



Nouveau mécanisme de résistance d'*Escherichia Coli* aux bêta-lactamines

New resistance mechanism of *Escherichia Coli* to beta-lactamins

نظام جديد المقاومة الجرثومية ضد البيطالكتامينات

M. Bouabdellah, MR. Tagajdid, A. Zerrou, A. Benouda

المخلص : تعتبر الاسكريكيا كولي (*Escherichia coli*) الجرثومة الأكثر اكتشافا في حالات تعفن المسالك البولية، إن طبع حساسية هذه الجرثومة بالنسبة للبيطالكتامينات يتغير باستمرار، وذلك تحت ضغط دائم لعوامل التطور الحيوي. تكتسب بعض الأجناس لاسكريكيا كولي القدرة على مقاومة تلك المضادات الحيوية وذلك من خلال تغيير في جيناتها أو بعد تمكنها من الحصول على أذات جينية متناقلة. يمثل إنتاج خمائر ضد البيطالكتامينات الملقبة بـ "البيطالكتماز" أهم آلية للمقاومة لذا اسكريكيا كولي. يشير المؤلفون من خلال هذه الحالة عن صنف خاص من جنس اسكريكيا كولي، التي عثروا عليها في بول مريضة، ويتميز هذا الصنف بأسلوب حديث الاكتشاف متمثل في إنتاج متفاوت لخمائر ضد الصيفالوسبورينات، تم إبرازه بعد القيام باختبارات بكتريولوجية خاصة كاختبار التعاون أو اختبار التعارض أو "الانتبيوغرام" (antibiogramme) على وسط مولار- هيتون بإضافة مادة الكلوكساسيلين. يشير كذلك المؤلفون للمكانسمات الجينية المسؤولة عن هذه الظاهرة من خلال معطيات حديثة. كما يؤكد المؤلفون أيضا أهمية طلب الانتبيوغرام قبل أي علاج بالمضادات الحيوية وذلك لتجنب المشاكل المنبثقة عن سوء استعمالها. مؤديا لحدوث ضغطا كبيرا على البكتيريا تؤدي إلى إفراز صنف خاص يبرز مقاومة جرثومية قصوى يصعب التحكم فيها مما يؤدي إلى احتمال فشل العلاج.

الكلمات الأساسية : اسكريكيا كولي - المقاومة الجرثومية - بيطالكتامينات - صيفالوسبورينات - جين AmpC - انتبيوغرام

Résumé : *Escherichia coli* est le germe le plus fréquemment isolé surtout dans les infections urinaires. Son profil de sensibilité aux β -lactamines est en changement perpétuel sous l'effet de facteurs évolutifs, certaines souches acquièrent une résistance par mutations de gènes ou par acquisition de matériel génétique mobile. Ainsi, des phénomènes d'imperméabilité, d'excrétion par système d'efflux ou de modification des protéines de liaison aux pénicillines peuvent s'observer mais la production de β -lactamases constitue actuellement le mécanisme de résistance le plus rencontré chez *Escherichia coli*. Les auteurs rapportent le cas d'une souche particulière d'*Escherichia coli* isolée à partir des urines d'une patiente. Celle-ci se distinguait par un mécanisme de résistance d'apparition récente : l'hyperproduction de céphalosporinases. La mise en évidence phénotypique de ce mécanisme a nécessité le recours à des tests bactériologiques spécifiques tels que le test de synergie, le test d'antagonisme ou l'antibiogramme sur milieu Müeller-Hinton additionné de cloxacilline. Les auteurs évoquent également les mécanismes génétiques sous jacents à travers les données récentes de la littérature. Ils soulignent, par ailleurs, l'importance des précautions à prendre en terme de prescription d'antibiotiques rendant impérieux l'usage préalable de l'antibiogramme afin d'éviter la pression de sélection exercée sur le germe à l'origine de résistances difficilement maîtrisables et des complications qui en découlent.

Mots clés : *Escherichia coli* ; résistance bactérienne ; β -lactamines ; céphalosporinases ; gène Amp.

