

ETUDE DES PHENOTYPES DE RESISTANCE AUX β -LACTAMINES DES SOUCHES D'ENTEROBACTERIES ISOLEES EN MILIEU HOSPITALIER : CAS DE L'HOPITAL D'AMIZOUR (W. BEJAIA)

Reçu le 04/02/2001 – Accepté le 25/02/2003

Résumé

81 souches d'entérobactéries ont été isolées de divers prélèvements bactériologiques chez des patients hospitalisés durant mai-juin 2000 et mai-juin 2001 à l'hôpital d'Amizour (W. Béjaia). *E. coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec 34.57% des souches, suivie par *Klebsiella* sp. et *Enterobacter* sp. avec respectivement 29.63% et 22.22%. Les trois taxons sont isolés avec une fréquence sensiblement équivalente.

L'étude de la sensibilité de ces souches vis-à-vis de 09 β -lactamines a mis en évidence l'inefficacité des molécules testées avec un taux moyen de résistance de 45.48% à l'ensemble de ces β -lactamines. Parmi ces dernières, l'imipénème, le ceftazidime et le céfotaxime sont les plus actives avec respectivement 0%, 6% et 7% de souches résistantes.

La répartition des phénotypes de résistance aux β -lactamines a montré la prévalence du phénotype TRI avec 29.63% des phénotypes isolés. Les phénotypes sauvages ne représentent que 39.5% des phénotypes retrouvés.

Mots clés: Entérobactéries, β -lactamines, Phénotypes de résistance, Hôpital d'Amizour.

Abstract

81 strains of enterobacteria were isolated from bacteriological wounds of patients hospitalized during may to June 2000 and may to June 2001 in the Amizour hospital. *E. coli* was the species that are more isolated with 34.57% of strains, followed by *Klebsiella* sp. and *Enterobacter* sp. with respectively 29.63% and 22.22%. The three taxons were isolated with the same frequency.

The studies of the sensitivity to 09 β -lactams antibiotics shows that these molecules were not act efficacy with a middle percentage of 45.48%. β -lactams who are active are imipenem, ceftazidime and cefotaxime with 0%, 6% and 7% of resistance.

The more prevalent resistance phenotype is TRI with 29.63% of the total phenotypes isolated. The savage phenotypes represents 39.5%.

Keywords: Enterobacteria, β -lactams, resistance phenotypes, Amizour hospital.

A. TOUATI
S. BENALLAOUA
M. KECHA
N. IDRES

Laboratoire de biochimie
microbienne
Faculté des Sciences
de la Nature et de la Vie
Université A. Mira
Béjaia, Algérie

ملخص

لقد عزلنا 81 عينة أنتيروبيكتيريا من مختلف المصالح الطبية والجراحية لمستشفى أميزور (بجاية) وهذا خلال المرحلتين الممتدتين من ماي الى جوان 2000 ومن ماي الى جوان 2001 هي العينة التي عزلت بكثرة بمعدل 34.57% من مجموع العينات، بينما يمثلان على التوالي 29.63% و 22.22% من جميع العينات.

توصلت دراسة حساسية عينات الأنتيروبيكتيريا ضد 9 بيتالكتامينات إلى الكشف عن نسب مقاومة مرتفعة، إذ بلغ معدل هذه المقاومة إلى 45.48% لجميع المضادات الحيوية المستعملة.

البيتالكتامينات الجديدة فعالة هي 0%، 6% و 7% من العينات المقاومة.

كشفت دراسة فينوتيبات المقاومة ضد البيتالكتامينات ان فينوتيب هو المنتشر ضمن عينات اللانثروبكتيريا المدروسة وهذا بمعدل عزل 29.63%، والفينوتيب الطبيعي (المتوحش) يمثل 39.5%.

الكلمات المفتاحية: الأنتيروبيكتيريا، البيتالكتامينات، فينوتيب المقاومة، مستشفى أميزور.

La connaissance de la sensibilité des bactéries aux antibiotiques est indispensable aux choix thérapeutiques. Ces dernières années, l'évolution de la résistance des entérobactéries aux β -lactamines a été liée à l'apparition de certains mécanismes de résistance comme la production de β -lactamases à spectre élargi, l'hyperproduction de céphalosporinases ou la production de β -lactamases de type TRI [1].

