

**ANTIBIOGRAMME –(BLSE)
B-LACTAMASES À SPECTRE ÉLARGI**



Ouar.M.N.

INTRODUCTION

- L'antibiogramme est l'outil indispensable pour la mise en évidence des mécanismes de résistances aux antibiotiques.
- Pour la famille des β -lactamines :le principal mécanisme de résistance, c'est l'inhibition enzymatique par synthèse de β -lactamase .
- Actuellement, il existe une grande variété de β -lactamase (céphalosporinase, BLSE, carbapénémase).
- Des études vétérinaires ont été faites sur des Entérobactéries (*Escherichia coli* , *Klebsiella pneumoniae* et *Salmonella* Heidelberg et Enteritidis) .Elles ont révélé la présence de BLSE de type CTX-M-1 et CTX-M- 15. (alerte 13 décembre 2012).





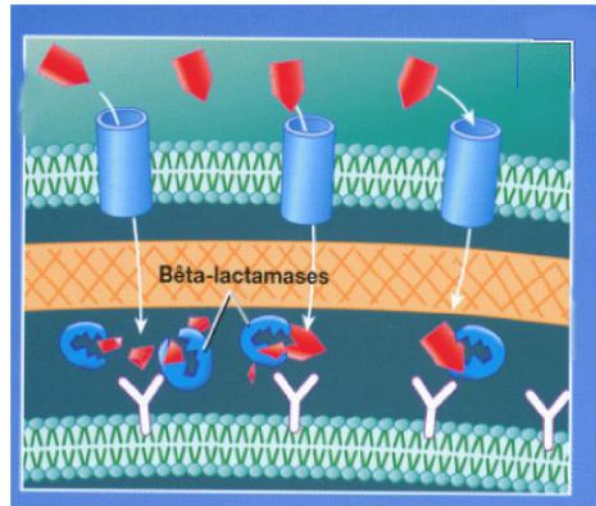
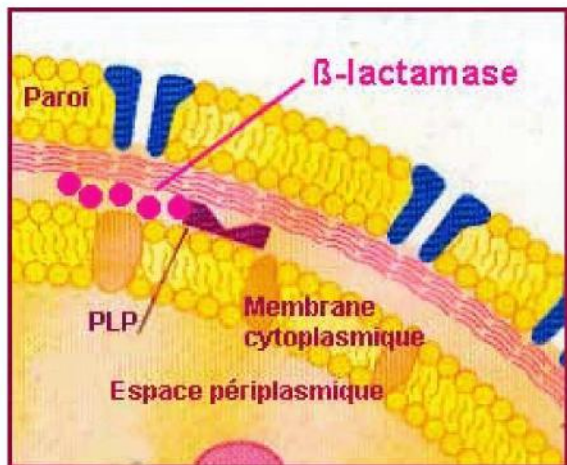
QU'EST CE QU'UNE BLSE ?

DÉFINITION

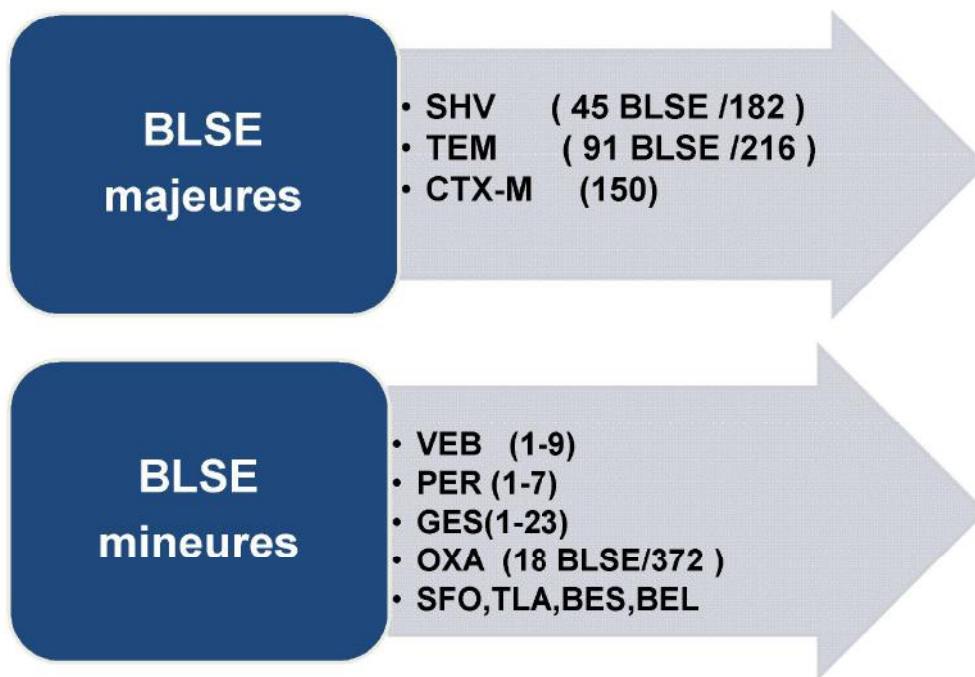
- Enzymes hydrolysant les pénicillines, les C1 G ,C2G, C3G, C4G et monobactams.
- Inactives vis-à-vis des céphamycines et les carbapénèmes.
- Elles sont inhibées par l'acide clavulanique, le sulbactam ou le tazobactam sauf certaines BLSE.
- Evolution moléculaire (TEM-1, TEM-2, SHV-1) et d'autres enzymes (CTX-M,...).
- Codées par des plasmides .



