuvent être rappelées (figure 21) :

- par la nourriture : les animaux d'élevage peuvent être porteurs de CTX-M et les transmettre à l'homme soit par le biais de l'alimentation (mode de cuisson inadapté par exemple) ou bien par contact professionnel (manuportage de bactéries résistantes, vétérinaires, agriculteurs)
- par les animaux domestiques : il existe de plus en plus souvent un contact très étroit entre les animaux de compagnie et les humains qui les entourent
- par les eaux usées : ces eaux usées si elles ne sont pas correctement traitées permettent de faire le lien entre chaque porteur de bactéries résistantes : hommes, animaux d'élevage (via l'environnement) et animaux domestiques.

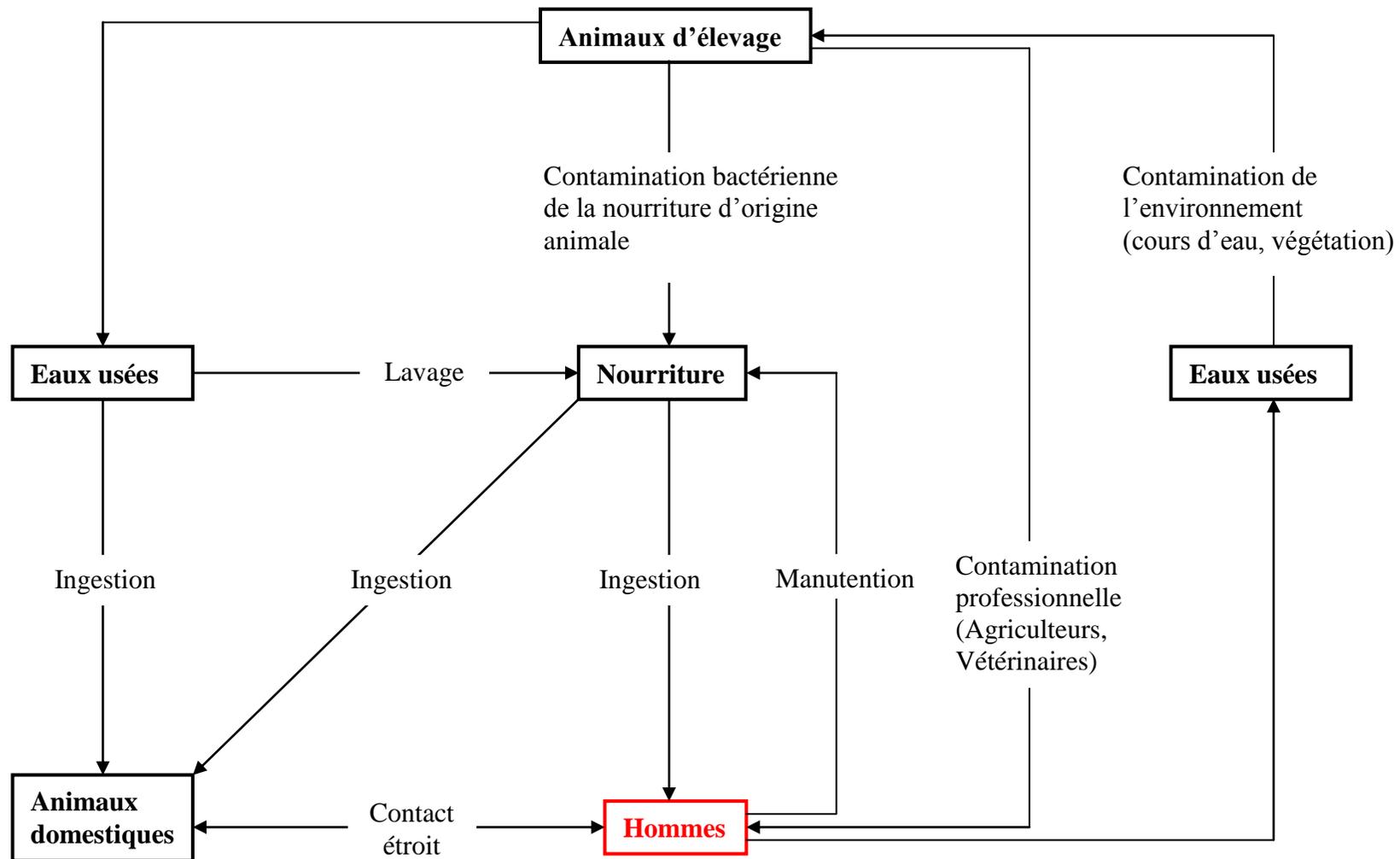


Figure 21 : Voies de dissémination des bactéries entre l'homme et l'animal [33]

## **b) Usage des antibiotiques en médecine vétérinaire**

Le marché des antibiotiques à usage vétérinaire connaît une croissance ininterrompue depuis plus de dix ans et représentait en valeur 2775 millions de dollars en 2007 soit une augmentation de 10% par rapport à 2006 [26]. Les quantités utilisées sont principalement destinées aux animaux d'élevage (environ 66%) le reste étant employé chez les animaux domestiques. Aux Etats-Unis, en 2000, 50% de la production totale d'agents antibiotiques a été employée pour les animaux [27].

Les antibiotiques peuvent être utilisés à des fins diverses chez les animaux. En effet, ils ne sont pas toujours utilisés dans le cadre de la prise en charge d'une infection ou en prophylaxie mais également dans le but d'augmenter la croissance de certains animaux d'élevage.

C'est cette dernière pratique qui est la plus soumise à la critique. En effet, les conséquences de l'utilisation des antibiotiques comme agents promoteurs de croissance ne sont pas bien connues. Ainsi leur interdiction a été décidée en 2005 en Europe [28].

Néanmoins cet usage reste en vigueur dans d'autres pays et notamment aux Etats-Unis.

L'étude des risques d'émergence de résistances bactériennes liées à l'antibiothérapie animale doit donc faire la distinction entre les antibiotiques utilisés comme promoteurs de croissance animale et ceux utilisés en traitement ou prophylaxie infectieuse.

En effet, tous les APE (Antimicrobial Promoting Enhancers) ont une utilisation exclusivement animale.

En ce qui concerne les autres antibiotiques prescrits par les vétérinaires, beaucoup de molécules utilisées ont également une autorisation de mise sur le marché en médecine humaine ou bien des molécules de la même classe d'antibiotiques sont utilisées chez l'homme. Ainsi on retrouve des pénicillines telles que l'amoxicilline associée ou non à l'acide clavulanique mais également des céphalosporines de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup> et 3<sup>ème</sup> génération (tableau III).

L'utilisation de l'antibiothérapie chez l'animal n'est pas aussi ciblée que chez l'homme. Les examens de laboratoire permettant d'identifier l'agent infectieux et sa sensibilité aux divers antibiotiques sont coûteux et donc peu réalisés en pratique. Il en résulte l'utilisation d'antibiothérapie probabiliste qui utilise des antibiotiques à large spectre afin d'augmenter les chances de succès thérapeutique. Le risque de sélectionner des résistances bactériennes aux antibiotiques est alors plus important [29].

**Tableau X : Antibiotiques bénéficiant d'une A.M.M. chez l'homme et l'animal**

	Antibiotique ayant une AMM chez l'homme			Antibiotique ayant une AMM chez l'animal			
	Voie d'administration			Voie d'administration			
	orale	Inj.	loc.	orale	Inj.	mam.	ext.
<b>Bêta-lactamines</b>							
<b>Pénicillines</b>							
<i>Pénicillines sensibles aux pénicillinases</i>							
Pénicilline G							
Bénéthaminepénicilline-benzylpénicilline sodique		X					
Benzathinebenzylpénicilline		X		X			
Benzylpénicilline potassique		X <sup>o</sup>			X		
Benzylpénicilline procaine				X	X	X	
Benzylpénicilline sodique		X		X			
Pénéthacilline iodhydrate				X			
Pénicilline V							
Phénoxyéthylpénicilline	X						
<i>Pénicillines résistantes aux pénicillinases</i>							
<b>Pénicillines M</b>							
Cloxacilline	X	X		X	X		
Dicloxacilline					X		
Nafcilline					X		
Oxacilline	X	X			X		
<i>Pénicillines à spectre élargi</i>							
<b>Pénicillines A</b>							
Amoxicilline	X	X		X	X	X	X
Amoxicilline + acide clavulanique	X	X		X	X	X	
Ampicilline	X	X		X	X	X	X
Ampicilline + subactam		X					
Bacampicilline	X						
Pivampicilline	X						
Pivmécillinam	X						
<i>Pénicillines anti-pyocyaniques</i>							
<b>carboxypénicillines</b>							
Ticarclilline		X					
Ticarclilline + acide clavulanique		X					
<b>ureidopénicillines</b>							
Mezlocilline		X					
Pipéracilline		X					
Pipéracilline + tazobactam		X					
<b>Céphalosporines</b>							
<i>Céphalosporines de première génération</i>							
Céfalexine	X			X	X	X	
Céfalexine	X			X	X	X	
Céfalonium						X	

	Antibiotique ayant une AMM chez l'homme			Antibiotique ayant une AMM chez l'animal			
	Voie d'administration			Voie d'administration			
	orale	Inj.	loc.	orale	Inj.	mam.	ext.
Céfaclor		X					
Céfaprine		X				X	X
Céfatrizine	X						
Céfazoline		X				X	
Céfadroxil	X						
<i>Céphalosporines de deuxième génération</i>							
Céfamandole		X					
Céfotaxime		X					
Céfuroxime		X				X	
Céfuroxime axétil	X						
<i>Céphalosporines de troisième génération</i>							
Céfépime		X					
Céftixime	X				X	X	
Céfopérazone		X				X	
Céfotaxime		X					
Céfotétan		X					
Céfotiam hexétil	X						
Cefpirome		X					
Cefpodoxime proxétil	X						
Cefquinome					X	X	
Cefsulodine		X					
Ceftazidime		X					
Ceftiofur					X	X	
Ceftizoxime		X <sup>o</sup>					
Ceftriaxone		X					

### **c) Les CTX-M isolées chez les animaux**

#### **→ Animaux domestiques :**

Diverses études ont pu mettre en évidence la présence d'enzymes de type CTX-M à partir de *E. coli* isolés chez des chats et des chiens. Ainsi, 7% des *E. coli* isolés à Rome entre 2001 et 2003 chez les chiens et les chats étaient résistants au céfotaxime, dont 76% producteurs d'enzymes CTX-M [30]. Ces animaux provenaient aussi bien de chenils que de particuliers. Une étude similaire menée au Portugal avait également permis d'isoler 2 souches de *E. coli* sécrétrices de CTX-M-1 ce qui représentait une prévalence de 1,4% [31]. Enfin, une étude menée en 2008 au Chili a donné des résultats éloquentes sur la présence de CTX-M chez les animaux domestiques et l'importance de la pression de sélection due à l'antibiothérapie [32]. Le profil de résistance de 70 souches de *E. coli* isolées à partir de 30 animaux domestiques (15 traités par une fluoroquinolone, l'enrofloxacin, et 15 animaux non traités) a été déterminé : aucune CTX-M n'a été identifiée chez les animaux n'ayant pas reçu l'antibiotique. En revanche, dans le groupe des animaux traités, 23% des souches étaient résistantes aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération par production d'une enzyme CTX-M. 86% des souches étaient également résistantes à l'enrofloxacin.

