



# LES NOUVELLES BETA-LACTAMASES A SPECTRE ETENDU (BLSE)

## Vincent Cattoir

Service de Bactériologie-Virologie-Hygiène, CHU Mondor, AP-HP, Faculté de Médecine de Créteil, Université Paris XII, Créteil, France

Service de Bactériologie-Virologie, Unité INSERM U914, CHU Bicêtre, AP-HP, Faculté de Médecine de Paris-Sud, Université Paris XI, Le Kremlin Bicêtre, France

## INTRODUCTION

Les  $\beta$ -lactamines constituent une famille majeure d'antibiotiques très largement utilisés en clinique. Ces molécules agissent en inhibant la synthèse de la paroi bactérienne par fixation aux protéines liant les pénicillines (PLP), enzymes impliquées dans la synthèse du peptidoglycane. Chez les bacilles à Gram négatif (BGN), il existe 3 types de mécanismes de résistance aux  $\beta$ -lactamines : la faible affinité pour les PLP, les phénomènes d'imperméabilité et d'efflux, et surtout l'inactivation enzymatique par les  $\beta$ -lactamases. Les premières  $\beta$ -lactamases (pénicillinases à spectre étroit) plasmidiques (TEM-1/2, SHV-1) ont été initialement décrites dans les années 60 chez *Escherichia coli* et *Klebsiella pneumoniae* et ont très vite diffusées parmi d'autres espèces (entérobactéries, *Haemophilus influenzae*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Pseudomonas aeruginosa*) [1]. Devant l'émergence de ces enzymes, de nouvelles  $\beta$ -lactamines stables (notamment céphalosporines à spectre élargi) ont été développées dans les années 70-80. Cependant, leur utilisation intensive en clinique s'est suivie de l'apparition précoce de résistance. Ainsi, la première  $\beta$ -lactamase capable d'hydrolyser les céphalosporines à spectre élargi (SHV-2, mutant ponctuel de SHV-1) a été décrite en 1985 dans une souche de *K. pneumoniae* en Allemagne [1, 2]. Du fait de leur élargissement de spectre d'activité, ces enzymes ont été appelées « $\beta$ -lactamases à spectre étendu» (BLSE), et à ce jour de nombreuses BLSE (> 230) ont été décrites à travers le Monde représentant un problème majeur de santé publique [2].

### 1. DÉFINITION DES BLSE

Parmi les  $\beta$ -lactamases, on distingue 4 classes selon le schéma de Ambler : A, B, C et D. Les enzymes de classe A, C et D sont dites à sérine active tandis que celles de classe B sont appelées métallo- $\beta$ -lactamases (carbapénèmases) [3].

A l'exception des BLSE de type OXA (classe D), les BLSE sont des  $\beta$ -lactamases de classe A (comme TEM1/2 et SHV-1), et selon la classification de Bush-Jacoby-Medeiros, les BLSE font aussi partie du groupe 2be, c'est-à-dire qu'elles sont capables d'hydrolyser les pénicillines, les céphalosporines de 1<sup>ère</sup>, 2<sup>ème</sup>, 3<sup>ème</sup> [C<sub>3</sub>G] (ex. céfotaxime, ceftazidime) et 4<sup>ème</sup> [C<sub>4</sub>G] (ex. céfépime) génération et les monobactames (ex. aztréonam) [4]. Par contre, les souches productrices de BLSE restent généralement sensibles aux céphamycines (ex. céfoxitine) et aux carbapénèmes (ex. imipénème). Enfin, les BLSE de classe A sont inhibées par les inhibiteurs de  $\beta$ -lactamases (I $\beta$ L), comme l'acide clavulanique [4]. Au laboratoire, la détection des BLSE de classe A est classiquement basée sur l'observation d'une synergie entre l'acide clavulanique et les C<sub>3</sub>G, C<sub>4</sub>G ou l'aztréonam, et une sensibilité conservée à la céfoxitine et à l'imipénème [1, 2].