Où sont synthétisées les BLSE ?



LES DIFFÉRENTES BLSE





QUELLES SONT LES B-LACTAMINES UTILISÉES EN MÉDECINE VÉTÉRINAIRE

LES B-LACTAMINES TESTÉES EN MÉDECINE VÉTÉRAIRE

Entérobactéries	Pseudomonas sp.
Ampicilline (Am)	NT
Amoxicilline+acide clavulanique (Amc)	Amoxicilline+acide clavulanique (Amc)
Céfalotine (Ct)	NT
Céftiofur (TIO)	Céftiofur (TIO)
Céfotaxime	Céftazidime





COMMENT DÉTECTER LES BLSE ??

- **Test de synergie**
- **Test aux double disques**
- **CMI et E test**
- **Milieux chromogéniques**
- **Autres**



TEST DE SYNERGIE

Pour une entérobactérie

Dans l'antibiogramme, placer un disque AMC (20/10 μ g) à 30 mm centre à centre d'un disque de C3 G (Céftiofur 30 μ g ou Céfotaxime 30 μ g)

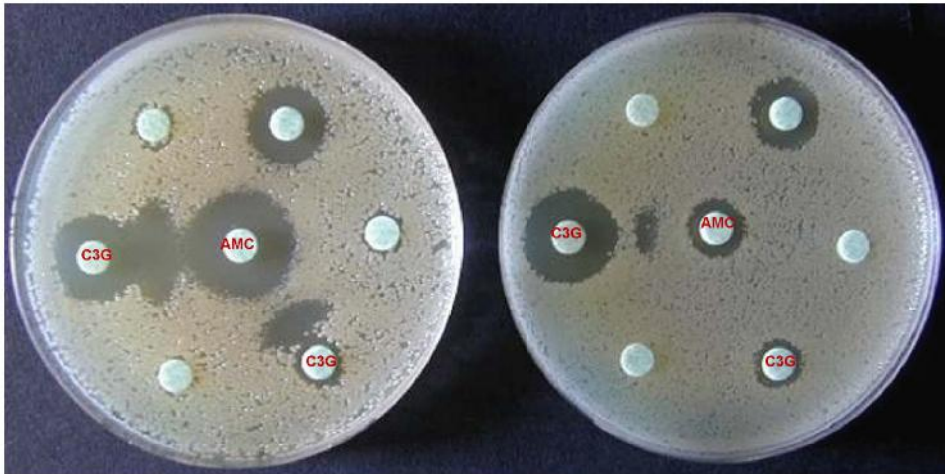
- **Incuber** 18 H à 35 °C
- **Lecture** : la production de BLSE se traduit par l'apparition d'une image de synergie ou bouchon de champagne entre les disques.



