

Prévalence des gènes de résistance plasmidique aux quinolones chez des entérobactéries communautaires isolées au Maroc

[Prevalence of plasmid mediated quinolone resistance genes among enterobacteria isolates in Moroccan community]

Loubna Jamali^{1,2}, Fatima Haouzane¹, Mohammed Bouchakour¹, Salwa Oufri¹, Zineb Ghazlane¹, Naima El Mdaghri¹,
Sellama Nadifi², and Mohammed Timinouni¹

¹Laboratory of Molecular Bacteriology, Pasteur Institute of Morocco, Casablanca, Morocco

²Laboratory of Medical Genetics and Molecular Pathology, Faculty of Medicine and Pharmacy, Hassan II University,
Casablanca, Morocco

Copyright © 2014 ISSR Journals. This is an open access article distributed under the **Creative Commons Attribution License**, which permits unrestricted use, distribution, and reproduction in any medium, provided the original work is properly cited.

ABSTRACT: *Introduction:* Quinolones have a powerful antimicrobial activity and are frequently prescribed in general medicine. This study aims to evaluate the emergence of plasmid mediated quinolone resistance «PMQR» genes among enterobacterial isolates from Morocco.

Material and methods: 237 enterobacterial strains were isolated from community setting. Resistance to antibiotics and the detection of extended-spectrum β -lactamases (ESBL) were conducted according to the recommendations of the French Society of Microbiology; PMQR, ESBL (TEM, SHV and CTX-M) and AmpC genes were screened by PCR. The *aac(6')-Ib-cr* gene was identified by PCR-RFLP. All PCR products were sequenced. Conjugation experiments were done using the sodium azide-resistant strain *E. coli* K₁₂J₅.

Results: 26.3% of the strains are resistant to at least 5 antibiotics; 7 strains (3%) show an ESBL phenotype. The prevalence of «PMQR» genes is 11.10%: the *qnr* gene was found in 6 isolates with a rate of 1.7% for *qnrS1* and 0.9% for *qnrB* (B5, B6). The *aac(6')-Ib-cr* gene was detected in 8.5% of the strains. The *qnrA* and *qepA* genes were not found. Conjugation experiments showed that the genes *qnrS1*, *aac(6')-Ib-cr* and CTX-M-15 have been co-transferred together and that these genes are carried on conjugative plasmids of high molecular weight.

Conclusion: This study confirms the dissemination of *qnr* and *aac(6')-Ib-cr* in Moroccan community setting. However, the high level of antibiotic resistance concerns a high risk of transmission of multidrug-resistant bacteria and challenges the authorities for surveillance of resistance policy.

KEYWORDS: Antibiotic resistance; Quinolones, Enterobacteriaceae; PMQR; ESBL; Community setting

RESUME : *Introduction:* Les quinolones sont des antibactériens puissants, fréquemment prescrits en médecine générale. Cette étude vise à évaluer l'émergence des gènes de résistance plasmidique aux quinolones « PMQR » en milieu communautaire chez des entérobactéries isolées au Maroc.

Matériel et Méthodes: 237 souches d'entérobactéries ont été collectées au niveau des laboratoires privés d'analyses médicales. La résistance aux antibiotiques et la détection des β -lactamases à spectre étendu (BLSE) ont été réalisées selon les recommandations de la Société Française de Microbiologie. La recherche des gènes PMQR, BLSE (TEM, SHV, CTX-M) et AmpC a été effectuée par PCR. Le gène *aac(6')-Ib-cr* a été identifié par PCR-RFLP; Tous les produits de PCR ont été séquencés. Les expériences de conjugaison sont réalisées en utilisant la souche d'*E.coli* K₁₂J₅ résistante à l'azide de sodium.

Résultats: 26.3% des souches présentent une résistance à au moins 5 antibiotiques; 7 souches (3%) montrent un phénotype BLSE. La prévalence des entérobactéries porteuses des gènes « PMQR » est de 11.10%: Le gène *qnr* est retrouvé chez 6 souches avec un taux de 1.7% pour *qnrS1* et 0.9% pour *qnrB* (B5, B6). Le gène *aac(6')-Ib-cr* a été détecté chez 8.5% des

isolats. Aucune souche n'héberge les gènes *qnrA* et *qepA*. Les expériences de conjugaison ont montré que les gènes *qnrS1*, *aac(6')-Ib-cr* et CTX-M-15 ont été co-transférés et qu'ils sont portés par des plasmides conjugatifs de haut poids moléculaire. **Conclusion:** Cette étude confirme l'émergence des PMQR au Maroc. Le haut niveau de résistance aux antibiotiques et la transmission de bactéries multi résistantes interpellent les autorités pour une politique de surveillance performante.

MOTS-CLEFS: Antibiorésistance ; Quinolones ; Entérobactéries ; PMQR ; BLSE, milieu communautaire

1 INTRODUCTION

Les quinolones sont massivement utilisées pour le traitement d'une grande variété d'infections bactériennes chez l'homme. Ainsi, les infections des voies urinaires, constituent le deuxième motif de prescription d'antibiotiques en médecine générale, après les infections des voies respiratoires.

L'utilisation abusive des quinolones, a conduit à l'apparition d'une résistance augmentée à ces antibiotiques, ce qui représente une préoccupation majeure de santé publique.

Cette résistance a été longuement considérée comme étant d'origine chromosomique (Soit par : une modification de la cible, un défaut d'accumulation dans la bactérie, une diminution de la pénétration de la paroi, ou encore par un efflux important des quinolones).

Lors des dernières décennies, quatre nouveaux mécanismes de résistance à médiation plasmidique ont été décrits à savoir, les gènes *qnr* (A, B, S, C et D) qui agissent par protection de la cible, le gène *aac(6')-Ib-cr* impliqué dans la modification de la cible, le gène *qepA*, et le gène *oqxAB* qui codent pour des protéines formant des pompes d'efflux actif, expulsant l'antibiotique à l'extérieur de la cellule bactérienne [1], [2],[3],[4].

Sur le plan phénotypique, la résistance dite à bas niveau conférée par ces mécanismes reste difficilement décelable, mais son association éventuelle aux mécanismes chromosomiques induit une augmentation considérable des CMI de la ciprofloxacine pouvant atteindre 1 à 2 µg/mL [2].

Toutefois, peu de données sont disponibles en Afrique sur la prévalence de ces gènes de résistance plasmidique chez les entérobactéries. C'est ainsi que notre étude, se veut à la fois prospective, analytique et comparative, s'intéressant surtout aux entérobactéries isolées en milieu communautaire marocain, dans une optique visant à étudier leur contenu génétique plasmidique quant à ces mécanismes de résistance aux quinolones. La présente s'intéresse également à l'étude de la coexistence de ces gènes PMQR avec les gènes de résistance aux β-lactamines.