Abstract : *Escherichia coli* is the germ most frequently isolated in especially urinary infections. The perpetual change of its sensitivity profile to β -lactamins is due to several evolution factors. Some strains have acquired resistance by gene mutation or by acquisition of movable genetic material. Also phenomenon as impermeability, excretion by efflux system or modifying penicillin liaison proteins could be seen but the production of β -lactamases remains the most frequent mechanism of resistance that has been describe until now.

The authors report, through this observation, a case of a particular strain of *Escherichia coli* that has been isolated from urine of an hospitalized patient. This strain presented an hyperproduction of cefalosporinases, which is a recently discovered mechanism of resistance. In one hand, specific bacteriologic tests as synergy test, antagonism test and the use of cloxacillin added antibiogramme on Müeller-Hinton medium were carried out and have allowed to display the phenotypic aspect of this mechanism. In the other hand, its genetic aspect was mentioned through a new literature data. The authors have also underlined the importance of the antibiogramme prior to any prescription of antibiotics which could put pressure on the germ leading to a selection of individual resistant. to this kind of difficul not controlled resistance and many potential complications ensue from it.

Key Words : *Escherichia coli* ; bacterial resistance ; β -lactamines ; cefalosporinases.

Tiré à part : M. Bouabdellah. Service d'hématologie de l'hôpital militaire d'instruction Mohammed V, Rabat

Introduction

Escherichia coli est le germe le plus fréquemment isolé dans les infections urinaires tant au niveau hospitalier que communautaire. Son profil de sensibilité aux β -lactamines est en changement perpétuel. Les résistances manifestées sont le résultat d'une série de mécanismes parfois associés. La production de β -lactamases constitue actuellement le mécanisme le plus rencontré [1]. A travers cette observation ayant conduit à l'isolement d'une souche d'*Escherichia coli* particulière, les auteurs évoquent l'existence d'une résistance se traduisant par une hyperproduction de céphalosporinases, mécanisme d'apparition récente. Ils soulignent également l'importance des précautions à prendre en terme de prescription d'antibiotiques rendant impérieux l'usage de l'antibiogramme afin d'éviter les complications et la pression de sélection sur le germe résistant.

Observation

Il s'agit d'une souche d'*Escherichia coli* isolée lors de l'étude cytobactériologique des urines d'une patiente hospitalisée à l'Hôpital Cheikh Zayed de Rabat, présentant une infection urinaire sévère. Après l'isolement des colonies sur milieu Mac Conkey, la galerie API20E (BioMérieux, France) a permis d'identifier *Escherichia coli* (figure1).

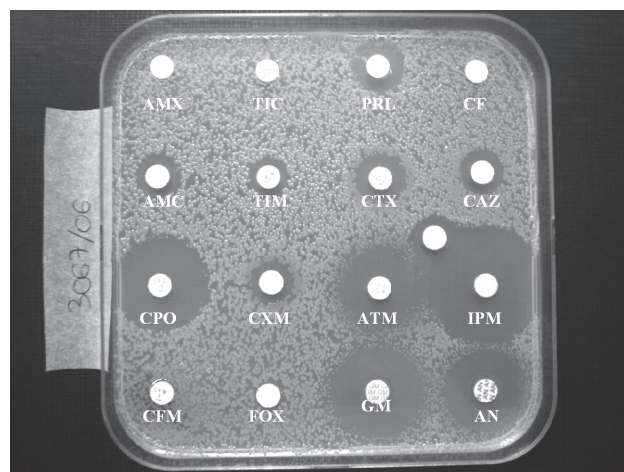
Figure 1: Identification de *Escherichia coli* par la galerie API 20 E



L'étude de la sensibilité aux antibiotiques pratiquée à l'aide de la technique de diffusion sur milieu gélosé conformément aux recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) a montré l'existence d'une résistance pour les aminopenicillines (amoxicilline : AMX 25 μ g), les aminopenicillines