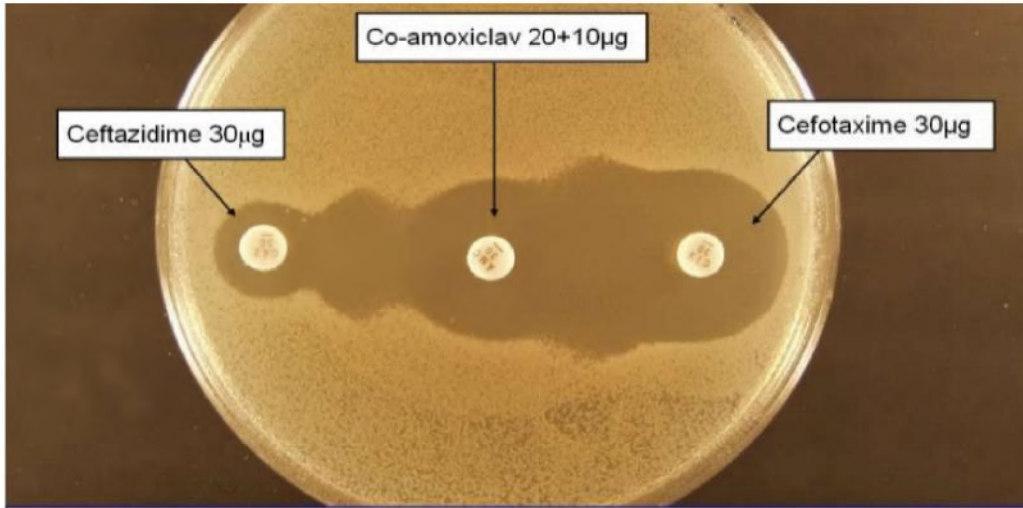
Un CQ sera réalisée pour les
ATCC 25922 *E.coli*



Le test de synergie est fait en réalisant l'antibiogramme







Pour le *Pseudomonas*

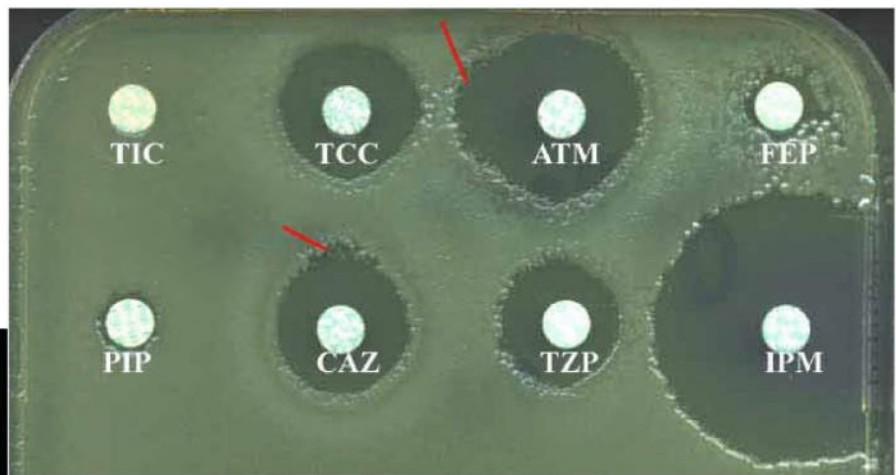
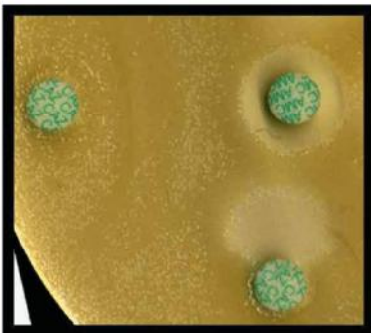
- Dans l'antibiogramme, placer un disque TCC (75/10 μ g) ou AMC (20/10 μ g) à 25 mm, parfois 15 mm (centre à centre d'un disque de C3 G (Céftiofur 30 μ g ou Céfotazidime 30 μ g) .