Malgré le faible effectif, cette étude illustre bien le rôle des co-résistances : sur un même plasmide, plusieurs gènes de résistance peuvent cohabiter. Ainsi une bactérie peut acquérir une résistance à un antibiotique auquel elle n'avait jusqu'alors jamais été exposée.

En conclusion, si le nombre d'études portant sur la recherche de bactéries productrices de CTX-M chez les animaux domestiques reste encore très faible à ce jour, toutes celles qui ont été menées ont permis d'identifier ces enzymes, ce qui prouve que les animaux domestiques constituent un réservoir de souches résistantes.

#### **→ Animaux d'élevage :**

Des bactéries productrices de CTX-M ont déjà été isolées chez la plupart des espèces d'animaux d'élevage (volaille, bœuf, porc, lapin) [33].

Le Japon a été l'un des premiers pays où des *E. coli* producteurs de CTX-M ont été mis en évidence à partir de bétail. Une étude menée entre novembre 2000 et juin 2001, c'est-à-dire au début de l'émergence des CTX-M, a montré que 1,5% des *E. coli* isolés dans les déjections du bétail et 0,7% de ceux isolés à partir des carcasses d'animaux étaient producteurs de CTX-M-2 [34].

La diffusion des CTX-M chez les animaux a ensuite suivi le même parcours que chez l'humain : des bactéries productrices de CTX-M ont été isolées chez des animaux sur tous les continents [33]. C'est en Europe que le plus grand nombre de cas a été détecté mais il faut prendre en compte le fait que c'est également en Europe que le nombre d'études menées est le plus important.

La France n'est pas épargnée ; une dernière étude menée en 2007 dans 10 abattoirs a montré une prévalence de 10,7% de *E coli* producteurs de CTX-M en particulier chez les volailles [35].

D'autre part, le RESAPATH (un réseau de surveillance des résistances bactériennes animales) a également mis en évidence par diverses études la présence de bactéries productrices de CTX-M chez de nombreuses espèces (volailles, porc, bétail) avec une prévalence générale plus faible de l'ordre de 0,7% [36].

#### **d) Facteurs favorisant la transmission de résistances bactériennes entre homme et animal**

##### *1) Deux mécanismes de transfert de résistance*

La transmission d'une résistance bactérienne entre l'homme et l'animal est possible par le biais de deux mécanismes distincts (figure 22) :

- il peut y avoir un échange direct de bactéries entre l'homme et l'animal : dans ce cas une population bactérienne de l'un s'adapte à l'organisme de l'autre lui conférant alors une nouvelle résistance à certains antibiotiques.
- Le second mécanisme repose sur l'échange de matériel génétique entre des bactéries humaines et animales. Dans ce cas, il n'y a pas d'adaptation d'une population bactérienne à un nouvel organisme mais simplement le transfert d'une information génétique permettant l'expression de nouvelles enzymes responsables de la résistance

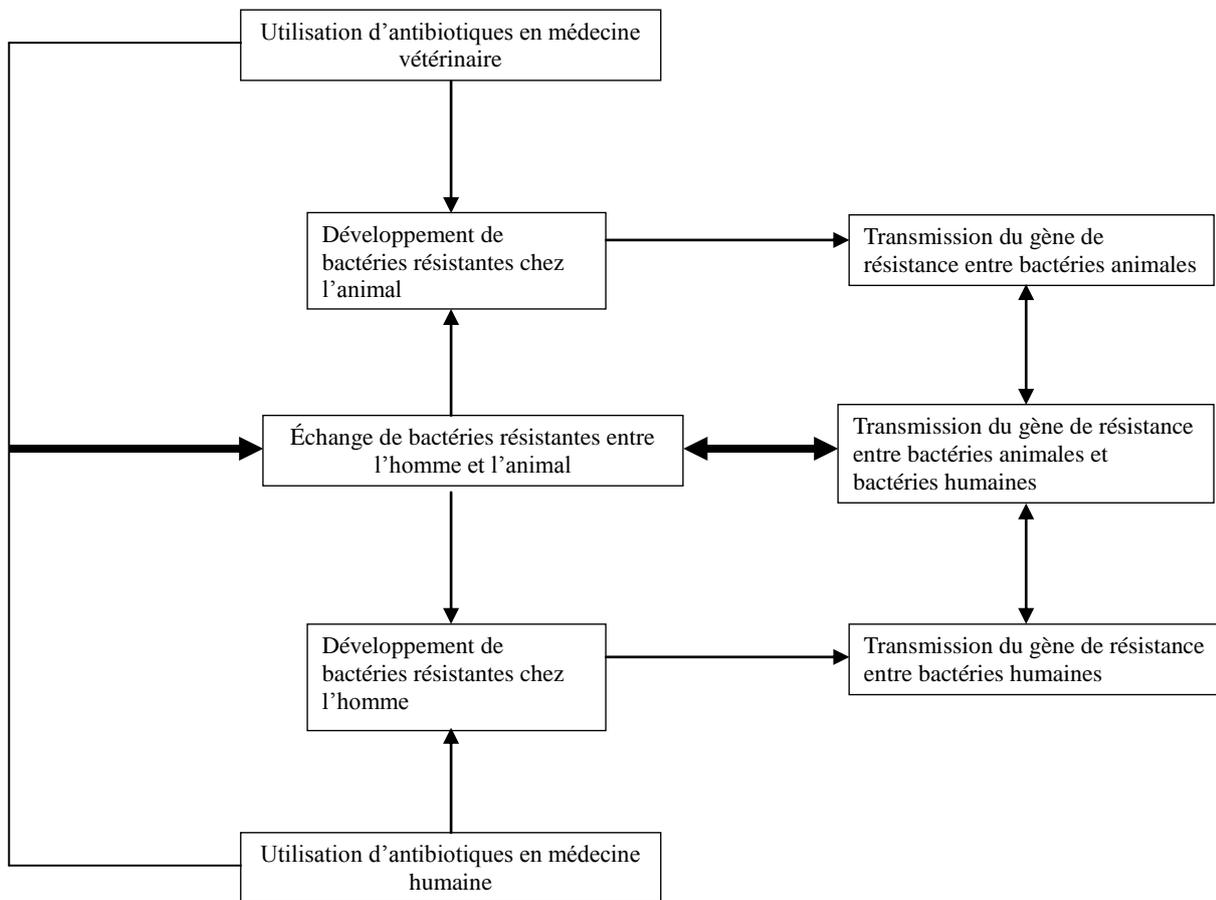


Figure 22 : Echange de résistances bactériennes entre l'homme et l'animal [33]

## 2) La mobilité plasmidique

L'étude génétique des CTX-M d'origine animale a permis d'identifier la séquence *ISEcp1* qui comme nous l'avons vu pour l'homme confère au plasmide une grande mobilité. Cette séquence d'insertion a notamment été identifiée chez des enzymes isolées à partir de volailles françaises [35,36] et tunisiennes [37].

D'autre part, le typage des souches porteuses des gènes *bla<sub>CTX-M</sub>* a confirmé la mobilité plasmidique au sein du règne animal. En effet, lorsque plusieurs isolats producteurs d'une même enzyme sont recueillis dans un élevage ou un chenil, il peut s'agir soit d'une transmission de souches, soit d'une dissémination du plasmide entre différentes souches.

C'est ce second mécanisme qui est le plus souvent identifié comme moyen de dissémination, confirmant le rôle des séquences d'insertion et du support plasmidique du gène *bla<sub>CTX-M</sub>*.

Le typage moléculaire des souches isolées sur des volailles françaises et tunisiennes a montré que celles-ci étaient toutes différentes [35,36]. La même observation avait déjà été faite sur le bétail au Japon en 2000 [34]. En ce qui concerne les animaux domestiques, le génotypage des souches de *E. coli* a également mis en évidence une grande diversité des souches [30,32].

La rapidité de dissémination des CTX-M chez les animaux est également à noter. Ainsi, une ferme du Royaume-Uni a vu la prévalence de souches productrices de CTX-M chez des veaux passer de 64% à 93% en l'espace de 6 mois avec en plus la colonisation des volailles [33]. Le génotypage a montré une grande diversité de souches confirmant le transfert plasmidique de la résistance entre différentes bactéries.

### **e) Transmission homme ↔ animal**

Un des exemples les plus intéressants est celui du Japon. Comme nous l'avons vu, il y eu au début des années 2000 une émergence des CTX-M-2 dans le bétail. Dans le même temps, des CTX-M-2 ont commencé à être isolées chez des patients hospitalisés. Or ce qui est notable au Japon, c'est que l'usage des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération n'est pas fréquent chez l'homme. En effet, ce sont les carbapénèmes et les céphamycines qui sont utilisés en première ligne de traitement.

Des bactéries productrices de CTX-M-2 ont donc été identifiées chez des patients qui n'avaient jamais reçu de céphalosporines. En revanche, les céphalosporines sont largement utilisées en antibiothérapie animale. On peut donc penser que dans ce cas il y a eu une transmission de la

résistance bactérienne de l'animal à l'homme [34].

En Europe, les céphalosporines sont utilisées en première ligne dans beaucoup d'infections ce qui rend la mise en évidence d'une origine animale plus difficile.

Néanmoins, l'échange de résistances bactériennes entre les populations humaines et animales apparaît comme plus que possible si on observe l'épidémiologie des CTX-M en médecine humaine et vétérinaire. En effet, lorsqu'un type de CTX-M est isolé chez l'homme ou l'animal on observe généralement l'apparition de la même enzyme dans l'autre population.

Les exemples sont nombreux, à commencer par la France où les CTX-M-1 et CTX-M-15 sont isolées chez l'homme comme chez l'animal [36]. C'est également le cas en Espagne où des CTX-M-9 et CTX-M-14 ont été isolées au début des années 2000 chez des volailles alors que dans le même temps les mêmes CTX-M étaient identifiées chez l'homme [33].

En Italie par exemple, l'autorisation d'utiliser en médecine vétérinaire des céphalosporines de troisième génération jusqu'ici réservées à l'usage humain a été donnée au début des années 1990. Durant la période qui a suivi une augmentation importante du nombre de CTX-M isolées chez l'homme a été constatée avec en majorité des CTX-M-1 et CTX-M-15.

Plus spécifiquement, c'est le variant CTX-M-1 qui a connu la plus grande augmentation de sa fréquence d'isolement passant de 12,5% en 1999 à 38,2% en 2003 [33].

Il est certain que l'utilisation de plus en plus fréquente des céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération exerce une pression de sélection qui est sûrement pour beaucoup dans l'expansion des CTX-M chez l'homme ; mais il est néanmoins incontestable que l'introduction de cette antibiothérapie chez l'animal correspond chronologiquement à l'émergence des CTX-M en Italie et que le nombre de bactéries porteuses circulant dans l'environnement a augmenté de façon exponentielle.

La transmission de la résistance de l'animal à l'homme semble donc très probable.

Une autre observation a été faite lors de l'étude des CTX-M chez les animaux domestiques au Chili qui semble montrer de façon incontestable l'échange de bactéries résistantes au tout au moins du gène de résistance entre l'homme et l'animal.

