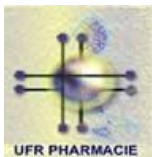


UER MG2 Microbiologie Générale
Bactériologie
Année 2023-2024



Résistance aux β -lactamines

Véronique Dubois
Laboratoire de Microbiologie, UMR5234,
CNRS, Bordeaux



Résistance aux β -lactamines

I- Les β -lactamines

Structure chimique

Classification

Mode d'action

II- Résistance aux β -lactamines

Défaut d'accumulation

Détoxification enzymatique

Altération de la cible PLP

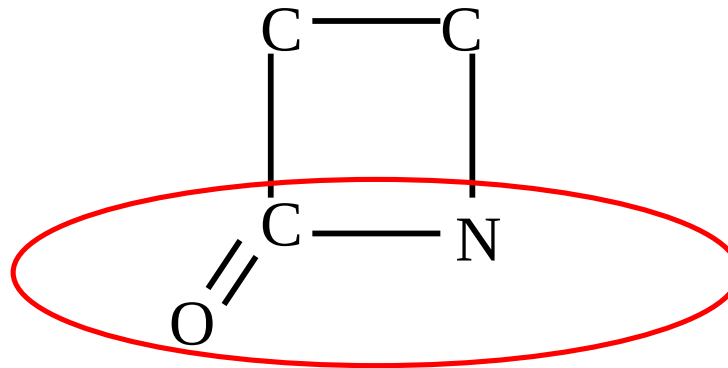
Tolérance

I-Les β -Lactamines :

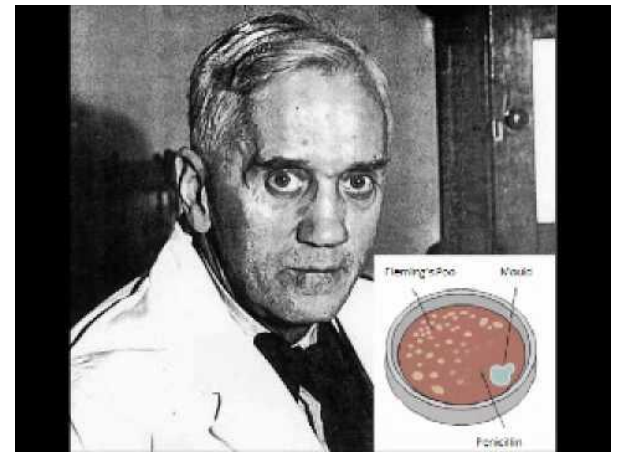
Vaste famille d'antibiotique : cycle β -lactame

Antibiotique bactéricide

Spectre étroit $\rightarrow$ large spectre



Pont β -lactame



1928 A. Fleming

Classification : structure chimique

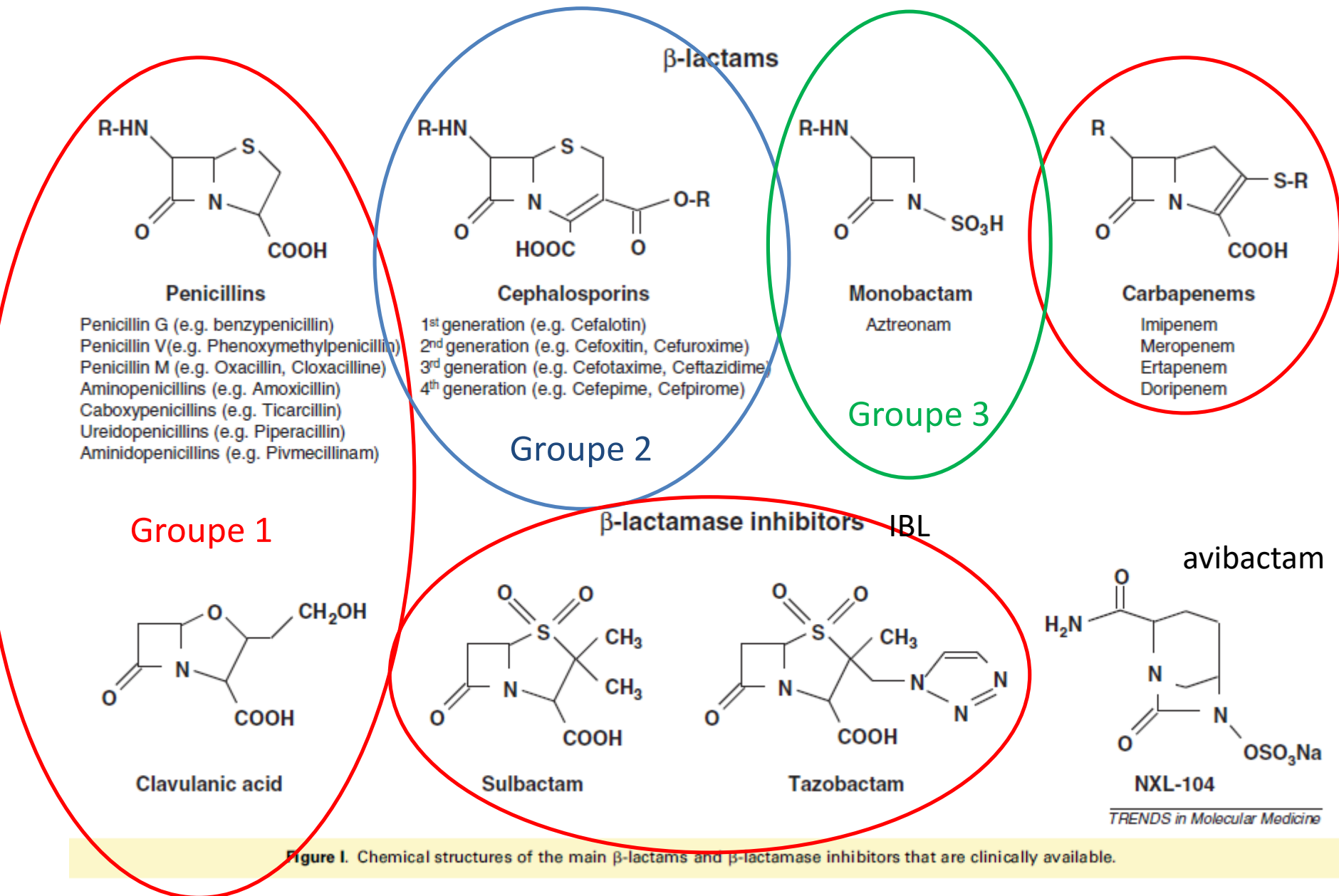
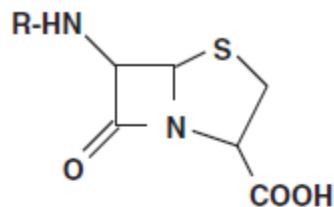


Figure 1. Chemical structures of the main β-lactams and β-lactamase inhibitors that are clinically available.

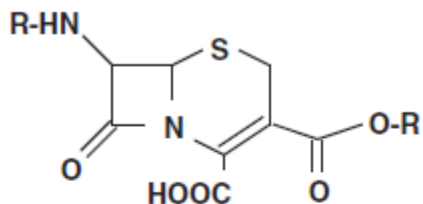
Classification : spectre ± pharmacologie

β -lactams



Penicillins

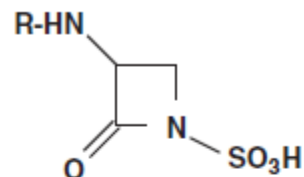
Penicillin G (e.g. benzylpenicillin)
 Penicillin V (e.g. Phenoxymethylpenicillin)
 Penicillin M (e.g. Oxacillin, Cloxacillin)
 Aminopenicillins (e.g. Amoxicillin)
 Carboxypenicillins (e.g. Ticarcillin)
 Ureidopenicillins (e.g. Piperacillin)
 Aminidopenicillins (e.g. Pivmecillinam)



Cephalosporins

1st generation (e.g. Cefalotin)
 2nd generation (e.g. Cefoxitin, Cefuroxime)
 3rd generation (e.g. Cefotaxime, Ceftazidime)
 4th generation (e.g. Cefepime, Cefpirome)

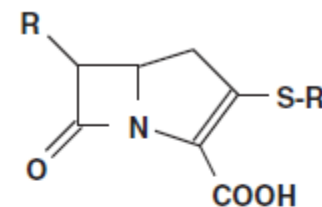
Elargissement du spectre



Monobactam

Aztreonam

Limité aux BGN



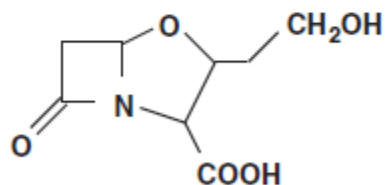
Carbapenems

Imipenem
 Meropenem
 Ertapenem
 Doripenem

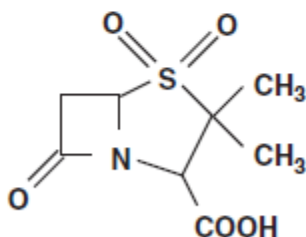
Large spectre

Elargissement du spectre

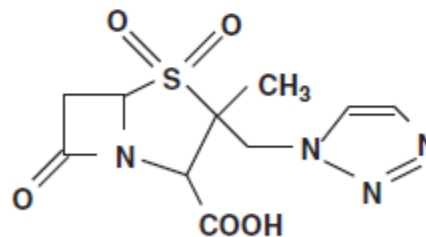
β -lactamase inhibitors



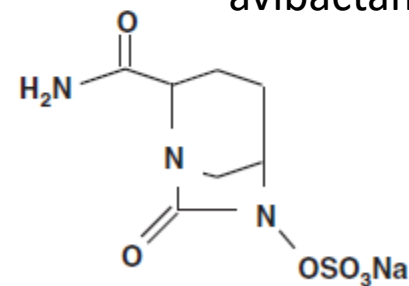
Clavulanic acid



Sulbactam



Tazobactam



avibactam

NXL-104

TRENDS in Molecular Medicine

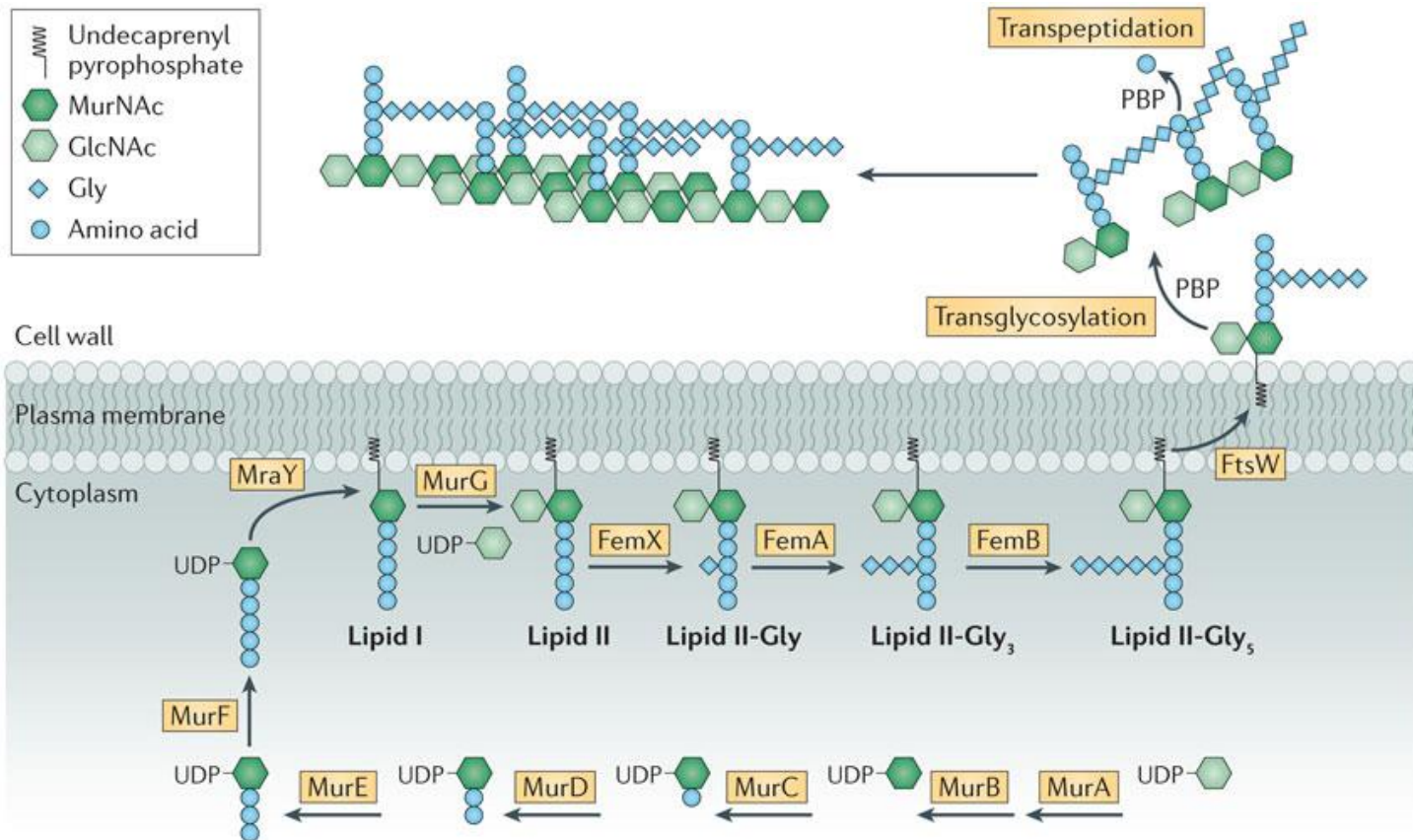
Figure 1. Chemical structures of the main β -lactams and β -lactamase inhibitors that are clinically available.

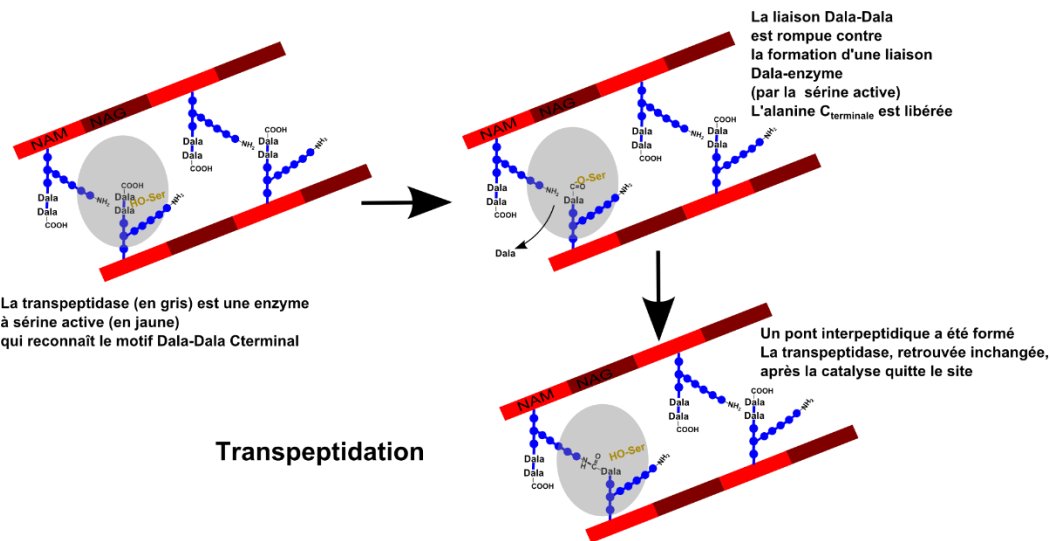
NAM : acide N-acetylmuramique

NAG : N-Acétyle glucosamine

Mode d'action

- Molécules actives sur la paroi bactérienne
- Inhibition de la synthèse du peptidoglycane





NAM : acide N-acétylmuramique

NAG : N-Acétyl glucosamine

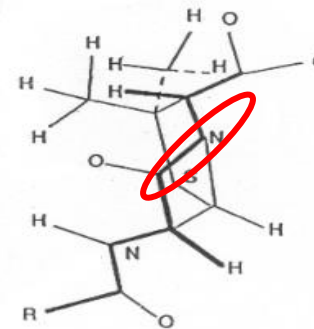
Dala-Dala-transpetidases

Dala-Dala-carboxypeptidase

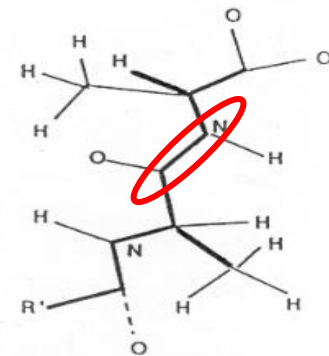
inhibition des DD-transpeptidases et DD-carboxy-peptidases =
Protéines Liant la Pénicilline = PLPs (PBP) : **bactériostase**

Activation des autolysines : **bactéricidie**

- Analogie structurale entre le pont β -lactame et la liaison D-Ala-D-Ala

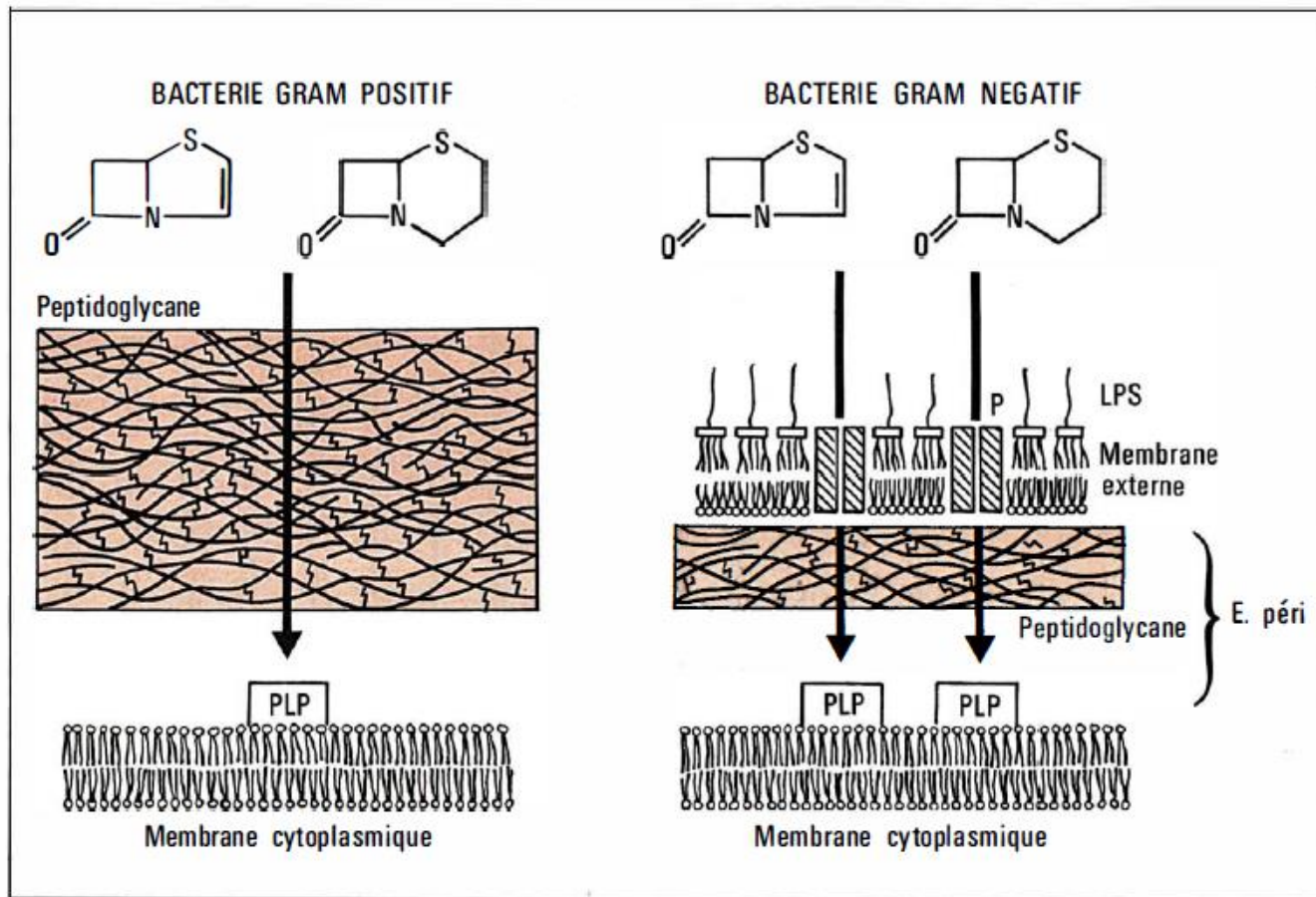


pénicilline G



dipeptide D-Ala - D-Ala

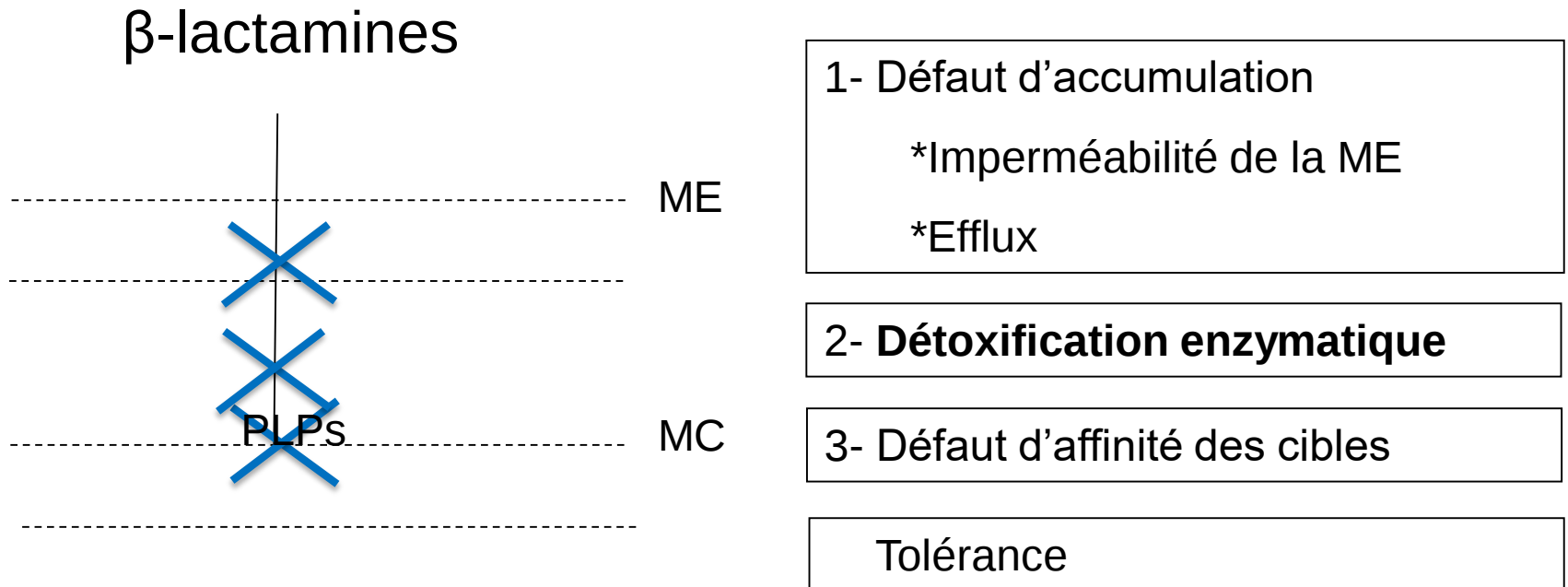
substrats-suicide



Gutman et al. MS 1987

Entrée : pores
action dans l'espace périplasmique

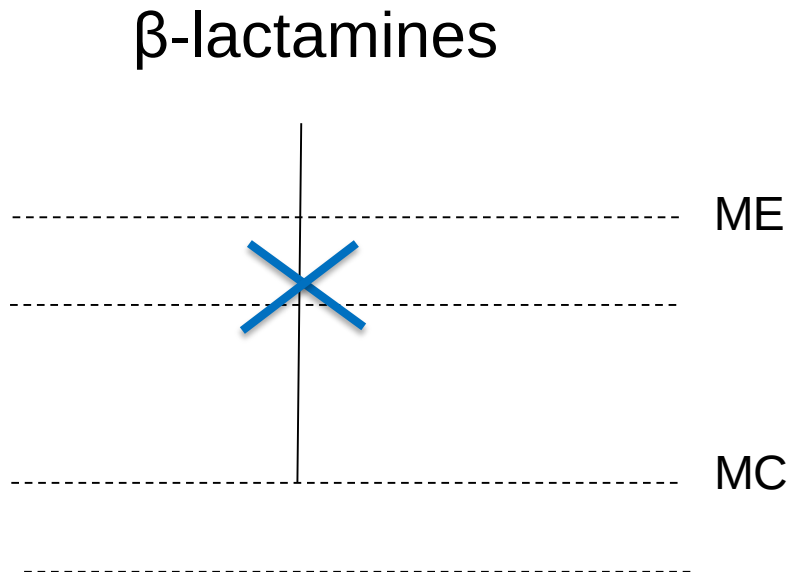
II-Résistance aux β -lactamines : mécanismes biochimiques



Mécanismes des résistances acquises aux β -lactamines

Mécanisme	Gram +	Gram -
Défaut d'accumulation : - ↓ Perméabilité de la ME - ↑ Efflux naturels MDR	-	++
Production de β -lactamase	+	+++
Modifications des PLPs	+++	+

II-Résistance aux β -lactamines : mécanismes biochimiques



1- Défaut d'accumulation

*Imperméabilité de la ME

*Efflux

2- Détoxification enzymatique

3- Défaut d'affinité des cibles

Tolérance

1 - Résistances acquises par défaut d'accumulation

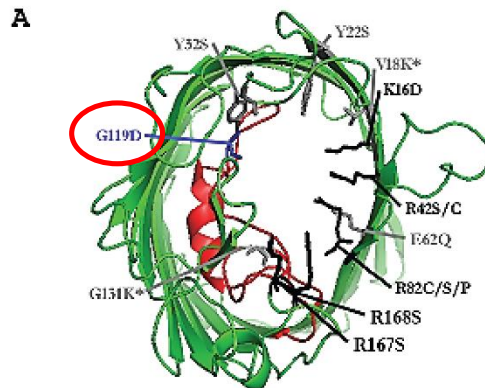
➤ Imperméabilité de la membrane externe

Mutation au niveau des porines

- Altérations quantitatives (↓ quantité de porines)
- Altérations qualitatives (conformation des porines)

Enterobacterales (OmpF, OmpC *E.coli*; OmpK35, OmpK36
K. pneumoniae) : résistance aux céphalosporines

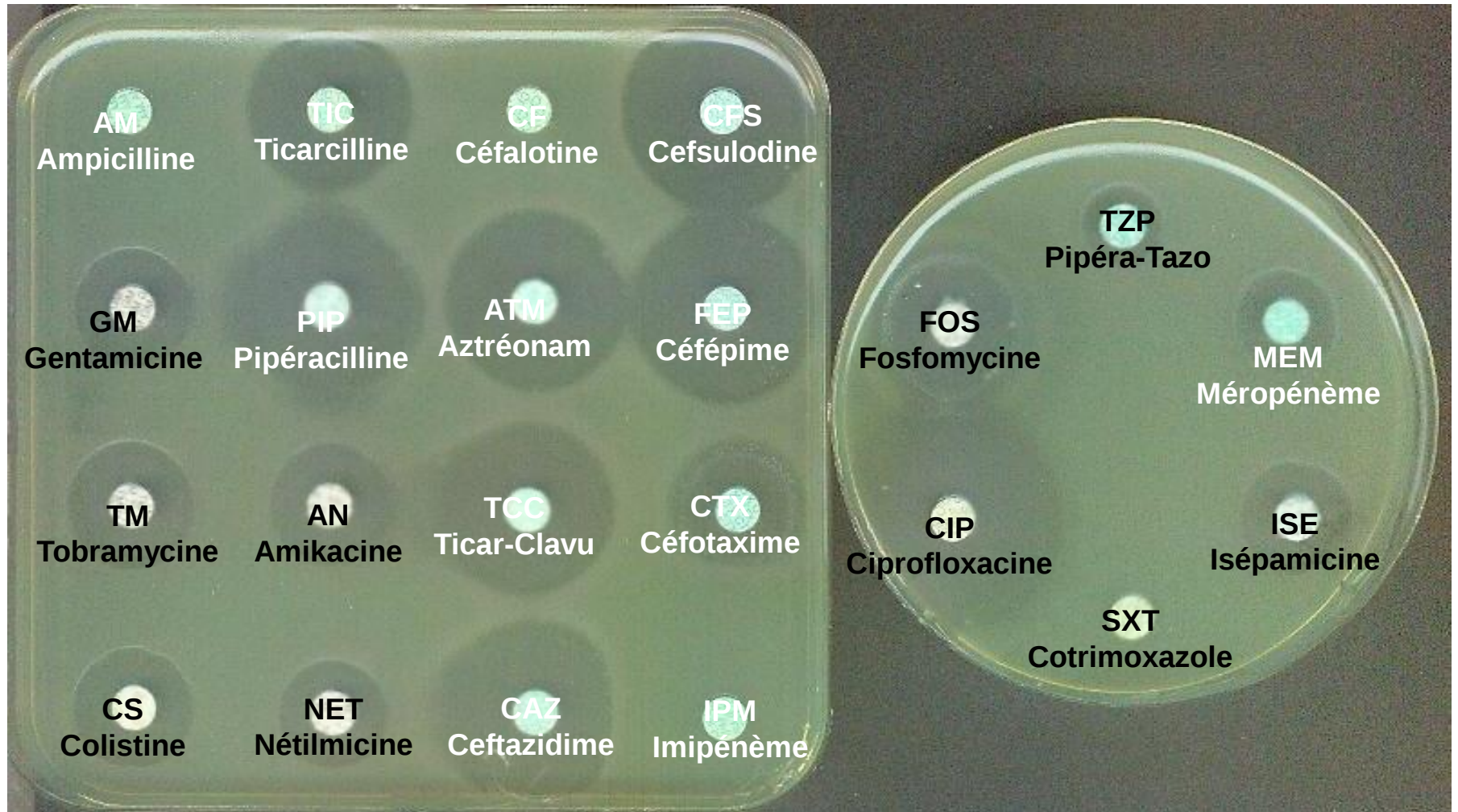
P. aeruginosa (OprD) : résistance isolée à l'imipénème