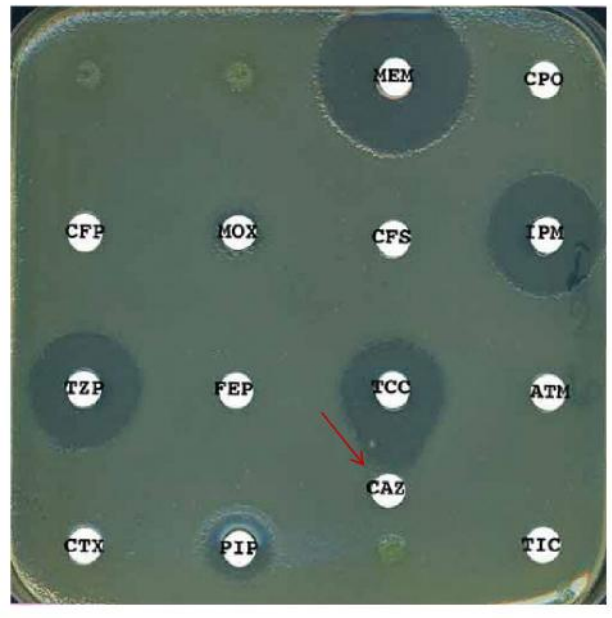
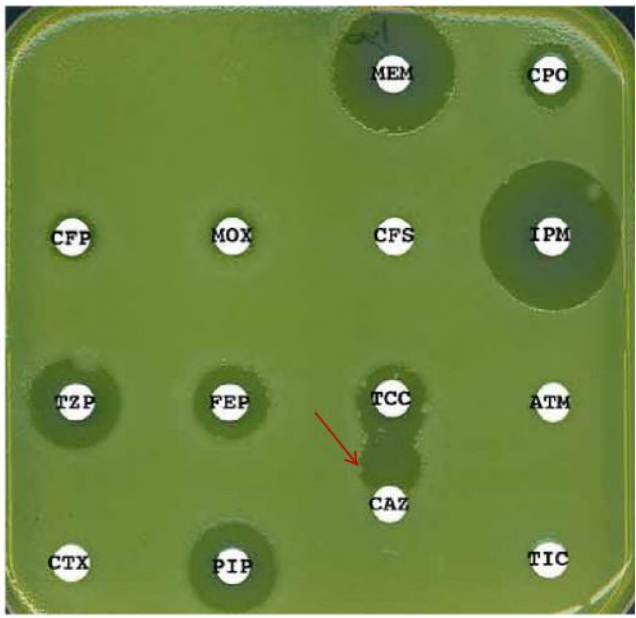
Un CQ sera réalisé pour l'ATCC 27853 *P.aeruginosa*

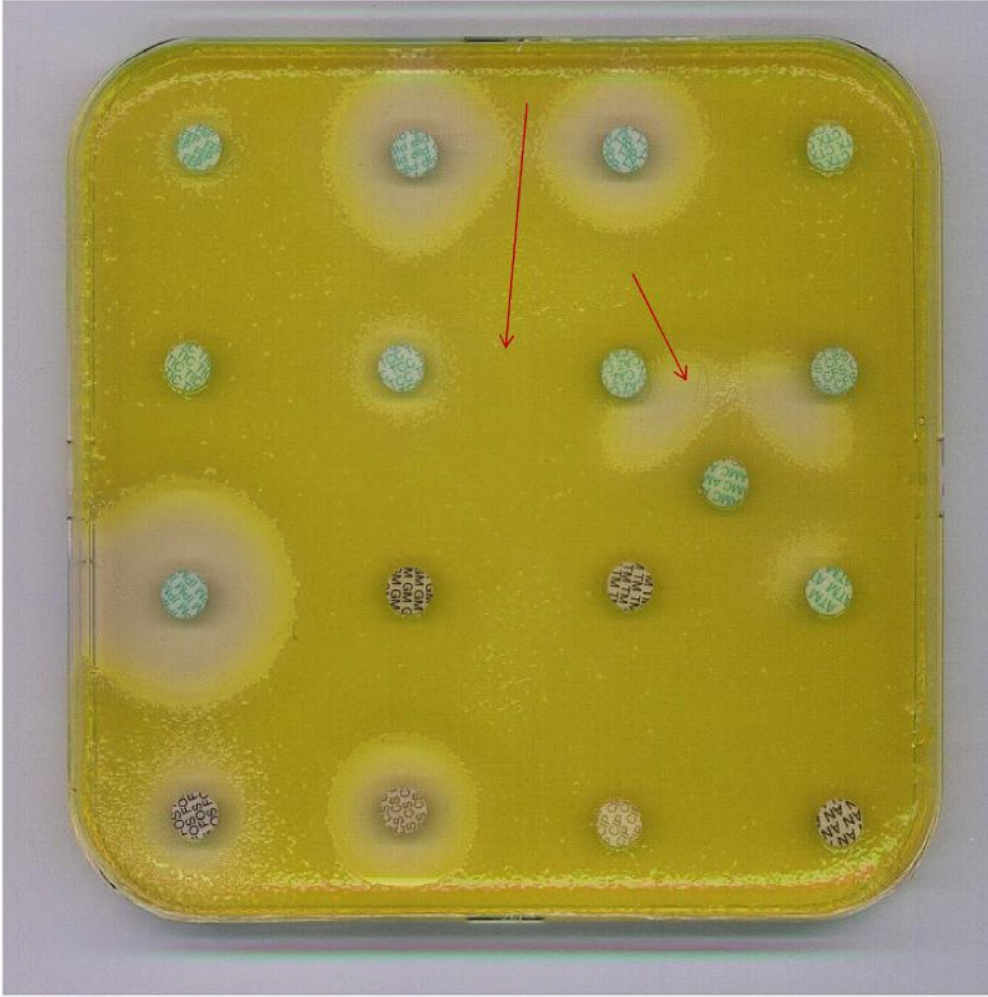
- La **détection de la synergie** est plus difficile en raison d'associations avec d'autres mécanismes de résistance tel l'hyperproduction de céphalosporinase et peut demander des conditions particulières

