

Nouvelles β -lactamases : nouveaux défis en 2004

Pr. A. PHILIPPON
Service de Bactériologie, UFR Cochin
Paris - France



Robert Parker
avec
Pierre-Antoine Rovani

Guide
PARKER

β -Lactamases



(NOUVELLE ÉDITION)

SOLAR

**β -Lactamases:
Le mouvement perpétuel !**

Historique



Penicillin girls dans l'Unité de H.Florey à Oxford

1940

LETTERS TO THE EDITORS

The Editors do not hold themselves responsible for opinions expressed by their correspondents. They cannot undertake to return, or to correspond with the writers of, rejected manuscripts intended for this or any other part of NATURE. No notice is taken of anonymous communications.

IN THE PRESENT CIRCUMSTANCES, PROOFS OF "LETTERS" WILL NOT BE SUBMITTED TO CORRESPONDENTS OUTSIDE GREAT BRITAIN.

An Enzyme from Bacteria able to Destroy Penicillin

FLEMING¹ noted that the growth of *B. coli* and a number of other bacteria belonging to the colityphoid group was not inhibited by penicillin. This observation has been confirmed. Further work has been done to find the cause of the resistance of these organisms to the action of penicillin.

An extract of *B. coli* was made by crushing a suspension of the organisms in the bacterial crushing mill of Booth and Green². This extract was found to contain a substance destroying the property of penicillin. The destruction of penicillin by incubating the penicillin preparation with the extract at 37°, or at room temperature. The following is a typical example of the penicillin-destroying effect. A solution of 1 mgm. penicillin was incubated with 0.2 c.c. of bacterial extract at 37° for 3 hours, in the presence of ether, and a control solution of penicillin of equal concentration was incubated without enzyme for the same time. (The penicillin used was extracted from cultures of *Penicillium notatum* by a method to be described in detail later. It possessed a degree of

B. coli, it was not necessary to crush the organism in the bacterial mill in order to obtain the enzyme from it. The latter appeared in the culture fluid. The enzyme was also found in *M. lysodeikticus*, an organism sensitive to the action of penicillin, though less so than *Staphylococcus aureus*. Thus, the presence of the enzyme in a bacterium may not be the sole factor determining its insensitivity or resistance to penicillin.

The tissue autolysates that have been shown to be without action on the penicillin. Prof. A. D. Macleod has demonstrated a slight case of *B. coli* cystitis, in which the use of sulphonamide drugs was not successful in the presence of tissue autolysates. That the anti-bacterial activity of penicillin is not affected under these conditions is a distinct advantage over the sulphonamide drugs from the chemotherapeutic point of view. The fact that a number of bacteria contain an enzyme acting on penicillin points to the possibility that this substance may have a function in their metabolism.

E.P. ABRAHAM
E. CHAIN
Sir William Dunn School of Pathology
Oxford
DEC. 5

Lancet

β -LACTAMASES AVANT 1985

INTERET MEDICAL

Plasmid-mediated ESBL

Cephalosporinase overproduced

Unhydrolysable cephalosporins

Plasmid-mediated penicillinases

Ampicillin

GRAM -

Cephalosporinase

Penicillinase

S. aureus

GRAM +

Enterococci

1944

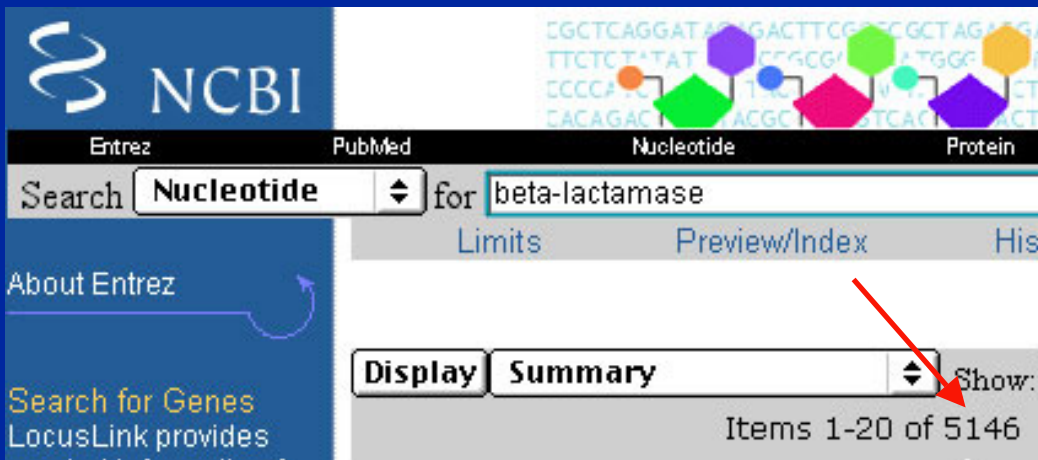
1955

1965

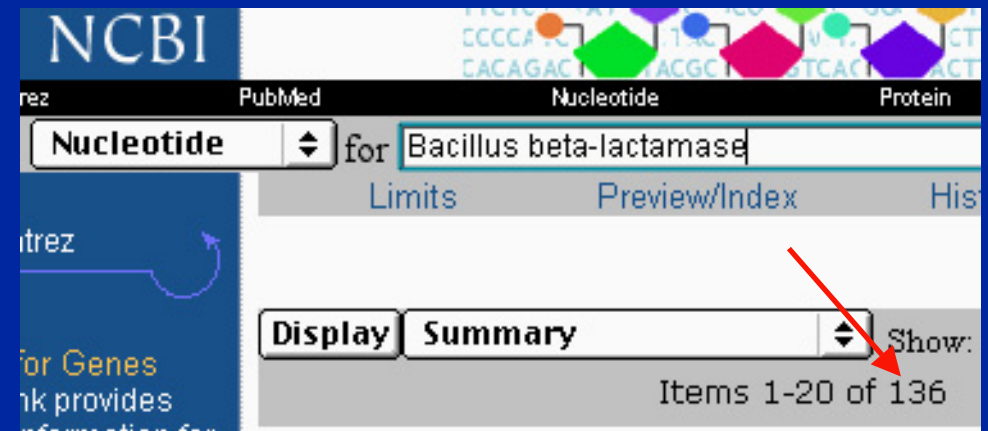
1980



Quelle évolution depuis 1990 ?

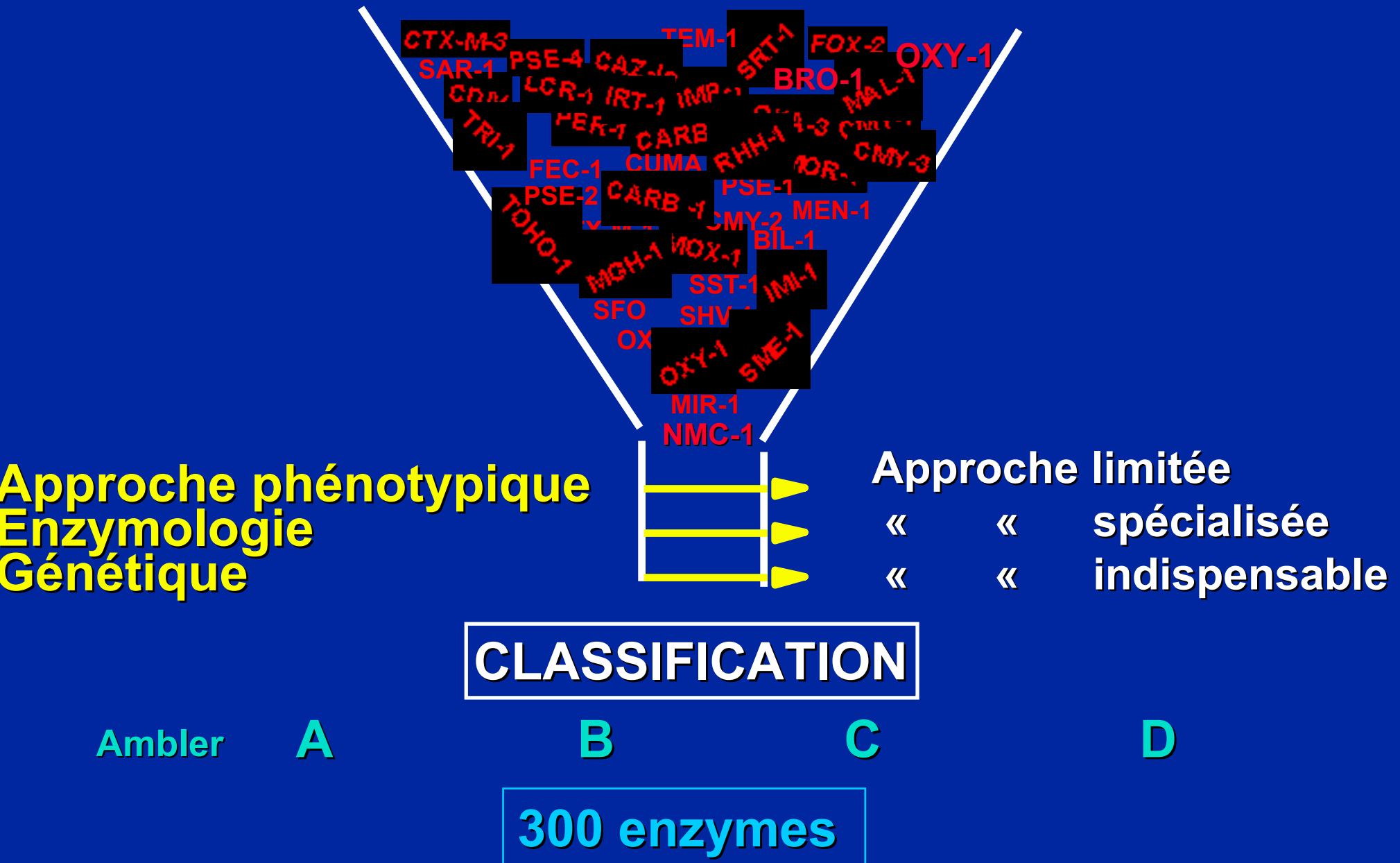


5449

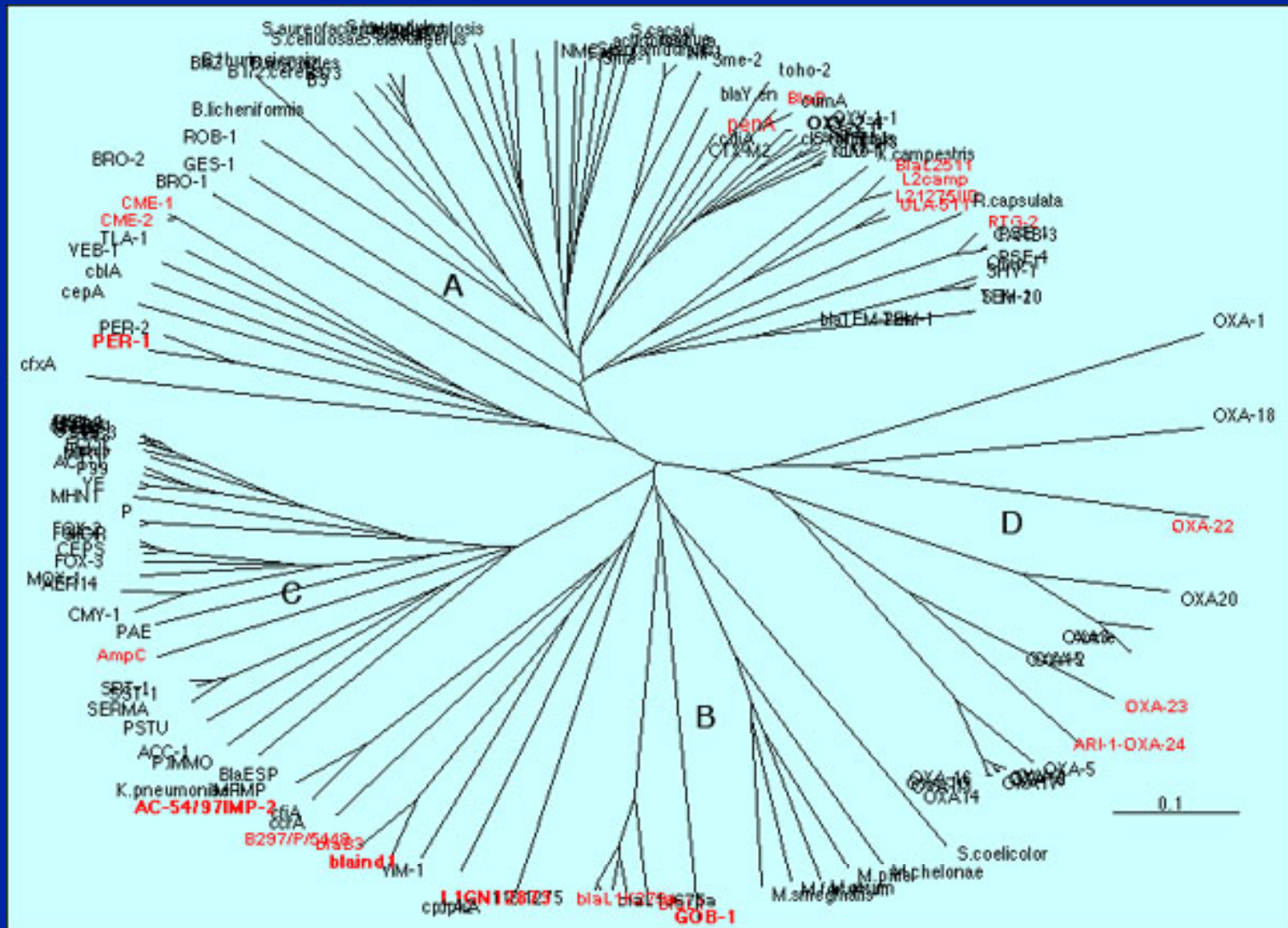


160

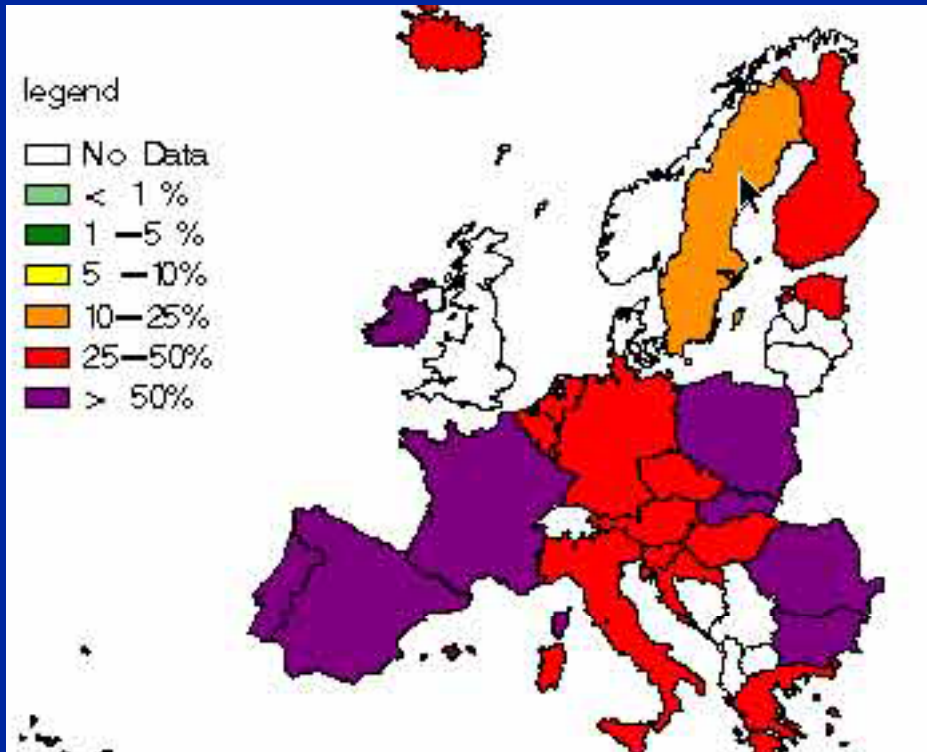
DIVERSITE ENCORE PLUS GRANDE DES B-LACTAMASES



Comparaison de 134 séquences en AA



Ampicilline

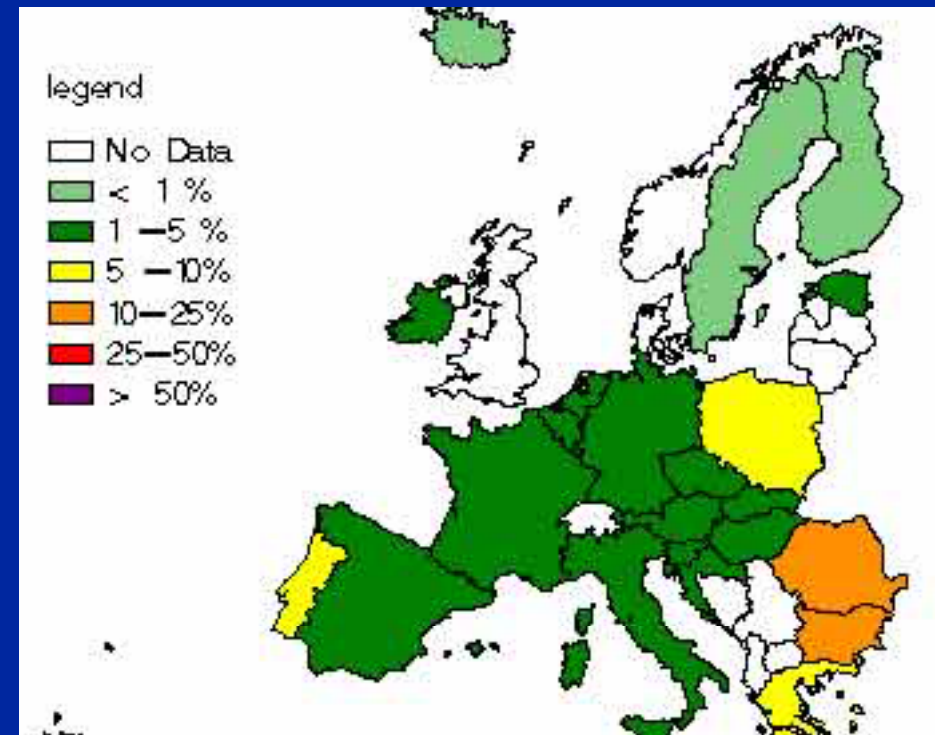


EARSS

E.coli

Résistance

Quels problèmes ?