## 2. EPIDÉMIOLOGIE DES BLSE

Jusqu'à la fin des années 90, la majorité des BLSE détectées étaient des dérivés de TEM-1/2 et de SHV-1 après évolution de ces enzymes «anciennes» par mutation(s) ponctuelle(s) [5]. Les souches productrices de BLSE étaient souvent associées à des épidémies nosocomiales, notamment en unités de soins intensifs (USI). La prévalence des BLSE était plus forte chez *K. pneumoniae* que chez *E. coli*. Enfin, les facteurs de risque principaux étaient : admission en USI, hospitalisation prolongée, chirurgie abdominale, cathétérisme IV, sondage urinaire, ventilation assistée, hémodialyse, utilisation de céphalosporines/aminosides [3, 6].

A partir de 1995, de «nouvelles» BLSE (notamment CTX-M) ont émergé de façon explosive chez les entérobactéries et la situation épidémiologique a complètement changé au niveau mondial. En effet, la plupart des souches productrices de BLSE sont maintenant des souches de *E. coli* exprimant des BLSE de type CTX-M responsables d'infections communautaires, notamment urinaires [7]. De plus, le nombre de souches productrices de BLSE augmente aussi dans les services hospitaliers hors USI, notamment dans les services de long et moyen séjour. D'autres facteurs de risque ont été identifiés, comme l'utilisation des fluoroquinolones [6]. Enfin, contrairement aux BLSE de type TEM/SHV, les mécanismes de diffusion de CTX-M semblent plus complexes, mettant en jeu plutôt la diffusion de plasmides (épidémies de plasmides) et/ou d'autres éléments génétiques mobiles que la diffusion unique d'un clone bactérien [6, 8]. Les autres BLSE (ex. PER, VEB) restent plus rares et sont principalement détectées chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. [9, 10].

## 3. DIFFÉRENTS TYPES DE BLSE

### 3.1. ANCIENNES BLSE

#### 3.1.1. BLSE DE TYPE TEM (TEMONEIRA - NOM DU PATIENT)

De nombreux dérivés de TEM-1/2 (> 150) ont été décrits à ce jour, dont plus de 100 avec un phénotype de BLSE. Bien que fréquemment retrouvées chez *E. coli* et *K. pneumoniae*, les BLSE de type TEM ont aussi été rapportées parmi les autres membres de la famille des entérobactéries ainsi que *P. aeruginosa* [1, 2]. En Europe, les BLSE de type TEM les plus fréquentes sont TEM-24 chez *Enterobacter aerogenes*, TEM-3 et TEM-4 chez *K. pneumoniae*, et TEM-52 chez *Salmonella*

*enterica* et *E. coli* [6]. Les mutations responsables de l'élargissement de spectre ont généralement lieu au niveau de 4 «hot spots» de la protéine (positions 104, 164, 238 et 240) [5]. A noter que certains dérivés de TEM (environ 30) ne sont pas des BLSE mais présentent une diminution de sensibilité aux  $\beta$ L, ce sont les TRI (pour TEM Résistantes aux Inhibiteurs) [1].

### 3.1.2. BLSE DE TYPE SHV (SULFHYDRYL VARIABLE)

La majorité des dérivés de SHV-1 (> 60) ont un phénotype de BLSE, avec SHV-5 et SHV-12 étant les mutants les plus fréquents en Europe [6]. Les BLSE de type SHV ont été détectées parmi de nombreuses entérobactéries (notamment *K. pneumoniae*) mais aussi chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. [1, 2]. Comme les dérivés de TEM, les mutations dans SHV-1 (68% d'identité avec TEM-1) ont lieu classiquement au niveau de quelques positions (notamment 238 et 240) [5]. Enfin, le gène codant pour SHV-12 a été décrit en association avec le déterminant plasmidique de résistance aux quinolones, QnrB [6].