En effet, en déterminant le profil de résistance des *E. coli* isolés à partir des animaux domestiques, il est apparu que ces bactéries étaient également résistantes à des antibiotiques utilisés exclusivement en médecine humaine [31].

## **2- Les hommes : porteurs sains et mobilité géographique**

### **a) Le portage sain de bactéries productrices de CTX-M**

La dissémination des bactéries productrices de CTX-M passe également par l'homme. En effet, diverses études ont permis de mettre en évidence qu'il existait au sein de la population des porteurs sains de ce type de bactéries et que la proportion de ces individus est variable d'une région à l'autre [22,38,39]. Il restait alors à démontrer que ces bactéries peuvent se transmettre horizontalement, c'est-à-dire d'un homme à un autre.

Deux études espagnoles ont permis de montrer cette transmission horizontale. En effet, en effectuant une recherche de bactéries productrices de BLSE dans les selles de personnes vivant dans le même foyer qu'un patient présentant une infection avérée par ce type de bactérie, une première étude a montré que les porteurs de BLSE étaient presque 4 fois plus nombreux que dans un groupe témoin (26% vs 7,4%) [38]. Dans cette même étude, une colonisation digestive était détectée chez 67,9% des patients infectés.

Une seconde étude menée dans la région de Madrid durant la même période est arrivée à des résultats comparables avec 70% de porteurs chez les patients infectés et 16,7% chez les membres de leur entourage ; les CTX-M étaient retrouvées dans 64% des cas [39].

Ces études confirment non seulement la présence de porteurs sains de bactéries productrices de CTX-M mais elles montrent également la probable transmission horizontale croisée de ces bactéries. Un typage des souches de *E. coli* a permis de montrer qu'au sein d'une même famille on retrouvait une contamination fécale par le même clone produisant la même enzyme [39].

Mais ce mécanisme n'est pas unique puisque dans d'autres familles les clones de *E. coli* étaient différents mais sécrétaient la même enzyme et dans un nombre de cas plus restreint les clones et les enzymes étaient différents [39].

Néanmoins, il existe une limite dans l'interprétation de ces 2 études et dans leur conclusion concernant la transmission inter-humaine. En effet, la contamination primaire du malade infecté n'est pas connue avec certitude mais l'alimentation pourrait être mise en cause. Dans ce cas, c'est peut-être par ce même vecteur que les membres de l'entourage auraient pu être contaminés et pas seulement par une transmission horizontale de la bactérie.

Ainsi, même si elle est fortement suspectée cette voie de dissémination reste difficile à mettre en évidence avec certitude.

## **b) Le rôle du voyage dans la contamination par des bactéries productrices de BLSE**

Comme nous l'avons vu précédemment le portage sain de bactéries productrices de BLSE et plus particulièrement de CTX-M est un fait avéré mais le taux de portage digestif varie considérablement suivant les études et en fonction de la localisation géographique. Une étude réalisée en 2003 fait état de taux de portage allant de 1,4% au Royaume Uni à 15,4% en Arabie Saoudite [38]:

La question qui se pose alors est de savoir si la mobilité intercontinentale de l'homme peut participer à la diffusion des ces bactéries et donc s'il y a bien une transmission inter-humaine possible.

Le nombre d'étude sur les conséquences de ces voyages est limité et il est encore une fois difficile d'affirmer avec certitude la contamination de l'homme par l'homme.

Néanmoins une étude menée au Canada sur les différents facteurs de risque d'être contaminé par des bactérie productrices de BLSE a donné des résultats éloquentes : durant 2 ans (de mai 2004 à avril 2006) tous les patients admis dans les hôpitaux de la région de Calgary au Canada pour des infections dues à des bactéries productrices de BLSE ont été répertoriés et interrogés afin de déterminer les différents facteurs de risques auxquels ils avaient été exposés. Les voyages sont apparus comme étant des causes possible de contamination. Le risque relatif varie considérablement selon les régions. Ainsi, les voyages en Inde ou au Moyen-Orient donnent des risques relatifs de 145 et 18 respectivement alors que ce risque n'est que de 1,1 pour les personnes ayant voyagé en Europe [22].

Si on rapproche ces résultats aux taux de porteurs sains déterminés dans les différentes populations, on constate qu'ils sont liés : les voyages dans les zones où les porteurs sains sont les plus nombreux entraînent une augmentation importante du risque d'être contaminé.

L'interprétation est cependant délicate puisqu'un changement d'alimentation peut également être incriminé. Il est toutefois difficile d'exclure une transmission inter-humaine notamment par le péril fécal dans des zones où l'hygiène sanitaire n'est pas toujours assurée.

**PARTIE IV : LA PRISE EN CHARGE THERAPEUTIQUE  
DES INFECTIONS A BACTERIES PRODUCTRICES DE  
BLSE**

La prise en charge d'une infection due à une bactérie productrice de BLSE pose plusieurs problèmes aux cliniciens. En effet, si la résistance se limitait aux antibiotiques de la classe des pénicillines et des céphalosporines, la prise en charge serait relativement aisée car l'arsenal thérapeutique propose diverses alternatives parmi lesquelles les fluoroquinolones tiennent une place primordiale.

Le problème repose en fait sur la présence très fréquente de résistances associées à la sécrétion des enzymes de type CTX-M qui réduisent alors considérablement les choix thérapeutiques.

De plus, il ne faut pas oublier que les BLSE de type CTX-M sont des enzymes retrouvées en pathologie communautaire. Ceci a pour conséquence un nombre d'antibiotiques à disposition plus restreint et le recours à l'hospitalisation est parfois la seule possibilité pour mettre en place une thérapeutique adaptée.

Après avoir décrit les méthodes de détection et d'identification des BLSE au laboratoire, nous décrirons dans cette partie les différentes co-résistances qui sont associées à la présence d'une CTX-M, les facteurs de risque de contamination et enfin les modalités de prise en charge thérapeutiques qui en découlent.

## **I) Détection des BLSE au laboratoire**

En raison de l'augmentation de la prévalence des BLSE et compte tenu de leur capacité de diffusion rapide, les BLSE doivent être recherchées de façon systématique en laboratoire en cas de suspicion. En effet, une absence de détection ou une identification tardive d'une BLSE peut avoir pour conséquence un échec thérapeutique ou bien une diffusion de la résistance tout particulièrement en établissements hospitaliers.

### **1- Les sites de prélèvements**

Ils dépendent bien évidemment du site anatomique infecté mais également de l'objectif de la recherche :

- Dans le cas d'une infection : le plus souvent il s'agit d'un prélèvement d'urine mais tout site infecté peut faire l'objet d'un prélèvement s'il est accessible
- Dans le cas du dépistage d'une colonisation : un écouvillonnage rectal est réalisé

## **2- Les méthodes de détection des BLSE**

Les techniques de détection des BLSE au laboratoire reposent sur la mise en évidence d'une résistance aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération ou à l'aztréonam associée à une sensibilité aux inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases tels que l'acide clavulanique.

Différentes méthodes peuvent être employées : utilisation d'une méthode de double diffusion sur gélose, de bandelettes E-Test® ou de disques imprégnés avec lecture manuelle ou automatisée.

### **a) Les antibiotiques testés**

La résistance aux céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération n'est pas la même suivant le type de CTX-M sécrétée par la bactérie.

Ainsi, si la mise en culture d'une bactérie productrice de CTX-M-1 montrera une résistance au céfotaxime et une sensibilité à la ceftazidime, ce n'est pas le cas pour une CTX-M-15 qui confère une résistance à la ceftazidime et une sensibilité réduite au céfotaxime.

Dès lors, tester un seul antibiotique n'est pas suffisant. C'est par l'étude de la sensibilité des souches au céfotaxime et à la ceftazidime et par la mise en évidence d'une synergie avec un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase que la mise en évidence d'une BLSE est la plus sûre.

### **b) Le test de double diffusion sur gélose**

Cette méthode utilise des disques imprégnés d'antibiotiques déposés sur une gélose sur laquelle la bactérie à tester a été mise en culture.

La présence d'une BLSE est mise en évidence par l'apparition d'une zone d'inhibition de croissance élargie entre le disque de l'inhibiteur de  $\beta$ -lactamase et celui de l'antibiotique. Cet élargissement dit en « bouchon de champagne » est caractéristique de la synergie d'action entre antibiotique et inhibiteur de  $\beta$ -lactamase (figure 23).

### **c) Les bandelettes E-Test®**

Il s'agit de bandelettes imprégnées d'un côté de céfotaxime ou de ceftazidime et de l'autre côté du même antibiotique associé à de l'acide clavulanique.

La bactérie à tester est mise en culture et une bandelette E-test® est déposée sur la gélose.

Si la bactérie est productrice de BLSE, une synergie d'action entre l'antibiotique et l'acide clavulanique est observée (figure 24).

#### **d) Les disques imprégnés**

Cette méthode repose sur le même principe que celui des bandelettes E-Test®. Il s'agit ici de déposer sur une gélose des disques imprégnés pour certains uniquement de l'antibiotique et pour les autres des mêmes antibiotiques combinés à un inhibiteur de  $\beta$ -lactamase.

Si l'inhibition de croissance de la bactérie est plus importante pour les disques combinant antibiotique et inhibiteur de  $\beta$ -lactamase que pour ceux contenant uniquement un antibiotique c'est que la bactérie est productrice d'une BLSE (figure 25).

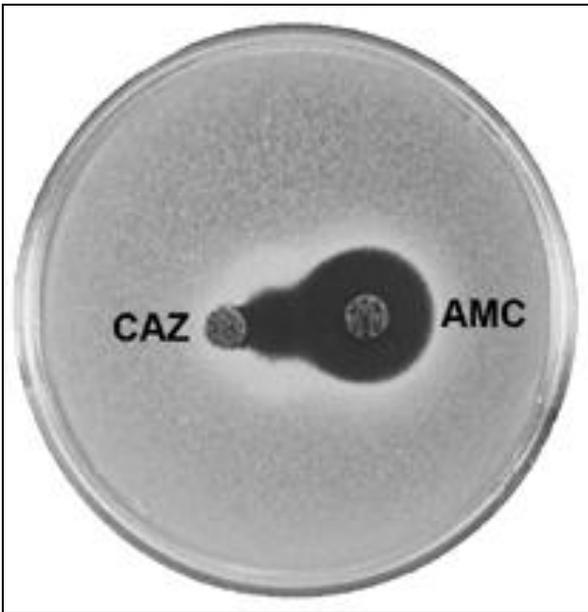


Figure 23 : Mise en évidence d'une BLSE par la méthode de double diffusion sur gélose: on observe une synergie d'action de type « bouchon de champagne » entre la ceftazidime et l'acide clavulanique [www.microbe-edu.org]