Les données sur la résistance aux β -lactamines par production de β -lactamases des entérobactéries sont bien connues en Europe, mais à notre connaissance peu de travaux ont été publiés en Algérie. On propose dans cette étude de faire un état des lieux de la résistance aux β -lactamines de souches isolées au sein des différents services de l'hôpital d'Amizour ainsi que la mise en évidence des différents phénotypes de résistance en cause.

MATERIEL ET METHODES

1. Souches bactériennes

L'isolement des souches a été effectué à partir de malades hospitalisés dans les différents services de l'hôpital d'Amizour au cours des deux périodes mai-juin 2000 et mai-juin 2001. Les prélèvements effectués concernent les sites anatomiques urinaires, septicémiques et respiratoires.

Au total 500 prélèvements ont été examinés avec le concours du personnel hospitalier.

Les cultures ont été réalisées sur gélose nutritive et sur gélose Héktoen, incubées en aérobiose pendant 24 heures à 37°C. L'identification des souches a été obtenue par l'utilisation de galeries biochimiques de type API 20 E (BioMérieux).

2. Détermination de la sensibilité aux β -lactamines

La sensibilité des souches d'entérobactéries aux β -lactamines a été testée selon la méthode de l'antibiogramme standard par diffusion en gélose de Mueller-Hinton (Sanofi Diagnostics Pasteur), avec des disques chargés de β -lactamines (Sanofi Diagnostics Pasteur) [2]. Les β -lactamines testées sont : Ticarcilline (TIC, 75 μ g), Ampicilline (AM, 10 μ g), Amoxicilline + Acide Clavulanique (AMC, 20 + 10 μ g), Pipéracilline (PIP, 100 μ g), Céfalotine (CF, 30 μ g), Ceftazidime (CAZ, 30 μ g), Céfotaxime (CTX, 30 μ g), Imipénème (IMP, 30 μ g) et Mécillinam (MEC, 25 μ g).

L'interprétation en Sensible (S), Intermédiaire (I) ou Résistant (R) a été faite selon les critères définis par le Comité Français de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Ceci a permis ensuite de classer les entérobactéries selon leur groupe, en différents phénotypes de résistance aux β -lactamines [3].

3. Détection des phénotypes de résistance

L'étude comparée des résultats d'un ensemble de β -lactamines testées simultanément sur le même antibiogramme permet de déterminer le phénotype [4-6].

3.1. Phénotypes sauvages

* **Phénotype sensible : Groupe I (*Escherichia coli*, *Salmonella*, *Shigella*, *Proteus mirabilis*)**

Sensible à toutes les β -lactamines

* **Phénotype Pénicilline bas niveau : Groupe II (*Klebsiella pneumoniae*, *K. oxytoca*, *Citrobacter diversus* et *C. amalonaticus*)**

AM = Résistant bas niveau, TIC = Résistant bas niveau, CF et CTX = Sensible.

Image de synergie (Pénicilline inhibée par l'acide clavulanique) et absence d'image d'antagonisme (production inductible de l'enzyme).

* **Phénotype Céphalosporinase inductible : Groupe III (*Enterobacter*, *Proteus vulgaris*, *P. penneri*, *Citrobacter freundii*, *Serratia*, *Providencia*, *Morganella*, *Hafnia alvei*)**

AM = R, TIC = S, CF = R, CTX = S.

Absence d'image de synergie et image d'antagonisme (céphalosporinase non inhibée par l'acide clavulanique).

3.2. Phénotypes de résistance acquise

* **Phénotype Pénicilline haut niveau (tous les groupes)**

AM et TIC = R haut niveau, CF = I/R, CTX = S.

Image de synergie (Pénicilline inhibée par l'acide clavulanique).

* **Phénotype BLSE (tous les groupes)**

AM et TIC = R haut niveau, CF et CTX = I/R.

Image de synergie (β -lactamase inhibée par l'acide clavulanique).

* **Phénotype TRI (Groupes I et II)**

AM = R, TIC = I/R, CF = S/I/R, CTX = S.

Absence d'image de synergie (β -lactamase non inhibée par l'acide clavulanique).

* **Phénotype pénicilline hyperproduite de *Klebsiella oxytoca***

AM = R, TIC = R, CF = R, CTX = S/I/R.

Image de synergie (Pénicilline inhibée par l'acide clavulanique).

* **Phénotype céphalosporinase hyperproduite**

- **Groupe III**

AM = R, TIC = I/R, CF = R, CTX = S.

Absence d'image de synergie (sauf *Proteus vulgaris* et *P. penneri*) (Céphalosporinase non inhibée par l'acide clavulanique).