Structure de la porine OmpF

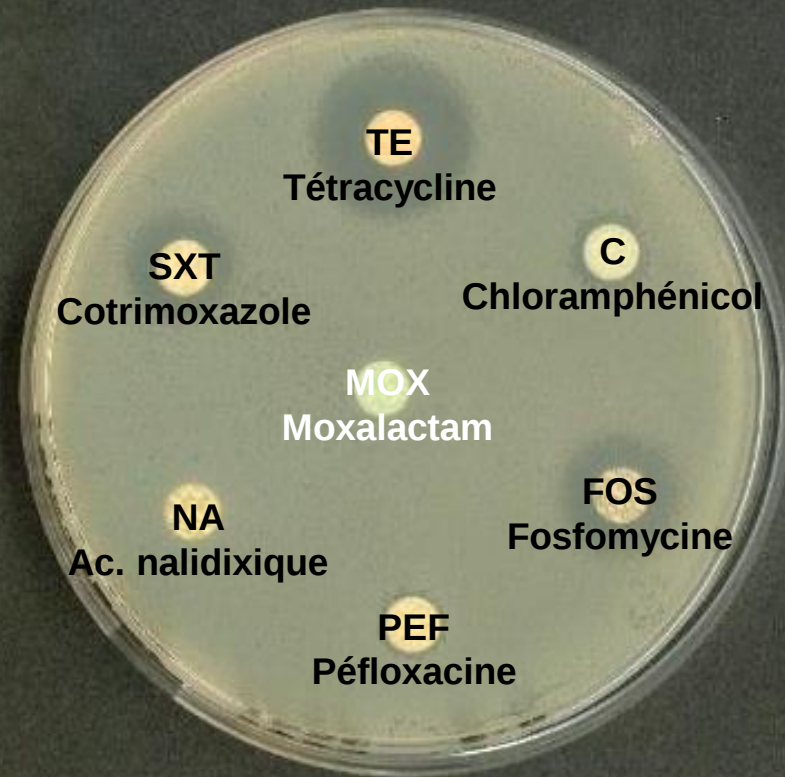
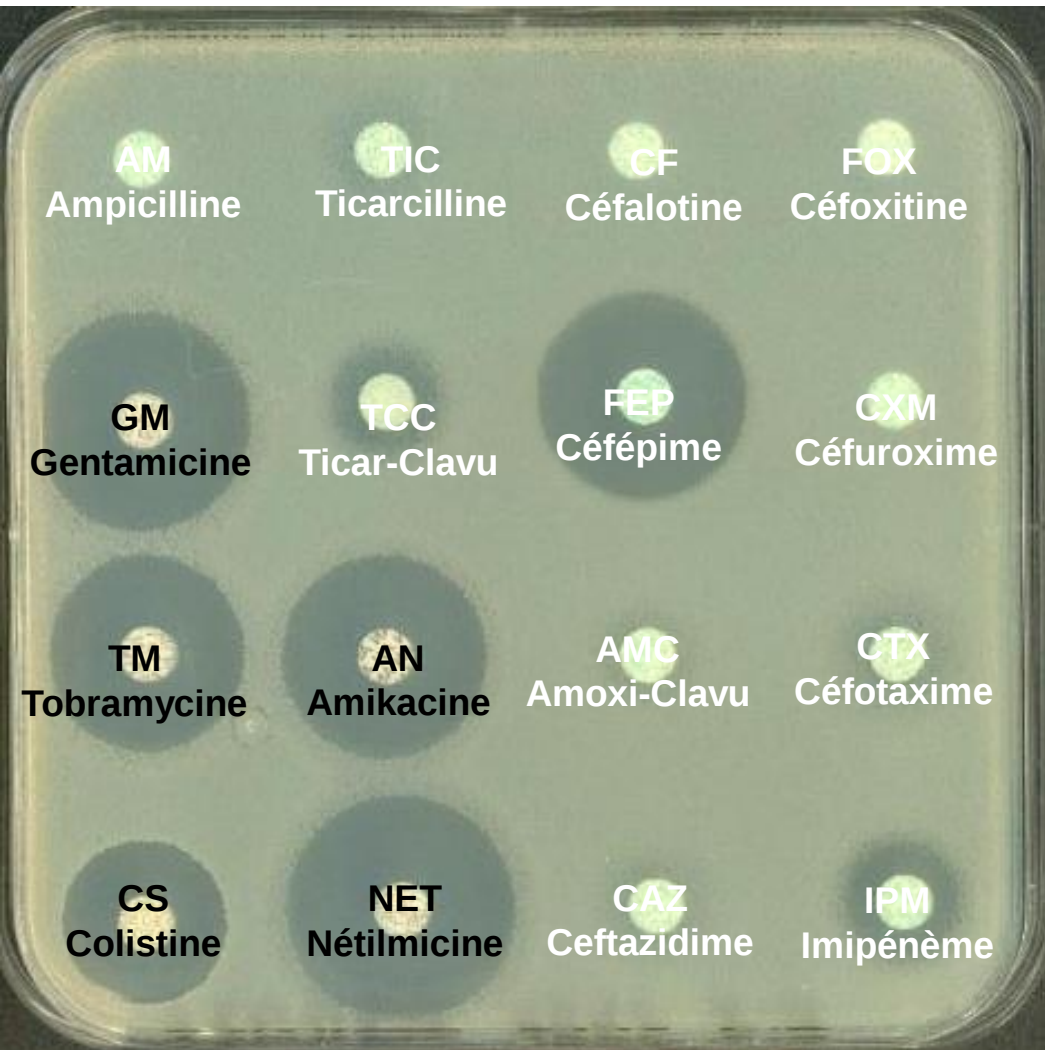
Ferenci T et al. Genes 2015

Pseudomonas aeruginosa Mutant oprD

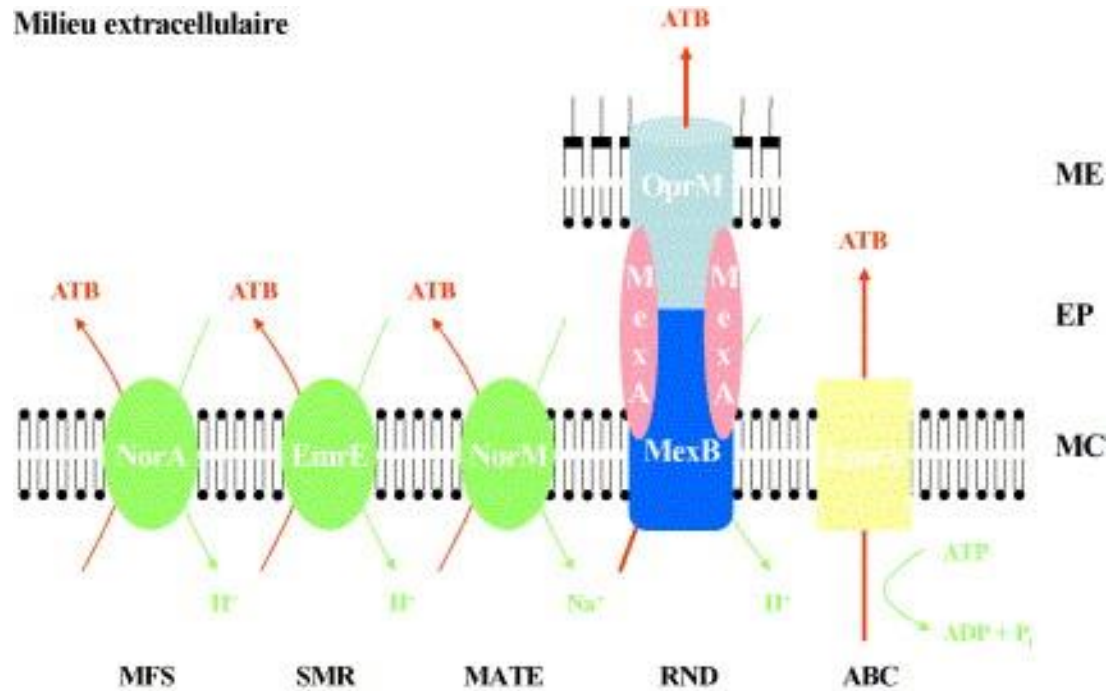


Enterobacter aerogenes

Céphalosporinase haut niveau + imperméabilité → IPM-R



➤ Hyperexpression de systèmes d'efflux MDR



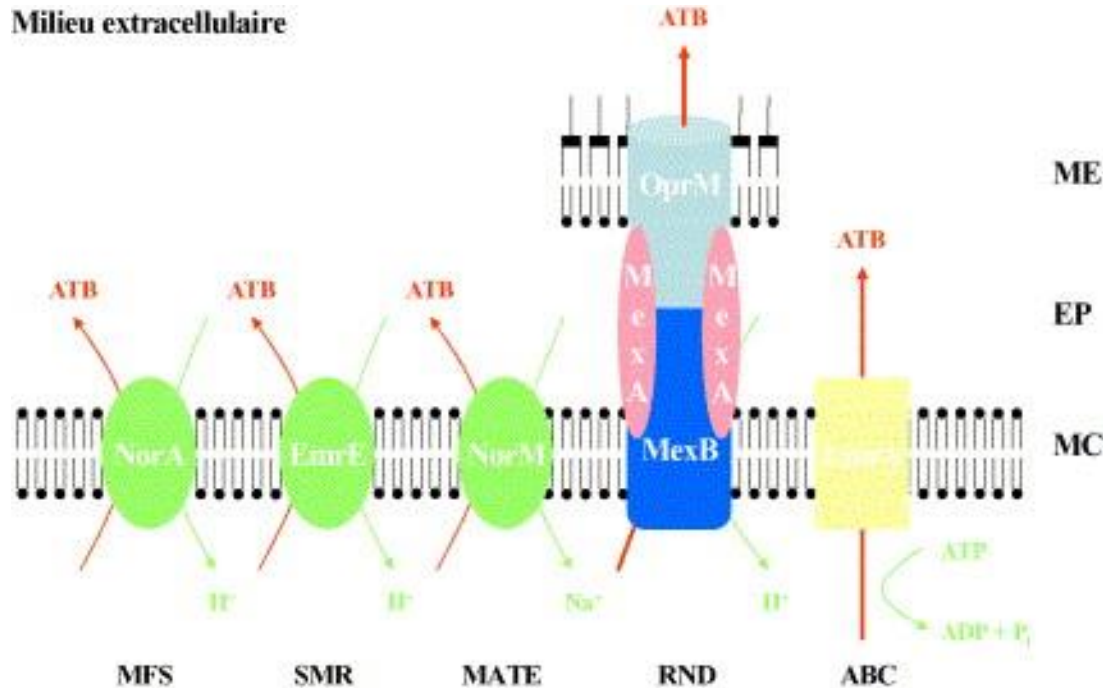
Cattoir, Pathologie Biologie 2004

➤ Hyperexpression de systèmes d'efflux MDR

P. aeruginosa 4 systèmes affectent les β -lactamines
(+ autres antibiotiques)

Mutation dans les systèmes de régulation

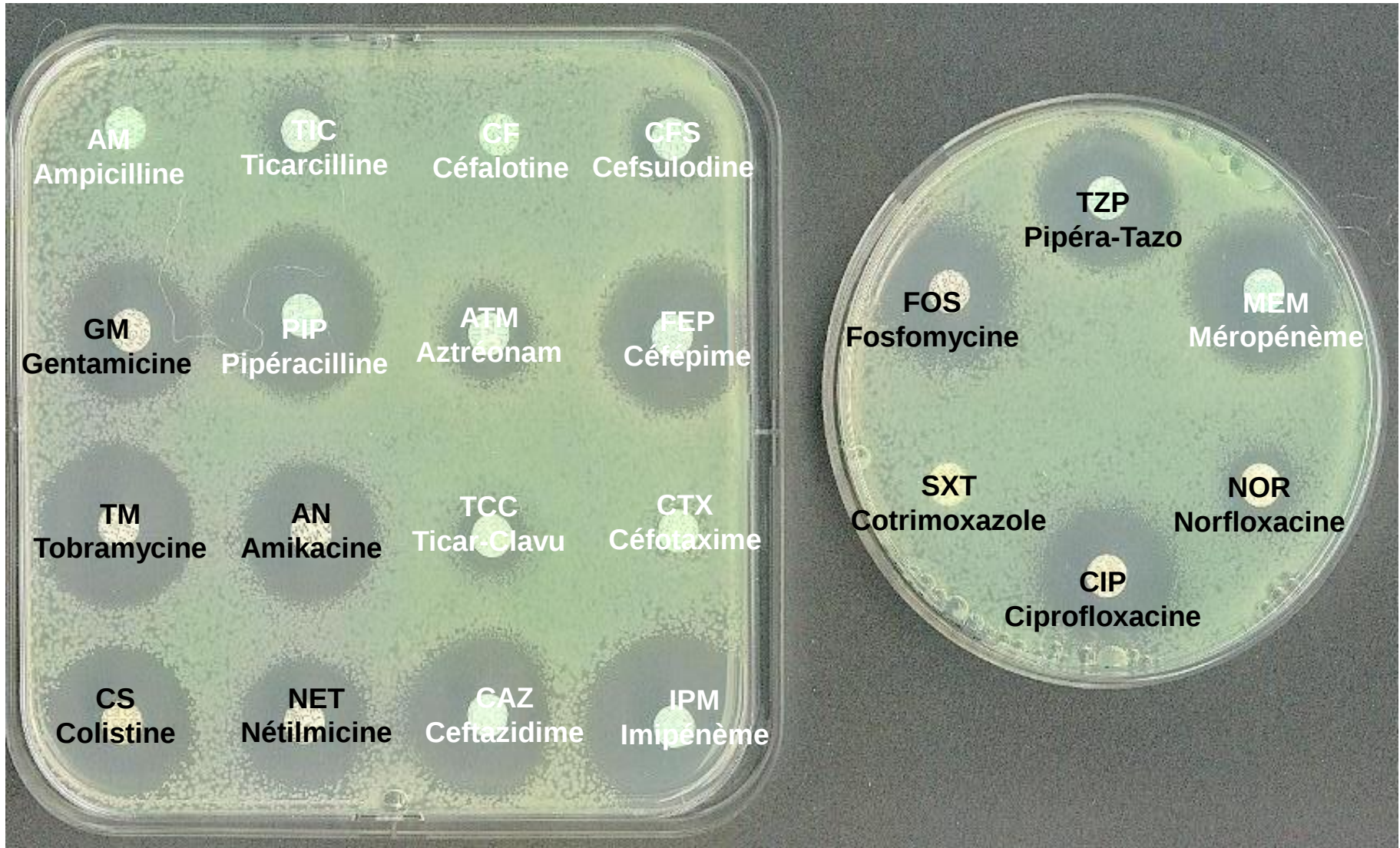
MexAB-OprM	MexCD-OprJ	MexEF-OprN	Mex-XY-OprM
Ticarcilline Ceftazidime Céfépime Cefpirome Aztréonam Méropénème	Céfépime Cefpirome	Imipénème (↓ expression de la porine OprD)	Céfépime Cefpirome
Fluoroquinolones	Fluoroquinolones	Fluoroquinolones	Aminosidess



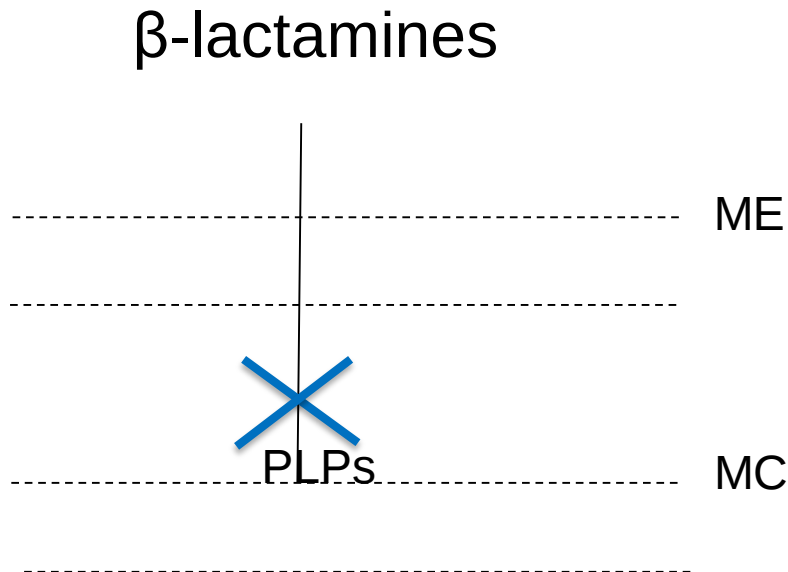
Cattoir, Pathologie Biologie 2004

- ✓ Résistance croisée entre les β -lactamines et d'autres familles d'antibiotiques
- ✓ Niveau généralement bas, mais variable selon la modification et la molécule

Pseudomonas aeruginosa hyperexpression de MexAB-OprM



II-Résistance aux β -lactamines : mécanismes biochimiques



1- Défaut d'accumulation

*Imperméabilité de la ME

*Efflux

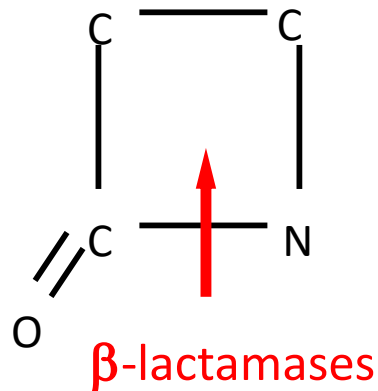
2- **Détoxification enzymatique**

3- Défaut d'affinité des cibles

Tolérance

2- Résistance acquise par détoxification enzymatique

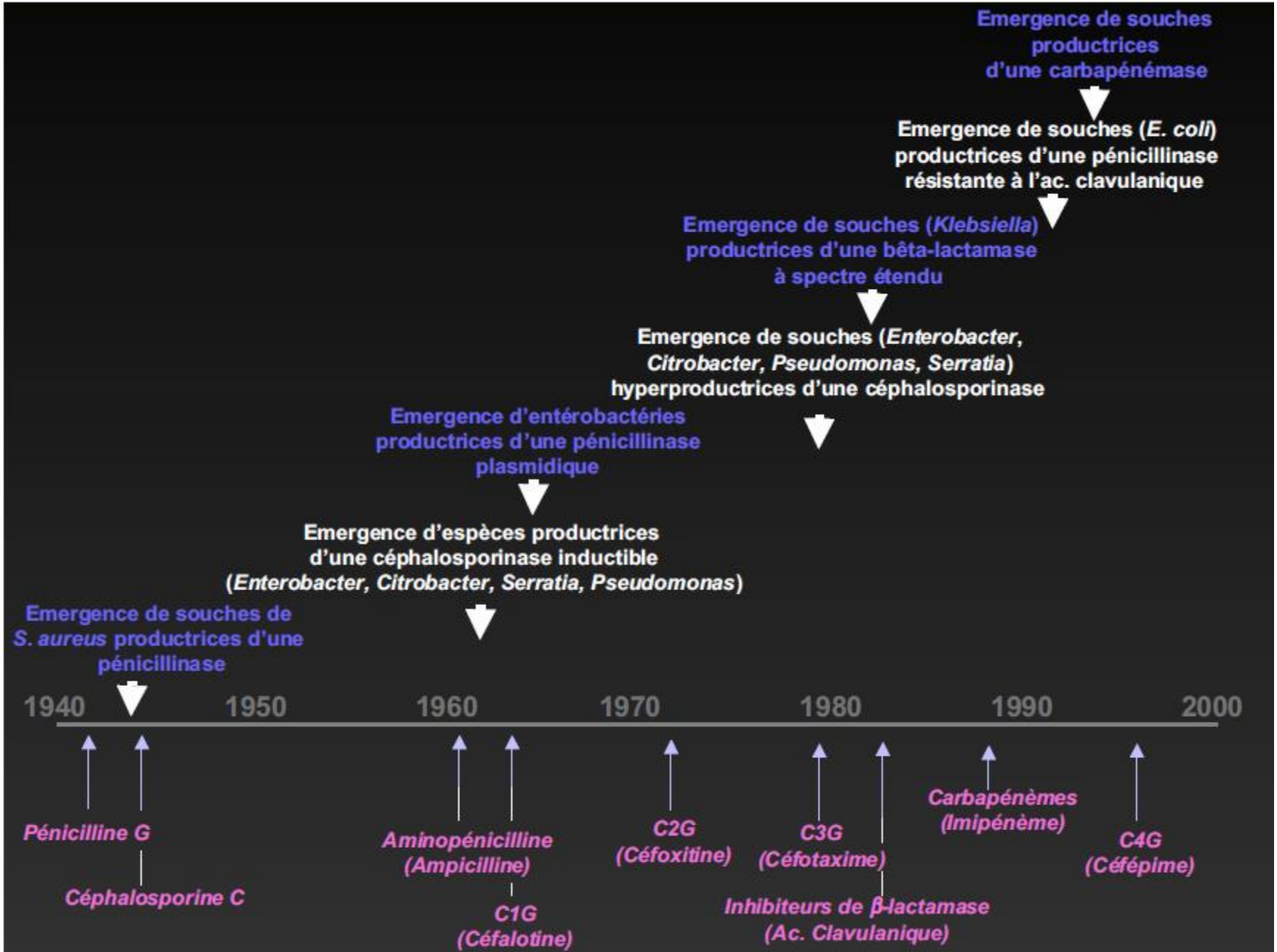
Cycle β -lactame



β -lactamase : hydrolyse du pont β -lactame

$\Rightarrow$ inactivation totale et irréversible des β -lactamines

Emergence des β -lactamases ...



Nom des β -lactamases

Malade : TEM (Temoniera), LCR-1, MEN-1 ...

Substrat : OXA (Oxacillinase), CTX-M (Cefotaximase),
CARB (Carbénicillinase), IMP (Imipénèmase) ...

Bactérie : OXY (*K. oxytoca*), PSE (*P. aeruginosa*),
SME (*S. marcescens*), PER (*P. aeruginosa*) ...

Origine géographique : GES (Guiana extended spectrum),
VEB (Vietnam), OHIO (USA),
VIM (Verona), NDM (New Dehli)
MIR-1 (Miriam Hospital, Providence, USA)
...

Propriétés des β -lactamases

- ✓ Extracellulaires, diffusibles (Gram +), intracellulaires, périplasmiques (Gram -)
- ✓ Gène chromosomique (spécifique d'espèce : résistance naturelle), sur des éléments génétiques mobiles (pl/tn/In : résistance acquise)
- ✓ Inductible ou constitutive
- ✓ Profil de substrat (pénicillines, céphalosporines ...) et d'inhibition caractéristique (ac clavulanique, EDTA ...)



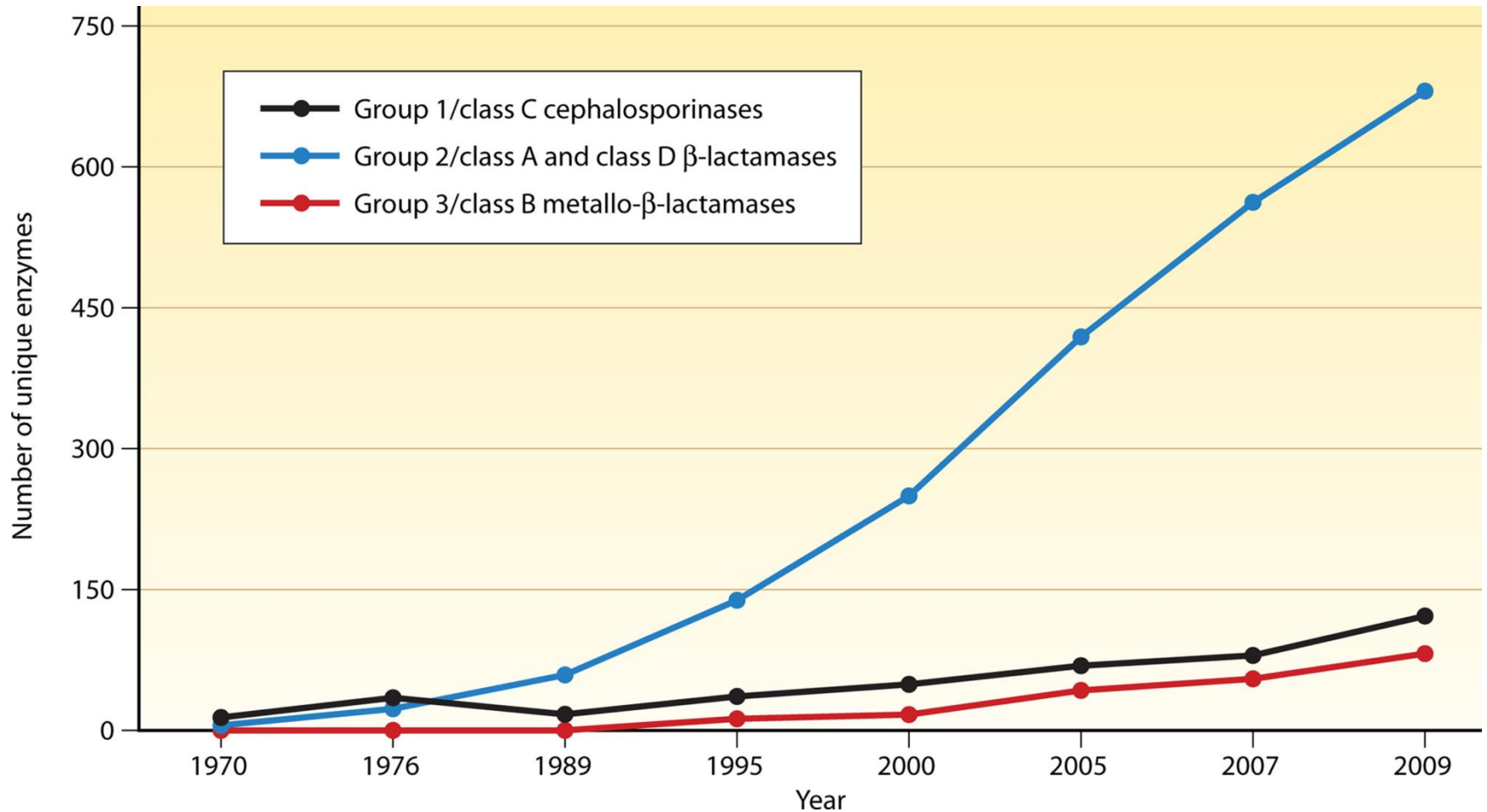
8154 (01/11/2023) : **Classification**

Classification des β -lactamases

Bush AAC 1995;
Bush & Jacoby, AAC 2010

Bush	Ambler	Substrats préférentiels	Profil d'inhibition		Enzymes représentatives
			AC	EDTA	
1	C	Céphalosporines	-	-	Céphalosporinases chromosomiques des BGN non exigeants
1e	C	Céphalosporines à large spectre	-	-	Céphalosporinases à spectre élargi
2a	A	Pénicillines	+	-	Pénicillinases des G+ (staphylocoques)
2b	A	Pénicillines, céphalosporines	+	-	BLS : TEM-1, TEM-2, SHV-1
2be	A	+ céphalosporines à large spectre et monobactames	+	-	BLSE : TEM, SHV, CTX-M , GES, VEB, PER...
2br	A	Pénicillines	-	-	Enzymes résistantes aux inhibiteurs
2bre	A	+ céphalosporines à large spectre et monobactames	-	-	BLSE résistantes aux inhibiteurs
2c	A	Carboxypénicillines	±	-	PSE-1
2ce	A	+ C4G	±	-	CARB-10
2d	D	Cloxacilline	±	-	Enzymes de type OXA
2de	D	+ céphalosporines à large spectre	±	-	BLSE de type OXA (<i>P. aeruginosa</i>)
2df	D	+ carbapénèmes	±	-	Carbapénémases (<i>A. baumannii</i>) OXA-48
2e	A	Céfuroxime	+	-	Céphalosporinase de <i>P. vulgaris</i>
2f	A	Pénicillines, céphalosporines, carbapénèmes	±	-	Carbapénémases NMC-A d' <i>E. cloacae</i> , Sme-1 de <i>S. marcescens</i> , KPC
3	B	Toutes les β -lactamines sauf les monobactames	-	+	Metallo- β -lactamases (MBL) carbapénémases VIM , IMP , NDM-1 L1 de <i>S. maltophilia</i> , CfiA de <i>B. fragilis</i>

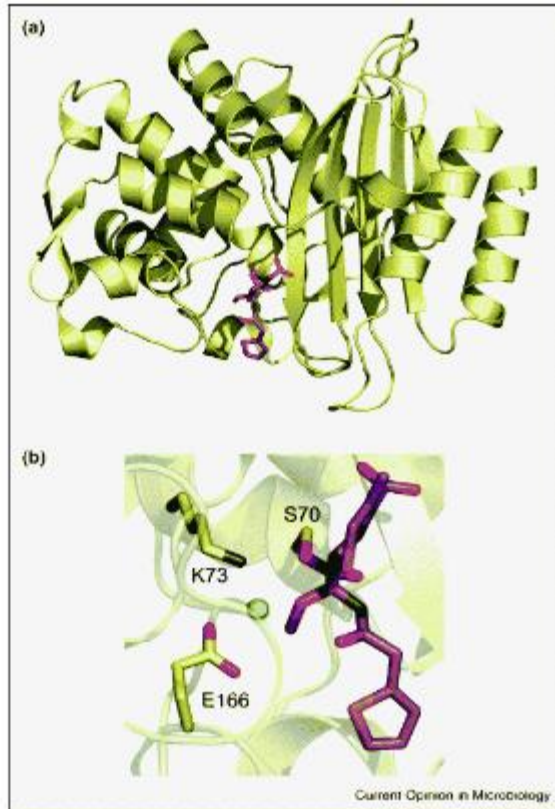
Augmentation du nombre de β -lactamases découvertes de 1970 à 2009



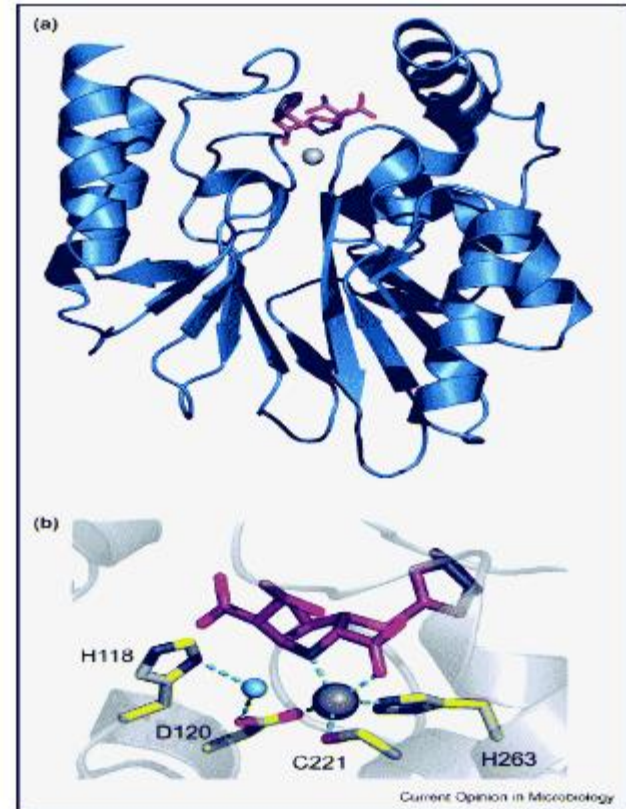
Bush et Jacoby, AAC 2010

Structure des β -lactamases

Enzyme monomérique ~ 200 à 300 AA



Sérine β -Lactamases (ex: CTX-M-9)
Classe A (TEM, SHV, CTX-M, GES)
Classe C (AmpC)
Classe D (OXA)



Métalloenzymes (ex: CphA-1, Zn^{++})
Classe B (VIM, IMP, NDM)

Résistance naturelle par production de β -lactamase

Groupe 0 : pas de gène de résistance aux β -lactamines : Salmonelles, *P. mirabilis*

Groupe 1 : céphalosporinase réprimée à l'état sauvage : *E. coli*, Shigelles

Tableau IV – Résistance naturelle chez les entérobactéries.