2 MATÉRIEL ET MÉTHODES

2.1 SOUCHES BACTÉRIENNES

Deux cents trente-sept souches d'entérobactéries ont été recueillies entre mai 2008 et juin 2009, au niveau des laboratoires privés d'analyses médicales des villes d'El Jadida (n=186), et de Settat-Berrechid (n=51) situées respectivement dans deux régions importantes du Maroc occupant des positions géographiques stratégiques connaissant une forte dynamique géographique : la région Doukkala-Abda et la région Chaouia Ouardigha.

2.2 SENSIBILITÉ AUX ANTIBIOTIQUES

La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par diffusion en gélose de Mueller-Hinton (BioRad) et la catégorisation clinique des souches a été faite selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). La production de bêta-lactamase à spectre élargi (BLSE) a été détectée par le test de double synergie suivant les recommandations du CA-SFM. Les CMI ont été déterminées par E-test selon les recommandations du fabricant (AES, AB Biodisk, Suède) (Clinical and Laboratory Standards Institute) [5].

2.3 RECHERCHE DES GÈNES DE RÉSISTANCE PLASMIDIQUE AUX QUINOLONES

L'ADN est extrait par choc thermique : Six colonies sont resuspendues dans 300 µl d'eau distillée stérile puis chauffée à 100°C pendant 5 min. Après centrifugation (5 min, 13.000 x g), le surnageant est conservé à -20°C [6].

Le dépistage des 3 gènes se fait soit par PCR simplex permettant de cibler un seul gène à la fois (*qepA* et *aac*), ou encore par PCR multiplex, utilisée pour amplifier simultanément plusieurs gènes (pour les 3 gènes *qnr A, B* et *S*) [7], [8].

Les souches d'*Escherichia coli*, *E. coli* U2A2118 (*qnrA*), *E. coli* U2A2119 (*qnrB*), *E. coli* U2A2120 (*qnrS*), *E. coli* U2A1528 (*aac(6')-Ib*), *E. coli* TOP10/p AT791 (*qepA*) sont utilisées comme contrôles positifs.

Les amorces utilisées figurent dans la table1. La réaction d'amplification se fait dans un thermocycleur GeneAmp PCR System 2400 (Applied Biosystems, Warrington, UK).

2.4 DÉTERMINATION DU VARIANT GÉNÉTIQUE PLASMIDIQUE AAC(6')-IB-CR

La détermination du variant génétique plasmidique *aac(6')-Ib-cr* se fait par PCR-RFLP en utilisant l'enzyme de restriction FokI selon le protocole décrit par Park et ses collaborateurs[9].

2.5 CRIBLAGE DES GÈNES DE RÉSISTANCE AUX B-LACTAMINES

La recherche des gènes β -lactamases (TEM, SHV, et CTXM), AmpC (DHA), a été effectuée par PCR en utilisant les protocoles décrits par Périchon et Guessend [3], [7].

Les souches de référence utilisées sont :

E. coli U2A21790 (CTX-M1), *Salmonella spp* U2A1446 (TEM), *Salmonella spp* U2A1446 (SHV), *K. pneumoniae* U2A 2240 (Dha-1). Les amorces utilisées sont mentionnées au niveau de la table 2.

2.6 TRANSFERT GÉNÉTIQUE

Les expériences de transfert génétique de conjugaison ont été réalisées en milieu liquide en utilisant la souche *E.coli* *K₁₂J5* résistante à l'azide de sodium comme souche réceptrice [10].

2.7 SÉQUENÇAGE

Après purification, les produits d'amplification sont séquencés en utilisant le kit BigDye Terminator Cycle Sequencing. Les séquences ont été réalisées à l'aide du séquenceur capillaire ABI PRISM 3130 (Applied Biosystems). Les comparaisons avec les séquences connues sont effectuées avec le programme BLAST du National Center for Biotechnology Information.

2.8 TYPAGE MOLÉCULAIRE

L'étude de la clonalité est réalisée par l'électrophorèse en champs pulsé [11], [12].

3 RÉSULTATS

Afin de permettre une meilleure analyse des souches récoltées, et dans le but d'avoir des résultats rigoureusement interprétables, nous avons jugé opportun de procéder en premier lieu à une étude clinique des souches, laquelle étude prend en considération, l'âge, le sexe des patients, la nature et l'origine des prélèvements ainsi que l'identité des espèces bactériennes, leurs fréquence d'isolement, et également leur répartition régionale.

3.1 ETUDE CLINIQUE DES SOUCHES BACTÉRIENNES

3.1.1 RÉPARTITION DES SOUCHES D'ENTÉROBACTÉRIES EN FONCTION DES ESPÈCES BACTÉRIENNES ET DE L'ORIGINE

Dans le milieu communautaire, *E.coli* constitue l'espèce prédominante avec un pourcentage de 68%, suivie de *Klebsiella spp* (15.7%). Le taux des autres espèces bactériennes varie entre 0,9% et 5,1% (Table 3).

3.1.2 RÉPARTITION DES SOUCHES BACTÉRIENNES EN FONCTION DE L'ÂGE ET DU SEXE DES PATIENTS

Les résultats de l'étude de la distribution des souches bactériennes en fonction de l'âge et du sexe du patient sont mentionnés dans la Table4.

En se basant sur les données découlant du tableau, on peut constater que la quasi-totalité des espèces d'entérobactéries sont plutôt isolées chez les femmes 79,75 % (189 /237) que chez les hommes 20,25 % (48/237) et ceci en tenant compte de toutes les tranches d'âge. On remarque aussi que ces bactéries sont plus abondantes chez les adultes que chez les enfants et les nouveaux nés (Table 4).

3.2 ETUDE PHENOTYPIQUE : ETUDE ET ANALYSE DE L'ANTIBIOGRAMME

3.2.1 ETUDE DU PROFIL DE RÉSISTANCE AUX ANTIBIOTIQUES

L'analyse du profil de résistance aux antibiotiques de l'ensemble des souches étudiées montre que : Pour *E.coli*, les résistances les plus élevées ont été observées pour l'amoxicilline (76,7%), l'association amoxicilline-acide clavulanique (40,5%), le triméthoptime sulfaméthoxazole (54%), la ceftazidime (32,6%), l'aztreoname (30,5%). Par ailleurs, le niveau de résistance à l'acide nalidixique et à la ciprofloxacine, est relativement élevé avec respectivement 25% et 17,4%.

Chez les souches de *Klebsiella spp*, les résistances au cotrimoxazole, à l'amoxicilline-acide clavulanique, et à la céftazidime étaient respectivement de 74,3%, de 45,7%, et de 40%. Le taux de résistance aux autres antibiotiques ne dépassant pas 1%.

En ce qui concerne les autres souches d'entérobactéries, les souches de *Providencia spp*, et *Enterobacter spp*, ont des niveaux de résistance élevés à la plupart des antibiotiques testés.

