

CARACTERISATION PHENOTYPIQUE DES BACILLES A GRAM NEGATIF MULTIRESISTANTS Isoles AU CENTRE NATIONAL HOSPITALIER ET UNIVERSITAIRE HUBERT KOUTOUKOU MAGA DE COTONOU, BENIN

AFFOLABI D.^{1,2*}, ODOUN M², SISSINTO Y¹, SOGBO F¹,
WACHINO P², AMADJIKPE C², SAGBOHAN E², FASSINO L¹,
MASSOUGBODJI A¹, ANAGONOU S^{1,2}

1- Service de Microbiologie, Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga, Cotonou

2- Laboratoire Polyvalent de Biologie Clinique, Centre National Hospitalier de Pneumo-Phtisiologie, Cotonou

(*)Auteur correspondant : Dissou AFFOLABI

Laboratoire Polyvalent de Biologie Clinique, Centre National Hospitalier de Pneumo-Phtisiologie, 01 BP 817 Cotonou, Bénin

Telephone: +229-66-61-48-62

Email: affolabi_dissou@yahoo.fr

(Reçu le 24 Juillet 2013 ; Révisé le 18 Septembre 2013 ; Accepté le 28 Septembre 2013)

RESUME

Objectif. Caractériser les bacilles à Gram négatif multirésistants isolés au Centre National Hospitalier et Universitaire Hubert Koutoukou Maga (CNHU-HKM) de Cotonou

Méthodes. De Mars à Juin 2013, toutes les souches de bacilles à Gram négatif résistantes à au moins une céphalosporine de 3^{ème} génération (pour les *Enterobacteriaceae*), ou à la ceftazidime (s'il s'agit d'un *Pseudomonas*) et/ou à un carbapénème pour toutes les espèces, ont été consécutivement incluses dans l'étude. Pour chaque souche, une large gamme d'antibiotiques a été testée par la méthode de diffusion de disques. Ensuite, les mécanismes de résistance aux β -lactamines ont été recherchés.

Résultats. Parmi les 245 souches de bacilles à Gram négatif isolés dans le laboratoire durant la période d'étude, 113 étaient multirésistantes, soit 46,1%. *Escherichia coli* et *Klebsiella spp* étaient les plus fréquentes parmi ces bactéries et représentaient respectivement 45,1% et 23,0%. Les antibiotiques les plus actifs sur ces souches étaient l'amikacine, l'imipénème, la colistine, la fosfomycine et l'ertapénème avec respectivement 92,0%, 92,0%, 87,6%, 81,4% et 80,5% de souches sensibles. Au total, 76,1% des souches de bacilles à Gram négatif multirésistants étaient productrices de β -lactamase à spectre élargi et 15,0% de céphalosporinase hyperproduite. Aucune souche n'était productrice de carbapénémase.

Conclusion. La prévalence des bactéries multirésistantes est élevée au CNHU-HKM de Cotonou. Des mesures urgentes sont nécessaires pour réduire l'ampleur du phénomène.

Mots clés : Bactéries multirésistantes, bacilles à Gram négatif, mécanismes de résistance, Cotonou

ABSTRACT

Objective. To characterise multidrug-resistant strains of Gram-negative bacilli isolated from clinical samples in the National Teaching Hospital Hubert Koutoukou Maga (CNHU-HKM), Cotonou

Methods. From March to June 2013, all strains of Gram-negative bacilli resistant to at

least a third generation cephalosporin for *Enterobacteriaceae*, or to ceftazidim (for *Pseudomonas spp*) and/or to carbapenem for all species, were consecutively included in the study. For each strain, susceptibility to a large panel of antibiotics by the disc diffusion method was performed. In addition, resistance mechanisms to β -lactams were determined.

Results. Among the 245 strains of Gram-negative bacilli isolated in the laboratory during the study period, 113 (46.1%) were multidrug-resistant. The most frequent multidrug-resistant bacteria were *Escherichia coli* (45.1%) and *Klebsiella spp* (23.0%) and the most active antibiotics were amikacin, imipenem, colistin, fosfomycin and ertapenem with 92.0%, 92.0%, 87.6%, 81.4% and 80.5% susceptibility rate respectively. In total, 76.1% of all multidrug-resistant strains of Gram-negative produced extended-spectrum β -lactamases, and 15.0% hyperproduced cephalosporinase. No strain produced carbapenemase.