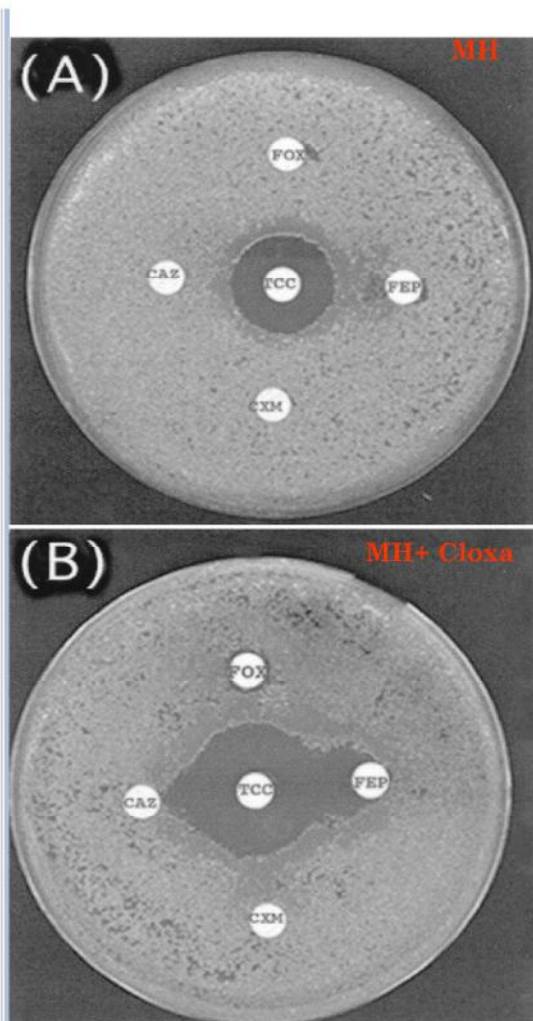


1/Rapprochement des disques









2/ Par inactivation de la céphalosporinase en incluant de la Cloxacilline dans la gélose

Tester les disques d'antibiotiques sur MH seul et MH associé avec **1 mg/ml** de cloxacilline (inhibiteur de la céphalosporinase)



- En l'absence d'une image de synergie , la production de BLSE sera suspectée devant toute diminution de diamètre autour des disques de C3G.

- **Entérobactéries (*E.coli*, *Klebsiella* sp)**

- CTX ≤ 27 mm *
 - CRO ≤ 25 mm*
 - CAZ ≤ 22 mm*
 - ATM ≤ 27 mm*
 - TIO ≤ 21 mm **

- ***Pseudomonas aeruginosa***

- TIO ≤ 21 mm **
 - CAZ ≤ 18 mm **

* M-100-S-23.Vol 33, n°1, 2013)

** Valeur critique M-100-S-23.Vol 33, n°1, 2013



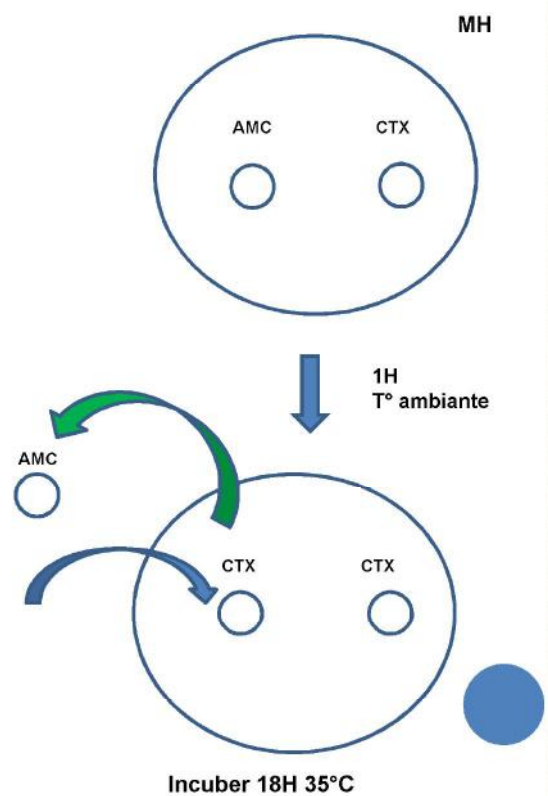
TEST DE CONFIRMATION OU DU DOUBLE DISQUE