C3G

Depuis 1990



- Autres β -lactamases plasmidiques à spectre élargi/étendu (classe A)
 - TEM -133
 - SHV- 54
 - OXA - 57 et les autres
- TRI/IRT (TEM, SHV)
- Diverses céphalosporinases plasmidiques (C)
 - CMY - 1, LAT-1, FOX-1.....

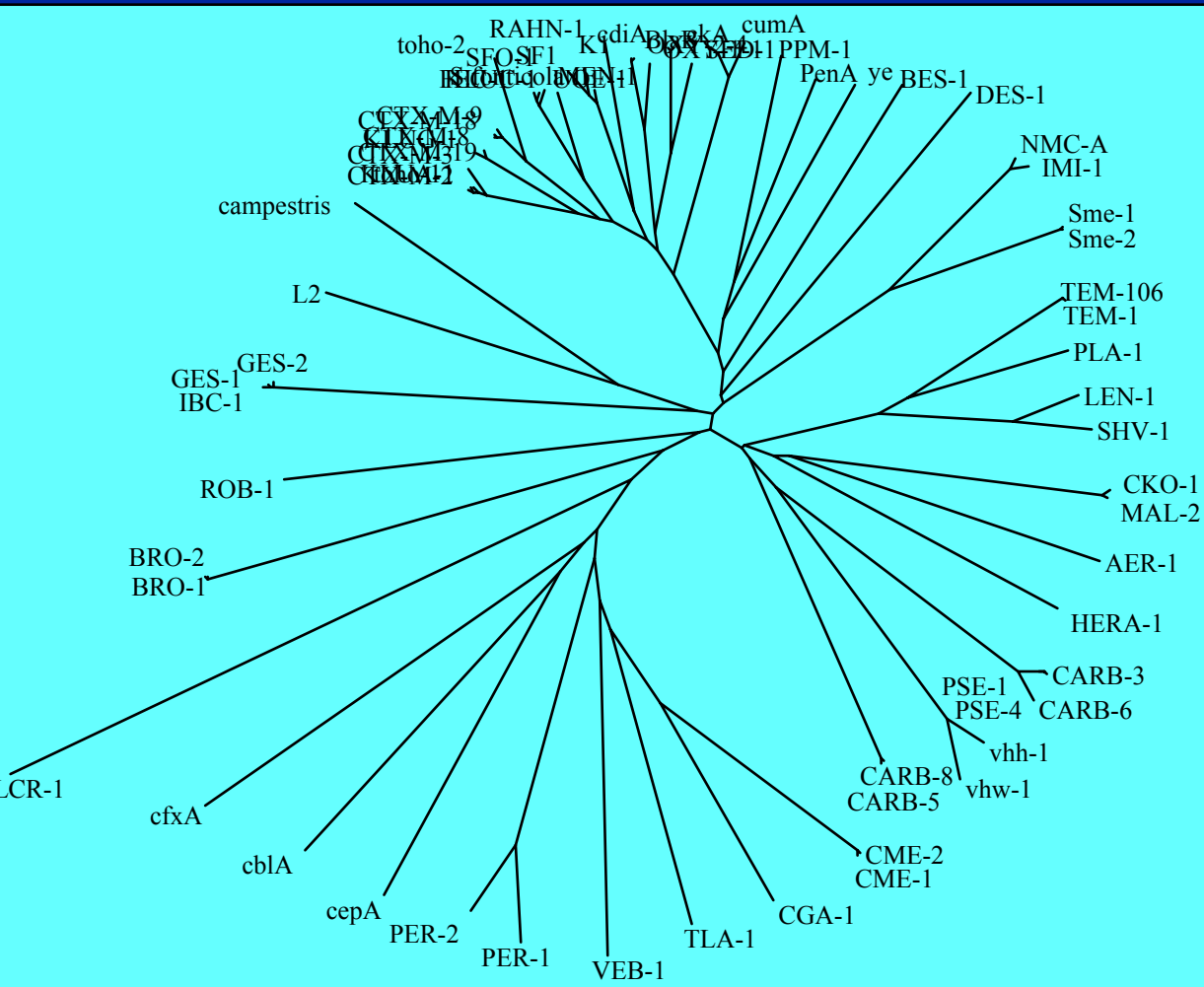


B.pseudomallei
P167S omega

Déterminisme génétique

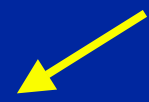
- **évolution par mutation** = grande diversité
- mobilisation d 'AmpC EB peu connues

β -LACTAMASES CLASSE A



- 1/ Nouvelles BLSE Tra+
- 2/ Nouvelles pénicillinases
- 3/ BLSE chromosomiques
- 4/ Carbapénémases

Nouvelles BLSE plasmidiques



A.baumannii Epidémie

50%

Globalisation
Régionalisation

11%

Mobilisation gène chr

Enzyme pl

VEB-1 7,4

hôte

E.coli K.pneumoniae

P.aeruginosa

E.coli E.cloacae

K.pneumoniae

P.mirabilis

E.coli K.pneumoniae

P.mirabilis

P.aeruginosa

S.marcescens

E.coli

P.aeruginosa

E.coli

S.typhimurium

P.mirabilis

P.aeruginosa

A.baumannii

S. typhimurium

V.cholerae

E.coli K.pneumoniae

P.mirabilis

E.cloacae

K.pneumoniae

Pays d'isolement (origine du patient) (date)

France (**Vietnam**)(96)

Thaïlande (99)

Thaïlande (99)

Thaïlande (99)

France (**Vietnam**) (99)

Vietnam (00)

Koweït (99)

Brésil (96)

Mexique (91)

France (91)

Turquie

Turquie (92)

Italie (97)

Turquie (95 ?)

Turquie (95 ?) France (98)

Argentine (90)

Argentine (92)

Argentine

Japon (88)

Guyane (98)

BES-1 7,5

TLA-1 9

PER-1 5,2

PER-2 5,4

SFO-1 7,3

GES-1 5,8

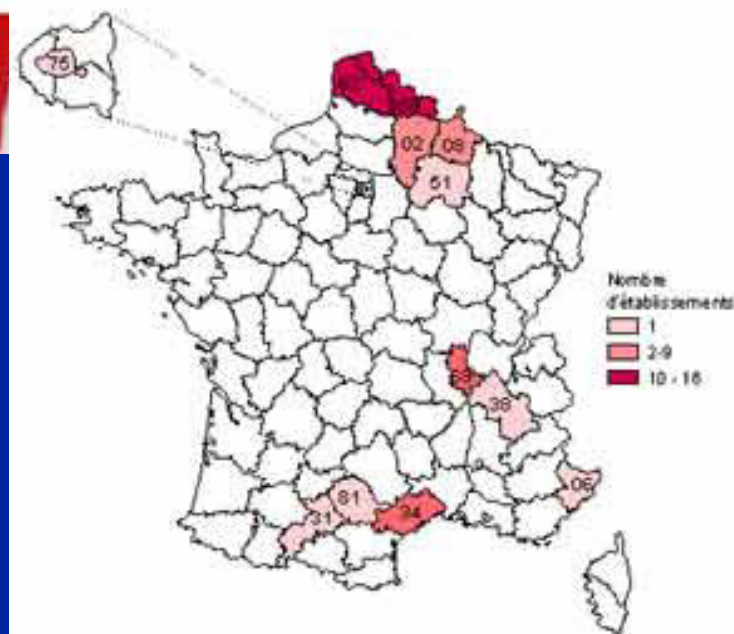
L' Acinetobacter baumannii multi-résistante aux antibiotiques sévit dans les hôpitaux du Nord

Mardi 9 décembre 2003 matin - Commission de la Santé publique, de l'Environnement et du Renouveau de la Société

Question de Mme Colette Burgeon au ministre des Affaires sociales et de la Santé publique sur "la bactérie multi-résistante sévissant dans certains hôpitaux français" (n° 965)

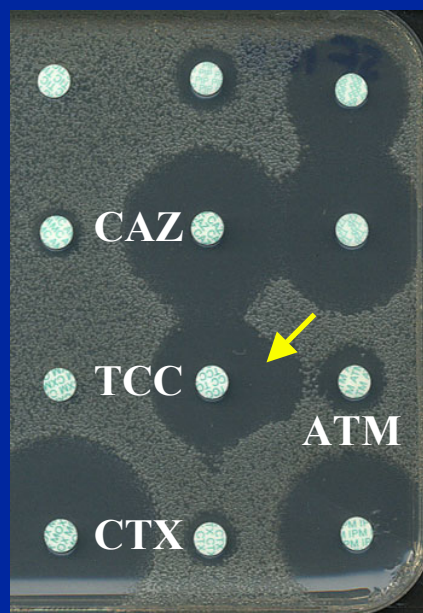
Colette Burgeon (PS):

Monsieur le président, monsieur le ministre, un communiqué de la direction générale française de la Santé (section hospitalisation et organisation des soins) a informé ce 10 décembre 2003 que, dans le cadre du dispositif national de signalement d'infections nosocomiales, 21 établissements de santé situés dans les départements du Nord, du Pas-de-Calais, de l'Ain, des Ardennes et de la Mame avaient signalé depuis l'été 112 patients porteurs ou infectés par une souche de l'Acinetobacter baumannii multi-résistante aux antibiotiques. Plusieurs d'entre eux sont malheureusement décédés.

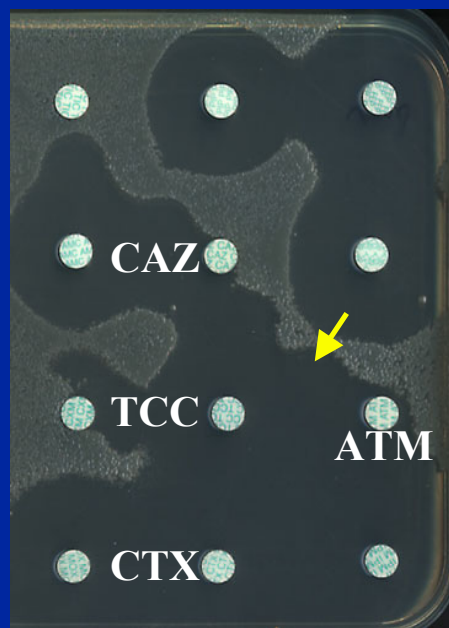


Expression phénotypique de BLSE (CMI, mg/l)