Conclusion. Prevalence of multidrug-resistant bacteria is high in CNHU-HKM, Cotonou. Urgent actions are needed to limit the development of this phenomenon.

Key words: Multidrug-resistant bacteria, Gram-negative bacilli, resistance mechanism, Cotonou

INTRODUCTION

Depuis leur émergence à la fin du XX^{ème} siècle, la diffusion mondiale de souches particulières de bactéries dites multirésistantes ne cesse de prendre de l'ampleur (CARS et al., 2008). La multirésistance bactérienne aux antibiotiques limite considérablement les possibilités d'utilisation de ces médicaments en pratique clinique, pouvant aller jusqu'à l'impasse thérapeutique. Elle constitue un problème majeur de santé publique dans le monde, d'autant que peu de nouveaux antibiotiques sont mis sur le marché (ALVAN et al., 2011). Chaque année aux Etats Unis, deux millions de patients développent des infections dues aux bactéries multirésistantes et 25 000 en meurent dans les pays de l'Union Européenne (BASSETTI & RIGHI, 2013). Dans les pays d'Afrique au Sud du Sahara, l'ampleur de la multirésistance bactérienne est très peu documentée à cause entre autres des limites des laboratoires en matière d'outils de diagnostic (OBENG-NKRUMAH et al., 2013).

Parmi les bactéries multirésistantes, les bacilles à Gram négatif occupent une place importante et mettent en jeu plusieurs mécanismes pour contourner l'action des antibiotiques (ELHANI et al., 2012 ; CA-SFM, 2013). La détection de tous les mécanismes de résistance n'est pas toujours réalisée en pratique courante dans les laboratoires des pays à faibles

ressources (OBENG-NKRUMAH et al., 2013). Pourtant, elle est importante non seulement pour une interprétation correcte des résultats de l'antibiogramme mais également pour apprécier le risque épidémique potentiel représenté par les bactéries en cause.

Nous nous sommes donc proposés dans la présente étude, de caractériser les bacilles à Gram négatif multirésistants isolés au Centre National Hospitalier Hubert Koutoukou Maga (CNHU-HKM) de Cotonou, en déterminant leur profil de résistance aux antibiotiques ainsi que les mécanismes de résistance aux bêta-lactamines mis en jeu par ces bactéries.

MATERIEL ET METHODES

Type d'étude

Il s'agit d'une étude prospective et transversale qui s'est déroulée au laboratoire de bactériologie du CNHU-HKM de Cotonou du 06 Mars au 06 Juin 2013.

Ont été inclus dans l'étude, les souches de bacilles à Gram négatif isolées de divers échantillons cliniques reçus dans ce laboratoire durant la période de l'étude et qui présentaient à l'antibiogramme réalisé en routine: une résistance à au moins une céphalosporine de 3^{ème} génération s'il s'agissait d'une entérobactérie, ou au moins à la ceftazidime s'il s'agissait de *Pseudomonas spp* et/ou à un carbapénème pour toutes les souches.

Manipulations effectuées

Identification

A partir de chacune des souches, une identification biochimique incluant le test à l'oxydase et la galerie API 20^E (Biomerieux, France) a été réalisée.

Antibiogramme

L'antibiogramme, incluant une large gamme d'antibiotiques qui n'étaient pas habituellement testés en routine dans le laboratoire, a été réalisé sur toutes les souches. Il a été fait selon la méthode de diffusion de disques, par inondation sur gélose Mueller Hinton, à partir d'une suspension bactérienne à 0,5 Mac Farland diluée au 1/100^{ème}. Les antibiotiques testés, de même que leur charge étaient : acide nalidixique (30µg), amikacine (30µg), amoxicilline (25µg), amoxicilline + acide clavulinique (AMC, 20µg/10µg), aztréonam (30µg), céfalotine (30µg), céfépime (30µg), ceftriazone (30µg), céfoxitine (30µg), ceftazidime (30µg), cefuroxime (30 µg), ciprofloxacine (5µg), colistine (50µg), doripénème (10µg), ertapénème (10µg), fosfomycine (50µg), gentamicine (15µg), imipénème (10µg), nitrofuranes (300µg), nétilmicine (30µg), pipéracilline (75µg) et pipéracilline/tazobactam (75µg/10µg). L'interprétation des résultats (sensible, intermédiaire, résistant) était basée sur les recommandations du Comité d'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM) (CA-SFM, 2013).