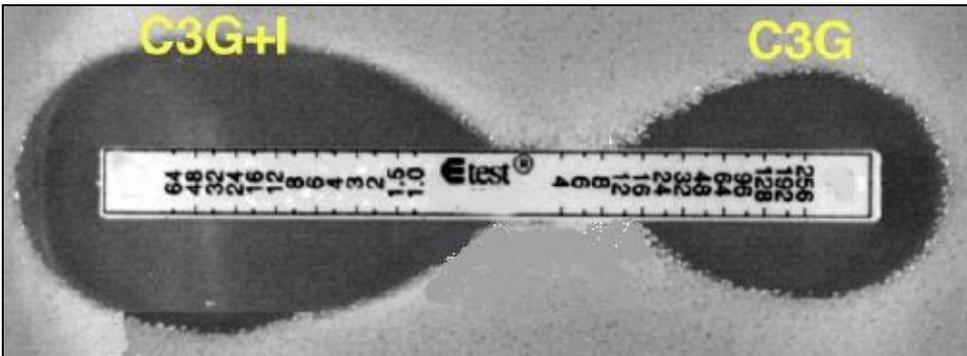
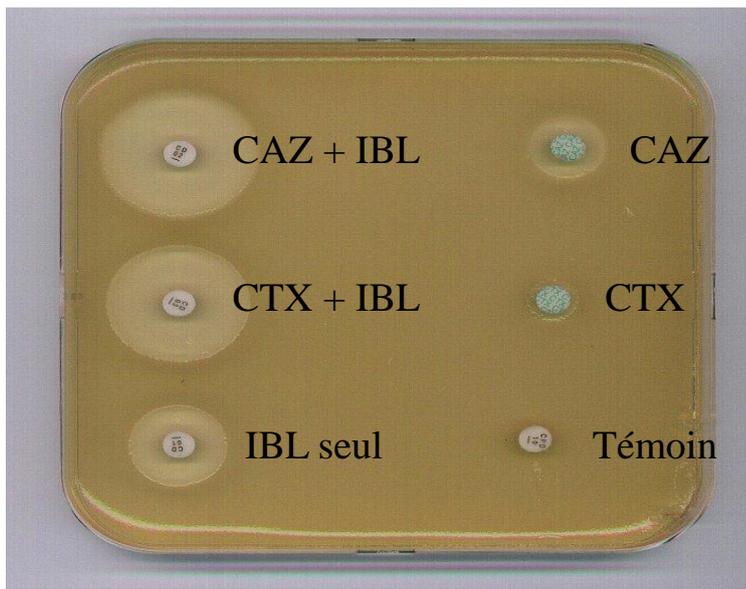


Figure 24 : Mise en évidence d'une BLSE par bandelette E-Test® [www.microbe-edu.org]



CAZ : Cefotaxime  
CTX : Céfotaxime  
IBL : Inhibiteur de  $\beta$ -lactamase

**Figure 25 : Mise en évidence d'une BLSE par la méthode des disques imprégnés : les diamètres d'inhibition de croissance sont plus importants en présence de l'inhibiteur de  $\beta$ -lactamase [www.microbe-edu.org]**

## **II- Les corésistances**

### **1- Un support essentiel : le plasmide**

Comme nous l'avons vu, le gène *bla*<sub>CTX-M</sub> est le plus fréquemment situé sur des plasmides. Outre le fait que ces éléments génétiques aient une grande mobilité, ils véhiculent fréquemment d'autres gènes de résistances. En effet, le gène *bla*<sub>CTX-M</sub> n'est pas isolé sur un plasmide mais associé à divers autres éléments. Ceux-ci peuvent être impliqués uniquement dans l'expression ou la mobilisation des gènes, c'est le cas par exemple pour la séquence *ISEcp1*, mais il peut également s'agir d'autres gènes de résistance.

Ainsi, des gènes de résistance aux aminosides, aux tétracyclines, au triméthoprime et aux sulfonamides ont fréquemment été mis en évidence associés aux gènes de type *bla*<sub>CTX-M</sub> [5,18,40,41,42,43,44,45]. Ces corésistances étaient déjà connues et fréquemment retrouvées lors de l'identification de BLSE de type TEM et SHV [40].

Dans le cas des CTX-M une résistance aux fluoroquinolones est également associée de plus en plus souvent et vient compliquer la prise en charge thérapeutique notamment en médecine communautaire où ces antibiotiques sont couramment employés dans le cas d'infections urinaires. En effet, les gènes *qnr* ou AAC6'-Ib-Cr codant pour la résistance plasmidique aux fluoroquinolones sont souvent présents sur le même plasmide que le gène *bla*<sub>CTX-M</sub> [40,41,42,43].

### **2- Des taux élevés de corésistance**

Les différents gènes *bla*<sub>CTX-M</sub> qui codent pour les différentes enzymes sont situés sur des plasmides différents. Ainsi, l'association d'autres gènes de résistance n'est pas strictement la même et des différences dans les spectres de résistance des bactéries productrices de CTX-M existent.

Néanmoins plusieurs études permettent d'avoir une bonne approche du profil général de résistance et de prendre la mesure du phénomène et donc *in fine* des risques d'échecs thérapeutiques.

Les résultats d'une étude menée en Espagne sur 285 entérobactéries (172 *E. coli* et 75 *K. pneumoniae*) productrices de BLSE (71% de CTX-M : 22% de CTX-M-9, 14% de CTX-M-14 et 14% de CTX-M-10) entre Juin 1989 et Janvier 2004 sont présentés dans le tableau IV [43]. Les résistances aux fluoroquinolones, au triméthoprime et au sulfonamides étaient spécifiquement associées aux CTX-M-9.

**Tableau XI : Taux de résistance des entérobactéries productrices de BLSE : étude espagnole réalisée sur 285 entérobactéries entre 1989 et 2004 [43]**

<b>Antibiotiques</b>	<b>Taux de résistance (%)</b>
Amikacine	6,7
Gentamicine	27,4
Tobramicine	27,4
Acide nalidixique	56,1
Ciprofloxacine	37,2
Chloramphénicol	29,1
Triméthoprim	52,3
Tétracycline	61,8
Sulfonamide	61,7

Les taux de résistance aux quinolones étaient encore plus élevés, si l'on ne s'intéressait qu'aux BLSE de type CTX-M, respectivement de 80% et 50% pour l'acide nalidixique et la ciprofloxacine.

Les résultats d'une deuxième étude dénommée TEST (Tigecycline Evaluation and Surveillance Trials) réalisée entre 2004 et 2007 dans 24 pays européens a mis en évidence les mêmes types de co-résistances (tableau V).

289 *E. coli* et 316 *K. pneumoniae* producteurs de BLSE ont été étudiés et les résultats sont les suivants [45]:

**Tableau XII : Résultats de l'étude TEST [45]**

<b>Bactéries</b>	<b>Antibiotiques</b>	<b>Taux de résistance (%)</b>
<i>E. coli</i>	Minocycline	23,2
	Levofloxacine	69,9
	Amikacine	3,8
<i>K. pneumoniae</i>	Minocycline	34,8
	Levofloxacine	42,4
	Amikacine	7,6

Les CTX-M étaient également les BLSE isolées le plus fréquemment et ce sont les CTX-M-15 qui étaient les plus nombreuses.

### 3- Le lien entre corésistance et BLSE

Si l'association de nombreuses autres résistances à celles liées à la présence de BLSE est désormais démontrée dans la plupart des cas, il est important de remarquer également que lorsqu'il n'y a pas de BLSE beaucoup de ces résistances sont également absentes.

Cette constatation a été faite dans différentes études comparant les phénotypes de résistance de bactéries productrices et non-productrices de BLSE.

Les résultats de l'étude TEST comparant les taux de résistances en bactéries productrices et non-productrices de BLSE sont présentés dans le tableau VI [45]

**Tableau XIII : Phénotype de résistance des bactéries productrices et non-productrices de BLSE (étude TEST)**

	<i>K. pneumoniae</i> productrices de BLSE	<i>K. pneumoniae</i> non-productrices de BLSE	<i>E. coli</i> producteurs de BLSE	<i>E. coli</i> non- producteurs de BLSE
Minocycline	34,8	11,3	23,2	8
Lévofloxacine	42,4	5,2	69,9	19
Amikacine	7,6	0,9	3,8	0,4

Des résultats similaires ont été trouvés lors d'une étude menée à Tel-Aviv avec des taux de résistance des bactéries productrices de BLSE de 59% et 11% à la ciprofloxacine et à l'amikacine respectivement. Ces taux n'étaient que de 8% et 0,1% chez les bactéries non-productrices de BLSE [44].

Ces observations, outre leur importance thérapeutique directe, ont surtout une importance pour comprendre l'émergence de nouvelles résistances.

En effet, la pression de sélection due à l'utilisation des antibiotiques est à l'origine de certaines résistances bactériennes comme c'est le cas pour les céphalosporines et l'apparition des BLSE.

Ces données doivent également alerter les cliniciens sur les conséquences d'un mésusage d'autres antibiotiques qui pourraient également engendrer l'apparition de BLSE.

### **III) Les facteurs de risque d'infection**

Si les études ayant pour but de mettre en évidence les différents facteurs de risque de contracter une infection par une bactérie productrice de BLSE sont nombreuses, il est difficile d'en faire la synthèse car les résultats ne sont pas toujours concordants.

Néanmoins, certains facteurs de risque significatifs ont été mis en évidence par la majorité des études.

#### **1-Le sexe des patients**

Il semblerait que les patients de sexe masculin soient plus souvent infectés par des bactéries productrices de BLSE [46,47], notamment lorsqu'il s'agit de personnes âgées (> 65 ans ) [48].

Néanmoins d'autres études n'ont pas mis en évidence de différence significative entre hommes et femmes [49,50] et une autre étude menée au Canada a conclu à un risque plus élevé pour les femmes [22].

Il est donc difficile de mettre en évidence un plus grand risque pour l'un ou l'autre des sexes.

#### **2- L'âge des patients**

La majorité des études menées ont conclu à un risque accru de contracter une infection par une bactérie productrice de BLSE chez les personnes âgées de plus de 60 ans [22,46,47,48,51]. Pour d'autres le risque augmente significativement à partir de 75 ans [49].

#### **3- Les antécédents d'hospitalisation**

Le risque de contracter une infection par une bactérie productrice BLSE augmente en cas d'antécédent récent d'hospitalisation ou de soins à domicile [46,47,48,49,50].

#### **4- Les antécédents médicaux**

C'est un des facteurs de risque pour lequel les diverses études menées donnent des résultats qui ne concordent pas toujours.

En effet, les échantillons de patients retenus pour les diverses études dépassent rarement la centaine.

En conséquence les maladies donc l'incidence est faible donnent des résultats non significatifs.

Néanmoins certaines pathologies chroniques plus fréquentes telles que le diabète de type 2 [22,47,48,49], les pathologies cardiaques [22,49] et les pathologies neurologiques [47,49] sont associées à un risque plus important d'infections par une bactérie productrice de BLSE.

Les antécédents d'épisodes infectieux et plus particulièrement les infections urinaires constituent quant à elles un facteur de risque majeur [22,46,47,48,49,50,51].

Cependant, la présence d'une infection qu'elle soit urinaire ou non dans les antécédents médicaux du patient ne peut pas être incriminée seule comme étant un facteur de risque. En effet, il semble que ce soit le traitement de ces infections par antibiothérapie qui augmente considérablement le risque de développer une infection par une bactérie productrice de BLSE.

## **5- Les antécédents d'antibiothérapie**

Retrouvés dans toutes les études, les antécédents d'antibiothérapie sont très certainement les facteurs de risques les plus importants.