## 3.2. NOUVELLES BLSE

### 3.2.1. BLSE DE TYPE CTX-M (CÉFOTAXIMASE-MUNICH)

Ces enzymes «émergentes» pourraient représenter très prochainement les BLSE les plus fréquentes au sein des entérobactéries au niveau mondial après une diffusion rapide depuis le milieu des années 90 [1, 2, 11, 12]. Au niveau de leur spectre d'activité, elles hydrolysent préférentiellement le céfotaxime, d'où leur nom de céfotaximases [11]. En effet, les bactéries productrices de CTX-M sont résistantes au céfotaxime (CMI > 64  $\mu$ g/mL) et plus ou moins sensibles à la ceftazidime (CMI de 2 à 8  $\mu$ g/mL), tandis que les CMI de l'aztréonam sont variables [2]. Au niveau structural, les CTX-M ne sont pas proches des  $\beta$ -lactamases de type TEM ou SHV (< 40 % d'identité) [11]. A ce jour, de nombreux variants de CTX-M ont été décrits (>50), et sont classés en 6 groupes phylogénétiques distincts : CTX-M-1, CTX-M-2, CTX-M-8, CTX-M-9, CTX-M-25 et CTX-M-45 [13]. Les enzymes Toho-1/2, décrites au Japon, sont très proches structurellement des CTX-M et sont donc classées parmi celles-ci [11]. A noter que certains variants (ex. CTX-M-15, CTX-M-32) avec une activité de ceftazidimase élevée (CMI > 256  $\mu$ g/mL) ont été décrits (mutation ponctuelle en position 240) [11, 13]. Les progéniteurs des CTX-M ont été identifiés sur le chromosome de *Kluyvera* spp. qui sont des entérobactéries non pathogènes environnementales. En effet, les progéniteurs des gènes codant pour les CTX-M des groupes 1 et 2 et pour celles des groupes 8 et 9 sont respectivement *K. ascorbata* et *K. georgiana*, tandis que les sources des CTX-M des groupes 25 et 45 restent inconnues [14]. Depuis leurs progéniteurs, les gènes ont été capturés grâce à des éléments génétiques mobiles type séquence d'insertion (ex. *ISEcp1*, *ISCR1*) ou à des phages, et transférés sur des plasmides conjugatifs qui ont ensuite diffusé parmi les entérobactéries pathogènes [5, 13, 14]. Les souches productrices de CTX-M ont été initialement rapportées de façon sporadique à la fin des années 80 au Japon (FEC-1), en Europe (MEN-1, CTX-M-1) et en Argentine (CTX-M-2) [11]. Dans le début des années 90, une diffusion massive des souches productrices de CTX-M (*S. enterica*, *Proteus mirabilis*, *E. coli*, *Shigella sonnei*, *Morganella morganii*, *Citrobacter freundii*, *Serratia marcescens*, *E. aerogenes*) a été décrite en Argentine et dans les pays voisins, impliquant pour la plupart les CTX-M du groupe 2 [11, 13]. En 15 ans, la diffusion mondiale des BLSE de type CTX-M chez les entérobactéries a explosé de façon extrêmement rapide, d'où le terme

de «pandémie CTX-M» [14]. Les études épidémiologiques récentes rapportent que la situation est endémique dans la plupart des pays d'Europe, d'Asie et d'Amérique du Sud avec de forts taux de prévalence de CTX-M parmi les souches productrices de BLSE : *E. coli* (de 30 à 90%) et de *K. pneumoniae* (de 10 à 60 %) [12, 14]. A noter que quelques CTX-M sont retrouvées spécifiquement dans certains pays (comme CTX-M-9 et CTX-M-14 en Espagne, CTX-M-1 en Italie ou CTX-M-2 en Amérique du Sud, au Japon et en Israël) tandis que CTX-M-15 est mondialement distribuée [14]. En Espagne, la prévalence des CTX-M parmi les souches de *E. coli* et de *K. pneumoniae* productrices de BLSE était respectivement de 52,3 % et 12,5 % tandis qu'en Italie, les taux respectifs étaient de 54,8 % et 12,3 % [13]. La large diffusion des CTX-M a changé considérablement l'épidémiologie des BLSE à l'hôpital mais aussi celle dans la communauté avec l'émergence de souches productrices de BLSE, principalement des souches de *E. coli* productrices de CTX-M (notamment CTX-M-15) [5, 13]. De plus, le portage digestif de souches productrices de BLSE est devenu non négligeable avec un réservoir de BLSE animal important [13]. Dans une étude récente espagnole, les taux de portage de souches de *E. coli* productrices de BLSE étaient de 11,8 % chez les patients hospitalisés et de 5,5 % chez les patients de ville avec 42 % et 69 % de CTX-M, respectivement [13]. Comme pour les plasmides TEM/SHV, les plasmides CTX-M portent souvent d'autres gènes de résistance (notamment aux aminosides, aux tétracyclines, aux sulfamides et au triméthoprime) d'où la notion de co-résistance, co-expression et co-sélection [14]. De plus, la plupart des souches productrices de CTX-M sont résistantes aux fluoroquinolones. Cette résistance, principalement due aux modifications des topoisomérases, pourrait aussi être expliquée par la diffusion de déterminants plasmidiques associés aux CTX-M, comme Qnr et AAC(6')-Ib-cr, mais l'impact clinique reste à évaluer [14]. Enfin, à noter que les BLSE de type CTX-M peuvent être associées à d'autres  $\beta$ -lactamases, comme CTX-M-15 avec l'oxacillinase OXA-1 ou des céphalosporinases plasmidiques [6, 12].