Espèces	AM	AMC	TIC/ PIP	C1G	FOX	MA	CXM	GM	TOB	TET	COL	FT
<i>Klebsiella spp.</i>	R		R									
<i>E. hermanii</i>	R		R									
<i>C. koseri</i>	R		R									
<i>C. freundii</i>	R	R		R	R							
<i>E. cloacae</i>	R	R		R	R							
<i>E. aerogenes</i>	R	R		R	R							
<i>H. alvei</i>	R	R		R								
<i>S. marcescens</i>	R	R		R		R	R		R		R	
<i>P. mirabilis</i>										R	R	R
<i>P. vulgaris, P. penneri</i>	R			R		R	R			R	R	R
<i>M. morganii</i>	R	R		R			R			R	R	R
<i>P. stuartii</i>	R	R		R				R		R	R	R
<i>P. rettgeri</i>	R	R		R						R	R	R
<i>Y. enterocolitica</i>	R	R	R	R	R	R	R					

Groupe 2 : Pénicillinase

Groupe 3 : céphalosporinase

Groupe 5 : cefuroxime

Groupe 4 : pénicillinase +
céphalosporinase

R : résistance naturelle

AM : aminopénicillines ; AMC : amoxicilline + acide clavulanique ; TIC : ticarcilline ; PIP : pipéracilline

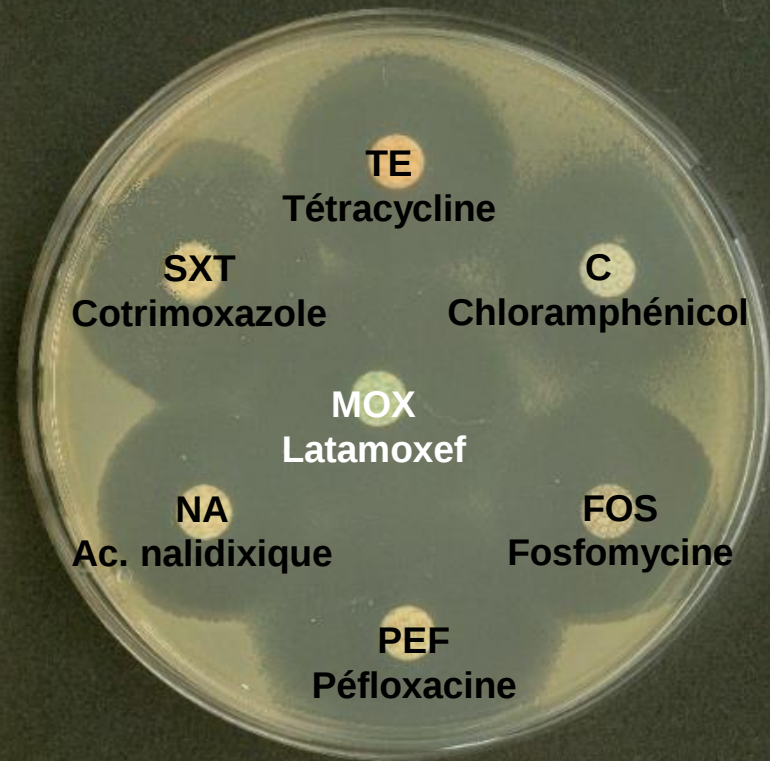
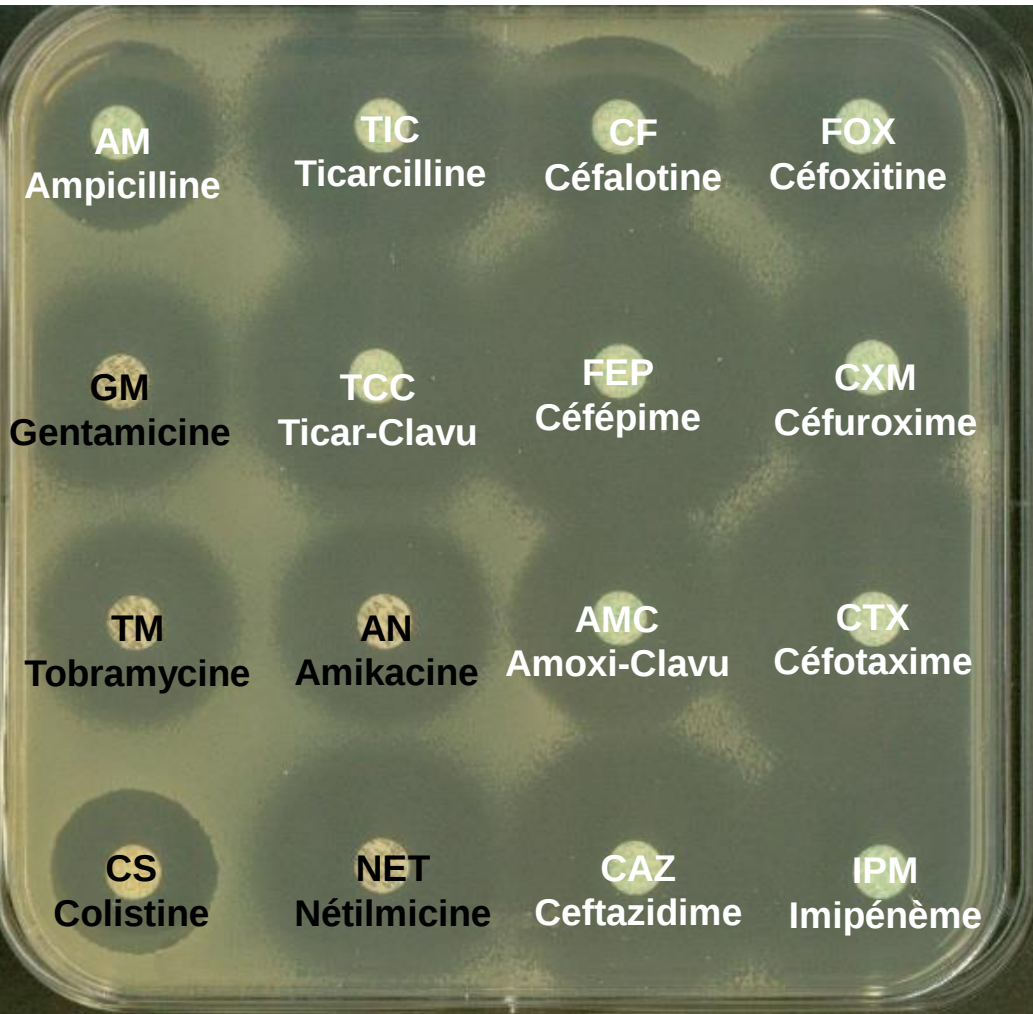
C1G : céphalosporines de 1^{ère} génération ; FOX : céfoxitine ; MA : céfamandole ; CXM : cefuroxime ;

GM : gentamicine ; TOB : tobramycine ; TET : tétracyclines y compris la tigécycline ; COL : colistine, polymyxine B ;

FT : nitrofuranes.

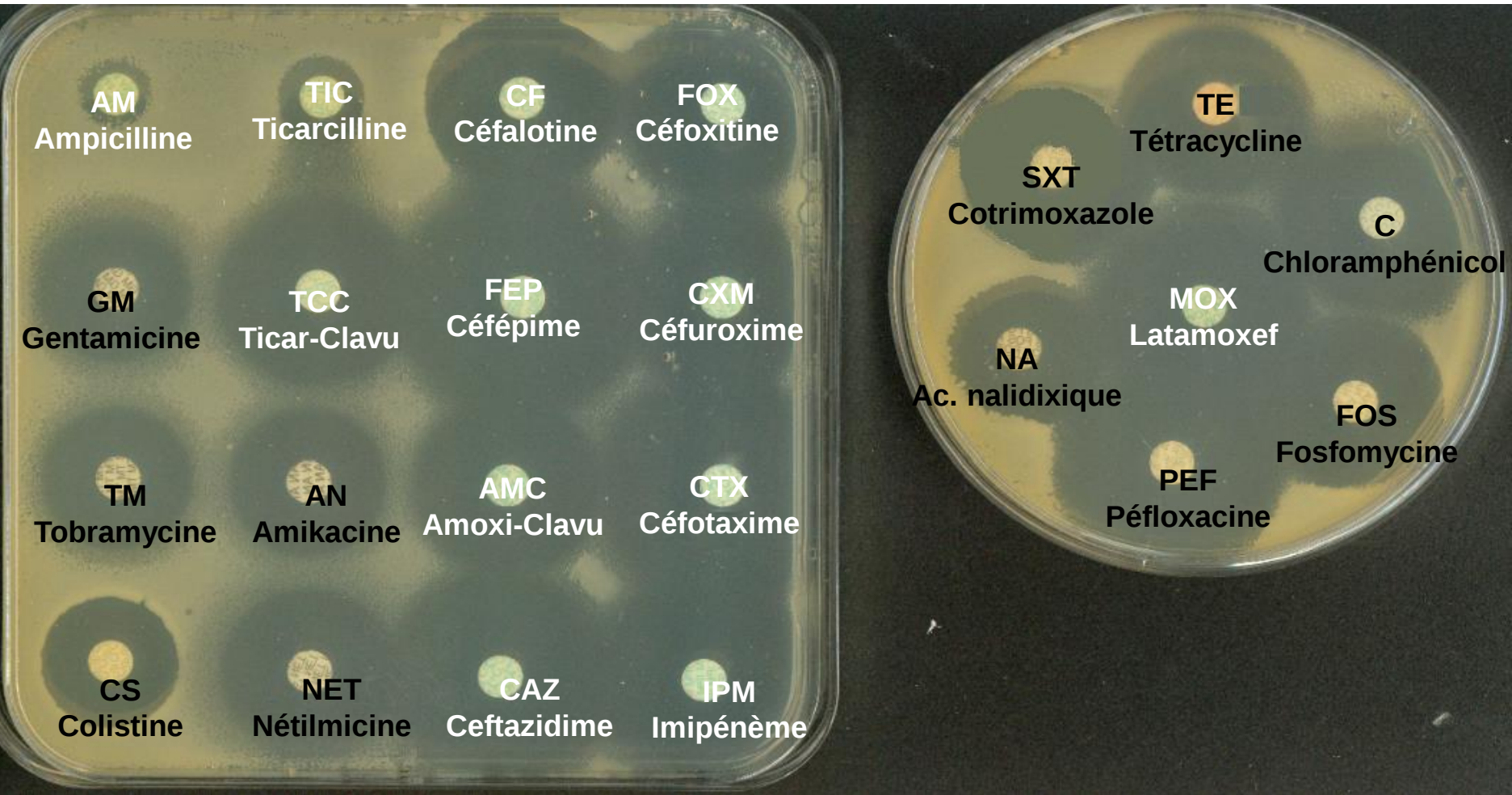
Escherichia coli (Groupe 1)

Sauvage

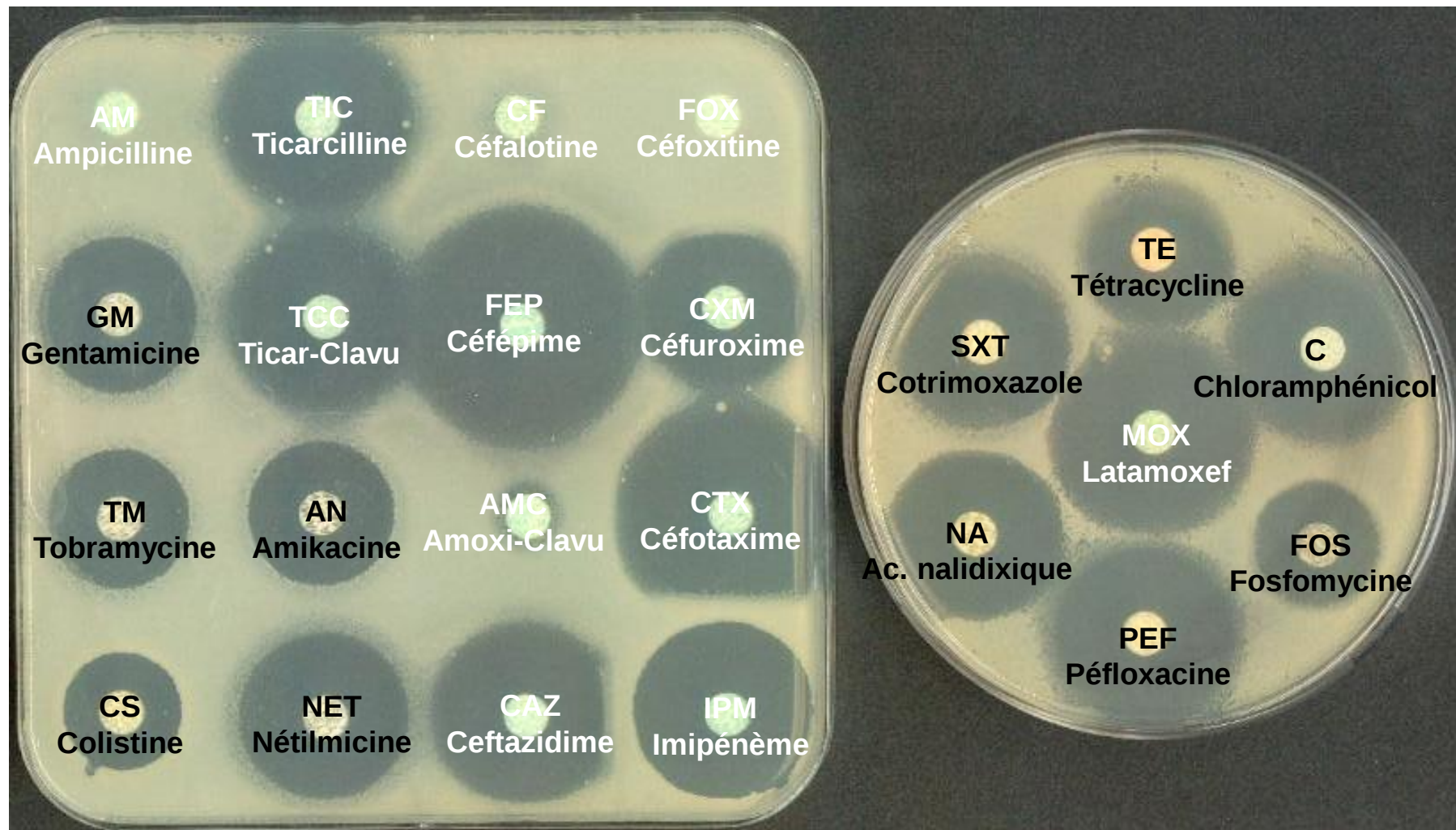


Klebsiella pneumoniae (Groupe 2)

Sauvage

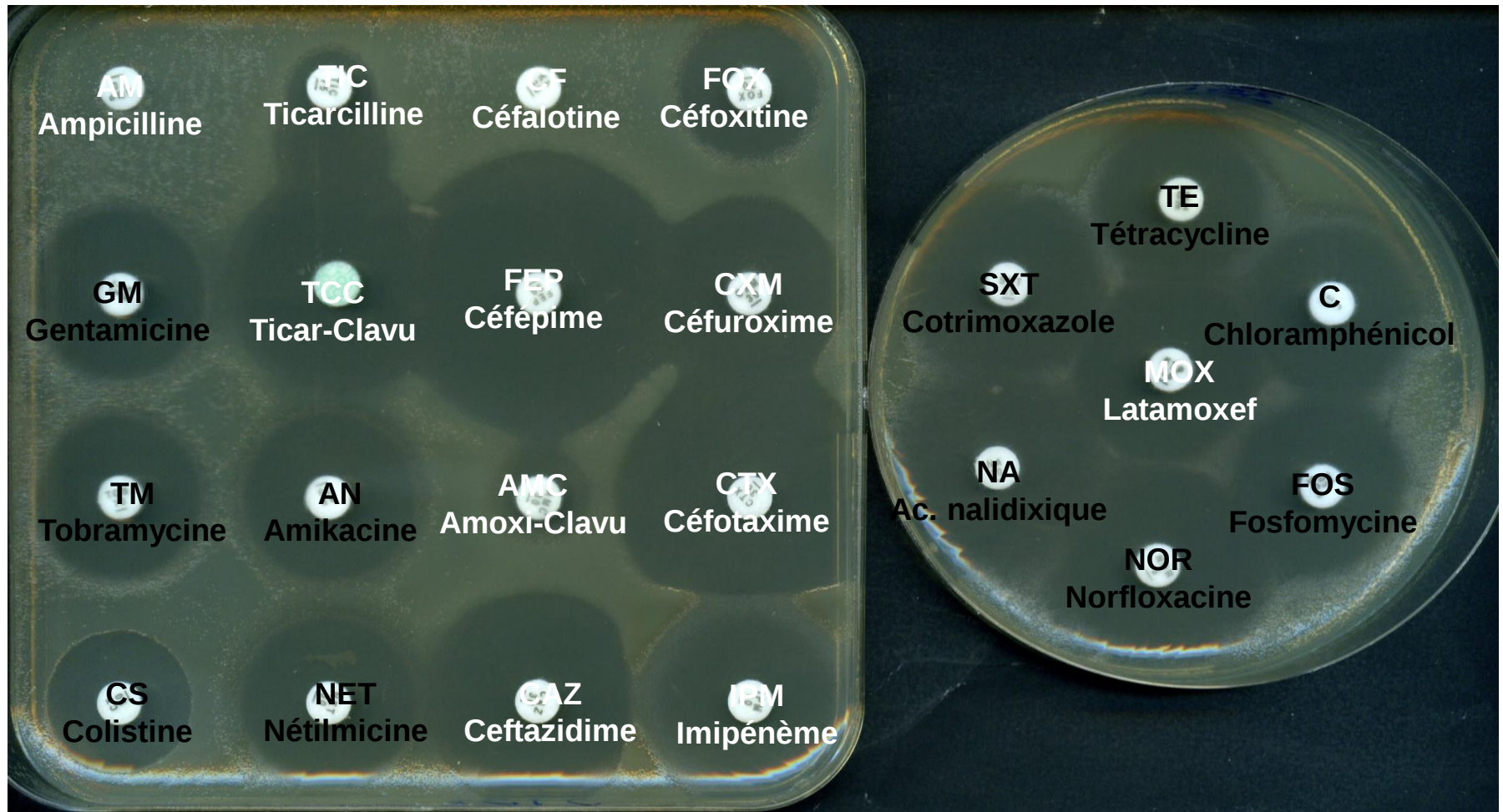


Enterobacter aerogenes (Groupe 3) Sauvage



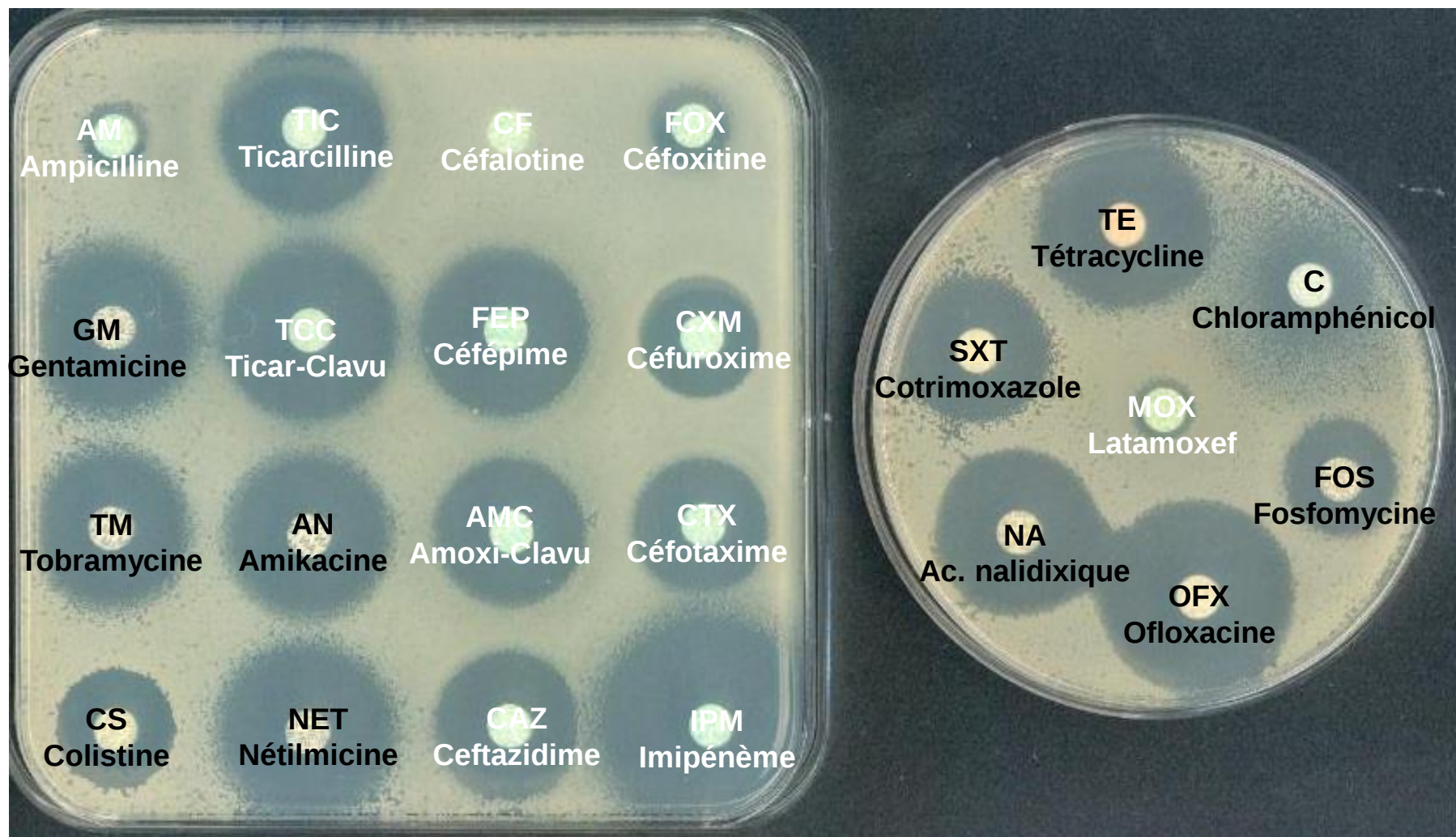
Yersinia enterocolitica (Groupe 4)

