

EPIDEMIOLOGIE DES SOUCHES DE *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PRODUCTRICES DE β -LACTAMASES A SPECTRE ELARGI DANS UN HOPITAL UNIVERSITAIRE AU SENEGAL, 2011

CAMARA M, DIOP-NDIAYE H, BA-DIALLO A, KARAM F, MBOW M, FAYE A, DIOP-DIOP M, DIAGNE-SAMB A, TOUPANE M, MBENGUE AS, TOURE-KANE NC, MBOUP S, GAYE-DIALLO A

RESUME

Objectifs : Au cours de ces dix dernières années, la résistance bactérienne aux antibiotiques, particulièrement par production de β -lactamases à spectre élargi (BLSE), est devenue un problème majeur de santé publique. L'objectif de cette étude est de déterminer la prévalence des souches de *Klebsiella pneumoniae* BLSE au CHNU Le Dantec, Dakar, Sénégal.

Méthodes : Il s'agit d'une étude rétrospective sur une période de 12 mois portant sur 139 souches de *K. pneumoniae*. La détection des BLSE a été effectuée par la méthode de diffusion par double disque.

Résultats : Parmi les 139 souches de *K. pneumoniae* étudiées, 44 (31,7%) étaient productrices de BLSE. Trente trois (75%) de ces 44 souches étaient d'origine nosocomiale ($p = 0,016$). Ces souches étaient surtout isolées chez les patients hospitalisés dans les unités de soins intensifs (USI : 45,4% ; $p = 0,031$) et provenaient principalement de prélèvements d'urines (59%) et de pus (25%). Toutes les souches de *K. pneumoniae* étaient résistantes à l'Amoxicilline, à la Pipéracilline et à la Céfalotine. La majorité des souches de *K. pneumoniae* BLSE avait en outre une résistance à l'association sulfaméthoxazole/triméthoprim (95,2%), à la Gentamicine (78,6%), à la Ciprofloxacine (67,4%) et à l'Amikacine (41%). Par contre, elles demeurent très sensibles à l'Imipénème et à la Fosfomycine.

Conclusion : La résistance des entérobactéries, notamment *K. pneumoniae*, aux fluoroquinolones par production de BLSE devient de plus en plus préoccupante. Ceci suggère une utilisation plus rationnelle des fluoroquinolones, en particulier dans les traitements de première intention des infections du tractus urinaire.

Mots-clés : *Klebsiella pneumoniae* ; BLSE

Laboratoire de Bactériologie-Virologie, Centre Hospitalier National Universitaire (CHNU) Aristide Le Dantec

Auteur correspondant : Dr. CAMARA M Téléphone : (221) 33 822 59 19 Fax : (221) 33 823 53 68 E-mail : camaramakhtar@yahoo.fr

ABSTRACT

EPIDEMIOLOGY OF EXTENDED-SPECTRUM β -LACTAMASE-PRODUCING *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* IN A SENEGALESE UNIVERSITY HOSPITAL, 2011

Background: During the last decade, bacterial resistance to antibiotics, particularly by extended-spectrum β -lactamase (ESBL) has become a major public health problem. The objective of this study was to assess the prevalence of ESBL-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from in-come and out-come patients at Aristide Le Dantec university hospital national centre, Dakar, Senegal.

Methods: This is a retrospective study over a period of 12 months and focused on 139 strains of *K. pneumoniae*. ESBL detection was performed using a double disc diffusion method.

Results: Among the 139 *K. pneumoniae* strains studied, 44 (31.7%) were ESBL-producer. Thirty-three (75%) of these 44 *K. pneumoniae* strains had nosocomial origin ($p = 0.016$). These ESBL *K. pneumoniae* strains were mainly isolated from patients hospitalized in intensive care units (ICU: 45.4%; $p = 0.031$), particularly from urines (59%) and pus (25%). All ESBL *K. pneumoniae* strains were resistant to Amoxicillin, Piperacillin, and Cefalotin. Most of these ESBL *K. pneumoniae* strains had in addition resistance to sulfamethoxazole/trimethoprim association (95.2%), Gentamicin (78.6%), Ciprofloxacin (67.4%), Amikacin (41%). However, they remain very sensitive to Imipenem and Fosfomycin.

Conclusion: Resistance of Enterobacteriaceae, including *K. pneumoniae*, to fluoroquinolones through the mechanism of ESBL production is becoming increasingly worrying. This suggests a more rational use of fluoroquinolones, especially as first-time treatment of urinary tract infections.