En outre, Les souches porteuses de gènes de résistance plasmidique aux quinolones, montrent une résistance augmentée au triméthoptime sulfaméthoxazole (SXT), à l'amoxicilline (AMX), et aux quinolones (NA : Acide Nalidixique; CIP : Ciprofloxacine). Elles montrent une sensibilité flagrante aux céphalosporines (FOX : Céfoxitine, CAZ :Ceftazidime, CTX : Céfotaxime) et aux aminoglycosides (GN: Gentamicine; AM: Amikacine).

L'analyse du profil de résistance aux antibiotiques des souches étudiées, montre que 26.3% présentent une résistance à au moins 5 antibiotiques. Aucune souche n'a montré une résistance à l'imipénème et à l'amikacine. Sept souches 3% (7/237) présentent le phénotype BLSE.

3.2.2 PROFIL DES SOUCHES PORTEUSES OU PAS DE GÈNES DE RÉSISTANCE À MÉDIATION PLASMIDIQUE

Les souches porteuses des gènes *qnr* et/ou *aac(6')-Ib-cr* montrent une résistance augmentée au triméthoprim sulfaméthoxazole, à l'amoxicilline, et aux quinolones. Elles montrent une sensibilité flagrante aux céphalosporines et à la gentamicine (Table 8). Les souches *qnr* positives sont toutes sensibles à l'amikacine, et présentent des profils similaires vis-à-vis de la ciprofloxacine et de la levofloxacine.

3.2.3 PRÉVALENCE DU PHÉNOTYPE BLSE

Sur les 237 souches, 2% présentent un phénotype BLSE.

3.3 ETUDE GÉNOTYPIQUE

3.3.1 INVESTIGATION ET ÉTUDE DE LA PRÉVALENCE DES GÈNES DE RÉSISTANCE PLASMIDIQUE AUX QUINOLONES : QNR(A, B ET S), AAC(6')-IB-CR, QEP A

La prévalence du gène *qnr* est de 2.6%, avec une prédominance du gène *qnrS1* (1.7%), suivi du *qnrB* (0.9%) : *qnrB5* (0.45 %) et *qnrB6* (0.45 %) avec une absence du gène *qnrA* (0%) (Tables 5 et 6).

La prévalence des Entérobactéries porteuses d'au moins un gène de résistance plasmidiques aux quinolones est de 11,10%.

La prévalence du gène *aac(6')-Ib-cr* parmi les souches criblées est estimée à 8.5%, tandis qu'aucune ne contenait le gène *qepA*.

3.3.2 ETUDE COMPARATIVE DES GÈNES QNR (A, B ET S) ET AAC(6')-IB-CR EN FONCTION DE L'ESPÈCE

La répartition des gènes de résistance plasmidique aux quinolones selon l'espèce montre que les gènes *qnr* sont plus fréquents chez *Citrobacter freundii* 25% (1/4), suivie de *Klebsiella spp* 5.4% (2/37), et d'*E.coli* 1.24% (2/161).

Quant à la prévalence du gène *aac(6')-Ib-cr*, elle est estimée à 8.5%, ce déterminant est retrouvé chez *Klebsiella spp* 10.81% (4/37), *Proteus spp* 10% (1/10) et *E.coli* 9.31% (15/161).

Toutefois, il conviendrait de signaler que les souches positives au gène *aac* 10.6% (25/237), présentent abondamment le variant *aac(6')-Ib-cr* (80%) et faiblement le variant *aac(6')-Ib* (20%) (Table 6).

3.3.3 ETUDE COMPARATIVE DE L'ASSOCIATION DU PHÉNOTYPE BLSE ET DES GÈNES DE RÉSISTANCE À MÉDIATION PLASMIDIQUE

L'étude des associations des gènes de résistance *qnr* et *aac(6')-Ib-cr* entre eux d'une part, et avec le phénotype BLSE d'autre part, montre que les souches EBLSE contenant le gène *aac(6')-Ib-cr* sont les plus nombreuses (3%), suivies des entérobactéries coexprimant les gènes *qnr* et *aac(6')-Ib-cr* (1.3%), ainsi que ceux présentant les association *qnr* BLSE (1.3 %) et *qnr-aac (6')-Ib-cr* BLSE(1.3 %) (Table 6).

La répartition géographique des gènes PMQR, montre que ces derniers sont plus fréquents au niveau de la région d'El Jadida : *qnr* 2.7% (5/186), et *aac (6')-Ib-cr* 8.6% (16/186) contre 2 % (1/51) pour le gène *qnr* et 7.9% (4/51) pour *aac (6')-Ib-cr* dans la région de Settat-Berrechid.

3.3.4 TRANSFERT GENETIQUE ET TYPAGE MOLECULAIRE

Les gènes *qnrS1*, *aac(6')-Ib-cr* et CTX-M-15 ; portés par des plasmides conjugatifs de haut poids moléculaire, ont été co-transférés ensemble après conjugaison.

Les transconjugants de la souche *qnr* (souche 64) témoignent d'une baisse de sa sensibilité vis à vis du Cip, Nal, LE, GM et TB (Table 7).

L'analyse clonale des souches d'*E.coli* porteuses des gènes *qnr*, n'a montré aucune similarité entre ces isolats (Figure1).

4 DISCUSSION

La prédominance des espèces d'*E.coli* et de *Klebsiella spp* parmi les souches analysées, avérées majoritairement uropathogènes, est en accord avec d'autres études dont celle de Anatoliotaki et Mclsaac [8], [13]. Ceci s'expliquerait par le fait que l'espèce *E.coli* constitue l'agent bactérien le plus incriminé [14], [15], et est donc considérée le premier responsable d'infections communautaires et nosocomiales [16], [17]. Ceci serait dû à la physiopathologie de l'infection urinaire qui est dans l'ensemble ascendante, et à la forte colonisation du périnée par les entérobactéries d'origine digestive, spécialement par *E.coli* [18].

Ceci s'appuie davantage par l'existence de facteurs spécifiques d'uropathogénicité chez *E.coli*, tel que les adhésines, qui permettent à la bactérie de s'incruster dans l'épithélium urinaire, empêchant ainsi son évacuation par les vidanges vésicales.

Quant à *Klebsiella spp*, elle maintient sa pérennité dans les urines, qui sont naturellement acides, neutralisant la prolifération bactérienne, en sécrétant une enzyme dite uréase ayant comme rôle l'alcalinisation des urines.

Toutefois, si on se base sur le facteur sexe du patient, on remarque que sur l'ensemble de notre échantillonnage, il y a une marge de différence considérablement élevée avec une prédominance du sexe féminin par rapport au sexe masculin, et ce, dans toutes les tranches d'âge, avec une fréquence augmentée chez l'adulte.