Recherche des mécanismes de résistance

La recherche des différents mécanismes a été faite selon les recommandations du CA-SFM (CA-SFM, 2013).

β-lactamase à spectre élargi (BLSE)

Pour permettre la mise en évidence de la production éventuelle par les souches étudiées, d'une BLSE, le disque d'AMC a été disposé sur la gélose Mueller Hinton de sorte qu'il était entouré des disques suivants : ceftriaxone (CRO), ceftazidime (CAZ), aztréonam (ATM) et céfépime (FEP) ; chacun situé à une distance (centre à centre) de 30 mm du disque d'AMC. Cette disposition a permis la détection de la plupart des souches productrices de BLSE.

Parfois, en cas d'image non nette de production de BLSE, la distance entre les disques a été augmentée ou réduite pour permettre une bonne visualisation du mécanisme. La présence d'une BLSE s'est traduite par une image en « bouchon de champagne » entre le disque d'AMC et l'un au moins des disques suivants : CRO, CAZ, ATM et FEP.

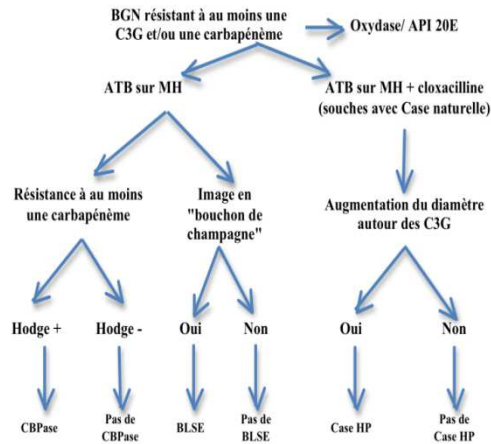
Céphalosporinase hyperproduite

Sa recherche a été faite sur les espèces bactériennes connues pour produire une céphalosporine naturelle. Dans ce cas, après l'antibiogramme classique, l'antibiogramme a été refait sur gélose Mueller Hinton incorporée de cloxacilline (250mg/l pour les *Enterobacteriaceae* et *Acinetobacter spp* et 500mg/l pour *Pseudomonas spp*). Le diamètre d'inhibition autour des disques de céphalosporine a été comparé au diamètre observé autour des mêmes disques sur le milieu Mueller Hinton ordinaire. Une souche a été considérée comme productrice de céphalosporinase hyperproduite si le diamètre sur le milieu Mueller Hinton + cloxacilline était supérieur de plus de 2mm au diamètre sur le milieu Mueller Hinton ordinaire.

Carbapénémase

Elle a été faite par le test de Hodge sur les souches présentant une résistance à au moins un carbapénème comme initialement décrit. Elle a été basée sur l'utilisation d'un disque d'imipénème (10µg) pour *Pseudomonas aeruginosa* et d'ertapénème (10µg) pour les autres bactéries. Pour chaque souche, la souche de référence sensible *Escherichia coli* ATCC 25922 a été ensemencée par inondation sur gélose Mueller Hinton à l'aide d'une suspension à 0,5 Mac Farland diluée au 1/10^{ème}. Les souches à tester et une souche témoin négatif ont été ensuite ensemencées en strie sur le même milieu depuis le disque vers le bord de la gélose sur une longueur d'environ 20mm. La production de carbapénémase se traduit par une déformation de la zone d'inhibition au niveau de la souche test contrairement à la souche témoin négatif.