Keywords: *Klebsiella pneumoniae*; ESBL

INTRODUCTION

Au cours de ces dix dernières années, la résistance bactérienne croissante aux agents antimicrobiens est devenue un préoccupant problème de santé publique.

Le problème majeur de la prise en charge des infections nosocomiales est l'émergence d'entérobactéries productrices de bêta-lactamases à spectre élargi (BLSE). Ces enzymes, décrites pour la première

fois en 1983 en Allemagne à partir de souches de *Klebsiella pneumoniae* et de *Serratia marcescens* (Knothe et al, 1983), ont été rapportées à travers le monde et s'étendent à différentes espèces d'entérobactéries (Bradford, 2001). Les BLSE sont des enzymes transférables à médiation plasmidique qui inactivent les oxyimino- β -lactamines (céfotaxime, ceftazidime, aztréonam) (Philippon et al, 1994). Les infections nosocomiales, causées par les entérobactéries pourvues de ces enzymes, posent un véritable problème thérapeutique du fait de la multirésistance et du choix limité des molécules d'antibiotiques disponibles sur le marché (Paterson, 2000).

Les microorganismes producteurs de BLSE, en particulier *K. pneumoniae*, ont été associés à l'expansion des infections nosocomiales conduisant à une hospitalisation prolongée, une augmentation de la morbidité et de la mortalité et par conséquent à des coûts élevés de prise en charge sanitaire (Paterson et al, 2004 ; Slama, 2008).

A notre connaissance, peu de données permettent de définir l'ampleur de ce phénomène au Sénégal, tant au niveau hospitalier que communautaire. C'est dans ce contexte que cette étude *in vitro* de susceptibilité antimicrobienne sur des souches de *K. pneumoniae* isolées au laboratoire de Bactériologie du CHU Aristide Le Dantec a été effectuée, de Janvier à Décembre 2011.

PATIENTS ET MÉTHODES

Patients

Il s'agit d'une étude rétrospective sur une période de 12 mois (du 1er janvier au 31 décembre 2011). Elle a porté sur 139 patients, hospitalisés ou non, chez qui nous avons isolé une souche de *K. pneumoniae* au niveau du laboratoire de Bactériologie du CHU Aristide Le Dantec.

Méthodologie

L'identification des souches isolées a été réalisée par la galerie biochimique classique d'identification des entérobactéries. La sensibilité aux antibiotiques a été déterminée par la méthode de diffusion des disques en milieu gélosé (milieu Mueller Hinton) selon les recommandations du Comité de l'Antibiogramme de la Société Française de Microbiologie (CA-SFM). La recherche de BLSE a été réalisée par le test de synergie en plaçant les disques de céfotaxime, ceftriaxone ou ceftazidime et aztréonam à 30 mm autour d'un disque central d'amoxicilline-acide clavulanique. La présence de BLSE est matérialisée par une distorsion de la zone d'inhibition autour du disque contenant l'oxyimino β -lactamine, et ceux en regard du disque contenant l'acide clavulanique, décrivant ainsi une image en « bouchon de champagne ».

Analyse statistique

L'analyse des données a été effectuée par le logiciel SPSS (version 16). Les différences entre groupes ont été testées en utilisant les tests non paramétriques χ^2 ou "Fisher's exact test". Les résultats sont considérés comme statistiquement significatifs pour des valeurs de $p < 0,05$.

RÉSULTATS

Au cours de la période d'étude, 145 souches de *Klebsiella spp* ont été isolées et leur sensibilité aux antibiotiques et la recherche de BLSE ont été effectuées. Parmi ces 145 souches de *Klebsiella spp*, 139 ont été identifiées comme étant des *K. pneumoniae*, représentant 22,7% des entérobactéries testées en 2011.

Parmi les 139 souches de *K. pneumoniae* étudiées, 44 (31,7%) étaient productrices de BLSE ($P = 0,506$). La majeure partie de ces souches de *K. pneumoniae* BLSE (75%) sont d'origine nosocomiale contre 25% d'origine communautaire ($p = 0,016$).