Absence d'image d'antagonisme (production constitutive de l'enzyme)

- *E. coli*

AM = I/R, TIC = S/I/R, CF = R, CTX = S/I/R.

Absence d'image de synergie (Céphalosporinase non inhibée par l'acide clavulanique).

Absence d'image d'antagonisme (production constitutive de l'enzyme).

4. Recherche de la production de β -lactamases

Nous avons recherché la production de β -lactamases par le test iodométrique [7]. La technique est comme suit :

- Préparer une solution de pénicilline G à 6 mg/ml dans un tampon phosphate 0.1M et pH 6.0. Répartir des quantités de 0.1 ml de cette solution dans des tubes à hémolyse stériles.
- Prélever à l'aide d'une anse de platine 3 à 5 colonies sur gélose et les émulsionner dans la solution précédente.
- Cette suspension est laissée à température du laboratoire pendant 30 à 60 minutes.
- Ajouter des volumes de 20 μ l d'amidon à 1% (p/v).
- Des volumes de 20 μ l de solution d'iode à 2% (p/v) sont additionnés.
- Une décoloration qui apparaît avant 5 minutes indique une réaction positive.
- Réaliser en parallèle un témoin positif et un autre négatif.

5. Curage génétique (Recherche du support génétique de la résistance)

L'essai de curage a été réalisé pour étudier le support génétique de l'antibiorésistance observée pour les souches d'entérobactéries productrices d'une β -lactamase. L'agent curant utilisé dans notre étude est la température [8].

- Ensemencer la souche pure dans 5 ml de bouillon nutritif.
- Incuber à 42°C pendant 24 heures.

- Diluer dans de l'eau physiologique stérile jusqu'à 10^{-7} de la culture précédente puis ensemencer un bouillon nutritif neuf et incubé à 42°C pendant 48 heures.
- Réaliser l'antibiogramme sur quelques colonies prises au hasard pour vérifier la perte éventuelle du caractère de résistance.

Souches	Groupe	Urine	Expectoration	Sang	Total	%
<i>E. coli</i>	I	20	06	02	28	34.57
<i>Klebsiella</i> sp.	II	08	13	03	24	29.63
<i>Citrobacter diversus</i>		01	02	00	03	03.70
<i>C. amalonaticus</i>		01	00	00	01	01.20
<i>Enterobacter</i> sp.	III	08	07	03	18	22.22
<i>Citrobacter freundii</i>		04	02	00	06	07.41
<i>Proteus vulgaris</i>		01	00	00	01	01.20
Total	-	43	30	08	81	
%	-	53	37	10		

RESULTATS

1. Répartition et origine des souches

Au total, 81 souches d'entérobactéries ont été isolées et identifiées dont 33 souches ont été isolées au cours de la période mai-juin 2000 (première période) et 48 souches au cours de la deuxième période (mai-juin 2001).

Sur le tableau 1 figure la répartition des entérobactéries par espèces et par prélèvements. La majorité des souches d'entérobactéries isolées proviennent des prélèvements urinaires (53%). *E. coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée avec 34.57% des souches totales, suivie par *Klebsiella* sp. et *Enterobacter* sp. avec respectivement 29.63% et 22.22%. Les trois taxons sont isolés avec une fréquence sensiblement équivalente.

2. Sensibilité aux β -lactamines

La figure 1 montre les pourcentages moyens de résistance obtenus pour les 81 souches d'entérobactéries étudiées. Lorsqu'on considère l'ensemble des entérobactéries, nos résultats mettent en évidence l'inefficacité de 07 des 10 molécules testées. En effet, nous avons enregistré un taux moyen de résistance de 81.70% à ces 07 molécules et de 45.48% à l'ensemble des β -lactamines testées. Parmi ces dernières, les plus actives sont l'imipénème, le ceftazidime et le céfotaxime avec respectivement 0%, 6% et 7% de souches résistantes.