### 3.2.2. BLSE DE TYPE PER (*PSEUDOMONAS* EXTENDED RESISTANCE)

L'enzyme PER-1, initialement découverte en 1993 chez *P. aeruginosa* en Turquie, est fréquente chez *P. aeruginosa* et *Acinetobacter* spp. mais a aussi été détectée chez *S. enterica* sérovar Typhimurium, *Providencia* spp., *Proteus mirabilis* et *Alcaligenes faecalis* [9]. En Turquie, une étude récente a montré que 32 % des souches résistantes à la ceftazidime de *P. aeruginosa* et 55 % de celles de *A. baumannii* étaient productrices de PER-1 [10]. Une seconde enzyme, PER-2 (86 % d'identité avec PER-1), a été détectée en 1996 chez *S. enterica* sérovar Typhimurium en Argentine, et depuis chez d'autres entérobactéries, *Vibrio cholerae* et *A. baumannii* [9, 10]. A noter que tandis que PER-1 est surtout présente en Turquie et en Corée du Sud (quelques cas décrits en Italie, France et Belgique), PER-2 n'a été détectée qu'en Amérique du Sud. Enfin, une souche de *P. aeruginosa* produisant à la fois PER-1 et la carbapénèmase VIM-2 a été détectée en Italie [9].

### 3.2.3. BLSE DE TYPE VEB (*VIETNAM* EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASE)

L'enzyme VEB-1 (38 % d'identité avec PER-1) a été retrouvée en 1996 dans une souche de *E. coli* isolée chez un patient vietnamien puis chez *P. aeruginosa* en Thaïlande [9, 10]. Plusieurs études épidémiologiques en Thaïlande et au Vietnam ont montré que respectivement jusqu'à 40 % et 80 % des souches

d'entérobactéries et de *P. aeruginosa* résistantes à la ceftazidime produisaient VEB-1 [10]. A ce jour, 4 dérivés de VEB-1 ont aussi été décrits (VEB-2 à VEB-5). VEB-1 a été détectée chez *P. aeruginosa* au Koweït, en Chine, en Inde et au Bangladesh, chez *A. baumannii* en France, en Belgique et en Argentine, chez *P. stuartii* en Algérie, chez *Enterobacter cloacae* et *Achromobacter xylosoxidans* en France, et chez *E. coli* au Canada [10]. Plusieurs épidémies nationales ont été rapportées : *A. baumannii* VEB-1 en France et en Belgique ; *P. mirabilis* VEB-1 en Corée du Sud ; et *E. cloacae* en Chine. Enfin, à noter que le gène codant pour VEB-1 est souvent localisé au sein d'un intégron et peut donc être associé à d'autres gènes de résistance comme *qnrA*, déterminant plasmidique de la résistance aux quinolones [10].