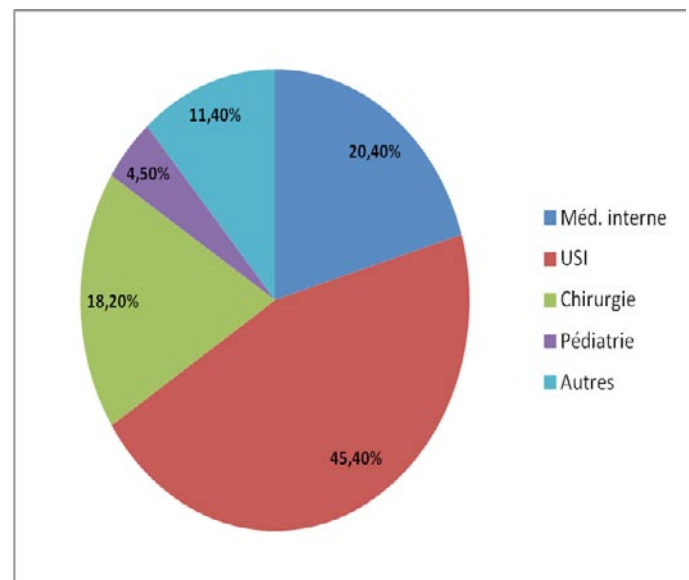


Figure 1 : Répartition des souches de *K. pneumoniae* BLSE selon le service d'accueil

Ces souches de *K. pneumoniae* BLSE étaient surtout isolées chez les patients hospitalisés dans les unités de soins intensifs (USI) avec une fréquence de 45,4% ($p = 0,031$; Figure 1). Cependant, des taux non négligeables ont été observés en Médecine interne et en Chirurgie, avec respectivement 20,4% et 18,2%.

Les 44 souches sécrétrices de BSLE provenaient principalement de prélèvements d'urines (59%) et de pus (25%) (Figure 2). Par contre, 9,1% seulement de ces souches ont été isolées des hémocultures.

Toutes les souches de *K. pneumoniae* étaient résistantes à l'Amoxicilline, au Pipéracilline et à la Céfalo-tine. En outre, la majorité des souches de *K. pneumoniae* BLSE avait associé une résistance au complexe sulfaméthoxazole/triméthoprime (95,2%), à la Gen-

tamicine (78,6%), à la Ciprofloxacine (67,4%) et à l'Amikacine (41%). Par contre, elles demeurent très sensibles à l'Imipénème (exceptée une souche) et à la Fosfomycine.

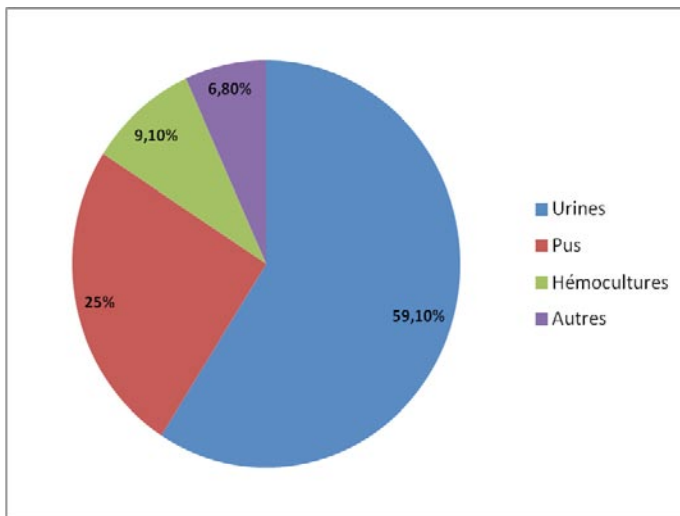


Figure 2 : Répartition des souches de *K. pneumoniae* BLSE selon le produit pathologique