Cette observation est en concordance avec les données bibliographiques. Cependant, ceci pourrait être attribué aux causes anatomiques telles que la brièveté de l'urètre, la proximité des orifices anal et vaginal, aux mauvaises habitudes d'hygiène, surtout suite aux rapports sexuels, durant la période de grossesse, ou encore à l'utilisation de spermicide, ou au prolapsus de l'utérus et de la vessie [18]. Cette même constatation a été rapportée par d'autres auteurs, notamment en France et en Inde [8], [19].

Selon la présente étude, la prévalence des gènes *qnr* à l'échelle communautaire marocaine est de 3,96%, avec une prédominance du gène *qnrS* (S1) (2,64%), suivi du *qnrB* (B5, B6) (1,32%) et une absence du déterminant génétique *qnrA*(0%). Certes la prévalence des gènes PMQR est variable d'une espèce à l'autre, mais *E.coli* et *Klebsiella spp*, restent les plus représentées, comme le confirme notre étude au Maroc et celles de d'autres équipes de recherche dont celle de Jiang en chine [20].

Ces fréquences sont inférieures à celles rapportée en Côte d'Ivoire, où le gène *qnrB* était le plus fréquent (14,6%) suivi du *qnrA* (9,9%) et *qnrS* (2,7%) [7].

La fréquence des BLSE (3%) est nettement inférieure à celle rapportée en Chine (8%)[20] et supérieure à celle observée en France (0,7%) [21].

Notre étude confirme la présence du gène *aac(6')-Ib-cr* en milieu communautaire Marocain; d'autres études ont également rapporté sa présence parmi les souches BLSE et non BLSE au Maroc et ailleurs [22], [23]. Sa prévalence est de 8.5% avoisinant celle décrite au Canada (11,3%) [24]. Cette prévalence reste relativement élevée par rapport à celle rapportée en Corée (2,16%) [25]. Aucun des isolats ne contient le gène *qepA*.

Cependant, la présente étude confirme l'abondance des gènes *qnr*, et *aac(6')-Ib-cr* spécialement chez les souches d'entérobactéries BLSE.

En effet, depuis 2007, notre équipe de recherche, la première équipe à avoir cherché la présence des gènes PMQR dont notamment le gène *qepA* en Afrique du Nord (en 2009), n'a pas encore identifié ce gène parmi plus de 644 entérobactéries testées BLSE et non BLSE, d'origine communautaire ou nosocomiale; par ailleurs, la prévalence de ce gène reste faible à l'échelle mondiale variant en moyenne entre 0,3% et 0,8% [26]. D'autres études ont montré que ce gène a été détecté en Belgique, au Japon, en France, en Corée, au Canada, au Royaume unis et en Brésil; rapportant même un pourcentage atteignant (5,6%) [27] et de (15,8%) en Chine [23].

La coexistence des gènes *qnrA*, *qnrB*, *qnrS* s'est avérée également nulle.

Par ailleurs, Lors des deux dernières décennies, de nombreuses études ont montré l'augmentation, de part le monde, des infections à entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre étendu (EBLSE), peu de temps après l'introduction des céphalosporines de 3^{ième} génération dans les pratiques médicales. Elles sont de plus en plus impliquées dans les infections tant nosocomiales que communautaires et constituent un réel problème de santé publique [28]. Actuellement, ce mécanisme de résistance, connaît une propagation mondiale de plus en plus préoccupante voire même alarmante. Cependant, les BLSE sont le plus souvent localisées sur des plasmides conjugatifs transmissibles aussi bien au sein des souches bactériennes d'une même espèce qu'entre les espèces et genres bactériens ; notre étude confirme ceci à travers les expériences de conjugaison effectuées sur une souche d'*E. coli* (souche 64) et l'analyse de son contenu plasmidique et de celui de son transconjugant, qui ont pu montrer que *qnrS1*, *aac(6')-Ib-cr* et CTX-M-15 ont été co-transférés à la fois et que ces gènes sont portés par des plasmides conjugatifs de haut poids moléculaire(≥125Kb), appuyant ainsi, la co-transférabilité plasmidique de la résistance au bêta-lactamines et aux quinolones (Table7).

Ces enzymes ont été rapportées la première fois en 1983 dans les isolats de *K. pneumoniae* et leur taux de dissémination parmi les bactéries a considérablement augmenté dans le monde entier depuis le début des années 1990 [29].

Des études ont montré que les entérobactéries productrices de BLSE sont le plus souvent importées dans les établissements de soins à partir de patients porteurs de la bactérie au niveau digestif au moment de leur entrée dans l'établissement, le portage digestif communautaire étant fréquent y compris pour les personnes non soumises à des traitements antibiotiques comme cela a pu être décrit en Espagne[30].

Il a été montré récemment en France que les animaux d'élevage pourraient être porteurs de gènes de résistance et que la consommation de leur viande contaminée pourrait être un des facteurs de dissémination de ce type de résistance au niveau communautaire [31].

La prévalence des entérobactéries, productrices de BLSE varie d'un pays à un autre et d'une institution de santé à l'autre [32], [33], [34].

Ainsi, les résultats obtenus ont montré que la prévalence des souches productrices de BLSE est de (2,26%) dans les régions étudiées: Doukkala-Abda et la région Chaouia Ouardigha. Ce pourcentage est situé au même niveau qu'aux Etats Unis (0 à 25%) et avoisine les taux rapportés en Hollande (2%), en Allemagne (2,6%) et en France (5,2%), est inférieure à ceux décrits en Afrique du sud (15%) et en Cameroun (12%) et à ceux rapportés en Egypte (38,5%) et en Grèce (27,4%) [35], [36].

La synthèse des études de la sensibilité aux antibiotiques effectuées au sein de notre laboratoire, montre qu'au niveau du milieu communautaire étudié, la majorité des souches sont résistantes souvent à au moins cinq antibiotiques voire même à au moins deux familles d'antibiotiques. Plusieurs souches multirésistantes ont été observées. Cette multirésistance peut s'expliquer par le fait que les gènes responsables de ces résistances pourraient être portés par le même plasmide, par la coexistence de plusieurs mécanismes de résistance ou par la production de plusieurs types enzymatiques [24],[37],[38],[39]. Ainsi, certains auteurs suggèrent la codiffusion des BLSE et des autres résistances aux antibiotiques par le même plasmide de conjugaison [1].Ainsi, il conviendrait de rappeler que chez les souches hébergeant les gènes *aac(6')-Ib-cr* et *qnr*, l'analyse des CMI vis à vis de la ciprofloxacine et de l'acide nalidixique a montré différents phénotypes de résistance aux quinolones. Le mécanisme de résistance médié par ces 2 gènes est différent et leur action est cumulative.

Cette multi-résistance peut être également associée à une utilisation abusive des antibiotiques dans la communauté [40], [41]. Cette constatation, met l'accent sur la nécessité de contrôler la sur-consommation d'antibiotiques comme l'a recommandé Ficca et ses collaborateurs [42].