Sauvage



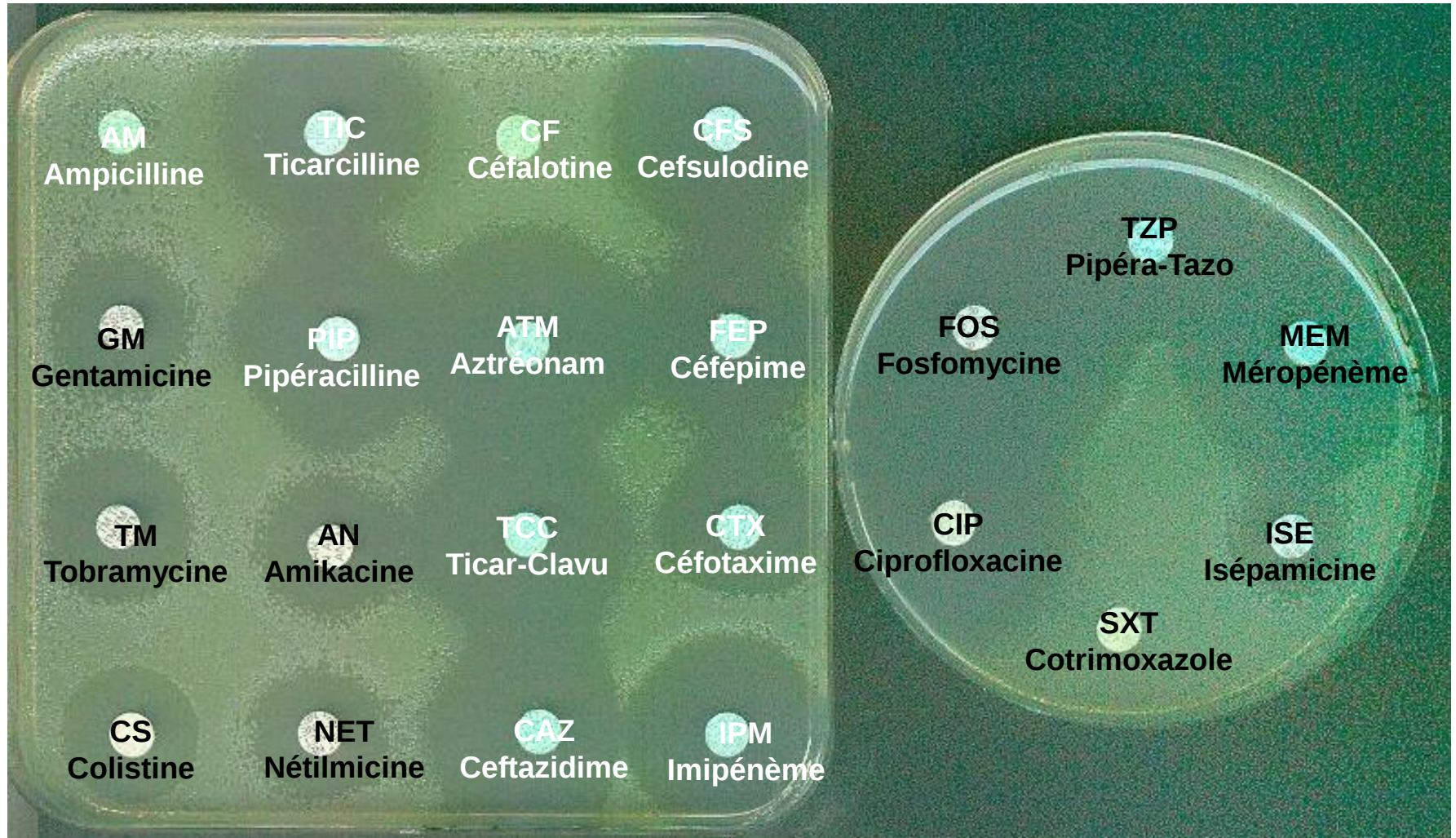
Acinetobacter baumannii

Sauvage



Pseudomonas aeruginosa

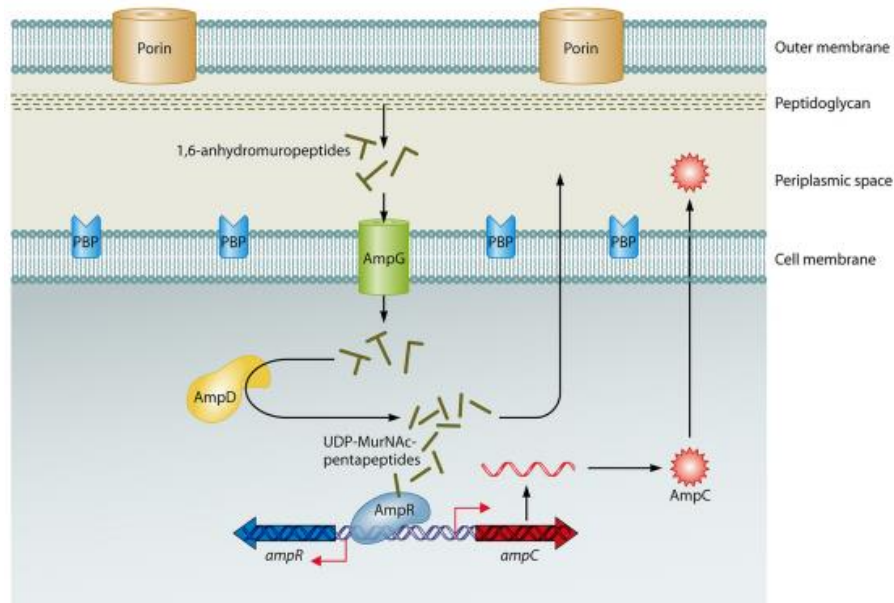
Sauvage



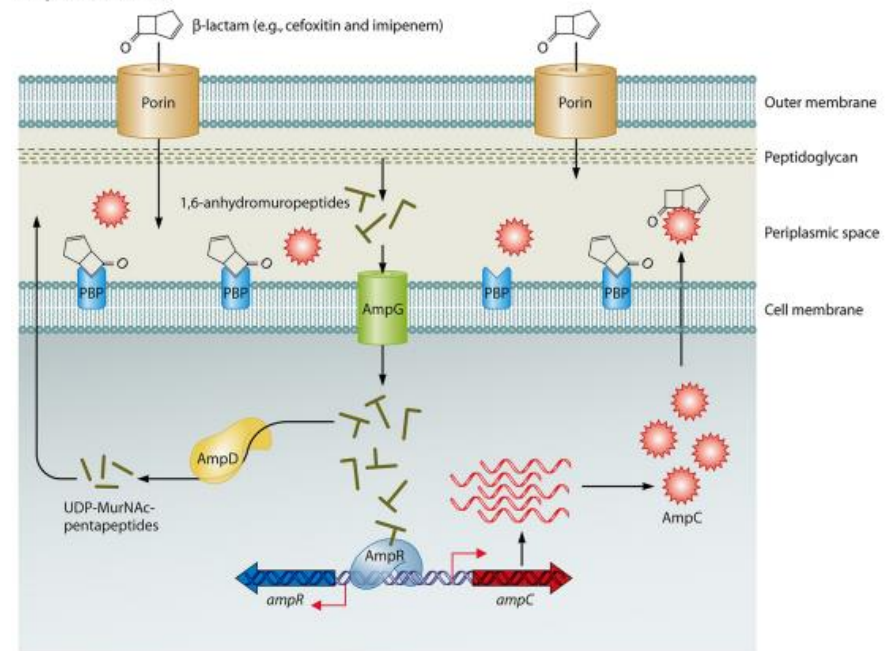
Résistances acquises par production de β -lactamases

- ✓ Hyperproduction des β -lactamases chromosomiques
 - ✓ Céphalosporinases inductibles :
Mutations dans les gènes de régulation → dérégulation
Enterobacterales du groupe 3, *P. aeruginosa*

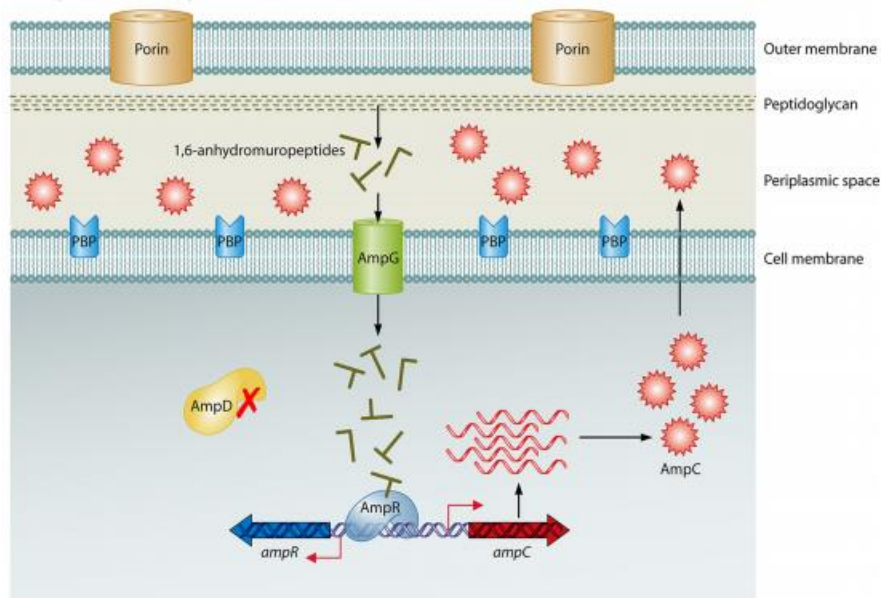
A. Wild-Type Basal



B. β -lactam Induction



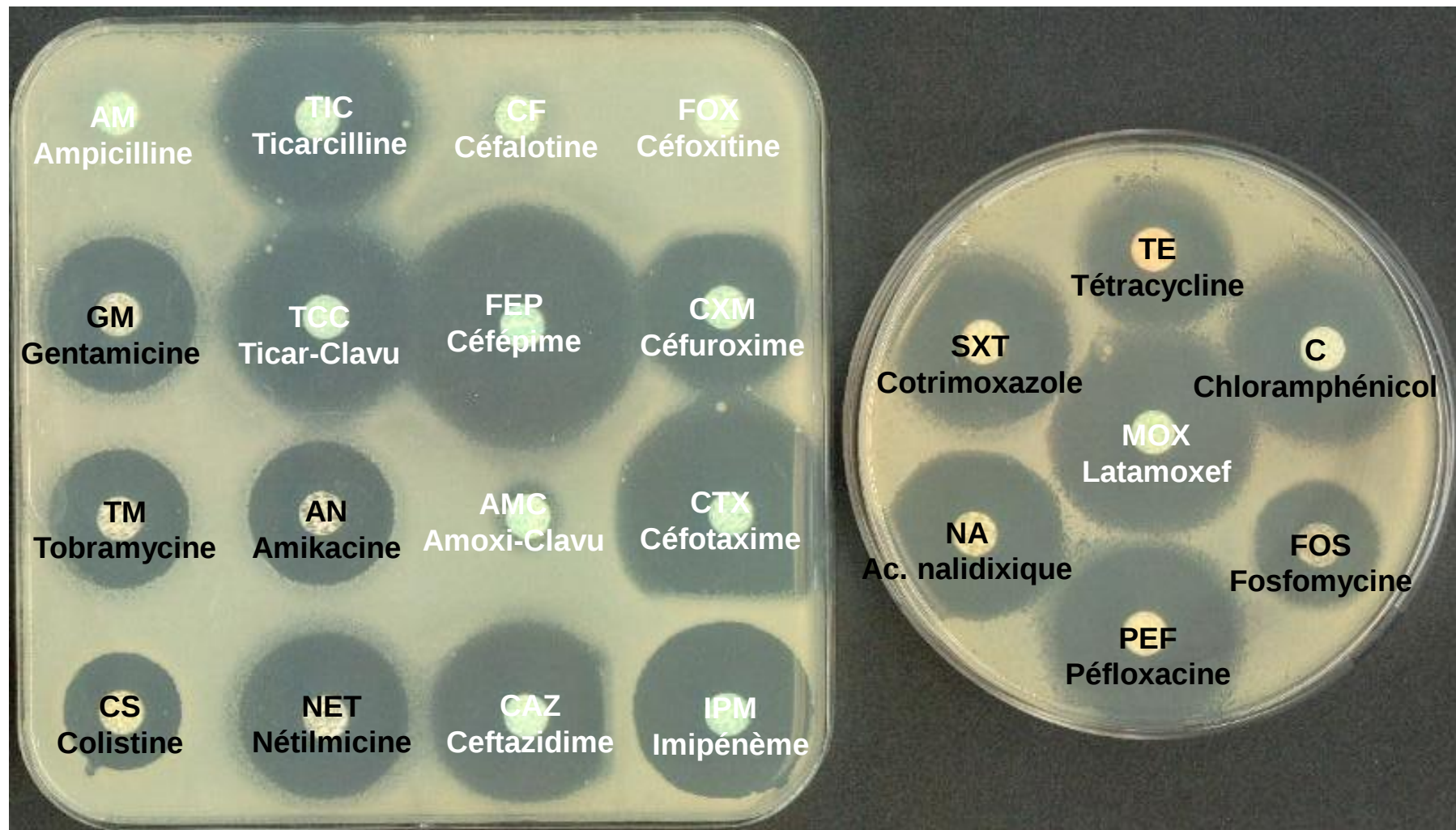
C. AmpD-Associated Derepression



Céphalosporinases inducibles

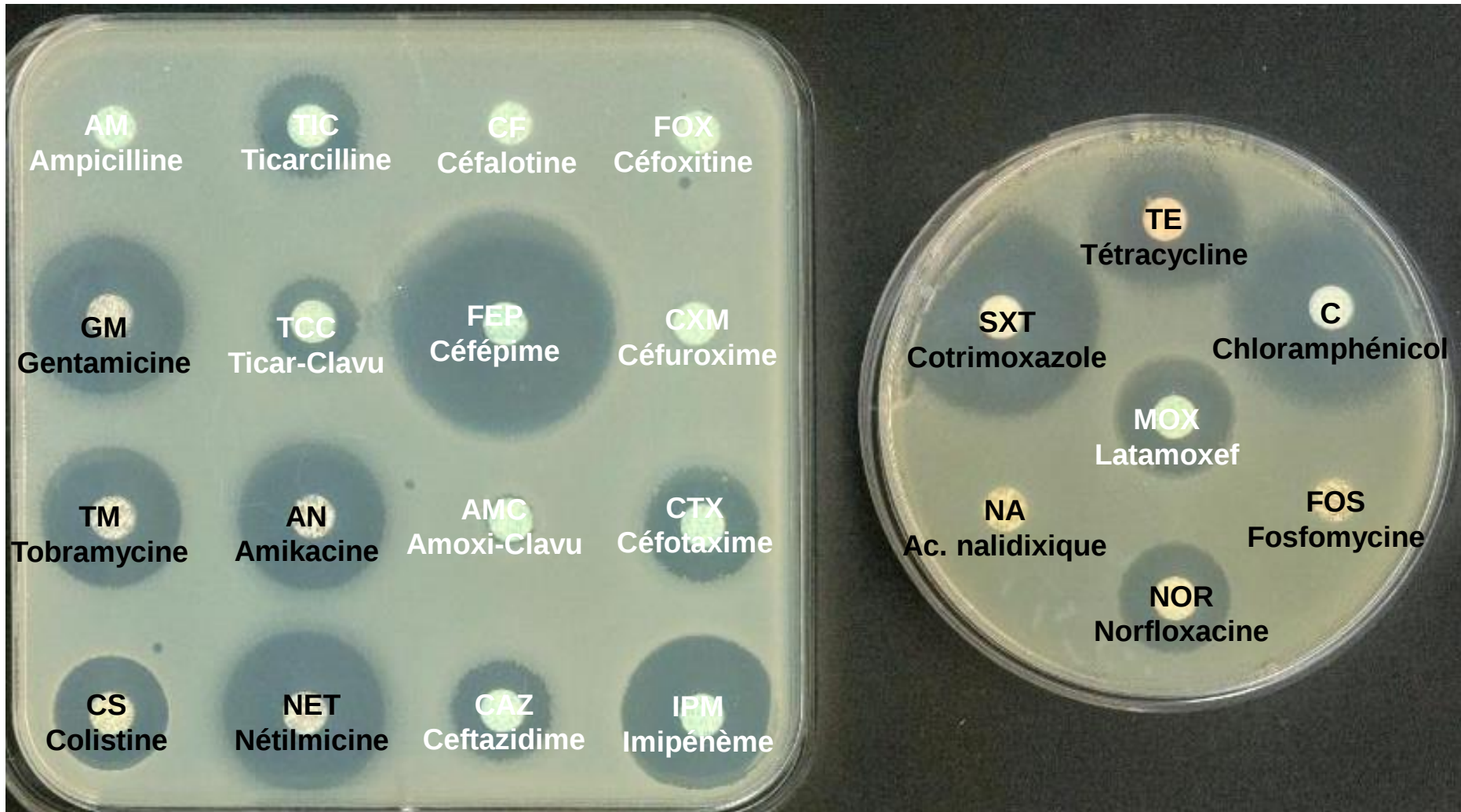
Lister et al. CMR 2009

Enterobacter aerogenes (Groupe 3) Sauvage



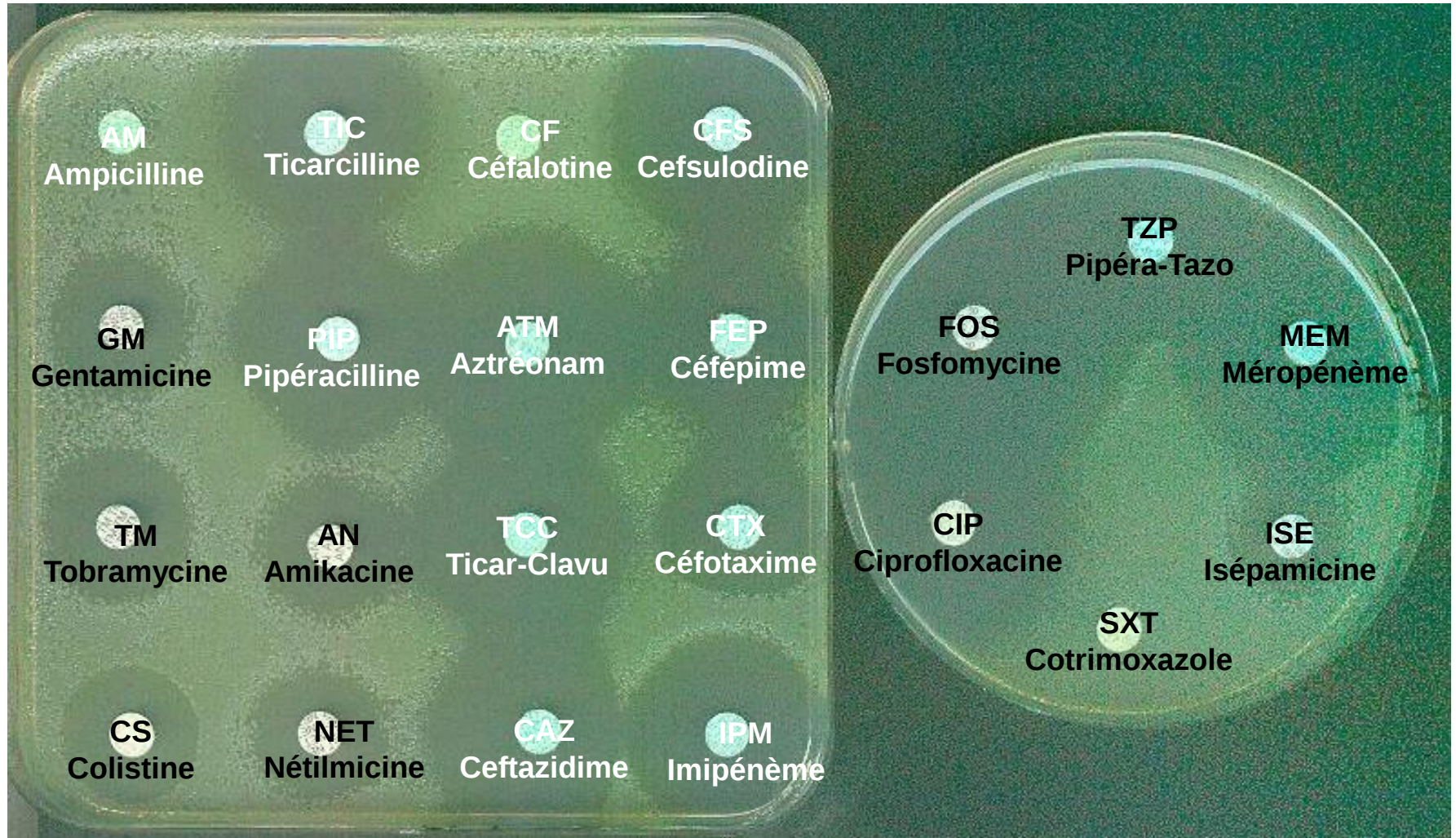
Enterobacter aerogenes

Céphalosporinase chromosomique hyperproduite



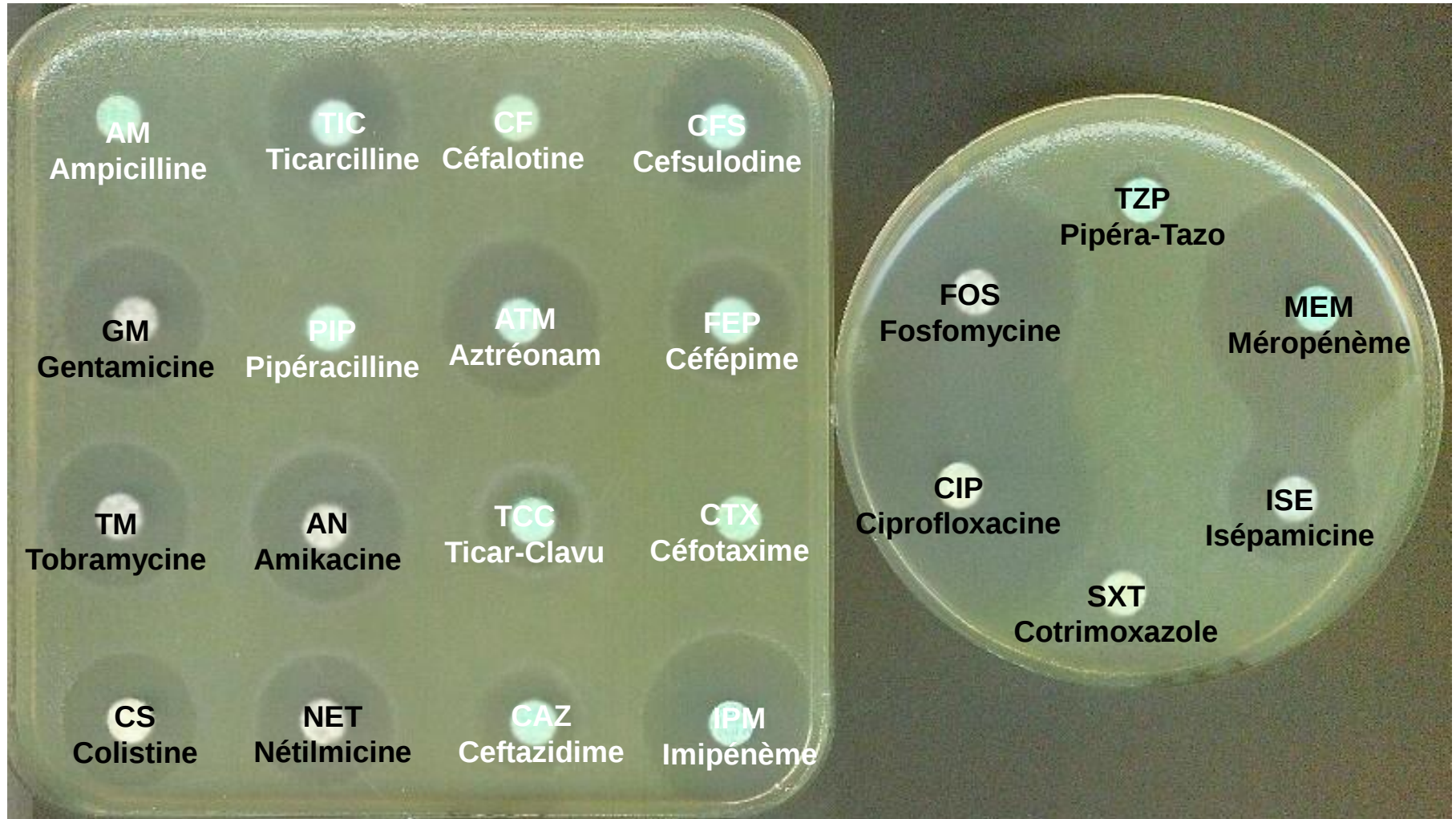
Pseudomonas aeruginosa

Sauvage



Pseudomonas aeruginosa

Céphalosporinase chromosomique hyperproduite

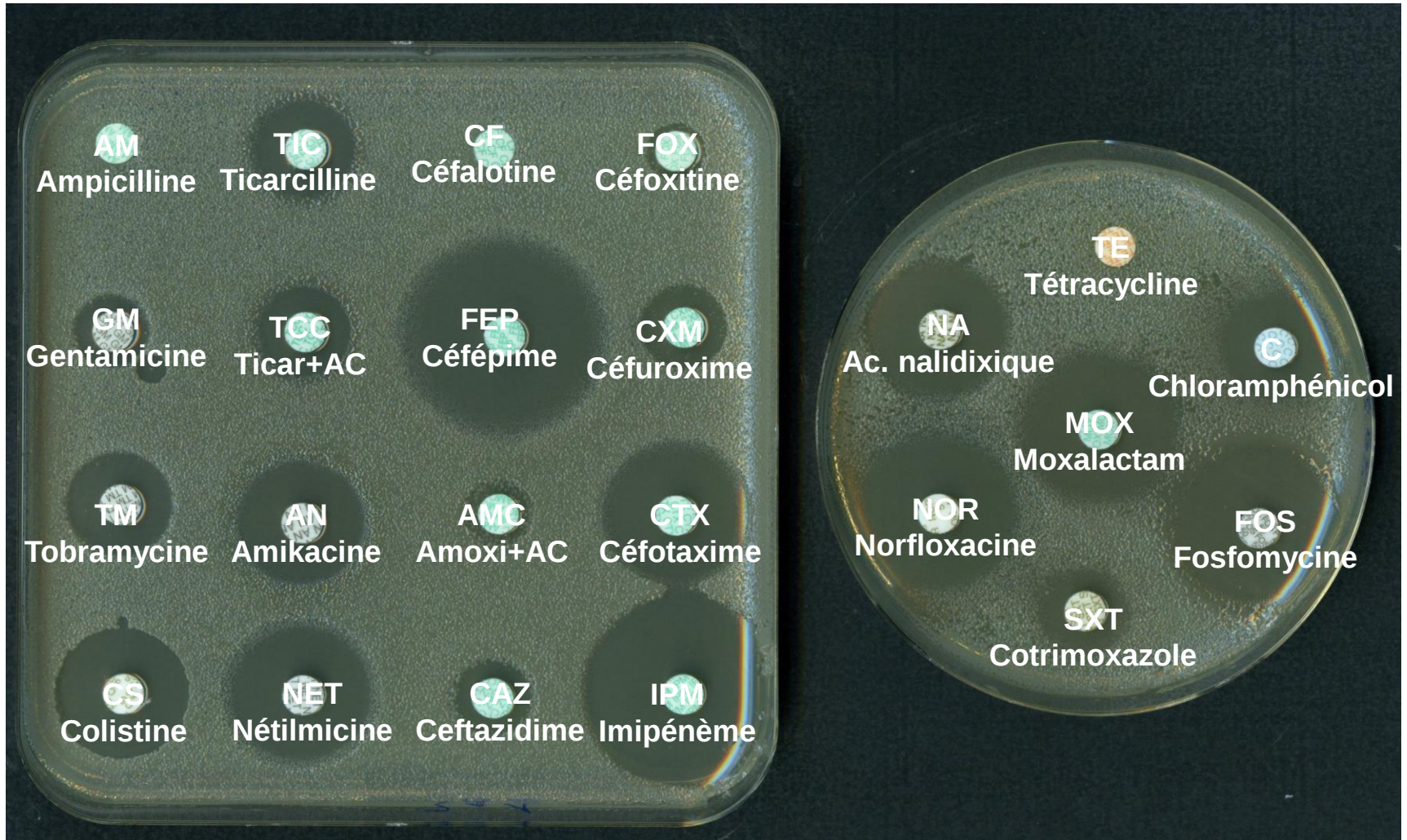


Résistances acquises par production de β -lactamases

- ✓ Hyperproduction des β -lactamases **chromosomiques**
 - ✓ Céphalosporinases inductibles :
Mutations dans les gènes de régulation → dérégulation
Enterobacterales du groupe 3, *P. aeruginosa*
 - ✓ Céphalosporinases/Pénicillinase constitutives :
Mutation dans le promoteur ↑ production
E. coli, *Klebsiella oxytoca*
IS apportant un promoteur : *A. baumannii*
- ✓ Elargissement du spectre des β -lactamases **chromosomiques** : *E. coli*, *K. oxytoca*