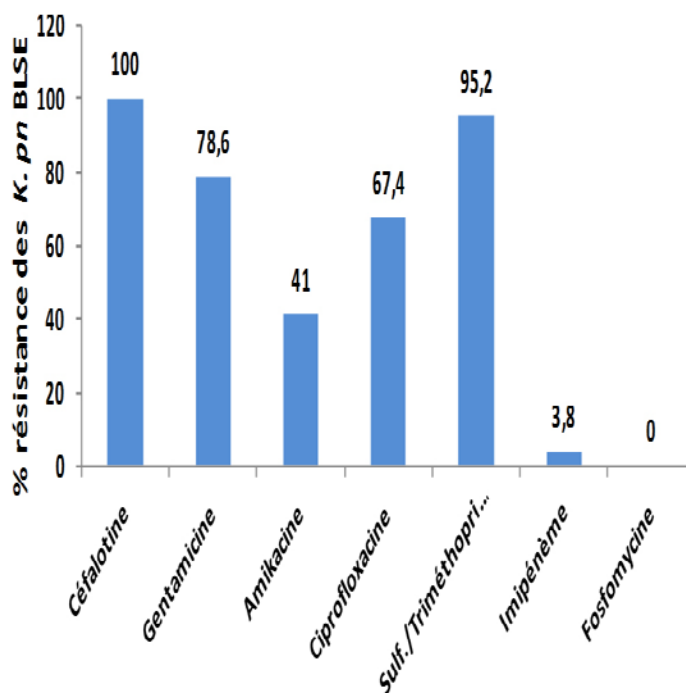


Figure 3 : Taux de résistance des souches de *K. pneumoniae* BLSE selon l'antibiotique

DISCUSSION

L'objectif principal de notre étude était de déterminer la prévalence des souches de *K. pneumoniae* sécrétrices de β -lactamases à spectre élargi isolées au laboratoire de Bactériologie du CHU Aristide Le Dantec en 2011. L'étude de la sensibilité des antibiotiques a été effectuée par la méthode de diffusion en milieu gélosé. La détection de BLSE a été effectuée, par synergie entre un disque d'Amoxicilline/acide clavulanique et un disque de céphalosporine de troisième génération, sur 139 souches de *K. pneumoniae*. No-

tre étude a montré un taux relativement élevé de *K. pneumoniae* BLSE (31,7%) comparable au taux de prévalence observée en 2009 qui était de l'ordre de 29,6%. *K. pneumoniae* est un pathogène à fort potentiel épidémique et la dissémination des souches productrices de BLSE est marquée par de grandes disparités géographiques (Winokur et al, 2001). Nos résultats sont en phase avec les très fortes prévalences de résistance retrouvées en Amérique du Sud avec des taux compris entre 45 et 52% (Villegas et al, 2008), aux Etats-Unis d'Amérique avec 34% (Quale et al, 2002) de même qu'en Asie avec plus de 30% en Chine et 68% en Inde (Hawkey, 2008). Les souches de *K. pneumoniae* sécrétrices de BLSE restent encore très disséminées dans les pays africains avec des prévalences variables selon les régions (Elhani, 2012).

De nombreuses études témoignent de la dissémination quasi-mondiale de ces souches multirésistantes. Néanmoins, l'incidence varie considérablement selon les pays, les hôpitaux, et les lieux de prélèvements (Winokur et al, 2001). Les souches d'entérobactéries sécrétrices de BLSE étaient plus souvent retrouvées en milieu hospitalier (Winokur et al, 2001). Cependant, on assiste de plus en plus à l'augmentation de la fréquence de ces souches au niveau communautaire (Younes et al, 2011 ; Lonchel et al, 2012).

De nombreux facteurs ont été cités dans l'augmentation de la fréquence de ces résistances dans les pays en développement. Parmi ces facteurs, nous pouvons citer la mauvaise qualité des médicaments ou une posologie inadéquate, les traitements au long cours, l'usage abusif des antibiotiques par les professionnels de la santé, l'automédication et les mauvaises conditions d'hygiène (Tandé et al, 2009). Dans notre étude 75% des souches de *K. pneumoniae* isolées étaient d'origine nosocomiale. En effet, cette bactérie a été décrite comme étant responsable de nombreuses épidémies nosocomiales; et la fréquence de souches hospitalières productrices de BLSE dépend de beaucoup de facteurs et peut beaucoup varier (Winokur et al, 2001).

La grande majorité des souches de *K. pneumoniae* BLSE (45,4%) isolées dans notre étude provenaient des USI adultes et pédiatriques. Il a été montré que les patients hospitalisés dans ces services constituent des points de départ dans l'écllosion des épidémies à *K. pneumoniae* BLSE (Brinas et al, 2004 ; Elhani et al, 2006). Ceci serait en rapport avec l'admission en USI, une hospitalisation prolongée, une chirurgie abdominale, un cathétérisme IV, un sondage urinaire, une hémodialyse et l'utilisation abusive d'antibiotiques à large spectre tels que les céphalosporines, les fluoroquinolones, les tétracyclines et les aminosides (Jacoby et Munoz, 2005).