Ces résistances acquises sont la conséquence de la pression de sélection due au large usage de ces antibiotiques et de leur déterminisme génétique qui fait qu'elles ont un pouvoir de dissémination important.

Table 1. Liste des amorces utilisées dans l'étude des gènes *qnr(A, B, S)*, *aac(6')-Ib* et *qep A*

Gènes	Amorces ^a	Séquence des amorces (5'→3')	Position ^b	Taille de l'amplifiat (pb)	Numéro d'accession	Références
<i>qnrA1</i> to 5	<i>qnrA</i> (+) <i>qnrA</i> (-)	TTCTCACGCCAGGATTGAG TGCCAGGCACAGATCTTGAC	339-358 910-891	571	AY070235	Guessennd et al, 2008
<i>qnrB1</i> to 9	<i>qnrB</i> (+) <i>qnrB</i> (-)	TGGCGAAAAAATT(GA)ACAGAA GAGCAACGA(TC)GCCTGGTAG	54-73 648-630	594	DQ351241	Guessennd et al, 2008
<i>qnrS1</i> to 2	<i>qnrS</i> (+) <i>qnrS</i> (-)	GACGTGCTAACTTGCGTGAT AACACCTCGACTTAAGTCTGA	101-120 489-469	388	DQ485529	Guessennd et al, 2008
<i>aac(6')-Ib</i>	<i>aac(6')-Ib</i> (+) <i>aac(6')-Ib</i> (-)	ATGACTGAGCATGACCTTG AACCATGTACACGGCTGG	442-460 918-901	476	A28388	Perichon et al, 2007
<i>qepA</i>	<i>qepA</i> (+) <i>qepA</i> (-)	TGGTCACGCCATGGACCTCA TGAATTCGGACACCGTCTCCG	92-112 1228-1208	1137	EF150886	Perichon et al, 2007

La détermination du variant génétique plasmidique *aac(6')-Ib-cr* a été faite par PCR-RFLP en utilisant l'enzyme de restriction *FokI* selon le protocole utilisé décrit par[9].

a : (+), amorce sens ; (-) : amorce anti sens

b : la numérotation des nucléotides débute au codon d'initiation des gènes PMQR ; *pb* : Paire de bases

Table 2. Liste des amorces utilisées dans le criblage des gènes *CTX-M*, *TEM*, *SHV* et *DHA*

Gène	Amorce ^a	Séquence	Position ^b	Taille de l'amplifiat (pb)
CTX-M	CTX-M1 (+) CTX-M1(-)	GGTTAAAAAATCACTGCGTC TTGGTGACGATTTTAGCCGC	65-84 928-909	863
TEM	a216(+) a217(-)	ATAAAATCTTGAAGACGAAA GACAGTTACCAATGCTTAATCA	1-21 1080-1059	1079
SHV	os-5(+) os-6(-)	TTATCTCCCTGTTAGCCACC GATTTGCTGATTCGCTCGG	23-42 818-799	795
DHA	dhaM(+) dhaM(-)	AACTTTACAGGTGTGCTGGGT CCGTACGCATACTGGCTTTGC	1244 -1265 1648 -1628	405

a (+), amorce sens ; (-) : amorce antisens.

b : la numérotation des nucléotides commence au codon d'initiation du gène de type 1.

Table 3. Répartition des souches d'entérobactéries communautaires en fonction de l'espèce

Espèce bactérienne	Nombre
<i>E. coli</i>	161(68%)
<i>Klebsiella spp</i>	37 (15.7%)
<i>Enterobacter spp</i>	12 (5.1%)
<i>Proteus spp</i>	10 (4.3%)
<i>Providencia spp</i>	7 (3%)
<i>Citrobacter spp</i>	4 (1.7%)
<i>Pseudomonas spp</i>	4 (1.7%)
<i>Serratia spp</i>	2 (0.9%)

Table 4. Répartition des souches bactériennes en fonction de la tranche d'âge et du sexe des patients

Age	Nouveau-nés		Enfants		Adultes		Total	
	F	M	F	M	F	M	F	M
E.coli (n=161)	3	2	31	12	100	13	134	27
Klebsiella spp (n= 37)	4	1	2	0	26	4	32	5
Enterobacter spp (n=12)	1	1	2	0	5	3	8	4
Proteus spp (n=10)	0	0	0	1	6	3	6	4
Citrobacter spp (n=4)	0	1	0	0	2	1	2	2
Providencia spp (n=7)	0	0	1	0	4	2	5	2
Pseudomonas spp (n=4)	0	0	0	0	1	3	1	3
Serratia spp (n=2)	0	0	0	0	1	1	1	1
Total (n=237)	8	5	36	13	145	30	189	48

F : Féminin, M : Masculin

Table5. Répartition des gènes PMQR et des associations des gènes en fonction des régions

Souches (n=237)	Qnr (6)	QnrA (0)	QnrB (2)	QnrS (4)	Aac (25)	AacIb (5)	Aac (6')-Ib-cr (20)	QepA (0)	BLSE (7)	Association Qnr-Aac(6')-Ib-cr (3)	Association Qnr BLSE (3)	Association Aac (6')-Ib-cr BLSE (7)	Association Qnr-Aac (6')-Ib-cr BLSE (3)
El Jadida (n=186)	(n=5) 2.7% (5/186)	(n=0) 0%	(n=2) 1.1% (2/186)	(n=3) 1.7% (3/186)	(n=20) 10.8% (20/186)	(n=4) 2.2% (4/186)	(n=16) 8.6% (16/186)	(n=0) 0%	(n=4) 2.2% (4/186)	(n=2) 1.1% (2/186)	(n=2) 1.1% (1/186)	(n=4) 2.2% (4/186)	(n=2) 1.1% (2/186)
Settat-Berrechid (n=51)	(n=1) 2% (1/51)	(n=0) 0%	(n=0) 0%	(n=1) 2% (1/51)	(n=5) 9.8% (5/51)	(n=1) 2% (1/51)	(n=4) 7.9% (4/51)	(n=0) 0%	(n=3) 5.9% (3/51)	(n=1) 2% (1/51)	(n=1) 2% (1/51)	(n=3) 5.9% (3/51)	(n=1) 2% (1/51)
Fréquence Globale	2.6%	0%	0.9%	1.7%	10.6%	2.1%	8.5%	0%	3%	1.3%	1.3 %	3%	1.3%

Table6. Répartition des gènes PMQR et des associations des gènes en fonction des espèces bactériennes