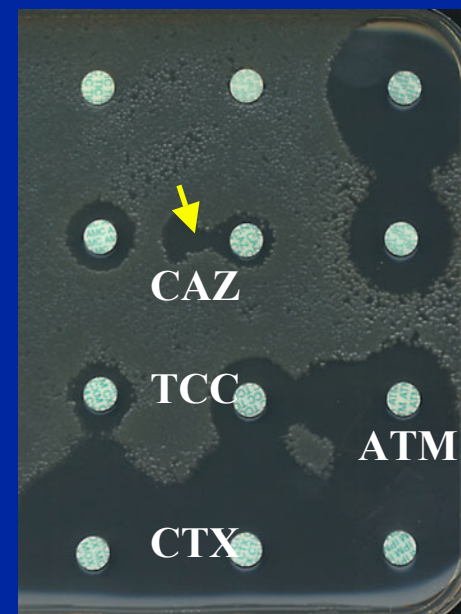
SFO-1



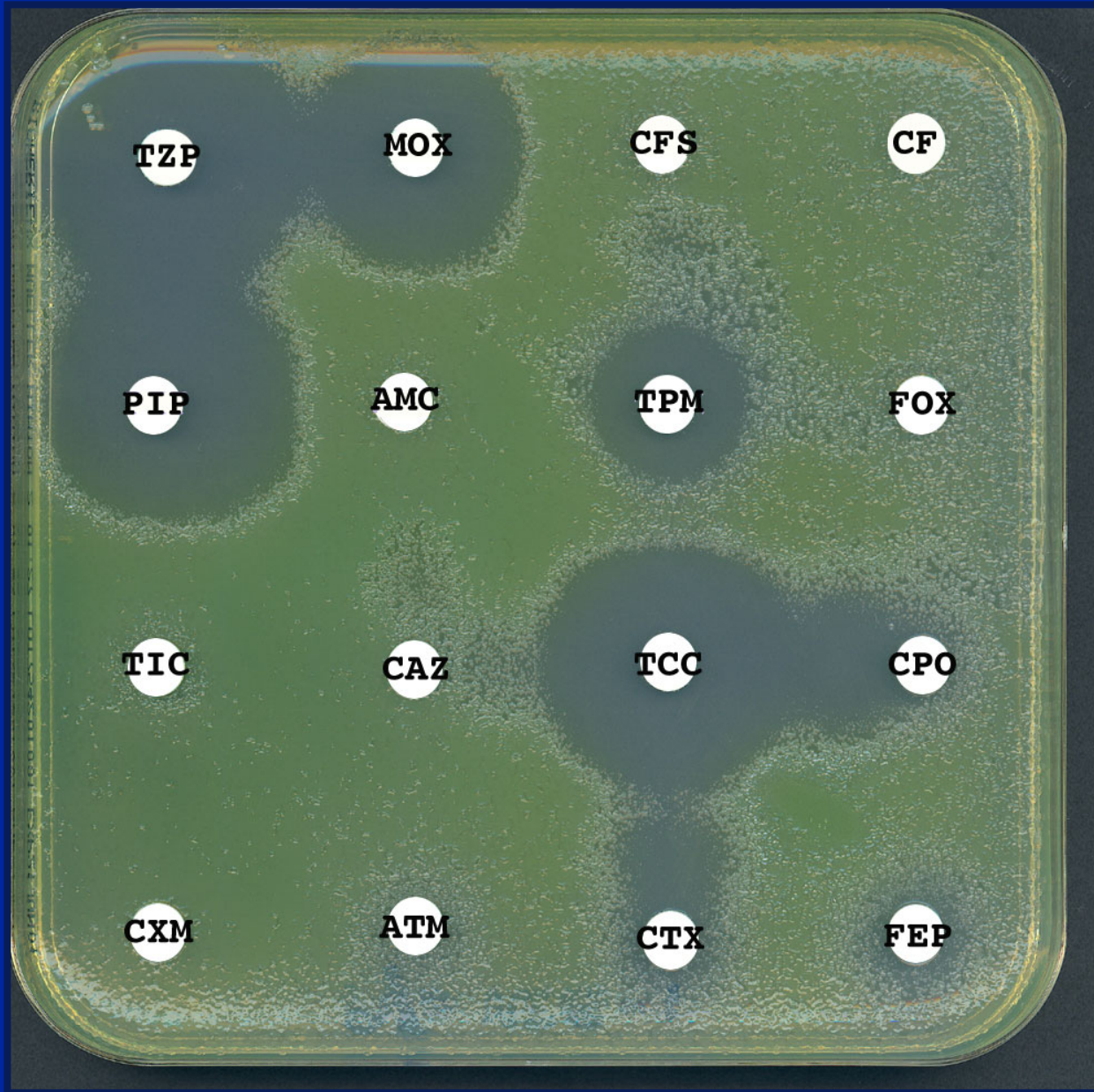
PER-1



VEB-1

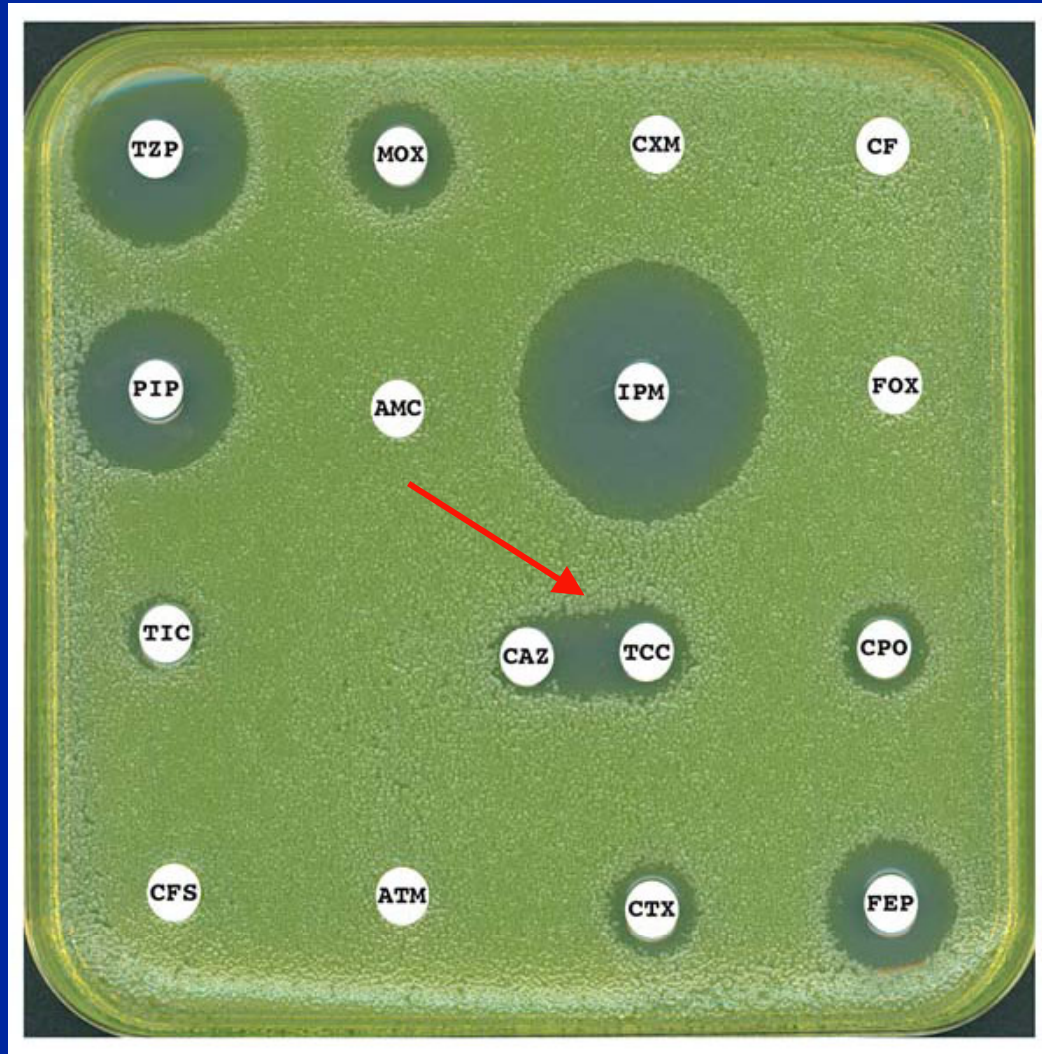


Bla	Espèce	TIC	TCC	PIP	TAZ	CTX	CAZ	FEP	ATM	IMP
SFO-1	<i>E. cloacae</i>					128	4		16	1
	<i>E. coli</i> (Tc)					8	2		8	0,25
BES-1	<i>S. marcescens</i>	>512	512	512	256	64	4	4	512	0,5
	<i>E. coli</i> (Tc)	>512	32	512	256	64	16	8	512	0,25
TLA-1	<i>E. coli</i>				128	>256	4	>256	1	
PER-1	<i>P. aeruginosa</i>	512	256	32	32	64	128		256	0,5
	<i>E. coli</i> (Tc)	>512	2	8	1	4	256		128	0,06
PER-2	<i>S. typhimurium</i>					256	>512	64	>512	0,5
	<i>E. coli</i> (Tc)					32	256	8	256	0,25
VEB-1	<i>K. pneumoniae</i>			64	4	8	256		128	
	<i>P. aeruginosa</i>	>512	32	32	8	>256	>256	64	>256	1