Dans notre étude, les souches de *K. pneumoniae* BLSE provenaient principalement de prélèvements d'urines (59%). Nos résultats concordent avec les pré-

valences observées en Tunisie (Elhani et al, 2006), en Arabie Saoudite (Tawfik et al, 2011) et aux Etats Unis d'Amérique (Quale et al, 2002). Cependant, des taux élevés d'hémocultures positives à *K. pneumoniae* BLSE ont été décrits par certains auteurs (Elhani et al, 2006 ; Rebuck et al, 2000). Cela peut être dû au fait que les septicémies à *K. pneumoniae* ont souvent pour point de départ une infection du tractus urinaire (ITU).

Toutes les souches isolées dans notre étude ont été résistantes à l'Amoxicilline, au Pipéracilline et à la Céfalotine. Les plasmides codant pour les gènes de BLSE entraînent souvent une résistance à d'autres antibiotiques tels que les aminoglycosides, le chloramphénicol, l'association sulfamide/triméthoprim, les cyclines et les fluoroquinolones (Jacoby et Sutton, 1991). Ceci expliquerait la fréquence des résistances observées dans notre étude particulièrement élevée avec l'association sulfamide/triméthoprim (95,2%) et la Gentamicine (78,6%). Cependant, l'Amikacine conserve une certaine efficacité sur environ 60% des souches de *K. pneumoniae* BLSE. Nous avons observé que 67,4% des souches de *K. pneumoniae* BLSE isolées dans notre étude étaient résistantes à la Ciprofloxacine. Ce taux de résistance élevé en effet inquiétant pourrait résulter de l'utilisation abusive des fluoroquinolones (antibiotiques à large spectre) en médecine humaine et vétérinaire qui a entraîné une augmentation de l'apparition de la fréquence souches de *Klebsiella* résistantes (Paterson et al, 2000). Cependant, d'autres études ont montré que les fluoroquinolones restent encore très actives contre les entérobactéries sécrétrices de BLSE (Feizabadi et al, 2010 ; Ghafourian et al, 2012). Toutefois, il est intéressant de noter que toutes les souches de *K. pneumoniae* BLSE demeurent sensibles à l'Imipénème (exceptée une souche) et à la Fosfomycine. Nos résultats concordent avec ceux rapportés dans la littérature (Feizabadi et al, 2010 ; Ghafourian et al, 2012). Cependant, des cas de résistance à l'Imipénème et à la Fosfomycine ont été récemment décrits dans certaines études (Dahmen et al, 2012 ; Lee et al, 2012), conduisant ainsi à des choix thérapeutiques de plus en plus restreints.

CONCLUSION

Nous avons observé une forte prévalence de souches de *K. pneumoniae* BLSE. La majorité de ces souches ont été isolées dans les USI et étaient responsables d'ITU nosocomiales. Il est inquiétant de noter que près de 70% de ces souches de *K. pneumoniae* BLSE présentaient une résistance à la Ciprofloxacine. La résistance des entérobactéries, notamment *K. pneumoniae*, aux fluoroquinolones par production de BLSE devient en effet de plus en plus préoccupante. Ceci implique une utilisation plus rationnelle des fluoroquinolones, en particulier dans les

traitements de première intention des ITU.