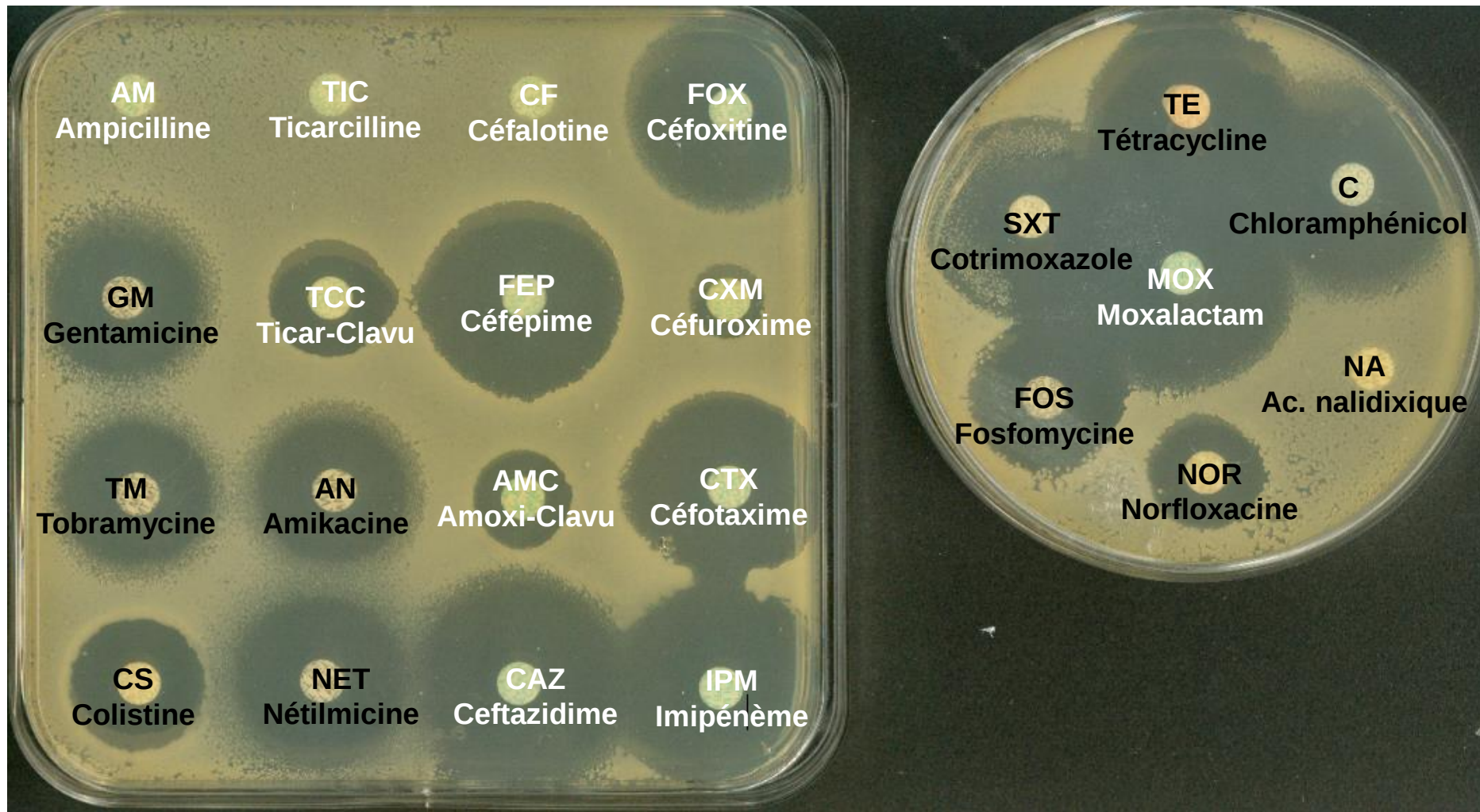
Escherichia coli

Hyperproduction de la céphalosporinase chromosomique



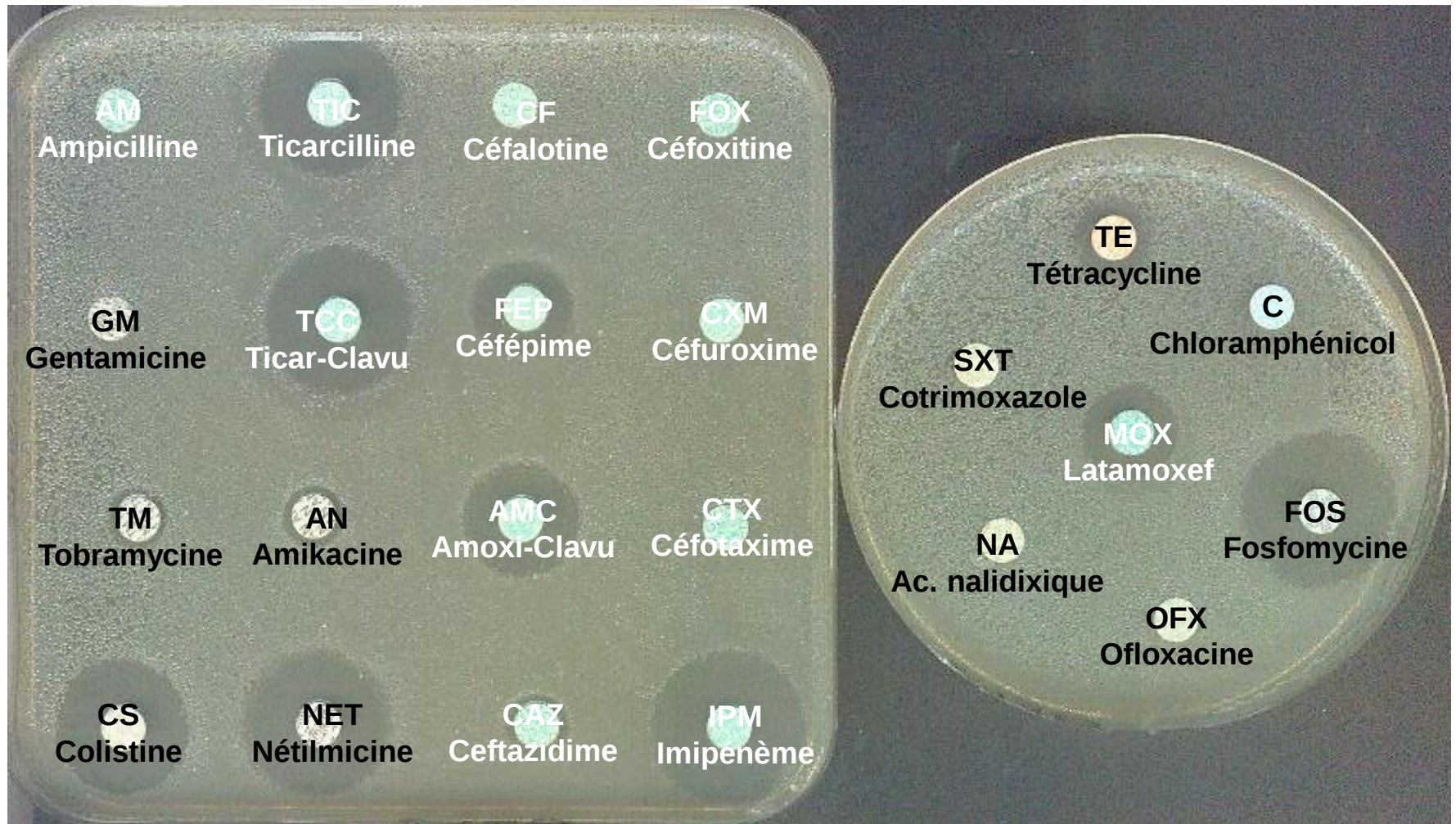
Klebsiella oxytoca

Pénicillinase chromosomique hyperproduite (hyperOXY)



Acinetobacter baumannii

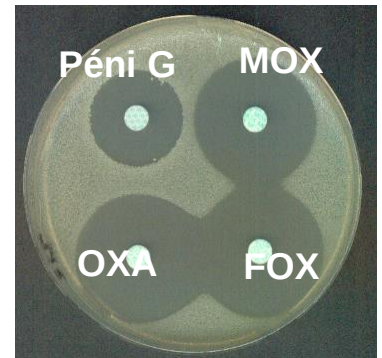
Céphalosporinase haut niveau



Résistances acquises par production de β -lactamases

✓ Acquisition de β -lactamases via des **EGM** (PI/Tn/In)

- ✓ Gram + : Pénicillinase **Staphylocoques**
80 à 90% des souches,
R PeniG et Peni A, S pénic M (méticilline),
- par IBL

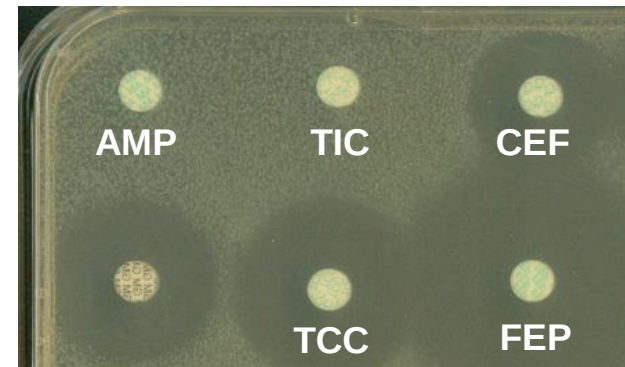


- ✓ Gram - : Pénicillinases
Enterobacterales, Haemophilus, Neisseria, etc... TEM, SHV
P. aeruginosa : PSE = CARB, OXA
B. catarrhalis : BRO ...

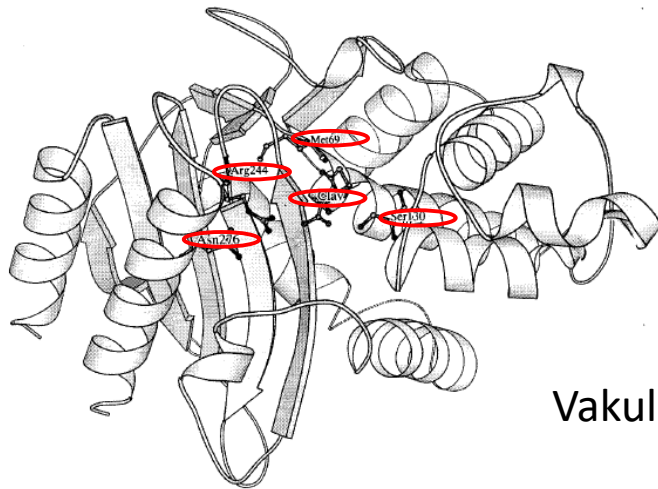
~ 54% *E. coli, H. influenzae*

R PeniG, M, A

± inhibées par IBL



- ✓ Gram - : **TRI** : TEM résistantes aux inhibiteurs (SHV)
~ 20% *E. coli*, R PeniG, A, M et non inhibées par IBL



Mutation au niveau du site actif
↓ de l'affinité pour les β -lactamines

Vakulenko et al. AAC 1998

- ✓ Gram - : **BLSE** : β -lactamases à spectre étendu
dérivés de TEM et SHV, CTX-M, PER, VEB... :
Enterobacterales, autres BGN
R peniG, A, M, ATM et céphalosporines
sensibles aux IBL → bouchon de champagne

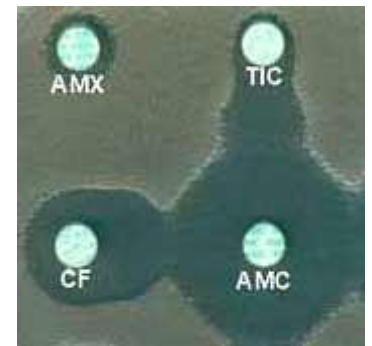
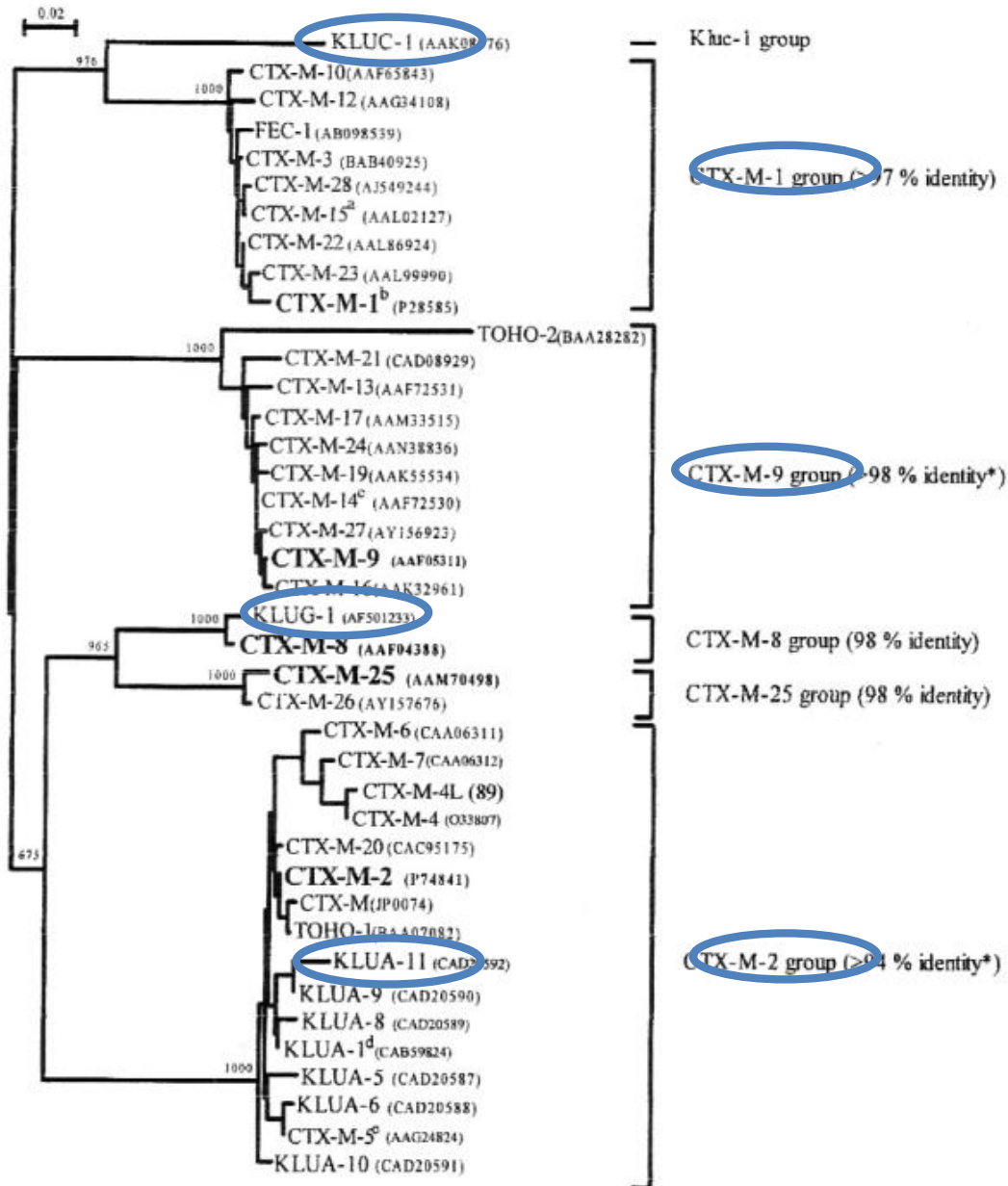


Image de synergie

dérivés d'OXA : *P. aeruginosa*

BLSE de type CTX-M



➤ **CTX-M (272)**
5 groupes phylogénétiques
(> 94% identité)

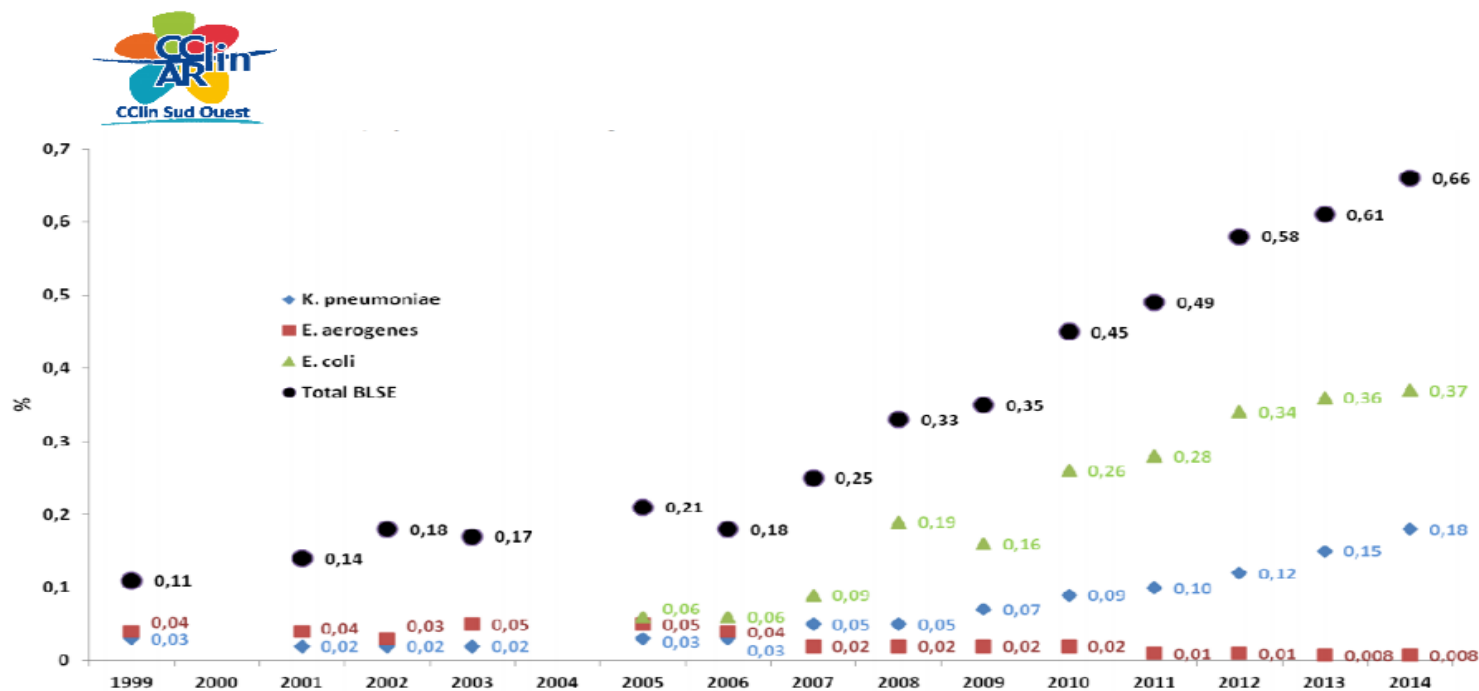
➤ **Origine : β -lactamases**
chromosomiques
d'*Enterobacterales*
environnementales :
les *Kluyvera* spp.

Epidémiologie

1980 : *E. coli* TEM-3,
K. pneumoniae SHV-4
E. aerogenes TEM-24...

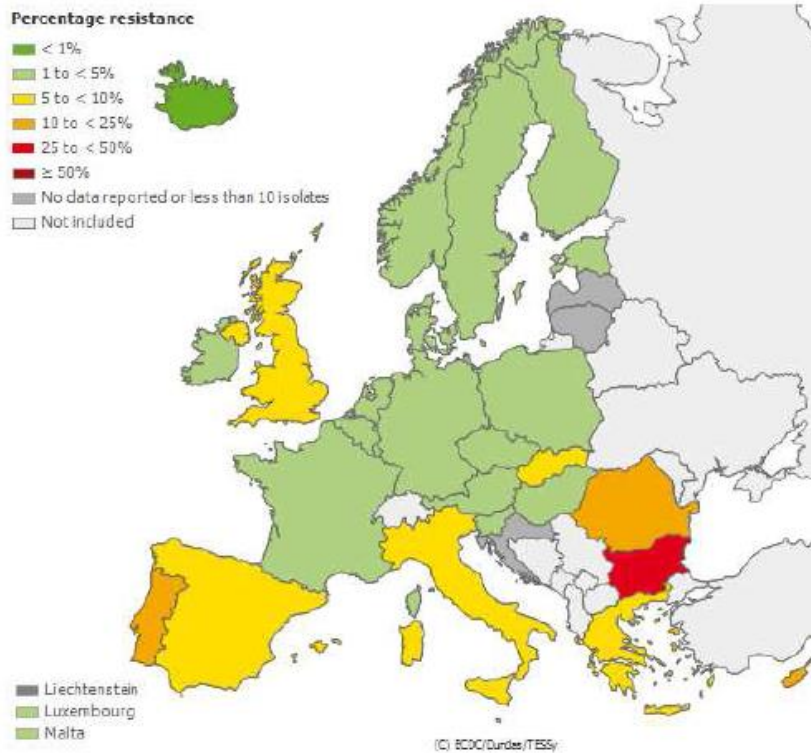
Infections nosocomiales

2000 : *E. coli* CTX-M → Infections communautaires, infections nosocomiales
 → Diffusion mondiale du clone O25:H4 ST131 (CTX-M-15)



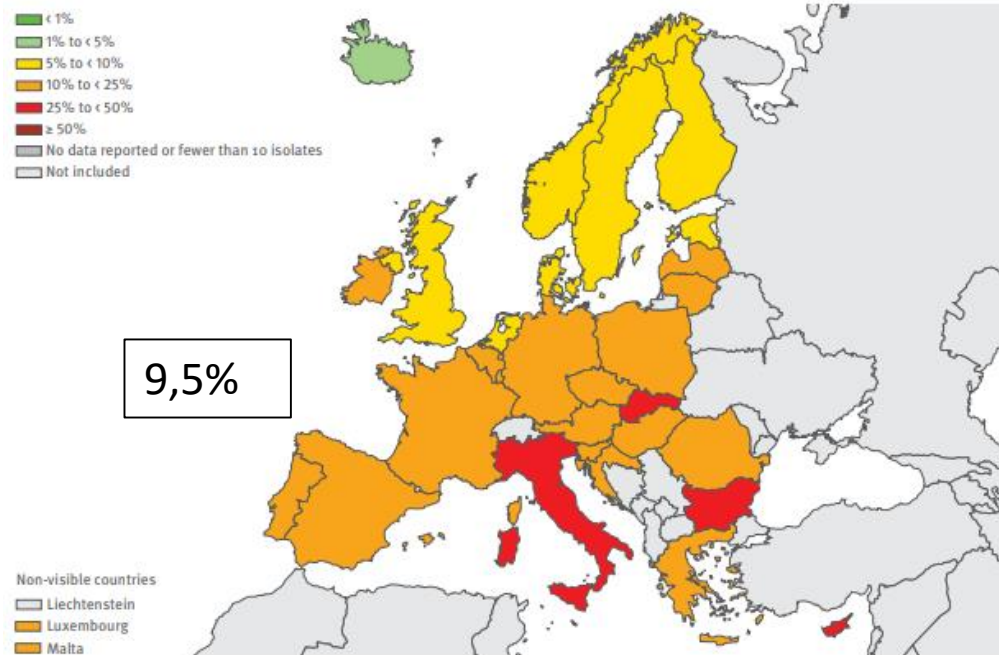
Pourcentage de résistance aux céphalosporines de 3^{ème} générations chez *E. coli* dans les infections invasives

ECDC/EARS-Net 2005

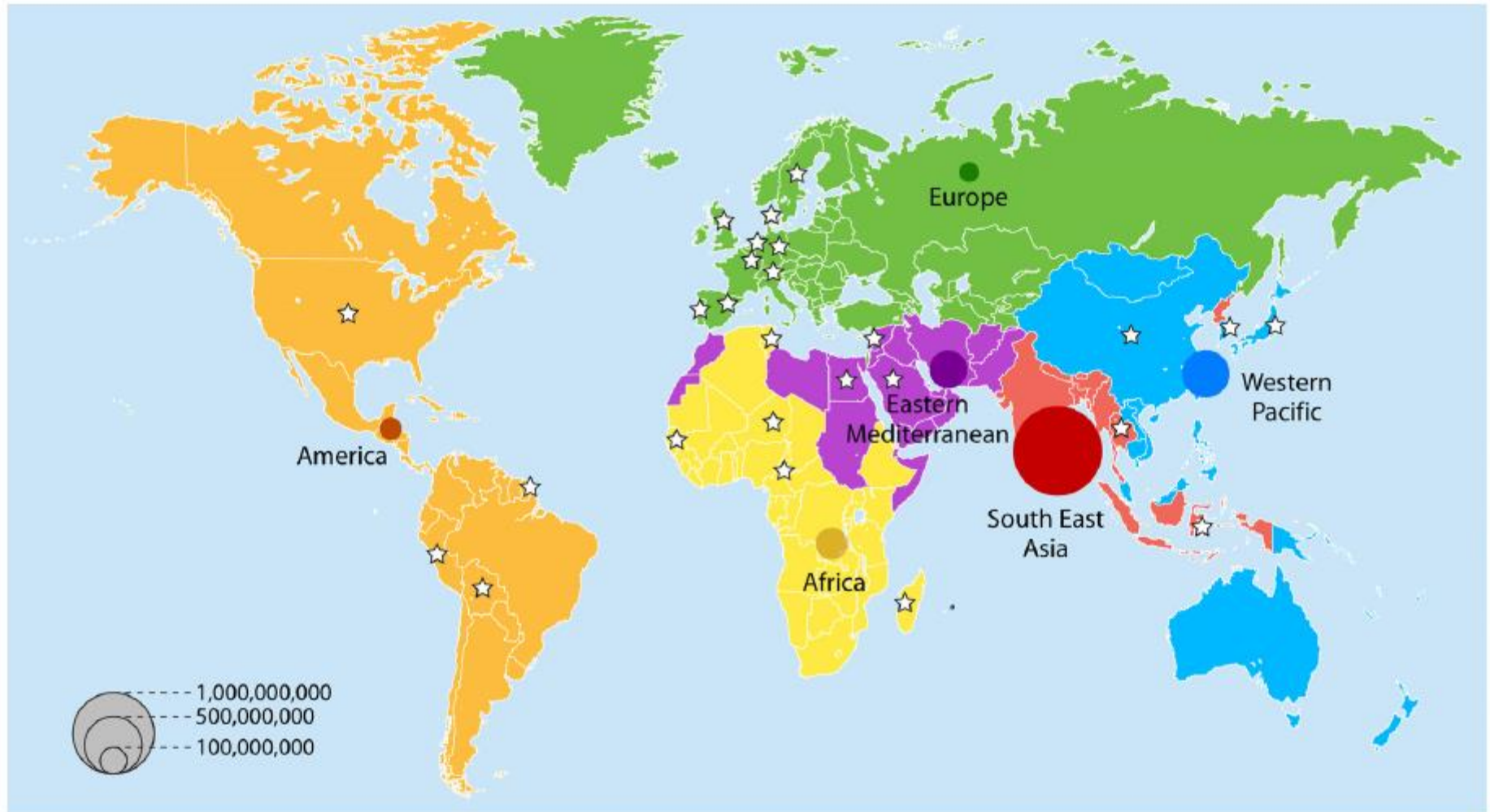


ECDC/EARS-Net 2020

Figure 3.3. *Escherichia coli*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to third-generation cephalosporins, by country, EU/EEA countries, 2016



Nombre de porteurs de EBLSE dans la communauté en 2010



Réservoirs des BMR

- **EBLSE (EPC)** : bactéries commensales du TD

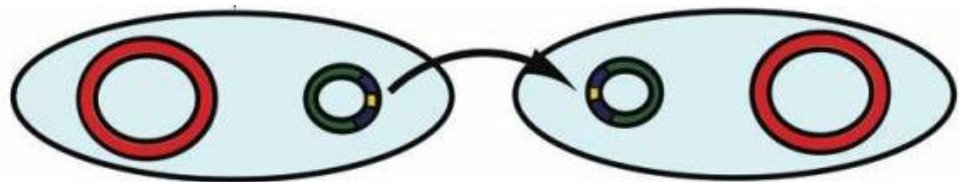
E. coli : espèce majoritaire (10^8 / gr de selles)

Difficulté à contrôler

Réservoir durable surtout en milieu hospitalier

Transfert des gènes de résistance

Multiresistance



Plasmids can be transferred to other bacteria. This allows bacteria to trade and/or acquire resistance genes.

**INTRODUCTION PROBABLE
D'*ESCHERICHIA COLI* PRODUCTEURS DE CTX-M
DE LA COMMUNAUTE DANS UN SERVICE DE
MATERNITE, ET TRANSMISSION DES MERES
AUX NOUVEAUX-NES.**

Dubois V., de Barbeyrac B., Rogues A.M.,
Arpin C., Marianni P., Mégraud F., Quentin C.

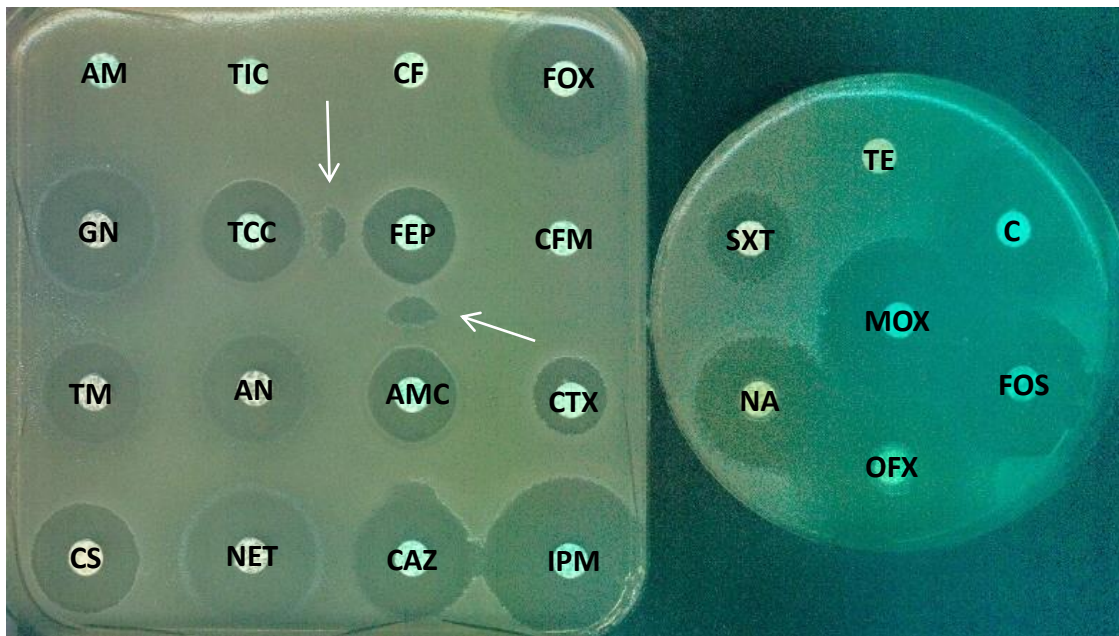
UMR 5234, CNRS, Université de Bordeaux, Laboratoire de
Bactériologie, Hôpital Pellegrin, Service d'hygiène hospitalière,
Hôpital Pellegrin, Service de Microbiologie, Hôpital Robert Debré.

INTRODUCTION

- *Escherichia coli* : agent pathogène majeur responsable d'infections communautaires ou acquises à l'hôpital
- β -Lactamases à spectre étendue (BLSE)
 - *Enterobacterales* résistantes
 - Enzymes dérivées de TEM-1, TEM-2, SHV-1
(*Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter aerogenes*,
épidémies nosocomiales)
 - Enzymes de type CTX-M
(*E. coli*, infections communautaires)

CONTEXTE CLINIQUE

- Novembre 2007 - Avril 2008
- 10 *E. coli* producteurs de BLSE / 250 (4%)



Ec4190

AM : ampicilline; TIC : ticarcilline; CF : céfalotine; FOX : céfoxitine; GN : gentamicine; TCC : ticarcilline + acide clavulanique; FEP : céfépime; CFM : céfuroxime; TM : tobramycine; AN : amikacine; AMC : amoxicilline + acide clavulanique; CTX : céfotaxime; CS : colistine; NET : nétilmicine; CAZ : ceftazidime; IPM : imipénème; TE : tétracycline, C : chloramphénicol; FOS : fosfomycine; OFX : ofloxacine, NA : acide nalidixique; SXT : cotrimoxazole; MOX : moxalactam.