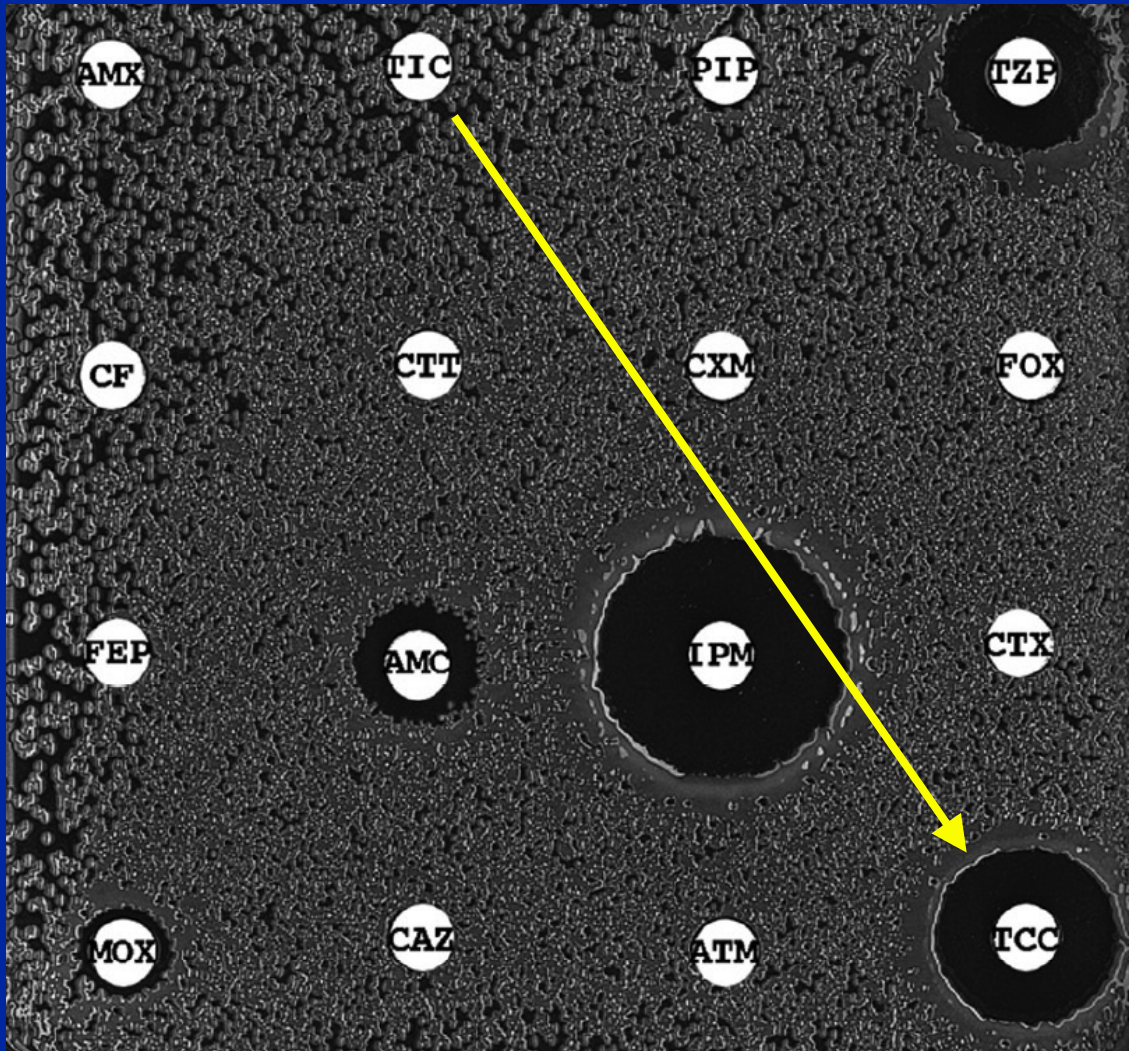


VEB-1
P.aeruginosa

P. aeruginosa : PER-1



A.baumannii: VEB-1

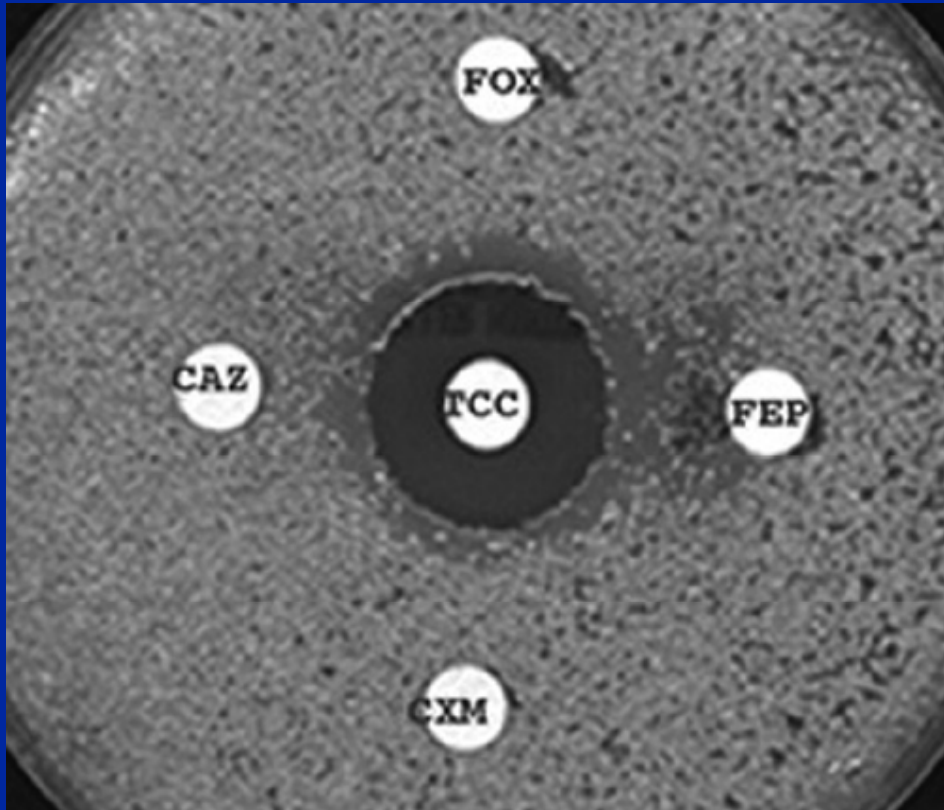


1/ Souche BMR
2/ Synergie TCC

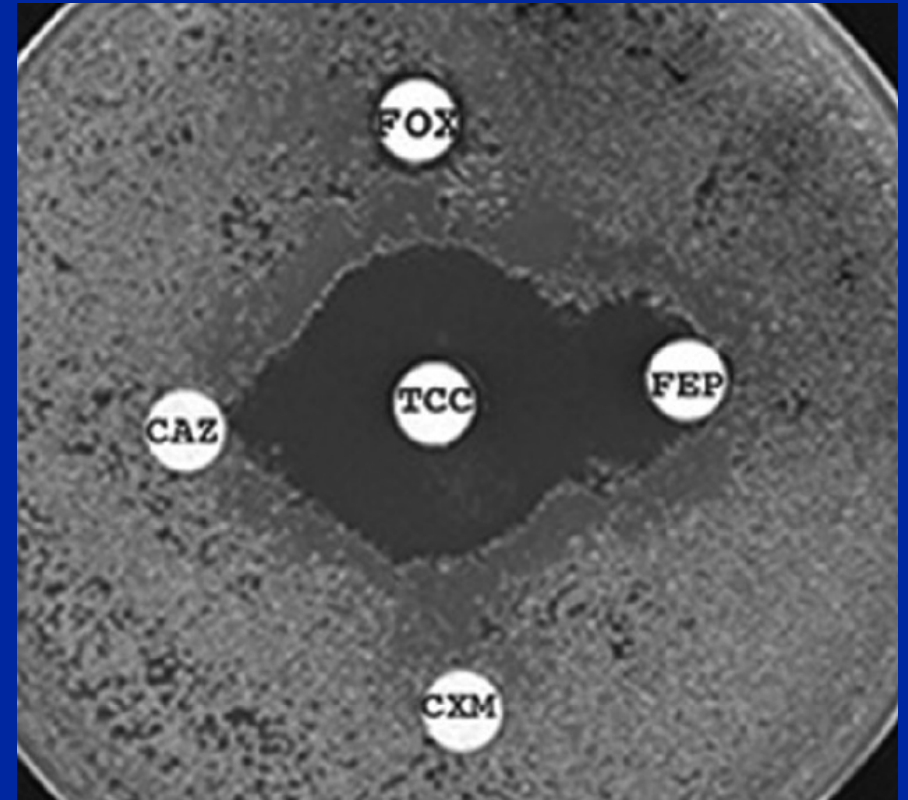
MH : Mueller-Hinton

Poirel L. et al. J. Clin. Microbiol. 2003

A.baumannii: VEB-1



MH normal



MH + cloxacilline 250 mg/l

Poirel L. et al. J. Clin. Microbiol. 2003

Phylogénèse des BLSE

Diverses Bla BLSE
Nées de père inconnu

PER-1

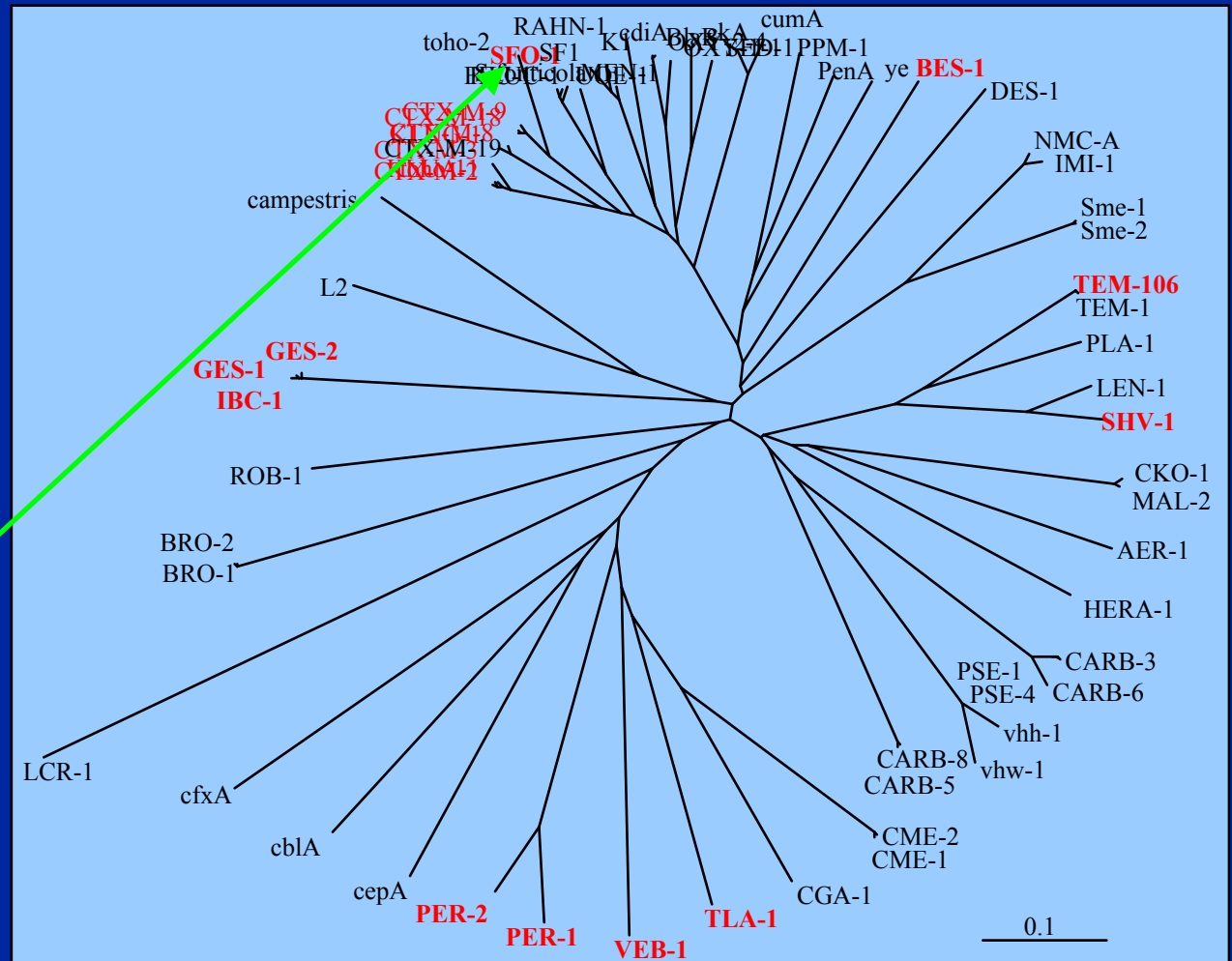
VEB-1

BES-1

TLA-1

GES-1

SAUF
SFO-1



Dendrogramme par alignement des séquences en AA

Autres BLSE plasmidiques

CTX-M

=

Céfotaximase

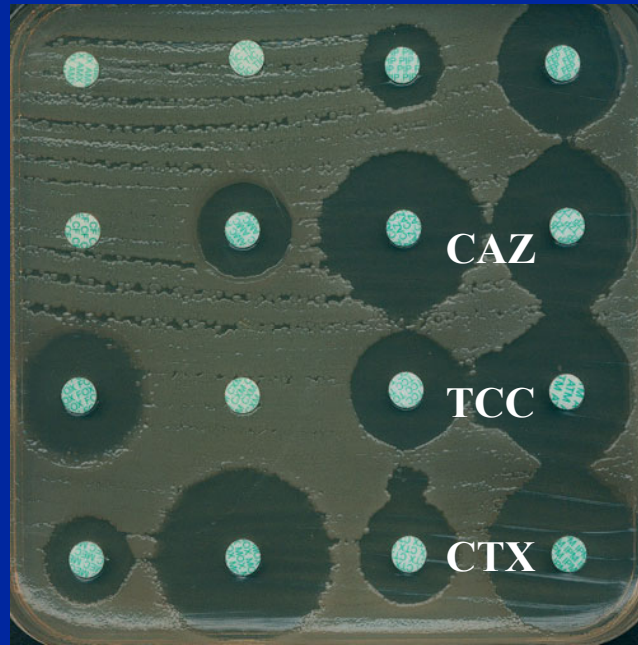


CTX-M-34

09/05/04

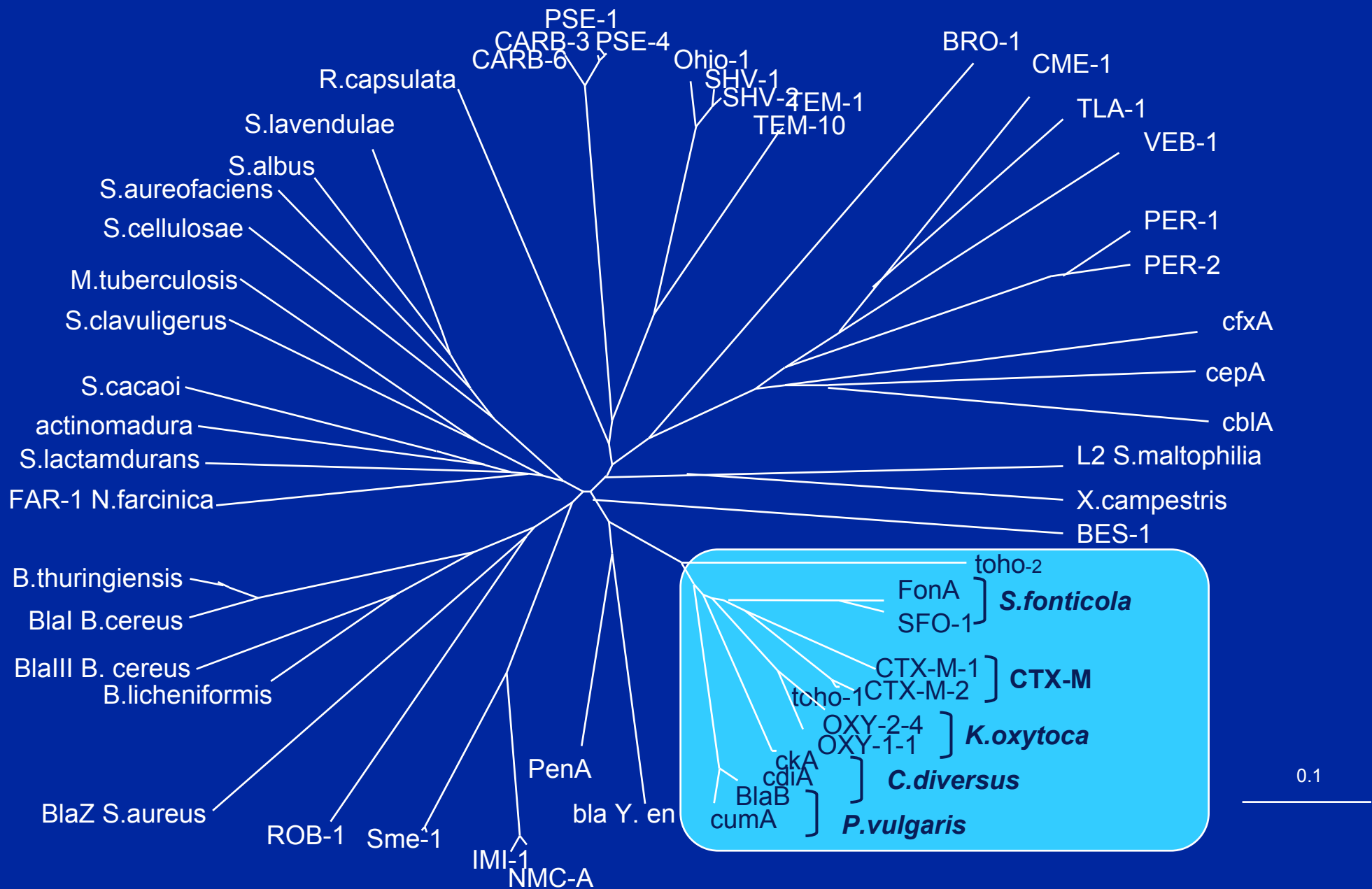
Enzyme	pI	hôte	Pays d'isolement (origine du patient) (date)
FEC-1		E.coli	Japon (88)
MEN-1	8,4	E.coli	France (Italie) (89)
CTX-M-1	8,4	E.coli	Allemagne (89)
CTX-M-2	7,9	S.typhimurium V.cholerae	Argentine (92)
		Entérobactéries	Argentine (92) Israel (92), Brésil (97), France (97)
Toho-1	7,8	E.coli	Japon (93)
Toho-2		E.coli	Japon (1995)
CTX-M-3	8,4	E.coli C. freundii	Pologne (96)
		Entérobactéries	Taiwan (98) France (98) Chine (99)
CTX-M-4	8,4	S.typhimurium	Russie (96) Hongrie (98) Grèce (98)
CTX-M-5	8,8	S.typhimurium	Lituanie (96)
		A.baumannii	Chine
CTX-M-6	8,4	S.typhimurium	Grèce (97)
CTX-M-7	8,4	S.typhimurium	Grèce (96)
CTX-M-8	7,6	C.amalonaticus E. cloacae	Brésil (98)
CTX-M-9	8,0	E.coli	Espagne (96)
		Enterobactéries	France (94) Brésil (96) Chine (97)
CTX-M-10	8,1	E.coli	Espagne (97)
CTX-M-11		K.pneumoniae	Japon (00)
CTX-M-12	9,0	K.pneumoniae	Kenya (00)
CTX-M-13	8,1	K.pneumoniae	Chine (97)
CTX-M-14	8,0	E.coli	Chine (97)
		Entérobactéries	Corée (96) Taiwan (98) France (00) , Espagne (00)
CTX-M-15	8,9	E.coli K.pneumoniae	
		E.cloacae	Inde (00) Pologne (98)
CTX-M-16		E.coli	Brésil (96)
CTX-M-17		K.pneumoniae	Vietnam (96)
CTX-M-18		E.coli K.pneumoniae	France (Vietnam) (99)
CTX-M-19		K.pneumoniae	France (Vietnam) (99)
CTX-M-20		P.mirabilis	France (98)
CTX-M-21		E.coli	France (00)
CTX-M-26		K.pneumoniae	Royaume Uni (01)
CTX-M-27		E.coli	France (00)

Expression phénotypique de BLSE (CMI, mg/l) = BLSE



Céfotaximases ???

Bla	Espèce	TIC	TCC	PIP	TAZ	CTX	CAZ	FEP	ATM	IMP
CTX-M-13	E. coli (Tc)	>512	32	128	2	64	0,5	16	16	0,25
CTX-M-15	E. coli	>512	32	128	8	>512	128	32	128	0,12
	K.pneumoniae	>512	256	>512	8	256	128	32	512	0,12
CTX-M-16	E. coli (Tc)	>512	16	256	2	16	8	2	8	0,12
CTX-M-19	E. coli (Tc)	>512	32	128	2	1	64	0,5	4	0,12

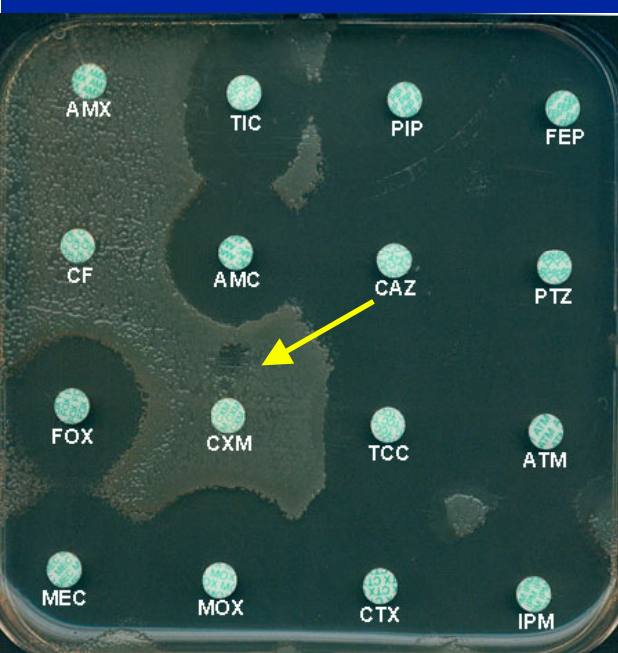


Dendrogramme réunissant les séquences protéiques de 60 β -lactamases de classe A

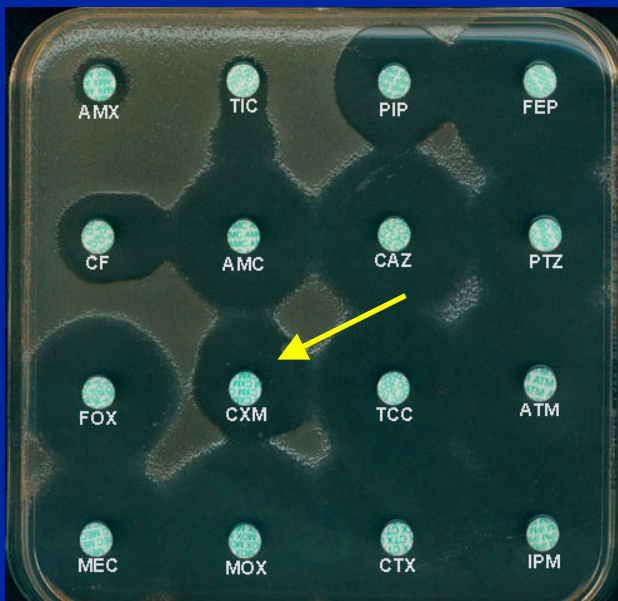
BLSE chromosomiques

<i>S.fonticola</i>	FONA
<i>K.ascorbata</i>	KLUA
<i>K.cryocrescens</i>	KLUC-1
<i>K.georgiana</i>	KLUG-1
<i>C.sedlakii</i>	SED-1
<i>R.aquatis</i>	RAHN-1

EB nouveau Groupe 5

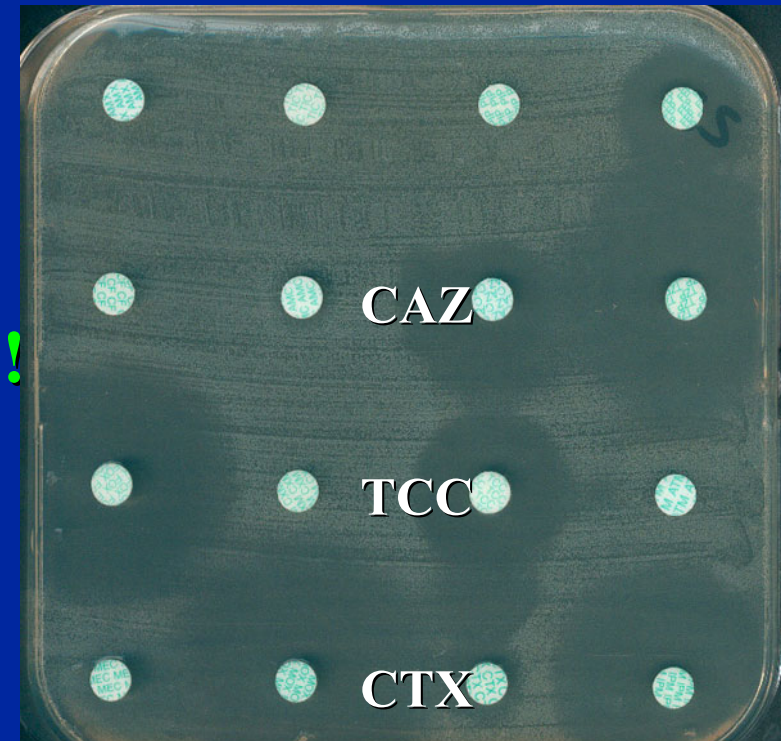


S.fonticola



K.ascorbata

Et les autres !!!!!!!



HYPER-EXPRESSION

bla KLUA-1



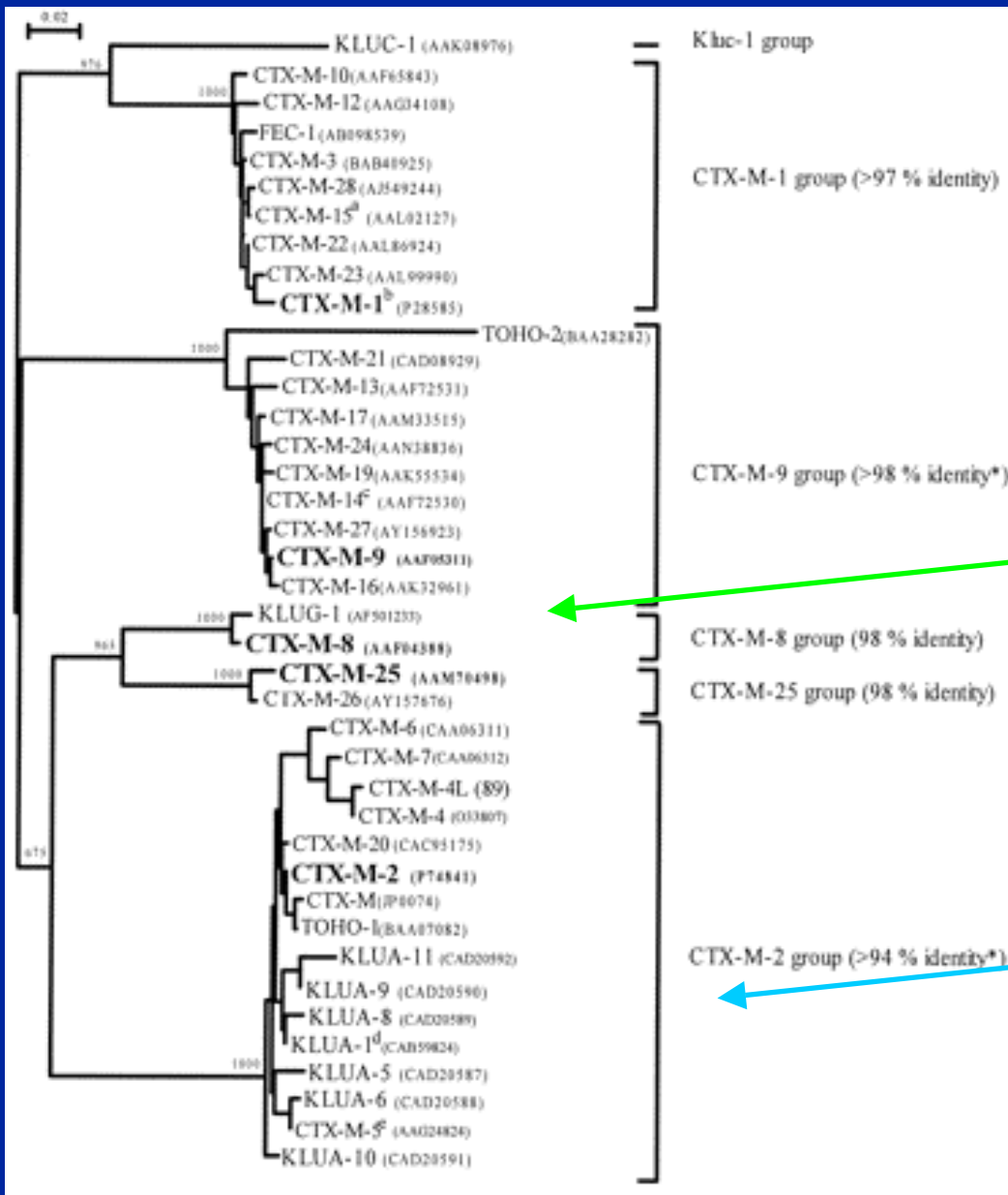
E. coli + gène cloné
= Phénotype CTX-M

bla SED-1



CUMA, FONA, OXY.....
(ampD, promoteur, ????)