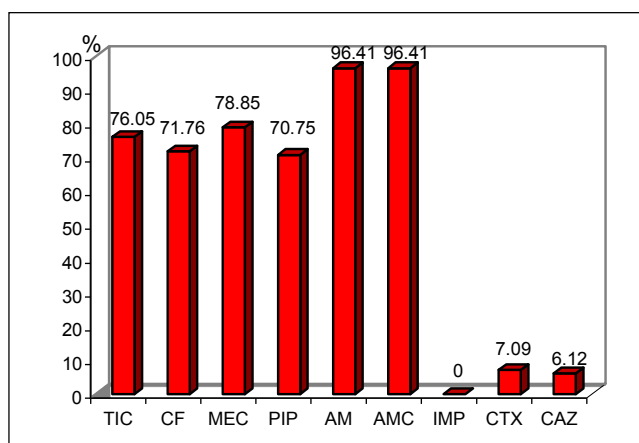


Figure 1: Pourcentages moyens de résistance aux β -lactamines obtenus pour les souches d'entérobactéries.

3. Fréquence des différents phénotypes de résistance aux β -lactamines

Les différents phénotypes de résistance retrouvés sont regroupés dans la figure 2. On note que tous les phénotypes

Tableau 1: Origine des souches d'entérobactéries.

classiques de résistance aux β -lactamines sont retrouvés chez nos souches. Le phénotype TRI est le plus prévalent avec 29.63% des phénotypes isolés.

39.5% des phénotypes retrouvés sont du type sauvage et se répartissent entre Pénicillinase de bas niveau, Céphalosporinase de bas niveau et β -lactamase négative avec respectivement 53%, 37.5% et 9.5% des phénotypes sauvages retrouvés. Les phénotypes acquis sont représentés par TRI, Pénicillinase de haut niveau, Céphalosporinase hyperproduite et BLSE avec respectivement 49%, 28.6%, 18.4% et 4% des phénotypes acquis.

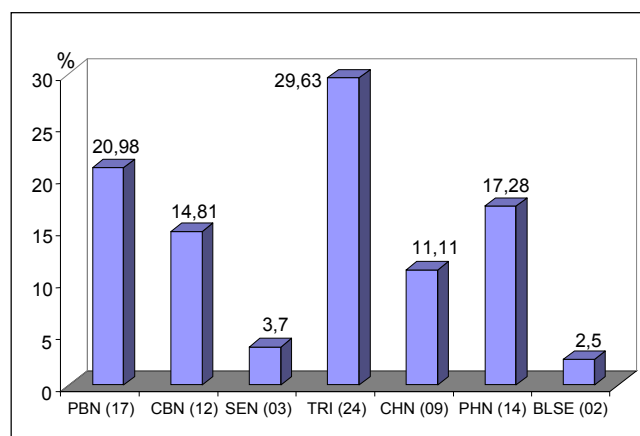


Figure 2: Différents phénotypes de résistance aux β -lactamines retrouvés pour les souches d'entérobactéries.

Légende:

PBN : Pénicillinase bas niveau, **CBN** : Céphalosporinase bas niveau, **SEN** : Phénotype sensible à toutes les β -lactamines, **TRI** : TEM résistant aux inhibiteurs, **CHN** : Céphalosporinase haut niveau, **PHN** : Pénicillinase haut niveau, **BLSE** : β -lactamases à spectre élargi.

Les chiffres entre parenthèses représentent le nombre de souches.

4. Phénotypes retrouvés chez le groupe I

Ce groupe est constitué exclusivement par les souches d'*E. coli*. On note d'après la figure 3 que le phénotype sensible (β -lactamase négative) n'est présent que chez 03 souches.

Le phénotype TRI est le plus fréquemment isolé et représente 64% des phénotypes acquis contre 32% pour le phénotype Pénicillinase de haut niveau et 4% (une souche) pour le phénotype céphalosporinase hyperproduite.

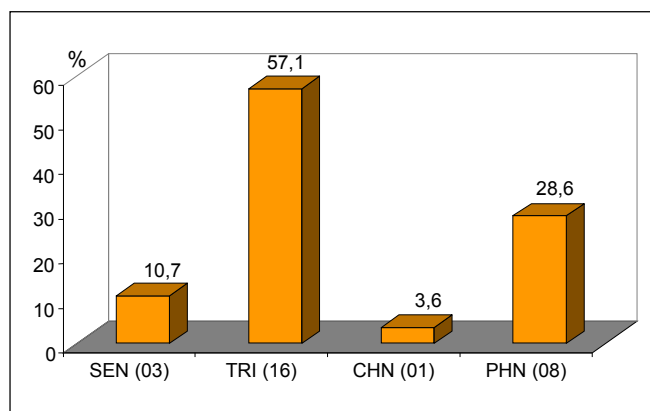


Figure 3: Différents phénotypes de résistance aux β -lactamines retrouvés pour les souches d'*E. coli*.