PATIENTS

- 8 femmes et 2 nouveaux-nés

Patient N°	Age (ans)	Sexe	Prélèvement	Date de l'isolement	DH (j)	Pathologie et antibiothérapie préalable
① Mère*	35	F	Urine/hémoc	23/11/07	15	RPM, amoxicilline (08/11/07) et ceftriaxone
② NN	0	F	Liquide gastrique	30/11/07	1	Naissance 29/11/07
③	39	F	Urine	19/11/07	1	Douleurs abdominales, saignements, pas ATB
④	27	F	Urine	27/11/07	0	Violence conjugale, pas ATB
⑤	30	F	PV	07/01/08	2	RPM, spiramycine
⑥	27	F	Urine	19/01/08	60	RPM, amoxicilline (10/11/07) et cefpodoxime
⑦ Mère	39	F	PV	03/03/08	41	RPM, amoxicilline (20/01/08)
⑧ NN	0	M	Liquide gastrique	03/03/08	0	Naissance 03/03/08
⑨	32	F	Urine	17/03/08	0	Douleurs abdominales, pas ATB
⑩	37	F	PV	11/04/08	20	Hémorragie, amoxicilline

DH: durée d'hospitalisation, RPM: rupture prématurée des membranes, ATB : traitement antibiotique; PV : prélèvement vaginal. * Infection liée à la présence d'*E. coli* BLSE +

PATIENTS

- Différents secteurs de la maternité, mais la même salle d'échographie et de prélèvements → pas d'entérobactéries productrices de BLSE dans les prélèvements environnementaux

Patient N°	Age (ans)	Sexe	Prélèvements	Date d'isolement	DH	Pathologie et antibiothérapie préalable	Service
1 Mère	35	F	Urine	23/11/07	15	RPM, amoxicilline (08/11/07) et ceftriaxone	PP1
2 NN	0	F	Liquide gastrique	30/11/07	1	Naissance 29/11/07	NN
3	39	F	Urine	19/11/07	1	Douleurs abdominales, saignements, pas ATB	Cs
4	27	F	Urine	27/11/07	0	Violence conjugale, pas ATB	U
5	30	F	PV	07/01/08	2	RPM, spiramycine	PP1
6	27	F	Urine	19/01/08	60	RPM, amoxicilline (10/11/07) et cefpodoxime	PP1
7 Mère	39	F	PV	03/03/08	41	RPM, amoxicilline (20/01/08)	Mat
8 NN	0	M	Liquide gastrique	03/03/08	0	Naissance 03/03/08	Mat
9	32	F	Urine	17/03/08	0	Douleurs abdominales, pas ATB	U
10	37	F	PV	11/04/08	20	Hémorragie, amoxicilline	PP2

PP : grossesse pathologique; NN : néonatalogie; Cs : consultations; U : urgences; Mat: maternité.

CARACTERISATION DE LA RESISTANCE AUX β -LACTAMINES

- Phénotypes de résistance variés

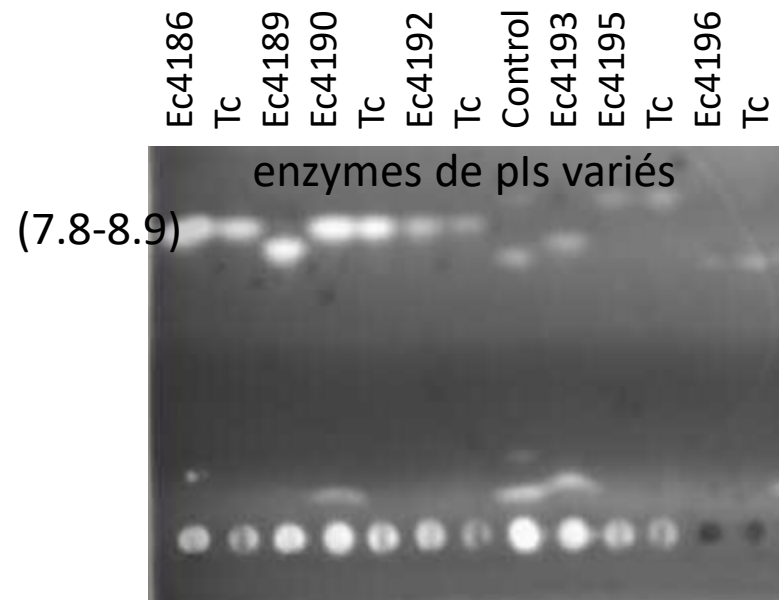
Patient N°	Souche N°	Prélèvement	Phénotype de résistance
1 Mère	Ec4186	Urine	BLSE, SXT, (TE)
2 NN	Ec4187	Liquide gastrique	BLSE, SXT, (TE)
3	Ec4189	Urine	BLSE, TE, FQ
4	Ec4190	Urine	BLSE, TE, (SXT)
5	Ec4192	PV	BLSE, TE, C
6	Ec4193	Urine	BLSE, GTNt, TE, C, SXT, (FQ)
7 Mère	Ec4195	PV	BLSE, (TE)
8 NN	Ec4194	Liquide gastrique	BLSE, (TE)
9	Ec4196	Urine	BLSE, TNtA, TE, SXT, FQ
10	Ec4305	PV	BLSE, FQ

SXT : cotrimoxazole; TE : tétracycline; FQ : fluoroquinolones; C : chloramphénicol; G : gentamicine; T : tobramycine; Nt : nétilmicine; A : amikacine; () : bas niveau de résistance.

CARACTERISATION DE LA RESISTANCE AUX β -LACTAMINES

- Transfert de la résistance aux β -lactamines : conjugaison pour 7 des 10 souches (5×10^{-4} to 4×10^{-8})
- PCR: *bla*_{CTX-M} pour toutes les souches
- Enzyme TEM-1 ou OXA-1-like additionnelle

- Isoélectrofocalisation (IEF) :



CARACTERISATION DE LA RESISTANCE AUX β-LACTAMINES

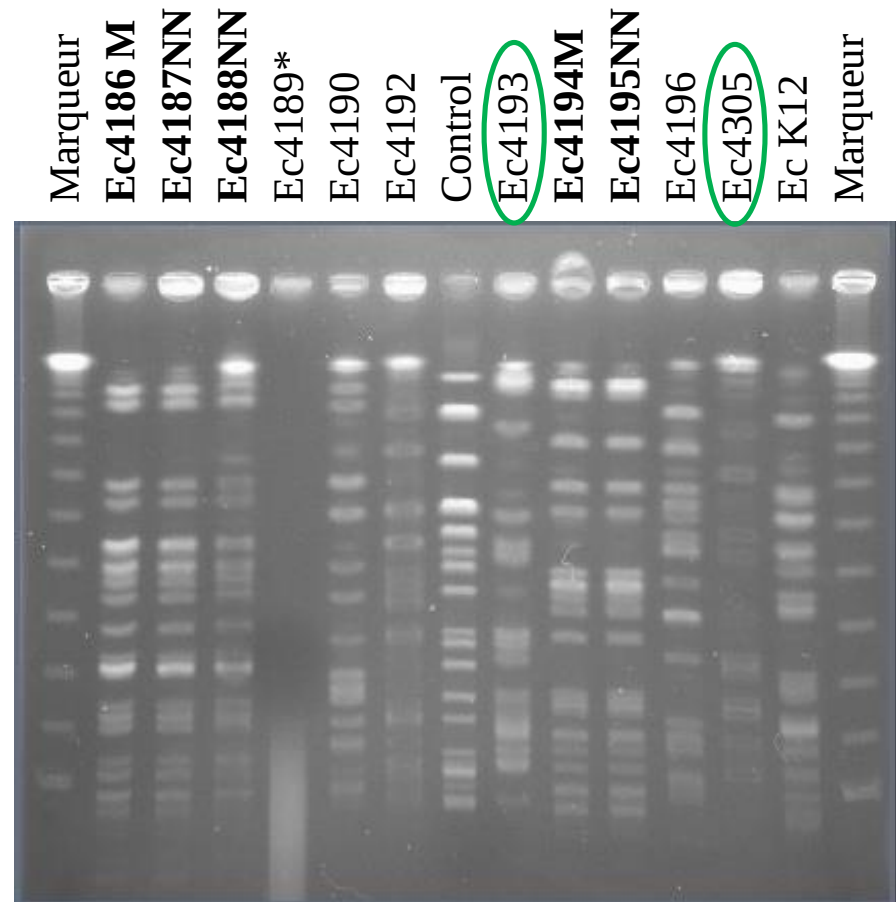
- Séquençage des gènes *bla*_{CTX-M} :

Patient N°	Souche N°	Prélèvement	pl(s)	Contenu en β-lactamases et phénotype de résistance
1 Mère	Ec4186	Urine	8.5	CTX-M-1, SXT, (TE)
2 NN	Ec4187	Liquide gastrique	8.5	CTX-M-1, SXT, (TE)
3	Ec4189	Urine	8.1	CTX-M-14, TE, FQ
4	Ec4190	Urine	8.5; 5.4	CTX-M-1, TEM-1, TE, (SXT)
5	Ec4192	PV	8.5	CTX-M-1, TE, C
6	Ec4193	Urine	8.1; 5.6	CTX-M-14, TEM-2, GTNt, TE, C, SXT, (FQ)
7 Mère	Ec4195	PV	8.9	CTX-M-32, (TE)
8 NN	Ec4194	Liquide gastrique	8.9	CTX-M-32, (TE)
9	Ec4196	Urine	7.8	CTX-M-28, OXA-1, TNtA, TE, SXT, FQ
10	Ec4305	PV	8.1; 5.4	CTX-M-14, TEM-1, FQ

EPIDEMIOLOGIE MOLECULAIRE

- Détermination des groupes phylogénétiques et PFGE (*Olivier et al. AEM 2000*)

Patient N°	Souche N°	Groupe phylogénétique	Contenu en CTX-M
1 Mère	Ec4186	A	CTX-M-1
2 NN	Ec4187	A	CTX-M-1
3	Ec4189	B1	CTX-M-14
4	Ec4190	D	CTX-M-1
5	Ec4192	B2	CTX-M-1
6	Ec4193	D	CTX-M-14
7 Mère	Ec4195	D	CTX-M-32
8 NN	Ec4194	D	CTX-M-32
9	Ec4196	B2	CTX-M-28
10	Ec4305	D	CTX-M-14



* Non typable dû à une forte activité DNase

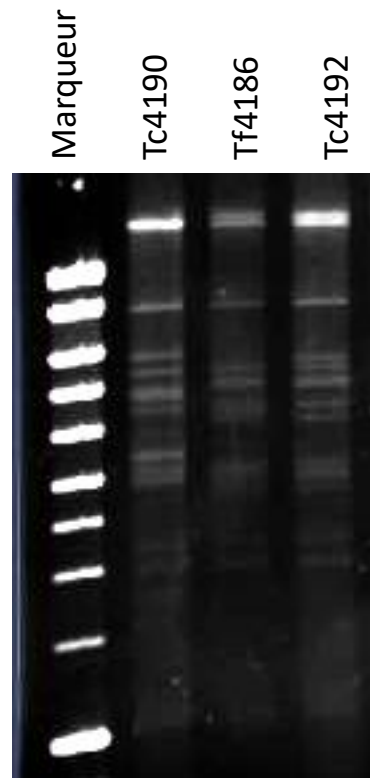
GROUPES D'INCOMPATIBILITE DES PLASMIDES

- Détermination des groupes d'incompatibilité (Inc) plasmidique par PCR (*Carattoli A et al. JMM 2005*)
- Souches cliniques et transconjugants et/ou transformants

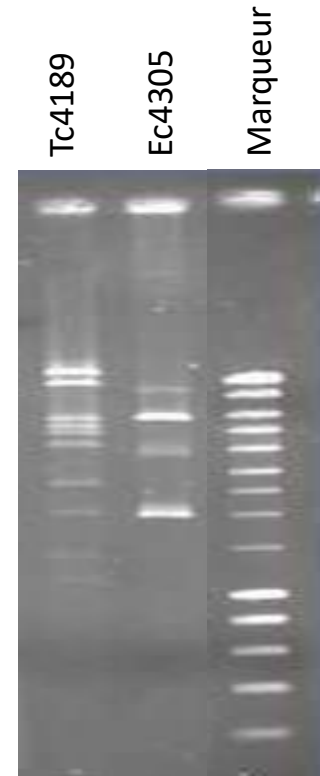
Patient N°	Souche N°	Inc (souche clinique)	Inc (Tc ou Tf)	Contenu en CTX-M
1 Mère	Ec4186	I1-F	I1	CTX-M-1
2 NN	Ec4187	I1-F	I1	CTX-M-1
3	Ec4189	F	F	CTX-M-14
4	Ec4190	I1-F	I1	CTX-M-1
5	Ec4192	I1-P	I1	CTX-M-1
6	Ec4193	I1	I1	CTX-M-14
7 Mère	Ec4195	N	N	CTX-M-32
8 NN	Ec4194	N	N	CTX-M-32
9	Ec4196	F	F	CTX-M-28
10	Ec4305	F	F	CTX-M-14

IDENTIFICATION DES PLASMIDES

- Restriction par *EcoRI* des plasmides appartenant au même groupe d'incompatibilité (Inc)



CTX-M-1



CTX-M-14

DISCUSSION-CONCLUSION

- Pseudo épidémie d'*E. coli* producteurs de BLSE dans un service de maternité
- Différents secteurs de l'unité
- Phénotypes de résistance variés
- Différentes enzymes de type CTX-M
- Pas de souche clonale, pas de plasmide commun

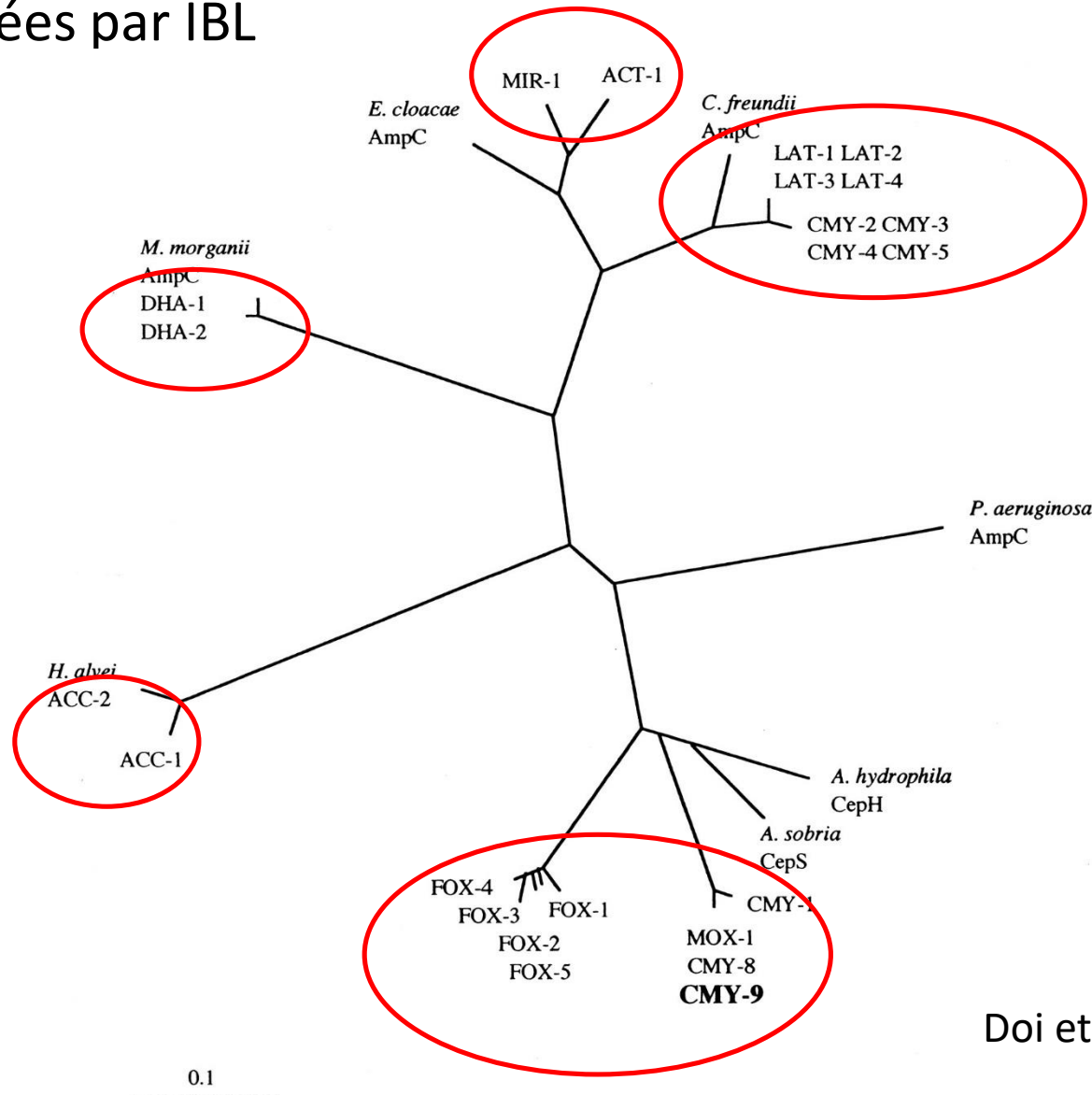


Transmission des mères aux NN



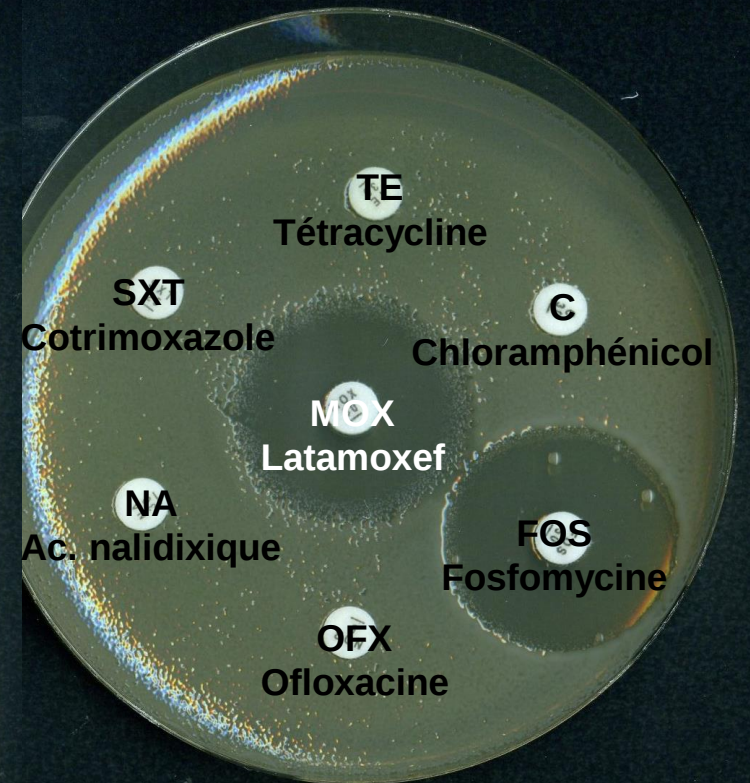
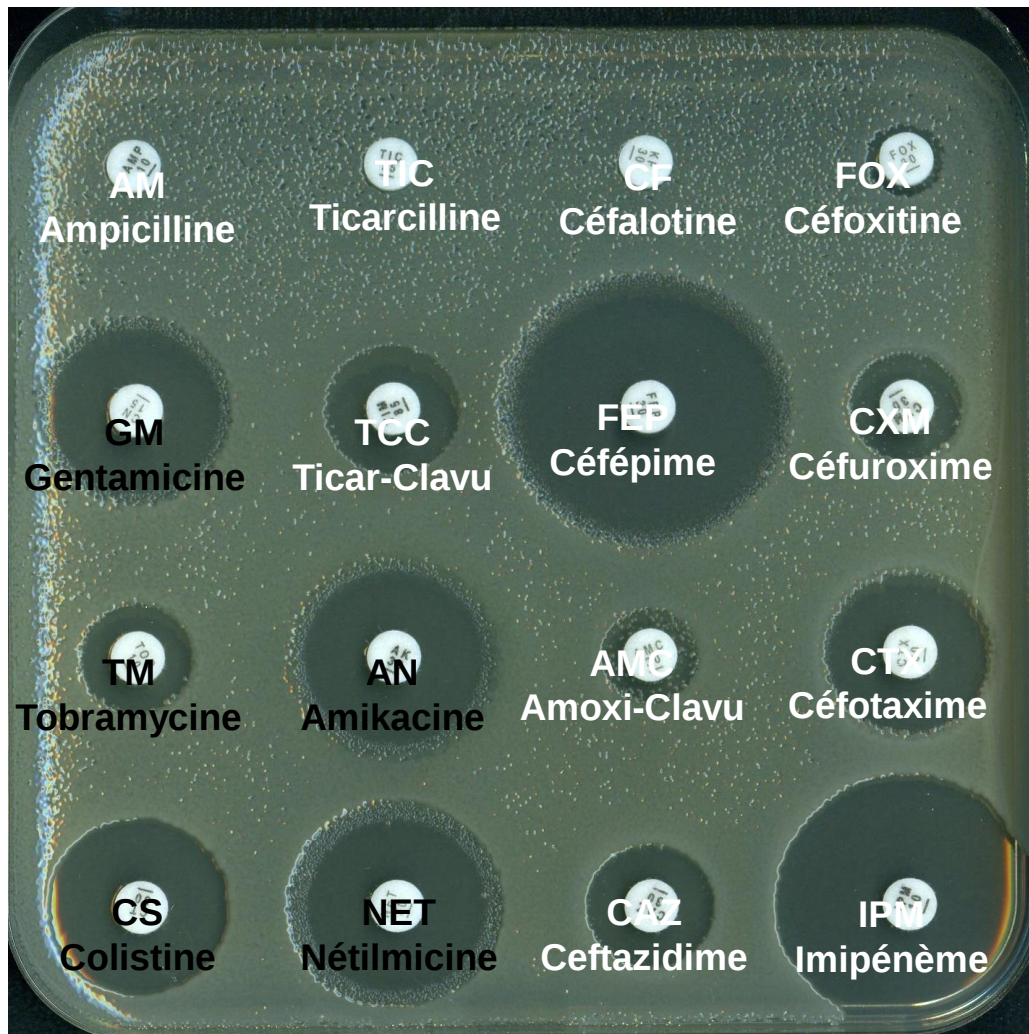
Probable origine communautaire de souches variées porteuses de CTX-M

- ✓ Gram - : **Céphalosporinases plasmidiques**
Enterobacterales, R PeniG, M, AminoP, ATM, céphalosporines et non inhibées par IBL



Escherichia coli

Céphalosporinase plasmidique (CMY-2) + Pénicillinase



- ✓ Gram - : **Carbapénèmases**
Enterobacterales, KPC, GES (Classe A) OXA-48 (Classe D),
NDM (Classe B)
P. aeruginosa, VIM, IMP ... (Classe B)
A. baumannii, dérivés d'OXA



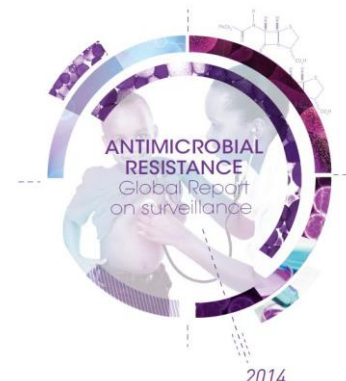
Available online at www.sciencedirect.com



Alarming β -lactamase-mediated resistance in multidrug-resistant *Enterobacteriaceae* Karen Bush

OXA-48-like carbapenemases: the phantom menace

Laurent Poirel*, Anaïs Potron and Patrice Nordmann



2014

leJDD.fr

Photo
Newsletter
RSS
Le journal

Immo neuf
Immo ancien
Shopping
Emploi

Rencontres
Programme TV
Circulation
Paris sportifs



Recherche sur

Accueil Cantonales 2011 Politique Elysée 2012 **Société** Médias Culture International Economie

Société | Santé | 11/08/2010 - 17:59

Thématiques

Découverte d'une bactérie ultra résistante aux antibiotiques



Classe B : Métallo-enzymes

IMP (Imipénémase, Japon, n=102),
VIM (Verona imipenemase, n=86),
NDM (New Delhi métallo- β -lactamase, n =61),
 SPM, GIM, SIM, AIM-1, KHM-1 ...

Inhibées par EDTA

Tableau I
Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines chez les entérobactéries liés à l'expression de carbapénèmases.

	AMX	AMC	PIP/TZB	CTX	CAZ	IMP	ERT	AZT
KPC	R	I	R	R	R	S/I/R	I/R	R
IMP/VIM/NDM	R	R	S/I	R	I/R	S/I/R	I/R	S
OXA-48	R	R	R	S	I/S	I/S	I/S	S

Abréviations : AMX : Amoxicilline ; AMC : Amoxicilline/acide clavulanique ; PIP/TZB : Piperacilline tazobactam ; CTX : Céfotaxime ; CAZ : Ceftazidime ; IMP : Imipénème ; ERT : Ertapénème ; AZT : Aztréonam.

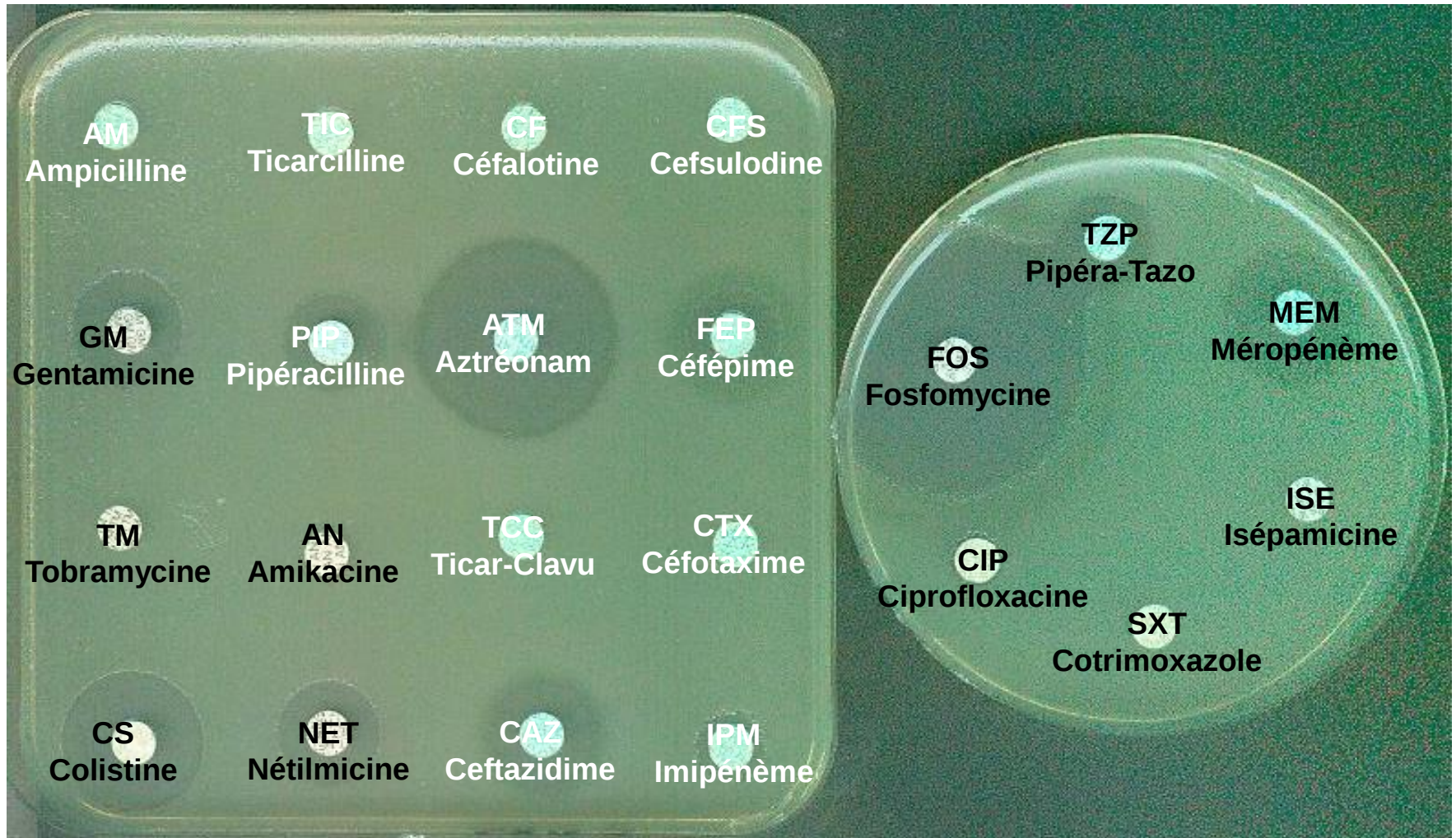
NB : les phénotypes de résistance indiqués sont, en l'absence de BLSE, associées : BLSE fréquemment présentes dans les souches productrices de KPC ou de OXA-48.