La pression de sélection exercée par l'antibiothérapie a pour conséquence de sélectionner des souches résistantes et donc favorise à terme des échanges de matériel génétique générant alors des bactéries multirésistantes.

En ce qui concerne les CTX-M, deux familles d'antibiotiques sont particulièrement incriminées : les  $\beta$ -lactames et les fluoroquinolones. Toutes les études rapportent que 50 à 80% des patients présentant une infection causée par une bactérie productrices de CTX-M ont pris des  $\beta$ -lactames et/ou des fluoroquinolones durant les mois précédents [46,47,48,49,50].

S'il est évident que l'exposition aux  $\beta$ -lactames et plus spécifiquement aux céphalosporines peut générer des résistances à l'encontre de ces mêmes antibiotiques, le phénomène est beaucoup plus intéressant pour les fluoroquinolones.

Il a été montré que non seulement les antécédents d'antibiothérapie par fluoroquinolones étaient un facteur de risque pour l'émergence de bactéries productrices de CTX-M mais qu'il pouvait même être plus important que celui d'être exposé à des céphalosporines. Ainsi, une étude espagnole a rapporté que chez des patients infectés par des bactéries productrices de BLSE 41% avaient reçu des fluoroquinolones dans les 2 mois précédents l'infection alors qu'ils étaient seulement 10% à avoir consommé des céphalosporines [48].

L'usage abusif des fluoroquinolones peut exercer une pression de sélection qui non seulement

entraîne une résistance à l'antibiotique utilisé mais cosélectionne par la même occasion des gènes codant pour la production de BLSE.

En conclusion, la mise en place d'une antibiothérapie probabiliste doit prendre en compte ces nouvelles données, plus particulièrement pour la prise en charge des infections urinaires en ville pour lesquelles les fluoroquinolones sont très couramment employées de façon empirique.

L'utilisation d'autres antibiotiques comme alternatives est donc à étudier.

En milieu hospitalier, la facilité du recours à la voie parentérale et la disponibilité d'antibiotiques de large spectre permet de mieux prendre en charge ces infections mais ne garantit pas toujours le succès thérapeutique et est à l'origine de l'émergence de nouvelles résistances.

Dans cette partie nous verrons quels antibiotiques sont actifs sur les bactéries productrices de CTX-M et quels résultats thérapeutiques ils permettent d'obtenir.

Le problème de la prise en charge de ces infections en ville sera également largement abordé afin d'étudier les alternatives thérapeutiques qu'il reste aux cliniciens de ville.

Enfin, nous étudierons également les risques liés à la mise en place de traitements empiriques pour traiter des infections à bactéries productrices de CTX-M.

## **IV) Les traitements**

Devant les très nombreuses bactéries qui peuvent produire des CTX-M et donc la multiplicité des pathologies concernées par ce type d'infections, nous aborderons principalement ici les infections dues aux *E. coli* et *K. pneumoniae*.

### **1- La pathogénicité des souches productrices de CTX-M**

Les infections dues à des germes résistants producteurs de CTX-M sont très variées, aussi bien dans leur localisation anatomique que dans leur gravité.

Ainsi, ces bactéries sont impliquées dans la survenue d'infections urinaires hautes ou basses, d'atteinte pulmonaire, d'infection péritonéale mais également dans la survenue de septicémies qui peuvent être fatales [52].

Néanmoins, on peut faire une distinction entre la pathogénicité des souches hospitalières et communautaires.

En médecine communautaire, les *E. coli* producteurs de CTX-M sont isolés majoritairement dans le

cas d'infections urinaires.

Une étude espagnole menée entre 2002 et 2003 a montré que les patients atteints d'une infection à *E. coli* producteurs de CTX-M souffraient à 92% d'une infection urinaire, les autres étant atteints de septicémie (5%), d'abcès (2%) ou d'infection péritonéale (1%) [53].

Dans une autre étude, les cystites représentaient 95% des cas [53] ; les revues cliniques donnent elles des pourcentages de l'ordre de 75% suivant les pays et les périodes d'étude [54].

En ce qui concerne les cas d'infections par bactéries productrices de CTX-M isolées à l'hôpital, les pathologies sont plus variées et les septicémies plus fréquentes. Cependant, l'origine de l'infection n'est pas toujours connue avec certitude. Ainsi, beaucoup de septicémies sont consécutives à des infections primaires mal soignées telles que les infections urinaires ou certains abcès. Une contamination lors d'un geste invasif (pose d'une voie veineuse, intervention chirurgicale) peut également intervenir.

## **2- Le traitement antibiotique des infections à germes producteurs de BLSE à l'hôpital**

### **a) Les carbapénèmes : des molécules de choix**

#### *1) Une efficacité proche de 100 %*

Parmi tout l'arsenal thérapeutique antibiotique dont disposent les cliniciens, ce sont les carbapénèmes qui semblent être les plus efficaces pour traiter une infection à bactéries productrices de CTX-M.

Toutes les études menées ont montré une sensibilité des souches productrices de CTX-M de l'ordre de 100% et ont conclu qu'il s'agissait probablement de la meilleure option thérapeutique dans le traitement de ces infections [18,52,53,55].

Les résultats de l'étude MYSTIC (Meropenem Yearly Suceptibility Test Information Collection) illustrent bien cette efficacité (tableau VII) : la sensibilité au méropénème est proche de 100% dans la plupart des pays où sont isolées les souches productrices de CTX-M et plus largement de BLSE. Cette étude montre également une stabilité dans le temps de la sensibilité des souches entre 2001 et 2006 [18].

L'efficacité des carbapénèmes a été confirmée *in vivo* par diverses études avec des taux de succès thérapeutique oscillant entre 90 et 95% [52].

### 2) Des différences d'efficacité suivant les molécules

Différentes molécules appartenant à la classe des carbapénèmes sont commercialisées : le méropénème, l'imipénème, le doripénème et l'ertapénème.

Toutes ces molécules ont fait l'objet d'études quant à leur efficacité sur les bactéries productrices de CTX-M et elles ont toutes montré une très bonne efficacité [55,56,57,58].

Néanmoins, des différences d'activité ont pu être mises en évidence dans une étude récente qui a testé l'activité des différents carbapénèmes sur plus de 36000 entérobactéries. Il en ressort que le méropénème et le doripénème sont les deux molécules les plus efficaces que les bactéries soient productrices ou non de BLSE.

Le doripénème serait même la molécule de choix puisqu'elle est active aux concentrations les plus faibles permettant alors de limiter au maximum la survenue d'effets indésirables (toxicité rénale et neurologique notamment) [55].

### 3) L'émergence de résistances aux carbapénèmes

L'étude MYSTIC a mis en évidence que des résistances aux carbapénèmes émergeaient chez les bactéries productrices de BLSE. Ce phénomène a été montré plus spécifiquement chez des bactéries productrices de BLSE de type CTX-M. Ainsi, en 2008, une bactérie résistante aux carbapénèmes et productrice de l'enzyme CTX-M-67 a été isolée dans le liquide péritonéal d'une patiente hospitalisée à Madrid [59].

La même année, un *E. coli* isolé à partir de liquide pleural d'un patient hospitalisé à Ankara (Turquie) et une *K. pneumoniae* isolée dans les urines d'une patiente d'un hôpital de Elazig (Turquie) ont montré une résistance aux carbapénèmes via la sécrétion d'une carbapénémase. Ces 2 souches étaient également productrices de CTX-M [60].

Tableau XIV : Sensibilité aux céphalosporines à large spectre et aux carbapénèmes des *E. coli* et des *K. pneumoniae* suivant les régions du monde [56]

Resistance rates of selected enterobacteria to extended-spectrum cephalosporins and carbapenems					
Country	Year	Resistance rate in percentage (total number of isolates tested)			
		<i>E. coli</i>		<i>Klebsiella</i> spp.	
		ESC <sup>a</sup>	Carbapenems <sup>b</sup>	ESC	Carbapenems
United States	2000	2 (312)	0 (312)	6.6 (233)	2.1 (233)
	2006	7.2 (640)	0 (312)	16.5 (619)	9 (619)
Canada	2000	15 (33)	0 (33)	0 (17)	0 (35)
	2006	31.5 (73)	0 (73)	20.8 (120)	1 (120)
Mexico	2000	31 (39)	0 (39)	15.4 (52)	0 (52)
	2006	72 (108)	1 (108)	42.1 (76)	0 (76)
Brazil	2000	8 (24)	0 (24)	54 (24)	0 (24)
	2006	16.5 (139)	0 (139)	54 (170)	0.6 (170)
Australia	2000	8 (13)	0 (13)	0 (19)	0 (19)
	2006	0 (45)	0 (45)	4 (55)	0 (55)
Israel	2000	15.8 (19)	0 (19)	43.5 (23)	0 (23)
	2006	21 (19)	5 (19)	56.5 (23)	13 (23)
Turkey	2000	27.6 (203)	1.5 (203)	61 (194)	2 (194)
	2006	45.2 (272)	0.4 (272)	54.7 (245)	4 (246)
Russia	2000	43 (16)	0 (16)	84 (19)	0 (19)
	2006	20 (20)	0 (20)	85 (20)	0 (20)
Poland	2000	47.4(19)	0 (19)	95 (22)	0 (22)
	2006	30 (20)	0 (20)	35 (40)	0 (40)
Czech Republic	2000	0 (19)	0 (19)	39 (18)	0 (18)
	2006	5 (20)	0 (20)	40 (20)	0 (20)
Belgium	2000	5 (166)	0 (166)	19.3 (140)	0 (140)
	2006	10.4 (182)	0 (182)	21 (196)	0 (196)
Germany	2000	3 (134)	0 (134)	8.2 (102)	0 (102)
	2006	13.2 (91)	1 (91)	16.2 (74)	1.3 (74)
Sweden	2000	0 (20)	0 (20)	0 (10)	0 (10)
	2006	2.7(148)	0 (148)	1.2 (82)	1.2 (82)
United Kingdom	2000	6.5 (92)	0 (92)	23.6 (72)	0 (72)
	2006	15 (67)	1.5 (67)	17 (47)	0 (47)
Spain	2000	3.7 (63)	0 (63)	1.8 (56)	0 (56)
	2006	16 (113)	0 (111)	12.4 (137)	0 (137)

Data from MYSTIC ([www.mystic-data.org](http://www.mystic-data.org)).

<sup>a</sup> Extended-spectrum cephalosporins (e.g. cefotaxime, ceftazidime, ceftriaxone, and aztreonam). Resistant phenotype defined as MIC  $\geq$  2  $\mu$ g/ml.

<sup>b</sup> Carbapenems (i.e. imipenem, meropenem, and ertapenem). Resistant phenotype defined as MIC  $\geq$  8  $\mu$ g/ml.

## **b) La tigécycline**

Il s'agit d'un antibiotique appartenant à la famille des glycylycyclines qui a montré une efficacité in vitro très importante vis-à-vis des bactéries productrices de BLSE.

L'étude TEST (Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial) menée en Europe 2004 et 2005 a mis en évidence une sensibilité à la tigécycline de 91,5% pour les *K. pneumoniae* et de 100% pour les *E. coli* producteurs de BLSE [45]. Des résultats similaires ont été retrouvés par une équipe espagnole avec une sensibilité moyenne des souches de l'ordre de 97,5% [43].