Technique:

Pour les entérobactéries:

- Ensemencer une boîte de MH selon la technique d'antibiogramme (0,5 Mc Farland).
- Déposer un disque AMC et un disque de C3 G (Céftiofur ou Céfotaxime) à une distance de 30 mm
- Laisser diffuser les antibiotiques 1 H à température ambiante le couvercle vers le haut.
- Après 1H , oter le disque d'AMC et le remplacer d'un disque de TIO ou de CTX.
- Incuber la boîte 18 H - 35 °C.

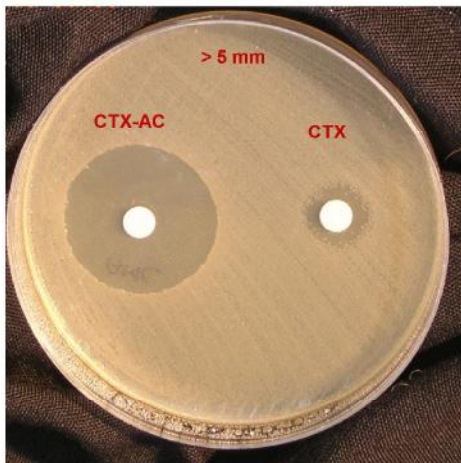
CQ: ATCC 25922 *E.coli*



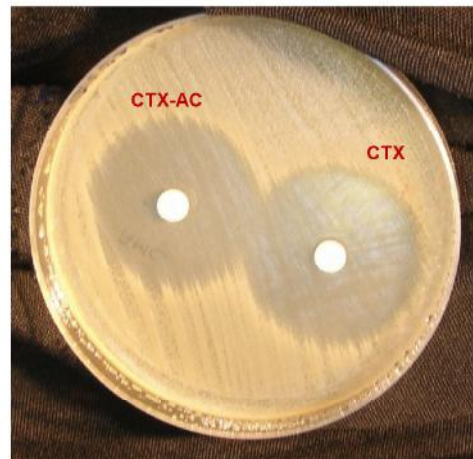
Lecture:

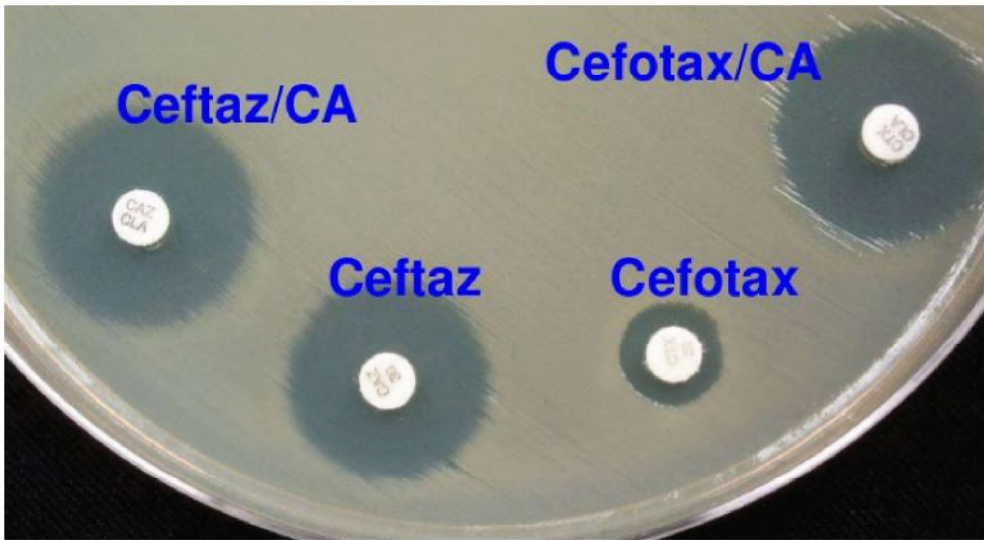
Le test de double disque est positif quand le diamètre d'inhibition du disque de C3G (appliqué après pré diffusion d'AMC) est supérieur ou égal à 5 mm par rapport au diamètre d'inhibition du disque de C3G.