Souches (n=237)	Qnr (6)	QnrA (0)	QnrB (2)	QnrS (4)	Aac (25)	AacIb (5)	Aac (6')-Ib-cr (20)	QepA (0)	BLSE (7)	Association Qnr-Aac(6')-Ib-cr (3)	Association Qnr BLSE(3)	Association Aac (6')-Ib-cr BLSE (7)	Association Qnr-Aac (6')-Ib-cr BLSE (3)
E.coli (161) 67%	1.24% (2/161)	0% (0)	0.62% (1/161)	1.86% (3/161)	11.18% (18/161)	1.86% (3/161)	9.31% (15/161)	0%	2.48% (4/161)	1.24% (2/161)	1.24% (2/161)	2.48% (4/161)	1.24% (2/161)
Klebsiella spp(37) 12%	5.4% (2/37)	0% (0)	0% (0)	5.4% (2/37)	10.81% (4/37)	0%	10.81% (4/37)	0%	8.1% (3/37)	2.7% (1/37)	2.7% (1/37)	8.1% (3/37)	2.7% (1/37)
Enterobacter spp(12) 3.88%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0%	8.33% (1/12)	8.33% (1/12)	0% (0)	0%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
Proteusspp(10) 3.23%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0%	20% (2/10)	10% (1/10)	10% (1/10)	0%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
Citrobacterfreundii (4) 1.68%	25% (1/4)	0% (0)	25% (1/4)	0%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
Pseudomonas spp(4) 1.68%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
Providencia spp (7) 2.95%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
Serratia spp (2) 0.8%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0%	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)	0% (0)
Fréquence Globale	2.6%	0%	0.9%	1.7%	10.6%	2.1%	8.5%	0%	3%	1.3%	1.3 %	3%	1.3%

Table 7. Répartition des gènes PMQR en fonction de l'espèce et de la région et étude de la CMI « Concentration minimale inhibitrice » en (µg/mL) chez les souches qnr positives

Code	Espèce	Origine	Date d'isolement	Qnr	aac(6')-Ib-cr	BLSE	Cip		NA		LE		K		GM		TM		AN	
							CMI	CC	CMI	CC	CMI	CC	CMI	CC	CMI	CC	CMI	CC	CMI	CC
18	<i>Kp. P</i>	Settat	10/08/2008	S1	+	CTX-M15/ TEM1/ SHV12	256	R	512	R	512	R	512	R	ND	ND	4	S	4	S
72	<i>E. coli</i>	El Jadida	13/12/2008	B5	+	CTX-M15/ TEM1	0.064	S	1	S	0.064	S	12	I	6	S	4	S	1.5	S
120	<i>E. coli</i>	El Jadida	23/04/2008	S1	—	—	>32	R	>32	R	>32	R	16	R	>32	R	>32	R	2	S
196	<i>Cit. freu</i>	El Jadida	01/01/2004	B6	—	—	0,13	S	8	S	0.125	S	2	S	0.25	S	0.5	S	2	S
212	<i>Kp.p</i>	El Jadida	23/04/2008	S1	—	—	0,5	S	8	S	1	S	2	S	0.25	S	0.5	S	2	S
64	<i>E. coli</i>	El Jadida	16/05/2008	S1	+	CTX-M15	128	R	512	R	512	R	12	I	12	I	6	R	1.5	S
64 Tc	<i>E. coli</i>	—	—	S1	+	CTX-M15	1	S	8	S	0.094	S	12	I	8	R	4	I	1.5	S
K ₁₂ J ₅	<i>E. coli</i>	—	—	—	—	—	0,02	S	4	S	0,02	S	0,75	S	0,5	S	0,5	S	0,75	S

Kp.p: *Klebsiella pneumoniae*; *E. coli*: *Escherichia coli*, Cit. freu : *Citrobacter freundii*; Tc: Transconjugant; Cip: Ciprofloxacin; NA: Acide nalidixique; LE: Levofloxacin; K: Kanamycine; GM: Gentamycine; TM :Tobramycine; AN : Amikacine

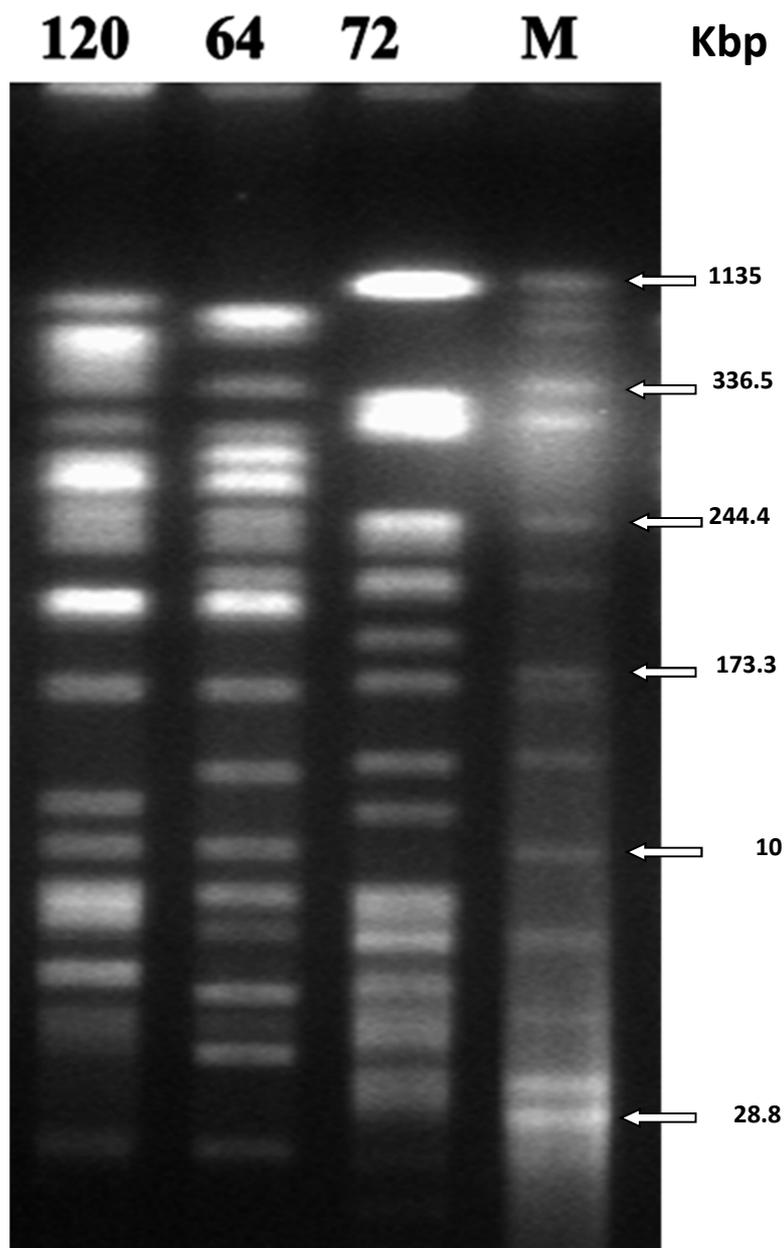


Figure 1. Electrophorèse en champs pulsé des souches d'*E.coli* porteuses des gènes *qnr*

M : *Salmonella brandrup*, Kbp : Kilo base pairs

5 CONCLUSION

Cette étude met l'accent sur la présence et la dissémination des PMQR en milieu communautaire marocain parmi les entérobactéries non BLSE et BLSE, confirmant le caractère inquiétant de la diffusion de la résistance aux quinolones chez les isolats étudiés, surtout parmi ceux ayant le phénotype BLSE. Ceci témoigne d'un potentiel adaptatif performant des espèces d'entérobactéries. Par conséquent, la cessation de l'antibiothérapie automatique traumatisante, l'usage rationnel des antibiotiques, la sensibilisation et la conscientisation des praticiens et professionnels de la santé sur l'usage raisonné et raisonnable des fluoroquinolones et de tout autre composé antibactérien ainsi que l'instauration d'un système performant de surveillance des souches multi résistantes, s'avèrent indispensables, garantissant la pérennité de leur efficacité clinique face aux pathogènes humains et animaux.