L'algorithme ci-dessous résume les procédures effectuées (Figure 1):



BGN : bacilles à Gram négatif ; C3G : céphalosporine de 3^{ème} génération ; ATB : antibiogramme ; MH : Mueller Hinton ; CBPase : carbapénémase ; BLSE : β -lactamase à spectre élargi ; Case HP : céphalosporinase hyperproduite

Figure 1 : Algorithme des tests effectués au cours de l'étude

La saisie et l'analyse des données ont été faites avec le logiciel Epi info 6.

RESULTATS

Parmi les 245 souches de bacilles à Gram négatif isolées dans le laboratoire au cours de la période de notre étude, 113 souches étaient multirésistantes soit 46,1%.

Caractéristiques générales

Au total, 53,0% des souches provenaient des patients hospitalisés. De plus, comme le montre la figure 2, 70 des 113 souches soit 61,9% provenaient des urines et 28 des pus (24,8%).

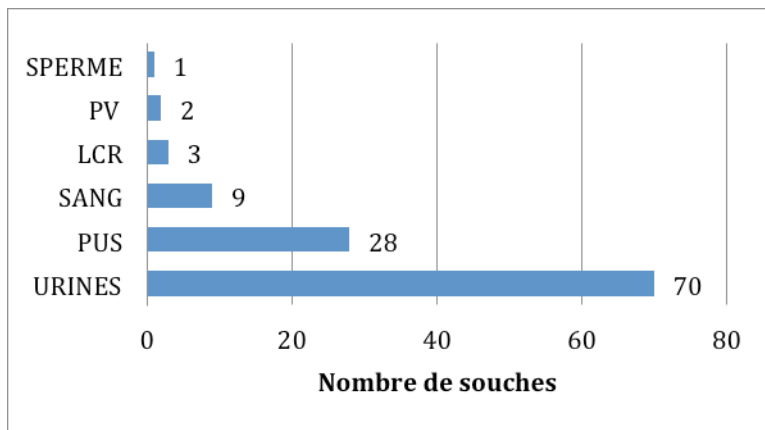


Figure 2: Répartition des souches en fonction de la nature des échantillons.

Escherichia coli était le germe le plus représenté (45,1%) suivi de *Klebsiella spp* (23,0%), *Acinetobacter spp* (14,2%), *Enterobacter spp* (6,2%) et de *Pseudomonas aeruginosa* (2,7%). Les autres germes rarement isolés étaient *Morganella morganii*, *Providencia spp*, *Citrobacter koseri*, *Citrobacter freundii*, et *Proteus mirabilis*. Quatre souches n'ont pas pu être identifiées par la galerie API 20^E.

Sensibilité aux antibiotiques

Comme le montre le tableau I, moins de 20% des souches était sensibles à AMX, AMC, ATM, CEF, CRO, CXM, PIP; entre 20 à 50% sensibles à NA, NET, GEN, CIP, CAZ, FEP; 50 à 80% sensibles à FNT, FOX, PTZ et enfin, plus de 80% des souches étaient sensibles à ERT, FOS, COL, IMP, AKN.