Test de double disque + BLSE+



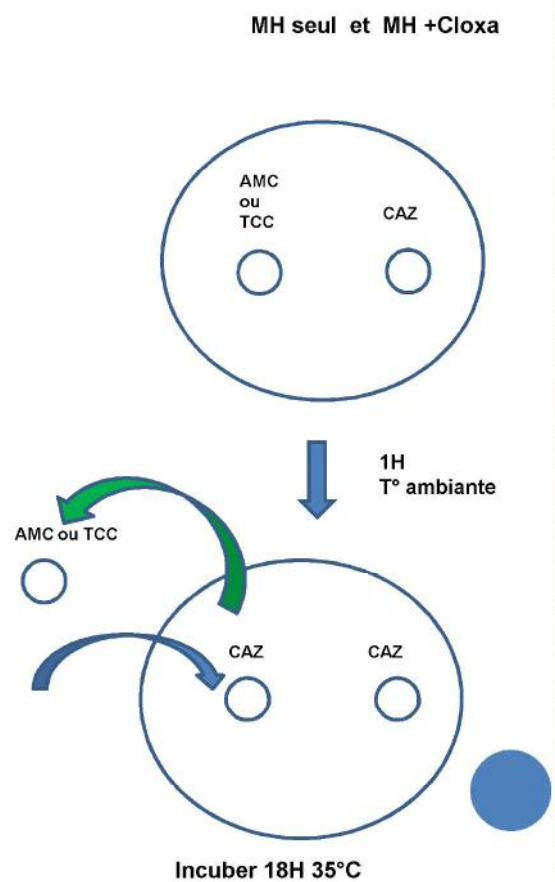
Test double disque - BLSE -





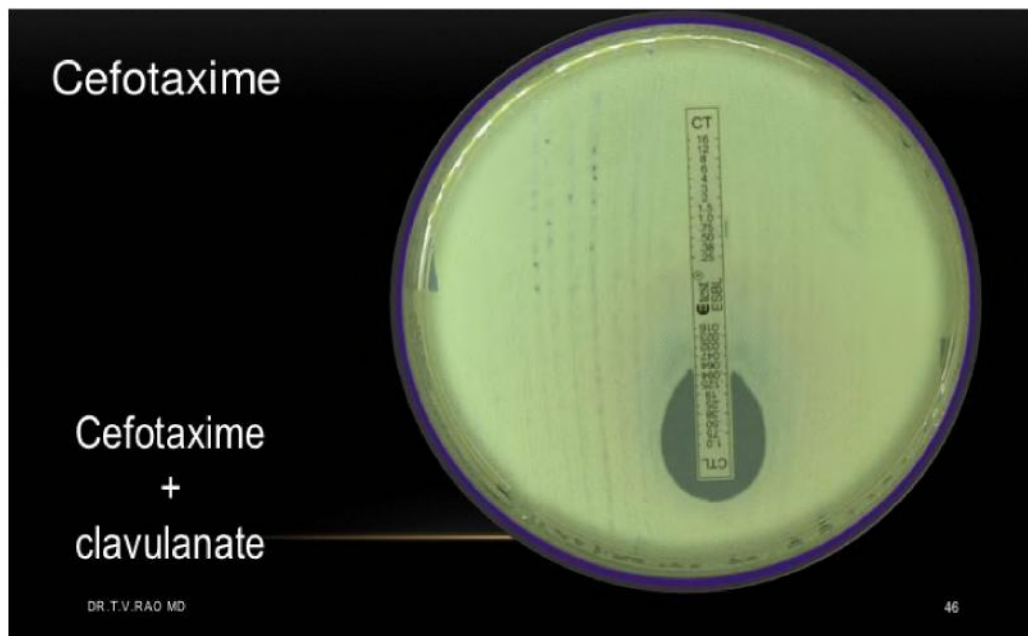
Pour le Pseudomonas :