Les études cliniques de la tigécycline sont rares mais une revue clinique récente a mis en évidence des taux de succès thérapeutique de l'ordre de 90% et 55% pour les *E. coli* et *K. pneumoniae* producteurs de BLSE respectivement [45]. Il s'agissait essentiellement de pathologies lourdes chez des patients hospitalisés plusieurs semaines. Cet antibiotique n'est pas adapté au traitement des infections urinaires en raison d'une faible excrétion urinaire sous forme active.

En conclusion, la tigécycline est une alternative de choix aux carbapénèmes dans la prise en charge d'infections, notamment abdominales, dues à des *E. coli* producteurs de CTX-M ; elle est plus discutable dans le cas de *K. pneumoniae* qui montre une sensibilité aux carbapénèmes un peu plus importante qu'à la tigécycline [40,43,45,54].

C'est une molécule pour laquelle on a peu de recul mais qui semble très bien tolérée. Ses effets indésirables sont essentiellement digestifs et elle n'est contre-indiquée qu'en cas d'hypersensibilité et chez les patients de moins de 8 ans.

Pour conclure, les carbapénèmes restent les molécules de référence en cas d'infections à bactéries productrices de CTX-M mais leur utilisation connaît certaines limites :

- l'émergence de résistance : métalloenzymes, enzymes de type KPC....
- l'impossibilité d'une utilisation communautaire : en effet, seul l'imipenem (Tiénam®) est disponible en ville et son usage exclusivement parentéral rend sa prescription délicate surtout lorsqu'il s'agit majoritairement de la prise en charge d'infections urinaires basses et non compliquées.

En conséquence, l'étude d'alternatives thérapeutiques doit être faite d'une part pour limiter l'usage des carbapénèmes et l'émergence de nouvelles résistances bactériennes et d'autre part pour apporter une réponse thérapeutique adaptée à la médecine communautaire.

### **3- Activités des autres antibiotiques**

#### **a) Les aminosides**

Aux Etats-Unis, le taux de résistance aux aminosides des bactéries productrices de BLSE est inférieur à 10% [61] mais reste néanmoins 2 à 3 fois plus élevé que chez les bactéries non productrices de BLSE.

Diverses études en Europe ont montré des résultats du même ordre. Une étude espagnole a même montré une efficacité de 100% de l'amikacine sur des *E. coli* producteurs de CTX-M. Dans une autre étude menée à Madrid cette efficacité était de 93% [43,53].

Plus généralement, c'est l'amikacine qui est l'aminoside le plus efficace dans la prise en charge de ces infections et certains auteurs considèrent que son utilisation en première intention est possible en association avec un carbapénème en cas de sepsis sévère [62].

Néanmoins, ces molécules ont une toxicité rénale et cochléo-vestibulaire importante qui impose des dosages sanguins réguliers.

#### **b) L'association $\beta$ -lactamine / inhibiteur de $\beta$ -lactamase**

L'utilisation d'une telle association repose sur la définition même d'une BLSE et sur une efficacité visible *in vitro*.

En pratique, 2 types d'associations sont utilisées :

- Amoxicilline (pénicilline A) et acide clavulanique
- Pipéracilline (Uréidopénicilline) et tazobactam

Leur efficacité a été démontrée *in vitro* dans plusieurs études :

- sur 45 souches productrices de BLSE (dont 70% de CTX-M) isolées entre janvier 2001 et mars 2005 en Espagne, 95% étaient sensibles à l'association pipéracilline / tazobactam et 67% à l'Amoxicilline associée à l'acide clavulanique [62].
- Dans une étude rétrospective menée entre 2001 et 2002 sur 135 souches productrices de BLSE provenant de différents continents, l'association  $\beta$ -lactamine / inhibiteur de  $\beta$ -lactamase s'est révélée efficace dans 87,5% des cas [63]

Néanmoins, il faut signaler que dans ces études les carbapénèmes donnaient toujours des résultats supérieurs. Compte tenu de ces résultats, l'association  $\beta$ -lactamine/inhibiteur de  $\beta$ -lactamase pourrait constituer une alternative intéressante dans le traitement des infections urinaires si l'activité est démontrée *in vitro* mais n'est pas recommandée en usage empirique [18,62].

### **c) Les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération**

Les CTX-M sont par définition actives sur les céphalosporines de 3<sup>ème</sup> génération et ces antibiotiques ne sont pas préconisés dans le traitement des infections à bactéries productrices de BLSE. Néanmoins leur spectre d'action peut être limité plus spécifiquement à une céphalosporine.

Dans une étude prospective chinoise : 22 patients atteints d'une infection due à un germe producteur de CTX-M non active sur la ceftazidime (germes sensibles ou intermédiaires selon les critères du Clinical and Laboratory Standards Institute) ont été répartis en 3 groupes recevant chacun une thérapeutique différente.

L'un des groupes était traité par la ceftazidime, un autre par l'imipénème et le dernier recevait une association cefoperazone/sulbactam (C3G plus inhibiteur de  $\beta$ -lactamase).

Les résultats ont montré une efficacité équivalente pour chacune des 3 thérapeutiques avec un taux de succès de 85,7%, 87,5% et 71,4% pour la ceftazidime, l'imipénème et la cefoperazone/sulbactam respectivement [64].

Par ailleurs, une autre étude a montré un taux de succès clinique de seulement 43% lors de l'utilisation de ceftazidime pour des infections à bactéries qui étaient sensibles à cet agent *in vitro* [54] remettant en cause les résultats de l'étude chinoise.

#### **d) Les céphalosporines de 4<sup>ème</sup> génération (C4G)**

Le céfépime est une C4G d'usage hospitalier hydrolysé par les BLSE et qui n'est donc pas préconisé pour la prise en charge d'infections à bactéries productrices de BLSE.

Cependant une certaine efficacité clinique dans la prise en charge de patients infectés par une bactérie productrice de CTX-M pourrait exister.

Ainsi, une étude menée dans un hôpital de New-York (Etats-Unis) a montré un taux de succès clinique chez 77% des patients traités par céfépime [65].

Néanmoins, des études comparatives d'efficacité vis-à-vis des carbapénèmes ont montré une moindre efficacité des C4G [18,66].

### **4- La prise en charge des infections à BLSE en médecine communautaire**

Le recours à la voie parentérale est très délicat à mettre en place en ville : il demande non seulement des moyens matériels (set de perfusion, pied à sérum, pousse-seringue électrique éventuel) mais également des moyens humains importants (médecin, pharmacien et une infirmière plusieurs fois par jour). De plus, il est très difficile d'assurer un suivi médical quotidien.

En conséquence, c'est vers les alternatives thérapeutiques administrables par voie orale que les cliniciens doivent se tourner. Mais le nombre croissant de co-résistances rend le choix d'un traitement difficile si l'on exclut les traitements probabilistes tels que les fluoroquinolones.

Ainsi, c'est le recours à des antibiotiques plus anciens tels que les nitrofuranes ou bien la fosfomycine qui serait à privilégier.

Dans une étude rétrospective française menée entre 2000 et 2005 sur 19618 bactéries isolées d'ECBU positifs, il est ressorti que seules trois familles d'antibiotiques possédaient des taux de sensibilité supérieur à 80% : les fluoroquinolones, les nitrofuranes et la fosfomycine. De plus, les auteurs remarquaient une baisse significative de la sensibilité aux fluoroquinolones sur les cinq ans d'études alors que pour les nitrofuranes et la fosfomycine c'est au contraire une évolution favorable de la sensibilité qui a été observée [67].

#### **a) Les nitrofuranes**

Cette classe d'antibiotiques découverte au début des années 1950 n'est plus représentée en France que par la nitrofurantoïne (FURADANTINE®) pour la prise en charge d'infections urinaires basses non compliquées. Suite à la mise sur le marché des fluoroquinolones dans les années 1960, les

nitrofuranes ont été de moins en moins utilisés et leurs prescriptions étaient devenues rares.

Avec l'apparition des nouvelles résistances bactériennes, les nitrofuranes sont une alternative intéressante pour la prise en charge de ces infections avec de faibles taux de résistance notamment chez les *E. coli* retrouvés dans la majorité des infections urinaires communautaires.

En France, en 2005 on retrouvait une sensibilité des *E. coli* aux nitrofuranes de l'ordre de 97% [67]. Une étude américaine menée durant la même période a donné des résultats similaires avec un taux de résistance de 2,3% [68].

Etant donnée la prévalence des *E. coli* producteurs de CTX-M en médecine communautaire qui se situe entre 5 et 10% suivant les régions, il semble bien que les nitrofuranes possèdent également une activité sur ces bactéries.

En conséquence, l'utilisation des nitrofuranes est une alternative possible pour la prise en charge d'infections urinaires basses non compliquées retrouvées en médecine communautaire généralement causées par des *E. coli* [53,54,67,68,69].

Néanmoins, il faut signaler une limite à leur utilisation et notamment en milieu hospitalier : c'est le taux de résistance important des *K. pneumoniae* qui est de l'ordre de 45%. Il a de plus été montré que ce taux de résistance aux nitrofuranes était plus important chez les *K. pneumoniae* productrices de BLSE que chez les autres [67].

### **b) La fosfomycine**

Cet antibiotique a fait l'objet de nombreuses études récentes notamment pour la prise en charge des infections à bactéries productrices de BLSE pour lesquelles un faible taux de résistance a été montré.

En 2005, dans une étude française, le taux de résistance à la fosfomycine était de 6,1% pour l'ensemble des entérobactéries. Si on s'intéresse aux seuls *E. coli* ce taux n'était alors plus que de 0,3% [67]. Ces chiffres ont été confirmés par d'autres études menées à la même période pour lesquelles on retrouvait des taux de sensibilité de 99% dans une étude italienne [35] et de 94,3% dans une étude turque [70].

Si on s'intéresse plus particulièrement aux *E. coli* communautaires producteurs d'enzyme de type BLSE, une étude espagnole a montré une sensibilité de 100% à la fosfomycine, c'est-à-dire le même niveau de sensibilité que pour le méropénème également testé dans cette étude.

Dans cette même étude, le taux de succès thérapeutique lors de la prise en charge par de la

fosfomycine en dose unique (3 Grammes) d'une infection à *E. coli* producteurs de BLSE était de 93% [53].

En Turquie, en 2006, l'efficacité clinique de la fosfomycine (3 Grammes le soir pendant 3 jours) dans la prise en charge d'une infection urinaire à *E. coli* était de 94,3% [70].

De plus, le taux de résistance à la fosfomycine n'augmente pas depuis plusieurs années voire régresse contrairement à celui des autres antibiotiques et notamment des fluoroquinolones [67,71].

Néanmoins ce résultat semble être remis en cause par une récente étude espagnole qui a mis en évidence une augmentation de 50% de la résistance à la fosfomycine chez un clone particulier de *E. coli* dénommé O25b-ST131 et producteur d'une BLSE de type CTX-M-15. Le taux de résistance a bondi de 2,2% en 2004 à 21,7% en 2008 [72].

L'utilisation de la fosfomycine en traitement de première intention pour la prise en charge des infections urinaires basses en ville semble donc être le meilleur choix à l'heure actuelle.