### 3.2.4. BLSE DE TYPE GES (GUYANA EXTENDED-SPECTRUM BETA-LACTAMASE)

Les BLSE de type GES sont de plus en plus rapportées chez les BGN, notamment *P. aeruginosa*, *E. coli* et *K. pneumoniae*. GES-1 a été initialement décrite chez une souche de *K. pneumoniae* isolée en 1998 en France puis en Argentine, au Brésil, au Portugal et aux Pays-Bas [10]. A ce jour, 9 variants différents ont été décrits dont GES-2 en Afrique du Sud, GES-5 à GES-8 (GES-7 = IBC-1 ; GES-8 = IBC-2) en Grèce, GES-3 et GES-4 au Japon, GES-5 en Corée du Sud, en Chine et au Brésil, et GES-9 en France [10]. A noter que, contrairement à la plupart des BLSE, GES-1 n'hydrolyse pas l'aztréonam et surtout GES-2 hydrolyse les carbapénèmes en étant moins sensible aux  $\beta$ L. Par une unique mutation, GES-2 est le premier exemple de BLSE avec un élargissement du spectre d'activité aux carbapénèmes ; depuis, 4 autres dérivés ont été décrits (GES-4 à GES-6, GES-8) [10]. De façon inquiétante, des souches de *P. aeruginosa* produisant GES-1 et la carbapénémase VIM-11 et de *E. coli* produisant GES-7 et la carbapénémase VIM-2 ont été décrites respectivement en Argentine et en Grèce. Enfin, plusieurs épidémies de BGN producteurs de BLSE de type GES ont été rapportées : *K. pneumoniae* en Corée du Sud, au Portugal et en Grèce, *S. marcescens* aux Pays-Bas, et *P. aeruginosa* en Afrique du Sud [10].

### 3.2.5. AUTRES BLSE DE CLASSE A

L'enzyme SFO-1 (*Serratia fonticola*) n'a été détectée qu'une seule fois dans une souche de *E. cloacae* isolée au Japon en 1988 [10].

L'enzyme BES-1 (Brazilian extended-spectrum  $\beta$ -lactamase) n'a été isolée qu'une seule fois à partir d'une souche de *S. marcescens* au Brésil en 1996 [10].

L'enzyme BEL-1 (Belgium extended-spectrum  $\beta$ -lactamase) a été identifiée dans une souche de *P. aeruginosa* en Belgique en 2004. De récents travaux suggèrent que le gène codant pour BEL-1 pourrait disséminer dans les souches de *P. aeruginosa* en Belgique [10].

L'enzyme TLA-1 (Tlahuicas - tribu indienne) a été décrite dans une souche de *E. coli* isolée au Mexique en 1993. Depuis, plusieurs cas de bactériémies et d'infections urinaires nosocomiales dues à une souche de *K. pneumoniae* produisant à la fois SHV-5 et TLA-1 ont été rapportés au Mexique. A noter que TLA-1 n'a été identifié qu'au Mexique [10].

Le gène codant l'enzyme TLA-2 est porté par un plasmide de 47 kb (pRSB101) isolé à partir d'eaux usées de traitement de plantes en Allemagne en 2002.

Cependant, l'espèce hébergeant ce déterminant n'a pas pu être identifiée et aucune souche TLA-2-positive n'a été décrite à ce jour (10).

### 3.2.6. BLSE DE TYPE OXA (OXACILLINASE)

Bien que les BLSE appartiennent souvent à la classe A, plusieurs oxacillines (classe D et classe 2d) ont des propriétés de BLSE [1, 2, 4]. Les  $\beta$ -lactamases de type OXA confèrent la résistance à l'ampicilline et à la céfalotine, et sont caractérisées par une forte activité hydrolytique des pénicillines M (oxacilline, cloxacilline). De plus, elles sont faiblement inhibées par l'acide clavulanique [2]. La plupart des  $\beta$ -lactamases de type OXA n'hydrolysent pas de façon significative les C<sub>3</sub>G/C<sub>4</sub>G mais l'évolution par mutation(s) ponctuelle(s) vers un élargissement du spectre a dû avoir lieu comme pour les dérivés de TEM/SHV [10]. Les  $\beta$ -lactamases de type OXA représentent une famille phylogénétiquement très hétérogène et les BLSE de type OXA dérivent de OXA-10, de OXA-13, de OXA-2 ou sont non reliées (OXA-18, -45) [2, 10]. Bien que la plupart des BLSE dérivées de OXA-10 confèrent une résistance plus élevée au céfotaxime, les activités enzymatiques des BLSE de type OXA sont très variables. Les BLSE de type OXA sont principalement retrouvées chez *P. aeruginosa*, mais ont aussi été détectées chez d'autres BGN dont les entérobactéries [2, 10]. Découvertes initialement chez *P. aeruginosa* en Turquie, elles ont ensuite été décrites en France, à Taiwan, en Corée et aux Etats-Unis. Malheureusement, très peu d'études épidémiologiques ont été menées pour évaluer la dissémination des BLSE de type OXA [10].