Tableau I: Sensibilité aux antibiotiques

N°	Antibiotiques	Abréviations	Résultats du test de sensibilité		
			S N (%)	I N (%)	R N (%)
1	Acide nalidixique	NA	28 (24,8)	00 (00,0)	85 (75,2)
2	Amikacine	AKN	104 (92,0)	02 (01,8)	07 (06,2)
3	Amoxicilline	AMX	06 (05,3)	01 (00,9)	106 (93,8)
4	Amoxicilline+Acide clavulanique	AMC	18 (15,9)	66 (58,4)	29 (25,7)
5	Aztréonam	ATM	13 (11,5)	17 (15,0)	83 (73,5)
6	Céfalotine	CEF	00 (00,0)	00 (00,0)	113 (100,0)
7	Céfépime	FEP	38 (33,6)	23 (20,4)	52 (46,0)
8	Ceftriazone	CRO	01 (00,9)	07 (06,2)	105 (92,9)
9	Céfoxitine	FOX	72 (63,7)	12 (10,6)	29 (25,7)
10	Ceftazidime	CAZ	27 (23,9)	18 (15,9)	68 (60,2)
11	Cefuroxime	CXM	00 (00,0)	02 (01,8)	111 (98,2)
12	Ciprofloxacine	CIP	25 (22,1)	08 (07,1)	80 (69,0)
13	Colistine	COL	99 (87,6)	02 (01,8)	12 (10,6)
15	Ertapénème	ERT	91 (80,5)	02 (01,8)	20 (17,7)
16	Fosfomycine	FOS	92 (81,4)	02 (01,8)	19 (16,8)
17	Gentamicine	GEN	24 (21,2)	05 (04,4)	84 (74,3)
18	Imipénème	IMP	104 (92,0)	03 (02,7)	06 (05,3)
19	Nitrofuranes	FNT	62 (54,9)	03 (02,7)	48 (42,4)
20	Netilmicine	NET	50 (44,2)	26 (23,0)	37 (32,8)
21	Pipéracilline	PIP	14 (12,4)	05 (04,4)	94 (83,2)
22	Pipéracilline/Tazobactam	PTZ	83 (73,5)	21 (18,6)	09 (08,0)

S : sensible ; I : intermédiaire ; R : résistant

Mécanismes de résistance

De tous les mécanismes de résistance étudiés, la production de BLSE était la plus fréquente et représentait 76,1% (Tableau II).

Tableau II: Mécanismes de résistance retrouvés

Mécanisme de résistance	Nombre de souches	Pourcentage
BLSE	86	76,1
Céphalosporinase hyperproduite	17	15,0
BLSE + Céphalosporinase hyperproduite	09	08,0
Carbapénémase	00	00,0

BLSE : β -lactamase à spectre élargi

Ces souches productrices de BLSE étaient présentes chez les patients hospitalisés dans 80,2% des cas contre 19,8% chez les patients non hospitalisés. La différence est statistiquement significative ($p < 0,01$). De plus, elles étaient plus fréquentes dans les urines (62,8%) que dans les autres types de prélèvements (37,2%) ($p < 0,01$).

En considérant uniquement les entérobactéries, 84 souches/94 (89,4%) étaient productrices de BLSE. Parmi elles, 9 (9,6%) étaient également productrices de céphalosporinase hyperproduite. Il n'y a pas d'entérobactérie productrice de céphalosporinase hyperproduite sans BLSE.

DISCUSSION

Au CNHU-HKM de Cotonou, près d'une souche sur deux de bacilles à Gram négatif (46,1%) était multirésistant. Les principaux types de bacilles à Gram négatif multirésistants classiquement décrits dans la littérature, sont les entérobactéries productrices de BLSE, les entérobactéries productrices de céphalosporinase hyperproduite, *Pseudomonas aeruginosa* résistant à la ceftazidime et *Acinetobacter spp* résistant à la ticarcilline (NICASIO et al., 2008). Dans notre série, la production de BLSE chez les entérobactéries était le mécanisme le plus fréquent. Il existe peu de données, notamment en Afrique au Sud du Sahara sur les bactéries multirésistantes. Cependant les rares études disponibles indiquent une prévalence élevée de ces souches (OBENG-NKRUMAH et al., 2013). Par exemple, dans une récente étude, Obeng-Nkrumah a retrouvé dans un hôpital universitaire d'Accra (Ghana), 49,3% de

souches productrices de BLSE parmi les entérobactéries (ALABI et al., 2013 ; IDOWU et al., 2011 ; OBENG-NKRUMAH et al., 2013 ; SENI et al., 2013). Grâce à leur grande efficacité, leur coût réduit et leur faible toxicité, les β -lactamines représentent le groupe d'antibiotiques le plus prescrit en pratique médicale courante. Cette utilisation intensive et parfois inappropriée surtout dans les pays à faibles ressources comme le Bénin, favorise la sélection des souches multirésistantes (AFFOLABI et al., 2009). Par ailleurs, la dissémination dans la communauté de ces souches est favorisée par le support génétique qui sous-tend le mécanisme de résistance en cause. En effet, la diffusion des BLSE est rapide parce que le gène en cause est plasmidique et les BLSE ont ainsi été impliqués dans de nombreuses épidémies dans les établissements de soins (TAMMA et al., 2012). En revanche, la production de céphalosporinase hyperproduite a un support chromosomique, entraînant une diffusion relativement limitée des germes porteurs de ce mécanisme. Dans notre série, la production de céphalosporinase hyperproduite était associée à la production de BLSE dans certains cas.