additionnés d'un inhibiteur de β -lactamases (amoxicilline + acide clavulanique : AMC 20/10 μ g), les carboxypénicillines (ticarcilline : TIC 75 μ g), les carboxypénicillines additionnés d'un inhibiteur de β -lactamases (ticarcilline + acide clavulanique : TIM 75/10 μ g), les céphalosporines de première génération (C1G) (céfotaxime : CF 30 μ g), les céphalosporines de deuxième génération (C2G) (céfuroxime : CXM 30 μ g), les céphalosporines de troisième génération (C3G) (céfotaxime : FOX 30 μ g, céfotaxime : CTX 30 μ g, ceftazidime : CAZ 30 μ g, céfixime : CFM 10 μ g) et une sensibilité aux carbapénèmes (imipinème : IPM 10 μ g), ainsi qu'à une C3G (cefpodoxime : CPO 10 μ g). La souche a montré une sensibilité intermédiaire pour l'uréidopénicilline additionnée d'un inhibiteur de β -lactamases (pipéracilline + acide clavulanique : PRL 75/10 μ g, pipéracilline + tazobactam : TZP 75/10 μ g), et le monobactame (aztréonam : ATM 30 μ g) (figure 2). L'antibiogramme sur milieux

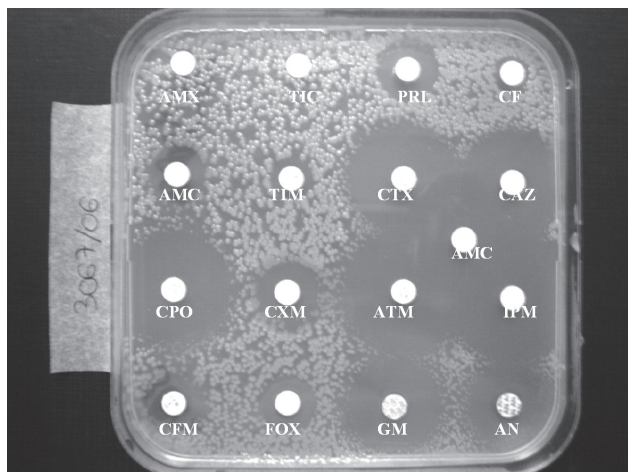
Figure 2: Antibiogramme effectué sur milieu Müller-Hinton



Abréviations : AMC : Amoxicilline + acide clavulanique; AMX : Amoxicilline; ATM : Aztréonam; CAZ : Ceftazidime; CF : Céfotaxime; CFM : Céfixime; CPO : Cefpodoxime; CTX : Céfoxitine; CXM : Céfuroxime; FOX : Céfoxitine; IPM : Imipinème; PRL : Pipéracilline + Acide clavulanique; TIC : Ticarcilline; TIM : Ticarcilline + Acide clavulanique; GM : Gentamicine; AN : Amikacine.

Müeller-Hinton additionné de Cloxacilline (200mg/l) [2] a permis de restaurer la sensibilité aux C3G et à l'aztréonam [1,2] et de mettre en évidence l'activité céphalosporinase [3] (figure 3). Un test d'antagonisme, en présence

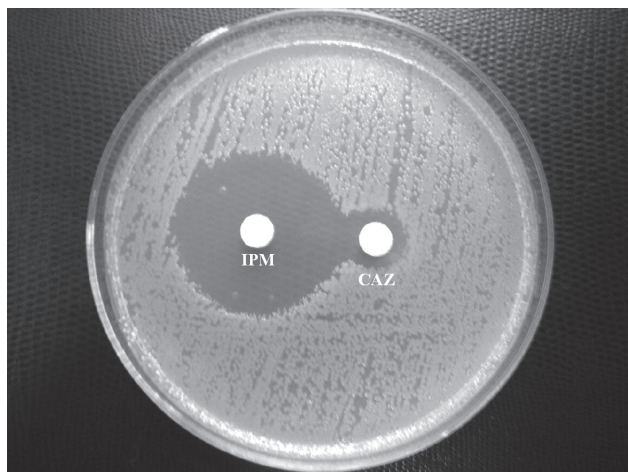
Figure 3 : Antibiogramme effectué sur milieu Müller-Hinton supplémenté en cloxacilline



Abréviations : AMC : Amoxicilline + acide clavulanique; AMX : Amoxicilline; ATM : Aztréonam; CAZ : Ceftazidime; CF : Céfalo-tine; CFM : Céfixime; CPO : Cefpodoxime; CTX : Céfotaxime ; CXM : Céfuroxime ; FOX : Céfoxitine ; IPM : Imipénème ; PRL : Pipéracilline + Acide Clavulanique; TIC : Ticarcilline ; TIM : Ti-carilline + Acide clavulanique ; GM : Gentamicyne ; AN : Amikacine.