A la recherche des Progéniteurs de CTX-M



K.georgiana

K. ascorbata

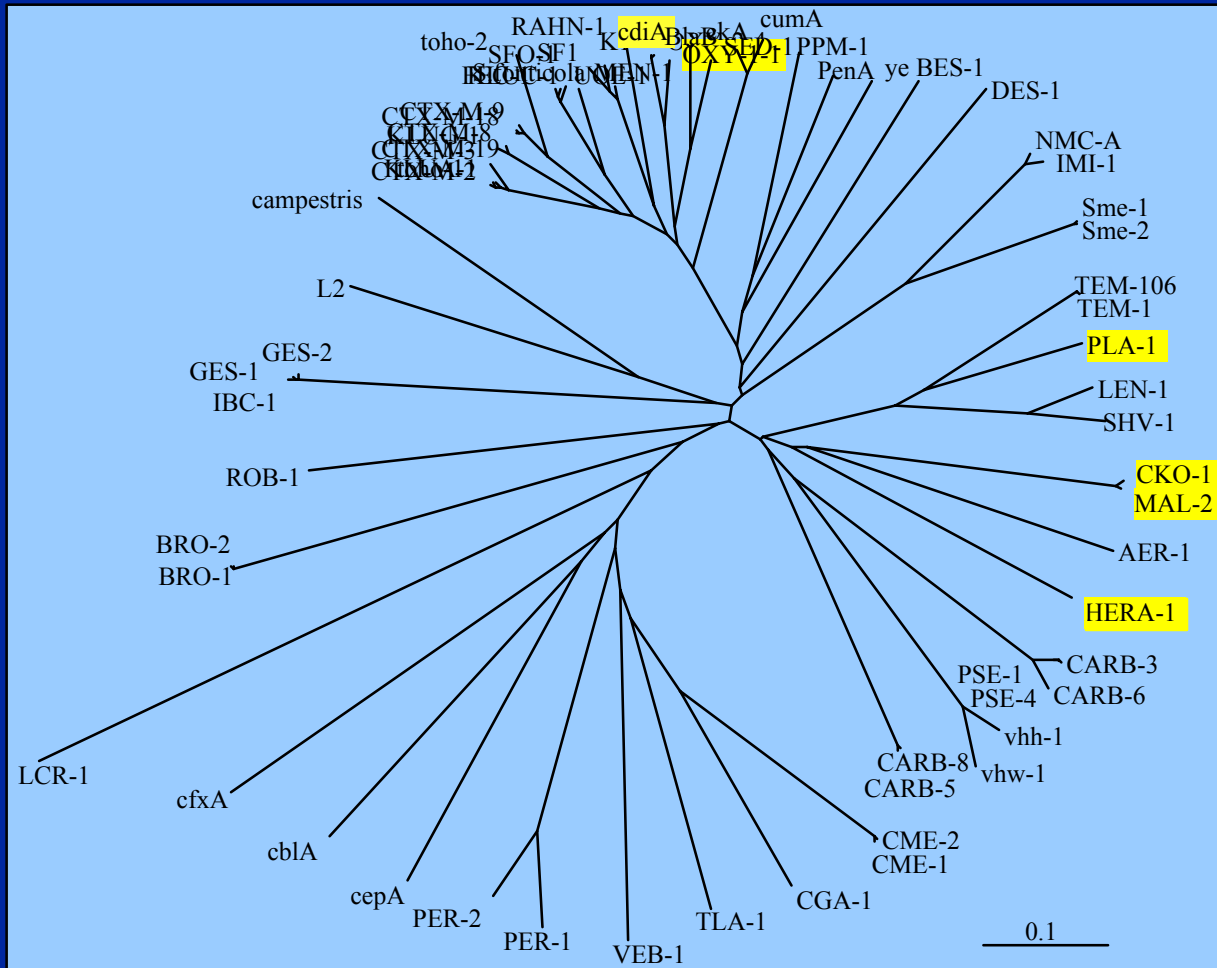
Dendrogramme par alignement des séquences en AA

Revue: Bonnet R. AAC, 2004

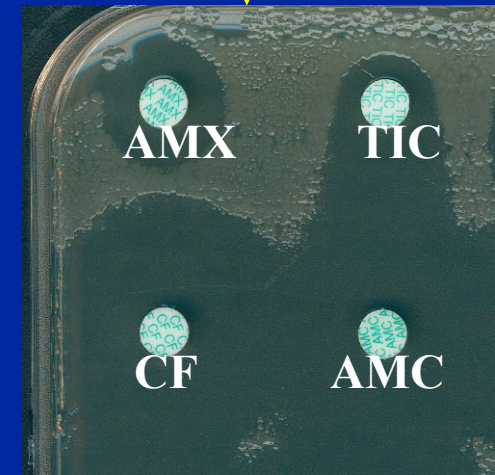
Nouvelles pénicillinases chromosomiques

EB Groupe 2

<i>C.koseri</i>	MAL-2 CKO-1
<i>K.oxytoca</i>	K1, OXY-3/4
<i>E.hermannii</i>	HERA-1
<i>K.planticola</i>	PLA-1
<i>K.ornitholytica</i>	ORN-1



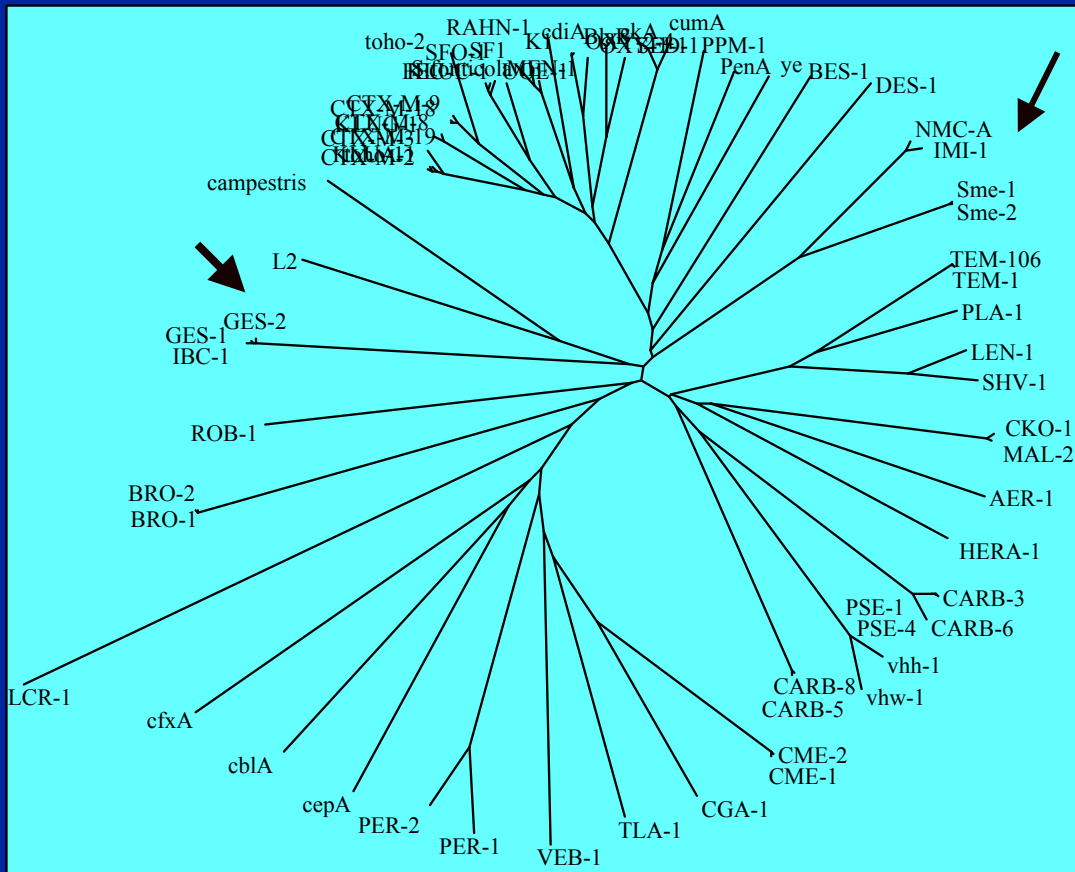
Dendrogramme par alignement des séquences en AA



Phénotype Pase bas niveau

Carbapénémases de la classe A

Toujours très rares - Diverses régions du globe



NMC-A	<i>E. cloacae</i>	France (1990)
SME-1	<i>S. marcescens</i>	Royaume Uni (1982)
SME-2	<i>S. marcescens</i>	Etats Unis
IMI-1	<i>E. cloacae</i>	Etats Unis (1984)
KPC-1	<i>K. pneumoniae</i>	Etats Unis (1996)
KPC-2	<i>Kp, Salmonella</i>	Etats Unis (1998)
GES-2	<i>P. aeruginosa</i>	Afrique du Sud (2000)

R (IMP, ATM) mais C3G S
R (IPM, ATM, C3G)

Expression phénotypique (CMI, mg/l)

β -lactam	<i>S. marcescens</i> S6	<i>S. marcescens</i> 4126	<i>E. cloacae</i> NOR-1	<i>E. cloacae</i> 1413 B
	Sme-1	Sme-2	NmcA	IMI-1
Ampicillin	512	512	256	512
Ticarcillin	64	>128	8	>128
Cefotaxime	0.25	-	0.25	1
Ceftazidime	0.5	0.5	0.5	2
Imipenem	<u>16</u>	<u>256</u>	<u>16</u>	<u>≥32</u>
Meropenem	0.25	64	2	4
Aztreonam	4	128	0.5	-

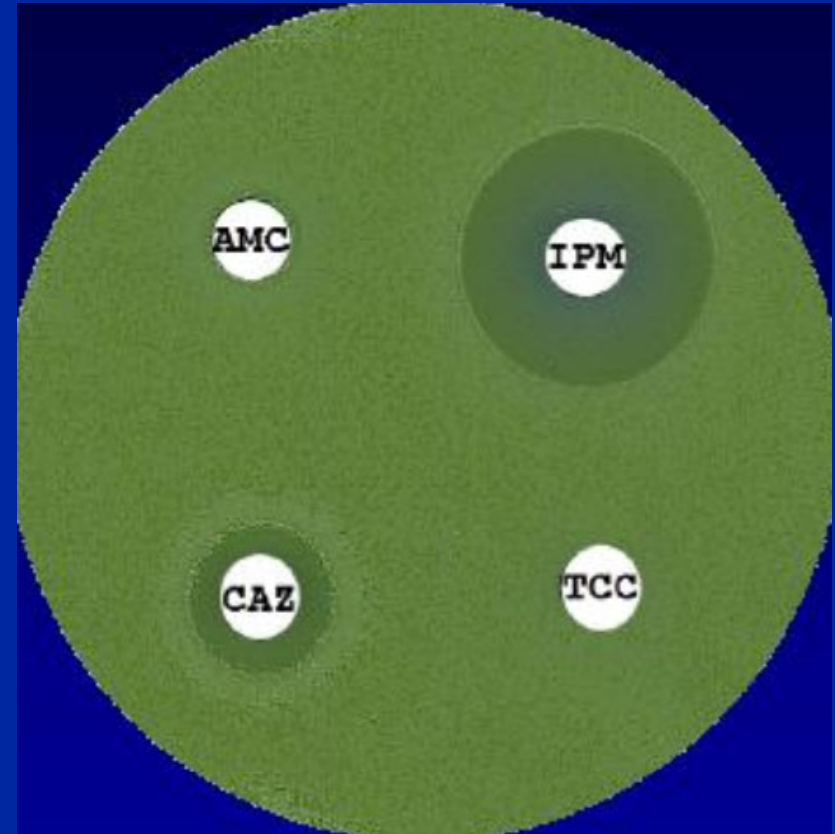
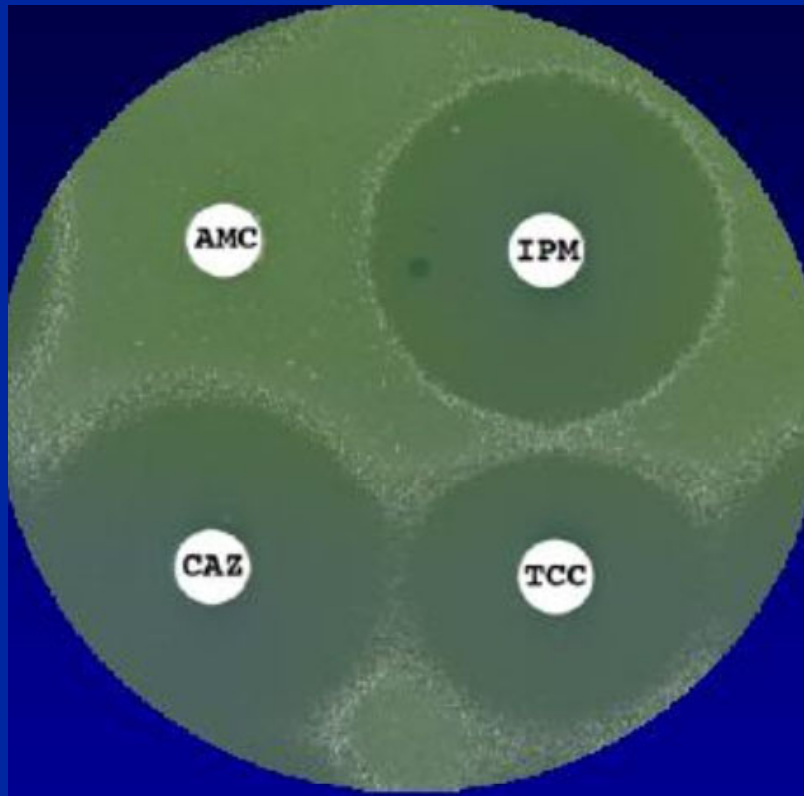
Expression phénotypique (CMI, mg/l)

β -lactam(s)	<i>P. aeruginosa</i> isolate (GES-2)	<i>E.coli</i> DH10B (GES-2)	<i>E. coli</i> DH10B (GES-1)
Piperacillin	64	8	64
Cephalothin	>512	32	256
Ceftazidime	16	8	128
Ceftazidime+Cla	16	0.5	8
Cefotaxime	128	1	4
Imipenem	16	0.25	0.06
Meropenem	2	0.06	0.06

P.aeruginosa: GES-2



GES-2: Transfert à *P.aeruginosa* PU21



BLA CLASSE B = Métallo-enzymes

Zn⁺⁺, inhibées par les chélateurs (EDTA)

Chromosomiques = bactéries de l'environnement

<i>S. maltophilia</i>	L-1
<i>C. indologenes</i>	IND
<i>C. meningosepticum</i>	blaB, GOB
<i>C. gleum</i>	CGB-1
<i>Myroides</i> sp.	MUS-1, TUS-1
<i>Aeromonas</i> sp.	CphA
<i>A. sobria</i>	ImiS
<i>L. germanii</i>	FEZ-1
<i>J. lividum</i>	THIN-B

Plasmidiques: IMP, VIM, SPM, GIM

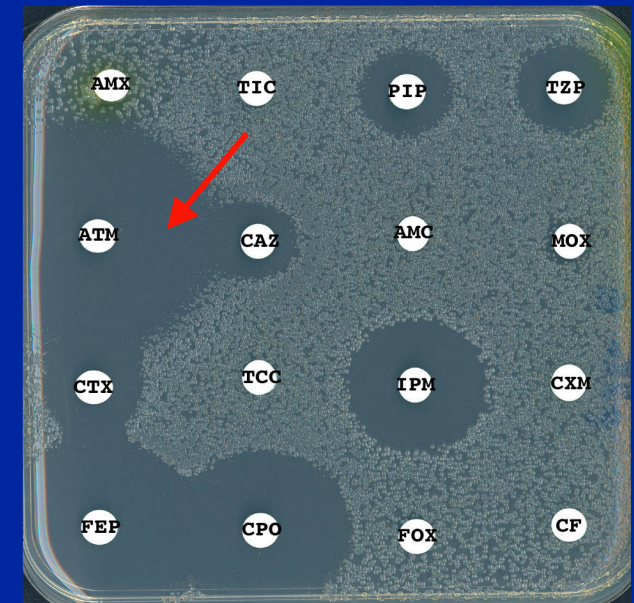
Nombreux GN

Résistance aux pénicillines, carbapénèmes,

C3G et céphamycines, **Synergie -**

ATM S

E. coli pVIM-1



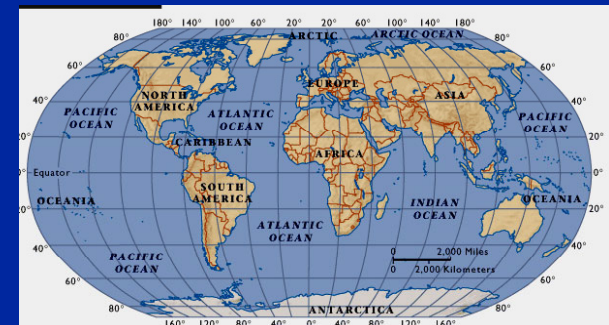
BLA PLASMIDIQUES CLASSE B

Enzyme	Espèce	Pays (isolement)
IMP-1	<i>S. marcescens</i>	Japon (>91)
	<i>P. aeruginosa</i>	Japon
	<i>A. xylosoxydans</i>	Japon
	<i>P. putida</i>	Japon
	<i>C. freundii</i>	Japon
	<i>K. pneumoniae</i>	Japon, Singapour(99)
	<i>A. baumannii</i>	Japon
	<i>P. stutzeri</i> , <i>P. putida</i>	Taiwan
	<i>A. junii</i>	Angleterre (00)
IMP-2	<i>A. baumannii</i>	<u>Italie</u> (97)
IMP-3	<i>S. flexneri</i>	Japon (96)
IMP-4	<i>Acinetobacter</i>	Hong-Kong (>94)
	<i>C. youngae</i>	Chine (98)
IMP-5	<i>A. baumannii</i>	Portugal (98)
IMP-6	<i>S. marcescens</i>	Japon (96)
IMP-7	<i>P. aeruginosa</i>	Canada (95)
		Malaisie (99)
IMP-8	<i>K. pneumoniae</i>	Taiwan (98)
IMP-9	<i>P. aeruginosa</i>	Chine (?)
IMP-10	<i>A. xylosoxydans</i>	Japon (00)
	<i>P. aeruginosa</i>	Japon (97)

Enzyme	Espèce	Pays (isolement)
VIM-1	<i>P. aeruginosa</i>	Italie (1997)
	<i>A. baumannii</i>	Italie (1997)
	<i>P. aeruginosa</i>	Grèce (1996)
	<i>E. coli</i>	Grèce (2001)
	<i>A. xylosoxydans</i>	Italie (1997)
VIM-2	<i>P. aeruginosa</i>	<u>France</u> (1996)
	<i>P. aeruginosa</i>	Grèce (1996)
	<i>P. aeruginosa</i>	Italie (1998)
	<i>S. marcescens</i>	Corée (2000)
	<i>A. baumannii</i>	Corée (1998)
	<i>P. putida stutzeri</i>	Taiwan (>1997)
VIM-3	<i>P. aeruginosa</i>	Taiwan (>1997)
VIM-4	<i>P. aeruginosa</i>	Grèce (2001)

SPM-1 *P. aeruginosa* Brésil (1997)