RÉFÉRENCES

- Bradford PA. Extended-spectrum beta-lactamases in the 21st century: characterization, epidemiology, and detection of this important resistance threat. 2001. Clin Microbiol Rev, 14:933-51.
- Briñas L, Lantero M, Zarazaga M, Pérez F, Torres C. 2004. Outbreak of SHV-5 beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a neonatal-pediatric intensive care unit in Spain. Microb Drug Resist, 10:354-8.
- Dahmen S, Mansour W, Charfi K, Boujaafar N, Arlet G, Bouallegue O. 2012. Imipenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* is associated to the combination of plasmid-mediated CMY-4 AmpC β -lactamase and loss of an outer membrane protein. Microb Drug Resist, 18:479-83.
- Elhani D. 2012. Les bêta-lactamases à spectre étendu : le défi s'accroît. Ann Biol Clin, 70:117-40.
- Elhani D, Bakir L, Aouni M. 2006. Dissémination des souches de *Klebsiella pneumoniae* productrices de β -lactamases à spectre étendu dans un centre hospitalo-universitaire tunisien. Ann Biol Clin, 64: 237-43.
- Feizabadi MM, Mahamadi-Yeganeh S, Mirsalehian A, Mirafshar SM, Mahboobi M, Nili F, Yadegarinia D. 2010. Genetic characterization of ESBL producing strains of *Klebsiella pneumoniae* from Tehran hospitals. J Infect Dev Ctries, 4:609-15.
- Ghafourian S, Sekawi Z, Neela V, Khosravi A, Rahbar M, Sadeghifard N. 2012. Incidence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in patients with urinary tract infection. Sao Paulo Med J, 130:37-43.
- Hawkey PM. 2008. Prevalence and clonality of extended-spectrum beta-lactamases in Asia. Clin Microbiol Infect, 14:159-65.
- Jacoby GA, Munoz-Price LS. 2005. The new beta-lactamases. N Engl J Med, 352:380-91.
- Jacoby GA, Sutton L. 1991. Properties of plasmids responsible for production of extended-spectrum beta-lactamases. Antimicrob Agents Chemother, 35:164-9.
- Knothe H, Shah P, Krcmery V, Antal M, Mitsuhashi S. 1983. Transferable resistance to cefotaxime, cefoxitin, cefamandole and cefuroxime in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Serratia marcescens*. Infection, 11:315-7.
- Lee S-Y, Park Y-J, Yu JK, Jung S, Kim Y, Jeong SH and Arakawa Y. 2012. Prevalence of acquired fosfomycin resistance among extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in Korea and IS26-composite transposon surrounding *fosA3*. J Antimicrob Chemother, 67: 2843-7.
- Lonchel CM, Meex C, Gangoué-Piéboji J, Boreux R, Assoumou MC, Melin P, De Mol P. 2012. Proportion of extended-spectrum β -lactamase-producing Enterobacteriaceae in community setting in Ngaoundere, Cameroon. BMC Infect Dis, 12:53.
- Paterson DL. 2000. Recommendation for treatment of severe infections caused by Enterobacteriaceae producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). Clin Microbiol Infect, 6:460-3.
- Paterson DL, Ko W-C, Von Gottberg A, Mohapatra S, Cassellas JM, Gossens H, Mulazimoglu L, Trenholme G, Klugman KP, Bo-

nomo RA, Rice LB, Wagener MM, McCormack JG, Yu VL. 2004. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteraemia: implications of extended-spectrum β lactamase productions in nosocomial infections. *Ann Intern Med*, 140:26-32.

Paterson DL, Mulazimoglu L, Casellas JM, Ko WC, Goossens H, Von Gottberg A, Mohapatra S, Trenholme GM, Klugman KP, McCormack JG, Yu VL. 2000. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteraemia. *Clin Infect Dis*, 30:473-8.

Philippon A, Arlet G, Lagrange PH. 1994. Origin and impact of plasmid-mediated extended-spectrum beta-lactamases. *Eur J Clin Microbiol Infect*, 13:S17-29.

Quale JM, Landman D, Bradford PA, Visalli M, Ravishankar J, Flores C, Mayorga D, Vangala K, Adedeji A. 2002. Molecular epidemiology of a citywide outbreak of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* infection. *Clin Infect Dis*, 35:834-41.

Rebuck JA, Olsen KM, Fey PD, Langnas AN, Rupp ME. 2000. Characterization of an outbreak due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in a pediatric intensive care unit transplant population. *Clin Infect Dis*, 31:1368-72.

Slama TG. 2008. Gram-negative antibiotic resistance: there is a price to pay. *Crit Care*, 12:S4.

Tandé D, Jallot N, Bougoudogo F, Montagnon T, Gouriou S, Sizun J. 2012 Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae in a Malian orphanage. *Emerg Infect Dis*, 15:472-4.

Tawfik AF, Alswailem AM, Shibl AM, Al-Agamy MH. 2011. Prevalence and genetic characteristics of TEM, SHV, and CTX-M in clinical *Klebsiella pneumoniae* isolates from Saudi Arabia. *Microb Drug Resist*, 17:383-8.

Villegas MV, Kattan JN, Quinteros MG, Casellas JM. 2008. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamases in South America. *Clin Microbiol Infect*, 14:154-8.

Winokur PL, Canton R, Casellas JM, Legakis N. 2001. Variations in the prevalence of strains expressing an extended-spectrum beta-lactamase phenotype and characterization of isolates from Europe, the Americas, and the Western Pacific region. *Clin Infect Dis*, 32:S94-103.

Younes A, Hamouda A, Dave J, Amyes SG. 2011. Prevalence of transferable blaCTX-M-15 from hospital- and community-acquired *Klebsiella pneumoniae* isolates in Scotland. *J Antimicrob Chemother*, 66:313-8.