Légendes: Voir figure 2.

5. Phénotypes retrouvés chez le groupe II

Ce groupe renferme les souches de *Klebsiella* sp., *Citrobacter diversus* et *C. amalonaticus*. Les différents phénotypes de résistance retrouvés sont notés dans la figure 4. Le phénotype sauvage (pénicillinase bas niveau) est présent chez 64.3% des souches. Les phénotypes acquis sont représentés par les phénotypes TRI (25%) et Pénicillinase de haut niveau (10.7%).

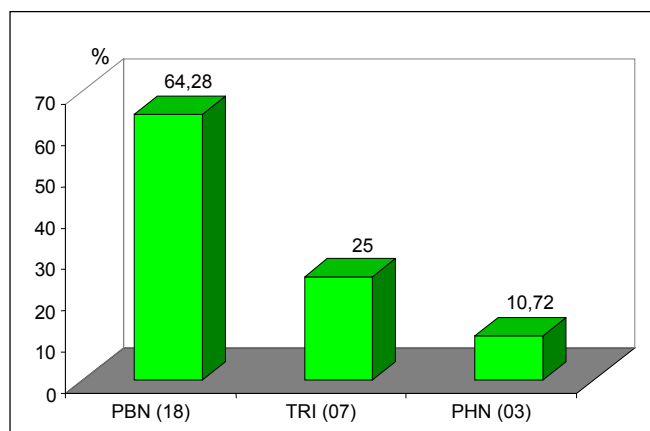


Figure 4: Différents phénotypes de résistance aux β -lactamines retrouvés pour le Groupe II.

Légendes: Voir figure 2.

6. Phénotypes retrouvés chez le groupe III

Ce groupe est constitué par les souches d'*Enterobacter* sp., de *Citrobacter freundii* et de *Proteus vulgaris*. 48% de ces souches produisent une céphalosporinase de bas niveau (phénotype sauvage) (Fig.5). Les phénotypes céphalosporinase de haut niveau (32%), Pénicillinase de haut niveau (12%) et BLSE (8%) représentent les phénotypes acquis.

7. Production de β -lactamases

La recherche de la production des β -lactamases chez les 81 souches d'entérobactéries par le test acidimétrique révèle la présence de ces enzymes chez la totalité des souches à l'exception de trois souches d'*E. coli* qui

s'avèrent sensibles à toutes les β -lactamines.

8. Résultats du curage et du mode d'expression

Le curage des souches par la température a permis de conclure que les β -lactamases synthétisées par nos souches seraient chromosomique dans 50% des cas. Elles seraient constitutives dans 84% des cas.

DISCUSSION

Les entérobactéries peuvent être la cause de multiples infections, en particulier les infections urinaires, les gastro-entérites et les septicémies. Ce n'est donc pas un hasard que 53% de nos souches sont isolées à partir d'urines. Dans notre étude, *E. coli* est l'espèce la plus fréquemment isolée (34.57%) de l'ensemble des prélèvements bactériologiques, ce qui est aussi régulièrement rapporté dans les autres études. La répartition globale des entérobactéries selon le groupe montre une équivalence dans leurs taux d'isolement, contrairement à ce qui est rapporté par l'étude de Gardien *et al* (1997) qui montre une forte proportion d'entérobactéries du groupe I (45.6% pour le groupe I, 28.4% pour le groupe II et 26% pour le groupe III) [6].

L'étude de la sensibilité aux β -lactamines montre une fréquence très élevée de la résistance de ces souches d'entérobactéries à l'ensemble de ces molécules. On rapporte des taux de résistance de 71.76 % pour la céfalotine et de 66 % vis-à-vis de l'ampicilline et de l'association amoxicilline-clavulanate. Pour ces β -lactamines, Soussy [9] donne des taux de 35-40% pour la céfalotine et l'amoxicilline-Clavulanate et 60 % pour l'ampicilline. Cette résistance très accentuée vis-à-vis de ces trois β -lactamines peut constituer un facteur de risque important dans le traitement des infections à entérobactéries puisque c'est pratiquement les seules β -lactamines administrées pour les patients hospitalisés au niveau de cet hôpital. Bien que le taux de résistance enregistré pour le céfotaxime reste très faible (7%), néanmoins des mesures devront être prises en considération afin de prévenir l'utilisation excessive de cet antibiotique et de ce fait, faire diminuer la pression de sélection exercée par un usage important.