d'une C3G et d'un inducteur de production de céphalosporinases type Imipénème, s'est révélé négatif écartant la présence d'une céphalosporinase inductible (figure 4). Un test de synergie, par la méthode du disque d'Amoxicilline + Acide clavulanique entouré de disques de céphalosporines de troisième génération (C3G) et de monobactame (imipé-

Figure 4: Test d'antagonisme effectué sur milieu Müller-Hinton

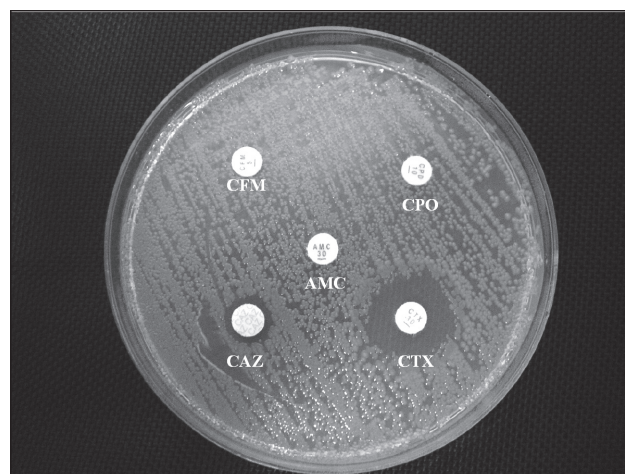


Absence d'antagonisme.

Abréviations : CAZ : Ceftazidime ; IPM : Imipénème.

nème), a révélé l'absence de β -lactamase à spectre étendu (BLSE) [1, 2] (figure 5).

Figure 5 : Test de synergie effectué sur milieu Müller-Hinton



Absence de synergie

Abréviations : AMC : Amoxicilline + Acide clavulanique ; CAZ : Ceftazidime ; CFM : Céfixime ; CPO : Cefpodoxime ; CTX : Céfotaxime.

Discussion

Le phénotype sauvage de *Escherichia coli* est naturellement sensible aux β -lactamines hormis les pénicillines G, V, M. Sous l'effet de facteurs évolutifs, certaines souches acquièrent une résistance, suite à des mutations de gènes ou à l'acquisition de plasmides, de transposons ou d'intégrons. À côté des phénomènes d'imperméabilité, d'excrétion par système d'efflux ou de modification des protéines de liaison aux pénicillines, la production d'enzymes inactivatrices des β -lactamines, les β -lactamases, est le principal mécanisme de résistance de *Escherichia coli* [1, 2, 4].

Depuis quelques décennies, cette bactérie a commencé à exprimer une résistance, de plus en plus large aux β -lactamines. Tout d'abord, ont été détectées des pénicillinases (TEM1, TEM2, SHV1...) qui confèrent une résistance vis à vis des aminopenicillines, carboxypénicillines, uréidopénicillines, des (C1G) et (C2G). Ont été détectées, par la

suite, des BLSE (TEM3, SHV2...) qui confèrent une résistance plus élargie atteignant les C3G, le monobactame voire les céphalosporines de quatrième génération (C4G) [2]. Récemment, certaines souches de *Escherichia coli* ont développé un autre mécanisme de résistance jusque là décrit chez certaines espèces d'Enterobacteriaceae, notamment *Enterobacter* et *Klebsiella* [1]; il s'agit d'une résistance due à une hyperproduction de céphalosporinases hydrolysant les C3G, les monobactames mais respectant les carbapénèmes et les C4G.