REMERCIEMENTS

Au Professeur Patrice Courvalin unité des agents antibactériens : Institut Pasteur Paris, France et aux laboratoires d'analyses médicales des villes d'El Jadida, Settat et Berrechid.

REFERENCES

- [1] L. Martínez-Martínez, A. Pascual, et G. A. Jacoby, « Quinolone resistance from a transferable plasmid », *The Lancet*, vol. 351, n° 9105, p. 797-799, mars 1998.
- [2] A. Robicsek, J. Strahilevitz, G. A. Jacoby, M. Macielag, D. Abbanat, C. Hye Park, K. Bush, et D. C. Hooper, « Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase », *Nat. Med.*, vol. 12, n° 1, p. 83-88, janv. 2006.
- [3] B. Perichon, P. Courvalin, et M. Galimand, « Transferable Resistance to Aminoglycosides by Methylation of G1405 in 16S rRNA and to Hydrophilic Fluoroquinolones by QepA-Mediated Efflux in *Escherichia coli* », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 51, n° 7, p. 2464-2469, juill. 2007.
- [4] J. Strahilevitz, G. A. Jacoby, D. C. Hooper, et A. Robicsek, « Plasmid-Mediated Quinolone Resistance: a Multifaceted Threat », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 22, n° 4, p. 664-689, oct. 2009.
- [5] Clinical and Laboratory Standards Institute, « Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests ». 2007.
- [6] S. Honoré, C. Lascols, D. Malin, R. Targaouchi, V. Cattoir, P. Legrand, C.-J. Soussy, et E. Cambau, « [Investigation of the new QNR-based mechanism of quinolone resistance among enterobacterial strains isolated in Henri-Mondor hospital 2002-2005] », *Pathol. Biol. (Paris)*, vol. 54, n° 5, p. 270-279, mai 2006.
- [7] N. Guessenn, S. Bremont, V. Gbonon, A. Kacou-NDouba, E. Ekaza, T. Lambert, M. Dosso, et P. Courvalin, « Résistance aux quinolones de type qnr chez les entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi à Abidjan en Côte d'Ivoire », *Pathol. Biol.*, vol. 56, n° 7-8, p. 439-446, nov. 2008.
- [8] E. G. Maria Anatoliotaki, « Antimicrobial resistance of urinary tract pathogens in children in Crete, Greece. », *Scand. J. Infect. Dis.*, vol. 39, n° 8, p. 671-5, 2007.
- [9] C. H. Park, A. Robicsek, G. A. Jacoby, D. Sahm, et D. C. Hooper, « Prevalence in the United States of aac(6')-Ib-cr Encoding a Ciprofloxacin-Modifying Enzyme », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 50, n° 11, p. 3953-3955, nov. 2006.
- [10] L. Meradi, A. Djahoudi, A. Abdi, M. Bouchakour, J.-D. Perrier Gros Claude, et M. Timinouni, « Résistance aux quinolones de types qnr, aac (6')-Ib-cr chez les entérobactéries isolées à Annaba en Algérie », *Pathol. Biol.*, vol. 59, n° 4, p. e73-e78, août 2011.
- [11] M. E. Kaufmann, « Pulsed-Field Gel Electrophoresis », in *Molecular Bacteriology*, N. Woodford et A. P. Johnson, Éd. Humana Press, 1998, p. 33-50.
- [12] F. C. Tenover, R. D. Arbeit, R. V. Goering, P. A. Mickelsen, B. E. Murray, D. H. Persing, et B. Swaminathan, « Interpreting chromosomal DNA restriction patterns produced by pulsed-field gel electrophoresis: criteria for bacterial strain typing », *J. Clin. Microbiol.*, vol. 33, n° 9, p. 2233-2239, sept. 1995.
- [13] W. J. McIsaac, T. Mazzulli, J. Permaul, R. Moineddin, et D. E. Low, « Community-acquired antibiotic resistance in urinary isolates from adult women in Canada », *Can. J. Infect. Dis. Med. Microbiol.*, vol. 17, n° 6, p. 337-340, 2006.
- [14] S. W. MacGowan, P. Sidhu, T. Aherne, D. Luke, A. E. Wood, M. C. Neligan, et E. McGovern, « Atrial myxoma: national incidence, diagnosis and surgical management », *Ir. J. Med. Sci.*, vol. 162, n° 6, p. 223-226, juin 1993.
- [15] P. Weber, « Etat actuel de la sensibilité à la ciprofloxacine des bactéries isolées en pratique de ville : résultats d'une enquête multicentrique », *Médecine Mal. Infect.*, vol. 23, n° 5, p. 342-347, mai 1993.
- [16] V. Jarlier, M.-H. Nicolas, G. Fournier, et A. Philippon, « Extended Broad-Spectrum β -Lactamases Conferring Transferable Resistance to Newer β -Lactam Agents in Enterobacteriaceae: Hospital Prevalence and Susceptibility Patterns », *Clin. Infect. Dis.*, vol. 10, n° 4, p. 867-878, juill. 1988.
- [17] M. H. Nicolas et F. Espinasse, « Evolution de la flore responsable des infections nosocomiales », *Evolution et tendances.*, vol. Infection nosocomiale et résistance aux antibiotiques, Paris: Arnette, 1993, p. 13-28.
- [18] K. Larabi, A. Masmoudi, et C. Fendri, « Étude bactériologique et phénotypes de résistance des germes responsables d'infections urinaires dans un CHU de Tunis : à propos de 1930 cas », *Médecine Mal. Infect.*, vol. 33, n° 7, p. 348-352, juill. 2003.
- [19] M. Akram, M. Shahid, et A. U. Khan, « Etiology and antibiotic resistance patterns of community-acquired urinary tract infections in J N M C Hospital Aligarh, India », *Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob.*, vol. 6, n° 1, p. 4, 2007.