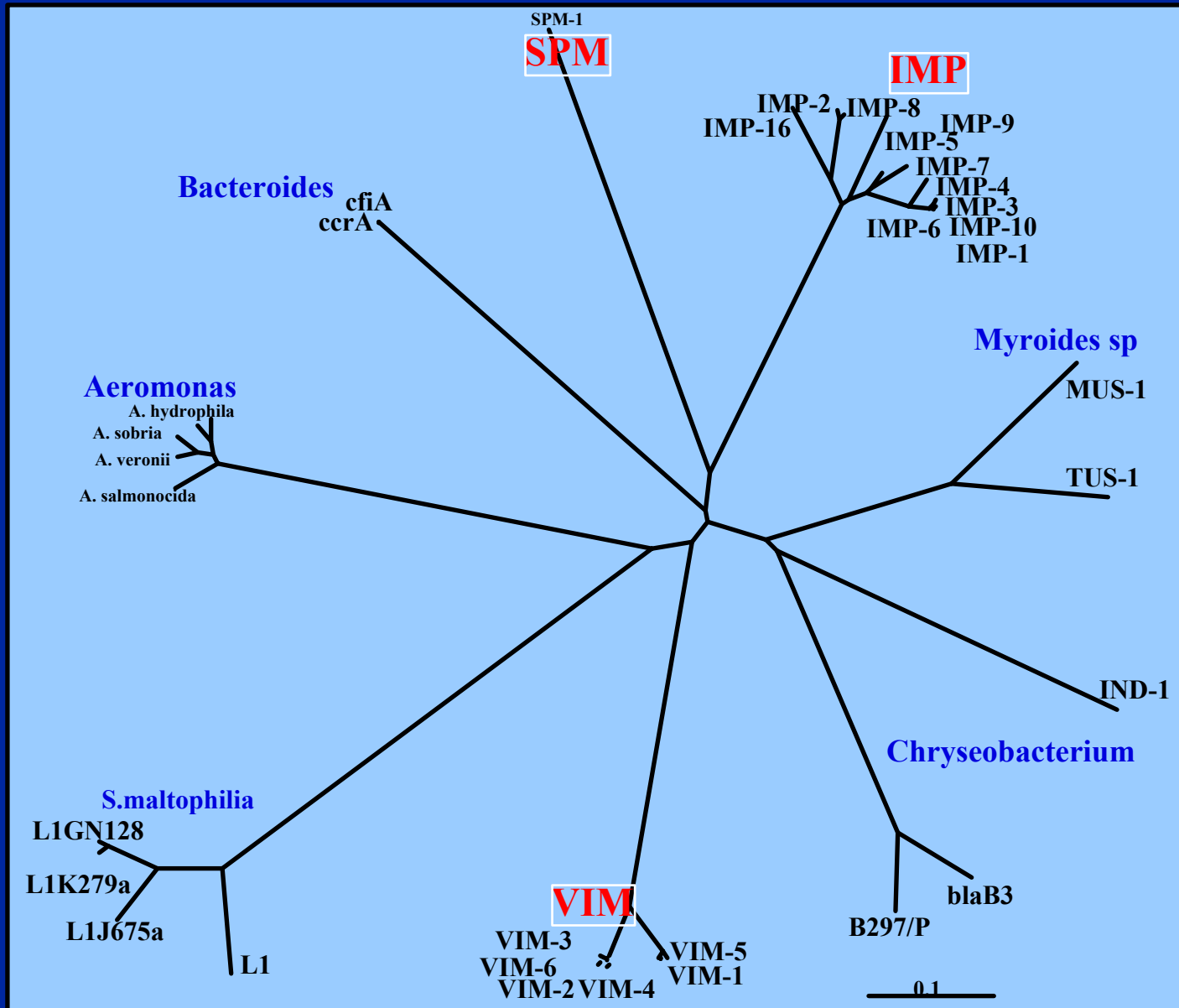
GIM-1 *P. aeruginosa* Allemagne(2003)



IMP-17, VIM-10 ?????

09/05/04

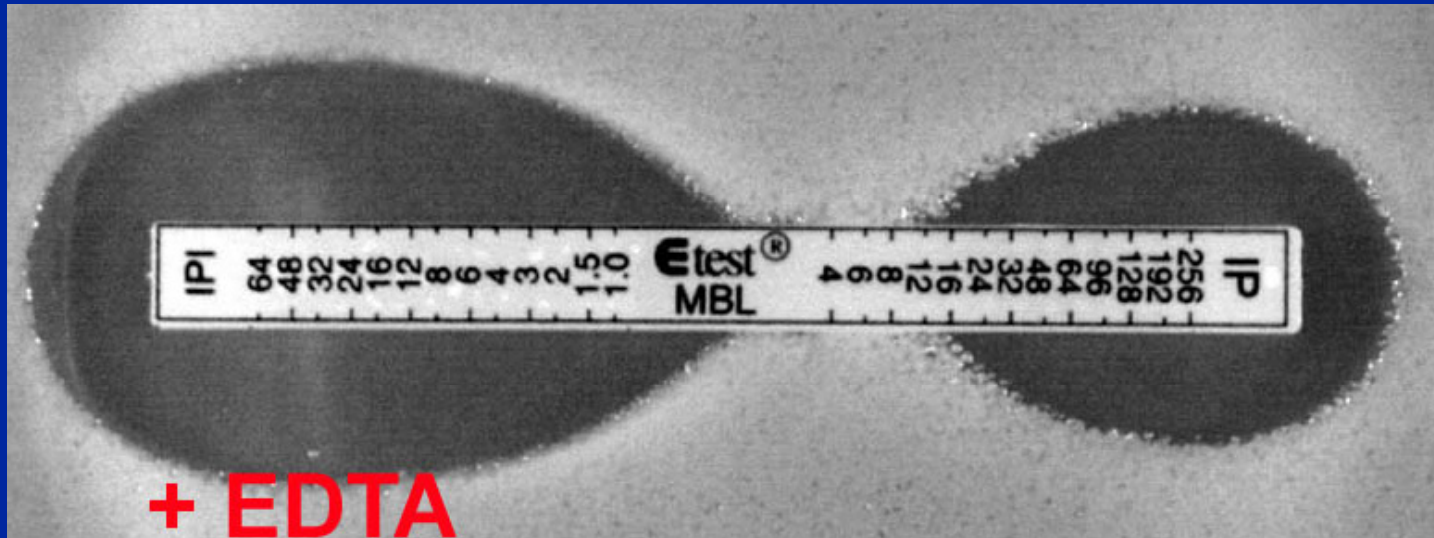
Classe B : Diversité et phylogénèse



Plasmidiques
Chromosomiques

Dendrogramme par alignement des séquences en AA

Détection en pratique

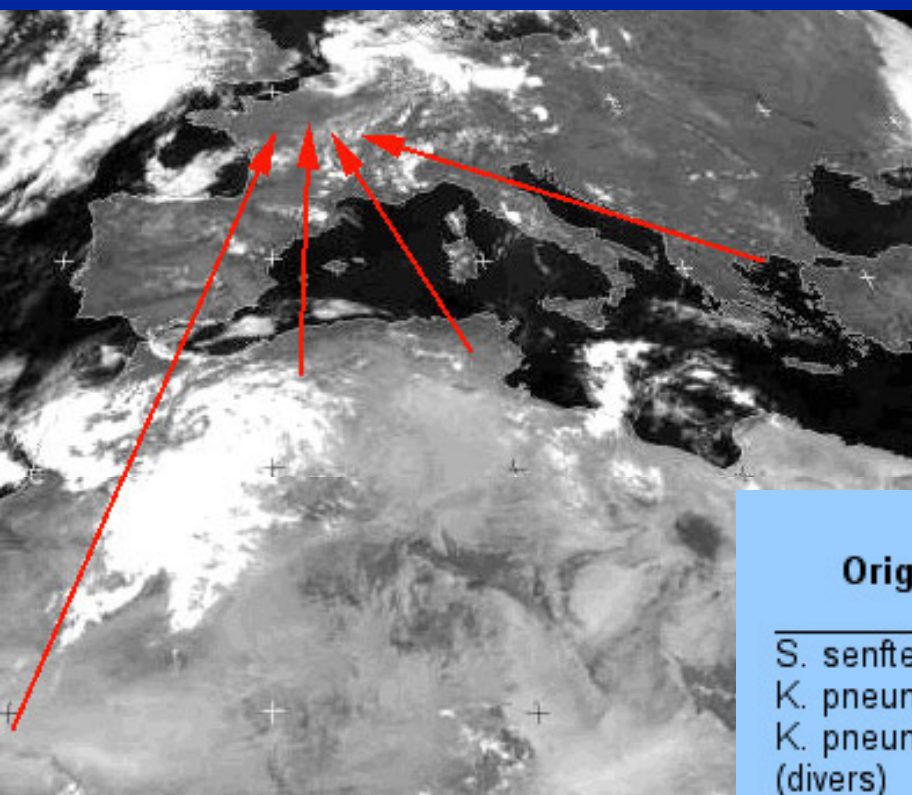


- 1/ Synergie de 2 log₂
- 2/ Faux négatifs

β-LACTAMASES PLASMIDIQUES CLASSE C (CASE)

Enzyme	Hôte	Pays (origine) (date isolement)			
MIR-1	<i>K. pneumoniae</i>	Etats Unis (1988)	FOX-1	<i>K. pneumoniae</i>	Argentine (1989)
ACT-1	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i>	Etats Unis (1994)	FOX-2	<i>E. coli</i>	Allemagne (Guatemala) (1993)
BIL-1	<i>E. coli</i>	UK (Pakistan) (1989)	FOX-3	<i>K. oxytoca</i> <i>K. pneu</i>	Italie (1994)
CMY-2	<i>K. pneumoniae</i>	Grèce (1990)	FOX-4	<i>E. coli</i>	Canaries (1998)
	<i>S. senftenberg</i>	France (Algérie) (1994)	FOX-5	<i>K. pneumoniae</i>	Etats Unis (1999)
	<i>Salmonella</i>	Etats Unis (1996)	CMY-1	<i>K. pneumoniae</i>	Corée (1989)
	<i>E. coli</i>	Lybie (1996)	CMY-8	<i>K. pneumoniae</i>	Taiwan (1998)
	<i>Salmonella</i>	Espagne (1999)	CMY-9	<i>E. coli</i>	Japon (1995)
	<i>Salmonella</i>	Roumanie (2000)	CMY-10	<i>E. aerogenes</i>	Corée (1999)
LAT-1	<i>K. pneumoniae</i>	Grèce (1993)	CMY-11	<i>E. coli</i>	Corée (1998)
LAT-2	<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. coli</i> , <i>E. aerogenes</i>	Grèce (1994)	MOX-1	<i>K. pneumoniae</i>	Japon (1991)
CMY-3	<i>P. mirabilis</i>	France (1998)	MOX-2	<i>K. pneumoniae</i>	France (1999)
CMY-4	<i>P. mirabilis</i>	Tunisie (1996)			
	<i>E. coli</i>	Royaume uni (1999)			
	<i>K. pneumoniae</i>	Suede (Inde) (1998)			
CMY-5	<i>K. oxytoca</i>	Suède (1988)			
CMY-7	<i>E. coli</i>	Inde			
DHA-1	<i>Salmonella enteritidis</i>	Arabie saoudite (1992)			
	<i>K. pneumoniae</i>	Taiwan (1999)			
		Etats-Unis (1996-2000)			
DHA-2	<i>K. pneumoniae</i>	France (1992)			
ACC-1	<i>K. pneumoniae</i>	Allemagne (1997)			
	<i>K. pneumoniae</i>	France (Tunisie) (1998)			
	<i>P. mirabilis</i>	Tunisie (1997)			
	<i>K. pneumoniae</i>	Tunisie (1999)			
	<i>Salmonella livingstone</i>	Tunisie (2000)			





Origine des AmpC plasmidiques isolées à Paris depuis 1990

S. senftenberg (selles)	CMY-2b	Algérie
K. pneumoniae (ECBU)	MOX-2	Grèce
K. pneumoniae, P. mirabilis, E. coli (divers)	ACC-1	Tunisie (2 hôpitaux)
K. pneumoniae (urines)	CMY-2	Paris, France
K. pneumoniae (urines)	CMY-4	Le Caire, Egypte
P. mirabilis (Bile)	CMY-4	Athènes, Grèce
P. mirabilis (selles)	CMY-4	Athènes, Grèce
P. mirabilis (urines, cathéter)	CMY-X	Constantine, Algérie
S. agona (selles)	CMY-2	Abidjan, Côte d'Ivoire

Decré D., Verdet C., Raskine L., Blanchard H., Burghoffer B., Philippon A., Sanson-Le-Pors M.J., Petit J.C., Arlet G. Characterization of CMY-type β -lactamases in clinical strains of *Proteus mirabilis* and *Klebsiella pneumoniae* isolated in four hospitals in the Paris area, J. Antimicrob. Chemother. 50 (2002) 681-688.

CLINICAL FEATURES

- Nosocomial strains, mainly *K. pneumoniae*
- From hospitalised or re-hospitalized patients
(since several weeks, even months)
- In ICU, surgery, oncology.....
- Specimens : urine (> 50%), sputum, wounds, stools
- Multiresistant strains : β -lactams + aminoglycosides...
- Some outbreaks in USA: MIR-1,ACT-1
- Selection pressure: 3-G cephalosporins
cephamycins (cefoxitin, cefotetan)

Same as for ESBL

K.pneumoniae : MICs ($\mu\text{g/ml}$) of various β -lactams

		ESBL		AmpC
Amoxicillin	32	>256	>256	>256
+CA	2	2	2	>256 *
Ticarcillin	32	>256	>256	>256
+ CA	2	2	2	>256 *
Piperacillin	4	128	128	128
+ TZ	2	2	2	128 *
Mecillinam	0.1	32	16	0.1
Cephalothin	2	>32	>32	>32 *
Cefuroxime	0.5	32	32	>32 *
Cefoxitin	2	2	2	>32 *
Cefotaxime	0.03	8	8	16 *
Ceftazidime	0.12	8	0.12	64 *
Aztreonam	0.03	8	8	8 *
Cefepime	0.03	0.5	0.03	0.03 *
Imipenem	0.5	0.5	0.5	0.5

Sauf ACC-1

Expression(s) phénotypique(s) (CMI, mg/l)

BLSE résistantes aux inhibiteurs + céphamycines.

Bla	Hôte	FOX	CTX	CAZ	FEP	ATM	IMP
MIR-1	K. pneumoniae	>256	64	128	1	128	1
ACT-1	K. pneumoniae	>128	32	128	4	32	8
CMY-2	K. pneumoniae	512	32	128	0,5	64	0,5
	Salmonella	64 4	32	<0,12	2	0,5	
CMY-4	P. mirabilis	16	32	8	<0,12	4	1
DHA-1	Salmonella	512	≥64	≥64	2	4	1
DHA-2	K. pneumoniae	128	32	256	0,12	32	0,25
ACC-1	K. pneumoniae **	8	8	32	0,25	2	0,1
FOX-3	K. oxytoca**	64	1	16	0,12		0,12
FOX-4	E. coli**	512	32	128	1	16	0,12
FOX-5	K. pneumoniae**	512	16	64	0,5	8	0,25
CMY-1	K. pneumoniae	512	128	4	0,5	32	0,25
CMY-9	E. coli	>128	>128	128	4	64	32
MOX-1	K. pneumoniae	>512	512	64		32	0,5
MOX-2	K. pneumoniae***	1024	8	256	4		0,12

Porine -

** +TEM-1 *** +TEM-1 + SHV-5

FOX, céfoxitine; CTX, céfotaxime; CAZ, ceftazidime; FEP, céfépime; ATM, aztréonam, IMP, imipénème

Expression(s) phénotypique(s) (CMI, mg/l)