## Conclusion

Découvertes au début des années 1990, les BLSE de type CTX-M sont devenues rapidement les plus fréquentes et l'incidence des souches bactériennes productrices de ces enzymes ne cesse d'augmenter. D'origine communautaire, cette nouvelle résistance bactérienne est retrouvée principalement chez *E.coli*, notamment isolés d'infections urinaires hautes ou basses. Le gène de résistance *bla*<sub>CTX-M</sub> est situé sur un plasmide et de nombreux autres gènes de résistance notamment aux fluoroquinolones et au triméthoprim-sulfaméthoxazole lui sont fréquemment associés donnant naissance à des bactéries multirésistantes. Les alternatives thérapeutiques sont alors restreintes aux carbapénèmes pour le traitement des infections sévères ou à des antibiotiques tels que les nitrofuranes ou la fosfomycine pour la prise en charge des infections urinaires en médecine communautaire. Isolées chez l'homme mais également chez diverses espèces animales et dans la nourriture les enzymes de type CTX-M sont détectées partout où elles sont recherchées, démontrant alors leur très grande capacité de dissémination.

La lutte contre ces nouvelles résistances bactériennes est donc un enjeu important de santé publique. Elle passe tout d'abord par la maîtrise de la prescription des antibiotiques et peut-être à terme la remise en cause de certains traitements probabilistes qui ne sont plus adaptés. D'autre part, les réseaux de surveillance des résistances bactériennes jouent un rôle essentiel. En effet, s'ils sont très présents en milieu hospitalier et permettent d'adapter rapidement les recommandations quant au bon usage des antibiotiques, leur action est plus limitée en ville où il est difficile de recueillir l'ensemble des données. Il est alors important que les laboratoires d'analyses médicales participent activement à cette vigilance afin de permettre l'établissement de nouvelles recommandations pour la pratique médicale communautaire. Le pharmacien d'officine enfin doit lui aussi être impliqué dans cette lutte, tout d'abord en se tenant informé des nouvelles résistances émergentes, mais également en étant vigilant face à la multiplication des prescriptions d'antibiotiques chez un même patient. Des conseils simples d'hygiène doivent être rappelés au patient lors de son passage à l'officine. C'est par la coopération des divers réseaux de surveillance et professionnels de santé que la dissémination des bactéries productrices de CTX-M pourra être limitée.

## Références bibliographiques

1. J-D. Cavallo, R. Fabre, F. Jehl, C. Rapp, E. Garrabé, Beta-lactam antibiotics. *EMC-Maladies infectieuses 1* (2004), 129-202.
2. A. Bryskier. *Antibiotiques, Agents anti-bactériens et antifongiques*. Ellipses (1999).
3. J. Nicklin, K. Graeme-Cook, T. Paget, R. Killington, *L'essentiel en microbiologie*. Berti Editions (2000).
4. D.M. Livermore,  $\beta$ -lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin Microbiol Rev* (1995), 557-584.
5. R. Bonnet. Minireview : growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases : the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* (2004) 48, 1-14.
6. L. Poirel, T. Naas, P. Nordmann. Genetic support of extended-spectrum  $\beta$ -Lactamases. *Clin Microbiol Infect* (2008) 14 (Suppl. 1), 75-81.
7. L. Poirel, J-W Decousser, P. Nordmann. Insertion sequence *ISEcp1B* is involved in expression and mobilization of *bla*<sub>CTX-M</sub>  $\beta$ -lactamases gene. *Antimicrob Agents Chemother* (2003) 47, 2938-2945.
8. C. Humeniuk, G. Arlet, V. Gautier, P. Grimont, R. Labia, A. Philippon.  $\beta$ -Lactamases of *Kluyvera ascorbata*, probable progenitors of some plasmid-encoded CTX-M types. *Antimicrob Agents Chemother* (2002) 46, 3045-3049.
9. M. Rodríguez, P. Power, M. Radice, C. Vay, A. Famiglietti, M. Galleni, J.A. Ayala, G. Gutkind. Chromosome-encoded CTX-M-3 from *Kluyvera ascorbata* : a possible origin of plasmid-borne CTX-M-1-derived cefotaximases. *Antimicrob Agents Chemother* (2004) 48, 4895-4897.
10. Y. Chen, B. Shoichet, R. Bonnet. Structure, function and inhibition along the reaction coordinate of CTX-M  $\beta$ -Lactamases. *J Am Chem Soc* (2005) 127(15), 5423-5434.
11. Y. Chen, J. Delmas, J. Sirot, B. Shoichet, R. Bonnet. Atomic resolution structures of CTX-M  $\beta$ -lactamases : extended spectrum activities from increased mobility and decreased stability. *J Mol Biol* (2005) 348, 349-362.
12. J. Delmas, Y. Chen, F. Prati, F. Robin, B.K. Shoichet, R. Bonnet. Structure and dynamics of CTX-M enzymes reveal insights into substrate accommodation by extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *J Mol Biol* (2008) 375, 192-201.
13. A. Ibuka, A. Taguchi, M. Ishiguro, S. Fushinobu, Y. Ishii, S. Kamitori, K. Okuyama, K. Yamaguchi, M. Konno, H. Matsuzawa. Crystal structure of the E166A mutant of extended spectrum  $\beta$ -Lactamase Toho-1 at 1.8 Å resolution. *J Mol Biol* (1999) 285, 2079-2087.
14. L. Poirel, M. Gniadkowski, P. Nordmann. Biochemical analysis of the ceftazidime-hydrolysing extended-spectrum  $\beta$ -lactamase CTX-M-15 and of its structurally related  $\beta$ -lactamase CTX-M-3. *J Antimicrob Chemother* (2002) 50, 1031-1034.

15. T. Shimamura, A. Ibuka, S. Fushinobu, T. Wakagi, M. Ishiguro, Y. Ishii, H. Matsuzawa. Acyl-intermediate structures of the extended-spectrum classA  $\beta$ -lactamase, Toho-1, in complex with cefotaxime, cephalothin, and benzylpenicillin. *J Biol Chem* (2002) 277, 46601-46608.
16. G. Celenza, C. Luzi, M. Aschi, B. Segatore, D. Setacci, C. Pellegrini, C. Forcella, G. Amicosante, M. Perilli. Natural D240G Toho-1 mutant conferring resistance to ceftazidime : biochemical characterization of CTX-M-43. *J Antimicrob Chemother* (2008) 62, 991-997.
17. D.L. Paterson, R.A. Bonomo. Extended-Spectrum  $\beta$ -Lactamase: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* (2005), 657-686.
18. F. Perez, A. Endimiani, K.M Hujer, R.A Bonomo. The continuing challenge of ESBLs. *Curr Opin Pharmacol* (2007) 7, 459-469.
19. P. Kiratisin, A. Apisarnthanarak, C. Laesripa, P. Saifon. Molecular characterization and epidemiology of Extended-Spectrum- $\beta$ -Lactamase-Producing *E. coli* and *K. pneumoniae* isolates causing health care-associated infection in Thailand where the CTX-M family is endemic. *Antimicrob Agents Chemother* (2008), 2818-2824.
20. D.M. Livermore, R. Canton, M. Gniadkowski, P. Nordmann, G.M. Rossolini, G. Arlet, J. Ayala, T.M. Coque, I. Kern-Zdanowicz, F. Luzzaro, N. Woodford. CTX-M : changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* (2007) 59, 165-174.
21. M.H. Nicolas-Chanoine, V. Jarlier, 'La Collégiale' de Bactériologie-Virologie-Hygiène Hospitalière de l'Assistance Publique, Hôpitaux de Paris, France. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in long-term-care facilities. *Clin Microbiol Infect* (2008) 14 (Suppl.1), 111-116.
22. K.B. Laupland et al., Community-onset extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) producing *E. coli*: Importance of international travel. *J Infect* (2008).
23. Living with ESBLs. *Clin Microbiol Infect* (2008) 14 (Suppl.1), 1-2.
24. C. Giraud-Morin and T. Fosse. Évolution récente et caractérisation des entérobactéries productrices de BLSE au CHU de Nice (2005–2007). *Path Biol* xxx (2008) xxx–xxx.
25. L. Brasme, P. Nordmann, F. Fidel, M. F. Lartigue, O. Bajolet, L. Poirel, D. Forte, V. Vernet-Garnier, J. Madoux, J. C. Reveil, C. Alba-Sauviat, I. Baudinat, P. Bineau, C. Bouquigny-Saison, C. Eloy, C. Lafaurie, D. Simeon, J. P. Verquin<sup>1</sup>, F. Noel, C. Strady, C. De Champs. Incidence of class A extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in Champagne-Ardenne (France): a 1 year prospective study. *J Antimicrob Chemother* (2007) 60, 956–964.
26. IFAH annual report 2007. [www.ifahsec.org](http://www.ifahsec.org).
27. A.E. van den Bogaard, E.E. Stobberingh. Epidemiology of resistance to antibiotics : links between animals and humans. *Int J Antimicrob Agents* (2000) 14, 327-335.
28. Rapport de l'Agence Française de Sécurité Sanitaire des Aliments. Usage vétérinaire des antibiotiques, résistance bactérienne et conséquences pour la santé humaine (2006).
29. L. Guardabassi, S. Schwarz, D.H. Lloyd. Pet animals as reservoir of antimicrobial-resistant bacteria. *J Antimicrob Chemother* (2004) 54, 321-332.

30. A. Carattoli, S. Lovari, A. Franco, G. Cordaro, P. Di Matteo, A. Battisti. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *E. coli* isolated from dogs and cats in Rome, Italy, from 2001 to 2003. *Antimicrob Agents Chemother* (2005), 833-835.
31. D. Costa, P. Poeta, Y. Saenz, A.C. Coelho, M. Matos, L. Vinué, J. Rodrigues, C. Torres. Prevalence of antimicrobial resistance and resistance genes in faecal *E. coli* isolates recovered from healthy pets. *Vet Microbiol* (2008) 127, 97-105.
32. A. Moreno, H. Bello, D. Guggiana, M. Dominguez, G. Gonzalez. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases belonging to CTX-M group produced by *E. coli* strains isolated from companion animals treated with enrofloxacin. *Vet Microbiol* (2008) 129, 203-208.
33. A. Carattoli. Animal reservoirs for extended spectrum  $\beta$ -lactamase producers. *Clin Microbiol Infect* (2008) 14 (Suppl. 1), 117-123.
34. Y. Shiraki, N. Shibata, Y. Doi, Y. Arakawa. *E. coli* producing CTX-M-2  $\beta$ -lactamase in cattle, Japan. *Emerg Infect Dis* (2004) 10.
35. D. Girlich, L. Poirel, A. Carattoli, I. Kempf, M.F. Lartigue, A. Bertini, P. Nordmann. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase CTX-M-1 in *E. coli* isolates from healthy poultry in France. *Appl Environ Microbiol* (2007), 4681-4685.
36. D. Meunier, E. Jouy, C. Lazizzera, M. Kobisch, J.Y. Madec. CTX-M-1- and CTX-M-15-type  $\beta$ -lactamases in clinical *E. coli* isolates recovered from food-producing animals in France. *Int J Antimicrob Agents* (2006) 28, 402-407.
37. A. Jouini, L. Vinue, K. Ben Slama, Y. Saenz, N. Klibi, S. Hammami, A. Boudabous, C. Torres. Characterization of CTX-M and SHV extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and associated resistance genes in *E. coli* strains of food samples in Tunisia. *J Antimicrob Chemother* (2007) 60, 1137-1141.
38. J. Rodriguez Bano, L. Lopez-Cerero, M. D. Navarro, P. Diaz deAlba, A. Pascual. Faecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing *E. coli*: prevalence, risk factors and molecular epidemiology. *J Antimicrob Chemother* (2008) 62, 1142-1149.
39. A. Valverde, F. Grill, T.M. Coque, V. Pintado, F. Baquero, R. Canton, J. Cobo. High rate of intestinal colonization with extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing organisms in household contacts of infected community patients. *J Clin Microbiol* (2008), 2796-2799.
40. R. Canton, T. Coque. The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* (2006) 9, 466-475.
41. T. Coque, F. Baquero, R. Canton. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Eurosurveillance* (2008) 13.
42. P. Nordmann, L. Poirel. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae. *J Antimicrob Chemother* (2005) 56, 463-469.
43. M.I. Morosini, M. Garcia-Castillo, T.M. Coque, A. Valverde, A. Novais, E. Loza, F. Baquero, R. Canton. Antibiotic coresistance in extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae and in vitro activity of tigecycline. *Antimicrob Agents Chemother* (2006), 2695-2699.