Profil de sensibilité

Carrër & Nordmann, Archives de Pédiatrie, 2010

Pseudomonas aeruginosa

Carbapénémase de classe B (VIM-2)

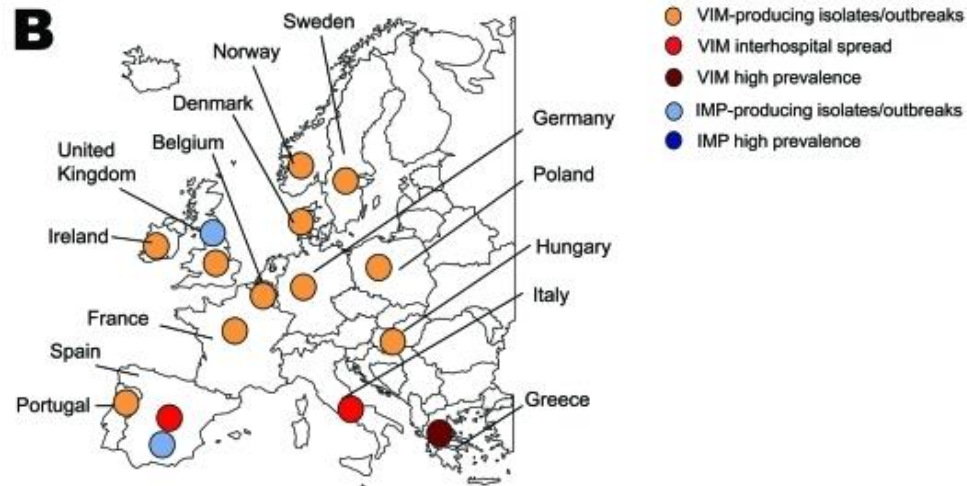


Epidémiologie

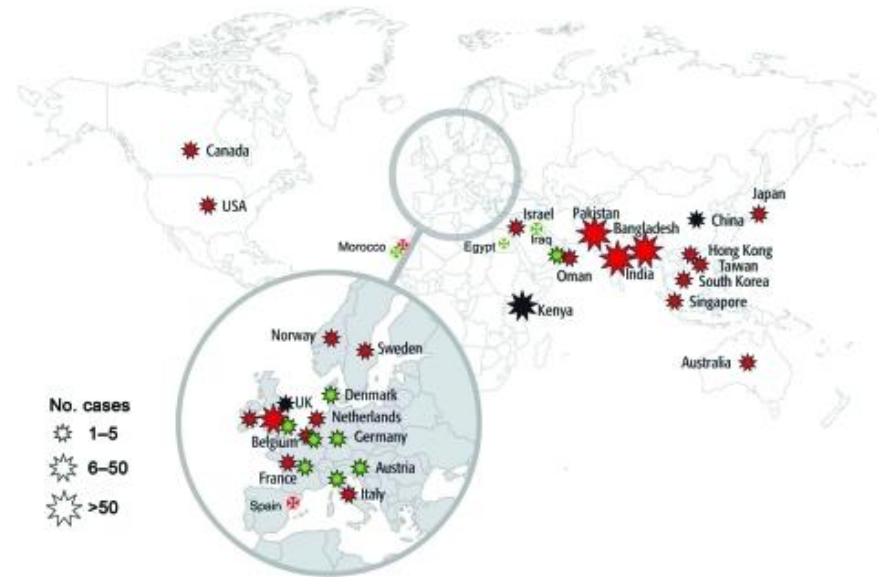
A



B



VIM, IMP



NDM

Nordman et al. Emerg Infect Dis. 2011

Classe A :

➤ **KPC (n=192) : 1996 aux USA**

K. pneumoniae >> *E. coli* > autres

➤ GES (BLSE/carbapénèmase) faible hydrolyse des carbapénèmes
SME-1, NMC-A, IMI

➤ Inhibées par les inhibiteurs de β -lactamases

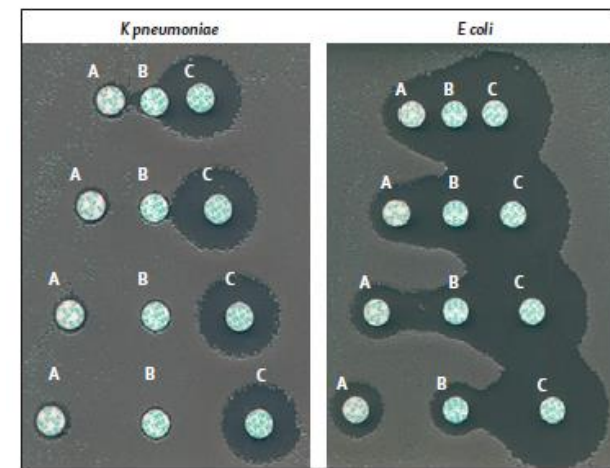


Tableau I

Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines chez les entérobactéries liés à l'expression de carbapénémases.

	AMX	AMC	PIP/TZB	CTX	CAZ	IMP	ERT	AZT
KPC	R	I	R	R	R	S/I/R	I/R	R
IMP/VIM/NDM	R	R	S/I	R	I/R	S/I/R	I/R	S
OXA-48	R	R	R	S	I/S	I/S	I/S	S

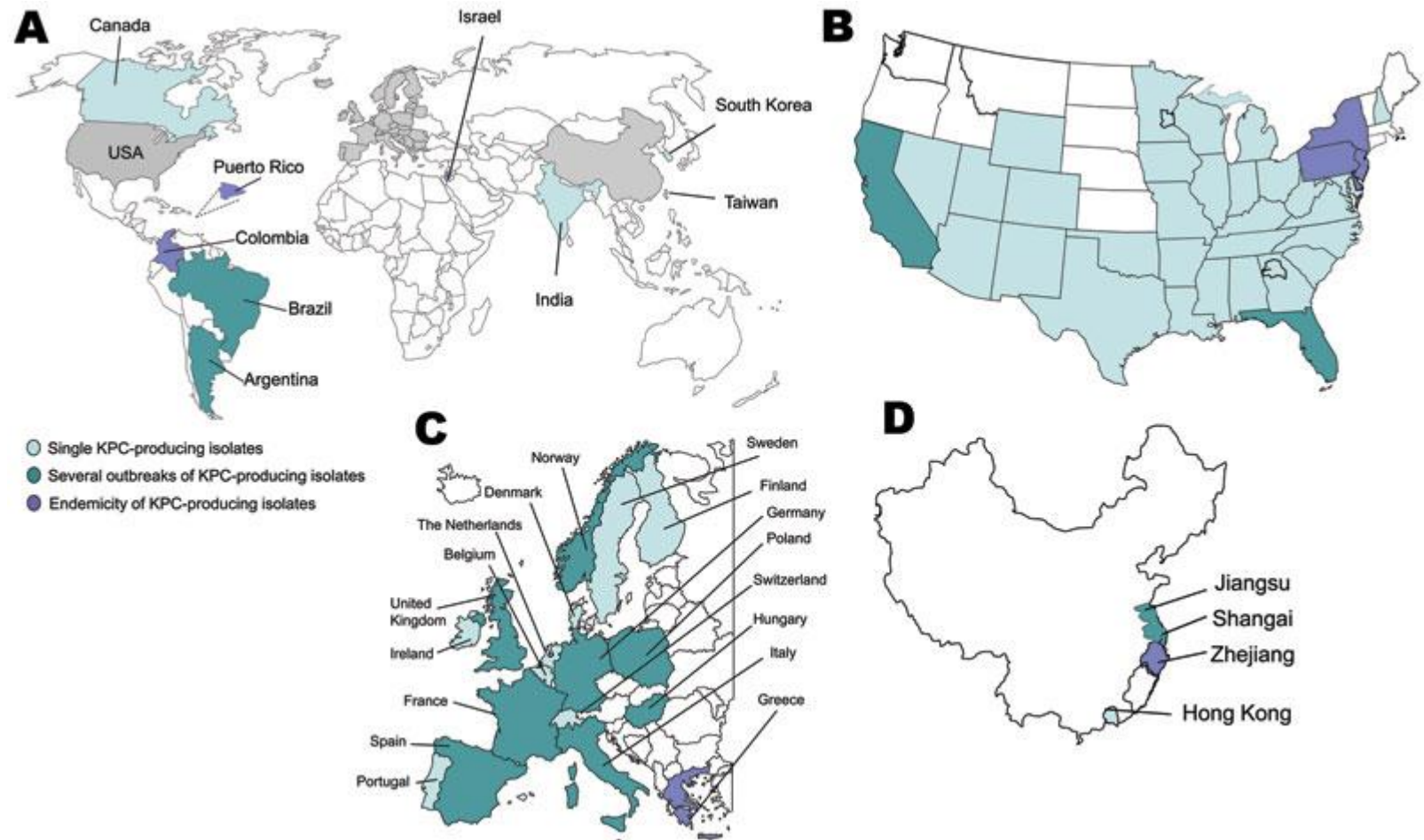
Abréviations : AMX : Amoxicilline ; AMC : Amoxicilline/acide clavulanique ; PIP/TZB : Piperacilline tazobactam ; CTX : Céfotaxime ; CAZ : Ceftazidime ; IMP : Imipénème ; ERT : Ertapénème ; AZT : Aztréonam.

NB : les phénotypes de résistance indiqués sont, en l'absence de BLSE, associées : BLSE fréquemment présentes dans les souches productrices de KPC ou de OXA-48.

Profil de sensibilité

Carrër & Nordmann, Archives de Pédiatrie, 2010

International dissemination of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing *Enterobacteriaceae*.

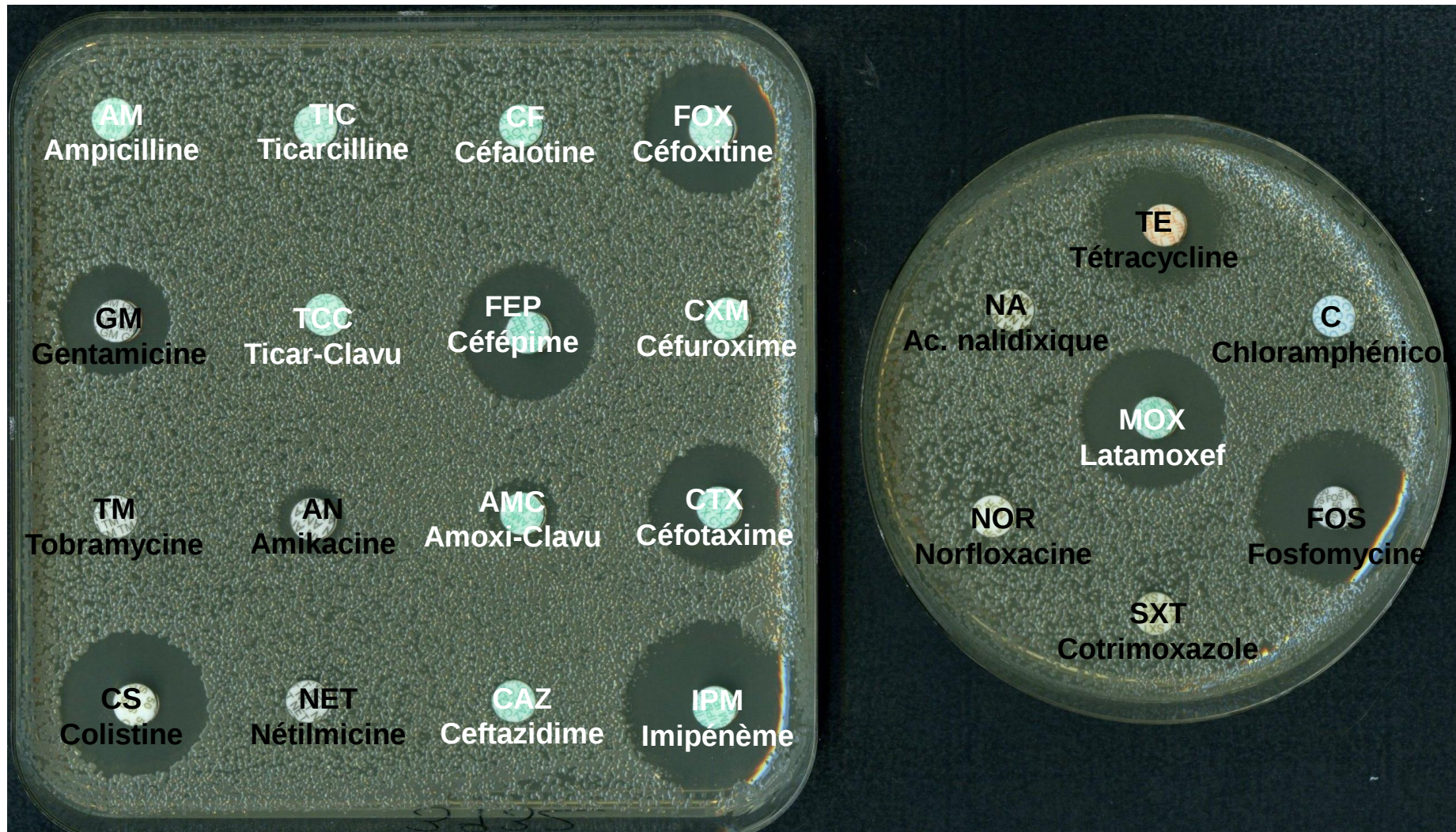


Nordman et al. Emerg Infect Dis. 2011

USA, Israël → Amérique du Sud, Chine, Grèce

Klebsiella pneumoniae

Carbapénémase de classe A (KPC-2) + TEM-1



Classe D :

➤ Oxacillinases > 1220

➤ Surtout chez *Acinetobacter baumannii*

➤ OXA-23

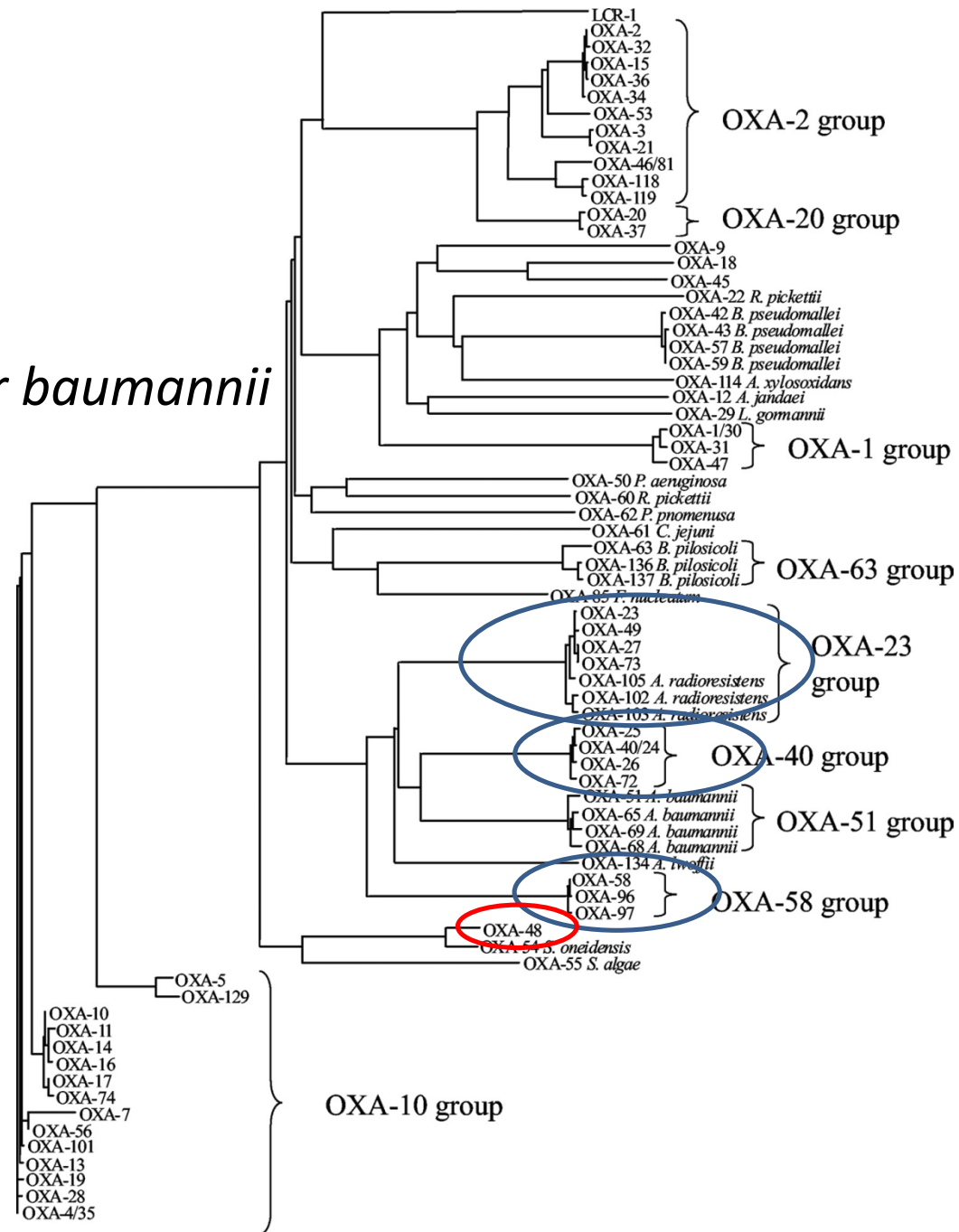
➤ OXA-40

➤ OXA-58

➤ Faible hydrolyse
de l'imipénème

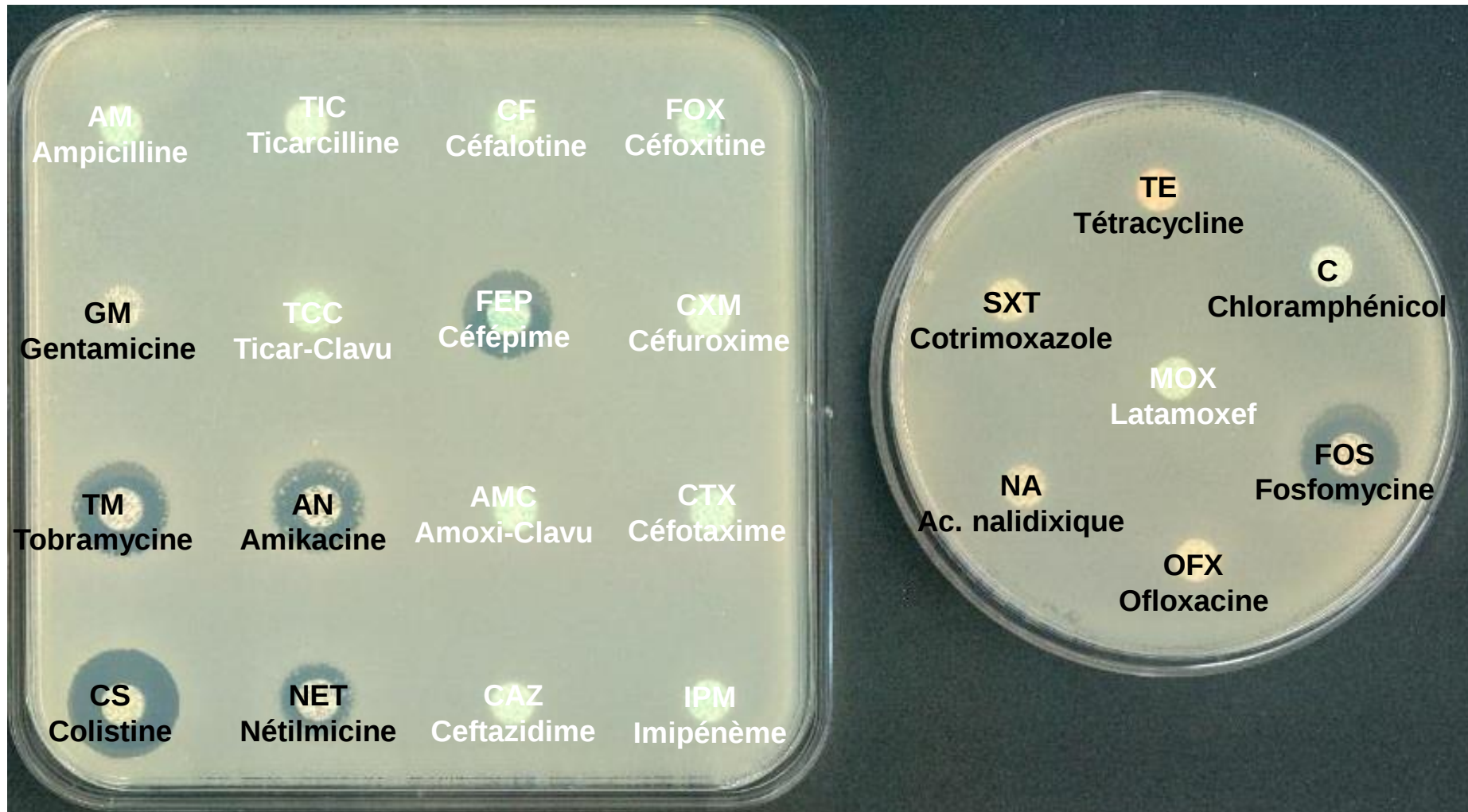
➤ **OXA-48**

Enterobacterales



Acinetobacter baumannii

Carbapénémase de classe D (OXA-23)



Faible taux d'hydrolyse aux carbapénèmes

Tableau I

Phénotypes de résistance aux bêta-lactamines chez les entérobactéries liés à l'expression de carbapénémases.

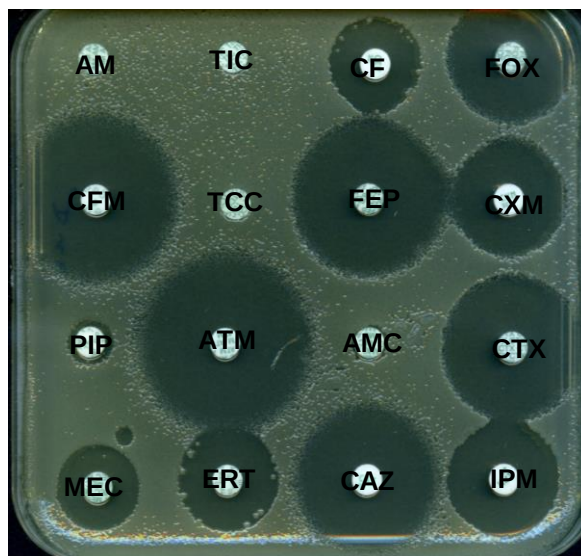
	AMX	AMC	PIP/TZB	CTX	CAZ	IMP	ERT	AZT
KPC	R	I	R	R	R	S/I/R	I/R	R
IMP/VIM/NDM	R	R	S/I	R	I/R	S/I/R	I/R	S
OXA-48	R	R	R	S	I/S	I/S	I/S	S

Abréviations : AMX : Amoxicilline ; AMC : Amoxicilline/acide clavulanique ; PIP/TZB : Piperacilline tazobactam ; CTX : Céfotaxime ; CAZ : Ceftazidime ; IMP : Imipénème ; ERT : Ertapénème ; AZT : Aztréonam.

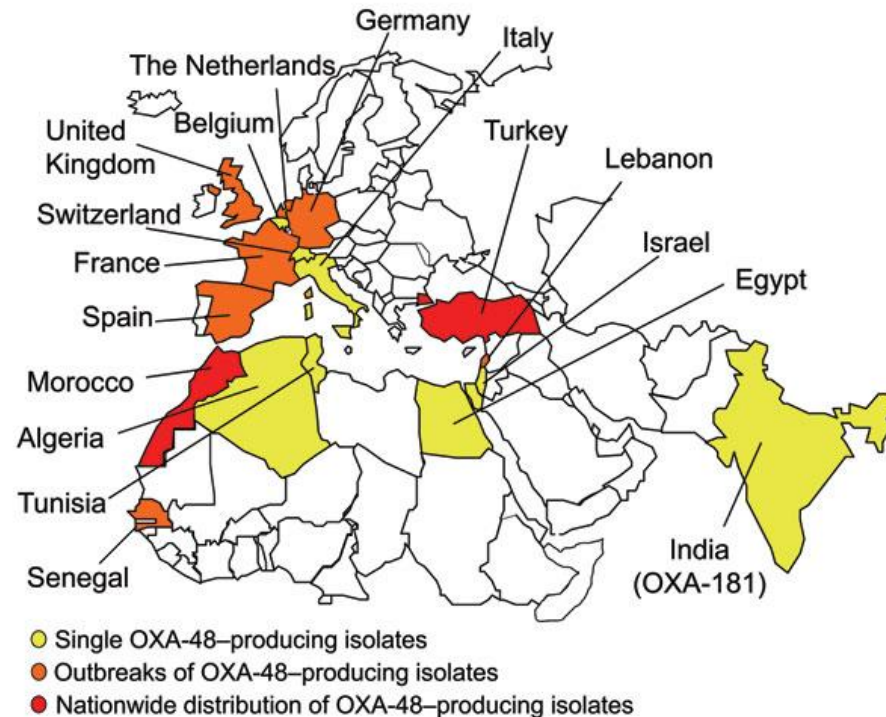
NB : les phénotypes de résistance indiqués sont, en l'absence de BLSE, associées : BLSE fréquemment présentes dans les souches productrices de KPC ou de OXA-48.

Profil de sensibilité

Carrër & Nordmann, Archives de Pédiatrie, 2010



Carbapénémase OXA-48



2001 en Turquie chez *K. pneumoniae*

→ Liban, Egypte, France, Belgique, Maroc, Tunisie, Irlande, Israël ...

→ autres *Enterobacterales*

Distribution des carbapénémases en fonction des espèces bactériennes

Organism	MBLs (class B)	Class A KPC (GES)	OXA (class D)
Pseudomonads			
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	++	+	+
<i>Pseudomonas putida</i>	+	+	
<i>Acinetobacter baumannii</i>	+ ^a		++
<i>Acinetobacter</i> spp.	+		+
Enterobacteria			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	+ ^a	++	+
<i>Escherichia coli</i>	+	+	+
<i>Proteus mirabilis</i>	+		+
<i>Providencia</i> spp.	+		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	+	+	
<i>Serratia marcescens</i>	+ ^a	+	
<i>Enterobacter</i> spp.	+ ^a	+	
<i>Citrobacter freundii</i>	+	+	
<i>Morganella morganii</i>	+		
<i>Salmonella enterica</i>		+	
<i>Raoultella</i> spp.		+	

MBL, metallo- β -lactamase.
 ++, prevalent species–enzyme type combinations; +, occasionally reported species–enzyme type combinations.
^aEndemic in certain regions.
 Crosses in bold denote higher prevalence in the respective species.

OXA-23
OXA-40
OXA-58

OXA-48

NDM-1

Qu'en est-il en Europe ?



Figure 3.11. *Klebsiella pneumoniae*. Percentage (%) of invasive isolates with resistance to carbapenems, by country, EU/EEA countries

2022

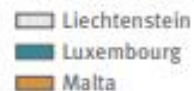


France 1 %

Grèce 72 %

Italie 28,9%

Non-visible countries

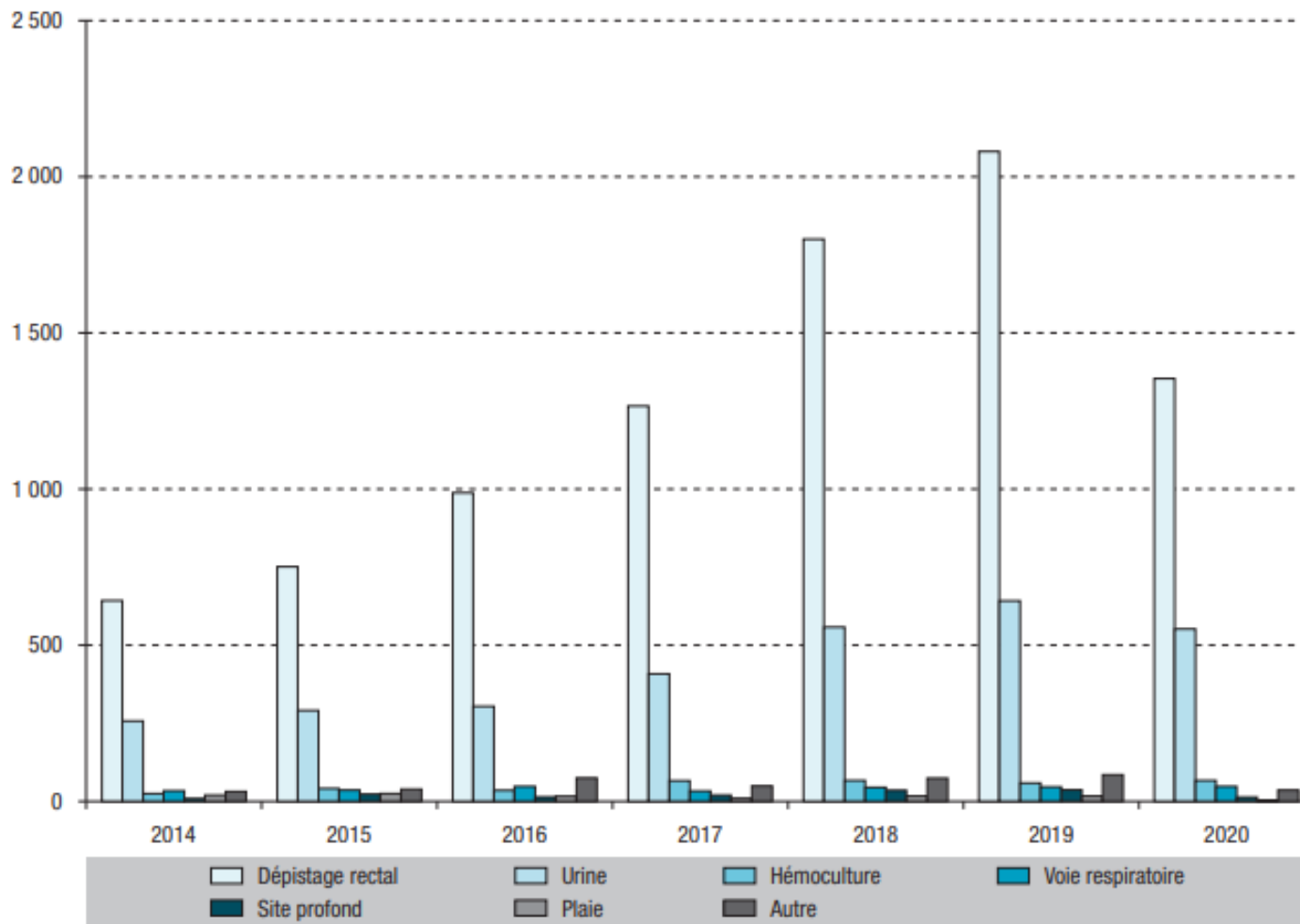


Qu'en est-il en France ?