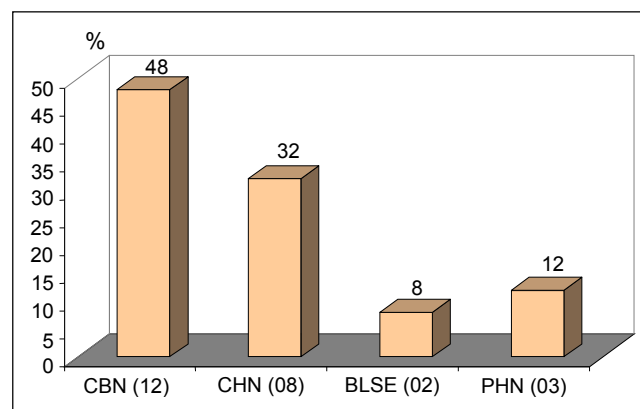


Figure 5: Différents phénotypes de résistance aux β -lactamines retrouvés pour le Groupe III.

Légendes: Voir figure 2.

La forte incidence des phénotypes acquis est à l'origine de la résistance élevée des souches d'entérobactéries aux β -lactamines. La répartition des phénotypes de résistance aux β -lactamines montre une forte prévalence du phénotype TRI et la faible prévalence du phénotype BLSE. Ceci pourrait être expliqué de plusieurs manières :

- Pour le phénotype TRI : il se caractérise par une activité hydrolytique limitée sur certaines β -lactamines, et d'autres part par une faible affinité pour les inhibiteurs compétitifs de β -lactamases (acide clavulanique). Ces caractéristiques les rapprochent beaucoup des oxacillines (OXA). Les similitudes entre ces deux phénotypes de résistance aux β -lactamines étant telles que les deux types d'enzymes ne peuvent être distingués en routine [10]. De plus, chez certaines enzymes TEM et SHV, les mutations de type BLSE sont déterminées en même temps avec celles qui déterminent la résistance des β -lactamases aux inhibiteurs. Les mutations sont des substitutions en position 69, 130, 275 et 276 [11].
- La production de β -lactamases de type BLSE peut être masquée par le phénotype céphalosporinase (naturellement résistant aux inhibiteurs). Ainsi par exemple, certaines souches de *Klebsiella* peuvent acquérir des plasmides codants pour les β -lactamases de type AmpC [7]. De même, les souches d'*E. coli* peuvent, en plus du phénotype BLSE, produire intensément le produit de leur gène ampC (codant pour la céphalosporinase) et masquer ainsi le phénotype BLSE.
- L'avantage du test de synergie utilisé au cours de notre étude pour caractériser les BLSE est sa simplicité et son faible coût; son inconvénient réside au niveau de la séparation optimale des disques qui peut varier avec des souches individuelles dont certaines ne sont pas détectées en routine [7, 12]. Coudron et al. [13] proposent d'utiliser une distance de 15 mm entre le disque d'augmentin et celui du céfotaxime.
- Certains auteurs préconisent d'utiliser le ceftazidime ou le ceftopodoxime pour tester la production des BLSE chez les isolats résistants aux céphalosporines de troisième génération. Ces deux β -lactamines sont choisies car elles sont les meilleurs substrats pour la majorité des BLSE dérivées de TEM et SHV[7].
- Les prescriptions des β -lactamines au niveau de l'hôpital d'Amizour qui sont dans la majorité des cas des aminopénicillines (ampicilline, amoxicilline et augmentin) et des céphalosporines de première génération (céfaloquine et céfalexine) et plus rarement le céfotaxime. Ainsi l'usage intensif de ces β -lactamines non oxy-imino peut être responsable de la sélection d'enzymes mutantes combinant à la fois des mutations de type BLSE et TRI comme les TEM50 et TEM68 [11].

E. coli semble être l'espèce la plus touchée par les phénomènes de résistance : 90% des phénotypes retrouvés sont du type acquis, avec la prédominance du phénotype TRI et du phénotype pénicillinase plasmidique de type TEM. Nos résultats sont très différents de ceux rapportés

par Gardien et al. [6]: Ces auteurs ont rapporté que 63% des phénotypes retrouvés chez le groupe I sont du type sauvage contre 10% pour nos résultats et que seulement 2% des souches produisent une β -lactamase de type TRI contre 57% pour nos souches. De même pour les groupes II et III, les phénotypes sauvages sont présents respectivement dans 63% et 48% des cas contre 80% et 70% pour les groupes II et III rapportés par les mêmes auteurs. On signale aussi la présence du phénotype TRI dans 7 % des souches du groupe II contre 0% pour l'étude de Gardien et al. [6].