- [20] Y. Jiang, Z. Zhou, Y. Qian, Z. Wei, Y. Yu, S. Hu, et L. Li, « Plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr and aac(6')-Ib-cr in extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in China », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 61, n° 5, p. 1003-1006, mars 2008.
- [21] S. Honoré, C. Lascols, D. Malin, R. Targaouchi, V. Cattoir, P. Legrand, C.-J. Soussy, et E. Cambau, « Émergence et diffusion chez les entérobactéries du nouveau mécanisme de résistance plasmidique aux quinolones Qnr (résultats hôpital Henri-Mondor 2002–2005) », *Pathol. Biol.*, vol. 54, n° 5, p. 270-279, mai 2006.
- [22] N. Karah, « Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance in Norwegian and Swedish clinical isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. », 2008.
- [23] M. Bouchakour, K. Zerouali, J. D. P. Gros Claude, H. Amarouch, N. El Mdaghri, P. Courvalin, et M. Timinouni, « Plasmid-mediated quinolone resistance in expanded spectrum beta lactamase producing enterobacteriaceae in Morocco », *J. Infect. Dev. Ctries.*, vol. 4, n° 12, p. 779-803, déc. 2010.
- [24] J. D. Pitout, K. S. Thomson, N. D. Hanson, A. F. Ehrhardt, E. S. Moland, et C. C. Sanders, « beta-Lactamases responsible for resistance to expanded-spectrum cephalosporins in *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, and *Proteus mirabilis* isolates recovered in South Africa », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 42, n° 6, p. 1350-1354, juin 1998.
- [25] S.-Y. Kim, Y.-J. Park, J. K. Yu, Y. S. Kim, et K. Han, « Prevalence and characteristics of aac(6')-Ib-cr in AmpC-producing *Enterobacter cloacae*, *Citrobacter freundii*, and *Serratia marcescens*: a multicenter study from Korea », *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 63, n° 3, p. 314-318, mars 2009.
- [26] T. Nordman, N. Santavirta, et K. Eriksson, « Developing an instrument to evaluate suffering related to care », *Scand. J. Caring Sci.*, vol. 22, n° 4, p. 608-615, déc. 2008.
- [27] P. J. Baudry, K. Nichol, M. DeCorby, P. Lagacé-Wiens, E. Olivier, D. Boyd, M. R. Mulvey, D. J. Hoban, et G. G. Zhanel, « Mechanisms of resistance and mobility among multidrug-resistant CTX-M–producing *Escherichia coli* from Canadian intensive care units: the 1st report of QepA in North America », *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, vol. 63, n° 3, p. 319-326, mars 2009.
- [28] C.-C. Adjidé, M. Biendo, F. Rousseau, F. Hamdad-Daoudi, D. Thomas, G. Laurans, B. Canarelli, O. Obin, M. Hénicque, J.-L. Schmit, et F. Eb, « [Extended-spectrum betalactamases producing *Escherichia coli*: a new health-care associated infection threat?] », *Pathol. Biol. (Paris)*, vol. 54, n° 8-9, p. 510-517, nov. 2006.
- [29] Y. Glupczynski, C. Berhin, et H. Nizet, « Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria in Belgium as determined by E-test methodology », *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. Off. Publ. Eur. Soc. Clin. Microbiol.*, vol. 28, n° 3, p. 261-267, mars 2009.
- [30] A. Valverde, T. M. Coque, L. García-San Miguel, F. Baquero, et R. Cantón, « Complex molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases in *Klebsiella pneumoniae*: a long-term perspective from a single institution in Madrid », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 61, n° 1, p. 64-72, janv. 2008.
- [31] D. Meunier, E. Jouy, C. Lazizzera, M. Kobisch, et J.-Y. Madec, « CTX-M-1- and CTX-M-15-type β -lactamases in clinical *Escherichia coli* isolates recovered from food-producing animals in France », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 28, n° 5, p. 402-407, nov. 2006.
- [32] P. A. Bradford, « Extended-Spectrum β -Lactamases in the 21st Century: Characterization, Epidemiology, and Detection of This Important Resistance Threat », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 14, n° 4, p. 933-951, janv. 2001.
- [33] P. L. Winokur, R. Canton, J. M. Casellas, et N. Legakis, « Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region », *Clin. Infect. Dis. Off. Publ. Infect. Dis. Soc. Am.*, vol. 32 Suppl 2, p. S94-103, mai 2001.
- [34] D. L. Paterson et R. A. Bonomo, « Extended-Spectrum β -Lactamases: a Clinical Update », *Clin. Microbiol. Rev.*, vol. 18, n° 4, p. 657-686, oct. 2005.
- [35] S. K. Bouchillon, B. M. Johnson, D. J. Hoban, J. L. Johnson, M. J. Dowzicky, D. H. Wu, M. A. Visalli, et P. A. Bradford, « Determining incidence of extended spectrum β -lactamase producing Enterobacteriaceae, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 17 countries: the PEARLS study 2001–2002 », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 24, n° 2, p. 119–124, 2004.
- [36] K. Lee, J. H. Yum, D. Yong, H. M. Lee, H. D. Kim, J.-D. Docquier, G. M. Rossolini, et Y. Chong, « Novel Acquired Metallo- β -Lactamase Gene, blaSIM-1, in a Class 1 Integron from *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates from Korea », *Antimicrob. Agents Chemother.*, vol. 49, n° 11, p. 4485-4491, janv. 2005.
- [37] C. C. Sanders, « New β -Lactams: New Problems for the Internist », *Ann. Intern. Med.*, vol. 115, n° 8, p. 650, oct. 1991.
- [38] D. Sirot, « Extended-spectrum plasmid-mediated beta-lactamases », *J. Antimicrob. Chemother.*, vol. 36 Suppl A, p. 19-34, juill. 1995.
- [39] G. A. Jacoby, « EXTENDED-SPECTRUM β -LACTAMASES AND OTHER ENZYMES PROVIDING RESISTANCE TO OXYIMINO- β -LACTAMS », *Infect. Dis. Clin. North Am.*, vol. 11, n° 4, p. 875-887, déc. 1997.

- [40] G. Kahlmeter, « Prevalence and antimicrobial susceptibility of pathogens in uncomplicated cystitis in Europe. The ECOaSENS study », *Int. J. Antimicrob. Agents*, vol. 22, p. 49-52, oct. 2003.
- [41] K. M. Killgore, K. L. March, et B. J. Guglielmo, « Risk factors for community-acquired ciprofloxacin-resistant *Escherichia coli* urinary tract infection », *Ann. Pharmacother.*, vol. 38, n° 7-8, p. 1148-1152, août 2004.
- [42] G. Ficca, M. Chauvel, D. de Moüy, et Membres du Réseau des Biologistes de Ville de l'AFORCOPI-BIO, « [Prevalence of community-acquired methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*] », *Médecine Mal. Infect.*, vol. 36, n° 4, p. 207-212, avr. 2006.