La mise en évidence des mécanismes de résistance est importante au laboratoire. En effet, en cas de céphalosporinase hyperproduite seule, les céphalosporines dites du groupe 4 (cefepime et ceftiprome) demeurent encore actives sur les bactéries. En revanche, ces molécules étaient considérées comme inactives en cas de BLSE. Mais, pour lutter contre une utilisation intensive des carbapénèmes et ralentir le développement de la résistance à ces antibiotiques, le CA-SFM a récemment

recommandé de ne plus interpréter comme résistantes les céphalosporines de 3^{ème}/4^{ème} génération qui paraissent sensibles à l'antibiogramme. Il est alors demandé de réaliser des concentrations minimales inhibitrices (CMI) dans les infections graves à ces souches [CA-SFM, 2013]. Cependant, compte tenu de la non disponibilité des CMI dans nos conditions de travail, il serait prudent d'interpréter comme Intermédiaire les céphalosporines de 3^{ème}/4^{ème} génération qui paraissent sensibles à l'antibiogramme chez les souches porteuses de BLSE.

Par ailleurs, la présence d'une céphalosporinase hyperproduite notamment chez les entérobactéries du groupe 3, peut masquer l'image classique en « bouchon de champagne », caractéristique de BLSE. C'est pourquoi, il est recommandé de refaire en parallèle l'antibiogramme sur Mueller Hinton ordinaire et sur Muller Hinton incorporé de cloxacilline chez les entérobactéries notamment du groupe 3 et qui présentent une résistance aux céphalosporines de 3^{ème} génération (CA-SFM, 2013).

Heureusement, il n'y a pas de souches productrices de carbapénémase dans notre série. En effet, les carbapénèmes demeurent le dernier recours thérapeutique dans les infections graves à bacilles à Gram négatif multirésistants. Ces souches ont été décrites dans plusieurs pays, notamment en Europe du Sud et en Asie (NORDMANN et al., 2011). L'absence de souches productrices de carbapénémase dans notre série peut s'expliquer par le coût élevé de ces antibiotiques. Ainsi, peu de patients sont capables de supporter un traitement à cette famille d'antibiotiques.

La plupart des souches multirésistantes retrouvées ici ne sont sensibles qu'à un nombre limité d'antibiotiques qui sont soit disponibles uniquement par voie injectable et très chers (imipénème), soit non habituellement testés dans notre laboratoire au CNHU-HKM au moment de l'étude et/ou non disponibles dans

les pharmacies de la place ou de l'hôpital (par exemple association piperacilline-tazobactam).

Comme retrouvé dans la présente étude, les bactéries multirésistantes sont plus fréquentes en milieu hospitalier (TAMMA et al., 2012). Cependant, elles ont été retrouvées ici dans 17 échantillons provenant de patients non hospitalisés, indiquant que le problème n'est plus limité à l'hôpital et la nécessité de mettre en place des mesures urgentes pour limiter le développement de ce phénomène.

Les infections à bactéries multirésistantes représentent un problème important de santé publique dans les pays en voie de développement, où pourtant les faibles ressources des patients ne permettent pas de supporter le coût de leur traitement (KANOKSIL et al., 2013). De plus, compte tenu du marché relativement limité, beaucoup de pharmacies dans ces pays ne s'approvisionnent pas en ces médicaments et la prise en charge adéquate de ces infections n'est pas toujours possible même pour les patients qui en ont les moyens. Enfin, les laboratoires de bactériologie dans ces pays n'ont pas toujours les infrastructures et les compétences nécessaires pour identifier ces bactéries et proposer des alternatives thérapeutiques aux cliniciens.