Figure 2

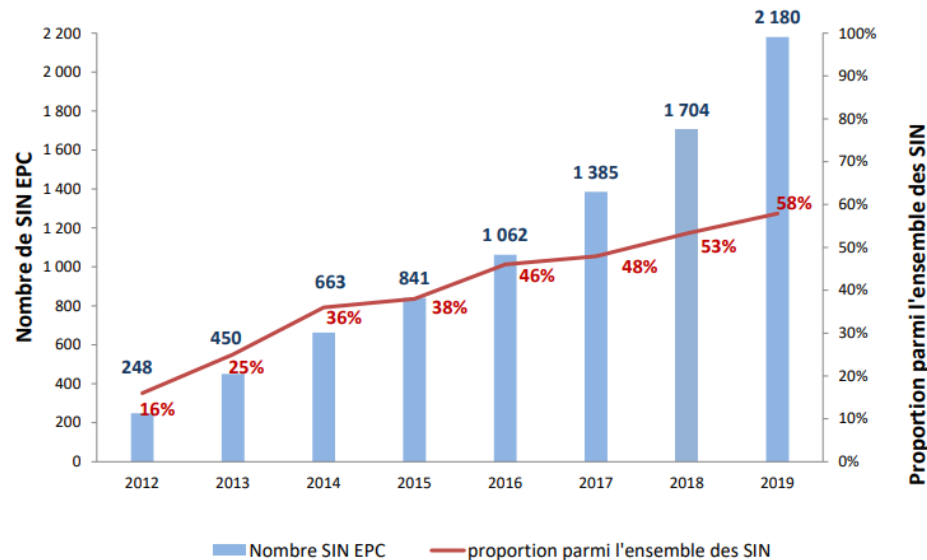
Origine des sites de prélèvements d'entérobactéries productrices de carbapénémases de 2014 à 2020, France



Qu'en est-il en France ?



Distribution des EPC par type de carbapénèmase en 2018



Type de carbapenemase	N°	%
OXA-48-like	1919	71,8
KPC	81	3,0
NDM	420	15,7
VIM	130	4,9
IMP	34	1,3
IMI	12	0,4
NMC-A	1	0,0
OXA-48-like + NDM	54	2,0
OXA-48-like + VIM	8	0,3
KPC + NDM	2	0,1
NDM + VIM	3	0,1
OXA-48-like + NDM + VIM	1	0,0
KPC + VIM	1	0,0
OXA-23	7	0,3
SME	1	0,0
TOTAL	2674	100

BHRe Bilan 2019

Qu'en est-il en France ?



Pays	OXA-48 (ou OXA-48 like)	KPC	NDM	VIM	Nombre total d'épisodes
Maroc	179 (2010)	2 (2011)	12 (2012)		185 ^d
Algérie	98 (2010)	2 (2010)	4 (2013)	1 (2008)	105
Tunisie	75 (2009)	1 (2012)	11 (2014)	1 (2012)	84 ^c
Inde	14 (2011)	1 (2011)	53 (2010)		59 ^e
Egypte	29 (2009)	1 (2011)	12 (2012)	3 (2010)	43 ^b
Grèce	2 (2014)	25 (2007)	1 (2014)	8 (2004)	35 ^a
Turquie	30 (2010)		1 (2014)	2 (2014)	32 ^a
Italie	5 (2013)	19 (2010)		5 (2008)	29
Libye	21 (2011)		1 (2014)		21 ^a
Sénégal	21 (2011)				21
Roumanie	13 (2012)	1 (2013)	2 (2012)	1 (2013)	17
Koweït	7 (2011)	1 (2012)	4 (2014)	1 (2012)	12 ^a
Israël	2 (2011)	6 (2001)	1 (2013)		9
Vietnam	2 (2014)	2 (2012)	6 (2011)		8 ^b
Cambodge	7 (2013)		1 (2014)		7 ^a
Espagne	5 (2011)		1 (2014)	1 (2013)	7
Ile Maurice			7 (2011)		7
Liban	7 (2013)				7
Etats-Unis	1 (2015)	5 (2005)			6

^a deux mécanismes associés pour un même épisode

^b deux mécanismes associées pour deux épisodes

^c deux mécanismes associés pour quatre épisodes

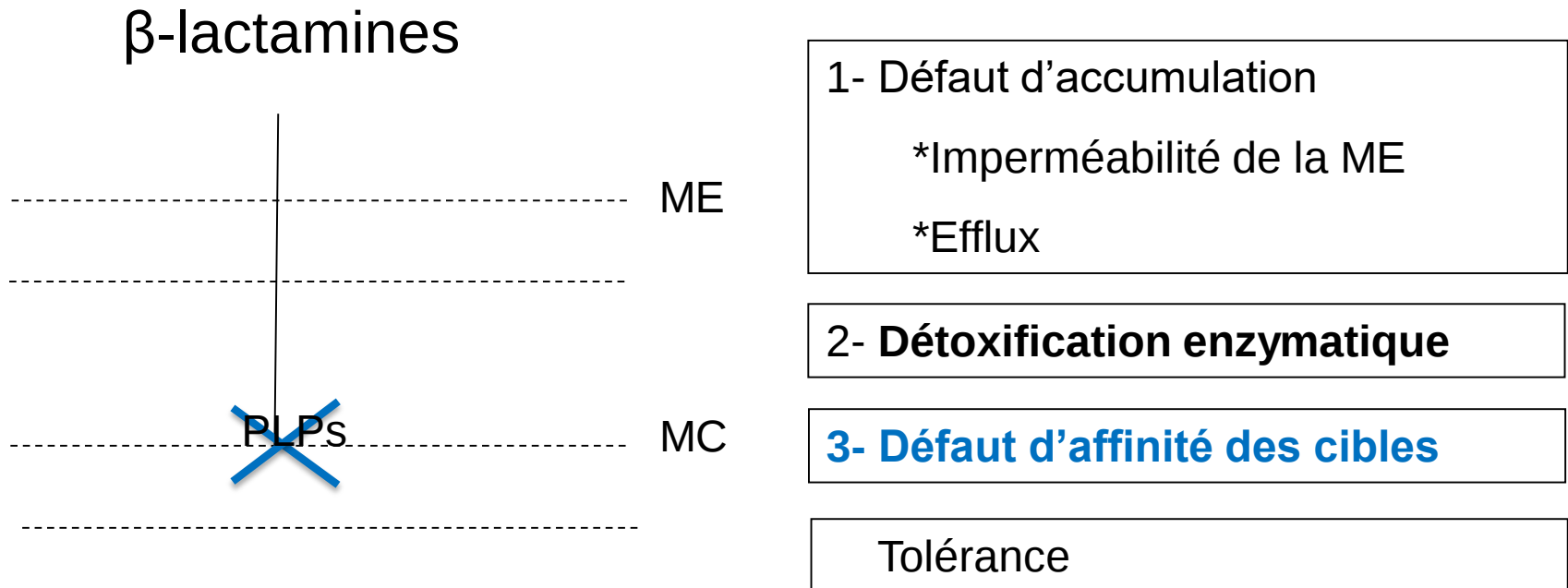
^d deux mécanismes associés pour huit épisodes

^e deux mécanismes associés pour neuf épisodes

La date entre parenthèse correspond à l'année la plus ancienne au cours de laquelle ce mécanisme a été identifié



II-Résistance aux β -lactamines : mécanismes biochimiques



3- Résistances acquises par défaut d'affinité de cibles (PLPs)

Modification des PLP chromosomiques : Mutations

- ✓ Altérations quantitatives :
 - * ↓ Production/perte de PLPs de forte affinité
 - * ↑ Production de PLPs de faible affinité :

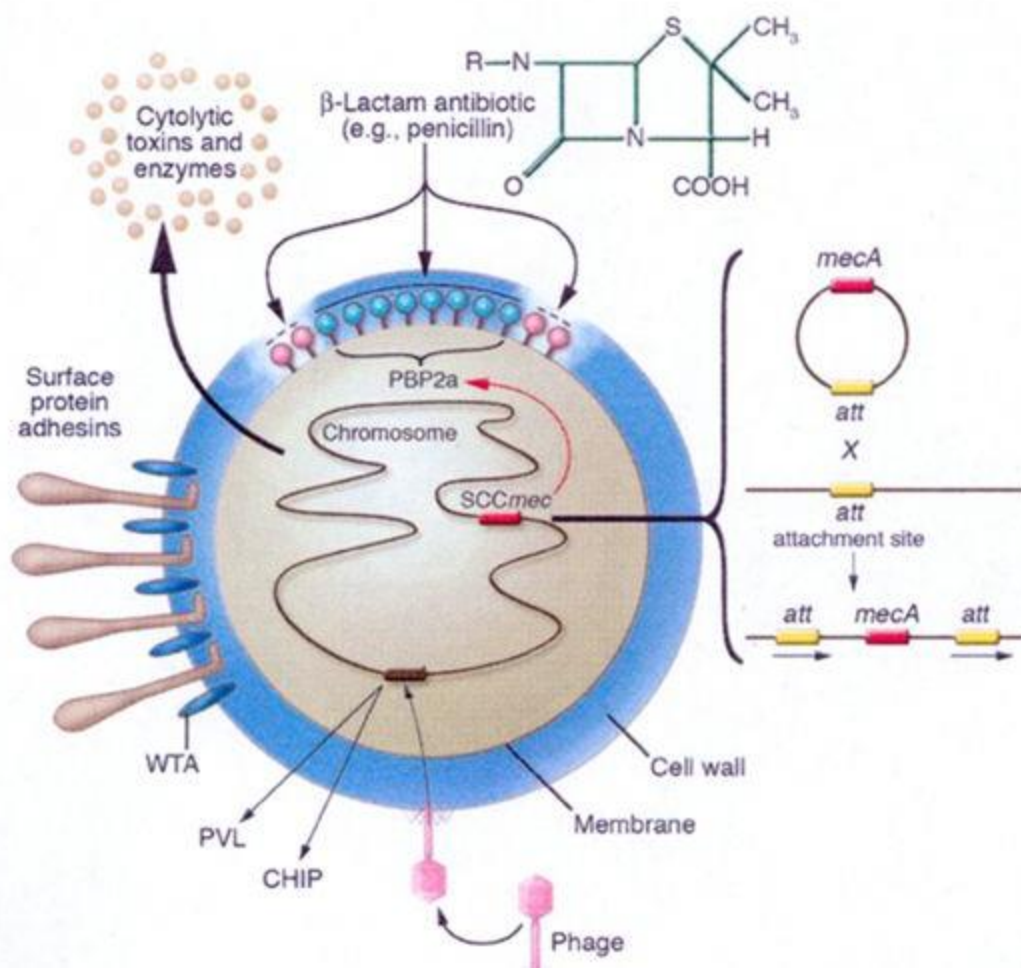
E. faecium ampicilline-R (hyperexpression de la PLP-5, multifonctionnelle et peu affine)

- ✓ Altérations qualitatives (conformation des PLPs) → ↓ affinité

H. influenzae β-lactamase-négative ampicilline-résistants = BLNAR (altérations variées de la PLP3)

Acquisition de gènes

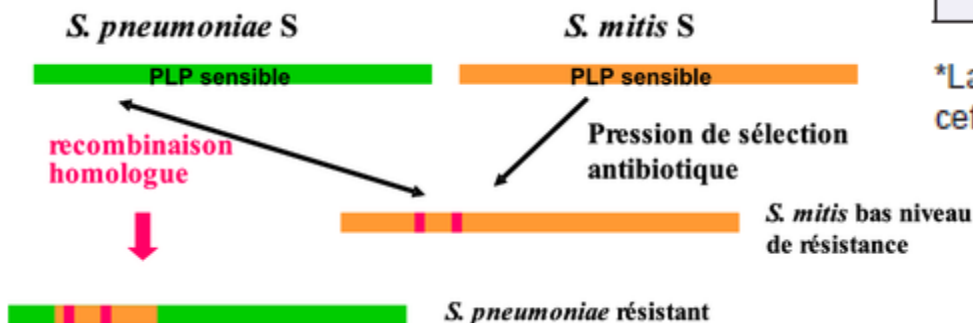
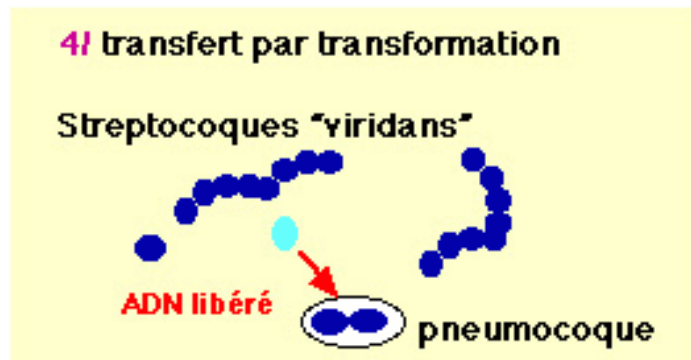
✓ *S. aureus* résistants à la méticilline : SARM



- Horizontally transferred DNA element - **SCCmec**.
- Site specific recombination.
- *mecA* gene encodes **PBP2a**.
- **PBP2a = 78 KDa PBP** - capable of cell wall synthesis.
- **PBP2a has low affinity for all β -lactams.**

Acquisition de gènes

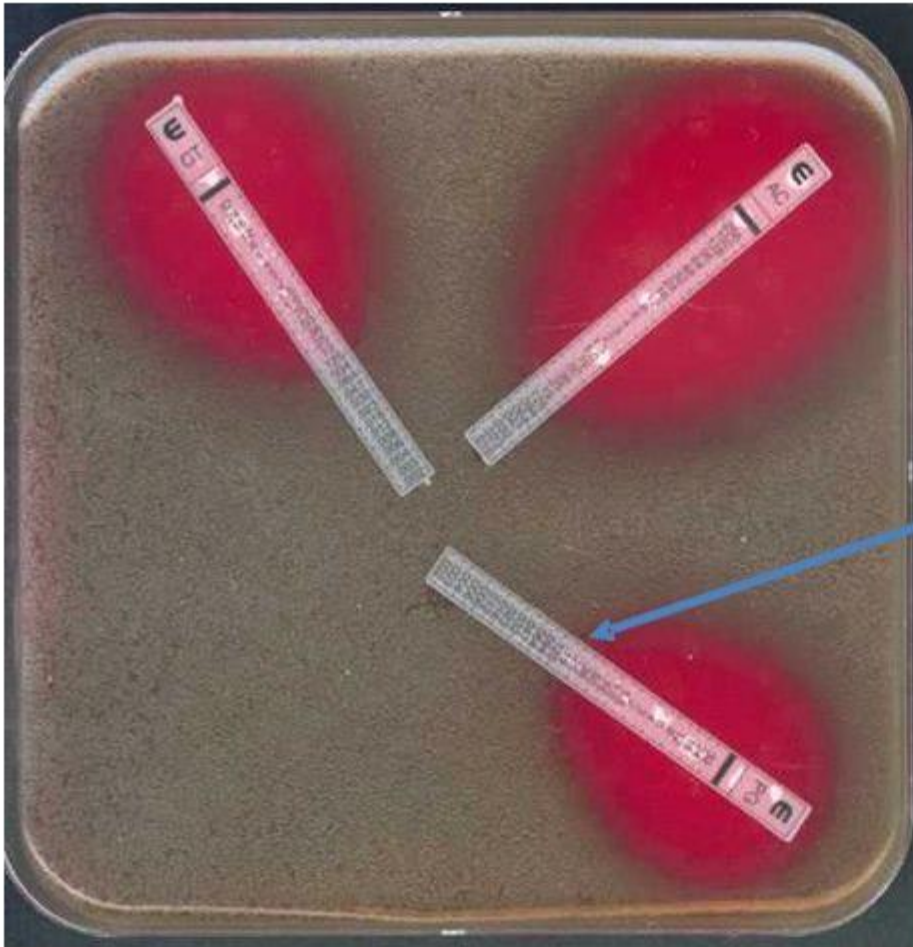
- ✓ *Pneumocoques* de sensibilité diminuée à la pénicilline : PSDP acquisition de gènes de PLPs de moindre affinité, à partir de streptocoques oraux résistants, par transformation génétique → gènes mosaïque ± mutations additionnelles



Disque d'oxacilline à 1 µg Diamètre de la zone d'inhibition
≥ 20 mm
< 20 mm*

*La CMI d'au moins une des bêta-lactamines dont les (ceftriaxone) doit toujours être déterminée, mais cela ne dc

Pneumocoque de sensibilité diminuée à la Pénicilline (PSDP)



CMI Pénicilline G = 0,5 mg/l

(Pneumocoque sensible si CMI < 0,1 mg/l)

→ C'est un pneumocoque de sensibilité diminuée aux pénicillines

Mutations sur la cible :
Protéine Liant la Pénicilline (PLP)

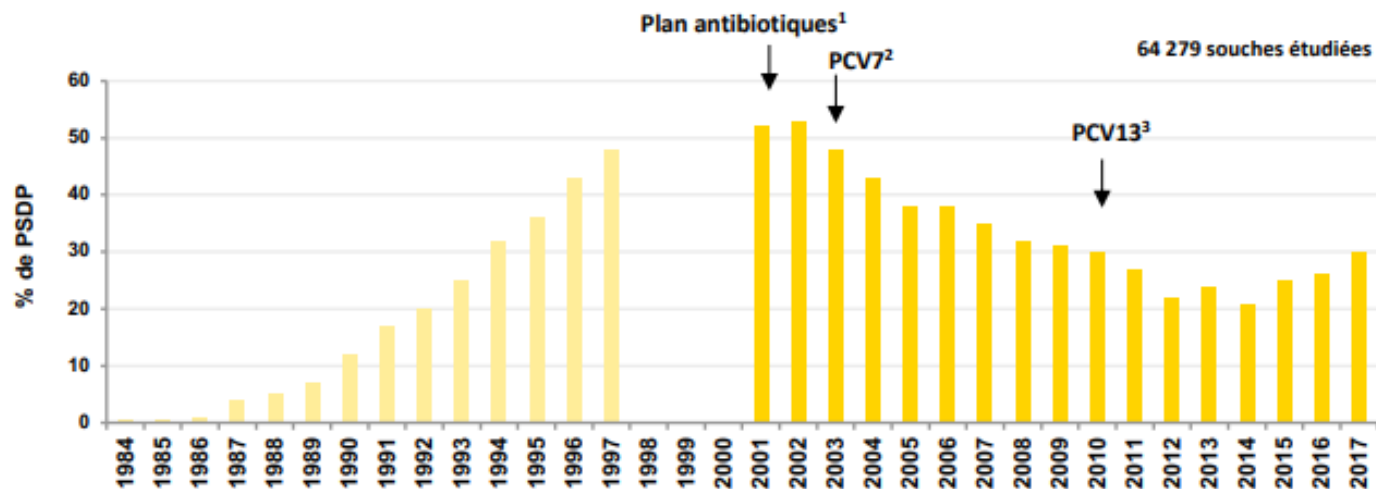


Figure 67 - *S. pneumoniae* de sensibilité diminuée à la pénicilline (PSDP) en France d'après les données du CNRP. (1984-1997 : P. Geslin ; 2001-2017 : CNRP-ORP, E. Varon, L. Gutmann). ¹Plan national pour préserver l'efficacité des antibiotiques, nov. 2001 http://www.sante.gouv.fr/htm/actu/34_01.htm ; ²Introduction du vaccin anti-pneumococcique conjugué heptavalent (PCV7) ; ³Remplacement du PCV7 par le vaccin conjugué 13-valent (PCV13).

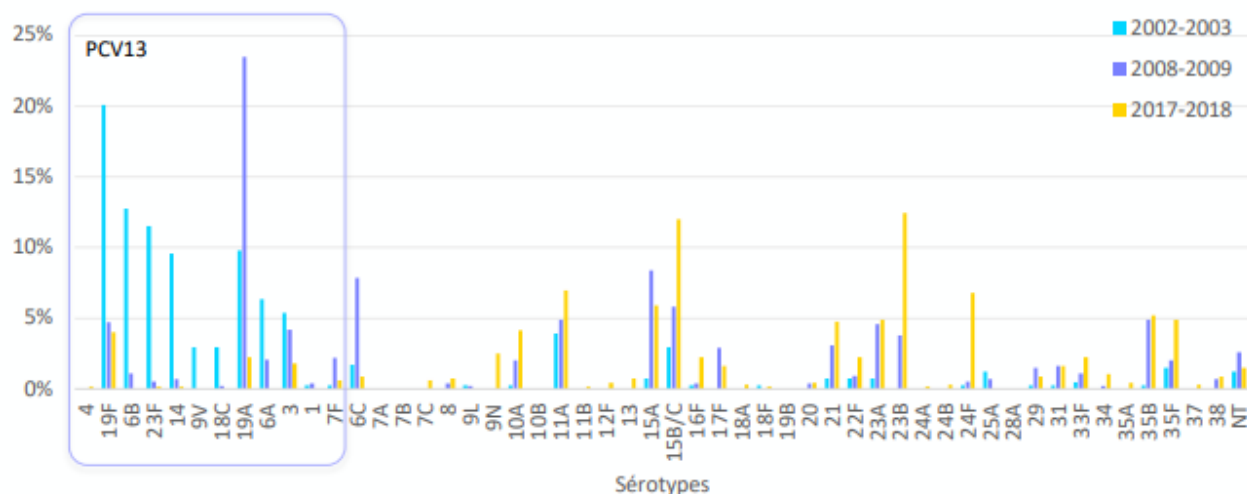
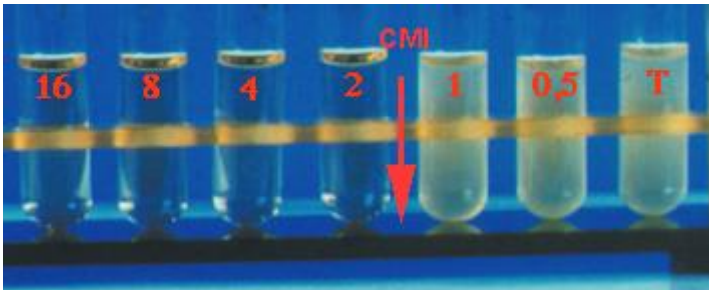


Figure 81 - Distribution des sérotypes des souches de *S. pneumoniae* isolées du rhino-pharynx au cours d'OMA chez des enfants âgés de 6 à 24 mois en 2002-2003 (n=410), 2008-2009 (n=549), et 2017-2018 (n=675), quel que soit leur statut vaccinal.

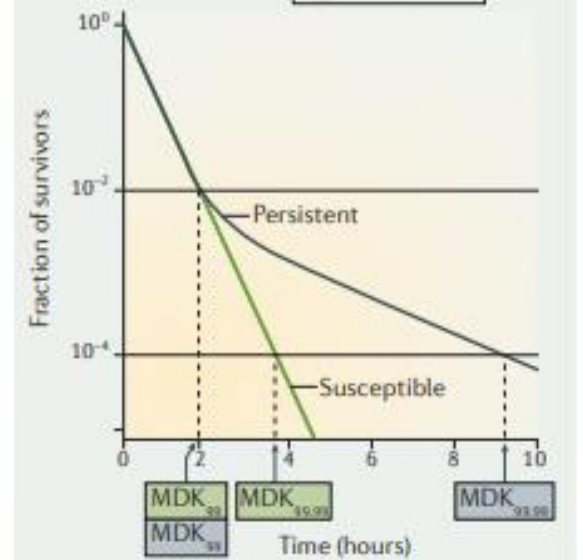
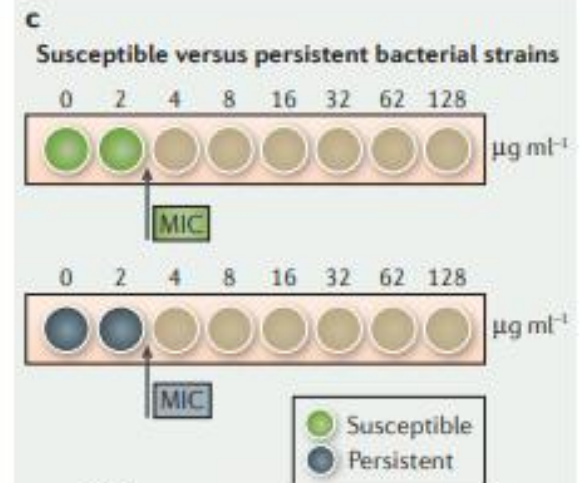
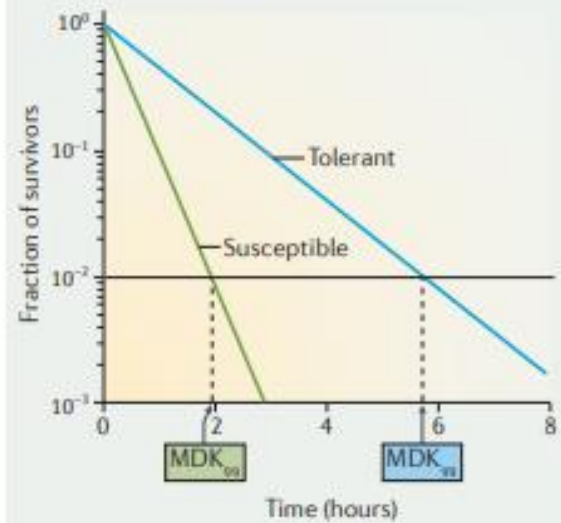
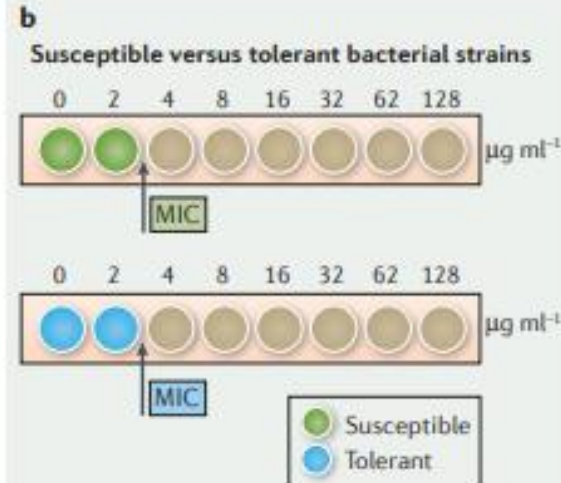
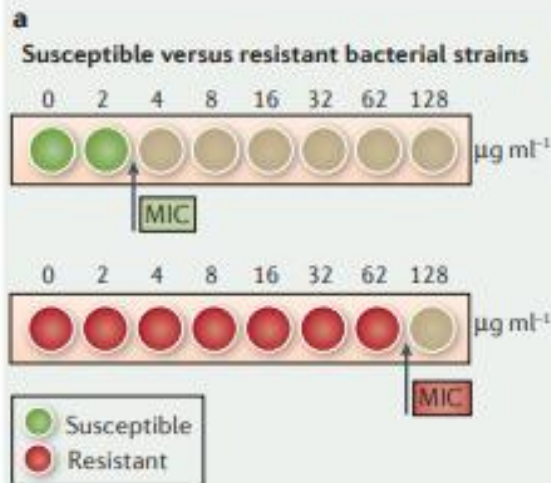
Phénomène de tolérance

- ✓ Absence de lyse bactérienne par perte de l'activation des autolysines
- ✓ ↑ des concentrations pour la bactéricidie (CMB)



$$\text{CMB/CMI} \geq 32$$

- ✓ ↓ de l'activité de l'amoxicilline ou de l'ampicilline sur les entérocoques (particulièrement *E. faecalis*).



Conclusions

- ✓ Mécanismes variés et spécifiques des groupes bactériens
- ✓ Emergence rapide et adaptation efficace
- ✓ Diffusion mondiale
- ✓ Risque d'impasse thérapeutique
Peu de nouvelles molécules