DHA-1

1/ TIC: non contact

2/ CAZ R

3/ O Synergie avec AC

4/ Induction

5/ MEC S, CEF S

S. enterica, K. pneumoniae

Verdet C. et al. AAC, 1998

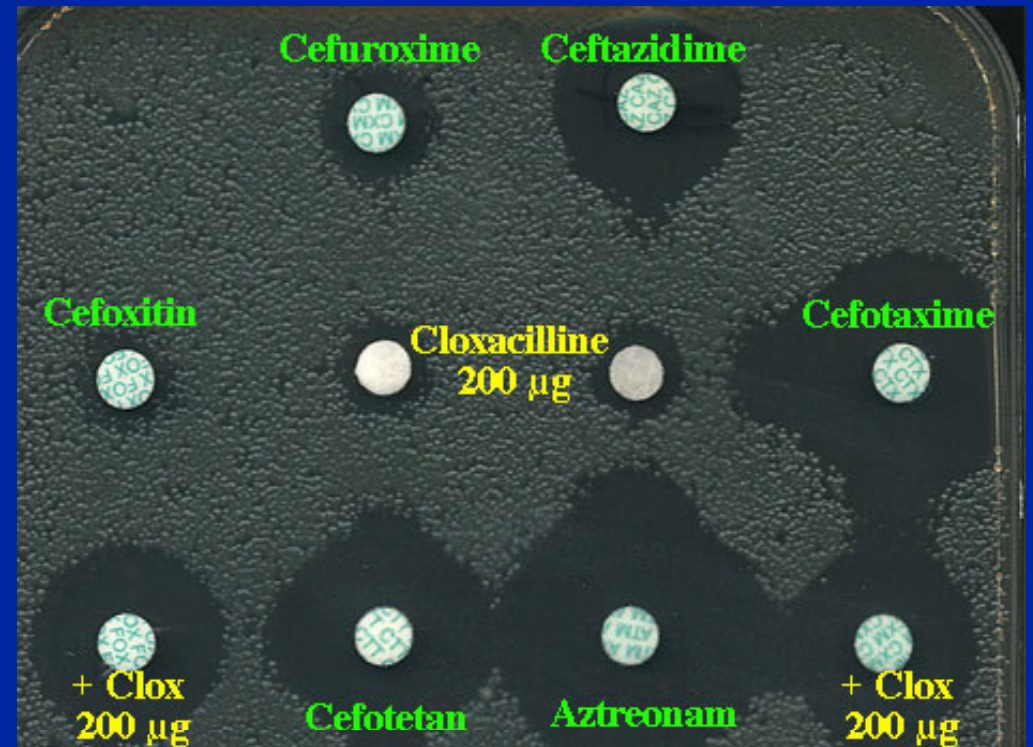
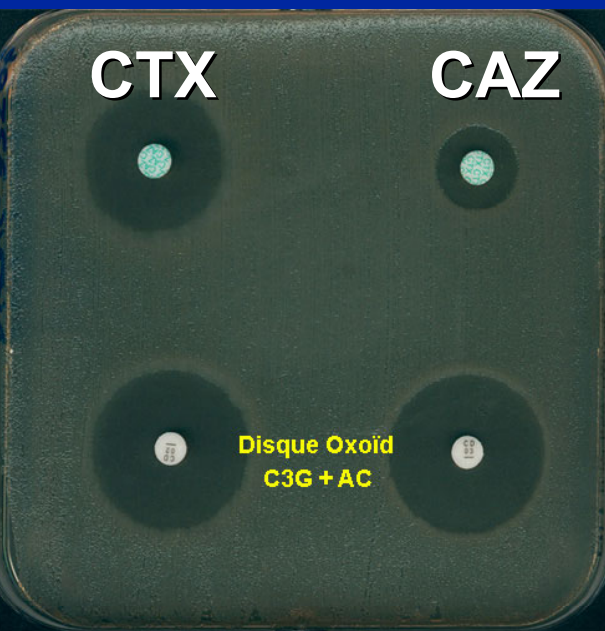
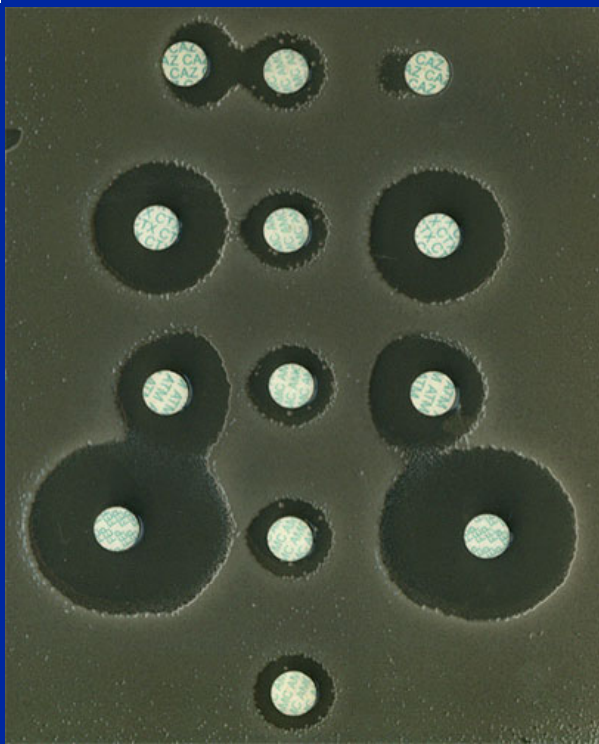
Cumul des mandats !!!

Armand-Lefèvre L., Leflon-Guibout V., Bredin J., Barguelli F., Amor A., Pagès J.M., Nicolas-Chanoine M.H. Imipenem resistance in *Salmonella enterica* serovar wien related to porin loss and CMY-4 β -Lactamase production, Antimicrob. Agents Chemother. 47 (2003) 1165-1168.

	Journal of Antimicrobial Chemotherapy HOM J. M. Rodriguez-Martinez, A. Pascual, I. Garcia, and L. Martinez-Martinez Detection of the plasmid-mediated quinolone resistance determinant qnr among clinical isolates of <i>Klebsiella pneumoniae</i> producing AmpC-type β-lactamase J. Antimicrob. Chemother., October 1, 2003; 52(4): 703 - 706. [Abstract] [Full Text] [PDF]
	Antimicrobial Agents and Chemotherapy HOM M. Wang, J. H. Tran, G. A. Jacoby, Y. Zhang, F. Wang, and D. C. Hooper Plasmid-Mediated Quinolone Resistance in Clinical Isolates of <i>Escherichia coli</i> from Shanghai, China Antimicrob. Agents Chemother., July 1, 2003; 47(7): 2242 - 2248.

Détection phénotypique

Addition de mécanismes !!!!!



Quels progéniteurs ?

groupe CMY-2, CFE-1
(*C. freundii*)

groupe DHA-1 (*M. morganii*)

groupe FOX-1 (*A. caviae*)

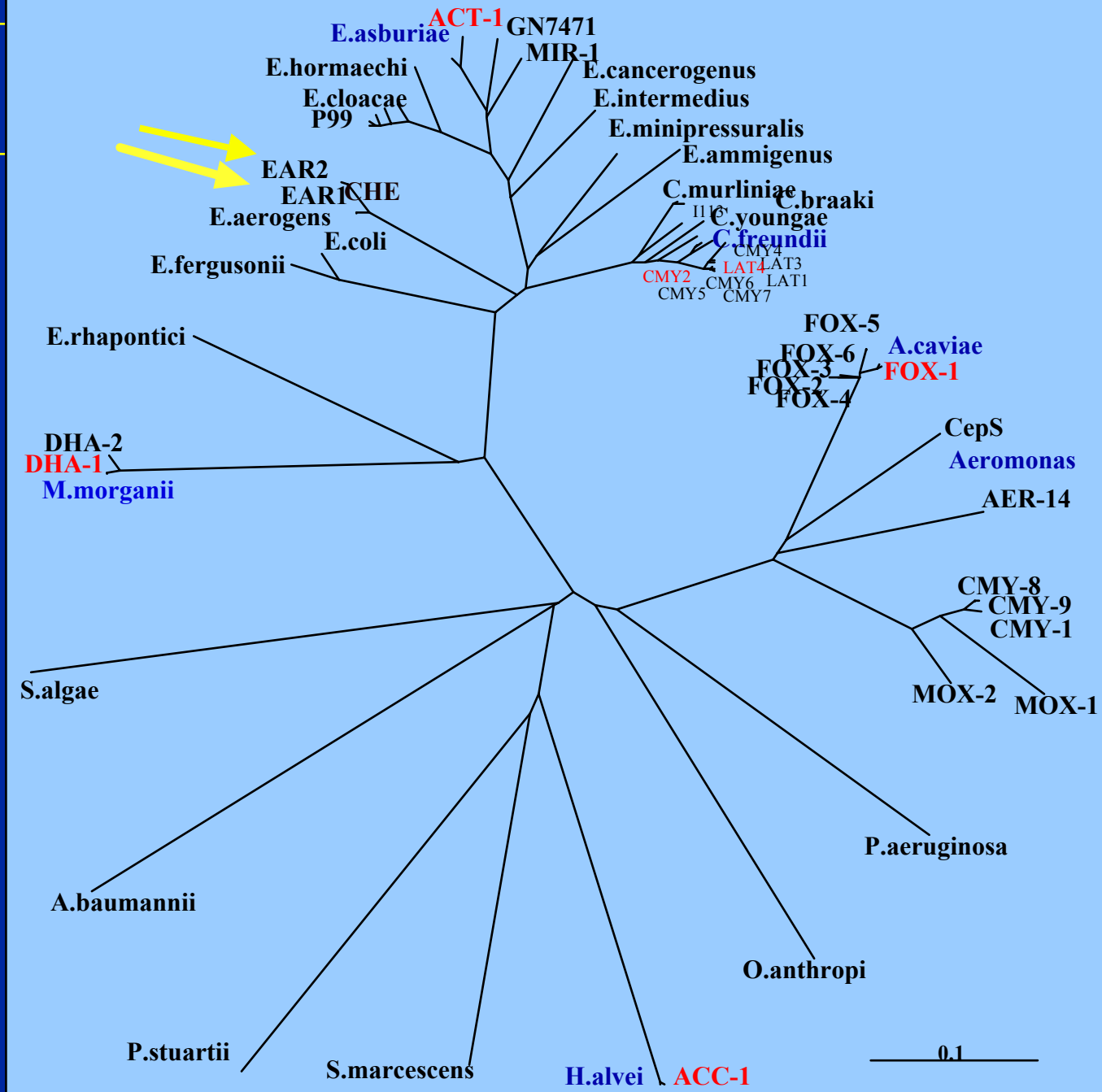
ACT-1 (*E. asburiae*)

ACC-1 (*H. alvei*)

O. urethralis (Acinetobacter)

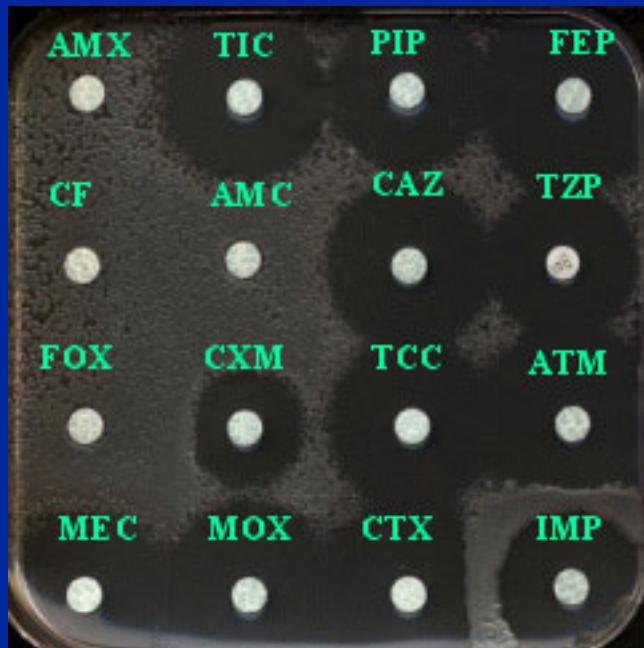
Bactéries de
l'environnement ?

Régulation *ampR*, *ampD*

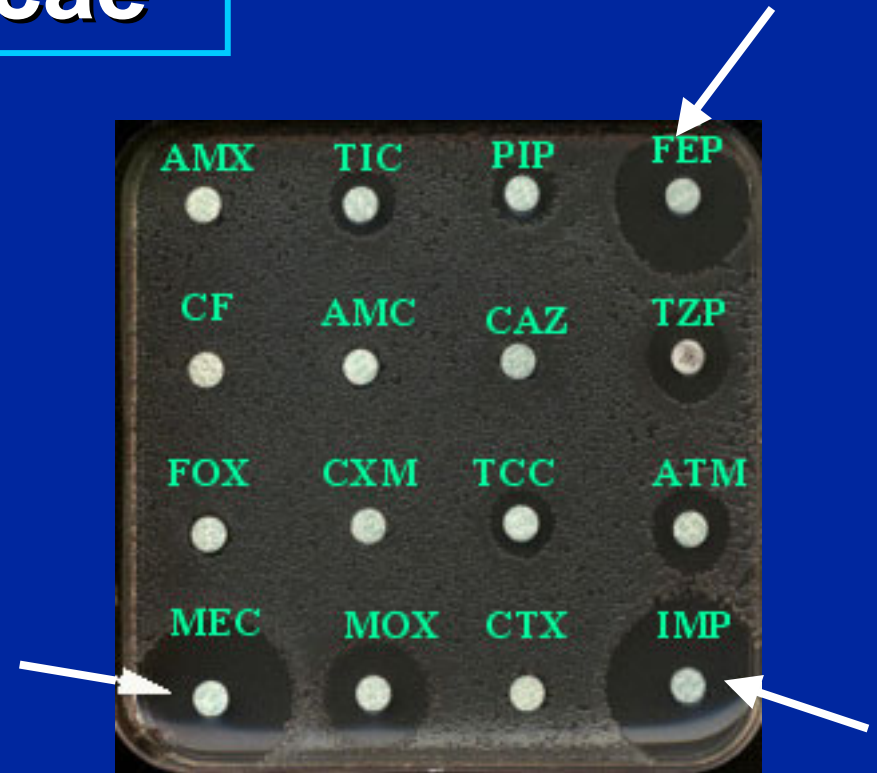


Céphalosporinases chromosomiques hyperproduites

E.cloacae



Avant



Après
Mutant *ampD*

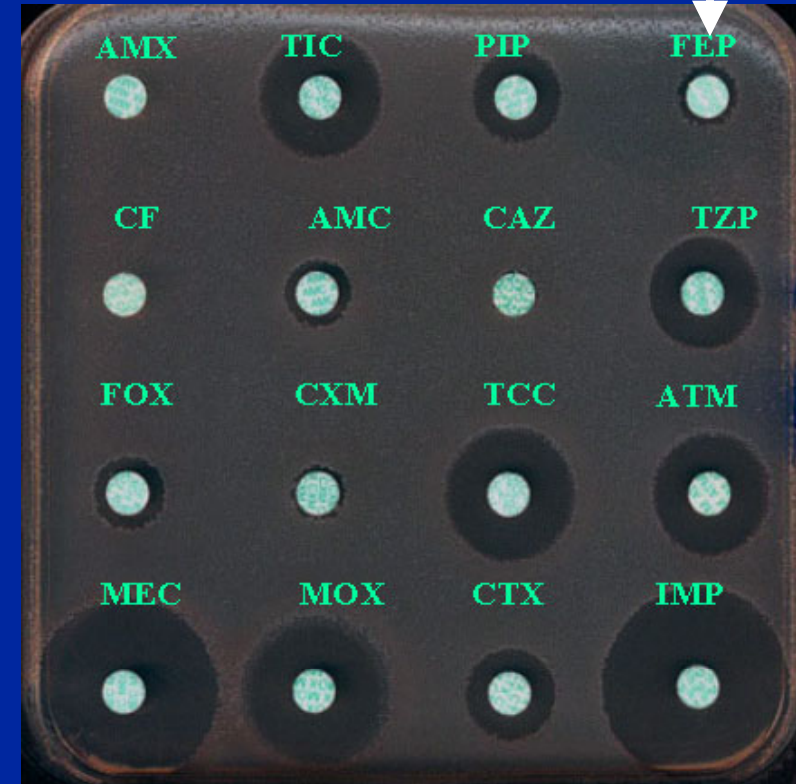
Céphalosporinases chromosomiques (AmpC) à « spectre élargi »

E.cloacae



Avant

« C4G »
C3G



Après

AmpC chromosomiques à spectre élargi

E. cloacae HP : Modification de l'alpha-hélice 10 par délétion de 18 b

OU Dhyp	VEANTVIEGSD	SKVALA	PLPVAVVNPPAPPVEASWVHKTGSTGGFGS
CHE	VEANTVVEGSD	-----	PLPVVVVNPPAPPVKASWVHKTGSTGGFGS
MHN1	VEANTVVEGSD	SKVALA	PLPVAVVNPPAPPVKASWVHKTGSTGGFGS
Morosini	VEANTVVEGSD	SKVALA	PLPVAE VNPPAPPVKASWVHKTGSTGGFGS
P99	VEANTVVEGSD	SKVALA	PLPVAVVNPPAPPVKASWVHKTGSTGGFGS
Vakulenko	VEANTVVEGSD	SKVAPA	PLPVAVVNPPAPPVKASWVHKTGSTGGFGS
GC1	VEANTVVEGSD	SKVALA	PLPVAVVNPPAPPVKASWVHKTGSTGGFGS
Q908R	VEANTVVEGSD	SKVALA	PLPVVVVNPPAPPVKASWVHKTGSTGGFGS

S.marcescens HD : délétion de 12 b

Barnaud, G. et al. FEMS Microbiol. Lett. 2001 Manneri H. et al. AAC 2004

AmpC chromosomiques à « spectre élargi »

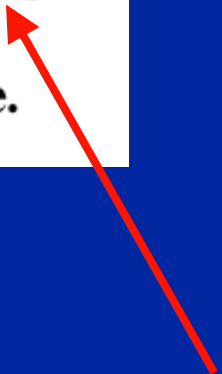
E. aerogenes AER 1 HP : mutation ponctuelle L-293-P

1	EAR0	QLAQSR YWRAGEMYQGLGWEMLNWPVPAE VVINGS DNKVALAATPVTAVN
2	EAR2	QLAQSR YWRAGEMYQGLGWEMLNWPVSPEVLINGS DNKVAPAAATPVTAVK
3	EAR1	QLAQSR YWRAGEMYQGLGWEMLNWPVSPEVLINGS DNKVALAATPVTAVK
4	CF379	QLAQSR YWRAGEMYQGLGWEMLNWPVPAE VVINGS DNKVALAATPVTAVN
5	CF351	QLAQSR YWRFV GEMYQGLGWEMLNWPVSAEVLINGS DNKVALAATPVTAVN
6	CF302	QLAQSR YWRAGGMYQGLGWEMLNWPVSAE VVINGS DNKVALAATPVTAVK
7	CF298	QLAQSR YWRAGEMYQGLGWEMLNWPVSAGVLINGS DNKVALAATPLTAVK
8	CF293	QLAQSR YWRAGEMYQGLGWEMLNWPVPAE VVINGS DNKVALAATPVTAVN
9	CF288	HLAQSR YWRAGEMYQGLGWEMLNWPVSAEVLINGS DNKVALAATPVTAVN
10	CF286	QLAQSR YWRAGEMYQGLGWEMLNWPVPAE VVINGS DNKVALAATPVTAVN
11	CF153	QLAQSR YWRAGEMYQGLGWEMLNWPVPAE VVINGS DNKVALAATPVTAVN