44. M.J. Schwaber, S. Navon-Venezia, D. Swartz, Y. Carmeli. High levels of antimicrobial coresistance among extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob. Agents Chemother* (2005), 2137-2139.
45. N. Norskov-Lauritsen. Antimicrobial susceptibility of tigecycline and comparators against bacterial isolates collected as part of the TEST study in Europe (2004-2007). *Int J Antimicrob Agents* (2009).
46. V. Gupta, P. Datta. Extended-Spectrum beta-lactamases (ESBL) in community isolates from North India : frequency and predisposing factors. *Int J Infect Dis*, (2007) 11, 88-89.
47. R. Colodner, W. Rock, B. Chazan, N. Keller, N. Guy, W. Sakran, R. Raz. Risk factors for the development of extended-spectrum beta-lactamase-producing bacteria in nonhospitalized patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* (2004) 23, 163-167.
48. J. Rodriguez-Bano, M. Dolores Navarro, L. Romero, L. Martinez-Martinez, M.A. Muniain, E.J. Perea, R. Perez-Cano A. Pascual. Epidemiology and clinical features of infection caused by extended-spectrum beta-lactamases-producing *E. coli* in nonhospitalized patients. *J Clin Microbiol* (2004), 1089-1094.
49. C.T. Moor, S.A. Roberts, G. Simmons, S. Briggs, A.J. Morris, J. Smith, H. Heffernan. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL)-producing enterobacteria : factors associated with infection in the community setting, Auckland, New Zealand. *J Hosp Infect* (2008) 68, 355-362.
50. E. Calbo, V. Romani, M. Xercavins, L. Gomez, C. Garcia Vidal, S. Quintana, J. Vila, J. Garau. Risk factors for community-onset urinary tract infections due to *E. coli* harbouring extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *J Antimicrob Chemother* (2006) 57, 780-783.
51. P.L. Leung Ho, R.C.W. Wong, K.S. Yip, S.L. Loke, M. S.T. Leung, G.C. Mak, F. K.H. Chow, K. W.T. Tsang, T.L. Que. Antimicrobial resistance in *E. coli* outpatient urinary isolates from women : emerging multidrug resistance phenotypes. *Diag Microbiol Infect Dis* (2007) 59, 439-445.
52. J. D.D Pitout, K.B. Laupland. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* : an emerging public-health concern. *The lancet* (2008) 8.
53. J. Rodriguez-Bano. Community infections caused by extended-spectrum- $\beta$ -lactamase-producing *E. coli*. *Arch Intern Med* (2008) 168.
54. J. Rodriguez-Bano, M.D. Navarro. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in ambulatory care : a clinical perspective. *Clin Microbiol Infect* (2008) 14 (Suppl.1), 104-110.
55. R. E. Mendes, P. R. Rhomberg, J. M. Bell, J. D. Turnidge, H. S. Sader. Doripenem activity tested against a global collection of *Enterobacteriaceae*, including isolates resistant to other extended-spectrum agents. *Diag Microbiol Infect Dis* (2009) 63, 415-425.
56. Etude MYSTIC : Meropenem Yearly Suceptibility Test Information Collection. [www.mystic-data.org](http://www.mystic-data.org) .
57. C.P. Teng, H.H. Chen, J. Chan, D.C.B. Lye. Ertapenem for the treatment of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Gram-negative bacterial infections. *Int J Antimicrob Agents* (2007) 30, 356-359.

58. A. Mathe, D. Szabo, P. Anderlick, F. Rozgonyi, K. Nagy. The effect of amikacin and imipénème alone and in combination against an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *K. pneumoniae* strain. *Diagn Microbiol Infect Dis* (2007) 58, 105-110.
59. J. Oteo, A. Delgado-Iribarren, D. Vega, V. Bautista, M. Cruz Rodríguez, M. Velasco, J. María Saavedra, M. Pérez-Vázquez, S. García-Cobos, L. Martínez-Martínez, J. Campos. Emergence of imipenem resistance in clinical *E. coli* during therapy. *Int J Antimicrob Agents* (2008) 32, 534–537.
60. D. Gülmez, N. Woodford, M.F. I. Palepou, S. Mushtaq, G. Metan, Y. Yakupogullari, S. Kocagoz, O. Uzun, G. Hascelik, D.M. Livermore. Carbapenem-resistant *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* isolates from Turkey with OXA-48-like carbapenemases and outer membrane protein loss. *Int J Antimicrob Agents* (2008) 31, 523-526.
61. R. Ramphal, P. G. Ambrose. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases and clinical outcomes: current data. *Clin Infect Dis* (2006) 42, 164–172.
62. J. Rodriguez-Bano, M. D. Navarro, L. Romero, M. A. Muniain, M. de Cueto, M. J. Rios, J. R. Hernandez and A. Pascual. Bacteremia due to extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *E. coli* in the CTX-M era: a new clinical challenge. *Clin Infect Dis* (2006) 43, 1407–1414.
63. S. M. Bhavania, P. G. Ambrose, W. A. Craig, M. N. Dudley, R. N. Jones. Outcomes evaluation of patients with ESBL and non-ESBL-producing *E. coli* and *Klebsiella* species as defined by CLSI reference methods: report from the SENTRY antimicrobial surveillance program. *Diagn Microbiol Infect Dis* (2006) 54, 231–236.
64. C. Bin, W. Hui, Z. Renyuan, N. Yongzhong, X. Xiuli, X. Yingchun, Z. Yuanjue, C. Minjun. Outcome of cephalosporin treatment of bacteremia due to CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *E. coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis* (2006) 56, 351–357.
65. V. J. LaBombardia, A. Rojtmán, K. Tranc. Use of cefepime for the treatment of infections caused by extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *K. pneumoniae* and *E. coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis* (2006) 56, 313–315.
66. G. Zanetti, F. Bally, G. Greub, J. Garbino, T. Kinge, D. Lew, J.A. Romand, J. Bille, D. Aymon, L. Stratchounski. Cefepime versus imipenem–cilastatin for treatment of nosocomial pneumonia in intensive care unit patients: a multicenter, evaluator-blind, prospective, randomized study. *Antimicrob Agents Chemother* (2003) 47, 3442-3447.
67. P. Honderlick, P. Cahen, J. Gravisse, D. Vignon. Quelle sensibilité aux antibiotiques pour les bactéries responsables d'infections urinaires ? Que penser de fosfomycine et nitrofuranes ? *Path Biol* (2006) 54, 462-466.
68. J. Kashanian, P. Hakimian, M. Blute Jr, J. Wong, H. Khanna, G. Wise, R. Shabsigh. Nitrofurantoin : the return of an old friend in the wake growing resistance. *BJU International* (2008) 102, 1634-1637.
69. A.S. Puerto, J.G. Fernandez, J.D. del Castillo, M.J. Pino, G.P. Angulo. In vitro activity of  $\beta$ -lactam and non- $\beta$ -lactam antibiotics in extended-spectrum  $\beta$ -lactamase producing clinical isolates of *E. coli*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. (2006) 54, 135-139.
70. H. Pullukcu, M. Tasbakan, O.R. Sipahi, T. Yamazhan, S. Aydemir, S. Ulusoy. Fosfomicin in the treatment of extended spectrum beta-lactamase producing *E. coli*-related lower urinary tract

infections. *Int J Antimicrob Agents* (2007) 29, 62–65.

71. J. Garau. Other antimicrobials of interest in the era of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases : fosfomicin, nitrofurantoïne and tigecycline. *Clin Microbiol Infect* (2008) 14 (Suppl.1), 198-202.

72. J. Oteo, B. Orden, V. Bautista, O. Cuevas, M. Arroyo, R. Martinez-Ruiz, M. Perez-Vazquez, M. Alcaraz, S. Garcia-Cobos, J. Campos. CTX-M-15-producing urinary *Escherichia coli* O25b-ST131-phylogroup B2 has acquired resistance to fosfomicin. *J Antimicrob Chemother* (2009) 64, 712-717

Nom – Prénom : BREMENT Guillaume

Titre de la thèse : Emergence de  $\beta$ -lactamases à spectre étendu (BLSE) en milieu communautaire : impact sur la prise en charge des patients.

---

Résumé de la thèse :

Au début des années 1990, un nouveau type de résistance bactérienne due à la production d'une  $\beta$ -lactamase à spectre étendu dénommée CTX-M, était identifié. Depuis, ces enzymes se sont multipliées et disséminées dans le monde entier de façon exponentielle. Produites majoritairement par des souches de *Escherichia coli*, les CTX-M ont une origine majoritairement communautaire et sont isolées le plus souvent dans le cadre d'infections urinaires. La présence de nombreuses autres résistances associées pose le problème de la prise en charge thérapeutique, notamment en milieu communautaire.

Les objectifs de cette étude sont multiples. Il s'agit tout d'abord de comprendre par quels mécanismes les CTX-M exercent leur action. L'épidémiologie actuelle ainsi que les divers vecteurs de dissémination géographique seront ensuite examinés. Enfin, les conséquences sur la prise en charge thérapeutique en milieu hospitalier et communautaire seront étudiées.

---

MOTS CLES : *Escherichia coli*, BLSE, CTX-M

---

JURY

PRESIDENT : Mme Françoise BALLEREAU, Professeur de Santé Publique, Pharmacie Clinique et Epidémiologie  
Faculté de Pharmacie de Nantes

ASSESEURS : Mme Nathalie CAROFF, Maître de conférences de Bactériologie  
Faculté de Pharmacie de Nantes  
M. Stéphane CORVEC, Praticien hospitalier, Maître de conférences de Bactériologie  
Faculté de Médecine de Nantes  
M. Marc PAHUD, Pharmacien d'officine à Nantes

---

Adresse de l'auteur : 10, Rue des Chardonnerets, 44650 LEGE