Dans le cas de la souche isolée, l'antibiogramme témoigne d'une résistance aux aminopénicillines, carboxypénicillines, C1G, C2G, C3G, d'une sensibilité diminuée aux uréidopénicillines, monobactames et d'une absence de résistance à l'Imipénème et à une C3G. Le test de synergie a permis d'exclure la présence d'une BLSE (figure 5). L'utilisation du milieu Mueller-Hinton additionné de cloxacilline dans l'antibiogramme a permis de restituer la sensibilité aux C3G (figures 2 et 3). Ce test confirme, une fois de plus, l'absence de BLSE ainsi que la présence de céphalosporinase. En effet, la cloxacilline inhibe exclusivement les céphalosporinases. Le test d'antagonisme a écarté l'inductibilité de la céphalosporinase (figure 4). Le phénotype observé est inhabituel d'après la littérature, il est secondaire à une hyperproduction de céphalosporinases [1]. En fait, son gène chromosomique codant AmpC est normalement exprimé à bas niveau chez *Escherichia coli* et serait, dans le cas présent, surexprimé. Cette hyperproduction n'est pas inductible comme en témoigne le test d'antagonisme (figure 3) et ne fait donc pas intervenir le gène de régulation AmpR commandant le gène AmpC qui est sensible aux inducteurs type imipénème ou C3G [1, 5, 6, 7]. Selon des études récentes, des mutations intervenant dans la séquence du promoteur du gène AmpC entraîneraient son expression

exagérée et seraient à l'origine de cette hyperproduction [5, 7]. Ces conclusions ont été à l'origine d'une règle interprétative du CA-SFM : « Si une entérobactérie est résistante à au moins une C3G, les C3G ne doivent pas être déclarées « sensibles » [1]. Par ailleurs, l'antibiogramme pratiqué sur milieu Mueller-Hinton à la cloxacilline a mis en évidence une résistance « résiduelle » aux aminopénicillines, carboxypénicillines et uréidopénicillines témoignant de la présence concomitante d'une pénicillinase TEM [1, 4].

Escherichia coli, responsable d'infections urinaires, ne cesse de faire évoluer son profil de sensibilité aux antibiotiques. La prescription d'antibiotiques exclusivement probabiliste sur la base de son profil de résistance naturelle serait préjudiciable pour le patient. D'une part, un antibiotique habituellement efficace peut se retrouver inactif dans des situations comme celle décrite et le retard accusé peut entraîner la survenue de complications telles la pyélonéphrite et la septicémie. D'autre part, une antibiothérapie non adaptée pourrait faire croître la pression de sélection des germes résistants, car disposant d'une capacité rapide à développer des mécanismes de résistance nouveaux.

Conclusion

Il serait donc plus judicieux que l'antibiothérapie anti-*Escherichia coli* soit éclairée systématiquement par une étude préalable de la sensibilité aux antibiotiques, d'où l'usage impérieux de l'antibiogramme et d'une lecture interprétative actualisée. Aussi, sur ces bases, une étude élargie à l'affût d'écoulements de souches résistantes, tant au niveau hospitalier que communautaire, permettrait de dégager des profils actualisés de résistance et d'établir de nouvelles cartes de l'écologie bactérienne locale associées à des protocoles consensus de prise en charge adaptée [8].

Références

1. Bonnet R. β -lactamines et entérobactéries. In Courvalin P, Leclercq R, Bingen E. AntibioGramme. Paris : Editions ESKA ; 2006 : 143-162.
2. Arlet G, Philippon A. Les nouvelles β -lactamases à l'aube du troisième millénaire : Revue Française des Laboratoires 2003; 532 : 42-55.
3. Comité de l'antibiogramme de la société française de microbiologie. Communiqué 2007. <http://www.sfm.asso.fr/>.
4. Cavallo JD, Fabre R, Jehl F. Bêtalactamines. Encycl Med Chir (Elsevier, Paris). Maladies infectieuses 1. 2004 : 129-202.
5. Mammeri H, Poirel L, Nordmann P. Extension of the hydrolysis spectrum of AmpC β -lactamase of *Escherichia coli* due to amino acids insertion in the H-10 helix : RICA 2006. Paris.
6. Mammeri H, Poirel L, Nordmann P. Naturally occurring extended-spectrum cephalosporinases in *Escherichia coli*: Antimicrobial agent and chemotherapy 2006, 50: 2573-6.
7. Caroff N, Espaze E, Reynaud A and al. Analysis of the effects of -42 and -32 ampC promoter mutations in clinical isolates of *Escherichia coli* hyperproducing AmpC. Journal of antimicrobial chemotherapy 2000; 45: 783-8.
8. Courvalin P, Leclercq R, Bingen E. AntibioGramme. Paris : Editions ESKA, 2006.