Barnaud, G. et al. AAC, 2003

AmpC chromosomique à « spectre élargi »

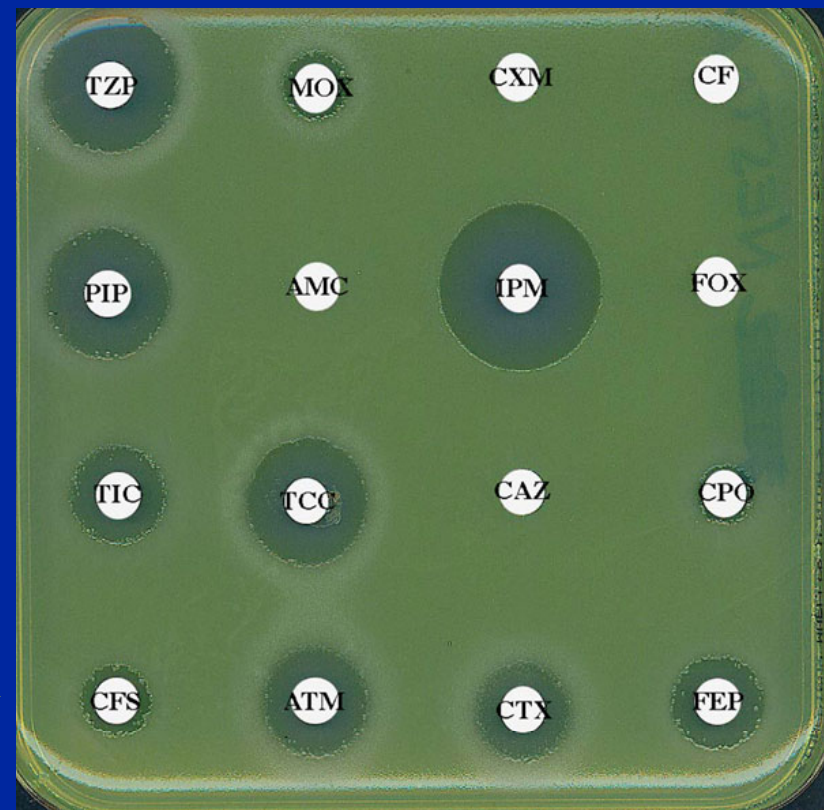
Resistance to ceftazidime associated to a S-220-Y substitution in the omega loop of the AmpC β -lactamase of a *Serratia marcescens* clinical isolate.



Hidri. N et al. AAC In press

β-LACTAMASES CLASSE D = OXACILLINASES

Enzyme	hôte	Pays d'isolement (date)
OXA-1	<i>E. coli</i>	
OXA-30	<i>S. flexneri</i>	Hong Kong (1994)
OXA-31	<i>P. aeruginosa</i>	France (1999)
OXA-2	<i>S. typhimurium</i>	
OXA-15	<i>P. aeruginosa</i>	Turquie (1992)
OXA-32	<i>P. aeruginosa</i>	France (1999)
OXA-10 (PSE-2)	<i>P. aeruginosa</i>	Etats Unis (<1980)
OXA-11	<i>P. aeruginosa</i>	Turquie (1991)
OXA-14	<i>P. aeruginosa</i>	Turquie (1991)
OXA-16	<i>P. aeruginosa</i>	Turquie (1993)
OXA-17	<i>P. aeruginosa</i>	Turquie (1992)
OXA-13	<i>P. aeruginosa</i>	France (1990)
OXA-19	<i>P. aeruginosa</i>	France (1991)
OXA-28	<i>P. aeruginosa</i>	France (1999)
OXA-18	<i>P. aeruginosa</i>	France (Sicile) (1995)
OXA-23 (ARI-1)	<i>A. baumannii</i>	Royaume Uni (1985)
	<i>P. mirabilis</i>	France (1996)
OXA-27	<i>Acinetobacter</i> spp.	Singapour (1995-1997)
OXA-24	<i>A. baumannii</i>	Espagne (1997)
OXA-25	<i>Acinetobacter</i> spp.	Espagne (1995-1997)
OXA-26	<i>Acinetobacter</i> spp.	Belgique (1995-1997)
OXA-40	<i>A. baumannii</i>	France (Portugal) (2001)
	<i>A. baumannii</i>	Espagne (1998)



OXA-57 ?????

09.05.04

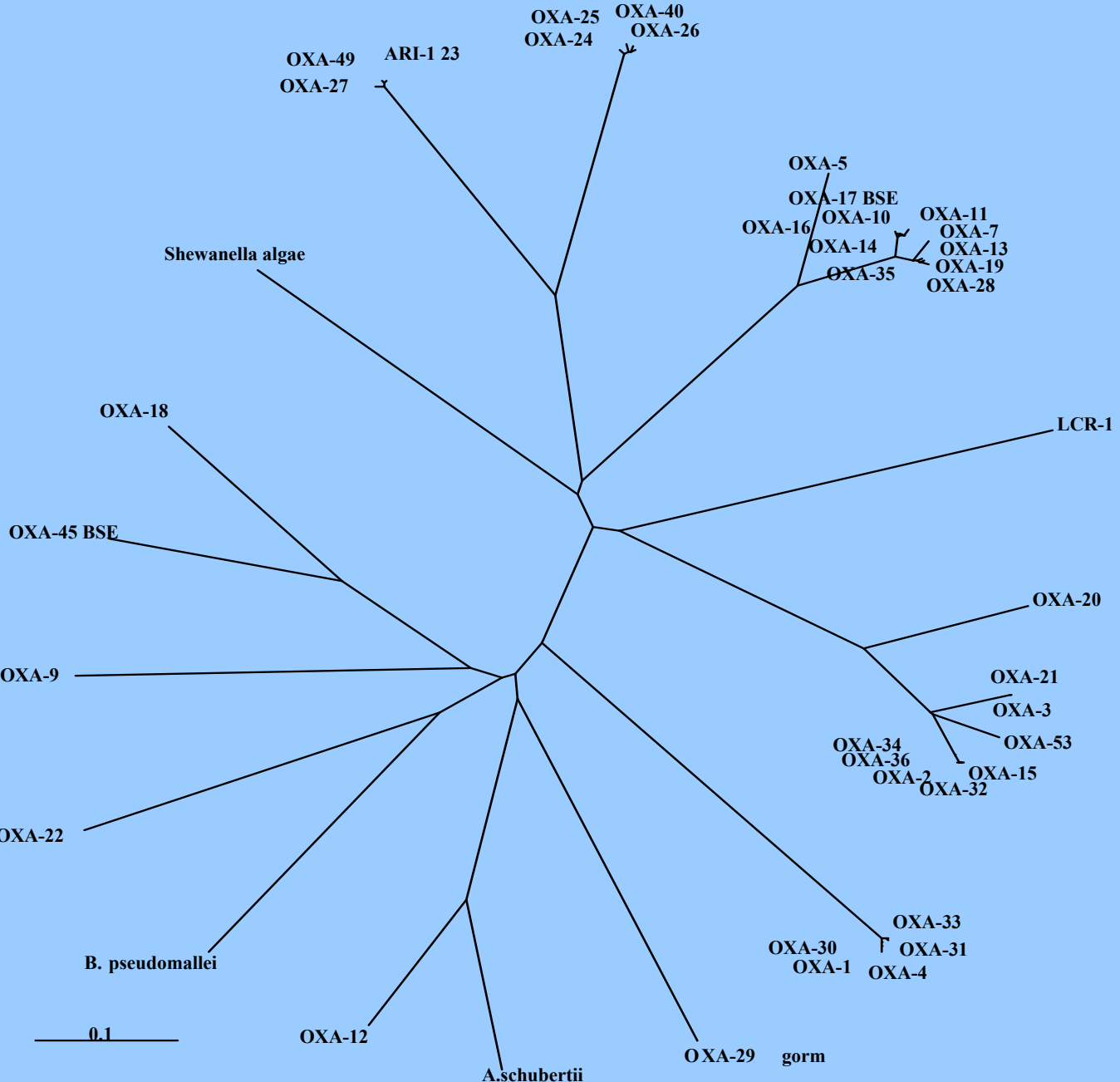
1/ OXA = BLSE
2/ OXA = IMP-R

Expressions phénotypiques (CMI, mg/l)

Bla	Hôte	TIC	TCC	PIP	TAZ	CAZ	FEP	ATM	IPM
OXA-1	E. coli	512	256	128		0,25	1	0,12	0,5
OXA-30	S. flexnerii					0,06		0,06	0,12
OXA-31	P. aeruginosa	512	512	256	256	2	256	8	2
OXA-2	P. aeruginosa	128	64	32	4	16	2	2	4
OXA-15	P. aeruginosa	128	64	32	8	128	4	8	2
OXA-32	P. aeruginosa	256	64	32	16	128	8	32	4
OXA-10	P. aeruginosa	512		64		2	4	16	2
OXA-11	P. aeruginosa	512		64		512	4	128	2
OXA-14	P. aeruginosa	512	256	64	32	512	64	16	2
OXA-16	P. aeruginosa	128	64	32	16	128	32	4	1
OXA-13	P. aeruginosa	256	256	32	32	2		8	1
OXA-19	P. aeruginosa	256	256	64	64	256		16	1
OXA-28	P. aeruginosa	128	128	16	16	256	16	32	0,25
OXA-18	P. aeruginosa	256	64	64	32	128	16	256	2
OXA-27	A. baumannii			>128		>128	16	32	16
OXA-24	A. baumannii	>512				>256	256	>256	128
OXA-25	A. baumannii			>128		>128	>128	>128	64
OXA-26	A. baumannii			>128		>128	8	128	64
OXA-40	A. baumannii	512	512	512	512	512	64	128	256

TIC, ticarcilline, TCC, ticarcilline + ac. clavulanique; PIP, pipéracilline; TAZ, pipéracilline + tazobactam; CAZ, ceftazidime; FEP, céfépime; ATM, aztréonam, IMP, imipénème.

Diversité des séquences AA



.Plasmidiques

.Chromosomiques

B. pseudomallei

R. pickettii

Aeromonas sp.

Shewanella sp.

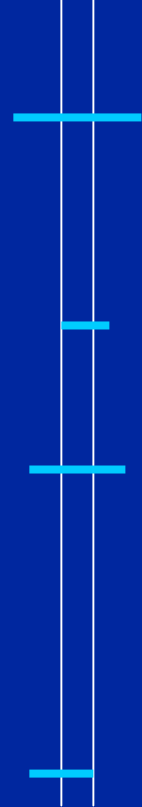
P. aeruginosa (OXA 50)

Dendrogramme par alignement des séquences en AA

Modèles d'intégration



Plasmide

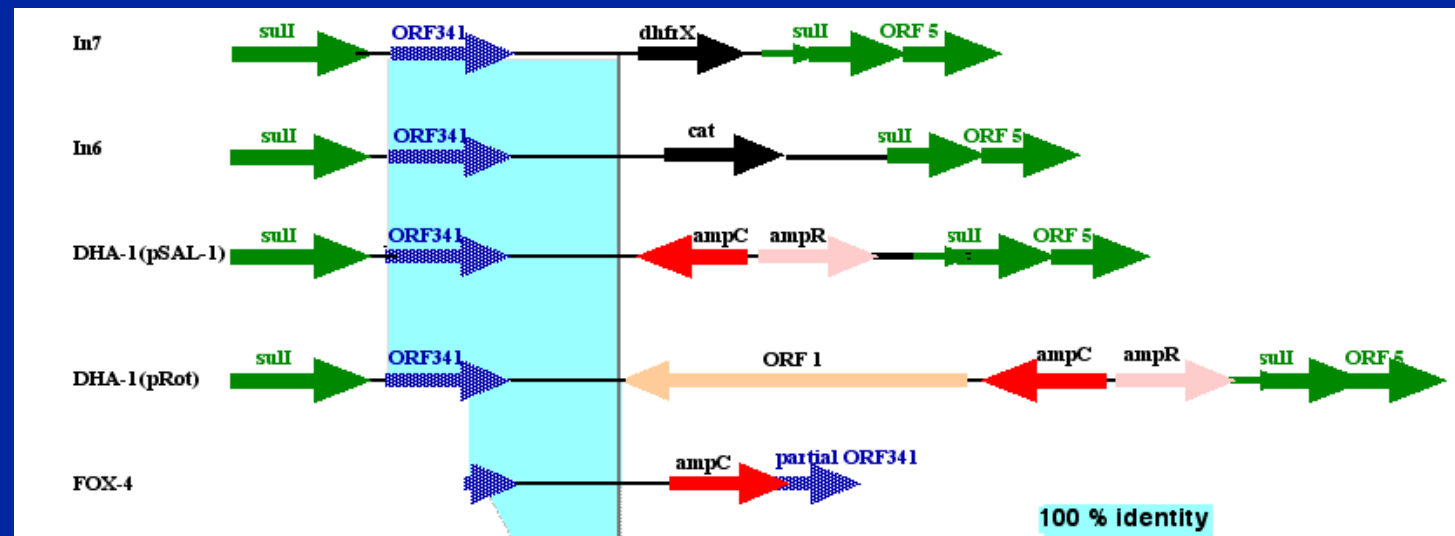
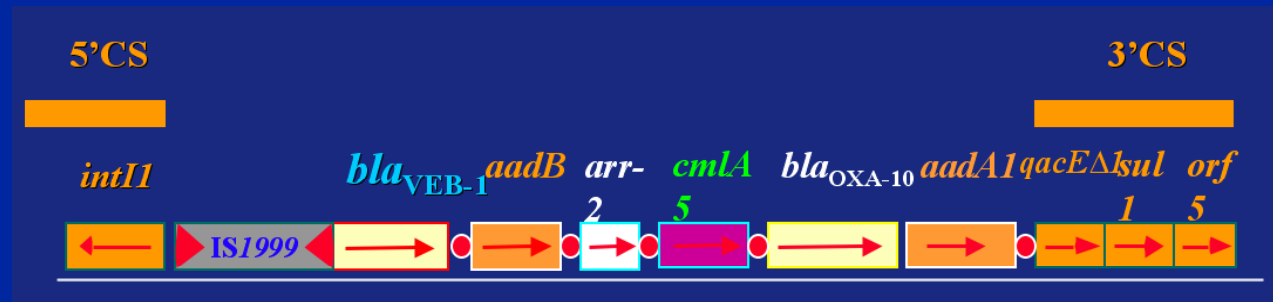
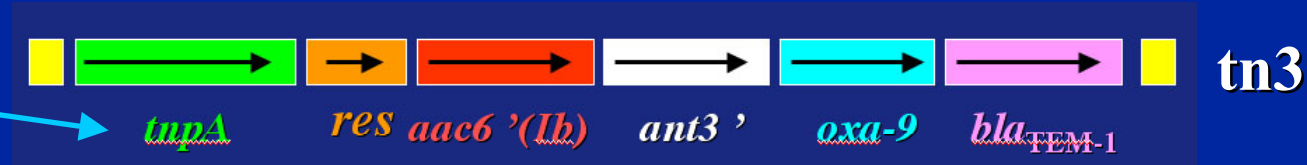


Transposon

Gène cassette

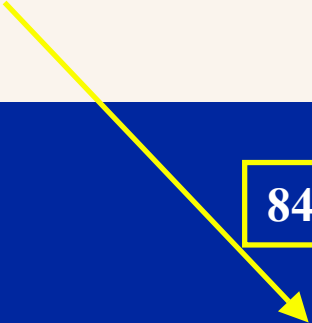
Intégron

CR (recombinases)



Perspectives: La génomique

AUTHORS	Heidelberg JF, Paulsen IT, Nelson KE, Gaidos EJ, Nelson WC, Read TD, Eisen JA, Seshadri R, Ward N, Methe B, Clayton RA, Meyer T, Tsapin A, Scott J, Beanan M, Brinkac L, Daugherty S, DeBoy RT, Dodson RJ, Durkin AS, Haft DH, Kolonay JF, Madupu R, Peterson JD, Umayam LA, White O, Wolf AM, Vamathevan J, Weidman J, Impraim M, Lee K, Berry K, Lee C, Mueller J, Khouri H, Gill J, Utterback TR, McDonald LA, Feldblyum TV, Smith HO, Venter JC, Neilson KH, Fraser CM.
TITLE	Genome sequence of the dissimilatory metal ion-reducing bacterium <u>Shewanella oneidensis</u> .
JOURNAL	Nat Biotechnol 20:1118-23 (2002) [UI: 22297686]
CHROMOSOME	Circular
SEQUENCE	GB: AE014299
LENGTH	4969803



84% *blaOXA*

OXA-54 : 92% OXA-48

Shewanella sp. : progéniteur des OXA donnant la résistance à l'imipénème ?????

CONCLUSIONS

- Principal mécanisme de résistance aux β -lactamines
- Extraordinaire diversité (> 350)
- Enzymes : distribution/spécialisation selon pays
- Formidable potentiel évolutif (gènes) :
 - structure
 - régulation (g.silencieux)
- Gène mobilisé

Utilisation raisonnée des β -lactamines