## CONCLUSION

Concernant les BLSE détectées chez les entérobactéries, d'importants changements ont eu lieu depuis ces 10 dernières années : 1- explosion mondiale des BLSE de type CTX-M avec supplantation des BLSE de type TEM/SHV dans la plupart des pays (excepté les Etats-Unis) ; 2- changement de bactérie hôte de *K. pneumoniae/Enterobacter* spp. vers *E. coli* ; 3- augmentation très nette des infections communautaires (notamment urinaires) dues à des bactéries productrices de BLSE ; 4- possibilité d'associations de différentes  $\beta$ -lactamases (BLSE + AmpC plasmidique, BLSE + carbapénèmase, voire BLSE + AmpC plasmidique + carbapénèmase) limitant les options thérapeutiques. A côté des CTX-M, les BLSE dites «mineures» restent plus rares même si certaines ont été décrites dans différentes parties du Monde (GES, PER, VEB). Des études épidémiologiques seront nécessaires pour évaluer de façon précise la distribution de ces BLSE qui pourraient émerger dans le futur. Enfin, à noter que certaines de ces BLSE «mineures» ont pu élargir par mutation leur spectre d'hydrolyse aux carbapénèmes (ex. GES-2) ce qui pourrait être à l'origine de l'émergence de micro-organismes «pan-résistants».

---

## RÉFÉRENCES BIBLIOGRAPHIQUES

- [1] Bradford PA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. *Clin Microbiol Rev* 2001;14:933-51
- [2] Paterson DL, Bonomo RA. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: a clinical update. *Clin Microbiol Rev* 2005;18:657-86
- [3] Jacoby GA, Munoz-Price LS. The new  $\beta$ -lactamases. *N Engl J Med* 2005;352:380-91
- [4] Livermore DM. Defining an extended-spectrum  $\beta$ -lactamase. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:3-10

- [5] Gniadkowski M. Evolution of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases by mutation. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:11-32
- [6] Cantón R, Novais A, Valverde A, Machado E, Peixe L, Baquero F, Coque TM. Prevalence and spread of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:144-153
- [7] Pitout JD, Nordmann P, Laupland KB, Poirel L. Emergence of Enterobacteriaceae producing extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) in the community. *J Antimicrob Chemother* 2005;56:52-9
- [8] Poirel L, Naas T, Nordmann P. Genetic support of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:75-81
- [9] Weldhagen GF, Poirel L, Nordmann P. Ambler class A extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in *Pseudomonas aeruginosa*: novel developments and clinical impact. *Antimicrob Agents Chemother* 2003;47:2385-92
- [10] Naas T, Poirel L, Nordmann P. Minor extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008;14:42-52
- [11] Bonnet R. Growing group of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob Agents Chemother* 2004;48:1-14
- [12] Livermore DM, Canton R, Gniadkowski M, Nordmann P, Rossolini GM, Arlet G, Ayala J, Coque TM, Kern-Zdanowicz I, Luzzaro F, Poirel L, Woodford N. CTX-M: changing the face of ESBLs in Europe. *J Antimicrob Chemother* 2007;59:165-74
- [13] Rossolini GM, D'Andrea MM, Mugnaioli C. The spread of CTX-M-type extended-spectrum  $\beta$ -lactamases. *Clin Microbiol Infect* 2008;14(Suppl. 1):33-41.
- [14] Cantón R, Coque TM. The CTX-M  $\beta$ -lactamase pandemic. *Curr Opin Microbiol* 2006;9:466-75