Plusieurs actions doivent donc être conjointement entreprises devant cette situation. Non seulement, il faut engager des mesures pour lutter contre le développement de la résistance en améliorant la prescription adéquate des antibiotiques, il est également important de proposer des solutions thérapeutiques efficaces aux patients déjà porteurs de ces infections. Ainsi, il faut élargir la gamme d'antibiotiques testés au laboratoire, pour ne pas rendre un antibiogramme où seule l'imipénème est active avec un grand risque de développement de la résistance à cet important antibiotique. Il faut enfin agir au niveau des pharmacies pour que ces médicaments soient disponibles.

REFERENCES BIBLIOGRAPHIQUES

1. AFFOLABI D., ALIDJINOU K. E., DOSSOU-GBETE L., LANKPEKO C. M., PARAISO M. N., ANAGONOU S. Y., 2009. Evaluation de la prescription des antibiotiques en médecine ambulatoire à Cotonou, Bénin. *Bulletin de la Société de Pathologie Exotique*, 102, 110-112.
2. ALABI A. S., FRIELINGHAUS L., KABA H., KÖSTERS K., HUSON M. A., KAHL B. C., PETERS G., GROBUSCH M. P., ISSIFOU S., KREMSNER P. G., SCHAUMBURG F., 2013. Retrospective analysis of antimicrobial resistance and bacterial spectrum of infection in Gabon, Central Africa. *BMC Infectious Diseases*, 13, 455.
3. ALVAN G., EDLUND C., HEDDINI A., 2011. The global need for effective antibiotics – a summary of plenary presentations. *Drug Resistance Updates*, 14, 70-76.
4. BASSETTI M., RIGHI E., 2013. Multidrug-resistant bacteria: what is the threat? *Haematology American Society of Hematology Education Programme*, 2013, 428-432.
5. CARS O., HÖGBERG L. D., MURRAY M., NORDBERG O., SIVARAMAN S., LUNDBORG C. S., SO A. D., TOMSON G., 2008. Meeting the challenge of antibiotic resistance. *British Medical Journal*, 337, a1438.
6. Comité de l'antibiogramme de la Société Française de Microbiologie. Recommandations 2013. <http://www.sfm-microbiologie.org>.
7. ELHANI D., ELHANI I., AOUNI M., 2012. Resistance in Gram negative bacteria: What is the current situation? *Tunis Medical*, 90, 680-685.
8. IDOWU O. J., ONIPEDE A. O., ORIMOLADE A. E., AKINYOOOLA L. A., BABALOLA G. O., 2011. Extended-spectrum Beta-lactamase Orthopedic Wound Infections in Nigeria. *Journal of Global Infectious Diseases*, 3, 211-215.
9. KANOKSIL M., JATAPAI A., PEACOCK S. J., LIMMATHUROTSAKUL D., 2013. Epidemiology, microbiology and mortality associated with community-acquired bacteremia in northeast Thailand: a multicenter surveillance study. *PLoS One*, 8, e54714.
10. NICASIO A. M., KUTI J. L., NICOLAU D. P., 2008. The current state of multidrug-resistant gram-negative bacilli in North America. *Pharmacotherapy*, 28, 235-249.
11. NORDMANN P., NAAS T., POIREL L., 2011. Global spread of Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerging Infectious Diseases*, 17, 1791-1798.
12. OBENG-NKRUMAH N., TWUM-DANSO K., KROGFELT K. A., NEWMAN M. J., 2013. High levels of extended-spectrum beta-lactamases in a major teaching hospital in Ghana: the need for regular monitoring and evaluation of antibiotic resistance, *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 89, 960-964.
13. SENI J., NAJJUKA C. F., KATEETE D. P., MAKOBORÉ P., JOLOBA M. L., KAJUMBULA H., KAPESA A., BWANGA F., 2013. Antimicrobial resistance in hospitalized surgical patients: a silently emerging public health concern in Uganda. *BMC Research Notes*, 6, 298.
14. TAMMA P. D., SAVARD P., PÁL T., SONNEVEND Á., PERL T. M., MILSTONE A. M., 2012. An outbreak of extended-spectrum β -lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal intensive care unit. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 33, 631-634.