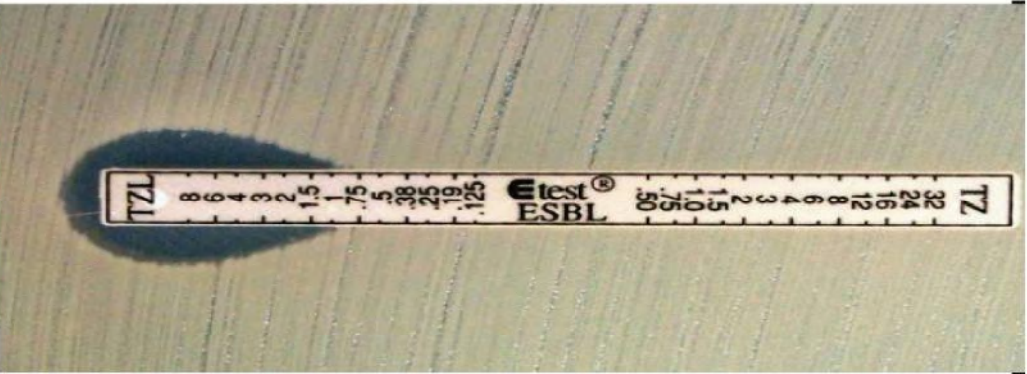
- Ensemencer **une boîte de MH seul et MH + cloxa (1 mg/ml)** selon la technique d'antibiogramme (0,5 Mc Farland).
- Déposer un disque **TCC ou AMC** et un disque de C3 G (Céftiofur ou **Céftazidime**) à une distance de 30 mm
- Laisser diffuser les antibiotiques 1 H à température ambiante le couvercle vers le haut.
- Après 1H , ôter le disque d'AMC ou TCC et le remplacer d'un disque de TIO ou de CAZ.
- Incuber la boîte 18 H – 35°C
- CQ: ATCC 27853 *Pseudomonas aeruginosa*



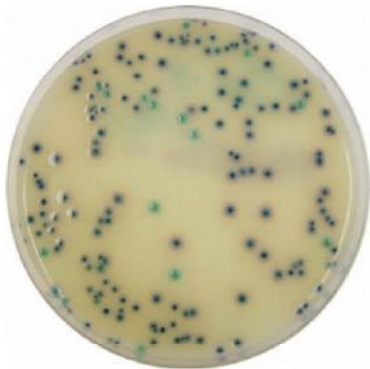


CMI Bandelette C3G seul et C3G +inhibiteur de β -lactamase

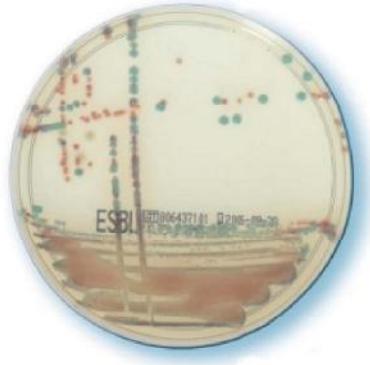




MILIEUX CHROMOGÉNIQUES



E. coli (bleu foncé) et du groupe KESC (vert). La présence de cefpodoxime, marqueur reconnu pour la détection des BLSE



E. coli (rose à bordeaux), le groupe KESC (bleues/vertes à vert-brun)

Les *Proteae* (*Proteus*, *Providencia*, *Morganella*) (brunes à marrons)



Autres

KIT de diagnostic des BLSE + AmpC

- Cefotaxime 30 µg
- Cefotaxime+Clavulanate
- Cefotaxime+Cloxacillin
- Cefotaxime+Clavulanate+Cloxacillin



DISCUSSION

- Les techniques phénotypiques de mise en évidence des BLSE sont simples à réaliser :
 - faire le test de synergie systématiquement dans l'antibiogramme)
 - faire le test de double disque devant toute diminution du diamètre ou absence de diamètre d'inhibition des C3G.

- 3 travaux vétérinaires décrits dans l'alerte AARN du 13 Décembre 2012, révèlent la présence de BLSE de type CTX-M (CTX-M- 1 et la CTX-M-15)
- Ces enzymes ont été décrites chez les entérobactéries d'origine humaine.
- Les CTX-M provoque une résistance de haut niveau au cefotaxime .
- La CTX-M-15 provoque en plus l'augmentation de la résistance à la ceftazidime.



CONCLUSION

La mise en évidence des BLSE est indispensable

- Rendre un bon résultat d'antibiogramme.
- Intérêt épidémiologique :
 - Surveillance des BLSE et le suivi des niveaux de résistance des souches.

 - La circulation de ces mécanismes de résistances entre les différentes espèces d'une même famille , voire entre famille différentes (Pseudomonas et Entérobactérie)