CONCLUSION

Bien que cette étude ait porté sur un nombre de souches d'entérobactéries réduit, néanmoins, elle a fourni des résultats préliminaires qui confirment la nécessité de la mise en place de programmes de surveillance du phénomène de résistance aux antibiotiques. Il s'agit en premier lieu d'essayer de faire diminuer la pression de sélection exercée par l'usage important et parfois inadéquat de l'antibiothérapie et surtout d'améliorer les conditions de son utilisation. En outre, l'intérêt d'une telle étude est de permettre à ce genre d'établissements hospitaliers de se situer par rapport aux chiffres nationaux et mondiaux et de développer une démarche d'amélioration de la qualité des soins en fonction des moyens disponibles. De plus, l'investigation du phénomène de la résistance des souches aux antibiotiques permettrait d'avoir la possibilité de sensibiliser un nombre important d'acteurs hospitaliers à la réalité de ce phénomène et à l'intérêt de sa surveillance et de sa maîtrise.

REFERENCES

- [1]- Thomson K.S. and Moland E.S., "Version 2000: the new β -lactamases of Gram negative bacteria in the dawn of millenium", *Microbes and Infection*, 2, (2000), pp. 1225-1235.
- [2]- Courvalin P., Goldstein J., Phillipon A. et Sirot J., "Antibiogramme", *MPC-Videom*, Paris, 1^{ère} édition, (1985), pp. 225-236.
- [3]- Acar J.H., Chardon P., Coutet P., Courvalin P., Drugeon H., Dubreuil L., Flandrois J.P., Goldstein F., Morel C., Phillipon A., Rouveix B., Sirot J. and Thabaut A., "Statement of antibiogram Comité of the French Society for Microbiology", *Pathologie Biologie*, 43, (1995), pp. 1-8.
- [4]- Vedel G., Ratovohery D., Paul G., et Nevot P., "Phénotypes de résistance des entérobactéries aux β -lactamines : description et détection", Pyramide édition (1994).
- [5]- Vedel G., "Lecture interprétative de l'antibiogramme", p. 182-194. in B. Dupond, F. Gerin, V. Jarlier and M. Wolf (ed.), (1998), Bristol-Meyers-Squibb (Arnette).
- [6]- Gardien E., Olive C., Chout R., Garcera Y. et Jouannelle J., "Les entérobactéries hospitalières en Martinique en 1995 : distribution des phénotypes de résistance aux β -lactamines de 4511 souches urinaires et non urinaires", *Med. Mal. Infect.*, 27, (1997), pp. 888-892.
- [7]- Livermore D.M. and Brown D.F.J., "Detection of β -lactamases-mediated resistance", *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 48 suppl1, (2001), pp. 59-64.
- [8]- Bogdanova E., Minakhinn L., Bass I., Voladin A., Hobman J.L. and Nikiforov V., "Class II broad-Spectrum mercury transposons in Gram positive bacteria from natural environments", *Res Microbiol*, 152, (2001), pp.503-514.

- [9]- Soussy C.J., "Etat actuel de la résistance aux antibiotiques", *Médecine thérapeutique*, 03, (1997), pp. 26-35.
- [10]- Libert J. M., Naudin F., Mougeot C. et Sirot D., "Détection en routine de bêta-lactamases TEM résistantes aux inhibiteurs (IRT) et des Oxacillinases chez *Escherichia coli*". *Pathologie Biologie*, 45, (1997), pp. 34-40.
- [11]- Gniadkowski M., "Evolution and epidemiology of extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs) and ESBL-producing microorganisms", *Clin Microbiol Infect*, 7, (2001), pp. 597-608.
- [12]- Tenover F.C., Mohammed M.J., Gorton T.S. and Dembek Z.F., "Detection and reporting of organisms producing Extended-Spectrum β -lactamases: Survey of laboratories in Connecticut", *Journal of Clinical Microbiology*, (1999), pp. 4065-4070.
- [13]- Coudron P.E., Moland E.S. and Sanders C.C., "Occurrence and detection of extended spectrum β -lactamases in members of the *Enterobacteriaceae* at a veterans Medical center: seek and you find", *Journal of clinical Microbiology*, 35, (1997), pp. 2593- 2597. □